

ESTUDIO DE LOS LIPIDOS Y LA PRESENCIA DE
PIGMENTOS EN SEMILLAS DE *NIEREMBERGIA*
*HIPPOMANICA (SOLANACEAE)*¹

Por MONICA MEDINA² y CARLOS A. GUZMAN³

SUMMARY

Lipids from seeds of *Nierembergia hippomanica* Miers were separated by solid-liquid extraction with petroleum ether 30-65°C and chloroform in a continuous system; the components obtained were characterized by thin-layer chromatography. The fatty acid methyl esters were analyzed by gas-liquid chromatography, and the following values were found: C 16 : 0 - 8,6%; C 18 : 1 - 8,6% and C 18 : 2 - 74,2% (when the solvent was petroleum ether) and C 16 : 0 - 16,2% C 18 : 1 - 13,3% and C 18 : 2 - 57,8% (when the solvent was chloroform) all of them typical for each compound. According to the theoretic iodine value obtained (148,7) and (122,8) for the extraction with petroleum ether and chloroform respectively, the oil belongs to the semi-drying oils. Furthermore, after removing part of the lipidic fraction anthocyanins were also determined in seed material. Their presence was characterized by spectroscopy at a maximum lambda of 540 nm and also by cellulose thin-layer chromatography.

INTRODUCCION

En el presente trabajo se ha estudiado la semilla de una planta tóxica para el ganado *Nierembergia hippomanica* Miers. Su área es exclusivamente americana (Millán 1941) creciendo la mayoría de las especies en Argentina, siendo peligrosa su ingestión y en algunos casos mortal.

El aspecto químico de la planta entera fue estudiado inicialmente por Echegaray (1879) quien aisló un glicósido que denominó hipomanina, desde entonces numerosos han sido los aportes que se

¹ Trabajo presentado en las Primeras Jornadas Científicas de la Sociedad de Biología de Córdoba, 27 y 28 de Abril de 1984 - Ciudad Universitaria - Córdoba, Argentina.

² Cátedra de Forrajeras y Plantas Tóxicas - Dpto. de Producción Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria - Univ. Nac. de Río Cuarto. Campus Universitario. Enlace rutas 8 y 36 - Km 603 - 5800 Río Cuarto - Argentina.

³ Cátedra de Química Orgánica - Fac. de Ciencias Exactas Físicas y Naturales (IMBIV) CONICET - Univ. Nac. de Córdoba. Avda. Vélez Sársfield 299 - 5000 Córdoba - Argentina.

han realizado a los fines del conocimiento fitoquímico, toxicológico y fisiológico de esta especie; Sonzini Astudillo (1938), Pomilio y Gross (1979) y Parente *et al.* (1984). Esta Solanácea ha sido estudiada desde el punto de vista botánico por Hunziker (1979) y algunos aspectos morfológicos fueron abordados por Di Fulvio (1976); Cocucci (1984) estudió la polinización en esta especie. El objeto de este trabajo fue analizar la composición de las semillas en lo que se refiere a lípidos y pigmentos antociánicos.

MATERIAL Y METODOS

El material vegetal fue colectado en la localidad de Capilla del Monte, Departamento Punilla, Córdoba, Argentina en el mes de Febrero de 1980.

Ejemplares del mismo fueron depositados en el Museo Botánico de la Universidad Nacional de Córdoba (CORD).

Las semillas maduras extraídas manualmente fueron seleccionadas, lavadas con agua destilada y secadas entre papeles de filtro. Tanto las observaciones como las medidas de las semillas fueron realizadas con una lupa Wild Heerbrugg M 5 y las muestras se pesaron en una Balanza Mettler H 72.

Extracción análisis de lípidos y cromatografía en capa delgada

Un gramo de semillas fue molido en mortero, hasta obtención de una pasta homogénea, ésta se colocó para la extracción continua sólido-líquido en microextractor de Soxhlet con éter de petróleo 30-60°C durante 16 hs. en oscuridad.

El material agotado con éter de petróleo se colocó nuevamente para extracción continua por 16 hs. con cloroformo, ambos solvente fueron luego eliminados por concentración a presión reducida en baño de agua a 40°C. De los aceites obtenidos, una parte alícuota fue sembrada en placa de sílica gel G de 0,5 mm de espesor, se realizó cromatografía monodireccional ascendente usándose como solvente de desarrollo éter de petróleo-éter etílico-ácido acético 90 : 20 : 3 por vol. Como revelador se utilizaron vapores de yodo. El resto del material fue esterificado con metanol-ácido clorhídrico según Burchfield (1964) a los fines de ser analizados por cromatografía gas-líquido (CGL) según Dasso *et al.* (1980). El índice de yodo se calculó teóricamente en función de los porcentajes de ácidos grasos de ésteres metílicos encontrados.

Extracción de pigmentos

Para la extracción de los pigmentos, un gramo de semillas moli-

das en mortero, fueron extraídas con éter de petróleo 30-65°C y luego de eliminado el extracto etéreo se las sometió a ebullición en un sistema de reflujo con alcohol metílico durante 3 hs. El extracto conteniendo los pigmentos fue centrifugado y el sobrenadante agregado sobre un exceso de volumen de éter dietílico anhidro frío (4°C), en este paso precipitaron los pigmentos de color azul-violeta, luego fueron lavados por centrifugación tres veces con acetato de etilo y el sobrenadante del último lavado se eliminó por filtración al vacío, los cristales fueron disueltos en metanol-ácido clorhídrico al 1% para la realización de cromatografías y del correspondiente espectro de absorción, utilizando un espectrofotómetro Bausch y Lomb Spectronic 20 en un rango de longitudes de onda entre 400 nm y 700 nm.

Cromatografía en capa delgada

Se realizaron cromatografías sobre capa delgada de celulosa, monodireccional ascendente con el sistema de solventes butanol-ácido acético-agua 4 : 1 : 5 por vol. fase superior. Se sembró cualitativamente y una vez desarrollado el cromatograma se lo observó con luz ultravioleta de onda corta.

OBSERVACIONES

La semilla entera es algo translúcida y se deja ver una mancha más pigmentada esbozada en la zona central correspondiente a la ubicación del embrión. En cortes de la semilla se lo observa a éste de color violáceo. Las medidas de las semillas fueron 0,928 mm de largo (desv. stand. 0,09) y 0,543 mm de ancho (desv. stand. 0,073) estas medidas son el promedio de 30 mediciones. Se pesaron, como previamente se describe dando como promedio 9,72 mg el lote de 100 semillas. Los cromatogramas en capa delgada, tanto de lípidos extraídos en cloroformo cuanto de éter de petróleo fueron prácticamente similares. El rendimiento de aceites fijos encontrados en las semillas, correspondió a un 30% de la materia fresca. Las composiciones acídicas encontradas por CGL se muestran en la figura 1. La fracción extraída con éter de petróleo presentó valores destacables para los ácidos grasos C 16:0 - 8,6% C 18:1 - 8,6% y C 18:2 74,2%. En la fracción más polar hubo mayor porcentaje de C 16:0 - 16,2% y de C 18:1 - 13,3%, C 18:2 correspondió a un 57,8%.

Los valores de índice de yodo fueron coherentes con los resultados obtenidos. Se destaca la presencia de pigmentos antocianos en el interior de la semilla (embrión) cuyo rendimiento fue de

	C 12:0	C 13:0	C 14:0	C 14:1	C 15:0	C 15:1	C 16:0	C 16:1
Eter de petróleo	0,6	1,3	0,5	0,3	0,1	0,1	8,6	0,6
Cloroformo	0,3	0,5	1,8	0,6	0,3	0,3	16,2	3,4
	C 17:0	C 17:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3	Indice de I ₂	
Eter de petróleo	0,1	—	2,9	8,6	74,2	2,1	148,7	
Cloroformo	0,3	0,3	4,2	13,3	57,8	0,7	122,8	

Fig. 1. — Porcentaje de ácidos grasos como ésteres metílicos e índices de yodo presentes en la semilla de *N. hippomanica*. Estudio realizado por GLC. Los tiempos de retención relativos de los ácidos grasos se calcularon en relación al palmitato de metilo.

1,2 mg/gr de materia fresca. El lambda máximo obtenido se ubicó a los 540 nm. La separación cromatográfica en capa delgada de pigmentos permitió diferenciar seis manchas; se sembró comparativamente Malvidina 3-5 diglucósido, observándose que este compuesto no se presenta entre los componentes de los antocianos de semilla. Los Rf y fluorescencia de los compuestos observados fueron los siguientes: 0 (verde), 0,16 (violeta), 0,32 (celeste), 0,36 (violeta), 0,83 (marrón-violeta) y 0,98 (violeta claro). No se determinaron las correspondientes estructuras a causa de la exigüidad del pigmento.

DISCUSION

Los valores y características encontradas en el aceite de esta especie, son prácticamente similares a los de otras especies de la misma familia (Dasso *et al.* (1980), Decolatti *et al.* (1985), Fuentes y Guzmán (1986), Aburrá *et al.* (1986), fundamentalmente en lo referido a los ácidos dienoicos, cuando el solvente utilizado para la extracción de los mismos fue el éter de Petróleo.

El hallazgo de los pigmentos en la semilla es otro hecho interesante en la presente contribución. Son muy pocos los antecedentes de pigmentos antociánicos en semillas. Mayer *et al.* (1978) comentan este hecho referido a antocianos o leuco-antocianos presentes en las cubiertas seminales de especies que no menciona. Por otro lado Lowry (1972) y Clifford y Harborne (1969) describen pig-

mentos antociánicos en semillas, sin definir en que lugar de las mismas se ubican los pigmentos. Hasta el presente no se han descripto antocianos para el embrión de las semillas. Se propone que serían los citados pigmentos dadas las siguientes evidencias: el color que presentan, sus propiedades de solubilidad por cambio de pH, dan negativo a la prueba de Dragendorff, por su sensibilidad a la luz, absorción en el espectro visible, cuya mayor absorbencia se determinó a 540 nm y por la ubicación taxonómica, pues otros géneros de la misma familia presentan antocianos en la flor, como en el caso de *Solanum*, *Petunia* (Jonsson 1984) *Nicotiana* (Harborne 1975) y *Browalia* (Nybon 1964).

AGRADECIMIENTOS

Deseamos agradecer al Dr. Pedro CATTANEO por haber permitido la realización de las cromatografías Gas Líquido de los aceites. Al Ing. Armando T. HUNZIKER por su asesoramiento e identificación del material utilizado en este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- ABBURRA, R. E., J. A. ZYGADLO y C. A. GUZMAN. 1986. Algunas consideraciones sobre los lípidos seminales de especies silvestres y cultivadas de *Capsicum* (Solanaceae). *Inédito*.
- BURCHFIELD, H. P. and E. STORES. 1962. *Biochemical applications of Gas Chromatography* 371-487. Academic Press.
- CLIFFORD, H. T. and J. B. HARBORNE. 1969. Flavonoid Pigmentation in the sedges (Cyperaceae). *Phytochemistry* 8: 123-126.
- COCUCCI, A. A. 1984. Polinización en *Nierembergia hippomanica* (Solanaceae). *Kurtziana* 17: 31-47.
- DASSO, I., E. G. GROSS y P. CATTANEO. 1980. Aceites de semillas de algunas solanáceas; composiciones acídicas y en esteroides. *An. Asoc. Quím. Argent.* 68: 109-117.
- DECOLATTI, N. M., R. E. ABBURRA y C. A. GUZMAN. 1985. Estudios preliminares sobre los aceites seminales de seis especies del género *Solanum* (Solanaceae). *Inédito*.
- DI FULVIO, T. E. 1976. Sobre el polen de *Nierembergia* (Solanaceae). *Kurtziana* 9: 87-91.
- ECHEGARAY, A. 1879. La hipomanina, un nuevo principio cristalizado en el "chuscho" *Nierembergia hippomanica* Miers. *Bol. Acad. Nac. Ci.* 3: 164-187.
- FUENTES, E. y C. A. GUZMAN. 1986. Estudios fitoquímicos y quimiotaxonomicos en semillas lipídicas de algunas especies de la tribu *Nicotianeae* (Solanaceae). *Inédito*.
- HARBORNE, J. B., T. J. MABRY and H. MABRY. 1975. *The Flavonoids*. Tomo 1. Academic Press pag. 248-249.
- HUNZIKER, A. T. 1979. South American *Solanaceae*: a synoptic survey. In *the Biology and Taxonomy of the Solanaceae*. Ed. by A. J. G. Hawkes,

- R. W. Lester, A. D. Skelding. Linn. Soc. Symposium Series Number 7. pág. 49-86.
- JONSSON, L. M. V. 1984. *Genetic and Physiological Control of Anthocyanin Biosynthesis in flowers of Petunia hybrida*. Edit. Rodopi. Amsterdam.
- LOWRY, J. B. 1972. Anthocyanins of the *Podocarpaceae*. *Phytochemistry*. 11: 725-731.
- MAYER, A. M., A. POLJAKOFF MAYBER. 1978. *The germination of seed*. Second Edition. Pergamon International Library of Science Technology Engineering in Social Studies. Pag. 18-20.
- MILLAN, E. 1941. Revisión de las especies del género *Nierembergia* (*Solanaceae*). *Darwiniana* 5: 487-547.
- NYBOM, M. 1964. Thin-Layer chromatographic Analysis of Antocyanidins. *Physiol. Pl.* (Copenhagen) 17: 157-164.
- PARENTE, N. M., I. I. ANTON y C. A. GUZMAN. 1984. Efecto de flavonoides exógenos sobre peroxidasas en plántulas de *Nierembergia hippomanica*. *An. Asoc. Quim. Argent.* 72: 59-63.
- POMILIO, A. B. y E. G. GROSS. 1979. Pinocembrin 7-Neohesperidoside from *Nierembergia hippomanica*. *Phytochemistry* 18: 1410.
- SONZINI ASTUDILLO, S. 1938. Toxicidad y acción farmacológica del "chuchó" *Nierembergia hippomanica*. Tesis Doctoral en Medicina 1: 79. Universidad Nacional de Córdoba.

BIBLIOGRAFIA

- ABBURRA, R. E. & A. GUZMAN. 1986. Algunos compo-
sitos sobre los lípidos seminales de especies silvestres y cultivadas de
Solanum (Solanaceae). *Acta Bot. Argent.* 9: 1-10.
- BURCHFIELD, H. P. and E. STORER. 1982. Biochemical applications of Gas
Chromatography 371-487. Academic Press.
- CLIFFORD, H. T. and J. E. HARBORENE. 1969. Flavonoid Pigmentation in
the Solanaceae. *Phytochemistry* 8: 123-132.
- COCCUCCI, A. 1984. Polimerización en *Nierembergia hippomanica* (Solan-
aceae). *Karlsruhe* 17: 31-47.
- DAISO, I., E. G. GROSS y P. CATTANEO. 1980. Ácidos de las semillas de algu-
nas solanáceas: composiciones ácidas y en esteroles. *An. Asoc. Quim.
Argent.* 68: 109-117.
- DECOILLATI, M. R. E. ABBURRA y C. A. GUZMAN. 1988. Estudios pre-
liminares sobre los aceites seminales de seis especies del género *Solanum*
(Solanaceae). *Acta Bot. Argent.* 11: 1-10.
- DI FUJITO, T. E. 1976. Sobre el polen de *Nierembergia* (Solanaceae). *Acta
Bot. Argent.* 9: 87-91.
- ECHEGARAY, A. 1969. La *Nierembergia* un nuevo principio cristalizado en el
"chuchó" *Nierembergia hippomanica* *Mem. Bol. Acad. Nac. Ci. 3*
124-127.
- FUENTES, E. y C. A. GUZMAN. 1986. Estudios fitoquímicos y quimiotáxi-
nómicos en semillas lipídicas de algunas especies de la tribu *Nierember-
gini* (Solanaceae). *Acta Bot. Argent.* 9: 1-10.
- HARBORENE, J. E. T. J. MARRY and H. MARRY. 1978. The Flavonoids. To-
mo 1. Academic Press pag. 348-359.
- HUNZIKER, A. T. 1978. South American Solanaceae: a synoptic survey. In
the Biology and Taxonomy of the Solanaceae. Ed. by A. J. G. Hawkes.