

**Caracterización cualitativa de ácidos grasos y triacilglicéridos presentes en el aceite de las semillas de *Plukenetia volubilis* L. por cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS)**

Sandra Karina Restrepo Arango

Universidad Icesi

Facultad de Ciencias Naturales

Departamento de Ciencias Farmacéuticas

Programa de Química Farmacéutica

Santiago de Cali

2018

Caracterización cualitativa de ácidos grasos y triacilglicéridos presentes en el aceite de las semillas de *Plukenetia volubilis* L. por cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS)

Sandra Karina Restrepo Arango

Proyecto de grado para optar por el título de pregrado en Química Farmacéutica

Tutor

Guillermo León Montoya Peláez, Q.F Ph.D

Universidad Icesi

Facultad de Ciencias Naturales

Departamento de Ciencias Farmacéuticas

Programa de Química Farmacéutica

Santiago de Cali

2018

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios por iluminar cada parte del camino durante este proceso. A mis padres por enseñarme lo que me convirtió en lo que soy, por creer en mí y perseverar a mi lado, porque sin su apoyo nada de esto sería posible. A mis hermanos por ser una voz de aliento en cada momento. A mi tía Luz Marina por ser un apoyo cuando la necesite. Agradezco a Eduardo Rodríguez por su fortaleza, motivación, apoyo incondicional y enseñarme a disfrutar de cada experiencia.

Agradezco a mi Tutor el profesor Guillermo Montoya por su conocimiento, orientación, tiempo, paciencia y confianza que me ofreció durante el desarrollo de la investigación. Agradezco a Gustavo Gutiérrez por su disponibilidad y orientación en algunos momentos.

Agradezco a mis amigos que fueron fundamentales durante estos 5 años, por los momentos compartidos que nos permitieron aprender y crecer juntos a nivel personal y profesional, a quienes estuvieron desde el principio y a quienes conocí durante el camino.



**APROBADO POR:**

Guillermo León Montoya P.- Ph.D.  
Director del Proyecto.

Gerson Dirceu López M. - M. Sc.  
Evaluador.

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	13
1. INTRODUCCIÓN.....	14
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO .....	15
2.1 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	15
2.2 MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE .....	16
2.2.1 Descripción de Sacha Inchi.....	16
2.2.2 Potencial nutricional.....	17
2.2.3 Marcadores de composición. ....	17
2.2.4 Demanda y productividad. ....	18
2.2.5 Técnicas analíticas para la caracterización de aceites.....	19
3. OBJETIVOS .....	22
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	22
4. METODOLOGÍA.....	23
4.1 MUESTRA.....	23
4.2 COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE IONIZACIÓN .....	23
4.4 CONDICIONES ANALÍTICAS .....	23
4.5 ANÁLISIS METABÓLICO.....	24
5. RESULTADOS .....	25
6. ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS .....	29

7.	CONCLUSIONES .....	47
8.	RECOMENDACIONES.....	48
9.	BIBLIOGRAFÍA.....	49
10.	ANEXOS.....	53

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> TAGs identificados por HPLC-MS/APCI en aceite de Sacha Inchi.....	27
<b>Tabla 2.</b> Fragmentaciones TAGs identificados por HPLC-MS/APCI en aceite de Sacha Inchi.....	28

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Componentes de un espectrómetro de masas.....	21
<b>Figura 2.</b> Estructura molecular para el TAG (18:2,18:1,18:3) .....	38
<b>Figura 3.</b> Estructura molecular para el TAG (18:3,18:3,18:3) .....	41
<b>Figura 4.</b> Estructura molecular para el TAG (18:3,18:2,18:3) .....	53
<b>Figura 5.</b> Estructura molecular para el TAG (18:2,18:3,18:2) .....	54
<b>Figura 6.</b> Estructura molecular para el TAG (18:3,18:1,18:3).....	55
<b>Figura 7.</b> Estructura molecular para el TAG (16:0,18:3,18:3).....	56
<b>Figura 8.</b> Estructura molecular para el TAG (18:2,18:2,18:2).....	57
<b>Figura 9.</b> Estructura molecular para el TAG (16:0,18:2,18:3).....	58
<b>Figura 10.</b> Estructura molecular para el TAG (18:2,18:1,18:2).....	59
<b>Figura 11.</b> Estructura molecular para el TAG (18:1,18:3,18:1).....	60
<b>Figura 12.</b> Estructura molecular para el TAG (18:2,18:2,16:0).....	60
<b>Figura 13.</b> Estructura molecular para el TAG (16:0,18:1,18:3).....	61
<b>Figura 14.</b> Estructura molecular para el TAG (18:0,18:2,18:3).....	62
<b>Figura 15.</b> Estructura molecular para el TAG (18:1,18:2,18:1).....	63
<b>Figura 16.</b> Estructura molecular para el TAG (18:1,18:2,16:0).....	64
<b>Figura 17.</b> Estructura molecular para el TAG (18:0,18:2,18:2).....	65

**Figura 18.** Estructura molecular para el TAG (18:0,18:2,18:1).....66

**Figura 19.** Estructura molecular para el TAG (18:1,18,1,18:1).....67

## LISTA DE ESQUEMAS

	<b>Pág.</b>
<b>Esquema 1.</b> Reordenamiento de McLafferty general de TAGs.....	31
<b>Esquema 2.</b> Mecanismo de reordenamiento general TAGs para la pérdida de la cadena de acilo del AG.....	31
<b>Esquema 3.</b> Reordenamiento de McLafferty para TAG (18:2,18:1,18:3) para la pérdida de 18:3.....	32
<b>Esquema 4.</b> Reordenamiento de McLafferty para TAG (18:2,18:1,18:3) para la pérdida de 18:2.....	33
<b>Esquema 5.</b> Reordenamiento de McLafferty para TAG (18:2,18:1,18:3) para la pérdida de 18:1.....	34
<b>Esquema 6.</b> Pérdida de la cadena de acilo del AG 18:3 del TAG (18:2,18:1,18:3).....	35
<b>Esquema 7.</b> Pérdida de la cadena de acilo del AG 18:2 del TAG (18:2,18:1,18:3).....	36
<b>Esquema 8.</b> Pérdida de la cadena de acilo del AG 18:1 del TAG (18:2,18:1,18:3).....	37
<b>Esquema 9.</b> Reordenamiento de McLafferty para TAG (18:3,18:3,18:3) para la pérdida de 18:3.....	39
<b>Esquema 10.</b> Pérdida de la cadena de acilo del AG 18:3 del TAG (18:3,18:3,18:3).....	40

## LISTA DE GRAFICOS

	Pág.
<b>Gráfico 1.</b> Cromatograma de iones totales de aceite de Sacha Inchi.....	25
<b>Gráfico 2.</b> Cromatograma de iones totales de TAGs en el aceite de Sacha Inchi.....	25
<b>Gráfico 3.</b> Espectro de masas totales con ionización por APCI de TAGs presentes en una muestra de aceite de Sacha Inchi.....	26
<b>Gráfico 4.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (18:2,18:1,18:3).....	38
<b>Gráfico 5.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (18:3,18:3,18:3).....	41
<b>Gráfico 6.</b> Porcentaje de aparición de los AG en los 18 TAG identificados.....	45
<b>Gráfico 7.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (18:3,18:2,18:3) a TR (74,91 min).....	53
<b>Gráfico 8.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (18:2,18:3,18:2) a TR (78,21 min)....	54
<b>Gráfico 9.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (18:3,18:1,18:3) a TR (79,56 min)....	55
<b>Gráfico 10.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (16:0,18:3,18:3) a TR (80,78 min)...	56
<b>Gráfico 11.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (18:2,18:2,18:2) a TR (82,30 min)...	57
<b>Gráfico 12.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (16:0,18:2,18:3) a TR (84,55 min)...	58
<b>Gráfico 13.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (18:2,18:1,18:2) a TR (87,56 min)...	59
<b>Gráfico 14.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (18:1,18:3,18:1) y TAG (18:2,18:2,16:0) a TR (88,53 min).....	61
<b>Gráfico 15.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (16:0,18:1,18:3) a TR (89,92 min)...	62

<b>Gráfico 16.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (18:0,18:2,18:3) a TR (91,21 min)...	63
<b>Gráfico 17.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (18:1,18:2,18:1) a TR (92,81 min)...	64
<b>Gráfico 18.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (18:1,18:2,16:0) a TR (93,87 min)...	65
<b>Gráfico 19.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (18:0,18:2,18:2) .....	66
<b>Gráfico 20.</b> Espectro de masas por APCI de TAG (18:0,18:1,18:2) y TAG (18:1,18,1,18:1) a TR (96,57 min).....	67

## RESUMEN

Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) es una planta amazónica cuyo aceite obtenido principalmente de las semillas, tiene un gran potencial agroindustrial. Actualmente en Colombia con la firma del proceso de paz con las Farc, se están desarrollando proyectos productivos en los departamentos más afectados por la violencia. Esto con el fin sustituir cultivos ilícitos de coca por otras plantas con potencialidad comercial, entre las cuales se encuentra Sacha Inchi.

Sin embargo, aunque existe información sobre la composición química de aceites provenientes de las semillas de Sacha Inchi en la literatura, la contaminación en los procesos productivos y el alto contenido de ácidos grasos insaturados los hace susceptibles a la degradación por autoxidación. De ahí que, con el propósito de proporcionar información para el establecimiento de metodologías analíticas sobre la composición química del aceite de las semillas de Sacha Inchi en la Universidad Icesi, como posible herramienta para verificar la calidad de los aceites comerciales; este proyecto consistió en caracterizar los ácidos grasos y triacilglicéridos presentes en un aceite comercial, producido por la empresa Nutresacha ubicada en el Departamento del Cauca.

La caracterización se realizó mediante cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (Orbitrap LC-MS), en donde se determinó la mejor técnica de ionización entre Electrospray e Ionización química a presión atmosférica; obteniendo mediante esta última una mejor producción de iones. Finalmente se lograron caracterizar 18 triacilglicéridos diferentes, compuestos por ácidos grasos insaturados de cadena larga principalmente, además se realizó una propuesta de mecanismo de fragmentación justificando su estructura. Estos triacilgliceridos pueden ser utilizados como indicadores de composición y calidad de este tipo de aceites vegetales.

Palabras claves: *Sacha Inchi, aceite, ácidos grasos, triacilglicéridos, espectrometría de masas, Ionización, calidad.*

## 1. INTRODUCCIÓN

*Plukenetia volubilis* L comúnmente conocida como Sacha Inchi, es una enredadera oleaginosa perteneciente a la familia Euphorbiaceae (Ferreira Valente, Maia Chaves, Gomes Lopes, Myiosi Oka, & Ferreira Rodrigues, 2017). Es una planta endémica de las selvas tropicales de la Amazonia peruana, colombiana, venezolana y brasileña (Bordignon, Bovi Ambrosano, & Rodrigues Viegas, 2012). Ha sido cultivada y consumida ampliamente por los indígenas del Perú, dicha dieta constituida principalmente por harina y aceite a partir de las semillas (Guillén, Ruiz, Cabo, Chirinos, & Pascual, 2003). Estas semillas cuentan con gran contenido de aceite (35–60%), el cual es rico en ácidos grasos poliinsaturados como linolenico y  $\alpha$ -linoleico, que se consideran importantes desde el punto de vista nutricional (Castaño T, Valencia G, Murillo P, Mendez A, & Eras Joli, 2012a).

En la actualidad, se sabe que los ácidos grasos (AG) poliinsaturados son beneficiosos para la salud puesto que proporcionan protección principalmente contra las enfermedades cardiovasculares, la artritis reumatoide y el cáncer (Guillén et al., 2003). Tales beneficios hacen del aceite de Sacha Inchi un producto promisorio para la industria alimentaria y nutracéutica (Guillén et al., 2003). En la industria alimentaria se puede utilizar para la fabricación de productos de panadería, lácteos y bocadillos y en la nutracéutica en la fabricación de suplementos dietarios, productos de nutrición infantil y nutrición clínica; además de ser usado en la industria cosmética (Castaño T, Valencia G, Murillo P, Mendez A, & Eras Joli, 2012b; Guillén et al., 2003).

Es por esto que Sacha Inchi se considera una planta con potencial agroindustrial en la implementación de proyectos productivos en la región amazónica y a su vez, nace la necesidad de establecer metodologías analíticas para determinar la calidad y autenticidad de los aceites que se comercializan. Por lo anterior, este proyecto tuvo como propósito caracterizar cualitativamente los ácidos grasos y triacilglicéridos (TAG) presentes en el aceite comercial extravigen de una empresa ubicada en Santander de Quilichao.

## 2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

### 2.1 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Sacha Inchi tiene un gran potencial agroindustrial basado principalmente en la comercialización y aceptación internacional de su aceite (Ramos Escudero, 2014). No obstante, La creciente demanda de nuevos productos en el país, ha conllevado a la investigación de nuevos compuestos a partir de fuentes naturales; para el desarrollo de productos fitoterapéuticos, cosméticos y suplementos dietarios. Debido a esto, se hace necesario conocer las características químicas de las fuentes naturales con uso potencial, tal como las semillas de *Plukenetia volubilis* L. Estudios realizados muestran que Sacha Inchi es una fuente importante de aceite, comparable a otras de alto reconocimiento como la soya, el maíz, el maní, el girasol y la palma. También, se ha determinado que por su valor nutricional puede competir con el aceite de oliva, el de mayor venta en el mundo (Castaño T et al., 2012b).

A nivel industrial y comercial, para poder desarrollar productos como suplementos dietarios, se requiere conocer la composición química, en cuanto a contenido de carbohidratos, proteínas, lípidos, vitaminas, aceites volátiles, entre otros; y así soportar su contenido nutricional. Desde el punto de vista de los productos cosméticos y fitoterapéuticos, se hace importante conocer la composición química, por las características organolépticas que puede aportar y la estabilidad del producto comercial obtenido.

Adicionalmente, Sacha Inchi es una de las distintas plantas crecientes en el trópico que se han propuesto como alternativa productiva, dentro de los proyectos desarrollados por la dirección de sustitución de cultivos ilícitos (DCSI) en Colombia. En putumayo, uno de los departamentos más afectados por la violencia y con uno de los índices más altos en hectáreas de coca sembrada en el país, 11.385 familias están suscritas al proyecto que busca terminar con los cultivos ilegales de coca y emprender otras rutas de sostenibilidad económica; también se pretende la implementación de estos proyectos en otros departamentos como Guaviare y Cauca (Alta consejería presidencial para el

Postconflicto, 2018). Así mismo, la gobernación del departamento del Cauca, está socializando proyectos encaminados a incentivar a los productores de la planta a transformar la materia prima en productos con valor agregado; de ser así, Sacha Inchi es uno de los cultivos promisorios para el desarrollo económico de las familias campesinas antiguamente sembradoras de coca (Gobernación del cauca, 2018).

Por tal razón, la pregunta de investigación de este proyecto es si ¿en Colombia, es necesario la caracterización de los compuestos químicos presentes en el aceite de las semillas de Sacha Inchi? teniendo en cuenta que, una información detallada sobre la composición química de Sacha Inchi en cultivos colombianos representa una necesidad latente, para poder que este cultivo sea una alternativa agroindustrial competitiva en los mercados internacionales. Este desafío ha sido aceptado en algunos países latinoamericanos, especialmente Perú, sin embargo, en Colombia es muy poco lo que se ha logrado hasta ahora (Castaño T et al., 2012b). De acuerdo a lo anterior, este proyecto tiene como propósito proporcionar información para el establecimiento de metodologías de análisis rápida en la Universidad Icesi sobre la composición química; principalmente ácidos grasos y triacilglicéridos, del aceite de las semillas de *Plukenetia volubilis* L., como posible herramienta para verificar la calidad de los aceites comerciales de Sacha Inchi.

## **2.2 MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE**

**2.2.1 Descripción de Sacha Inchi.** Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) es una enredadera oleaginosa proveniente de los bosques tropicales de la amazonia peruana, colombiana, venezolana y brasileña (Ferreira Valente, Maia Chaves, et al., 2017). Sin embargo, la semilla de esta planta históricamente ha hecho parte en la dieta de pueblos indígenas del Perú, por lo cual la mayoría de información disponible sobre la agronomía de Sacha Inchi es resultante de investigaciones realizadas en la amazonia peruana (Ferreira Valente, Maia Chaves, et al., 2017).

Por otro lado, la descripción botánica de Sacha Inchi corresponde al orden Euphorbiales, la familia Euphorbiaceae, el género *Plukenetia* y la especie: *volubilis* Linneo (Bondioli, Della Bella, & Rettke, 2006).

**2.2.2 Potencial nutricional.** Las semillas de Sacha Inchi contienen principalmente grasas y proteínas, y en menor proporción carbohidratos, vitaminas, esteroides y minerales. Las proporciones en que se encuentran estos componentes difieren según el origen de la semilla, el momento de cosecha y la metodología de extracción y análisis (Flores & Lock, 2012). No obstante, el contenido de aceite en la semilla de Sacha Inchi alcanza aproximadamente un 54% y se encuentra en mayor proporción que en las semillas de soja, cacahuete, algodón y girasol. Por otra parte, el aceite mencionado contiene altos niveles de AG insaturados (linoleico y  $\alpha$ -linoleico) en porcentajes que oscilan entre 45,2% y 36,8%, respectivamente (Ferreira Valente, Maia Chaves, et al., 2017; Flores & Lock, 2012).

Los AG poliinsaturados (linoleico y  $\alpha$ -linoleico) son llamados esenciales para el cuerpo humano porque no pueden ser sintetizados por el organismo pero son necesarios para el funcionamiento del mismo, de tal manera que deben ser suministrados en los alimentos y en la dieta (Ferreira Valente, Maia Chaves, et al., 2017; Flores & Lock, 2012). Tras la ingesta de este aceite en cantidades suficientes, se produce una disminución de los triglicéridos que se traduce en la prevención de enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis y enfermedades neuromusculares, además puede ser útil para enfermedades de la piel y cabello (Ferreira Valente, Maia Chaves, et al., 2017; Flores & Lock, 2012). También se ha encontrado que pueden desempeñar un papel beneficioso en la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 (Sokoła-Wysoczańska et al., 2018).

**2.2.3 Marcadores de composición.** La falta de control en los procesos productivos y la presencia de grandes cantidades de AG poliinsaturados, hace que los aceites comerciales de Sacha Inchi sean más susceptibles a la contaminación y a la degradación oxidativa. Lo anterior puede presentarse durante la cosecha, la extracción, la preparación, el transporte o el almacenamiento de los aceites (Ramos Escudero, 2014). Sin embargo, los cambios químicos se pueden comprobar mediante el seguimiento de marcadores de composición, que le dan las características nutricionales, tales como los AG, triacilglicéridos, proteínas, entre otros.

**2.2.3.1 Ácidos grasos.** Los AG son estructuras que se caracterizan por la presencia de un ácido carboxílico en un extremo, con un sustituyente correspondiente a una larga cadena de átomos de carbono, cuyo tamaño de la cadena puede variar en número. De tal manera que la presencia de AG en los aceites de Sacha Inchi son indicadores de la autenticidad del aceite (Ramos Escudero, 2014).

En el caso de los AG insaturados estos pueden ser monoinsaturados, con un solo enlace doble o ácidos grasos poliinsaturados, con doble enlace (omega-6) y triple enlace (omega -3). En la familia omega -3 el primer doble enlace se encuentra en el tercer carbono del extremo de la cadena y en el caso de la familia omega-6, el primer doble enlace aparece en el sexto carbono (Sokoła-Wysoczańska et al., 2018).

**2.2.3.2 Triacilgliceroles.** Los triacilgliceroles o triglicéridos son compuestos que parten de una molécula de glicerol unida a 3 ácidos grasos. Estos también constituyen una medida de la calidad y autenticidad de los aceites comerciales, puesto que varían de un aceite a otro (Ramos Escudero, 2014).

**2.2.4 Demanda y productividad.** El Sacha Inchi crece en la región de los Andes tropicales de Suramérica. Aunque Perú es el país con la producción más importante con un referente del 87% de las ofertas comerciales, también se produce en Brasil, Colombia, Ecuador, Venezuela y las Islas de Barlovento (“Investigación de Mercado SACHA INCHI Compilado para SUPPO por ProFound – Advisers in Development,” 2008).

La industria peruana, se ha fortalecido por el incremento en la demanda de aceite proveniente de las semillas de Sacha Inchi; sin embargo, las diferencias que presentan en los cultivos indican una variabilidad en la calidad del aceite y el potencial de rendimiento (Ferreira Valente, Maia Chaves, et al., 2017). Por otro lado, en países como Brasil, el aceite de Sacha Inchi se produce a mano sin la información precisa sobre la composición química de las semillas, además las investigaciones se han dirigido principalmente a la propagación in vitro y no en la determinación de las características de los cultivos (Ferreira Valente, Maia Chaves, et al., 2017). De esta manera, el cultivo de Sacha Inchi se ha expandido por diferentes regiones de este país, por lo que estudios

actuales, buscan proporcionar información para la identificación de genotipos superiores, cuyas características agronómicas sean deseables y fenotípicamente reproducibles. Todo esto, con el fin de obtener aceites con potencial comercial e interesantes para el desarrollo de programas de agricultura familiar (Ferreira Valente, Gomes Lopes, Maia Chaves, Mendes Oliveira, & Bilby de Freitas, 2017).

El aceite de Sacha Inchi no solo tiene utilidad alimentaria por su potencial nutricional, sino también como materia prima en la industria cosmética. Un estudio sobre la evaluación de la eficacia cosmética de una crema facial con aceite de Sacha Inchi, evidenció un aumento significativo de la firmeza y de la elasticidad de la piel de las voluntarias (Mosquera Tatiana; Noriega Paco; Tapia Wilson; Pérez Silvia, 2012).

**2.2.5 Técnicas analíticas para la caracterización de aceites.** Normalmente las metodologías para la determinación de AG utilizadas en la literatura, consisten en la derivatización de estos compuestos en ésteres volátiles para su posterior análisis. En un estudio realizado de caracterización de AG y la fracción lipídica de Sacha Inchi en la Universidad Nacional de Colombia, una vez se hizo la conversión de estos compuestos en ésteres metílicos, la muestra se analizó por cromatografía de gases, no sin antes realizar una extracción de la fracción lipídica con diferentes solventes orgánicos (Gutiérrez, Rosada, & Jiménez, 2011). En otro estudio realizado en la Universidad del Tolima, se realizó la derivatización de los AG y posteriormente, la identificación y cuantificación se llevó a cabo por cromatografía de gases (CG-FID) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría masas (CG-EM) (Castaño T et al., 2012b). No obstante, la técnica de derivatización implica la posible pérdida de algunos compuestos que no alcanzan a reaccionar y por otra parte involucra un mayor gasto de reactivos de alta toxicidad.

**2.2.5.1 Caracterización por espectrometría de masas.** La espectrometría de masas, es una técnica que permite identificar compuestos presentes en una muestra y también determinar su concentración (Skoog, Holler, & Crouch, 2009). Como técnica de detección en comparación con las convencionales, la espectrometría de masas identifica analitos

con resultados más fiables (Romero-González, French, & Vidal, 2010). En moléculas de elevado peso molecular su interés principal es la identificación estructural.

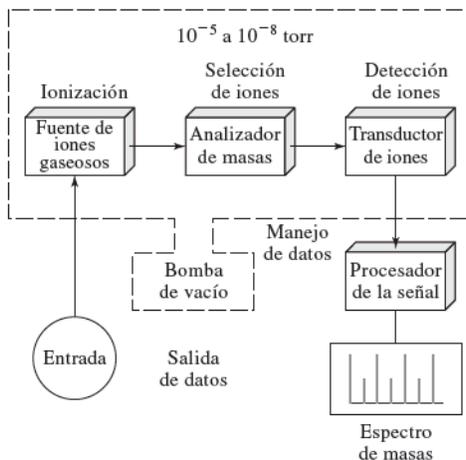
El instrumento utilizado en esta técnica se denomina espectrómetro de masas, su funcionamiento consiste en la producción y separación de iones de acuerdo con la relación masa/carga ( $m/z$ ); como la carga del ion es 1 para la mayoría de los iones, esta relación corresponde generalmente al número de la masa de manera adimensional (Skoog et al., 2009).

- **Componentes del espectrómetro de masas.** Un espectrómetro de masas está compuesto básicamente por las unidades representadas en la figura 1. El sistema de entrada, es por donde se ingresa la muestra a la fuente de iones; aquí la muestra es transformada en iones gaseosos, que puede llevarse a cabo por bombardeo de electrones, fotones, iones, moléculas o mediante la aplicación de energía térmica o eléctrica (Skoog et al., 2009).

La ionización por electrospray (ESI) y la ionización química por presión atmosférica (APCI) son las fuentes de ionización utilizadas con frecuencia en la actualidad, puesto que proporcionan un proceso de ionización con pocos iones, comúnmente el ion molecular y tres o cuatro fragmentos adicionales. Por un lado, la técnica recomendada para la ionización de compuestos polares, ionizados y de alto peso molecular es ESI, mientras que para la ionización de compuestos menos polares se usa APCI (Romero-González et al., 2010). Como se dijo anteriormente, la técnica de ionización determina las fragmentaciones y a su vez la resolución del espectro obtenido.

Una vez ocurre la ionización, los iones pasan por el analizador de masas, el cual se encarga de su separación y dispersión, teniendo en cuenta la relación  $m/z$  del analito. Posteriormente, ocurre la conversión del haz de iones en una señal eléctrica mediante un transductor, para que la señal sea procesada, almacenada y mostrada en un computador. Por otro lado, se requiere de una bomba de vacío para mantener la presión baja en el sistema, con el fin que se disminuya la probabilidad de las colisiones, y los iones se conserven en su estado libre (Skoog et al., 2009).

**Figura 2.** Componentes de un espectrómetro de masas



Fuente: (Skoog et al., 2009)

Teniendo en cuenta lo anteriormente descrito sobre los aspectos nutricionales del consumo del aceite comercial y el impacto a nivel social que tiene la producción de Sacha Inchi en la región amazónica, es importante presentar información detallada sobre la composición química de los aceites producidos y así asegurar la calidad del mismo. Por lo cual técnicas analíticas como la MS, puede brindar una caracterización rápida y segura que permitan el desarrollo de proyectos productivos sustentables basados en evidencia científica.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar cualitativamente los ácidos grasos y triacilglicéridos en el aceite de las semillas de la planta *Plukenetia volubilis* L.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

**3.2.1** Determinar la mejor técnica de ionización para ácidos grasos y triacilglicéridos entre electrospray (ESI) e ionización química por presión atmosférica (APCI).

**3.2.2** Caracterizar químicamente y analizar metabólicamente las moléculas presentes en el aceite.

## **4. METODOLOGÍA**

### **4.1 MUESTRA**

Para la realización de los ensayos se obtuvo la cantidad suficiente de aceite comercial extravirgen de Sacha Inchi proveniente de la empresa Nutresacha, ubicada en Santander de Quilichao, Departamento del Cauca.

### **4.2 COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE IONIZACIÓN**

La comparación de las técnicas de ionización se hizo mediante una revisión bibliográfica teniendo en cuenta las características de los triacilglicéridos, en donde se estableció que la mejor técnica de ionización es APCI.

### **4.3 REACTIVOS**

Los reactivos que se utilizaron fueron los correspondientes a la fase móvil: agua purificada, ácido acético y metanol grado HPLC.

### **4.4 CONDICIONES ANALÍTICAS**

La caracterización de los TAG se logró mediante HPLC-MS con un acople a fuente de ionización APCI. El analizador de masas utilizado fue Orbitrap con una resolución de 70000. Se usó una columna cromatográfica Develosil 3u RP –Aqueus C30 140A CH0-5998 (150 mm x 2.0 mm). El análisis de masas se realizó en modo full scan en un rango de 140,0 a 2000,0 *m/z*.

La fuente de ionización APCI fue operada en modo positivo con un flujo de 23  $\mu\text{L}/\text{min}$  para la nebulización del gas nitrógeno ( $\text{N}_2$ ), con una corriente de descarga de 4,00  $\mu\text{A}$ , una temperatura capilar de 238°C y una temperatura de vaporización 375°C. El automuestreador se trabajó a una temperatura de 15,0  $\pm$  1 °C con una temperatura de seguridad de 4-45°C y el horno de columna se trabajó a una temperatura de 30°C.

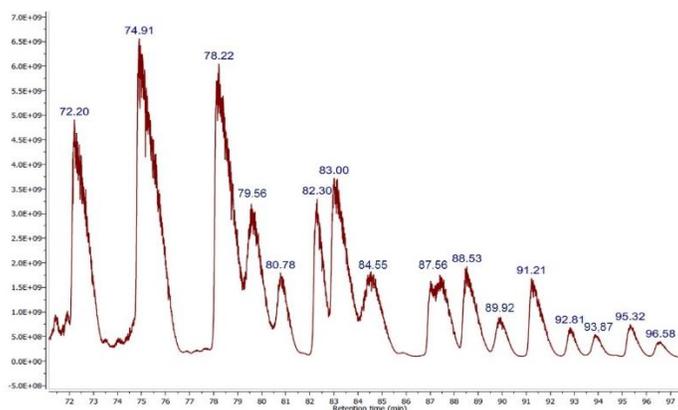
La corrida se llevó a cabo en un tiempo de 0-90 minutos, con un tiempo de recuperación del método de 30 minutos, el gradiente fue 0,4 mL/min de los solventes agua: ácido acético 0,01% (A) y metanol: ácido acético 0,01% (B), con una proporción inicial de B del 30% incrementando en un 10% cada 10 minutos aproximadamente.

#### **4.5 ANÁLISIS METABÓLICO**

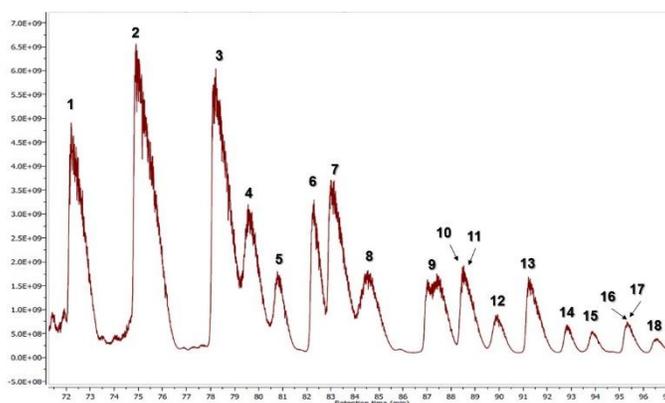
Se realizó el análisis químico y metabólico de los compuestos presente en el aceite, procesando la información obtenida en los espectros de masas mediante el software Mestrenova 11.0. Para ello se observó la relación  $m/z$  y se procedió a la elucidación de cada ion resultante y seguidamente se estableció el número de carbonos que contienen, el número de insaturaciones presentes en la estructura y por tanto el tipo de AG que compone cada TAG.

## 5. RESULTADOS

En primer lugar, se hizo una revisión bibliográfica sobre la mejor técnica de ionización entre ESI y APCI, de lo que se concluyó que APCI es la mejor técnica para la caracterización de TAGs puesto que con esta se logra una mayor producción de iones. Por tal razón la caracterización cualitativa de los TAGs presentes en la muestra de aceite de Sacha Inchi, se realizó mediante HPLC-MS/APCI. En el **gráfico 1**, se presenta el cromatograma de iones totales con los respectivos tiempos de retención y en el **gráfico 2**, los diferentes triacilgliceridos identificados de acuerdo a la **tabla 1** en cada uno de esos tiempos.

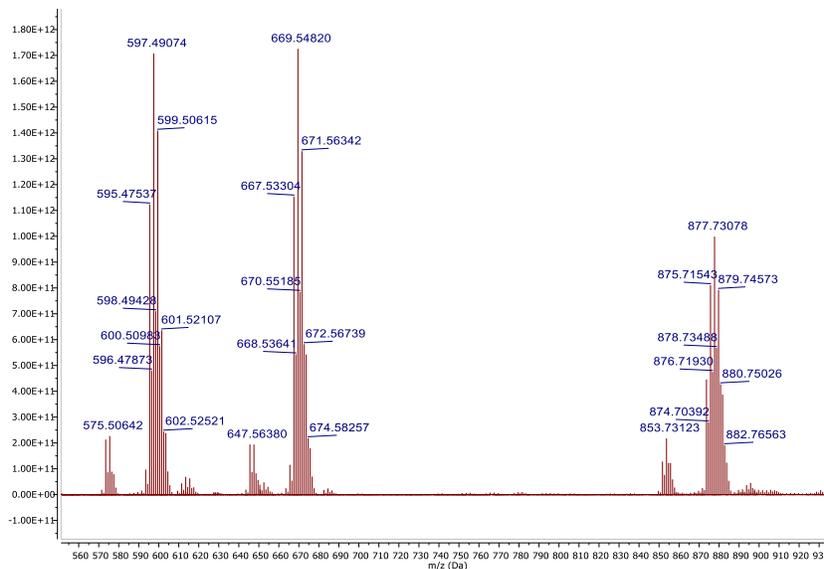


**Gráfico 1.** Cromatograma de iones totales de aceite de Sacha Inchi.



**Gráfico 2.** Cromatograma de iones totales de TAGs en el aceite de Sacha Inchi.

Por otro lado, en el **gráfico 3** se muestra los  $m/z$  totales obtenidos por APCI en modo positivo y las principales fragmentaciones que se obtuvieron del análisis de masas de alta resolución.



**Gráfico 3.** Espectro de masas totales con ionización por APCI de TAGs presentes en una muestra de aceite de Sacha Inchi.

Consecutivamente se presentan en la **tabla 1** los 18 triacilgliceridos detectados en el análisis, los tiempos de retención a los que eluyeron, las masas exactas, los iones moleculares teóricos y experimentales de cada uno de ellos. Adicionalmente se estableció el error en ppm utilizando la **ecuación 1**.

$$Error\ en\ ppm = \frac{m/z\ teórico - m/z\ experimental}{m/z\ teórico} * 10^6$$

**Ecuación 1.** Calculo de error masas en ppm (Brenton & Godfrey, 2010).

**Tabla 1.** TAGs identificados por HPLC-MS/APCI en aceite de Sacha Inchi

Número	TAG	Formula molecular	Masa exacta	Tiempo de retención	$m/z$ [M+H] <sup>+</sup> Teórico	$m/z$ [M+H] <sup>+</sup> Experimental	Error (ppm)
1	18:3,18:3,18:3	C <sub>57</sub> H <sub>92</sub> O <sub>6</sub>	872,68939	72,21	873,69667	873,70065	4,56
2	18:3,18:2,18:3/ 18:3,18:3,18:2	C <sub>57</sub> H <sub>94</sub> O <sub>6</sub>	874,70504	74,91	875,71232	875,71615	4,37
3	18:2,18:3,18:2/ 18:2,18:2,18:3	C <sub>57</sub> H <sub>96</sub> O <sub>6</sub>	876,72069	78,21	877,72797	877,73164	4,18
4	18:3,18:1,18:3/ 18:3,18:3,18:1	C <sub>57</sub> H <sub>96</sub> O <sub>6</sub>	876,72069	79,56	877,72797	877,73173	4,28
5	16:0,18:3,18:3/ 18:3,16:0,18:3	C <sub>55</sub> H <sub>94</sub> O <sub>6</sub>	850,70504	80,78	851,71232	851,71636	4,74
6	18:2,18:2,18:2	C <sub>57</sub> H <sub>98</sub> O <sub>6</sub>	878,73634	82,30	879,74362	879,73886	5,41
7	18:2,18:1,18:3/ 18:1,18:2,18:3/ 18:1,18:3,18:2	C <sub>57</sub> H <sub>98</sub> O <sub>6</sub>	878,73634	83,01	879,74362	879,74732	4,21
8	16:0,18:2,18:3/ 18:2,16:0,18:3/ 16:0,18:3,18:2	C <sub>55</sub> H <sub>96</sub> O <sub>6</sub>	852,72069	84,55	853,72797	853,73186	4,56
9	18:2,18:1,18:2/ 18:2,18:2,18:1	C <sub>57</sub> H <sub>100</sub> O <sub>6</sub>	880,75199	87,56	881,75927	881,76293	4,15
10	18:1,18:3,18:1/ 18:1,18:1,18:3	C <sub>57</sub> H <sub>100</sub> O <sub>6</sub>	880,75199	88,53	881,75927	881,76353	4,83
11	18:2,18:2,16:0/ 18:2,16:0,18:2	C <sub>55</sub> H <sub>98</sub> O <sub>6</sub>	854,73634	88,53	855,74362	855,74787	4,97
12	16:0,18:1,18:3/ 18:1,16:0,18:3/ 18:1,18:3,16:0	C <sub>55</sub> H <sub>98</sub> O <sub>6</sub>	854,73634	89,92	855,74362	855,74765	4,71
13	18:0,18:2,18:3/ 18:0,18:3,18:2/ 18:2,18:0,18:3	C <sub>57</sub> H <sub>100</sub> O <sub>6</sub>	880,75199	91,21	881,75927	881,76251	3,67
14	18:1,18:2,18:1/ 18:2,18:1,18:1	C <sub>57</sub> H <sub>102</sub> O <sub>6</sub>	882,76764	92,81	883,77492	883,77892	4,53
15	18:2,18:1,16:0/ 18:1,18:2,16:0/ 18:2,16:0,18:1	C <sub>55</sub> H <sub>100</sub> O <sub>6</sub>	856,75199	93,87	857,75927	857,76335	4,76
16	18:0,18:2,18:2/ 18:2,18:0,18:2	C <sub>57</sub> H <sub>102</sub> O <sub>6</sub>	882,76764	95,31	883,77492	883,77857	4,13
17	18:1,18,1,18:1	C <sub>57</sub> H <sub>104</sub> O <sub>6</sub>	884,78329	95,33	885,79057	885,78580	5,39
18	18:0,18:1,18:3/ 18:1,18:0,18:3/ 18:0,18:3,18:1	C <sub>57</sub> H <sub>102</sub> O <sub>6</sub>	882,76764	96,57	883,77492	883,77879	4,38

Además, se observa una ionización simple característica de una fuente APCI en la cual, se evidencia la presencia del ion molecular del TAG  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> con una producción y 2 fragmentaciones características para cada AG que lo componen. En la **tabla 2**, se clasificaron los fragmentos de cada uno de los 18 TAGs identificados y las pérdidas correspondientes; cabe aclarar que las pérdidas presentadas solo corresponden a 5 AG específicos, los cuales son palmítico (16:0), esteárico (18:0), oleico (18:1), linoleico (18:2) y  $\alpha$ -linolénico (18:3).

**Tabla 2.** Fragmentaciones TAGs identificados por HPLC-MS/APCI en aceite de Sacha Inchi.

N	TGA	m/z [M+H] <sup>+</sup>	Perdida AG			Perdida de la cadena de acilo del AG				
			Fragmento ion	m/z	Perdida	Fragmento ion	m/z	Perdida		
1	18:3,18:3,18:3	873,70065	18:3,18:3	595,47521	18:3	278,22544	C <sub>42</sub> H <sub>67</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	667,53290	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub>	206,16775
2	18:3,18:2,18:3/ 18:3,18:3,18:2	875,71615	18:3,18:2	597,49058	18:3	278,22557	C <sub>42</sub> H <sub>69</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	669,54823	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub>	206,16792
			18:3,18:3	595,47541	18:2	280,24074	C <sub>42</sub> H <sub>67</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	667,53304	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208,18311
3	18:2,18:3,18:2/ 18:2,18:2,18:3	877,73164	18:3,18:2	597,49082	18:2	280,24082	C <sub>42</sub> H <sub>69</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	669,54851	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208,18313
			18:2,18:2	599,50592	18:3	278,22572	C <sub>42</sub> H <sub>71</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	671,56303	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub>	206,16861
4	18:3,18:1,18:3/ 18:3,18:3,18:1	877,73173	18:3,18:1	599,50637	18:3	278,22536	C <sub>42</sub> H <sub>71</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	671,56406	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub>	206,16767
			18:3,18:3	595,47542	18:1	282,25631	C <sub>42</sub> H <sub>67</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	667,53306	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210,19867
5	16:0,18:3,18:3 18:3,16:0,18:3	851,71636	16:0,18:3	573,49107	18:3	278,22529	C <sub>40</sub> H <sub>69</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	645,54877	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub>	206,16759
			18:3,18:3	595,47530	16:0	256,24106	C <sub>42</sub> H <sub>67</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	667,53286	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184,18350
6	18:2,18:2,18:2	879,73886	18:2,18:2	599,50663	18:2	280,24095	C <sub>42</sub> H <sub>71</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	671,56433	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208,17453
			18:1,18:2	601,52175	18:3	278,22557	C <sub>42</sub> H <sub>73</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	673,57925	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub>	206,16807
			18:3,18:1	599,50641	18:2	280,24091	C <sub>42</sub> H <sub>71</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	671,56377	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208,18355
7	18:2,18:1,18:3/ 18:1,18:2,18:3/ 18:1,18:3,18:2	879,74732	18:3,18:2	597,49103	18:1	282,25629	C <sub>42</sub> H <sub>69</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	669,54865	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210,19867
			18:3,18:2	597,49087	16:0	256,24099	C <sub>42</sub> H <sub>69</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	669,54854	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184,18332
			16:0,18:2	575,50652	18:3	278,22534	C <sub>40</sub> H <sub>71</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	647,56414	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub>	206,16772
8	16:0,18:2,18:3/ 18:2,16:0,18:3/ 16:0,18:3,18:2	853,73186	16:0,18:3	573,49111	18:2	280,24075	C <sub>40</sub> H <sub>69</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	645,54868	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208,18318
			18:1,18:2	601,52182	18:2	280,24111	C <sub>42</sub> H <sub>73</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	673,57950	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208,18343
9	18:2,18:1,18:2/ 18:2,18:2,18:1	881,76293	18:2,18:2	599,50669	18:1	282,25624	C <sub>42</sub> H <sub>71</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	671,56431	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210,19862
			18:3,18:1	599,50664	18:1	282,25689	C <sub>42</sub> H <sub>71</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	671,56430	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210,19923
10	18:1,18:3,18:1/ 18:1,18:1,18:3	881,76353	18:1,18,1	603,53779	18:3	278,22574	C <sub>42</sub> H <sub>75</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	675,59556	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub>	206,16797
			18:2,18:2	599,50664	16:0	256,24123	C <sub>42</sub> H <sub>71</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	671,56430	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184,18357
11	18:2,18:2,16:0/ 18:2,16:0,18:2	855,74787	16:0,18:2	575,50668	18:2	280,24119	C <sub>40</sub> H <sub>71</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	647,56435	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208,18352
			16:0,18:1	577,52228	18:3	278,22537	C <sub>40</sub> H <sub>73</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	649,57990	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub>	206,16775
12	18:1,16:0,18:3/ 18:1,18:3,16:0	855,74765	18:3,18:1	599,50652	16:0	256,24113	C <sub>42</sub> H <sub>71</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	671,56416	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184,18349
			16:0,18:3	573,49106	18:1	282,25659	C <sub>40</sub> H <sub>69</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	645,54867	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210,19898
			18:3,18:2	597,49067	18:0	284,27184	C <sub>42</sub> H <sub>69</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	669,54825	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212,21426
13	18:0,18:2,18:3/ 18:0,18:3,18:2/ 18:2,18:0,18:3	881,76251	18:0,18:2	603,53717	18:3	278,22534	C <sub>42</sub> H <sub>75</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	675,59468	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub>	206,16783
			18:0,18:3	601,52176	18:2	280,24075	C <sub>42</sub> H <sub>73</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	673,57946	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208,18305
			18:1,18:2	601,52219	18:1	282,25673	C <sub>42</sub> H <sub>73</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	673,57985	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210,19907
14	18:1,18:2,18:1/ 18:2,18:1,18:1	883,77892	18:1,18,1	603,53710	18:2	280,24182	C <sub>42</sub> H <sub>75</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	675,59447	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208,18445
			18:1,18:2	601,52205	16:0	256,24130	C <sub>42</sub> H <sub>73</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	673,57972	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184,18363
15	18:2,18:1,16:0/ 18:1,18:2,16:0/ 18:2,16:0,18:1	857,76335	16:0,18:1	577,52203	18:2	280,24132	C <sub>40</sub> H <sub>73</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	649,57951	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208,18384
			16:0,18:2	575,50660	18:1	282,25675	C <sub>40</sub> H <sub>71</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	647,56411	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210,19924
			18:0,18:2	603,53762	18:2	280,24095	C <sub>42</sub> H <sub>75</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	675,59530	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub>	208,18327
16	18:2,18:0,18:2	883,77857	18:2,18:2	599,50646	18:0	284,27211	C <sub>42</sub> H <sub>71</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	671,56410	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212,21447
			18:1,18,1	603,53726	18:1	282,24854	C <sub>42</sub> H <sub>75</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	675,59530	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210,19050
17	18:1,18,1,18:1	885,78580	18:3,18:1	599,50658	18:0	284,27221	C <sub>42</sub> H <sub>71</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	671,56423	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212,21456
			18:0,18:1	605,55336	18:3	278,22543	C <sub>42</sub> H <sub>77</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	677,61107	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub>	206,16772
			18:0,18:3	601,52205	18:1	282,25674	C <sub>42</sub> H <sub>73</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	673,57932	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub>	210,19947

## 6. ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

La espectrometría de masas se basa en la producción y separación de iones que son detectados posteriormente por un analizador según su  $m/z$ . Aunque existen diversas técnicas de ionización para el análisis de compuestos orgánicos, ESI y APCI son consideradas técnicas de ionización suave por la poca cantidad de fragmentos que producen, lo que puede facilitar el análisis (Romero-González et al., 2010).

Por su parte, ESI es la técnica de ionización recomendada para compuestos polares, ionizados y de alto peso molecular (Romero-González et al., 2010). Esto significa que ESI es adecuado cuando la muestra se añade directo al analizador de masas y se hace el seguimiento mediante escaneo de perdidas neutras, sin previa separación de los TAG mediante HPLC, pues en estos casos los TAG vienen asociados a aductos de  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$  provenientes del material orgánico (Byrdwell, 2017).

No obstante, durante el desarrollo de este proyecto se determinó la utilización de APCI porque esta técnica de ionización, se usa para compuestos menos polares y el analizador de masas se encuentra acoplado a UHPLC lo que hace que los analitos lleguen neutros y sean ionización mediante la asociación de  $\text{H}^+$  (Byrdwell, 2017). Adicionalmente, el uso de APCI como fuente de ionización tiene como ventaja la conservación estructural de la molécula que se observa en una señal prominente del ion molecular del TAG  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  y un espectro de masas simple que facilito el análisis e identificación molecular (Andrade et al., 2008).

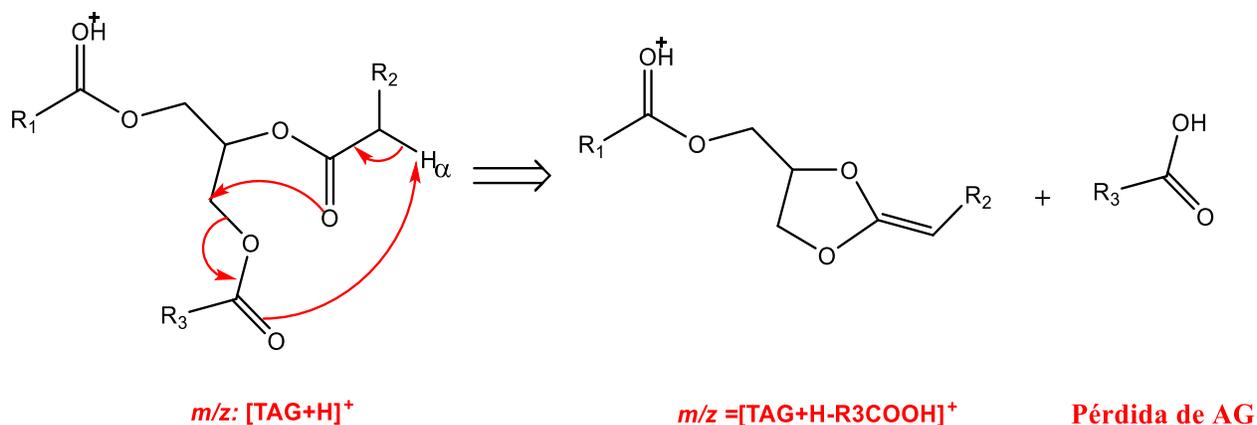
Como se ha dicho, el analizador de masas utilizado corresponde a un equipo de atrapamiento de iones llamado Orbitrap, generalmente se utiliza acoplado a cromatografía líquida para el análisis metabolómico de compuestos (Makarov & Scigelova, 2010). La principal ventaja de los analizadores de masas Orbitrap, es que son equipos de transformada de Fourier (TF) que permiten alcanzar un poder de resolución alto, un aporte de masas de analitos mucho más precisas y un mayor rango dinámico; debido a que la linealidad de la detección es inherente a los equipos por TF (Makarov & Scigelova, 2010).

Según lo discutido anteriormente, como el espectrómetro de masas utilizado Orbitrap es un equipo de alta resolución, se pudieron establecer las  $m/z$  de los iones moleculares experimentales de los 18 TAGs con un error no mayor a  $\pm 6$  ppm en comparación con los valores teóricos, los cuales se presentaron en la **tabla 1**. A pesar de lo anterior, no fue posible determinar el isómero posicional adecuado; para ello es necesario realizar un análisis ms/ms donde se puedan determinar fragmentaciones específicas de acuerdo a la posición del AG en la cadena del glicerol. Pese a ello, en los anexos se presentarán las estructuras de uno de los isómero posicional probables, puesto que su  $m/z$  es la misma.

En comparación con otras técnicas, el poder de resolución utilizado de 70000 durante el experimento mediante el uso de un analizador de masas tan potente, es que existe una mayor confianza en los valores de masa obtenido y hay menor ocurrencia de superposición de especies que produzcan un sesgo en los resultados (Makarov & Scigelova, 2010).

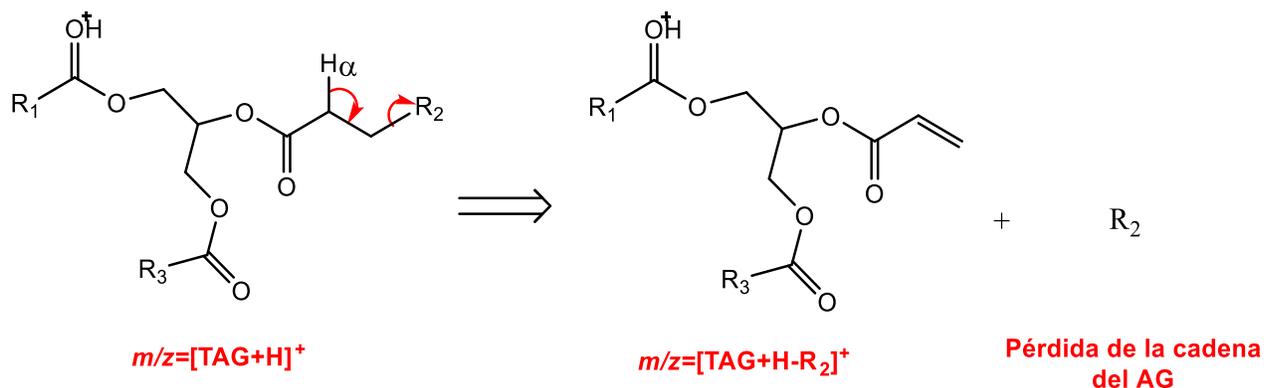
En el **gráfico 2** se evidencia que los picos más abundantes corresponden a los TAGs 1,2 y 3; los cuales están compuestos por los ácidos grasos 18:3 y 18:2 conocidos como  $\alpha$ -linolenico y linoleico respectivamente. En el **gráfico 3**, se evidencian los  $m/z$  597,49074 y 669,54820, lo cual permite establecer nuevamente que la mayoría de los TAG presente en la muestra de aceite de Sancha Inchi contienen en su estructura una combinación 18:3,18:2.

Es importante resaltar que la identificación de los AG que componen los TAGs se pudo establecer por la pérdida total del mismo. Dicha pérdida se da mediante el reordenamiento de **McLafferty** que puede observarse en el **esquema 1**; donde hay una migración del hidrógeno  $\alpha$  del AG 2 al oxígeno del carbonilo del AG 3, posteriormente se da un ataque nucleofílico por parte del carbonilo del AG 2 al carbono adyacente al oxígeno del éster del AG 3, consecutivamente ocurre una ruptura homolítica que finaliza en la pérdida del AG 3.



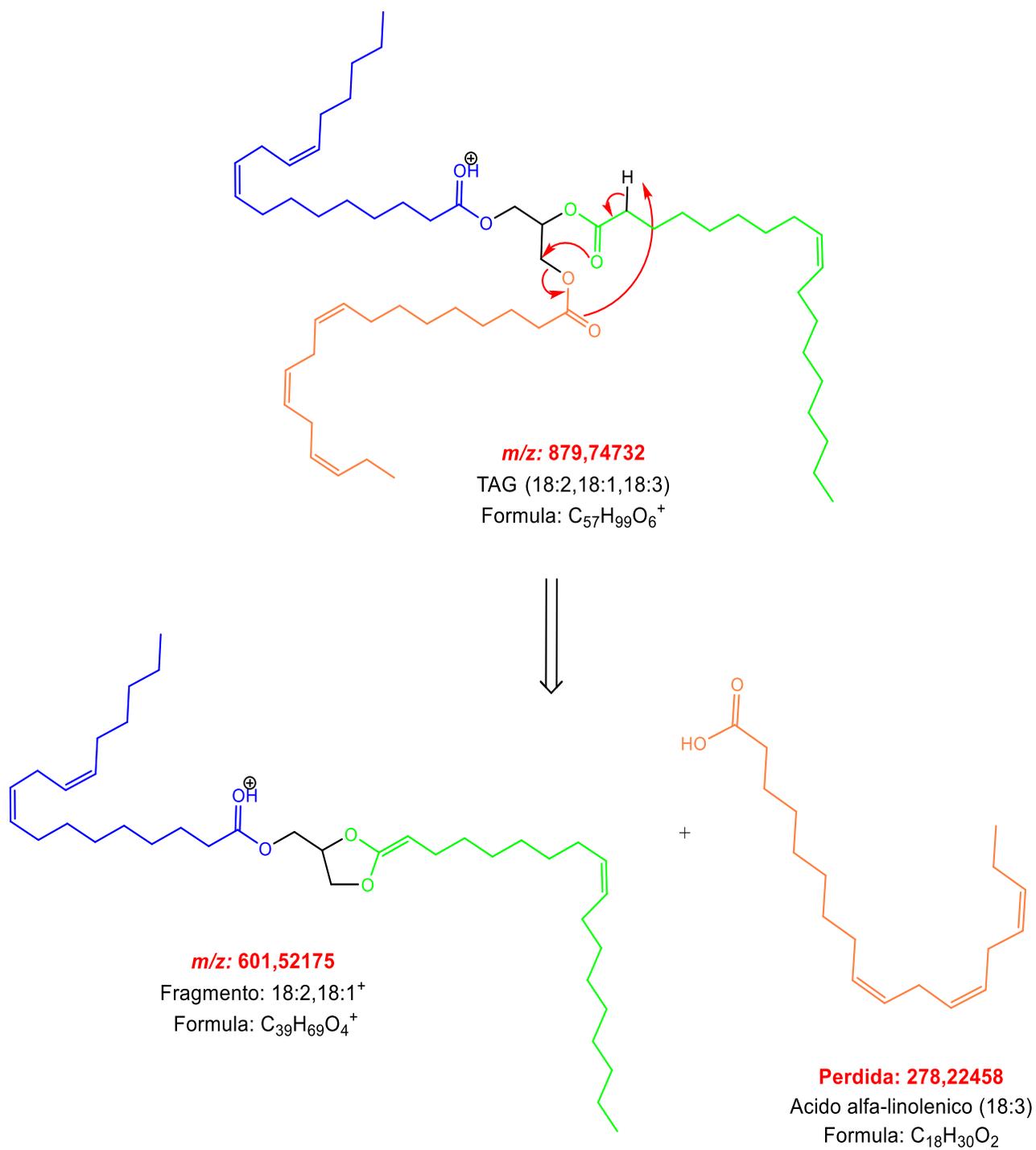
**Esquema 1.** Reordenamiento de McLafferty general de TAGs (Hsu & Turk, 2010).

En el **esquema 2**, se presenta el mecanismo de reordenamiento propuesto para la pérdida de la cadena de acilo del AG 2, en donde hay una migración del hidrógeno  $\alpha$  y una ruptura homolítica entre el enlace C-H y el enlace C-C del carbono  $\alpha$ . Este mecanismo se repite para cada uno de los AGs que componen cada uno de los TAG.

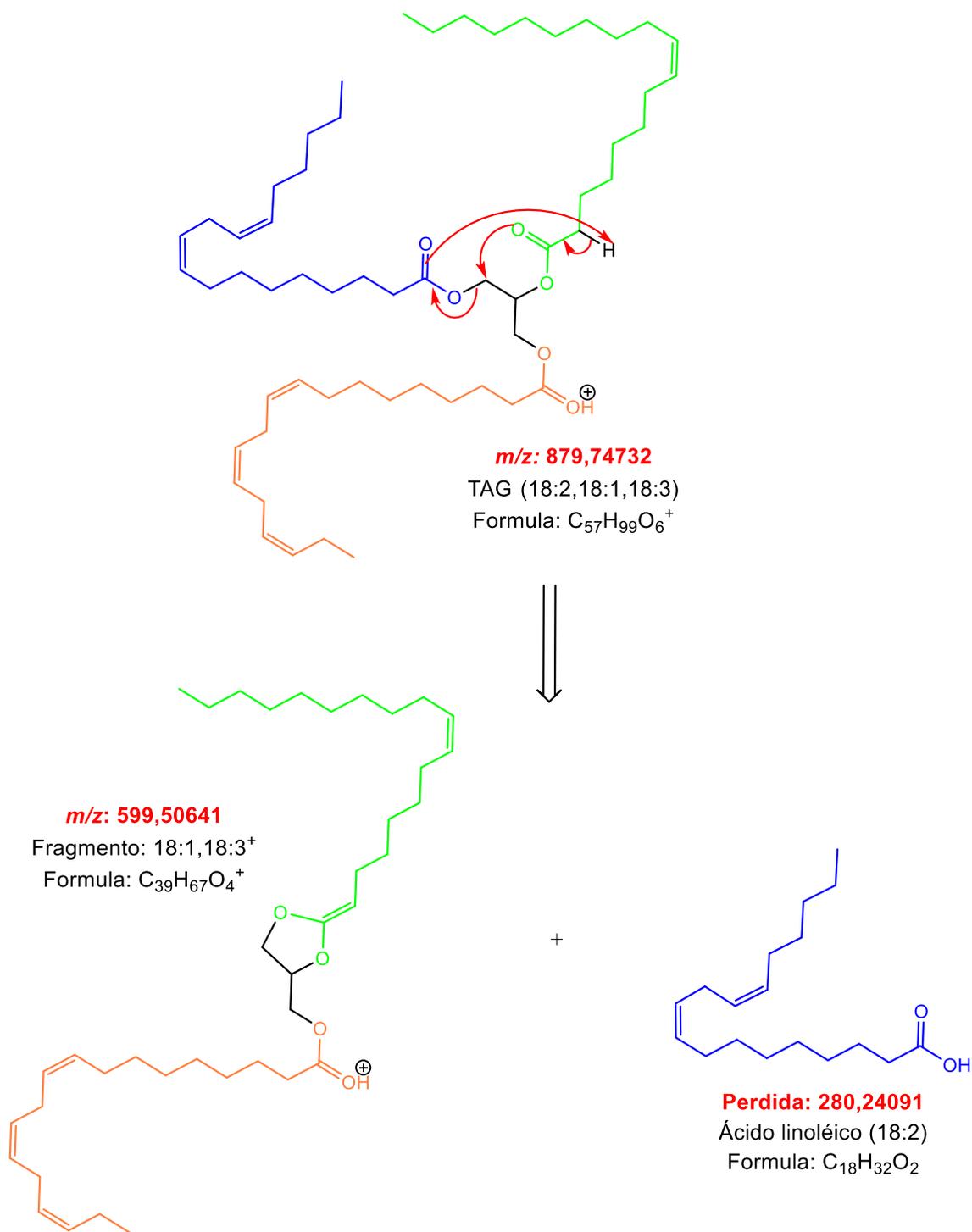


**Esquema 2.** Mecanismo de reordenamiento general TAGs para la pérdida de la cadena de acilo del AG.

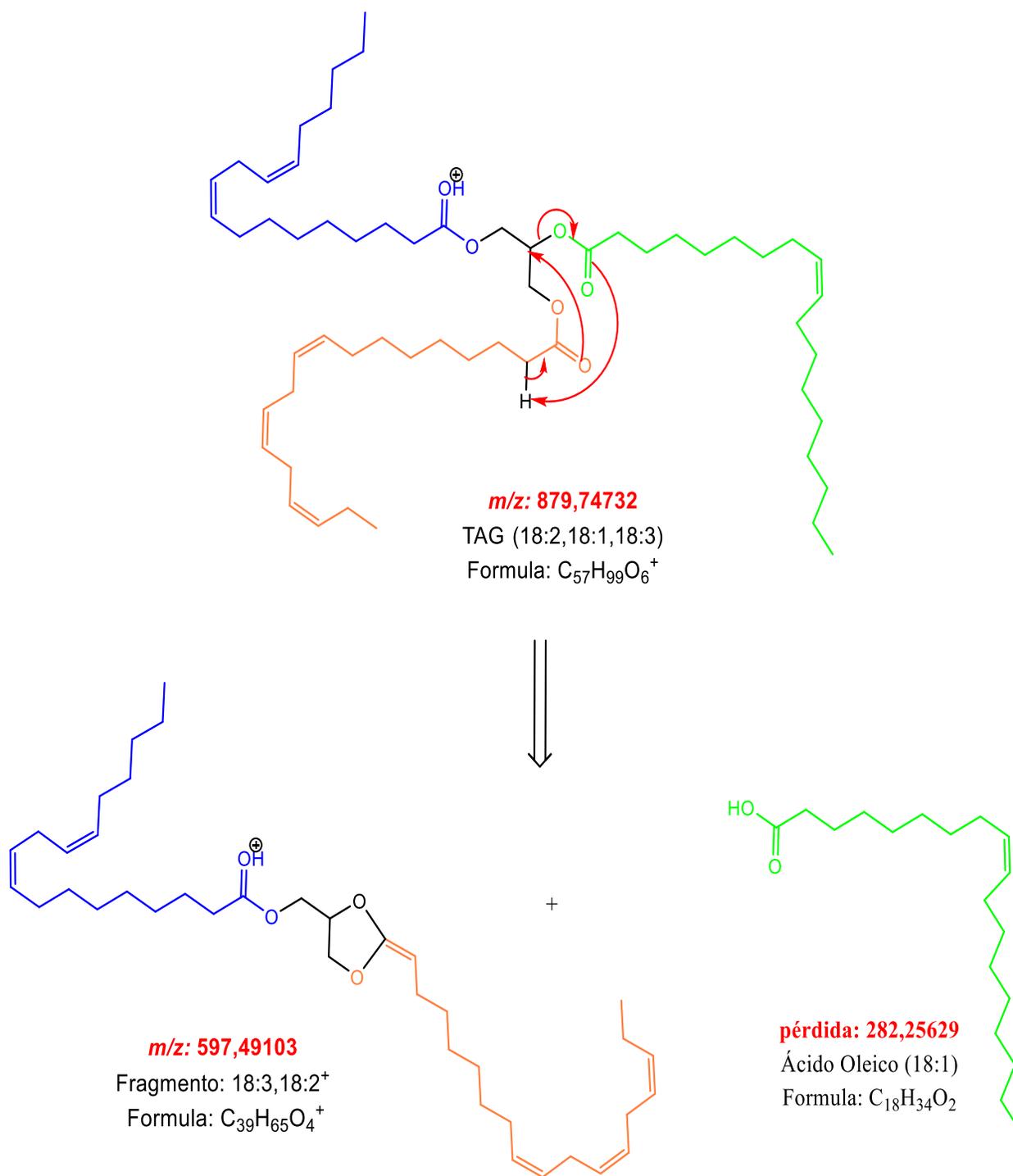
Teniendo en cuenta los mecanismos mostrados anteriormente en los **esquemas 1** y **2**, se presentarán a continuación las fragmentaciones que sufre el TAG número 7 (18:2,18:1,18:3) y el TAG número 1 (18:3,18:3,18:3) de las **tablas 1** y **2**. Esto con el fin de evidenciar la ocurrencia de dichos mecanismos y las pequeñas diferencias que se presentan en el comportamiento en el espectro de masas según los tipos de AG que lo componen.



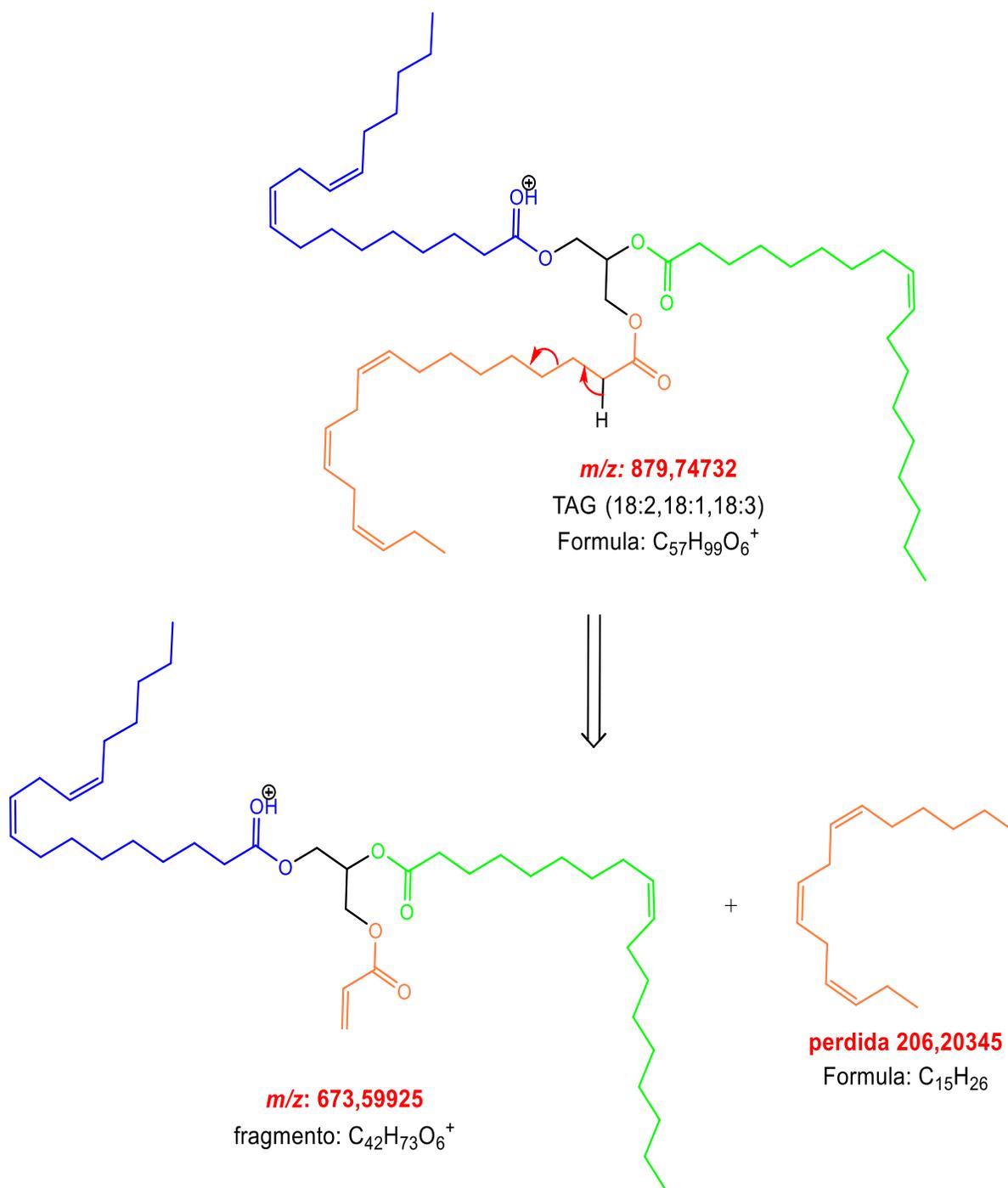
**Esquema 3.** Reordenamiento de McLafferty para TAG (18:2,18:1,18:3) para la pérdida de 18:3.



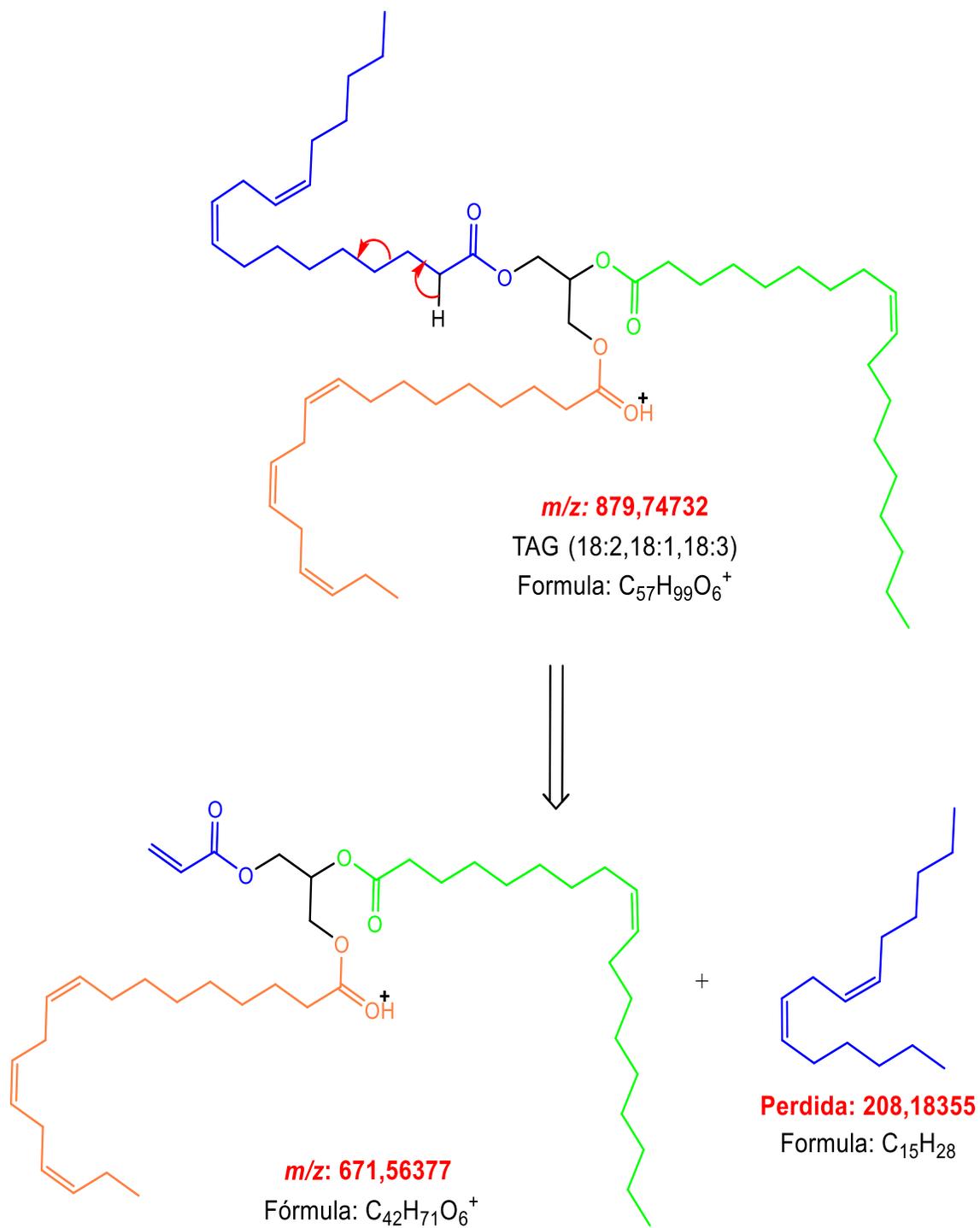
**Esquema 4.** Reordenamiento de McLafferty para TAG (18:2,18:1,18:3) para la pérdida de 18:2.



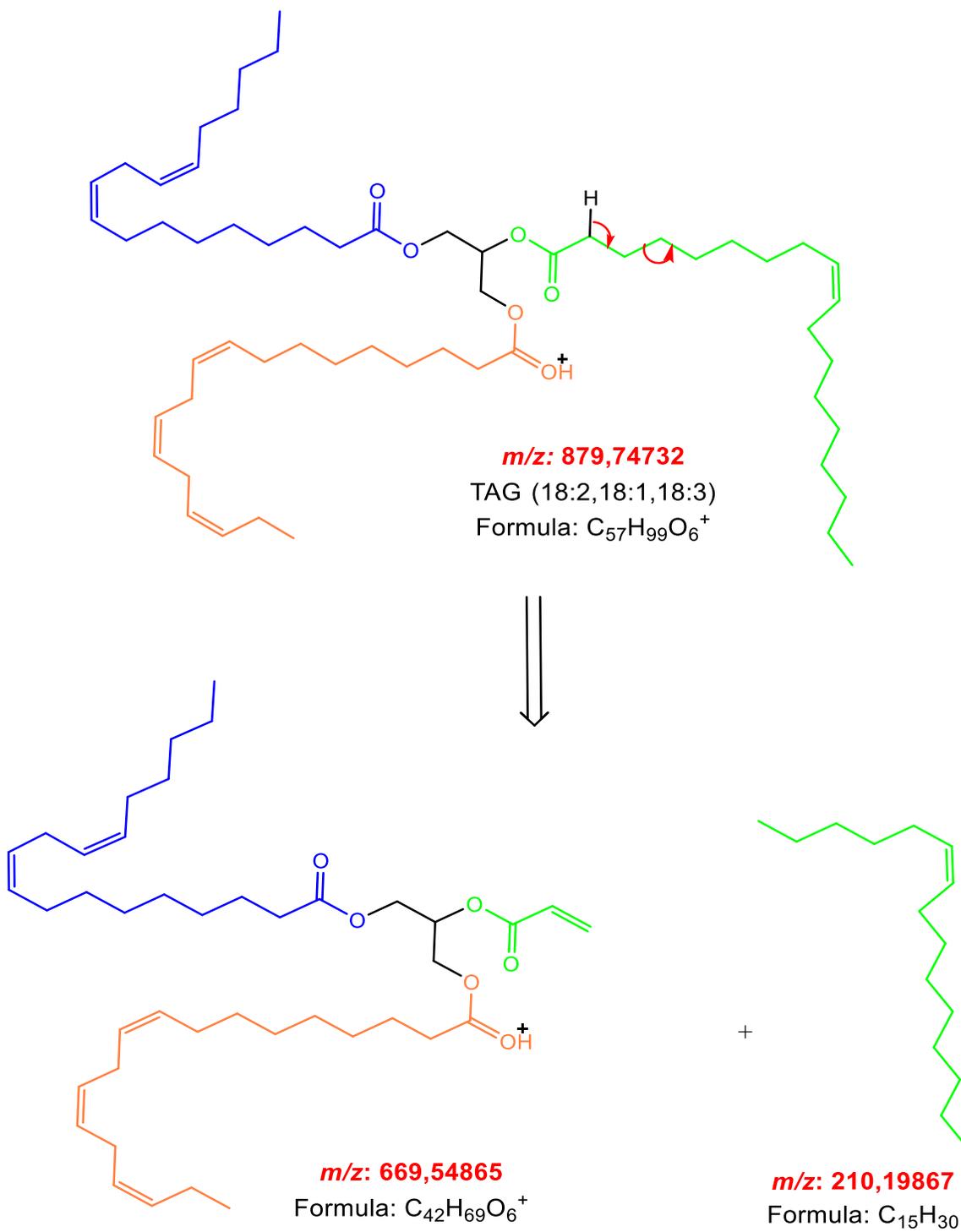
**Esquema 5.** Reordenamiento de McLafferty para TAG (18:2,18:1,18:3) para la pérdida de 18:1.



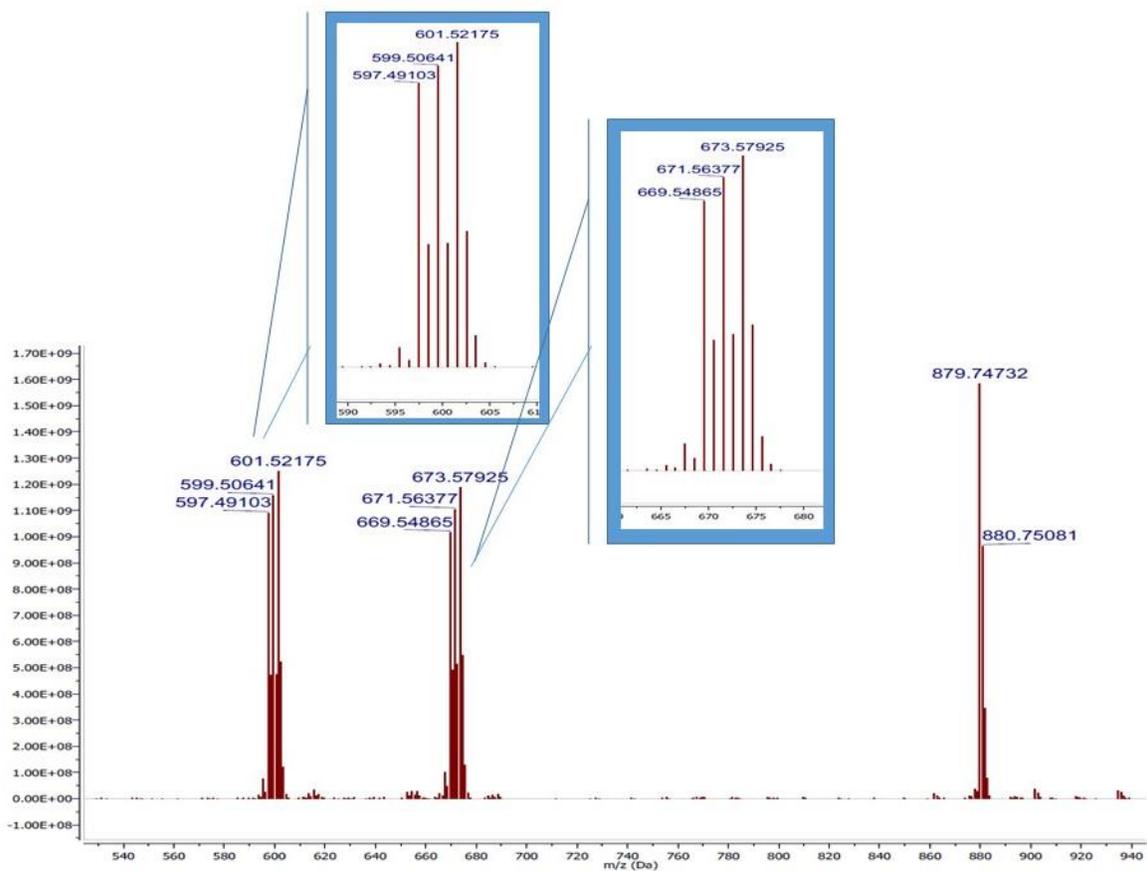
**Esquema 6.** Pérdida de la cadena de acilo del AG 18:3 del TAG (18:2,18:1,18:3).



**Esquema 7.** Pérdida de la cadena de acilo del AG 18:2 del TAG (18:2,18:1,18:3).

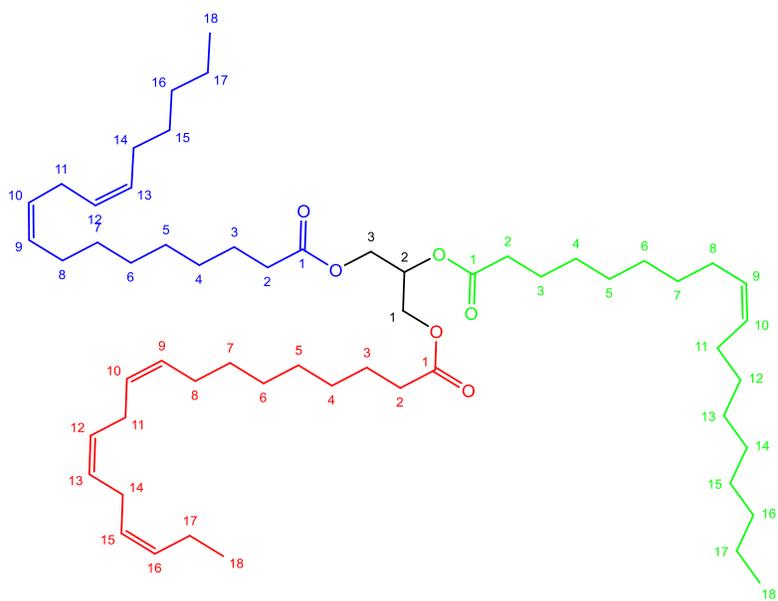


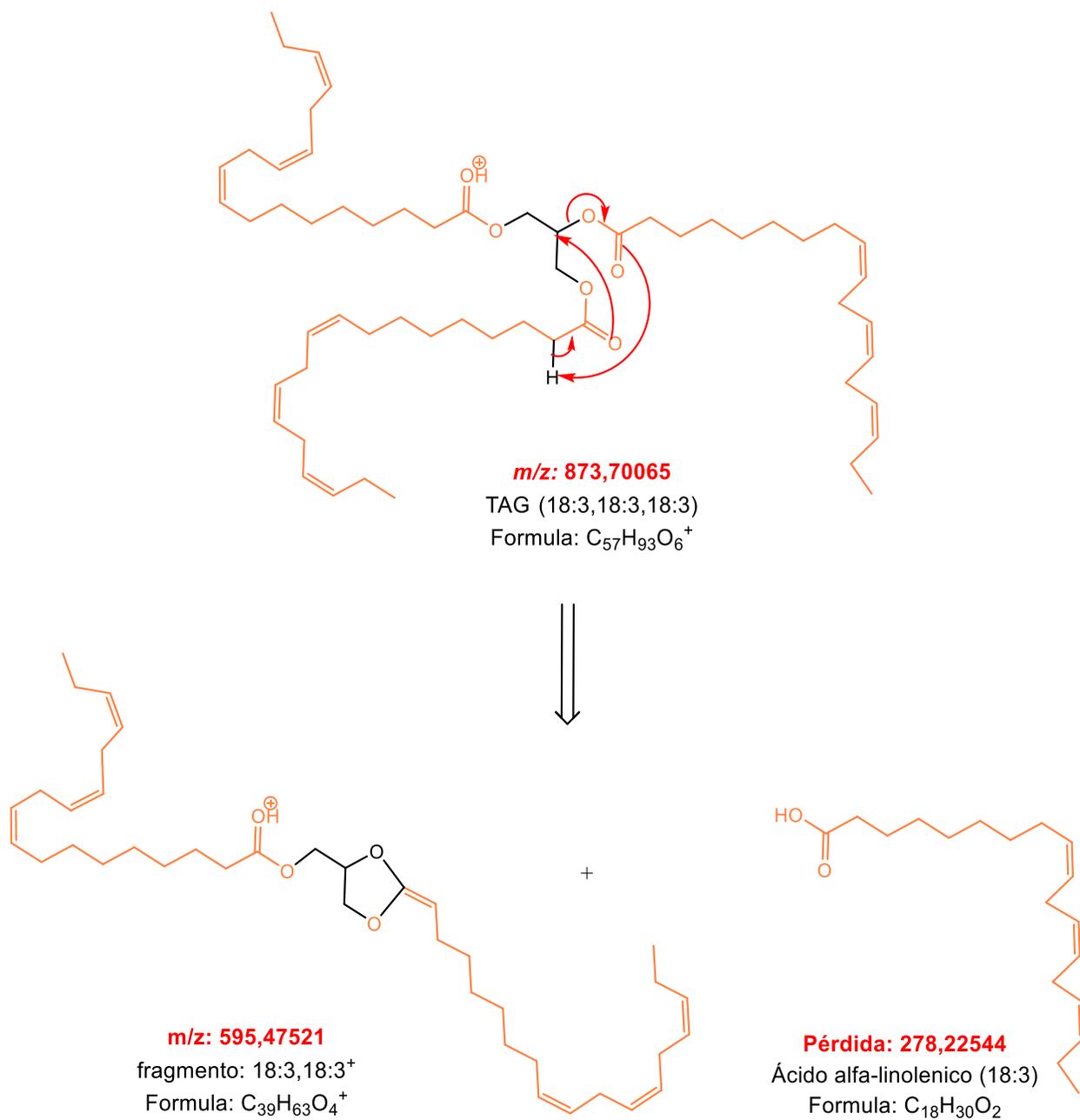
**Esquema 8.** Pérdida de la cadena de acilo del AG 18:1 del TAG (18:2,18:1,18:3).



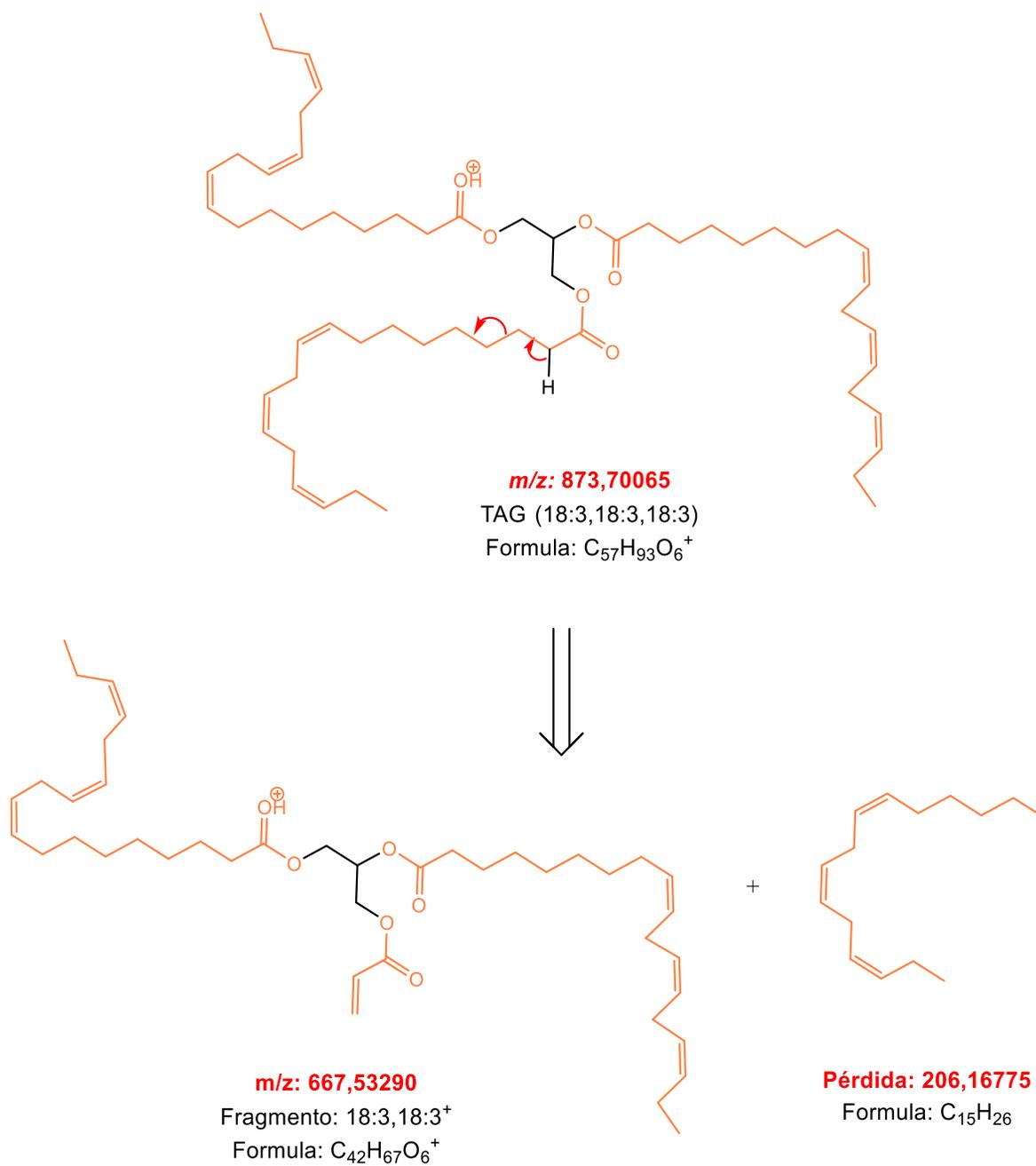
**Gráfico 4.** Espectro de masas por APCI de TAG (18:2,18:1,18:3)

**Figura 2.** Estructura molecular para el TAG (18:2,18:1,18:3)

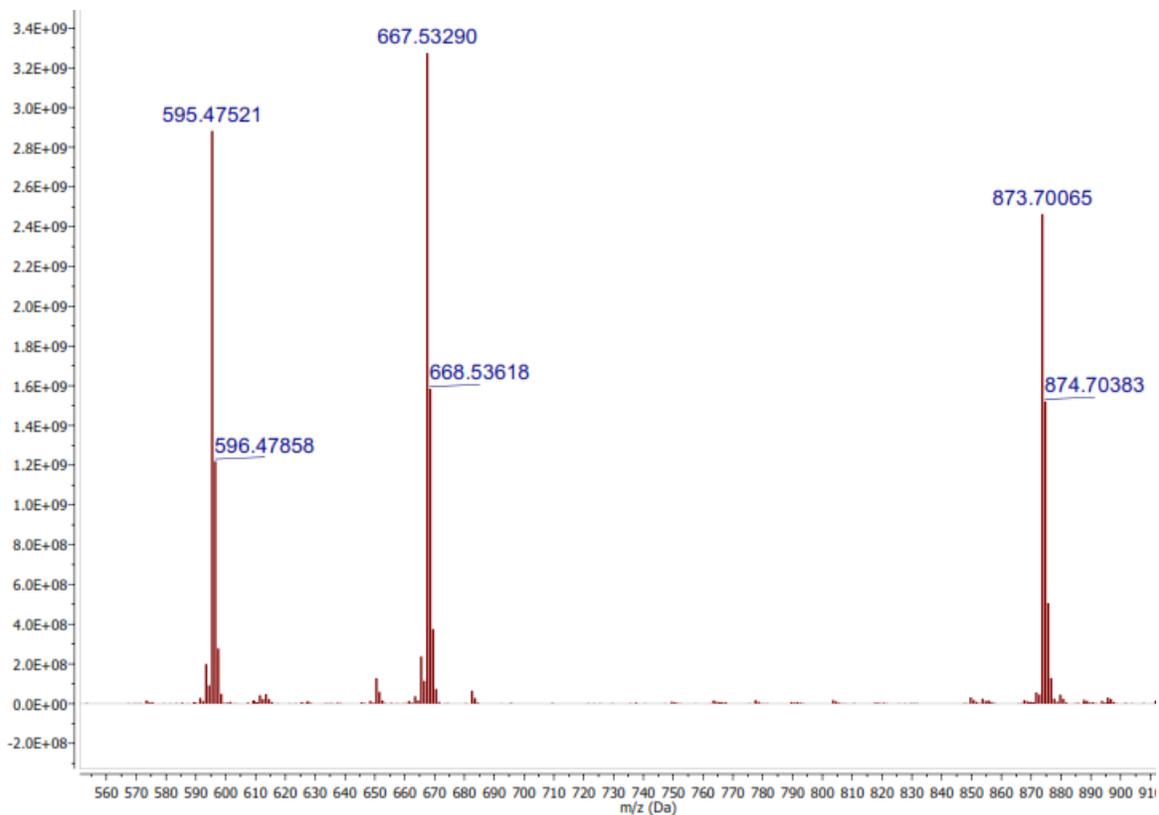




**Esquema 9.** Reordenamiento de McLafferty para TAG (18:3,18:3,18:3) para la pérdida de 18:3.

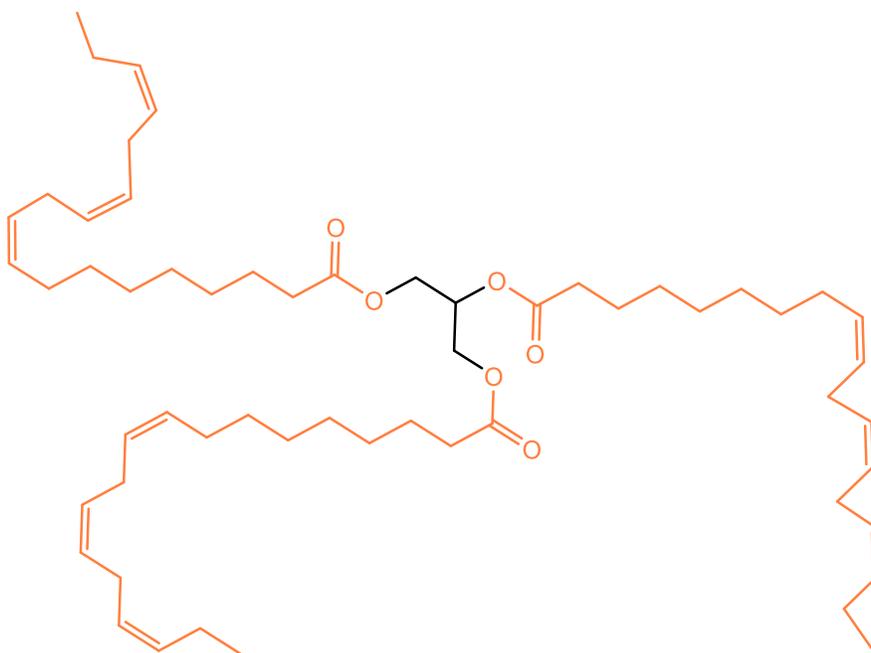


**Esquema 10.** Pérdida de la cadena de acilo del AG 18:3 del TAG (18:3,18:3,18:3).



**Gráfico 5.** Espectro de masas por APCI de TAG (18:3,18:3,18:3)

**Figura 3.** Estructura molecular para el TAG (18:3,18:3,18:3)



El reordenamiento de McLafferty para el TAG (18:2,18:1,18:3), se presenta de la misma manera para la pérdida de los 3 AG como se observa en los **esquemas 3, 4 y 5**. Sin embargo, al estar constituido por 3 AG diferentes los valores de las fragmentaciones que se presentan, se evidencia en la aparición de 3 señales continuas en el espectro de masas presentado en el **gráfico 4**. De igual manera sucede con el reordenamiento dado para la pérdida de la cadena de los AG mostrados en los **esquemas 6,7 y 8** en el cual se evidencian las señales correspondientes en el **gráfico 4**. En la **figura 2** se observa la estructura molecular del TAG (18:2,18:1,18:3), en ella se presenta cada uno de los AG que lo componen en diferente color; 18:3 en naranja, 18:2 en azul y 18:1 en verde. Además, se establece el número del carbono de cada estructura y la ubicación de los enlaces dobles.

En contraste con lo anterior, se observa en el **esquema 9** el reordenamiento de McLafferty para el TAG (18:3,18:3,18:3) y la pérdida de la cadena de acilo en el **esquema 10**. Contrario a lo observado con el TAG (18:2,18:1,18:3), dado que es un TAG simétrico compuesto por el mismo AG en toda su estructura, en el **gráfico 5** solo se evidencia una señal para las 2 dos fragmentaciones propuestas, pero se presenta una abundancia de iones mayor, coherente con la obtención del mismo m/z con las posibles pérdidas del AG 18:3 o la cadena de acilo del mismo. En la **figura 3** se observa la estructura molecular del TAG (18:3,18:3,18:3), en ella se presenta cada uno de los AG que lo componen en el mismo color, para hacer referencia a que corresponde al mismo AG 18:3.

La identificación de estos TAG en un aceite de Sacha Inchi, tiene amplias implicaciones a nivel nutricional. En primer lugar, se presentarán los beneficios documentados de los principales AG que lo componen desde el punto de vista cardiovascular. Las enfermedades crónicas no transmisibles son la principal causa de muerte en el mundo, superando a todas las demás causas de muerte posible y abarcan principalmente enfermedades cardiovasculares, cánceres, diabetes y enfermedades pulmonares crónicas (World Health Organization, 2011). Según la OMS (2011) en el año 2008, 36 millones (63%) de personas murieron por enfermedades no transmisibles de un total de 57 millones a nivel mundial, lo más alarmante es que esta cifra seguirá en aumento (World Health Organization, 2011). Adicionalmente, las enfermedades cardiovasculares

se han convertido en un problema de salud pública a nivel mundial puesto que, más del 80% de las muertes por enfermedades cardiovasculares y diabetes ocurren en países de ingresos bajos y medios (World Health Organization, 2011).

En Colombia el panorama no es alentador, las enfermedades crónicas no transmisibles se han convertido en una carga social y económica; que al igual que en el resto del mundo van en aumento y representan la principal causa de muerte (Robledo Martínez & Escobar Díaz, 2010). Estas estadísticas de defunciones están encabezadas por las enfermedades cardiovasculares que conciernen un 28,7% del total de las muertes que se presentan en el país (Instituto Nacional de Salud (Colombia), 2011). En hombres se pudo evidenciar un predominio de la enfermedad coronaria y la enfermedad cardíaca isquémica y en mujeres es más frecuente la enfermedad cerebrovascular y la insuficiencia cardíaca (Instituto Nacional de Salud (Colombia), 2011).

Las enfermedades cardiovasculares son causados por factores de riesgo como la hipertensión, el azúcar sanguíneo elevado, la hiperlipidemia, y obesidad; que a su vez están asociadas con estilos de vida poco saludables, dietas no balanceadas, consumo de alcohol y tabaco e inactividad física (Robledo Martínez & Escobar Díaz, 2010). Por ejemplo, un alto consumo de grasas saturadas y trans se relacionan ampliamente con enfermedades del corazón (World Health Organization, 2011). Es por esto que la principal estrategia de los gobiernos, consiste en la promoción de la salud y la prevención primaria en tomar acciones con respecto a los principales factores de riesgo asociados a la ocurrencia de estas enfermedades.

En síntesis, la problemática asociada a las enfermedades cardiovasculares hace parte de los problemas de salud a los que se debe hacer frente en el siglo XXI; he aquí donde nace la importancia de la promoción de estilos de vida saludables. En estudios experimentales realizados, se logró determinar la relación entre el consumo de alimentos ricos en ácidos grasos poliinsaturados, como el aceite de oliva y las nueces, con una reducción del riesgo cardiovascular y una menor probabilidad de ocurrencia de enfermedad coronaria (Estruch et al., 2018).

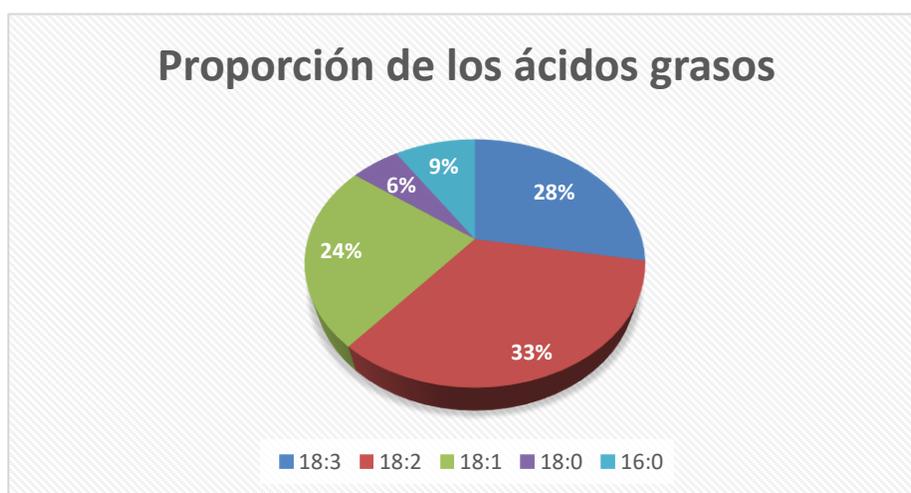
Es por esto, que la importancia del contenido de AG en el aceite de Sacha Inchi radica principalmente a nivel nutricional por la presencia de ácidos grasos poliinsaturados como el linoleico (18:2) y  $\alpha$ -linolenico (18:3) en este aceite. Estos AG son considerados esenciales puesto que no se pueden sintetizar en el organismo y deben ser administrados en los alimentos. El ácido alfa-linolénico (18:3) es el principal representante de la familia omega-3 y es el precursor de otros ácidos grasos pertenecientes a esta familia como el ácido eicosapentaenoico (EPA, 20: 5) y el ácido docosahexaenoico (DHA, 22: 6) (Sokoła-Wysoczańska et al., 2018). Por otra parte, el ácido linoleico es el principal representante de la familia omega-6 y es el precursor del ácido araquidónico (AA, 20:4) (Sokoła-Wysoczańska et al., 2018).

Así mismo, los ácidos grasos omega-3 demuestran propiedades anticoagulantes, antiinflamatorias, antihipertensivas; además regulan el metabolismo de los lípidos, apoyan el funcionamiento del sistema nervioso central y reducen el estrés oxidativo (Sokoła-Wysoczańska et al., 2018). Por otra parte, un consumo excesivo de los ácidos grasos omega-6 puede ser problemático porque promueve la inflamación puesto que el ácido linoleico facilita la agregación plaquetaria, al ser precursor de ácido araquidónico el cual se transforma en eicosanoides y se da una activación de los procesos inflamatorios y protrombóticos (Sokoła-Wysoczańska et al., 2018). No obstante, el déficit de ácidos grasos omega-6 conduce a un crecimiento deficiente, hígado graso, lesiones cutáneas e insuficiencia reproductiva. De ahí nace la importancia de mantener una buena relación en el consumo de ácidos grasos omega-3 y 6, para que se dé un buen funcionamiento del organismo (Sokoła-Wysoczańska et al., 2018).

En segundo lugar, se ha encontrado relación entre el consumo de AG poliinsaturados en las mujeres embarazadas y las madres lactantes, en el desarrollo cerebral de los recién nacidos. Esto es importante porque en el último trimestre del embarazo y los primeros meses postnatales, con aumento en el contenido cerebral de AA y DHA, ocurre un crecimiento acelerado del cerebro del bebe (Helland, Smith, Saarem, Saugstad, & Drevon, 2001).

En la actualidad, existen muchas fórmulas infantiles complementadas con AG poliinsaturados; pese a ello, la mala nutrición en niños prevalece a nivel mundial, principalmente en países de ingresos bajos donde la accesibilidad a estas fórmulas es limitada por su alto costo. En algunos países, cuando la madre no puede lactar, se les da a los bebés leche de vaca diluida con azúcar, pero la cantidad de AG presentes no alcanza a suplir las necesidades básicas del bebé para su desarrollo (Connor, 2000). El problema está, en que la mala nutrición tiene efectos negativos a lo largo de la vida los niños en el corto y el largo plazo, los cuales se revelan en un mal desarrollo de las capacidades motoras, cognitivas y socioemocionales; lo que se traduce en poca productividad económica en su vida adulta y en un círculo vicioso de pobreza y poco desarrollo (Ministerio de Salud Y Protección Social, 2015).

Desde esta perspectiva, el cultivo de Sacha Inchi en Colombia para producción local e internacional, puede ayudar a abordar el problema nutricional en niños y adolescentes. Se sabe que las semillas de Sacha Inchi tienen una proporción de aceite del 41,4% aproximadamente, de este aceite un 50,8 % corresponde al  $\alpha$ -linolénico y 33,4% al linoleico y tiene poca proporción de AG saturados (Gutiérrez et al., 2011). Lo primero se pudo evidenciar durante el desarrollo de este proyecto, resultado indiscutiblemente observable en el **gráfico 6** mostrado a continuación, donde se presentan la proporción de los 5 AG presentes en los 18 TAG caracterizados.



**Gráfico 6.** Porcentaje de aparición de los AG en los 18 TAG identificados

Se observa que la proporción de ácidos grasos insaturados es de 81 %, mientras que AG saturados es tan solo del 15%, lo que hace que el aceite de Sacha Inchi sea mucho más saludable en comparación con otros aceites comerciales (Gutiérrez et al., 2011). Por lo tanto, en términos de productividad, el valor comercial del aceite de Sacha Inchi puede ser económico en comparación con otros aceites y suplementos nutricionales, debido a su fácil crecimiento en diferentes tipos de suelo, principalmente arcilloso y en un rango de altitud entre los 100- 2000 metros sobre el nivel del mar (Ayala, 2016).

## 7. CONCLUSIONES

Se determinó la mejor técnica de ionización entre ESI y APCI, considerando APCI como la más adecuada para la caracterización de TAG.

Mediante HPLC-MS acoplada a APCI como técnica de ionización en modo positivo, se realizó la caracterización de los TAG presentes en una muestra de aceite comercial extravirgen de Sacha Inchi.

A partir de la técnica anterior, se logró la identificación y caracterización de 18 TAG compuestos por 5 AG diferentes, los cuales son palmítico (16:0), esteárico (18:0), oleico (18:1), linoleico (18:2) y  $\alpha$ -linolenico (18:3).

Se logró evidenciar que los AG mayoritarios de los cuales se componen los 18 TAG caracterizados son linoleico (18:2) y  $\alpha$ -linolenico (18:3) los cuales tienen gran relevancia nutricional, al ser considerados esenciales para el cuerpo humano.

## **8. RECOMENDACIONES**

Se recomienda realizar el análisis de masas  $ms/ms^2$  para lograr una mayor sensibilidad y lograr determinar patrones de fragmentación específicos para cada tipo de AG y también identificar con mayor seguridad el regioisómero presente.

Además del análisis nutricional, se recomienda desarrollar proyectos enfocados a la utilización del Aceite de Sacha Inchi en la Industria Cosmética y Fitoterapéutica.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Alta consejería presidencial para el Postconflicto. (2018). Putumayo, la nueva gran apuesta en sustitución de cultivos ilícitos. Retrieved May 12, 2018, from <http://www.posconflicto.gov.co/sala-prensa/noticias/2018/Paginas/20180326-putumayo-la-nueva-gran-apuesta-en-sustitucion-de-cultivos-ilicitos.aspx>
- Andrade, F. J., Shelley, J. T., Wetzel, W. C., Webb, M. R., Gamez, G., Ray, S. J., & Hieftje, G. M. (2008). Atmospheric Pressure Chemical Ionization Source. 1. Ionization of Compounds in the Gas Phase. *Analytical Chemistry*, 80(8). <https://doi.org/10.1021/ac800156y>
- Ayala, G. (2016). *ANÁLISIS DE CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE 3 VARIETADES DE SACHA INCHI (Plukenetia volubilis L.), EN EL MUNICIPIO DE TENA CUNDINAMARCA*. UNIVERSIDAD DE CIENCIAS APLICADAS Y AMBIENTALES U.D.C.A. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/311453245>
- Bondioli, P., Della Bella, L., & Rettke, P. (2006). Alpha linolenic acid rich oils. Composition of *Plukenetia volubilis* (Sacha Inchi) oil from Perú. *Delle Sostanze Grasse*, 83, 120–123. Retrieved from [https://www.researchgate.net/profile/Paolo\\_Bondioli/publication/264514466\\_Alpha\\_linolenic\\_acid\\_rich\\_oils\\_Composition\\_of\\_Plukenetia\\_volubilis\\_Sacha\\_Inchi\\_oil\\_from\\_Peru/links/53e2237d0cf24f90ff65bde5/Alpha-linolenic-acid-rich-oils-Composition-of-Plukenetia-](https://www.researchgate.net/profile/Paolo_Bondioli/publication/264514466_Alpha_linolenic_acid_rich_oils_Composition_of_Plukenetia_volubilis_Sacha_Inchi_oil_from_Peru/links/53e2237d0cf24f90ff65bde5/Alpha-linolenic-acid-rich-oils-Composition-of-Plukenetia-)
- Bordignon, S. R., Bovi Ambrosano, G. M., & Rodrigues Viegas, H. P. (2012). Propagação in vitro de Sacha inchi. *Ciência Rural*, 42(7), 1168–1172. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012005000049>
- Brenton, A. G., & Godfrey, A. R. (2010). Accurate mass measurement: Terminology and treatment of data. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 21(11), 1821–1835. <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2010.06.006>
- Byrdwell, W. C. (2017). Comprehensive Dual Liquid Chromatography with Quadruple Mass Spectrometry (LC1MS2 × LC1MS2 = LC2MS4) for Analysis of *Parinari Curatellifolia* and Other Seed Oil Triacylglycerols. *Analytical Chemistry*, 89(19), 10537–10546. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b02753>
- Castaño T, D. L., Valencia G, M. del P., Murillo P, E., Mendez A, J. J., & Eras Joli, J. (2012a). COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* Linneo) Y SU RELACIÓN CON LA BIOACTIVIDAD DEL VEGETAL. *Revista Chilena de Nutrición*, 39(1), 45–52. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182012000100005>
- Castaño T, D. L., Valencia G, M. del P., Murillo P, E., Mendez A, J. J., & Eras Joli, J. (2012b). COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE SACHA INCHI (*Plukenetia*

volúbilis Linneo) Y SU RELACIÓN CON LA BIOACTIVIDAD DEL VEGETAL. *Revista Chilena de Nutrición*, 39(1), 45–52. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182012000100005>

Connor, W. E. (2000). Importance of n–3 fatty acids in health and disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(1), 171S–175S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.1.171S>

Estruch, R., Ros, E., Salas-Salvadó, J., Covas, M.-I., Corella, D., Arós, F., ... Martínez-González, M. A. (2018). Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts. *New England Journal of Medicine*, 378(25), e34. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1800389>

Ferreira Valente, M. S., Gomes Lopes, M. T., Maia Chaves, F. C., Mendes Oliveira, A., & Bilby de Freitas, D. R. (2017). Repeatability of biometric and fruit and seed yield traits of sacha inchi. *Acta Amazonica*, 47(3), 195–202. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201602623>

Ferreira Valente, M. S., Maia Chaves, F. C., Gomes Lopes, M. T., Myiosi Oka, J., & Ferreira Rodrigues, R. A. (2017). Crop yield, genetic parameter estimation and selection of sacha inchi in central Amazon. *Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)*, 47(2), 226–236. Retrieved from <https://www.revistas.ufg.br/pat/article/view/45758/23425>

Flores, D., & Lock, O. (2012). Revalorizando el uso milenario del sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) para la nutrición, la salud y la cosmética. *Revista de Fitoterapia*, 13(1), 23–30.

Gobernación del cauca. (2018). Sacha Inchi, un cultivo promisorio en el Departamento del Cauca | Gobernación del Cauca. Retrieved May 13, 2018, from <http://www.cauca.gov.co/noticias/sacha-inchi-un-cultivo-promisorio-en-el-departamento-del-cauca>

Guillén, M. D., Ruiz, A., Cabo, N., Chirinos, R., & Pascual, G. (2003). Characterization of sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil by FTIR spectroscopy and <sup>1</sup>H NMR. Comparison with linseed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(8), 755–762. <https://doi.org/10.1007/s11746-003-0768-z>

Gutiérrez, L. F., Rosada, L. M., & Jiménez, Á. (2011). Chemical composition of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction. *Grasas y Aceites*, 62(1), 76–83. <https://doi.org/10.3989/gya044510>

Helland, I. B., Smith, L., Saarem, K., Saugstad, O. D., & Drevon, C. A. (2001). Maternal Supplementation With Very-Long-Chain n-3 Fatty Acids During Pregnancy and Lactation Augments Children's IQ at 4 Years of Age. *PEDIATRICS*, 108(1), 111–115. <https://doi.org/10.1542/peds.108.1.111>

- Hsu, F. F., & Turk, J. (2010). Electrospray ionization multiple-stage linear ion-trap mass spectrometry for structural elucidation of triacylglycerols: Assignment of fatty acyl groups on the glycerol backbone and location of double bonds. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 21(4), 657–669. <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2010.01.007>
- Instituto Nacional de Salud (Colombia). (2011). *Biomédica : revista del Instituto Nacional de Salud. Biomédica* (Vol. 31). Instituto Nacional de Salud. Retrieved from <http://www.redalyc.org/html/843/84322449001/>
- Investigación de Mercado SACHA INCHI Compilado para SUPPO por ProFound – Advisers in Development. (2008). *Profound Advisers in Development*. Retrieved from [http://repositorio.promperu.gob.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/1417/Investigacion\\_mercado\\_sacha\\_inchi\\_2008\\_keyword\\_principal.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.promperu.gob.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/1417/Investigacion_mercado_sacha_inchi_2008_keyword_principal.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Makarov, A., & Scigelova, M. (2010). Coupling liquid chromatography to Orbitrap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217, 3938–3945. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.02.022>
- Ministerio de Salud Y Protección Social. (2015). *ESTRATEGIA NACIONAL PARA LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS DEFICIENCIAS DE MICRONUTRIENTES EN COLOMBIA*. Bogotá. Retrieved from <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/SNA/Estrategia-nacional-prevencion-control-deficiencia-micronutrientes.pdf>
- Mosquera Tatiana; Noriega Paco; Tapia Wilson; Pérez Silvia. (2012). Evaluación de la eficacia cosmética de cremas elaboradas con aceites extraídos de especies vegetales Amazónicas: *Mauritia Flexuosa* (Morete), *Plukenetia Volubilis* (Sacha Inchi) y *Oenocarpus Bataua* (Ungurahua). *La Granja*, 16(2), 14–22. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/4760/476047400003.pdf>
- Ramos Escudero, D. F. (2014). *CARACTERIZACIÓN Y TRAZABILIDAD DEL ACEITE DE SACHA INCHI (Plukenetia volubilis Linneo)*. Universidad de Sevilla. Retrieved from [https://idus.us.es/xmlui/bitstream/handle/11441/58887/I\\_T-PROV37.pdf?sequence=4&isAllowed=y](https://idus.us.es/xmlui/bitstream/handle/11441/58887/I_T-PROV37.pdf?sequence=4&isAllowed=y)
- Robledo Martinez, R., & Escobar Díaz, F. A. (2010). *Las enfermedades crónicas no transmisibles en Colombia* (Vol. 3). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2017.07.008>
- Romero-González, R., Frenich, A. G., & Vidal, J. L. M. (2010). Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Determination of Sterols in Olive Oil. In *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* (pp. 591–601). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374420-3.00064-4>
- Skoog, D. A. (Stanford U., Holler, F. J. (Stanford U., & Crouch, S. R. (Michigan S. U.

(2009). *Principios de análisis instrumental*. (S. Cervantes González, Ed.) (6th ed.). México D.F: Cengage Learning S.A.

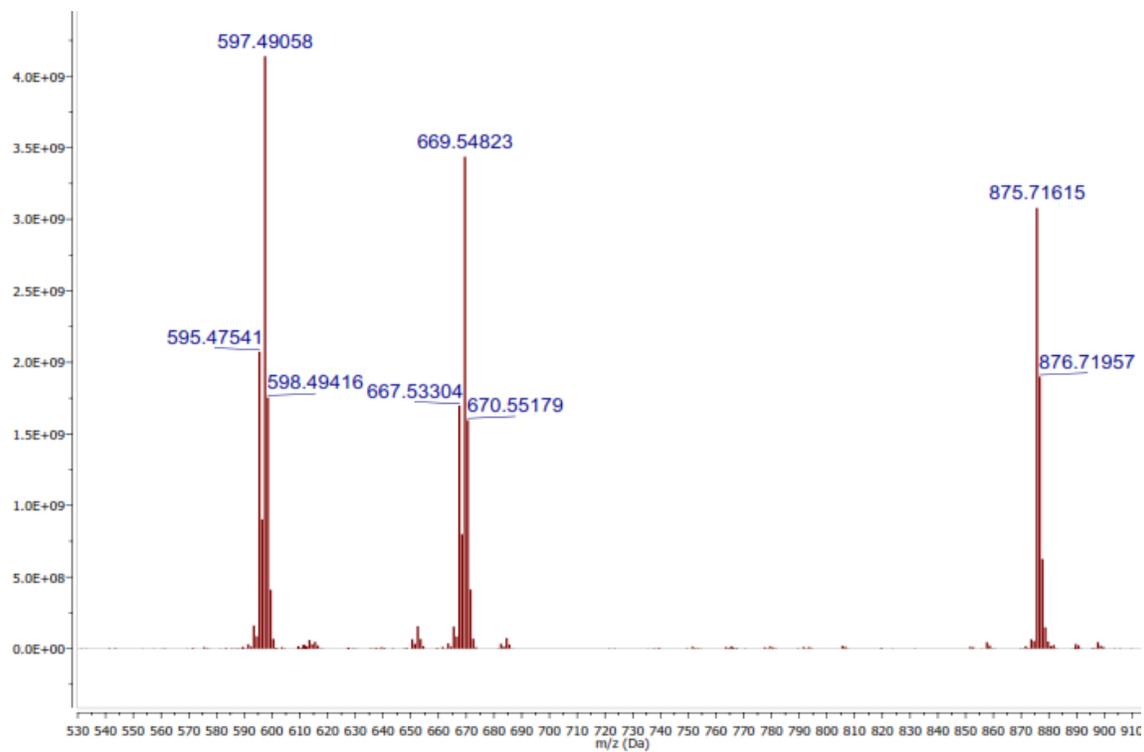
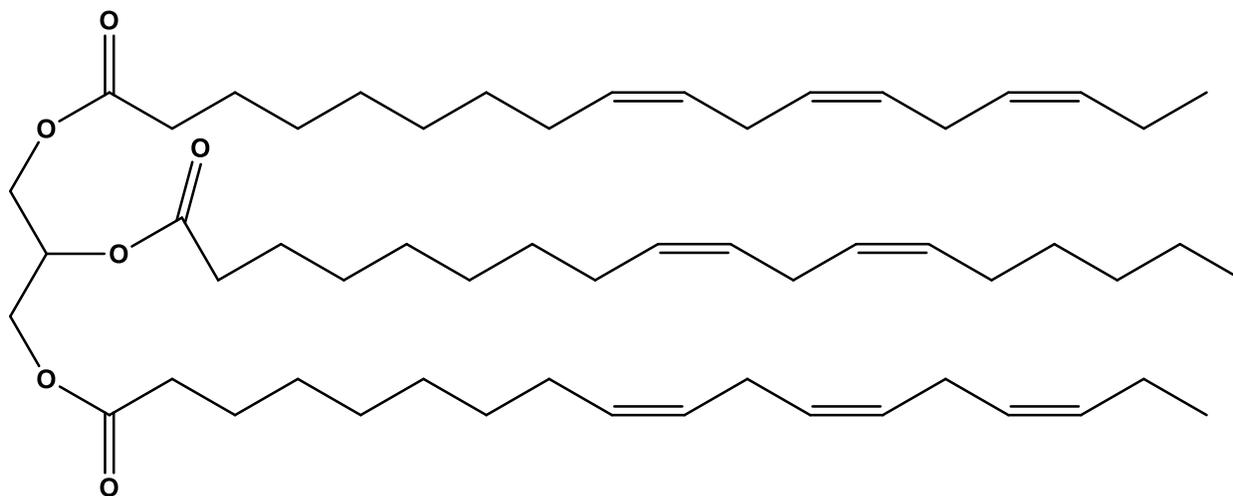
Sokoła-Wysoczańska, E., Wysoczański, T., Wagner, J., Czyż, K., Bodkowski, R., Lochyński, S., ... Patkowska-Sokoła, B. (2018). Polyunsaturated Fatty Acids and Their Potential Therapeutic Role in Cardiovascular System Disorders—A Review. *Nutrients*, 10(10), 1561. <https://doi.org/10.3390/nu10101561>

World Health Organization. (2011). *Global status report on noncommunicable diseases 2010*. World Health Organization. Retrieved from [http://www.who.int/about/licensing/copyright\\_form/en/index.html](http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html)

## 10. ANEXOS

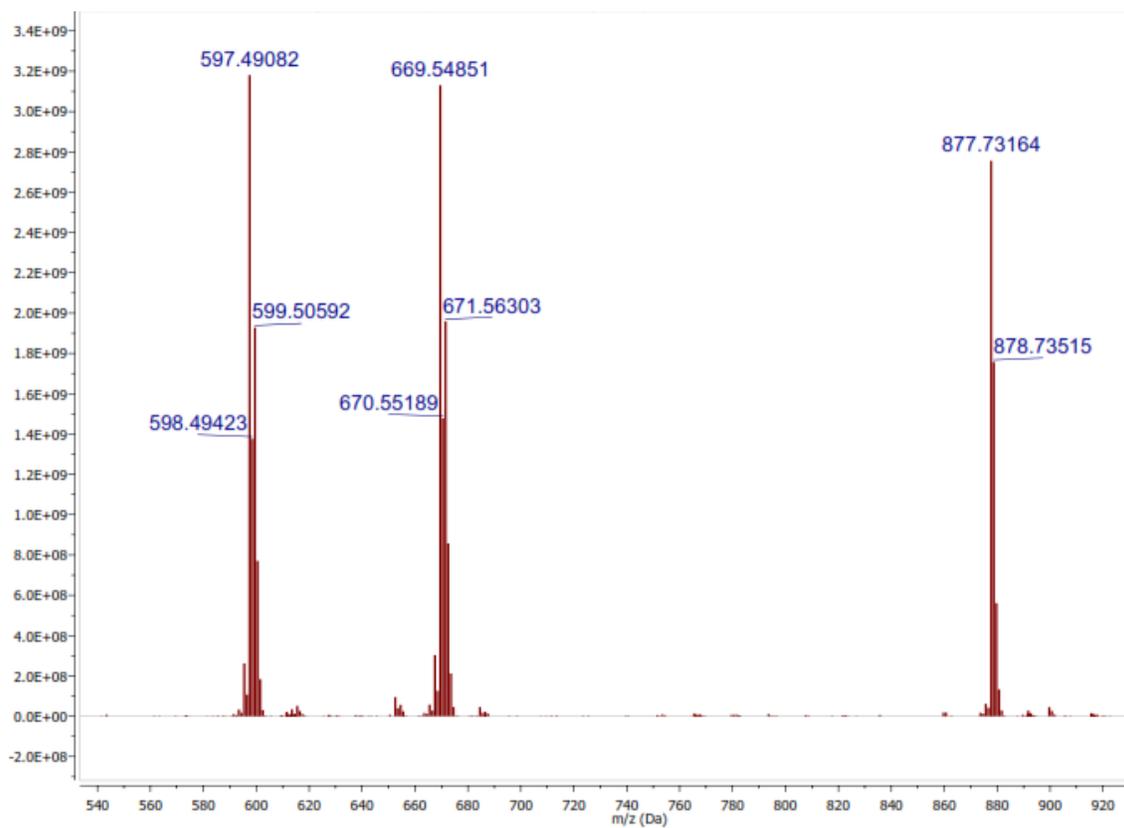
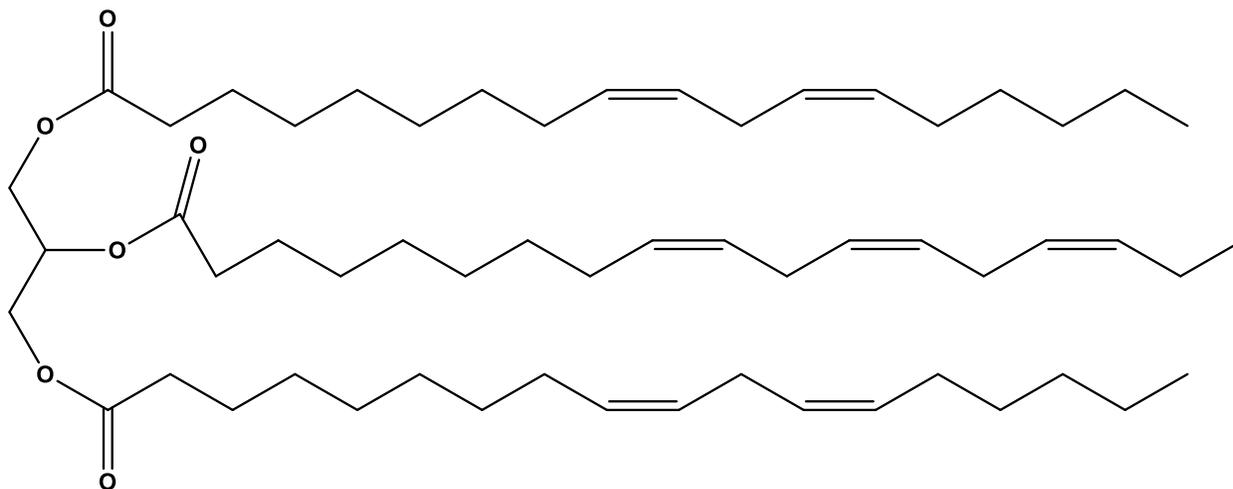
En la siguiente sección, se presentarán todos los espectros y estructuras de los TAG caracterizados.

**Figura 4.** Estructura molecular para el TAG (18:3,18:2,18:3).



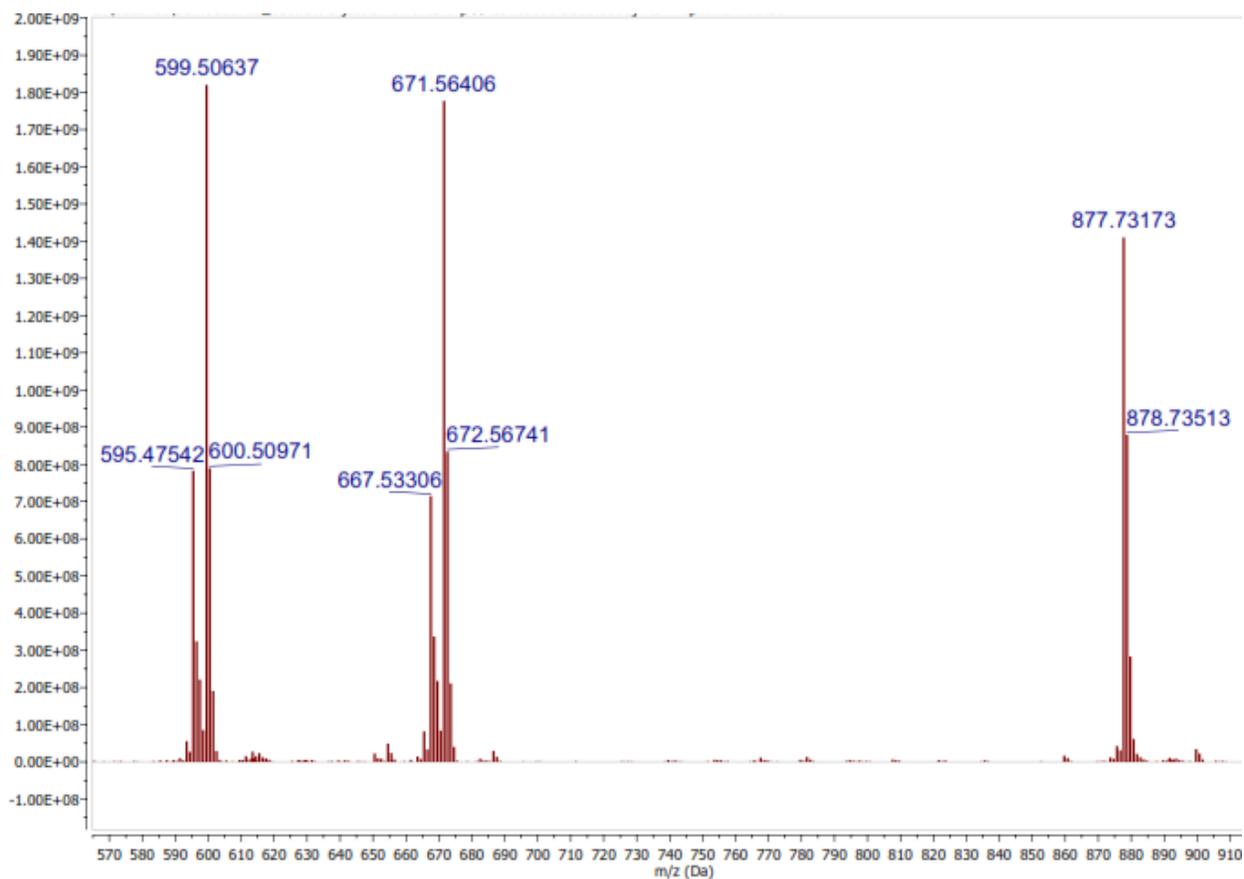
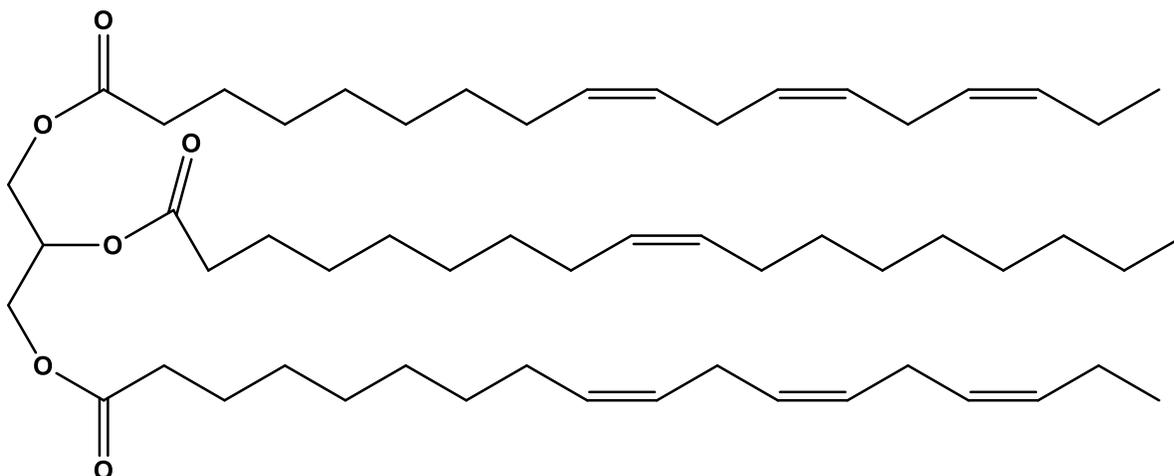
**Gráfico 7.** Espectro de masas por APCI de TAG (18:3,18:2,18:3) a TR (74,91 min).

**Figura 5.** Estructura molecular para el TAG (18:2,18:3,18:2).



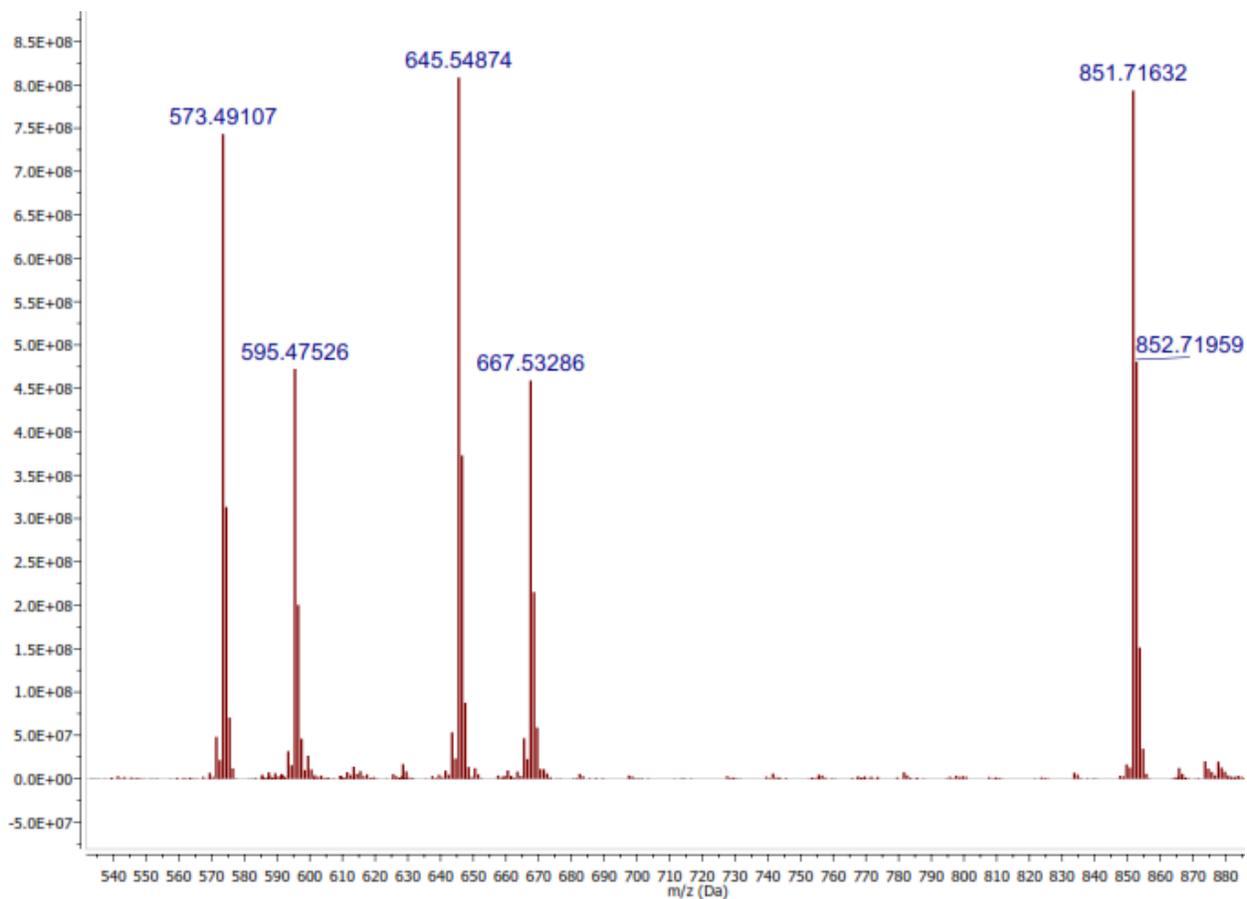
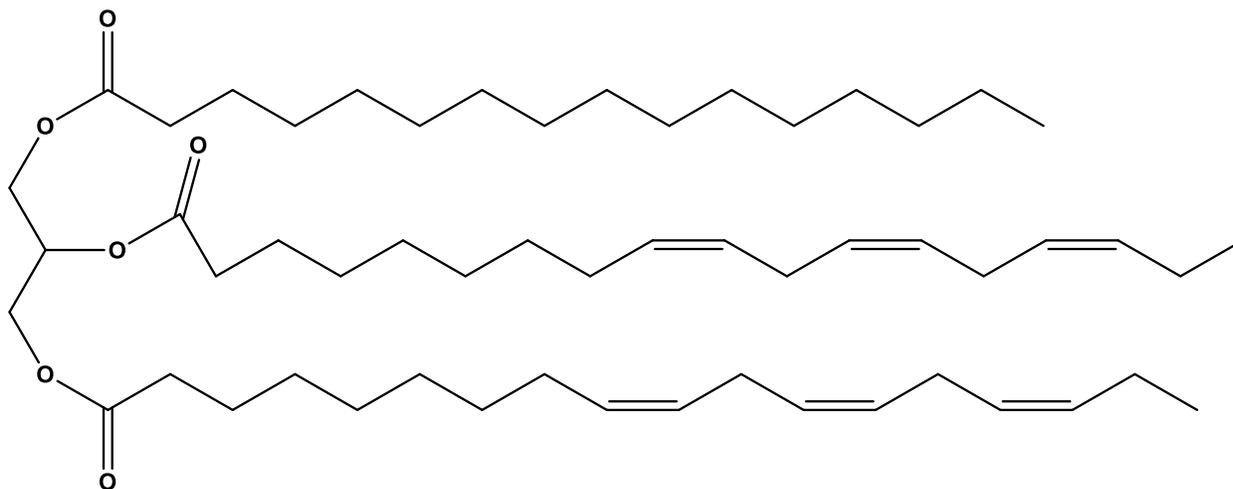
**Gráfico 8.** Espectro de masas por APCI de TAG (18:2,18:3,18:2) a TR (78,21 min).

**Figura 6.** Estructura molecular para el TAG (18:3,18:1,18:3).



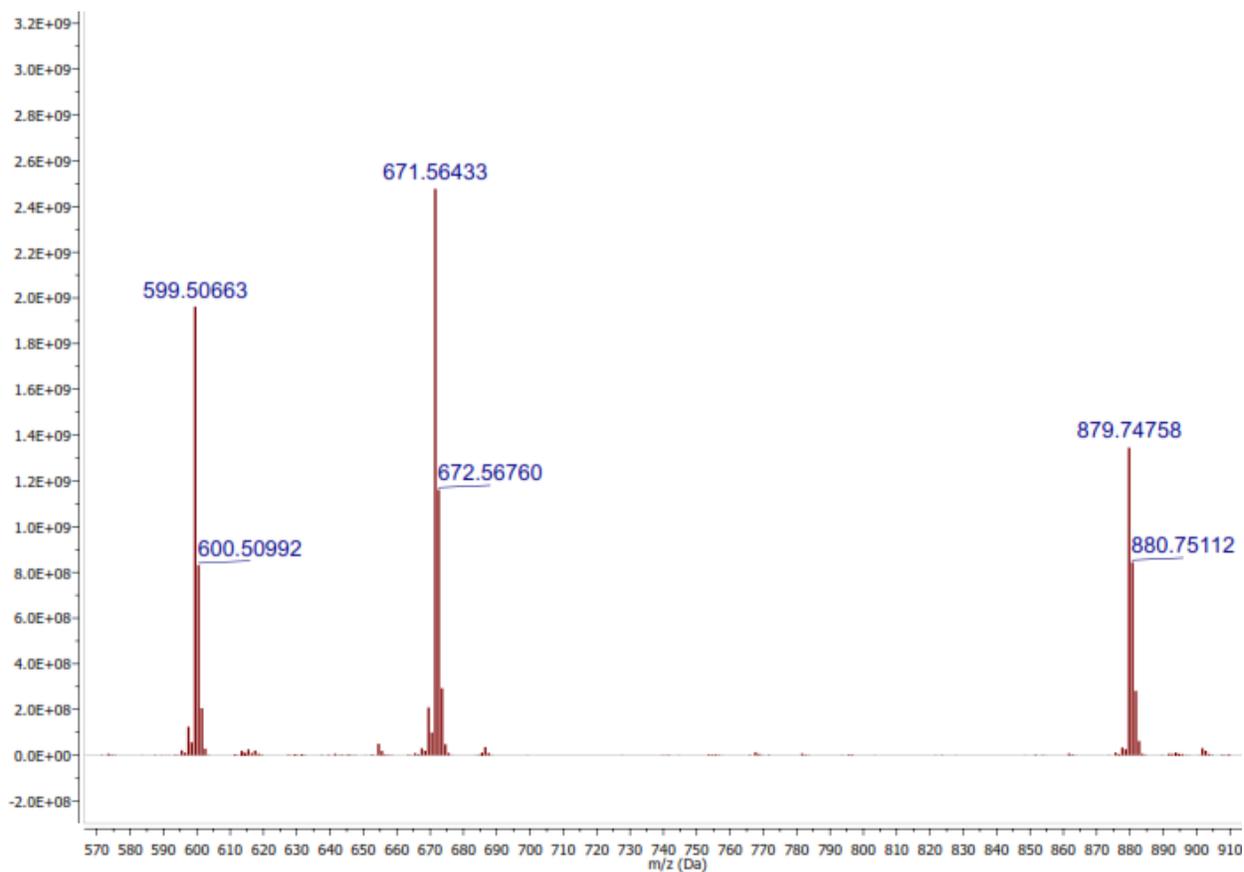
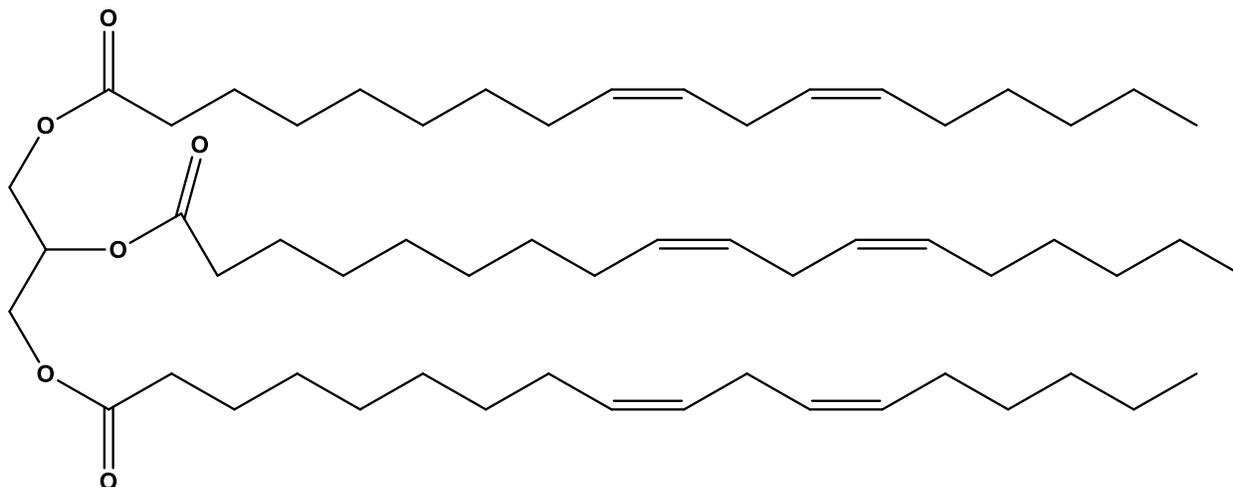
**Gráfico 9.** Espectro de masas por APCI de TAG (18:3,18:1,18:3) a TR (79,56 min).

**Figura 7.** Estructura molecular para el TAG (16:0,18:3,18:3).



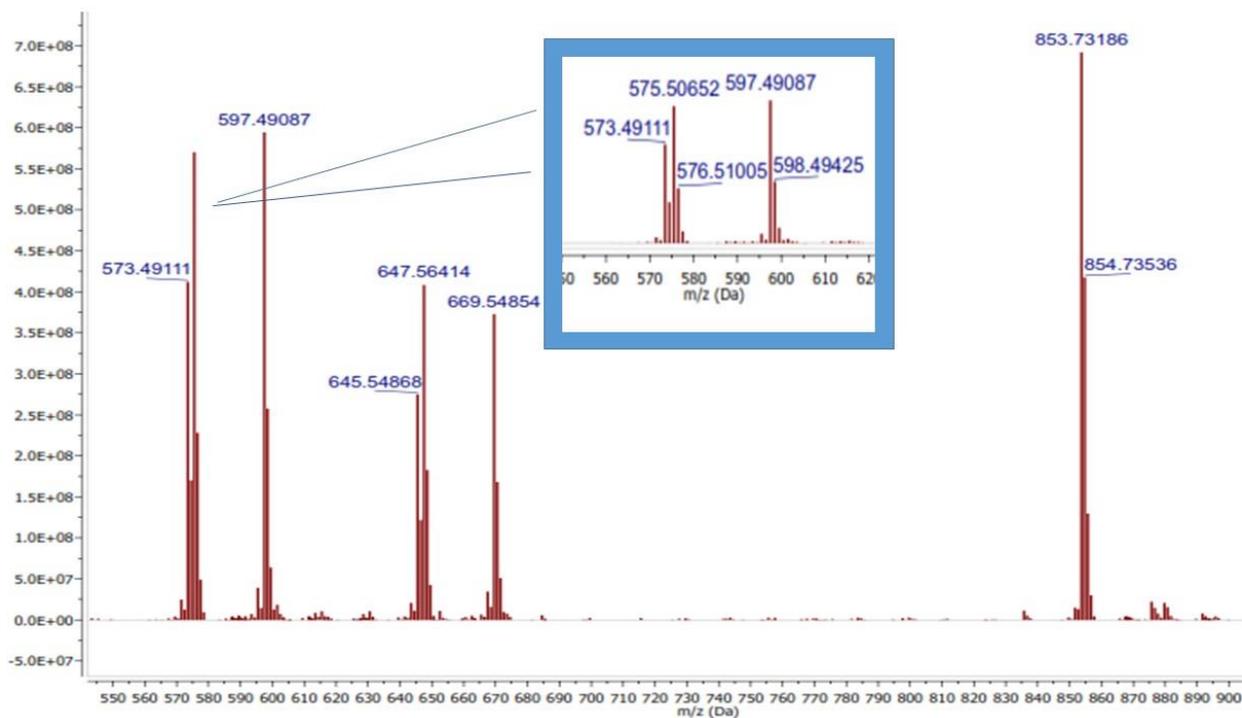
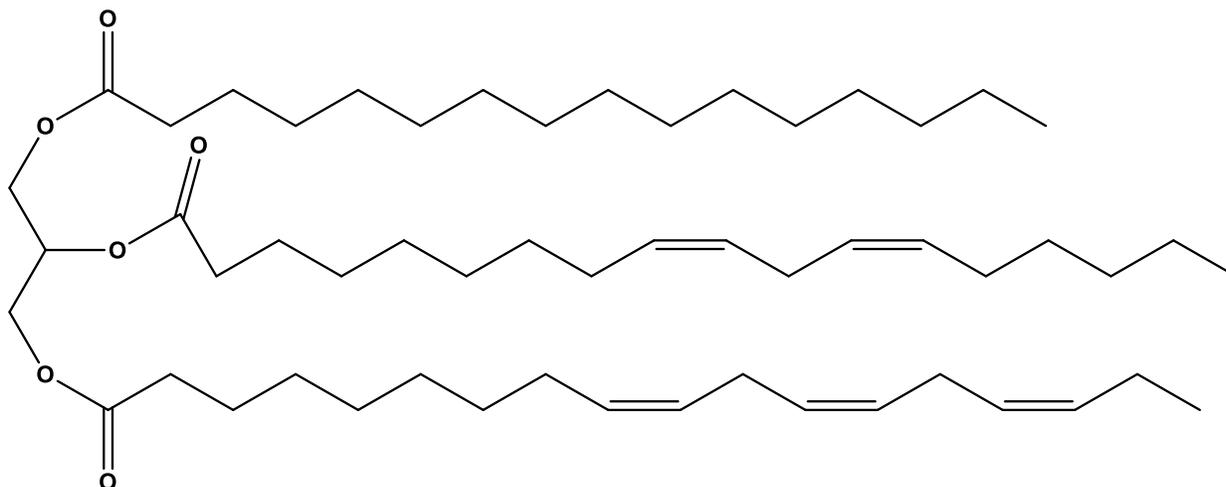
**Gráfico 10.** Espectro de masas por APCI de TAG (16:0,18:3,18:3) a TR (80,78 min).

**Figura 8.** Estructura molecular para el TAG (18:2,18:2,18:2).



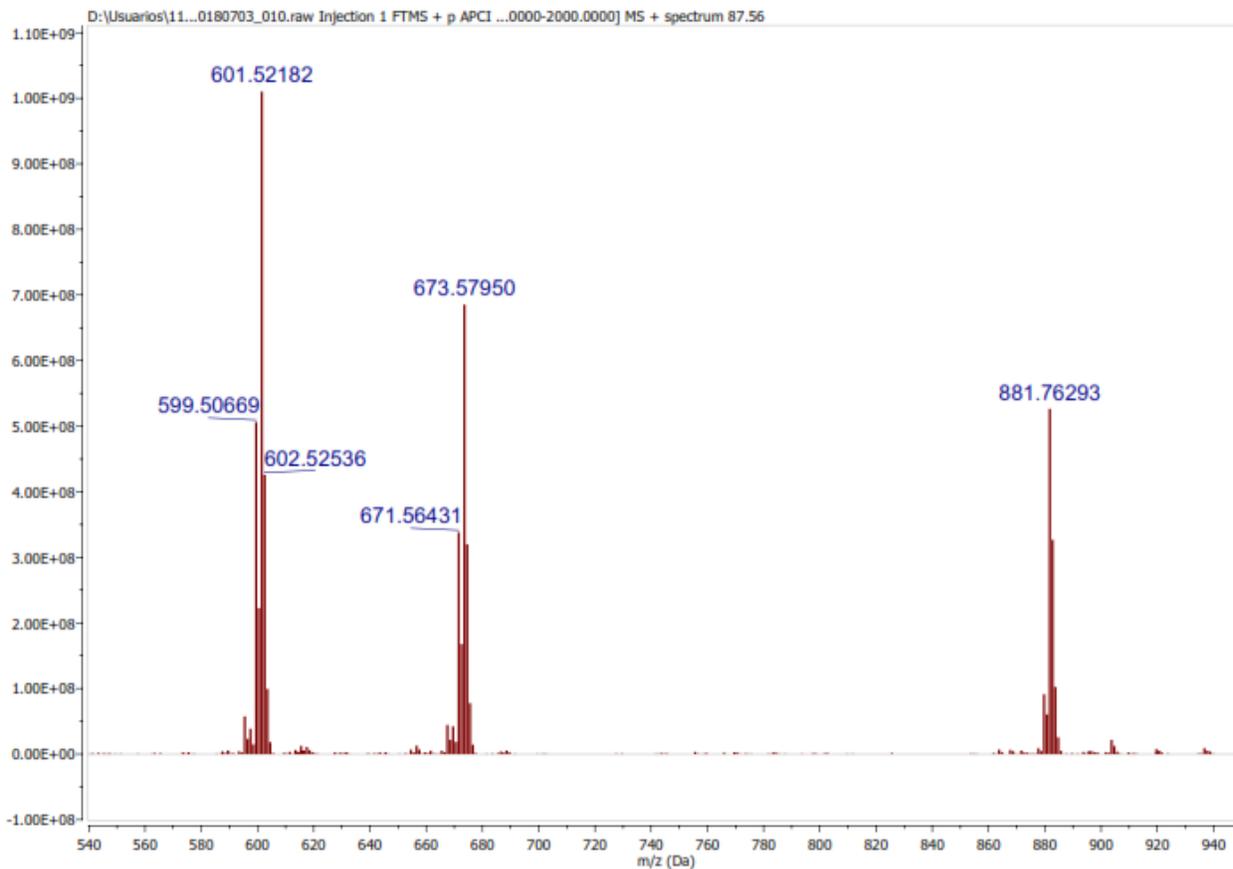
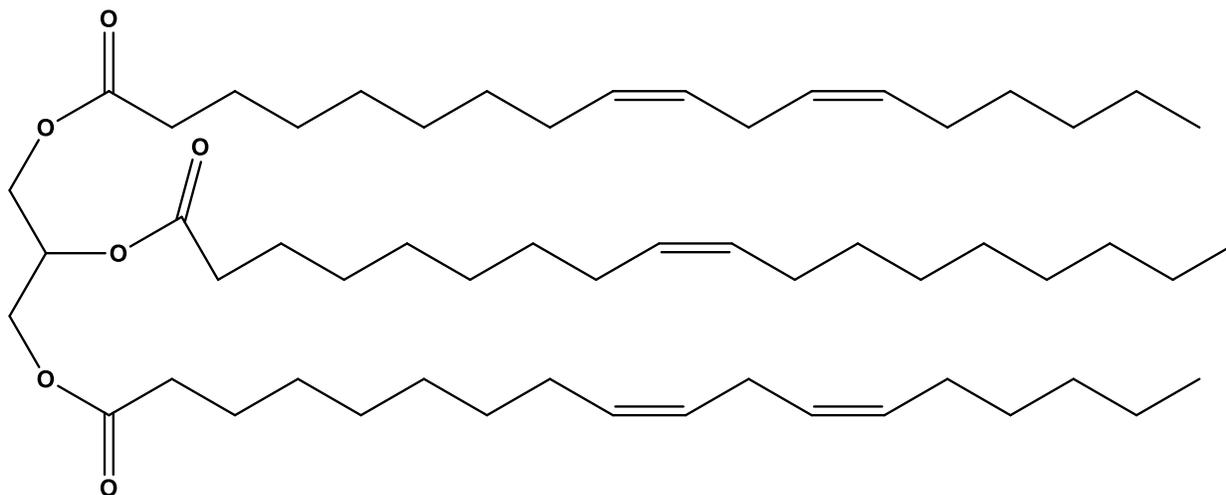
**Gráfico 11.** Espectro de masas por APCI de TAG (18:2,18:2,18:2) a TR (82,30 min).

**Figura 9.** Estructura molecular para el TAG (16:0,18:2,18:3).



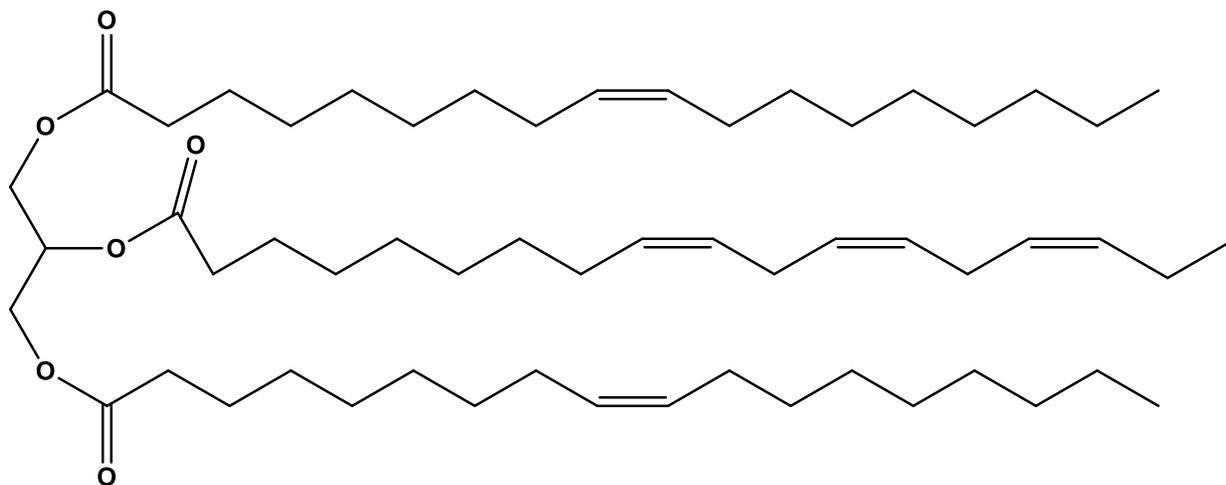
**Gráfico 12.** Espectro de masas por APCI de TAG (16:0,18:2,18:3) a TR (84,55 min).

**Figura 10.** Estructura molecular para el TAG (18:2,18:1,18:2).

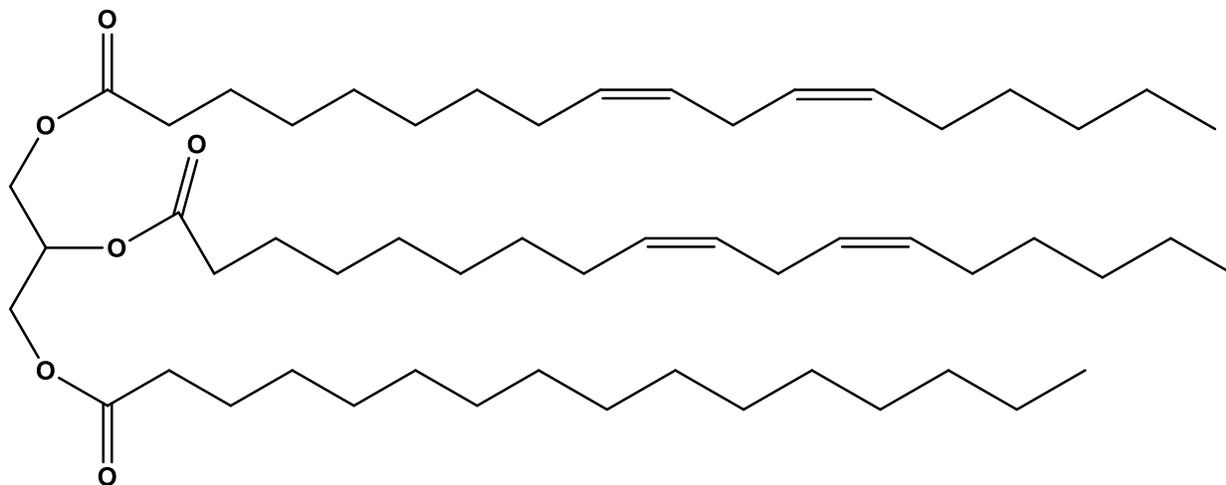


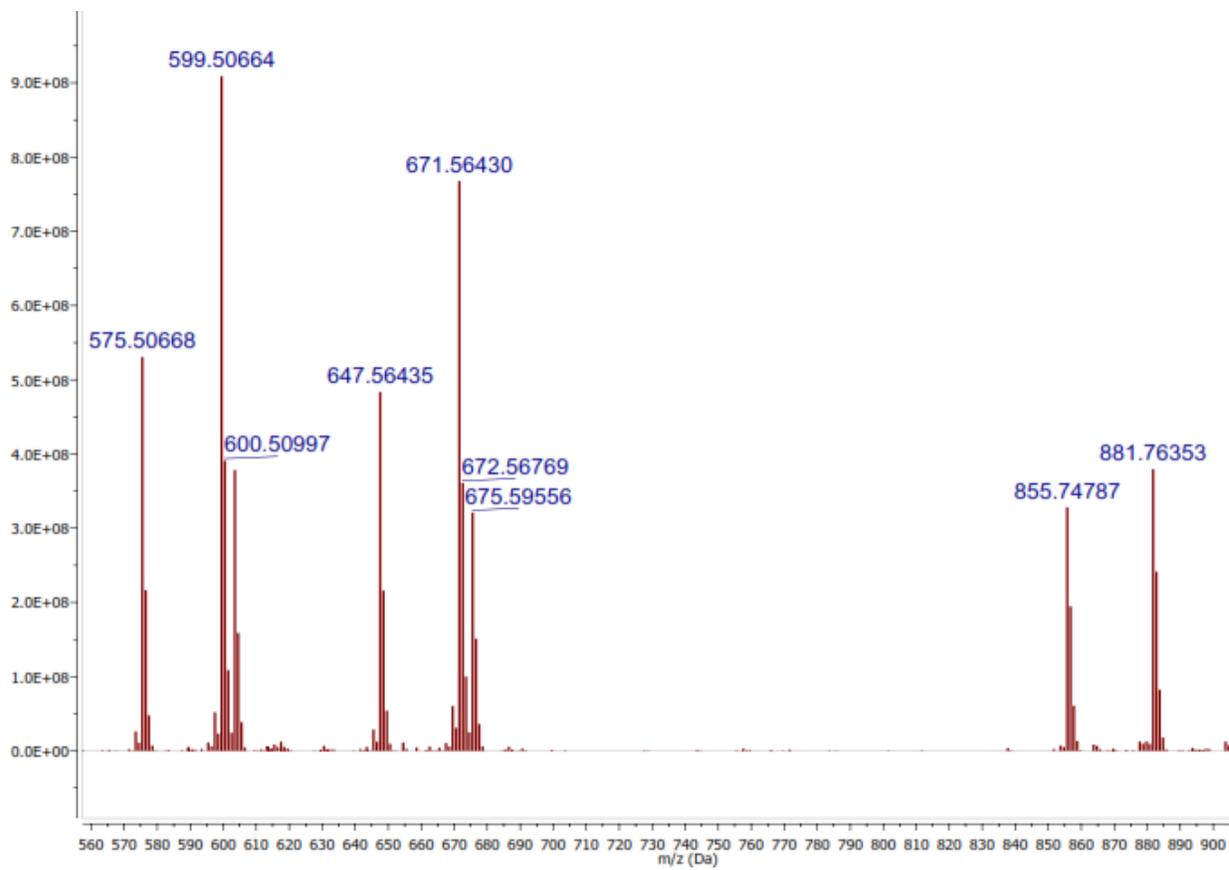
**Gráfico 13.** Espectro de masas por APCI de TAG (18:2,18:1,18:2) a TR (87,56 min).

**Figura 11.** Estructura molecular para el TAG (18:1,18:3,18:1).



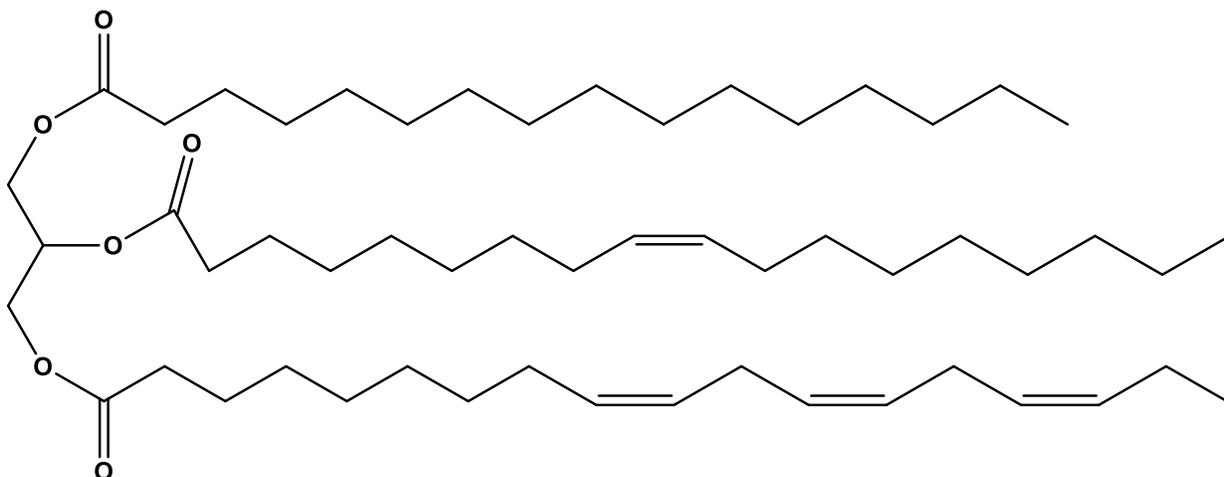
**Figura 12.** Estructura molecular para el TAG (18:2,18:2,16:0).

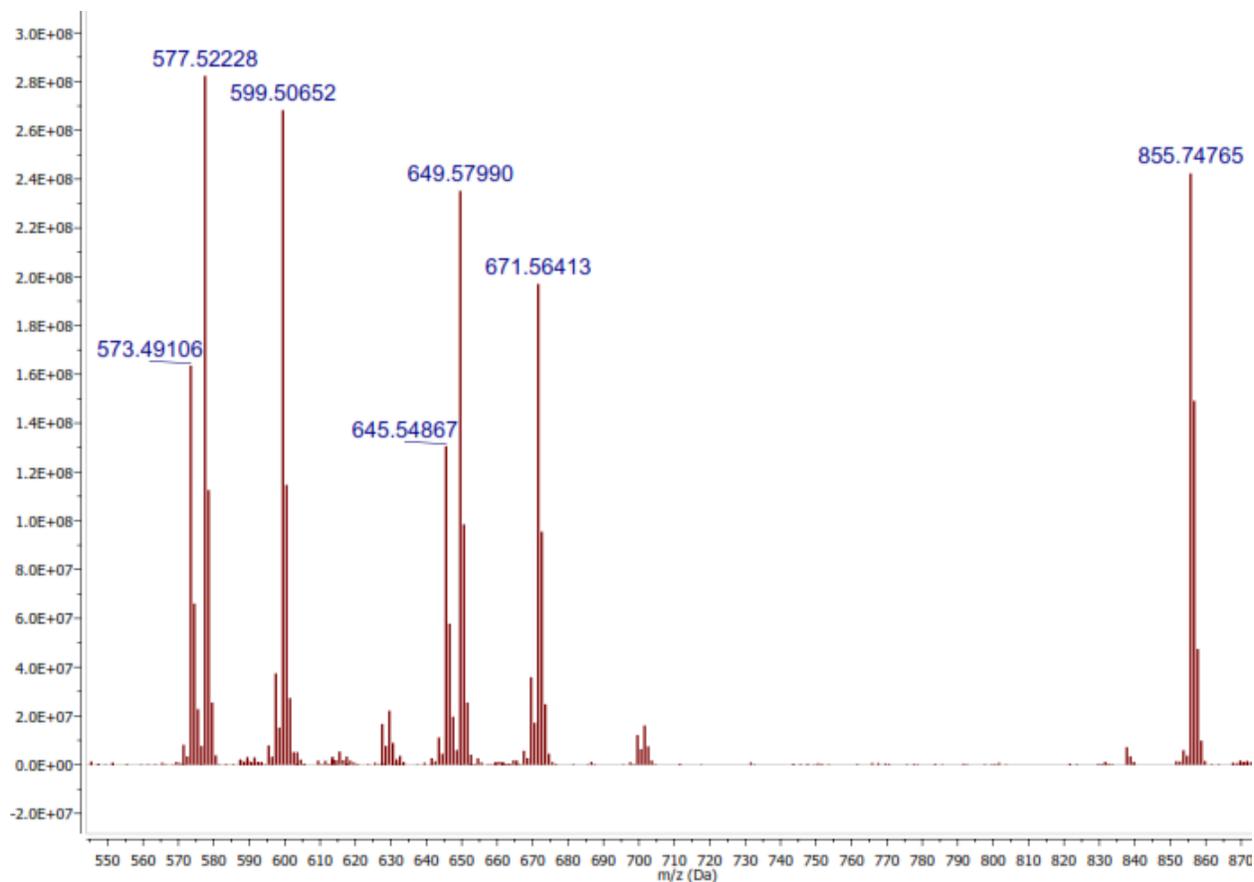




**Gráfico 14.** Espectro de masas por APCI de TAG (18:1,18:3,18:1) y TAG (18:2,18:2,16:0) a TR (88,53 min).

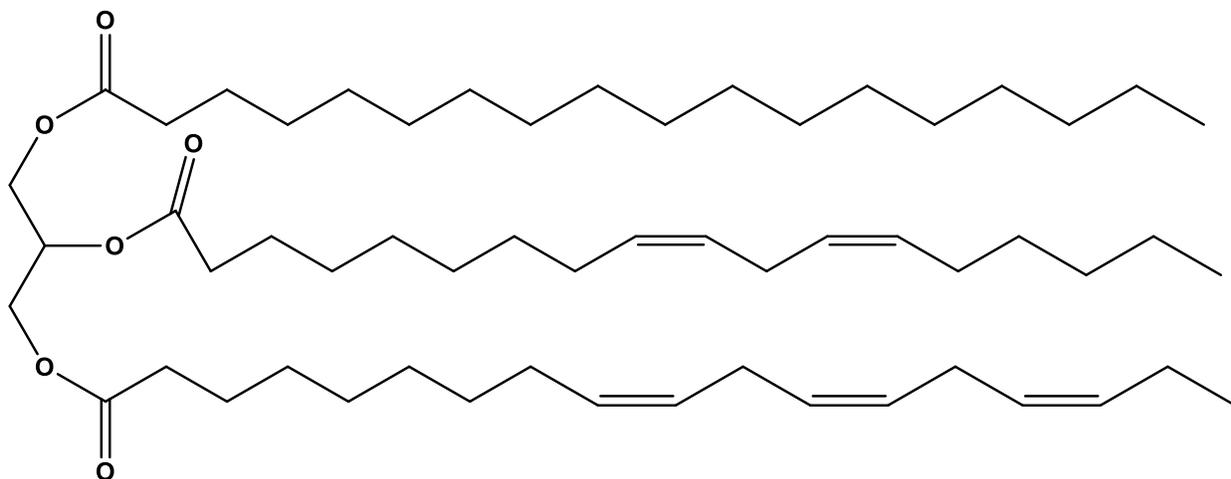
**Figura 13.** Estructura molecular para el TAG (16:0,18:1,18:3).

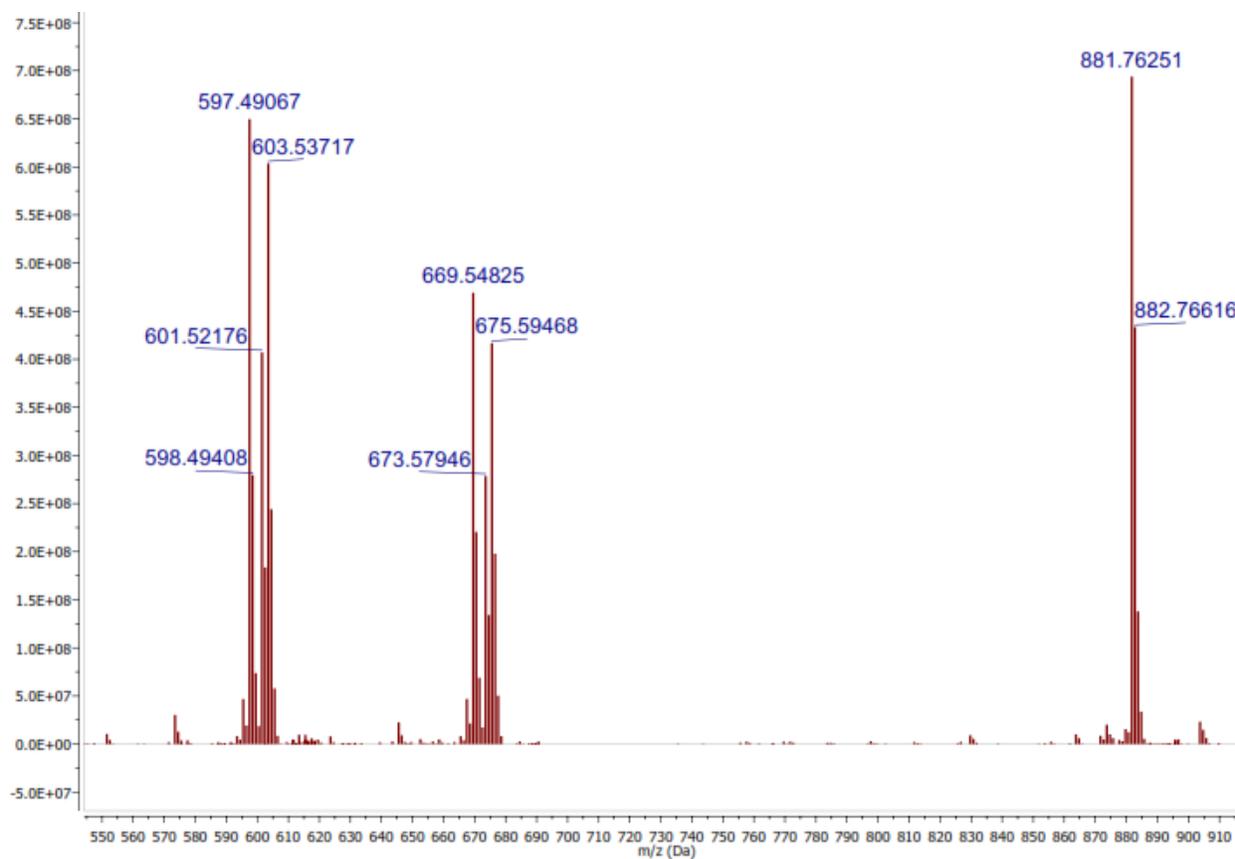




**Gráfico 15.** Espectro de masas por APCI de TAG (16:0,18:1,18:3) a TR (89,92 min).

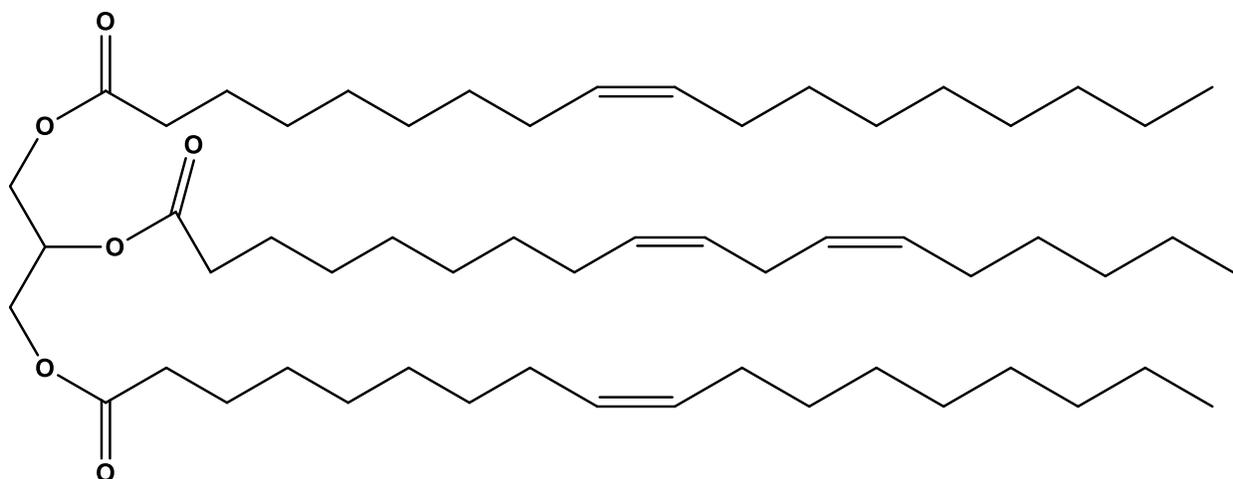
**Figura 14.** Estructura molecular para el TAG (18:0,18:2,18:3).

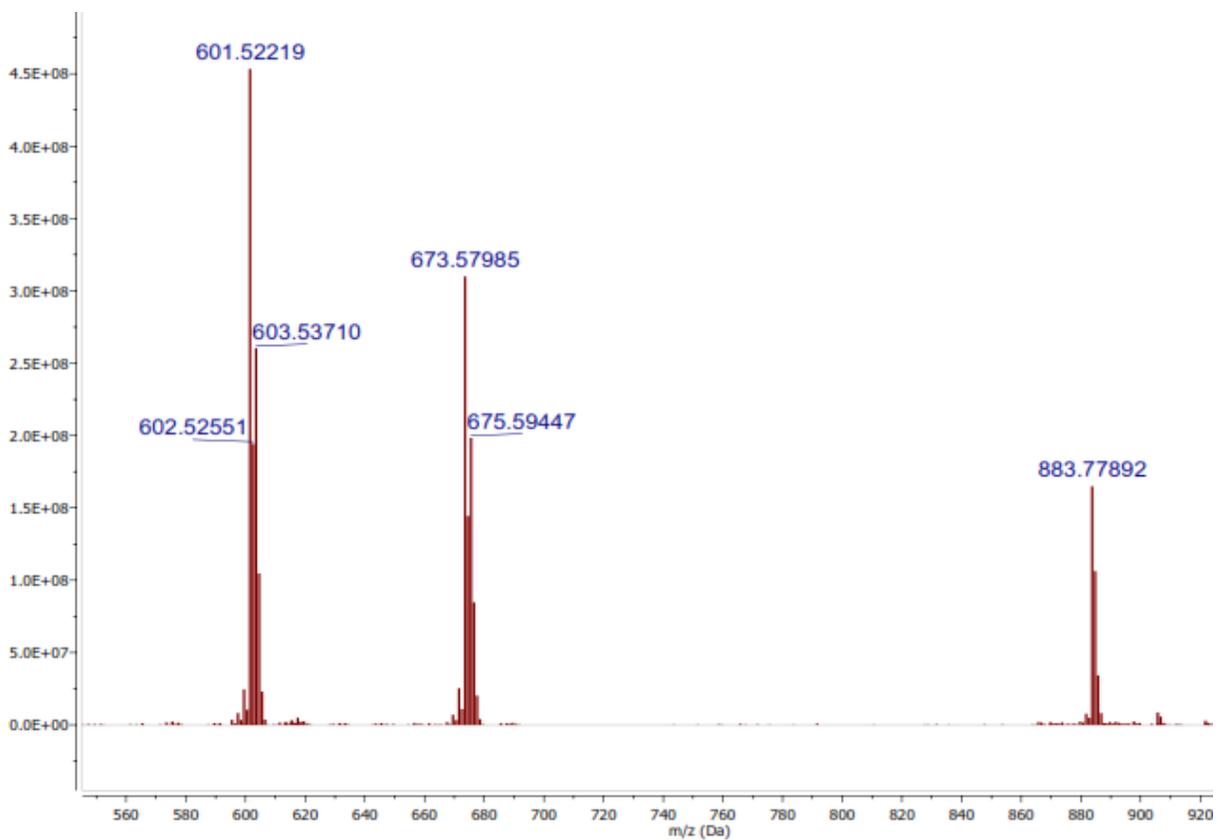




**Gráfico 16.** Espectro de masas por APCI de TAG (18:0,18:2,18:3) a TR (91,21 min).

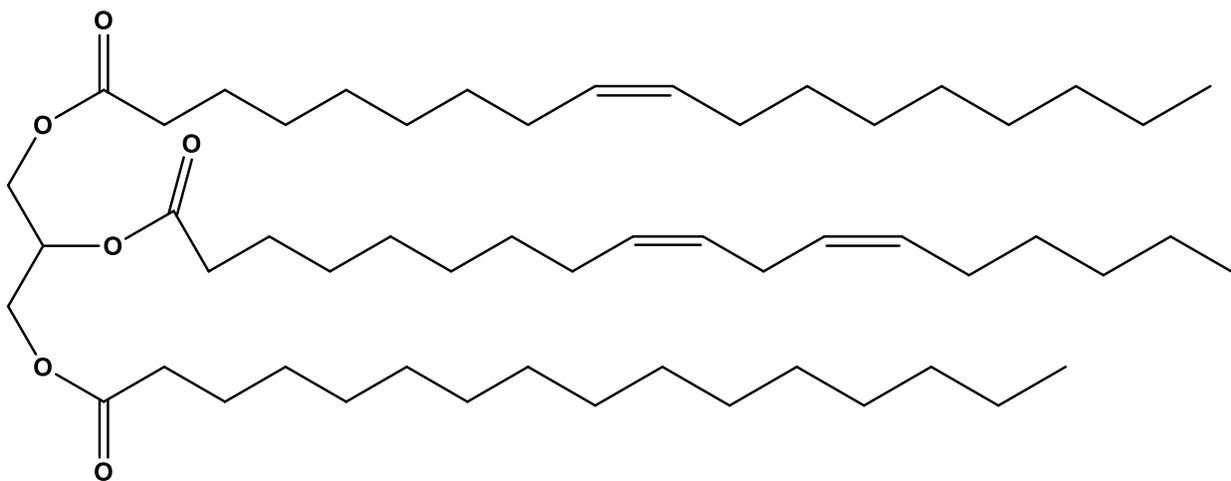
**Figura 15.** Estructura molecular para el TAG (18:1,18:2,18:1).

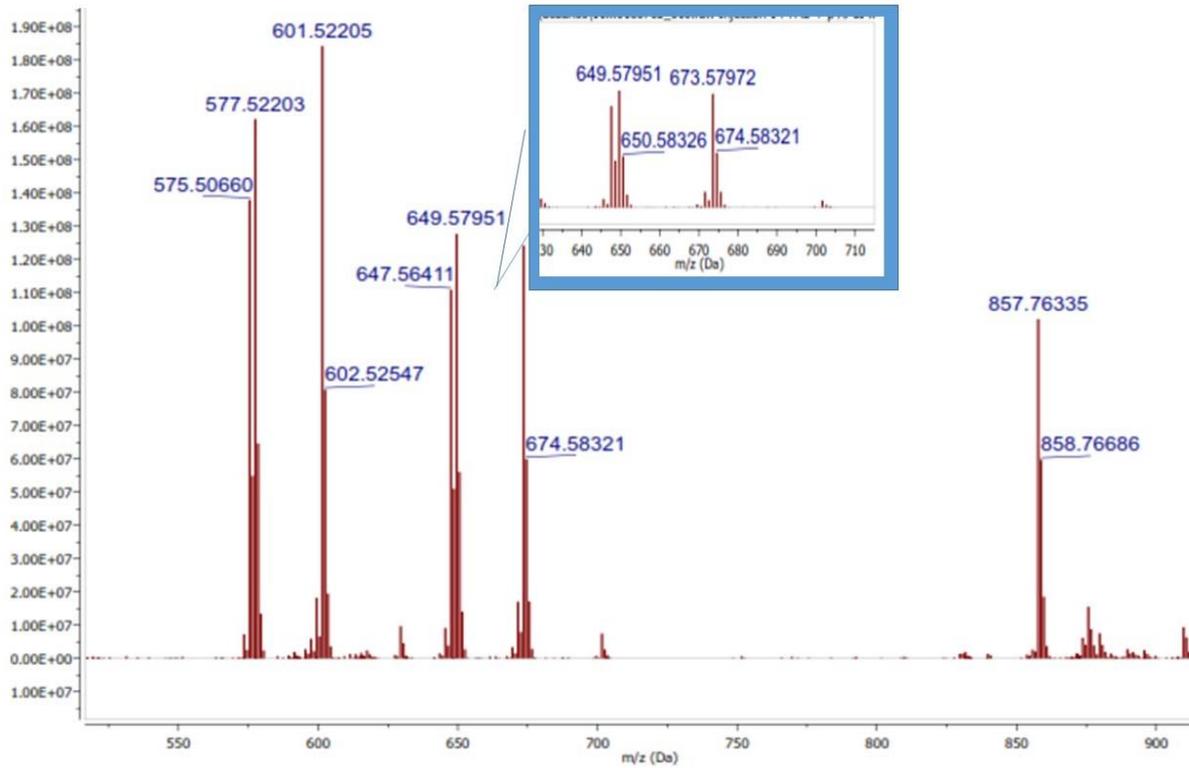




**Gráfico 17.** Espectro de masas por APCI de TAG (18:1,18:2,18:1) a TR (92,81 min).

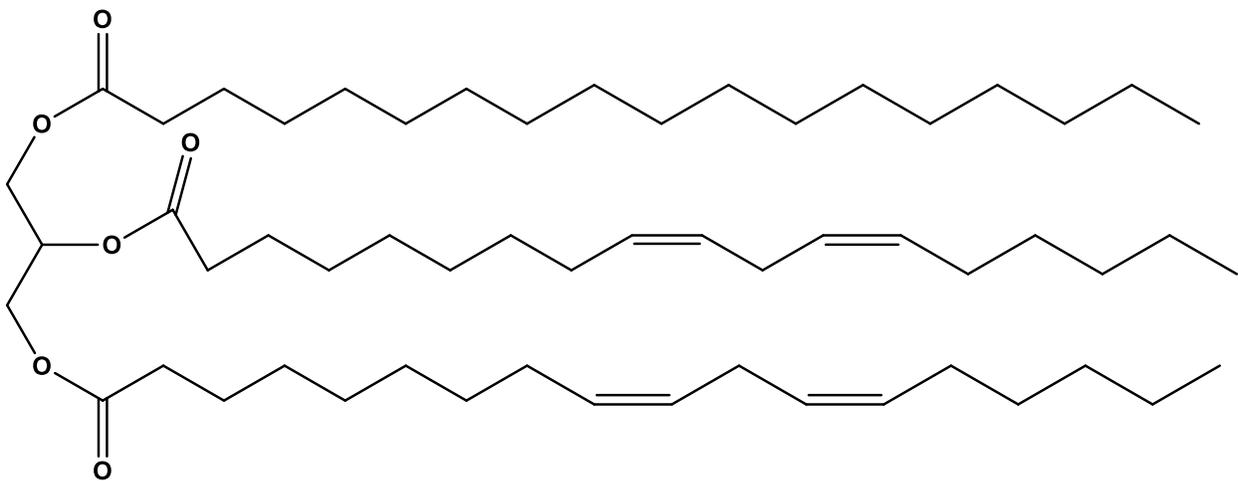
**Figura 16.** Estructura molecular para el TAG (18:1,18:2,16:0).

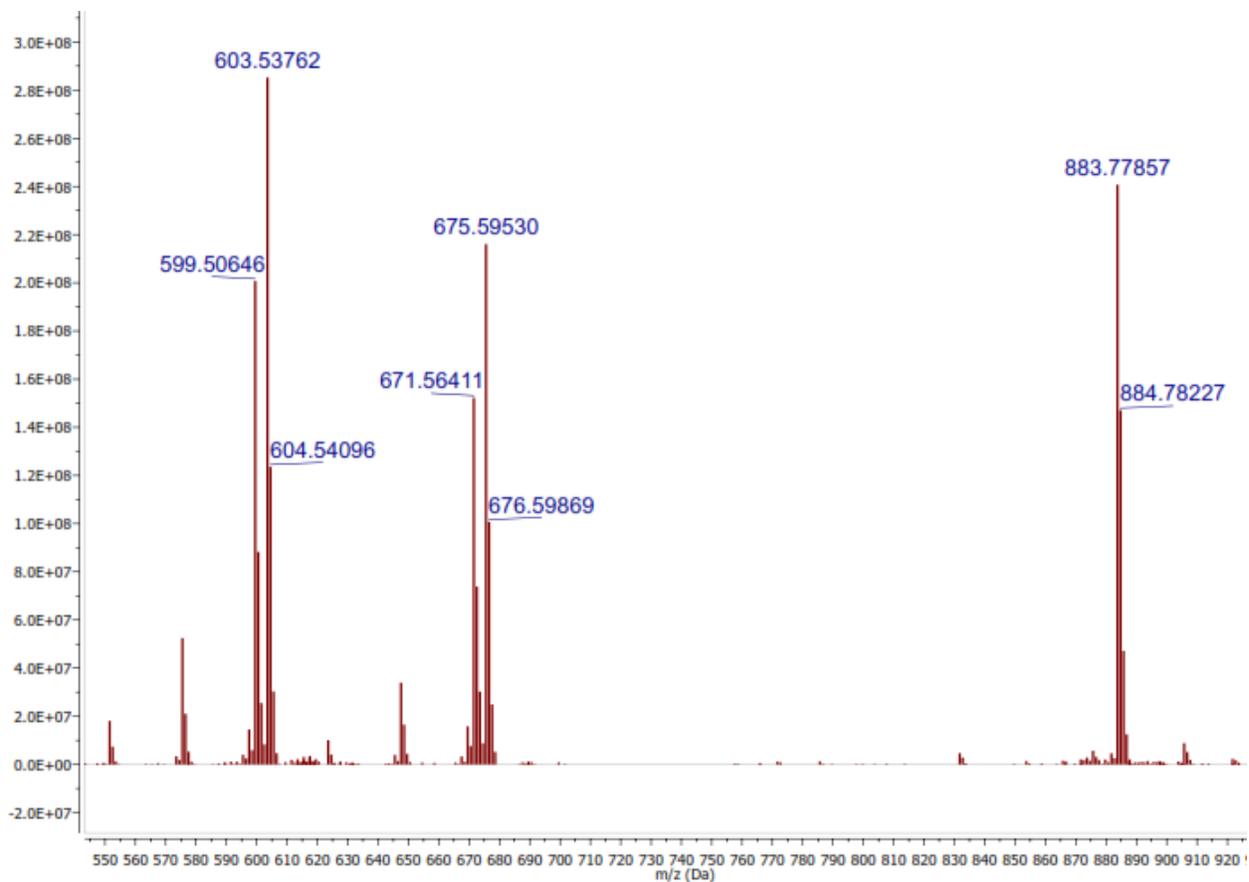




**Gráfico 18.** Espectro de masas por APCI de TAG (18:1,18:2,16:0) a TR (93,87 min).

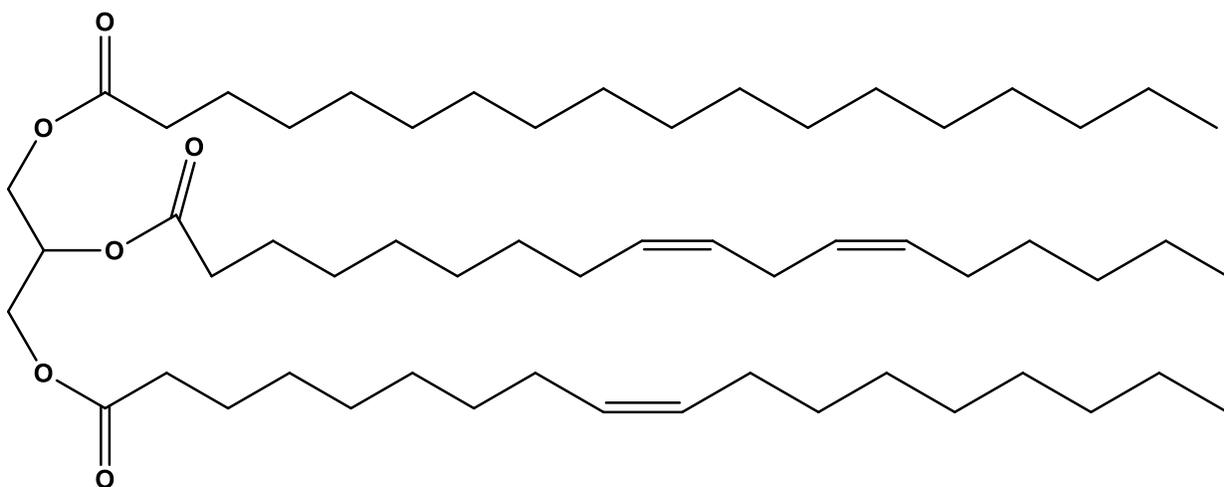
**Figura 17.** Estructura molecular para el TAG (18:0,18:2,18:2).



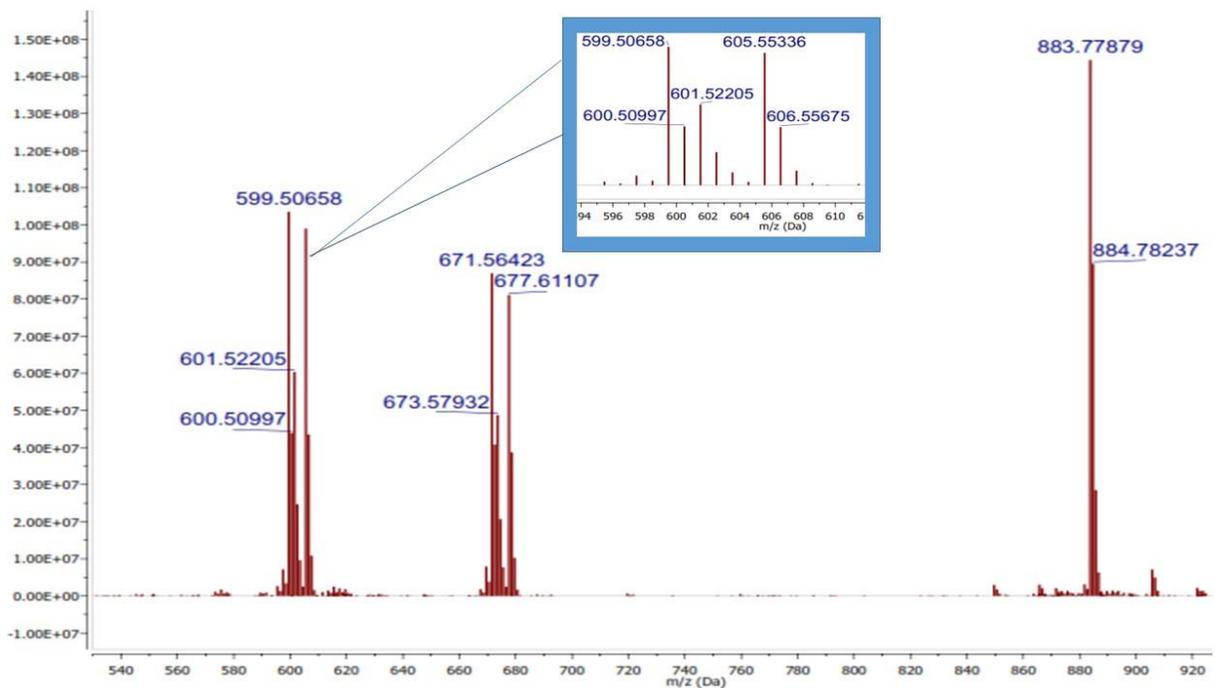
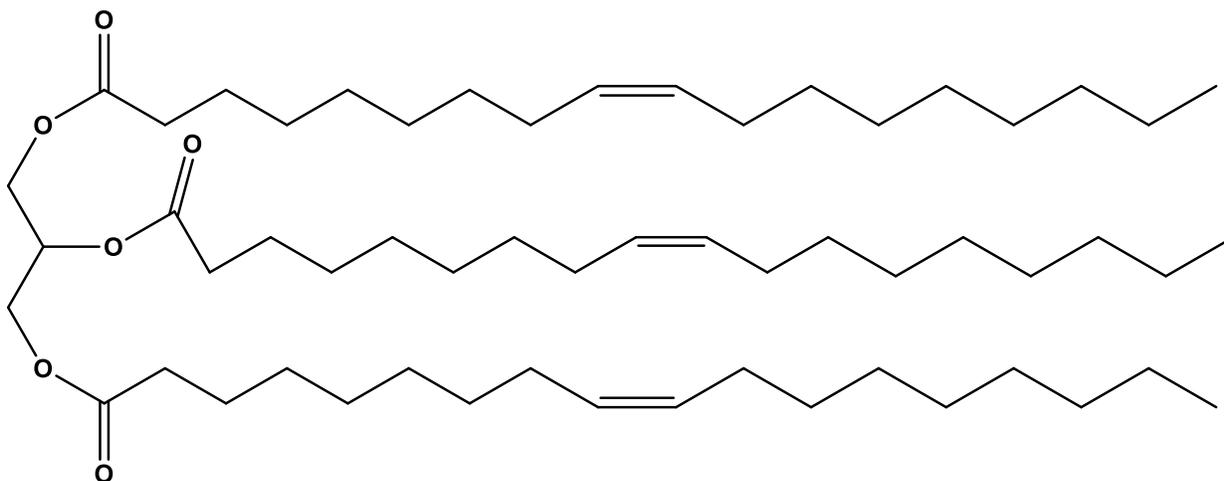


**Gráfico 19.** Espectro de masas por APCI de TAG (18:0,18:2,18:2)

**Figura 18.** Estructura molecular para el TAG (18:0,18:2,18:1).



**Figura 19.** Estructura molecular para el TAG (18:1,18,1,18:1).



**Gráfico 20.** Espectro de masas por APCI de TAG (18:0,18:1,18:2) y TAG (18:1,18,1,18:1) a TR (96,57 min).