

**ESTUDIO FITOQUIMICO DE LAS SEMILLAS  
DE SILLIBUM MARIANUM**

LUZ STELLA OSPINA DE NIGRINIS, Q. F., JAIRO  
CALLE A., Q. F.

Trabajo realizado en el Laboratorio de Investiga-  
ciones Fitoquímicas de la Facultad de Ciencias, bajo  
la dirección del doctor EDUARDO CALDERÓN G.

## A. INTRODUCCION

El *Sillibum Marianum* o Poma crece como maleza en los climas fríos y templados y frecuentemente invade los cultivos de gramíneas.

Estas semillas son ovoides o alargadas, algo comprimidas de hasta 7 mm. de largo y 3 de ancho, lisas y lustrosas, color pardo grisáceo, con listas finas más oscuras, con el extremo inferior terminado en punta. La delgada cubierta de la semilla envuelve el embrión que carece de endospermo, con sus dos cotiledones planaconvexos. Estos contienen aceite y aleurona.

La parte experimental del trabajo incluye un estudio completo del aceite y de la torta residual con el objeto de ver si es posible su empleo en la alimentación o en la industria.

## B. TRABAJO EXPERIMENTAL

### 1. Determinación del contenido de aceite.

Empleando la técnica de K. Paech y M. V. Tracey (1) se obtuvo un resultado promedio del 24%.

### 2. Extracción del aceite.

Después de molida la semilla completa se extrae en soxhlet durante doce horas, hasta agotamiento total de la grasa utilizando como solvente una mezcla a partes iguales de éter etílico y cloroformo. También se hizo la extracción con éter de petróleo (punto de ebullición de 40 - 60° C), obteniéndose mejor resultado con este solvente.

### 3. Estudio del aceite.

a) Es un líquido viscoso de color amarillo oro el cual desaparece por exposición a la luz, tiene olor característico. Por exposición al aire, se forma una película lisa y brillante.

b) Constantes físicas:

Densidad a 25° C (2) . . . . .	0.9177
Índice de Refracción (2) . . . . .	1,4725
Punto de solidificación (3) . . . . .	de 2 a menos 8° C

c) Constantes químicas:

Índice de acidez (4) . . . . .	14
Índice de Esteres (4) . . . . .	178
Índice de Polenske (4) . . . . .	2
Índice de Reircht Meissi (4) . . . . .	1.1
Índice de Saponificación (5) . . . . .	192
Índice de Yodo (5) . . . . .	122
Índice de Sulfacianuro (6) . . . . .	75
Residuo insaponificable (7) . . . . .	1.2%

d) Composición química del aceite:

Se empleó como método de análisis la cromatografía en fase gaseosa de los ésteres metílicos de los ácidos grasos.

EQUIPO: Cromatógrafo de Gases Perkin Elmer modelo N° 820 el cual se operó en las siguientes condiciones:

Detector de conductividad tér-

mica, corriente . . . . . 150 ma.

Gas de arrastre: Helio, pre-

sión . . . . . 29 libras

Velocidad de flujo . . . . . 20.1 ml/min.

Columna BDS (Butanediol

Succinato al 15% Cro-  
mosor W)

Longitud de la columna . . . 12 pies (3.66 mts.)

Diámetro de la columna . . . 1/8 de pulgada (0.32 cms.)

Tubo de acero inoxidable.

Temperatura del inyector . . . 272° C

Temperatura de la columna . . 200° C

Temperatura del detector . . . 205° C

Atenuación del registrador . . . 1

Muestra inyectada . . . . . 0.3 microlitros

Preparación de los ésteres metílicos (8).

Se siguió la técnica de la transesterificación, tal como lo describimos en el estudio de las nueces de *Lecythis Elliptica* (9).

## RESULTADOS

Utilizando el cromatograma obtenido (Fig. 1), se identificó la presencia en la muestra de los ácidos: Palmítico, Esteárico, Oléico, Linoléico, Linolénico y Araquidónico.

NOTA: Al lado izquierdo y al lado derecho del pico correspondiente al ácido palmítico aparecen dos pequeños picos no identificados en la bibliografía consultada.

- e) Determinación cuantitativa de los ácidos grasos presentes (10). Empleando los cromatogramas obtenidos utilizamos el método de normalización interna para el cálculo del contenido en porcentaje de cada uno de los ácidos grasos presentes.

$$\% \text{ del compuesto} = \frac{\text{Area del compuesto}}{\text{Area total}} \times 100$$

Los resultados fueron los siguientes:

	%
Acido Palmítico . . . . .	5.78
Acido Esteárico . . . . .	3.96
Acido Oléico . . . . .	17.75
Acido Linoléico . . . . .	69.35
Acido Linolénico . . . . .	2.24
Acido Araquidónico . . . . .	0.92

#### 4. Análisis de la torta residual.

- a) Aspecto: Polvo grisáceo en el cual se nota al tacto la presencia de partículas duras debido a que la semilla no fue despojada del exocarpio.

b) Composición química:	%
Humedad . . . . .	12
Cenizas . . . . .	6
Nitrógeno protéico . . . . .	28
Celulosa . . . . .	15
Grasa . . . . .	0.8
Minerales:	
Hierro . . . . .	1.63
Calcio . . . . .	2.5
Magnesio . . . . .	3.8
Zinc . . . . .	0.065
Sodio . . . . .	0.02
Potasio . . . . .	7.02

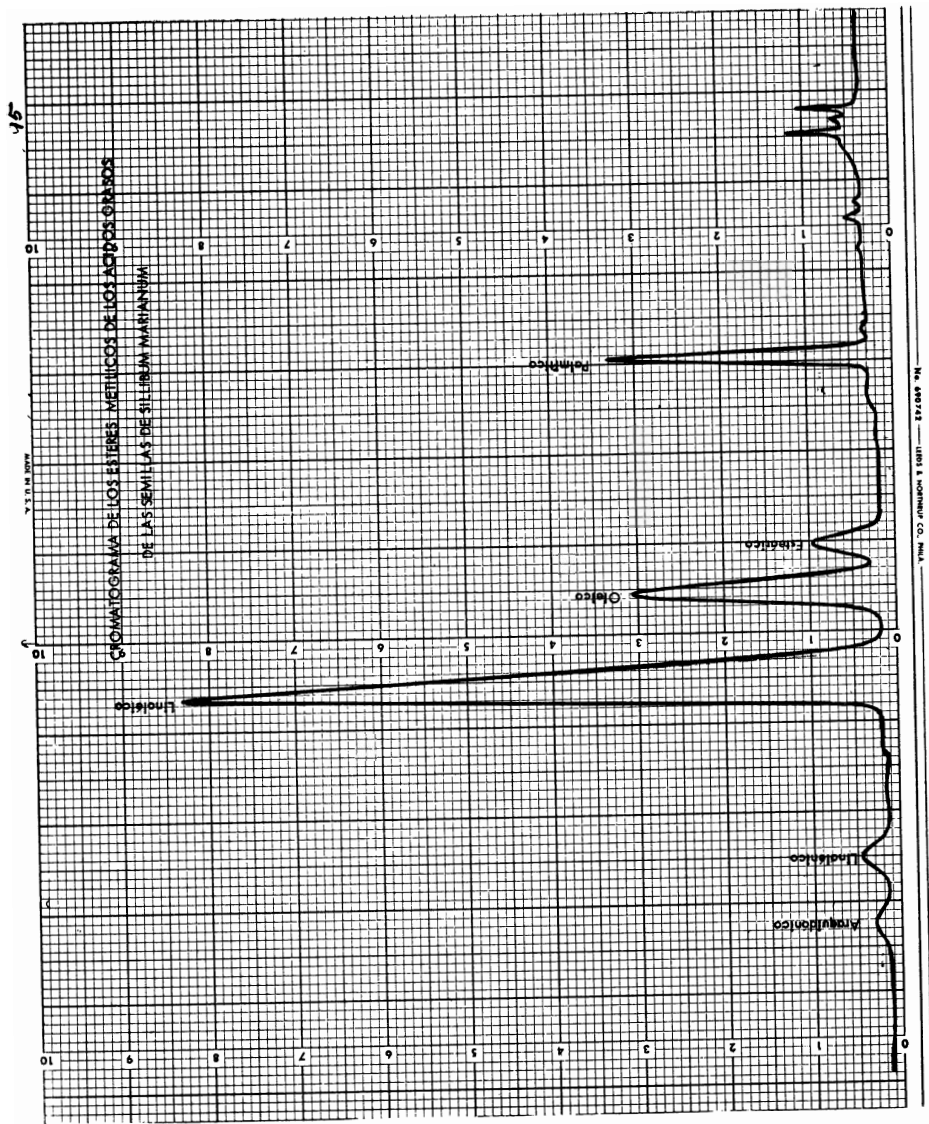


FIGURA No. 1

La determinación de minerales en la ceniza se hizo por el método de absorción atómica, empleando un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo 303. La valoración de cada elemento se realizó construyendo previamente una curva de calibración para cada uno de ellos (11).

### C. IDENTIFICACION DE LOS AMINOACIDOS EN LA PARTE PROTEICA.

Para el reconocimiento de los aminoácidos se obtuvieron dos hidrolizados a partir de la torta residual; uno ácido y otro alcalino.

#### *Hidrólisis ácida.*

Se efectuó con 2 grs. de la muestra los cuales, en presencia de 100 ml. de HCL 6N, son sometidos a reflujo en baño de aceite durante 24 horas a una temperatura de 100° C hasta la hidrólisis total de proteínas. El hidrolizado ácido es concentrado destilando el solvente a presión reducida. El extracto concentrado se neutraliza con NaOH 6N observándose un precipitado el cual se elimina por filtración; con el residuo se prosigue el tratamiento de hidrólisis después del cual se comprueba la ausencia de aminoácidos al verificar la reacción con ninhidrina.

El filtrado se lleva a volumen, se satura con nitrógeno y se guarda a baja temperatura hasta su uso.

#### *Hidrólisis alcalina.*

Se efectuó con 2 grs. de la muestra los cuales, en presencia de 100 ml. de NaOH 6N, son sometidos a reflujo en baño de aceite a 110° C hasta hidrólisis total de las proteínas. El procedimiento es continuado como en el caso de la hidrólisis ácida, teniendo en cuenta que para neutralizar debe emplearse HCl 6N.

#### *Cromatografía en capa delgada (12).*

Con los hidrolizados (ácidos y alcalino) se investiga la presencia de los aminoácidos componentes de las proteínas para lo cual se usó como método de separación la cromatografía en capa delgada.

Las condiciones de trabajo fueron las siguientes:

Placa de vidrio de 20 X 20 cms.

Absorbente . . . . .	Sílica Gel. G.
Espesor de la capa . . . . .	250 micrones
Tiempo de activación . . . . .	1 hora a 110° C
Cámara de vidrio.	
Técnica de separación . . . . .	Bidimensional
Estado de saturación . . . . .	2 horas
Longitud de recorrido . . . . .	15 cms.
Tiempo de recorrido para el primer solvente . . . . .	1 hora 30 minutos
Tiempo de recorrido para el segundo solvente . . . . .	2 horas 30 minutos

Solventes:

1. Metanol-cloroformo-amoniaco al 17% (40:40:20).

2. Fenol-agua (75:25).

Una vez corrido el cromatograma con el primer solvente se deja secar la placa e inmediatamente se coloca en el segundo solvente.

Muestra aplicada: 3 microlitros.

Para la completa identificación de los aminoácidos se emplearon soluciones patrones de la casa B.D.H. al 1% en HCl diluido.

Como revelador se usó solución reactivo de ninhidrina al 0.2% en butanol: ácido acético (95:5).

Después de atomizadas las placas con ninhidrina se calientan a 80° C en la estufa hasta aparición de las manchas coloreadas.

Los aminoácidos identificados en estas condiciones fueron:

*Hidrolizado ácido:*

Lisina	Treonina
Arginina	Alanina
Asparagina	Histidina
Serina	Metionina
Glicina	Valina
Acido glutámico	Fenilalanina

*Hidrolizado alcalino:*

Lisina	Alanina
Asparagina	Histidina
Serina	Metionina
Glicina	Valina
Acido glutámico	Fenilalanina
Treonina	

## CONCLUSIONES

Se debería continuar con el estudio del aceite ya que por sus características semisecantes podría tener aplicación industrial. Dado que es una planta común y se propaga como maleza en los climas templados y fríos debería además hacerse un estudio desde el punto de vista agronómico para mejorar el rendimiento y calidad de la planta.

## RESUMEN

La parte experimental del estudio de las semillas oleaginosas de *Sillibum Marianum*, incluye las determinaciones correspondientes a la parte física y química del aceite y de la torta residual. La determinación de los ácidos grasos del aceite se hizo por cromatografía en fase gaseosa, y el reconocimiento de los aminoácidos de la torta residual empleando cromatografía en capa fina.

## SUMMARY

The oil of the seeds of *Sillibum Marianum* was obtained by solvent extraction. The physicochemical constants of the oil as well as the fatty acids composition were determined (GLC). The aminoacids in the residual cake were determined by TLC.

## RÉSUMÉ

L'étude des semences oléagineuses de la *Sillibum Marianum*, comprend les déterminations correspondantes a la partie physique et chimique de l'huile et du résidue de l'extraction. Il a été faite la détermination des acides gras de l'huile au moyen de la chromatographie en phase gaseuse et pour reconnaître les acides aminées dans les résidues d'extraction il a été employée la chromatographie en couche mince.

## BIBLIOGRAFIA

1. K. PAECH, M. V. TRACEY. "Moderne Methods of plant Analysis". Vol. 2 Springer Verlag, Berlín, 323, 1955.
2. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists "AOAC". Editorial Board. Washington 1960. IX Edición.
3. ENRIQUE OTERO. "Análisis de grasas ceras y sus mezclas comerciales". Editorial Dossat, S. A. Madrid, 1940. 31.
4. CALDERÓN y GAVIRIA. Prácticas de Análisis Químico Aplicado. Dpto. de Farmacia, Bogotá, 123. 1959.



5. AOAC. Editorial Board. Washington. IX Edición.
6. V.C. MEHLEMBACHER. "Official and tentative methods of the American Oil Chemistry Society. 2ª Edición, 1957.
7. ENRIQUE OTERO. "Análisis de grasas ceras y sus mezclas comerciales". Ed. Dossat S. A. Madrid, 1946.
8. GEORGE R. JAMIESON. Ed. H. Reid. *J. of Chromatography*, 17, 230. 1965.
9. CALLE J., DE NIGRINIS S. "Estudio fitoquímico de las nueces de *Lecythis Elliptica*". *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, Vol. 1, Nº 4, 33; 1971.
10. MACNAIR, H. M. and BONELLI, E. J. "Basic Gas Chromatography", Berkeley, California. 4ª Edición, 114.
11. *Analytical Methods for atomic absorption spectrophotometry*. Perkin Elmer.
12. EGON STAHL. *Thin Layer Chromatography*. Ed. Springer Verlag. 2ª Edición; 730; 1969.