EXTRACCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA SOLANINA OBTENIDA DEL FRUTO DE LA BERENJENA (Solanum melongena L.)

EXTRACTION AND IDENTIFICATION OF SOLANINE OBTAINED FROM EGGPLANT FRUIT (Solanum melongena L.)

Pamela Vélez T. 1 & María Fernanda Pilaquinga F. 1

Palabras clave: solanina, extracción, berenjena, *Solanum melongena* L. **Keywords:** solanine, extraction, eggplant, *Solanum melongena* L.

RESUMEN

La solanina es un glicoalcaloide que se encuentra en la berenjena (*Solanum melongena* L.). En dosis superiores a los 2 mg/kg es una sustancia tóxica, sin embargo, en pequeñas cantidades ha demostrado tener actividad antiproliferativa y efectos anticancerígenos. En el presente estudio se compararon tres métodos de extracción de solanina a partir del fruto de berenjena por maceración, empleando como disolventes: ácido acético al 5% y etanol absoluto (1:9), ácido acético al 2% seguido de una extracción micro-Soxhlet con etanol al 80%, y metanol absoluto. El metanol fue el disolvente más adecuado para el proceso de extracción. La presencia del compuesto se identificó por cromatografía de capa fina con un factor de retención (Rf) de 0.42. Posteriormente, se analizó la presencia de solanina en tres partes del fruto: cáscara, pedúnculo y pulpa con

¹ Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Químicas, Quito Ecuador (pameyvt@gmail.com; mfpilaquingaf@puce.edu.ec).

semillas. Se cuantificó que la concentración del compuesto en la cáscara fue 0.53 mg/g correspondiente al 70% de rendimiento. La solanina obtenida resultó positiva en el ensayo cualitativo de Libermann-Burchard que permitió identificar su estructura esteroidal en la cáscara del fruto. Se estableció su punto de fusión (283 °C) y su solubilidad en metanol caliente. El análisis del compuesto por espectroscopía de infrarrojos (FT-IR) confirmó la presencia de solanina por comparación de los espectros IR experimentales con el estándar. Con este estudio, se optimizó un método que permite la obtención de solanina a partir de la cáscara de la berenjena.

ABSTRACT

Solanine is a glycoalkaloid found in eggplant (Solanum melongena L.). It is toxic in doses higher than 2 mg/kg, however in small quantities it has been demonstrated that it has antiproliferative activity and anticancer effects. Bearing this in mind, in this study, three extraction methods of solanine in the fruit of eggplant by maceration were compared employing these disolvents: acetic acid 5% + ethanol (1:9), acetic acid 2% + micro-Soxhlet with ethanol 80%, and methanol absolute. Results showed that the most appropriate extraction method was methanol maceration. The alkaloid was identified by means of TLC analysis, in which the retention factor was 0.42. Later on, solanine presence was identified in several parts of the eggplant fruit: cortex, peduncle and pulp (with seeds). Quantitation was performed only in the cortex extract, where it was found that there are 0.53 mg solanine/g corresponding to 70% of yield. Further characterization solanine showed as positive in Liebermann-Buchard test. The compound had a melting point of 283°C and high solubility in warm methanol. Besides, FT-IR spectrum of the extracted alkaloid was obtained and compared to a pure standard. An appropriate method for the extraction of solanine from cortex of eggplant was selected showing satisfactory results regarding compound purity.

INTRODUCCIÓN

La berenjena (Solanum melongena L.) es una planta dicotiledónea, herbácea y perenne de corta vida, pertenece a la familia Solanaceae. El fruto de la berenjena se consume mayormente en su etapa inmadura, cuando la semilla está tierna. (Conjunto tecnológico para la producción de Berenjena; 2006).

El fruto de la berenjena contiene altos valores nutritivos y puede ser comparado con el tomate como una gran fuente de vitaminas, fibra dietética y minerales especialmente hierro. Se ha utilizado en la medicina tradicional en el tratamiento del asma, la bronquitis y el cólera.

Las enfermedades hoy en día se proliferan de una manera muy rápida, en especial el cáncer. Por esta razón, alrededor de todo el mundo se buscan maneras y productos para prevenir o curar dicha enfermedad.

La solanina por ejemplo, es una sustancia potencialmente anticancerígena. Es un compuesto tóxico en concentraciones mayores a 2 mg/kg; sin embargo, en pequeñas dosis controladas, presenta actividad antiproliferativa, actúa contra las células cancerosas principalmente del colon e hígado. Estudios realizados revelan que ataca a las células malignas del cuello uterino, el linfoma y el estómago (Butnaru *et al.*, 2011; Ji & Gao, 2012).

La mayor fuente de obtención de este compuesto son los tubérculos de papa (*Solanum tuberosum*) (Wolf & Duggar, 2012).

Químicamente la solanina es un glicoalcaloide esteroidal, de fórmula elemental $C_{45}H_{73}NO_{15}$. Está constituida por un oligosacárido, un esteroide y un heterociclo que contiene nitrógeno tal como se muestra en la Figura 1.

Por la importancia de este compuesto químico, en el presente estudio se extrajo solanina del fruto de la berenjena (*Solanum melongena* L.) y se empleó espectroscopía de infrarrojos (FT-IR) como técnica instrumental para su análisis.

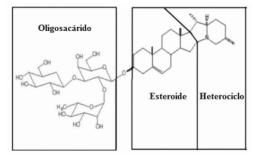


Figura 1. Estructura química de la solanina

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Se realizó un muestreo de tipo aleatorio simple. Se adquirieron los frutos de berenjena con características similares en cuanto a textura y color en supermercados locales de la ciudad de Quito, Ecuador.

Extracción

Para la obtención de la solanina, se acondicionaron tres métodos de extracción desarrollados para tubérculos de papa, que se describen a continuación:

Para el Método 1 se siguió el protocolo sugerido por Trease & Evans, (1988). Se pesaron 10 g de muestra fresca previamente cortada y homogenizada. Se licuó con 40 mL de una solución de ácido acético al 5% y etanol (1:9) por 5 minutos. La preparación se filtró al vacío utilizando tierras de diatomeas como medio filtrante. El filtrado se calentó a 90°C hasta reducir el volumen inicial al 50%. Se alcalinizó con 50 mL de hidróxido de amonio al 10%, se filtró nuevamente al vacío con tierras de diatomeas y se realizaron tres lavados con 5 mL de hidróxido de sodio 0.1 N. El residuo se lavó con 20 mL de ácido acético al 5%. Se realizó una última filtración y se evaporó el disolvente.

En el Método 2, se realizó una maceración con ácido acético, seguido de una extracción micro-Soxhlet, propuesta por Spoladore et al. (1983). Se pesaron 10 g de la muestra fresca previamente tratada y se maceró en un frasco ámbar con 40 mL de ácido acético al 2% por 48 horas. Se filtró y ajustó el pH a 9 con hidróxido de amonio 15 M. Se sometió a un baño maría a 85.5 °C por 5 horas. La preparación se mantuvo en refrigeración por 24 horas. El precipitado fue separado por centrifugación a 100 rpm durante 5 minutos. Se lavó el precipitado con dos porciones de 15 mL de hidróxido de amonio al 1%, se filtró y se secó a temperatura ambiente. El residuo se introdujo en un cartucho de celulosa que se colocó en la cámara de extracción del equipo de micro-Soxhlet. La extracción se realizó con 10 mL de etanol al 80% por 5 horas. Se eliminó el disolvente por evaporación.

En el Método 3, desarrollado por Caasi & Bernardo (1990), se maceró con metanol. Se pesaron 10 g de muestra fresca, cortada y homogenizada. Se colocó en un frasco ámbar con 50 mL de metanol absoluto, se agitó y se maceró por 24 horas. El ex-

tracto se sometió a baño maría a 50 °C por 4 horas. Se colocó por 30 minutos en un baño de ultrasonido. Se dejó enfriar a temperatura ambiente, se filtró y se lavó el papel filtro con tres porciones de 5 mL de metanol absoluto. La solución recolectada se evaporó hasta obtener un volumen de 2 mL aproximadamente y se adicionaron 5 mL de ácido clorhídrico al 1%, se mezcló y filtró. Se lavó el papel filtro con 5 mL de ácido clorhídrico al 1% y amoniaco concentrado (1:1), la solución del lavado se recolectó y se añadieron 5 mL de cloroformo. Se realizó una extracción líquido-líquido empleando tres porciones de 5 mL de cloroformo y etanol (3:2). Se recogió la fase orgánica y se evaporó el disolvente.

Una vez identificado el método de extracción de solanina más adecuado, se identificó la parte del fruto en el cual se encuentra presente el compuesto: cáscara, pedúnculo y pulpa con semillas.

Test de Liebermann-Burchard

La reacción de Liebermann-Burchard es una prueba colorimétrica cualitativa que se emplea en la identificación de estructuras esteroidales. Este test es positivo, cuando se evidencia un cambio de color hacia rojo, café o verde intenso.

Para el análisis, en un tubo de ensayo se preparó el reactivo que contiene 1 mL de anhídrido acético, 1 mL de cloroformo y 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Se añadieron 2 gotas de la muestra.

Determinación de punto de fusión y solubilidad

Como parte de las pruebas de identificación, se determinó el punto de fusión de la solanina en la placa caliente de Fischer y se ensayó su solubilidad en cloroformo, agua, metanol frío y metanol caliente.

Cromatografía de capa fina

La solanina extraída se identificó por cromatografía de capa fina (TLC, por sus siglas en inglés). Se utilizó como estándar solanina pura al 99% (Sigma Aldrich) y como disolvente una mezcla de cloroformo, metanol e hidróxido de amonio al 1% (7:3:1), de acuerdo con el procedimiento descrito por Friedaman, (2004). El revelado de las cromatoplacas de silicagel marca Merck 60G, se realizó con una solución de ácido sulfúrico concentrado y metanol (1:1).

Análisis infrarrojo

Para el análisis infrarrojo de la estructura química de la solanina extraída, las muestras se disolvieron en 5 mL de diclorometano y se colocaron 2 gotas directamente en el portamuestra del espectrofotómetro FT-IR Perkin Elmer modelo BTXII con acople ATR (reflectancia total atenuada, por sus siglas en inglés). Se obtuvieron los espectros IR experimentales de solanina, del estándar y se compararon con el espectro computacional.

RESULTADOS

De los métodos sugeridos para la extracción de solanina, el Método 3 correspondiente a la maceración con metanol absoluto, fue el más adecuado, debido a que mediante la prueba de TLC se identificó una mancha de color rojizo lo que nos indica la presencia del compuesto con un factor de retención (Rf) de 0.42, lo cual demuestra la polaridad de la molécula de solanina al emplear una mezcla de cloroformo, metanol e hidróxido de sodio. Empleando los Métodos 1 y 2, no se obtuvo un resultado positivo para la identificación de solanina.

Con el Método 3, se aplicó la extracción de solanina en la cáscara, pedúnculo y pulpa con semillas del fruto. Se determinó la presencia del compuesto únicamente en la cáscara, con una concentración de 0.53 mg/g cuantificado por gravimetría. En el pedúnculo y pulpa con semillas no se identificó solanina.

En la prueba cualitativa de Libermann-Burchard, se observó una coloración café-rojiza, identificando la presencia de una sustancia de naturaleza esteroidal.

La Tabla 1 indica el resultado de las pruebas físicas y químicas realizadas.

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas de la solanina

Estado Sólido Color Blanco Punto de fusión 283 °C Cloroformo (insoluble) Solubilidad Agua (poco soluble) Metanol caliente (soluble)

Propiedades físicas y químicas

En la Figura 2, se muestra el espectro infrarrojo de solanina extraída de la cáscara del fruto de berenjena (ver figura 2.a), el espectro IR del estándar

(ver figura 2.b) y el espectro IR de referencia (ver figura 2.c) obtenido de la literatura (Glossman, 2007).

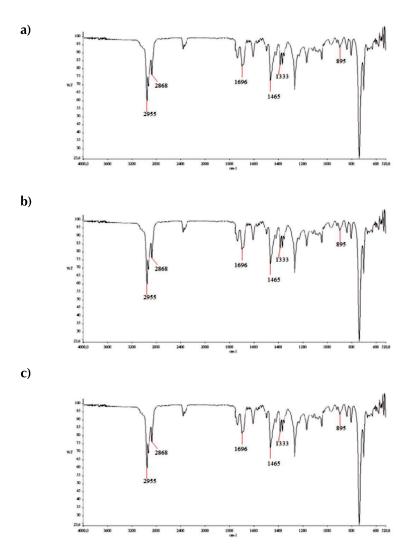


Figura 2. Espectros IR de solanina (a) experimental, (b) estándar y (c) de referencia

DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos en el proceso de extracción, el fruto de berenjena no contiene cantidades apreciables de solanina. Dos de los métodos propuestos que presentan rendimientos considerables de extracción de solanina en los tubérculos de papa, no fueron reproducibles usando una matriz diferente. En la extracción con metanol, se obtuvo un rendimiento de 70%, calculado con la ecuación (1), a diferencia del 90% propuesto por el autor en la extracción de solanina en papa (Martín, 2011).

Rendimiento =
$$\frac{M_1}{M_2}$$
 x 100 (1)

donde:

M₁: masa solanina obtenidaM₂: masa cáscara de berenjena100 = factor matemático

El rendimiento de la solanina obtenida, se ve afectado directamente por la polaridad del disolvente, debido a que en estudios previos se ha demostrado que el metanol a diferencia de otros compuestos, puede extraer hasta $4.290 \, \mu g/mg$ (extracto seco) de glicoalcaloides (TeagascFoof Research Centre, 2014).

El valor obtenido de Rf 0,42 para solanina por TLC, concuerda con lo reportado en la bibliografía (Sakhare, 2014), demostrando una polaridad intermedia.

En el análisis espectroscópico infrarrojo, en el espectro IR de la solanina presente en la cáscara de la berenjena, en comparación con el espectro IR del estándar y el espectro IR de referencial, se observó la concordancia de la mayoría de bandas. Se aprecia a 2955 y 2868 cm⁻¹ las vibraciones correspondientes al enlace C-H. A 1465 cm⁻¹ se asigna el enlace correspondiente al C-H- del cicloalcano presente en la estructura del compuesto. A 895 cm⁻¹ se visualiza la banda correspondiente a -CH2 y en 1333 cm⁻¹ se evidencia la vibración del enlace -CH₂-N de la estructura alcaloide de la solanina. La diferencia entre los espectros experimentales y el de referencia es la ausencia de la banda correspondiente al grupo -OH alrededor de los 3200-3500 cm⁻¹,

considerando que la estructura química de la solanina contiene 9 grupos hidroxilo. Esto se debe que a nivel teórico no se simulan las interacciones con el medio y experimentalmente el uso del ATR produce una especie de "apantallamiento", tal como sugieren varios autores (Rodríguez et al., 2013 y Brugnerotto et al., 2001).

El valor de correlación de los espectros IR obtenido fue de 0.9157, con lo que se puede identificar la presencia de solanina en la cáscara de berenjena; sin embargo, no se puede afirmar que sea solanina pura ya que el valor no es mayor a 0.98.

CONCLUSIONES

Se optimizó un método para la extracción de solanina por maceración con metanol a partir de la cáscara del fruto de berenjena (*Solanum melongena* L.). Se extrajeron 0.53 mg/g de solanina con un rendimiento del 70%. La identificación se realizó por TLC y espectroscopia de infrarrojos. El compuesto dio una reacción positiva en el test para compuestos esteroidales de Liebermann-Burchard. El punto de fusión fue de 283°C y su so-

lubilidad es elevada en metanol caliente e insoluble en agua.

Se sugiere complementar el estudio con el análisis por Resonancia Magnética Nuclear para determinar el tipo de isómero de solanina (a, b y g) extraído y cuantificar su contenido por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) con detector UV-Vis.

BIBLIOGRAFÍA

- Butnaru, C., Vlase, L. y Laz T, D. (2011). HPLC/MS analysis of solanine in physalis alkekengi and solanum dulcamara, *University of Medicine and Pharmacy*, 59, 2, 172-178.
- Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F., Argüelles-Monal W., Desbrieres, J. y Rinaudo, M., (2001), An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization, *Polymer*, 42, 3569-3580.
- Caasi Lit, M. y Bernardo, E. N. (1990). Mechanism of Resistance of Eggplant (*Solanum melongena Linn*.) to the Cotton Leafhopper, Amrasca biguttula (Ishida) II. Morphological and Biochemical Factors Associated with Resistance. *Philippine Journal of Crop Science*, 15, 2, 79-84.
- Friedman, M. (2004). Analysis of biologically active compounds in potatoes (Solanum tuberosum), tomatoes (Lycopersicon esculentum), and jimson weed (Datura stramonium) seeds, *Journal of Chromatography A*, 1054, 143-155.
- Glossman, D. (2007). "CHIH-DFT determination of the molecular structure and infrared and ultraviolet spectra of _-solanine", *ScienceDirect*, 66, 208-211.
- Martín, I. (2011). Determinación de glicoalcaloides: □-solanina y □-chaconina en patata mediante cromatografía de líquidos de ultra presión acoplada a espectrometría de masas de triple cuadrupolo. Trabajo fin de maestría, Universidad de Almería, España.
- Sakhare, A. (2014). Isolation of Solanine from Potato Leaves and Evaluation of Its Antimicrobial Activity. *International Journal of Science and Research*, 3, 11.
- Spoladore, D., Teixeira, M. y Feijão, J. (1983). ExtraÇão e isolamento de □-Solanina de brotos de batata. Bragantia, *Revista Científica do Instituto Agronômico Campinas*, 42, 5, 255-259.
- Trease, G. y Evans, W. (1988). *Alcaloides, Tratado de farmacognosia*, 12^{va} edición, Interamericana S.A., México, 495-501.

- Wolf, M. y Duggar, B. (2012). Estimation of Solanine in the potato, *Food and Drugs*, 73, 342-343.
- Ji, Y. y Gao, S.(2012). Antihepatocarcinoma Effect of Solanine and Its Mechanisms, Chinese Herbal Medicines, 4, 2, pp 126-135.
- Teagasc Food Research Centre, (2014). Recovery of glycoalkaloids from potato peels and effect of storage conditions on the glycoalkaloid content of five Irish grown potato cultivars. Ashtown, Ireland.
- Universidad de Puerto Rico, Estación Experimental Agrícola, (2006). *Conjunto tecnológico para la producción de Berenjena*, Publicación 165, Río Piedras, Puerto Rico.