



Escola Politècnica Superior  
d'Enginyeria de Manresa

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA

# Treball De Fi De Grau

Grau en enginyeria Química

Identificació i Anàlisi dels Compostos Orgànics del  
*Combretum micranthum* (kinkeliba)



Amadou Cherif Bah Diallo

Tutor: F.Xavier de Las Heras

Curs 2021-2022

Data: 07/10/2022



## **Dedicació**

Aquest treball està dedicat:

Els meus pares, a les meves germanes i els meus germans.

A tota la família, els meus amics que mai no m'han faltat. A tots els nostres educadors i educadores.

Els meus professors de l'EPSEM pel seu professionalisme.

Els meus professors i, professores a l'INS Castellet, David Roig, Montserrat Vives, Anna Corominas pels seus suports i consells.

A tots aquells i aquelles que estan en l'altra part del món lluitant per seguir aprenent malgrat les situacions de dificultat.

A tots els orfes i òrfenes del món. A totes les dones que han patit i pateixen de la violència de gènere.

A tota la gent valenta que lluita contra les infermetats amb una gran moral.

Finalment, dedico aquest treball el meu amic Ousmane Diallo que va patir un accident.

## **Agraïment**

Vull exposar el meu profund agraïment al tot poderós Déu per la seva misericòrdia.

Al meu agraïment els meus pares i a tota la família en general pel seu amor, suport i consells.

El meu gran agraïment el meu tutor F. Xavier de las Heras per la seva ajuda i confiança.

El meu sincer agraïment a tots els meus professors i professores de l'INS Castellet i de l'escola politècnica superior d'enginyeria de Manresa per l'ensenyament que m'han transmès.

El meu agraïment els meus amics els suports dels quals mai no m'ha faltat.

Sincerament, gràcies a tots aquells i aquelles que han contribuït de forma directa o indirecta a la realització d'aquest treball.



## Resum

Aquest treball és el fruit de la identificació i l'anàlisi dels compostos lipídics del *Combretum micranthum* conegut com a kinkeliba. En aquesta anàlisi hem pogut destacar la gran presència d'alcans, alcohols, àcids, terpenoides i esterols com el  $\beta$ -sitosterol (un compost important en la biomedicina) i també a part de la presència de la vitamina E comú de les plantes verdes, s'ha pogut identificar la vitamina K de gran importància que serveix com a cofactor en l'activació de la proteïna en el cos humà.

## Abstract

This work is the result of the identification and analysis of the lipid compounds of *Combretum micranthum* known as kinkeliba. In this analysis we have been able to highlight the great presence of alkanes, alcohols, acids, terpenoids and sterols such as  $\beta$ -sitosterol (an important compound in biomedicine) and also apart from the presence of vitamin E common to green plants, we have been able to identify the very important vitamin K which serves as a cofactor in protein activation in the human body.



## Índex

<b>1-Introducció</b> .....	<b>5</b>
<b>1-1-Objectius</b> .....	<b>5</b>
<b>2- Descripció de la planta</b> .....	<b>6</b>
<b>2-2-Mètode extractiu</b> .....	<b>8</b>
<b>2-2-1- consideracions generals</b> .....	<b>8</b>
<b>2-2-2 -Descripció del Soxhlet</b> .....	<b>9</b>
<b>2-2-3-Rotavaporació:</b> .....	<b>10</b>
<b>2-2-4-Derivatització</b> .....	<b>11</b>
<b>2-2-5-Preparació del material per l'extracció</b> .....	<b>12</b>
<b>2-3 -Tècniques d'identificació</b> .....	<b>13</b>
<b>2-3-1-Espectrometria de masses</b> .....	<b>14</b>
<b>2-3-2 -Preparació de la solució de l'extracte per punxar al cromatògraf</b> ...	<b>21</b>
<b>3-Resultat i discussió</b> .....	<b>21</b>
<b>3-1-Resultats</b> .....	<b>21</b>
<b>3-1-2-Àrees components</b> .....	<b>23</b>
<b>3-2-Discussió</b> .....	<b>26</b>
<b>3-3- Alcans</b> .....	<b>27</b>
<b>3-4-Alcohols</b> .....	<b>37</b>
<b>3-5- Terpenoides</b> .....	<b>40</b>
<b>3-6-Àcids grassos</b> .....	<b>44</b>
<b>3-7-Terpens</b> .....	<b>48</b>
<b>4-Conclusions</b> .....	<b>51</b>
<b>5-Bibliografia</b> .....	<b>52</b>

## 1-Introducció

Des del temps més antic en el continent Àfrica en general i particularment en la part oest del continent el *Combretum micranthum* conegut com a kinkeliba per molts, aquesta planta està utilitzada en la medicina tradicional africana conegut com a farmacopea africana. Al fil del temps hem anat observant la creença i la mitologia sobre els tractaments miraculosos del kinkeliba com a alternativa a la medicina moderna. Amb l'objectiu de donar a conèixer les virtuts d'aquesta planta hem decidit dedicar el nostre temps de recerca sobre el kinkeliba que en general no està generalment coneguda fora de les fronteres africanes. Per tal de descobrir realment el kinkeliba i en un futur fer-la conèixer i de treure més profit hem decidit, en primer lloc, extreure aquesta planta per poder analitzar els seus compostos.

D'aquesta manera, afegirem no només valors a l'ús tradicional del kinkeliba, sinó també millorar el coneixement sobre el kinkeliba i les plantes familiars al kinkeliba.

### 1-1-Objectius

Per tal d'analitzar la nostra mostra de kinkeliba i així els seus compostos ens hem fixat una sèrie d'objectius que seran els característics del present treball.

-En primer de lloc farem una descripció completa de tots els processos i mètodes utilitzats durant la realització del treball.

-En segon lloc, mitjançant l'extracció amb dissolvents orgànics, farem la identificació i l'anàlisi dels principis actius present en la planta mitjançant la tècnica de cromatografia de gasos combinada amb la tecnologia d'espectrometria de masses.

-En tercer lloc, farem un estudi particular sobre els grups químics presents en la planta.

-En definitiva farem un estudi comparatiu amb els resultats prèviament obtinguts sobre l'anàlisi del kinkeliba i en traurem conclusions.

## 2- Descripció de la planta

### 2-1-1 Descripció

El Kinkeliba és una planta que prové d'Àfrica tropical principalment als tròpics més secs, fins a 1.000 metres sobre el nivell del mar. El seu hàbitat es troba a les regions àrides de la sabana, sobre sòls de gres, argila, laterita, roca cristal·lina i esquelètics. Es creu que el nom kinkeliba que significa: "arbre de la salut" és d'origen fulani.

El kinkeliba o *Combretum micranthum* és una planta la forma de la qual pot variar segons l'hàbitat. Sol presentar-se en forma d'arbust o arbre petit, d'entre 2 i 5 metres d'alçada; en condicions favorables, pot arribar als 10 metres d'alçada. També pot adoptar una forma d'escalada, enrotllant-se al voltant de les branques dels arbres propers i produint tiges de fins a 20 metres de llarg. Les fulles són ovalades, de consistència dura i de color verd fosc, les flors són petites i blanques.

El Kinkeliba és una planta indicadora en sòls pobres i sovint es troba als nius de tèrmits, tot i que les seves arrels són susceptibles a l'atac dels tèrmits. Creix millor en zones amb temperatures diürnes anuals que oscil·len entre 22 i 35 °C, però tolera entre 10 i 45 °C. Les plantes madures poden morir a -5 °C o menys, però els nous brots moriran tan aviat com -1 °C. El kinkeliba pot acceptar una precipitació mitjana anual de 500 a 1300 mm, però tolera de 300 a 1300 mm. A 1500 mm, requereix un lloc assolellat. Des del punt de vista pedològic, creix bé en sòls gresos, argilosos, laterita, roca cristal·lina i esquelètics amb un pH entre 6 i 7 i una tolerància de 5,5 a 7,5. Creix bé en sòl sec i, un cop arrelat, és molt tolerant a la sequera. Les plantes poden recuperar-se dels danys dels incendis forestals.

Pel que fa a la propagació, es pot propagar per llavors, que s'han de posar prèviament en remull en aigua durant 24 hores per augmentar la velocitat de germinació. L'eliminació de l'estructura de la coberta de llavors també pot millorar els nivells de germinació. La taxa de germinació és generalment alta, fins al 100%. Les llavors es poden conservar durant molt de temps. Per tenir una idea sobre el *Combretum micranthum*, en la figura (1) hem pogut extreure una foto de les fulles del *Combretum micranthum* en el laboratori de química de l'EPSEM.



**Figura 1.** Fulles del kinkeliba: imatge extreta del laboratori l'EPSEM.

### **2-1-2 Ús tradicional del Kinkeliba**

El *Combretum micranthum* es coneix com a kinkeliba en Benín, Burkina Faso, Senegal, Mali, Gàmbia i Guinea.

S'utilitza per fer té i, s'utilitza en la medicina tradicional, i molts musulmans d'Àfrica Occidental l'utilitzen per trencar el dejuni durant el Ramadà.

El kinkeliba es fa servir tradicionalment al Senegal i Mali per tractar la fatiga, problemes hepàtics, mals de cap, períodes de convalescència, trastorns de la sang, pèrdua de pes. És una de les plantes importants de la medicina nigeriana.

Les branques són prou fortes per ser un material útil per construir tamborets, llits, mànecs d'eines i molt més.

El té fet mullant les fulles en aigua bullent és una beguda tònica tradicional als països de la sabana com el Senegal, Mali i Burkina Faso. Es creu que ajuda a perdre pes i té un efecte desintoxicant.

Entre els musulmans de l'Àfrica Occidental, especialment el wòlof, el fula i el mandinga, les fulles, l'escorça i les branques de kinkeliba es cullen i es venen en paquets durant l'estació seca al voltant del Ramadà. El Kinkeliba s'utilitza específicament per a aquest propòsit per la seva dolçor i es creu que estimula la gana, ja que els que dejunen volen poder gaudir de l'àpat més ric al vespre després d'anar sense menjar des de l'alba fins al capvespre.

En Burkina Faso, una decocció de les fulles es fa servir com a remei contra la malària. Tota la planta s'usa de diverses maneres per tractar malalties com l'hepatitis viral.

En particular, el kinkeliba pot augmentar la secreció d'orina i promoure l'excreció de bilis. Per tant, la fusta i les fulles de kinkeliba es fan ús per combatre l'anèmia, com a tònic, antipirètic, i consumir un litre al dia durant tres dies o més, segons la gravetat.

El Kinkeliba es pot emprar en lloc del cafè o del té a l'esmorzar. També s'utilitza per tractar el restrenyiment i estimular la funció digestiva i la gana. El kinkeliba es fa servir per a l'estimulació de la funció biliar, antiinflamatori i antibacterià, calma els pacients amb diarrea infecciosa, malalties del sistema urinari, i afavoreixen l'excreció de l'orina, també és suplement dietètic per a la pèrdua de pes.

En ús comestible, cal recordar que les fulles s'usen en l'elaboració de la beguda kinkelibles, un té refrescant. Es diu que beure té ajuda a una persona a adaptar-se al clima local. Les llavors també són comestibles, L'arrel es fa servir per rentar els ulls.

El *Combretum micranthum* també es fa servir amb finalitats agroforestals perquè, com s'ha esmentat anteriorment, aquesta planta sovint es considera un indicador de sòls pobres i pobres en nutrients a la natura. Les fibres interiors de l'escorça s'utilitzen per a lligament i cordes.

La fusta s'usa com a vímet per a l'estructura de cobertes, cabanes, per la fabricació de cistelles, mobles i bastons; a més, la fusta s'empra com a combustible i per produir carbó vegetal.

## 2-2-Mètode extractiu

### 2-2-1- consideracions generals

El procés d'extracció varia segons el tipus de mostra i el tipus de compost a recuperar, és a dir, segons si s'utilitza una mostra fresca, congelada o seca.

Així mateix, és impossible disposar d'un mètode d'extracció que no ignori cap metabòlit i pugui analitzar-los tots.

Les extraccions poden anar des d'extraccions simples amb dissolvent o Soxhlet fins a extraccions més complexes, com ara l'extracció de fluids supercrítics (SPE) o l'extracció assistida per microones (MAE).

En aquest treball, es va realitzar l'extracció de Soxhlet, tot i que s'ha d'utilitzar una gran quantitat de dissolvent, requereix un llarg temps de funcionament i tècniques addicionals per reduir el volum de la mostra i eliminar part del dissolvent, és un afegit a moltes analítiques i investigacions. A la tècnica estesa al laboratori, té una tècnica senzilla amb bons rendiments d'extracció.

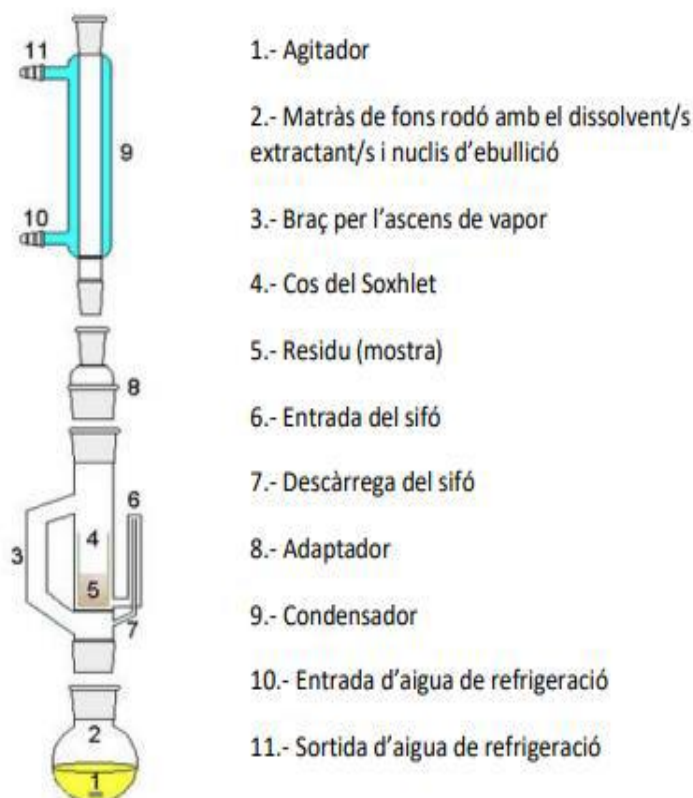


## 2-2-2 -Descripció del Soxhlet

L'extracció Soxhlet permet extreure components de matrius sòlides, deixant enrere impureses insolubles. Per exemple, si un component d'una mescla sòlida té una alta solubilitat en alguna matriu líquida, es pot separar en aquesta nova matriu mitjançant l'extracció Soxhlet.

El muntatge del sistema Soxhlet es mostra a la figura (2). Dins del cos de Soxhlet (4), es col·loca una càpsula de cel·lulosa on s'introdueix la mostra sòlida. El dissolvent es va escalfant des del matràs de fons rodó (2). Quan bull, el condensador (9) el retorna al cos de Soxhlet com un degoteig. Això permet l'extracció de components solubles de la mostra.

Quan el dissolvent omple el recipient, el sífon lateral (3) també s'omple fins que es desborda. És en aquest moment que el dissolvent (5) es buida amb l'extracte fins a arribar al matràs inicial. Gràcies a una font de calor proporcionada per una manta elèctrica o una placa calefactora a la part inferior del vidre rodó, es va repetint el cicle a mesura que el dissolvent segueix bullent. Utilitzem dissolvents orgànics de baix punt d'ebullició. Aquests han de fluir a través de l'extractor Soxhlet durant hores per obtenir bons resultats. En la figura (2) veiem, el soxhlet i les seves diferents parts.



**Figura 2.** Esquema i parts d'un soxhlet: **Autora:** Anna Augé, 2014.

### 2-2-3-Rotavaporació:

L'evaporació rotativa és un procés d'evaporació que es realitza a una temperatura determinada relativament baix (entre 40-60 °C) per evitar l'evaporació de compostos volàtils de la mostra juntament amb dissolvent. Això s'aconsegueix creant un buit dins del baló i dins del cos refrigerat de l'evaporador rotatiu a través d'una bomba de buit. La temperatura de l'aigua del Soxhlet es va establir a 45 °C.

Un cop arribada a la temperatura fixada, es col·loca el matràs que conté l'extracte en un evaporador rotatiu, es tanca l'aixeta de la part superior de l'evaporador rotatiu i, a continuació, l'engeguem. L'aigua circula pel circuit de refrigeració. S'encén la bomba de buit perquè el baló estigui en contacte amb l'aigua calenta.

El dissolvent s'evapora, es condensa en un evaporador rotatiu i després va al matràs secundari, on s'acumula. Aquest dissolvent es considera pur, però no es pot reutilitzar a la propera extracció. Quan tot el dissolvent s'ha evaporat, la bomba s'atura i s'obre l'aixeta. Es deixa que la pressió interna del dispositiu s'iguali, es tanca l'aixeta i es treu el matràs de l'evaporador rotatiu. No ha de romandre el dissolvent al matràs, es mantindran tots els compostos orgànics impregnats a la paret interior. S'afegeix una petita quantitat d'hexà d'alta puresa es passa en el matràs per tota la paret interior per dissoldre's el màxim possible la quantitat de compostos i transferir el dissolvent a un vial ambre 2 ml amb l'ajuda d'una pipeta Pasteur. En la figura (3), veiem el rota vapor que hem utilitzat durant l'experiment extret en el laboratori de química de l'EPSEM.



**Figura 3.** Rota vapor: imatge extreta del laboratori de química de l'EPSEM.

## 2-2-4-Derivatització

La derivatització és el procés de modificació de grups hidroxil (-OH), compost que converteix molècules polars en molècules no polars. Això s'aconsegueix fent reaccionar un compost anomenat N,O-Bis(trimetilsilil), trifluoroacetamida (abreujat BSTFA) i la temperatura d'aplicació. Aquesta reacció canvia l'hidrogen del grup hidroxil del compost en qüestió i intercanviar-la per un grup Trimetilsilil (TMS), que és silici unit a tres metils (CH<sub>3</sub>). Per garantir que tots els compostos es puguin derivatitzar, s'afegeix el BSTFA excessiu. Per poder fer la derivatització hem utilitzat els següents materials: un vial de 2 ml amb tap de rosca, el BSTFA, un forn, un paper d'alumini, una xeringa Hamilton de 250 µL. S'encén el forn i s'ajusta la temperatura a 70 °C. S'injecta una petita quantitat d'extracte concentrat al vial ambre 2 ml amb una xeringa Hamilton.

Utilitzant una xeringa Hamilton de 250 µl, s'agafa 200 µl de BSTFA i s'injecta al vial. Es cobreix el vial amb la tapa, col·loquem un paper d'alumini entre la tapa i el kinkeliba. Evitem que els dissolvents entrin en contacte amb el plàstic i la contaminació ftalets. Introduïm el vial al forn a 70 °C i deixem-ho reaccionar durant 45 minuts.

Un cop transcorreguts 45 minuts, la mostra està preparada per a la perforació al cromatògraf gas. En la figura (4) podem observar, una foto del forn utilitzat en l'experiment, extret en el laboratori de química de l'EPSEM.



**Figura 4.** Forn: imatge extreta del laboratori de química (EPSEM).

## 2-2-5-Preparació del material per l'extracció

Aquesta mostra es van polvoritzar amb un morter. Abans de fer l'extracció hem calculat la humitat de la planta per assegurar-nos que els fulls de la planta que utilitzarem són totalment secs. Per calcular la humitat del kinkeliba, després de polvoritzar la planta, l'hem pesat per saber la massa inicial. Després d'haver pesat el kinkeliba l'hem assecat mitjançant un assecador durant 24 h i després l'hem tornat a pesar per apreciar la diferència de pes. Aquest procediment s'ha repetit fins que vam observar la constància del pes del kinkeliba després de l'assecatge i això ens indicava que la planta estava totalment seca. Durant aquest procediment hem obtingut els resultats següents:

- Massa baló =17,663 g
- Massa baló +kinkeliba =18,153 g
- Massa del kinkeliba inicial =0,49
- Pes després 24 h Pes 1 Massa baló +kinkeliba = 18,096 g
- Massa del kinkeliba 1 =0,433
- Pes 2 Massa pot +kinkeliba = 18,090 g.
- Massa del kinkeliba 2 =0,433

Després d'haver obtingut els pesos necessaris hem calculat la humitat de la planta mitjançant la següent fórmula:

$$H = \frac{0,49 - 0,433}{0,49} * 100\% = 11,63\%$$

Hem pogut observar a través d'aquest càlcul de la humitat que el kinkeliba no té una gran quantitat d'aigua, ja que 11,63% d'aigua i la resta representa la planta seca.

### 2-2-5-1- Extracció del kinkeliba

Amb un tub d'assaig de 100 ml, omplim, un vial rodó amb 250 ml d'una barreja 7:3 de diclorometà/hexà. Vam afegir rajoles com a nuclis d'ebullició a cada rajola, les vam cobrir amb cobertes de pyrex i les vam col·locar sobre suports de suro per a la seva conservació.

Hem connectat les canonades d'entrada i sortida d'aigua freda de plàstic semirígid al refrigerador de recirculació, l'hem programat per mantenir l'aigua de recirculació a uns 4 °C i l'hem encès.

És col·locar el globus a la manta de calefacció. Se separa la peça de vidre refredada del cos de l'extractor soxhlet i s'introdueix un didal que conté la mostra de kinkeliba que vam pesar anteriorment.

Encenem la manta calefactora de manera que la temperatura inicial d'escalfament sigui d'uns 40 °C.

L'extracció s'atura al cap de 24 hores i es produiran aproximadament 96 extraccions (4 cicles d'extracció/hora).

## 2-3 -Tècniques d'identificació

La identificació de productes naturals com a metabòlits secundaris és molt útil en camps científics molt diversos. Històricament, s'ha utilitzat per identificar plantes basant-se en la taxonomia química, i com a empremta digital per identificar vins, olis i altres productes comercials (Revilla et al., 2001; Tura i Robards, 2002). Al mateix temps, s'han descobert i identificat nous compostos, les propietats biològiques o farmacològiques dels quals s'han estudiat. A més, la disponibilitat d'assajos de cribratge in vitro per a l'activitat d'aquests compostos és alta, la qual cosa permet una anàlisi exhaustiva de molts productes naturals. Això ha portat al descobriment de noves molècules amb propietats farmacològiques i relacions estructura-activitat, proporcionant una base per al disseny de nous fàrmacs.

Fins ara, els metabòlits s'han estudiat mitjançant tècniques com la ressonància magnètica nuclear (RMN) i espectrometria de masses (EM). L'avantatge de la tecnologia RMN és que s'ha utilitzat durant molts anys i, per tant, està ben provada. A més, és una tècnica que permet la recuperació de mostres, que pot ser determinant en alguns casos. Però, d'altra banda, també té l'inconvenient de la baixa sensibilitat i resolució, i només és adequat per trobar productes amb una gran proporció. La introducció de l'EM en la investigació de la metabolòmica només ha sorgit recentment, i la seva combinació amb cromatografia de gas i líquid ha permès analitzar simultàniament múltiples metabòlits (Fernie et al., 2004; Saghatelian i Cravatt, 2005). Les tècniques de cromatografia de gasos-espectrometria de masses (GC-MS) s'han utilitzat per a l'anàlisi metabòlica durant molt de temps i, per tant, disposen de protocols sòlids per a la configuració i manteniment d'equips, preparació de mostres, anàlisi de rendiment, avaluació de cromatogrames i interpretació de dades. En canvi, l'ús de la cromatografia líquida juntament amb l'espectrometria de masses (LC-MS) és relativament nou i no ha guanyat molta experiència, de manera que no hi ha un protocol ben definit i requereix més temps per interpretar les dades. Molts avantatges respecte al GC-MS, com la seva aplicació a un ventall més ampli de molècules (GC-MS només és apte per a compostos volàtils, o compostos que poden tornar-se volàtils per derivatització), molts útils en la detecció rutinària de fàrmacs, que poden ser realitzats en mesclures complexes sense residus a causa de reaccions de derivatització. A més, la combinació en tàndem (LC-MS/MS) millora encara més la sensibilitat i l'especificitat de l'anàlisi.

La cromatografia de gasos i l'espectrometria de masses són en realitat dues tècniques que es combinen per formar un únic mètode per analitzar mescles de compostos. La cromatografia de gasos (GC) separa els components d'una mescla segons la seva volatilitat o segons la facilitat amb què s'evaporen, mentre que l'espectrometria de masses (MS) caracteritza individualment cadascun d'ells segons la seva estructura química. La combinació d'aquestes dues tècniques permet investigar tant qualitativament com quantitativament solucions amb diferents composicions.

D'altra banda, tot i que es poden detectar simultàniament molts compostos, s'estima que en una anàlisi GC-MS típica només es poden identificar clarament entre el 20 i el 30% dels pics detectats.

### 2-3-1-Espectrometria de masses

L'EM és una eina amb un gran potencial per a l'elucidació i identificació de compostos. Aquesta tècnica pot aportar una gran quantitat d'informació: el pes molecular del compost, l'estructura de l'aglicona, els punts de substitució de la molècula, el patró de glicosilació, metilació o sulfur, el tipus de sucre, etc. A més, permet realitzar aquest tipus d'estudis amb mostres molt petites (Stobiecki, 2000).

També s'ha realitzat l'EM en línia, combinat amb tècniques de separació com la cromatografia líquida, la cromatografia de gasos o l'electroforesi. Aquest fet encara la converteix en una tècnica més potent per a la identificació de compostos perquè combina la informació estructural proporcionada per MS amb el poder de separació de HPLC (Robards, 2003). Tanmateix, cal tenir en compte que no es requereixen les mateixes condicions de treball per a HPLC i L'EM. Així, per a l'HPLC es requereix un cabal i una pressió elevats a temperatura ambient, mentre que per a l'EM es requereix una temperatura alta i un cabal i una pressió baixa per aconseguir un buit (He, 2000).

La tecnologia es basa en la ionització de molècules, el que significa que es poden detectar en funció de la seva relació massa-càrrega ( $m/z$ ). Els dos punts clau d'aquesta tecnologia són la font d'ionització i l'analitzador.

Font d'ionització:

Hi ha diferents sistemes d'ionització com l'impacte electrònic (EI) i la ionització química (CI) (He, 2000; Stobiecki, 2000). En EI i IC, els ions entren al detector directament en fase gasosa, cosa que permet l'acoblament amb cromatografia de gasos (GC-MS). Els sistemes (EI) consisteixen en molècules d'anàlit ionitzades per col·lisions amb electrons energètics que s'han accelerat per una diferència de voltatge de 50-70 eV. Aquesta ionització provoca la fragmentació de molècules d'alta energia, però es pot determinar la seva estructura.

En IC, els anàlits s'ionitzen reaccionant amb ions de molècules de gas de pes molecular relativament petit, com ara metà (com  $\text{CH}_5^+$ ), isobutà (com  $(\text{CH}_3)_3\text{C}^+$ )

C+) o amoni ( $\text{NH}_4^+$ ). Aquest tipus d'ionització proporciona menys energia a les molècules d'anàlisi, per tant, forma menys ions que els fragments de l'EI. Per tant, CI proporciona menys informació per determinar l'estructura de la molècula, però variació, pot proporcionar el pes molecular del compost, ja que de vegades, aquest pot estar completament fragmentat per EI i no visible.

Analitzador de masses:

També hi ha diferents tipus d'analitzadors de masses. Els més utilitzats són la transmissió de temps de vol (TOF) i la transmissió quadrupol (Q). Els analitzadors TOF es basen en el principi que diferents ions aplicats amb la mateixa energia inicial tindran velocitats proporcionals als seus valors  $m/z$ . A causa del potencial elèctric aplicat, un cop els ions surten de la font d'ionització, s'acceleren a través del tub del ventilador. En funció del temps d'arribada de cada ió, s'obté un espectre de masses a partir del senyal rebut pel detector i convertit a  $m/z$  mitjançant un sistema de conversió de dades.

D'altra banda, el quadrupol (Q) és probablement l'analitzador més utilitzat als laboratoris d'anàlisi orgànica. Un quadrupol està format per quatre barres paral·leles a les quals s'aplica tensió i radiofreqüència. Quan les molècules ionitzades entren al quadrupol, comencen a oscil·lar a causa d'aquest voltatge. A una tensió determinada, només les molècules que oscil·len a la freqüència correcta poden passar el quadrupol i arribar al detector.

### ***2-3-1-2-Descripció de la tècnica de cromatografia de gasos acoblada a l'espectrometria de massa (GC-MS)***

Com podem veure a la figura (5), la mostra s'injecta a la fase mòbil (gas portador), que pot ser heli, nitrogen, hidrogen. Això dirigeix la mostra a través de la columna, que conté l'anomenada fase estacionària, que sol ser un compost que interacciona selectivament amb els components de la mescla.

La columna es troba en un forn i es pot programar per augmentar gradualment la temperatura (rampa de temperatura). Això facilita la separació. A mesura que augmenta la temperatura, els compostos amb punts d'ebullició més baixos elueixen abans que els que tenen punts d'ebullició més alts.

Si les condicions del mètode analític (temperatura del forn de columna, tipus de columna, etc.) són les mateixes, els compostos específics sempre eluiran al voltant del mateix temps de retenció. Es pot utilitzar per identificar diferents compostos en matrius complexes (anàlisi qualitativa).

Tanmateix, cal tenir en compte que els compostos amb propietats similars sovint tenen temps de retenció molt similars. És per això que es necessita més informació per descriure mostres desconegudes. A mesura que els components surten de la columna, entren al detector de massa on s'ionitzen. Són bombardejats amb un feix d'electrons, descomponent-los de la molècula original

en moltes unitats de diferents mides. Aquests fragments són ions carregats amb una massa específica. Com que la majoria dels fragments tenen una càrrega +1, la relació massa-càrrega ( $m/z$ ) normalment representa el pes molecular del fragment. El senyal proporcional a la concentració de la mostra és processat per l'ordinador. El temps entre el moment d'injecció i el moment d'elució s'anomena temps de retenció.

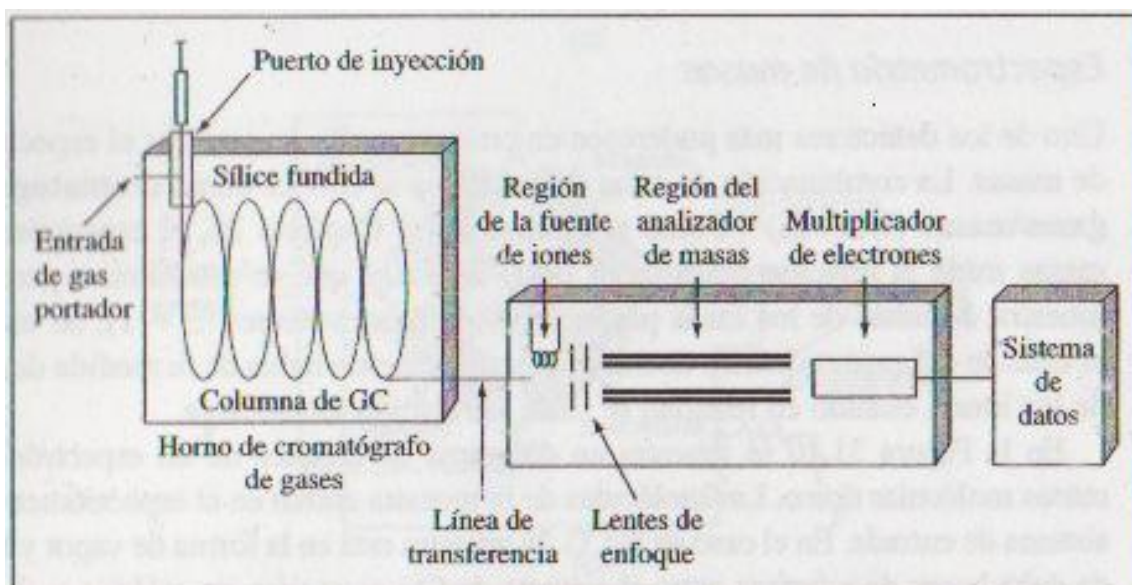
Un grup de 4 electroimants anomenat quadrupol orienta els fragments a través d'una obertura cap al detector. El quadrupol està programat de manera que només una certa massa passi a través d'aquesta obertura i la resta col·lisiona contra les parets.

Finalment, el detector fa el recompte del nombre d'ions d'una massa específica. Aquesta informació s'envia a un ordinador per tal d'obtenir l'espectre de masses.

L'instrument FISIONS INSTRUMENTS GC8000/MD80 (MS/GC) s'utilitza per a l'anàlisi dels compostos del *Combretum micranthum*. La columna utilitzada va ser una J&W Scientific TK-5 Ms (membrana interna de metilpolisiloxà de 30 m de llarg x 0,25 mm de diàmetre x 0,25  $\mu\text{m}$  de gruix). La rampa de temperatura aplicada va ser la següent: 1 minut a una temperatura inicial de 40 °C (temperatura inicial del forn), augmentada fins a 230 °C a 20 °C/min, mantinguda a 230 °C durant 10 minuts, després augmentarà fins a 300 °C a 2 °C/min de temperatura final, després és mantindrà a aquesta temperatura final durant 20 minuts. La temperatura de la xeringa és de 275 °C.

La ionització dels compostos es va realitzar per impacte electrònic (EI) (energia de 70 eV) amb heli com a gas portador.

Finalment, es realitza una exploració de detecció d'ions amb valors  $m/z$  de 50 a 650 Daltons. Com podem observar en les figures (6-13), tenim algunes fotos del conjunt GC-MS que ens ha servit per analitzar els compostos del *Combretum micranthum*. Totes les figures s'han extret del laboratori de química de l'EPSEM.



**Figura 5.** Esquema del sistema GC-MS: imatge extreta en: <https://docplayer.es/docs-images/81/84119280/images/33-0.jpg>.

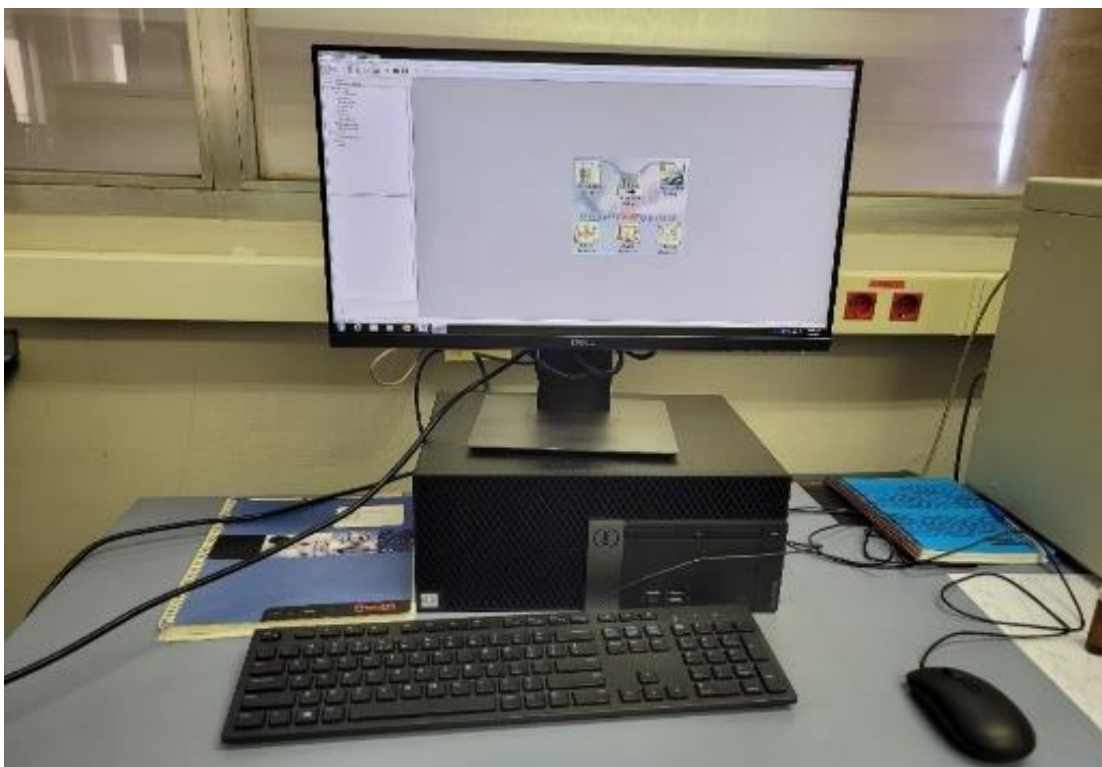




**Figura 6.** Columna capil·lar: imatge extreta del laboratori de química (EPSEM).



**Figura 7.** Espectrometre de masses acoblat al cromatografia de gasos: imatge extreta del laboratori de química (EPSEM).



**Figura 8.** Ordenador acoblat al cromatografia de gasos: imatge extreta del laboratori de química (EPSEM).



**Figura 9.** Bomba de buit EDWARDS: imatge extreta del laboratori de química (EPSEM).



**Figura 10.** Recipient per depositar les mostres: imatge extreta del laboratori de química (EPSEM).



**Figura 11.** Font de gas amb manòmetre per regular la quantitat d'heli: imatge extreta del laboratori de química (EPSEM).



**Figura 12.** Interior del cromatografia de gas: imatge extreta del laboratori de química (EPSEM).



**Figura 13.** Sistema de neteja de l'injector: imatge extreta del laboratori de química (EPSEM).

## 2-3-2 -Preparació de la solució de l'extracte per punxar al cromatògraf

Per preparar la solució de l'extracte per punxar, transferim 50 µL d'extractes en un vial ambre de 2 mL, 150 µL de solució del patró intern, 200 µL de BSTFA. Remenem-ho en posició vertical.

BSTFA és un agent derivatitzant com ja l'hem descrit anteriorment, el BSTFA actua sobre els grups polars reactius dels compostos. Substitueix els hidrògens actius dels grups OH (per exemple, alcohols, fenols, àcids carboxílics), NH (per exemple, amides, amines, imines), SH (per exemple, tiols) amb grups silil per millorar la sensibilitat del senyal.

Un cop tenim el vial a punt, passem per un corrent de nitrogen a 0,1 bars per concentrar-nos el màxim possible. És posa al forn a 70 °C durant una hora per completar la derivatització.

La quantificació de l'estàndard intern consisteix a afegir una quantitat coneguda d'una substància estàndard diferent de l'anàlit a mesurar a una mostra desconeguda i comparar la resposta de l'instrument amb la resposta d'un anàlit estàndard de concentració coneguda. Té una sèrie d'avantatges, com ara requerir menys injeccions. D'aquesta manera, es limiten els possibles errors en el pesatge, manipulació i injecció d'un gran nombre de mostres.

## 3-Resultat i discusió

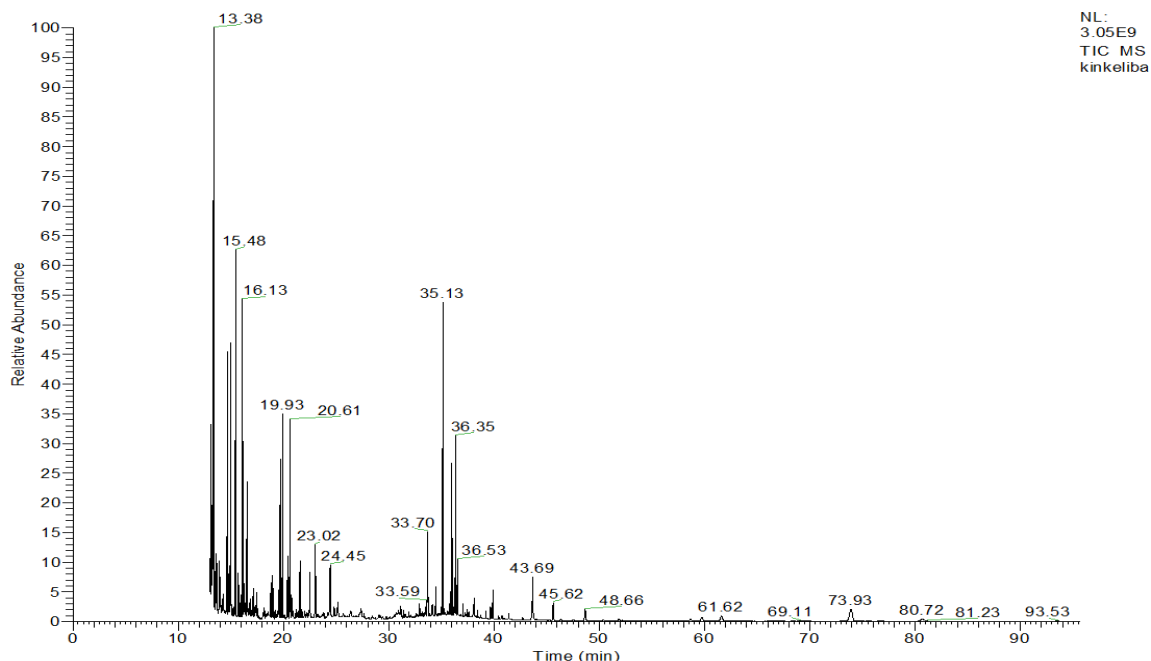
Després d'haver realitzat una sèrie d'experiment de l'extracció fins a la punxada de la mostra al GC-MS i l'obtenció dels primers resultats a través del programa Xcalibur, analitzarem el cromatograma del corrent iònic del *Combretum micranthum* que està representat pel temps de retenció i, l'abundància dels compostos.

A través d'aquests resultats farem l'estudi detallat de tots els grups i compostos que hem pogut identificar i farem un estudi de comparació amb els articles que hem trobat respecte a la identificació dels compostos del *Combretum micranthum*.

### 3-1-Resultats

Després de la punxada, hem obtingut el Cromatograma corresponent al corrent iònic total del kinkeliba des del minut 13 al minut 93,53 i a través d'aquest cromatograma procedirem a la identificació i, l'anàlisi dels compostos presents. En la figura (14), podem observar el cromatograma corresponent al corrent iònic

del kinkeliba que hem pogut extreure del programa xcalibur del laboratori de química (EPSEM)



**Figura 14.** Cromatograma corresponent al corrent iònic total del kinkeliba: Xcalibur..

Després de l'obtenció del cromatograma de la planta hem pogut identificar diferents tipus de compostos que estan citats en la taula (1) per l'ordre de temps de retenció:

**Taula 1:** compostos identificats amb el seu temps de retenció.

Temps de retenció	Nom del compost
13,38	Etilbis (trimetilsilil)amina
26,45	Desconegut
27,25	Desconegut
27,47	Desconegut
28,2	Eudesmediè/beta-selinè
28,39	Alfa-Selinè
28,7	Beta-bisabolè
29,59	Eudesma-3,7(11)-diè
29,96	Transnerolidol
30,4	Òxid de Cariofilè
30,64	Desconegut
31,56	Desconegut
31,93	Desconegut

32,08	Heptadecà
33,16	Octadecà
34,05	Nonadecà
34,39	Àcid pentadecanoic
34,83	Eicosà
35,13	Àcid hexadecanoic
35,55	Heneicosà
35,81	Àcid Heptadecanoic
35,89	Octadecanol
36,01	Fitol TMS
36,25	Docosà
37,04	Tricosà
37,49	Eicosanol
38,00	Tetracosà
38,41	Àcid Eicosanoic
38,55	Heneicosanol
39,22	Pentacosà
39,9	Docosanol
40,77	Hexacosà
42,75	Heptacosà
45,32	Octacosà
43,79	Tetracosanol
48,66	Nonacosà
50,41	Hexacosanol
51,88	22-TMS decosanoat de TMS
55,24	Heptacosanol
58,66	Heneitcontà
59,13	Colesterol
59,74	Vitamina E
61,62	Hexacosnol
66,29	Campesterol
69,93	Nonacosanol
73,91	$\beta$ -Sitosterol TMS
75,77	Vitamina k

### 3-1-2-Àrees components

Per tal de saber l'abundància dels pics que hem pogut identificar hem procedit amb el programa de xcalibur el càlcul de les àrees dels compostos que hem pogut identificar. En la figura (15) veiem un exemple de pics d'àrees en el cromatograma del corrent iònic del kinkeliba identificats de forma automàtica. En

la taula (2), tenim el resum de tots els pics identificats amb les seves àrees respectives i el percentatge de cada àrea.

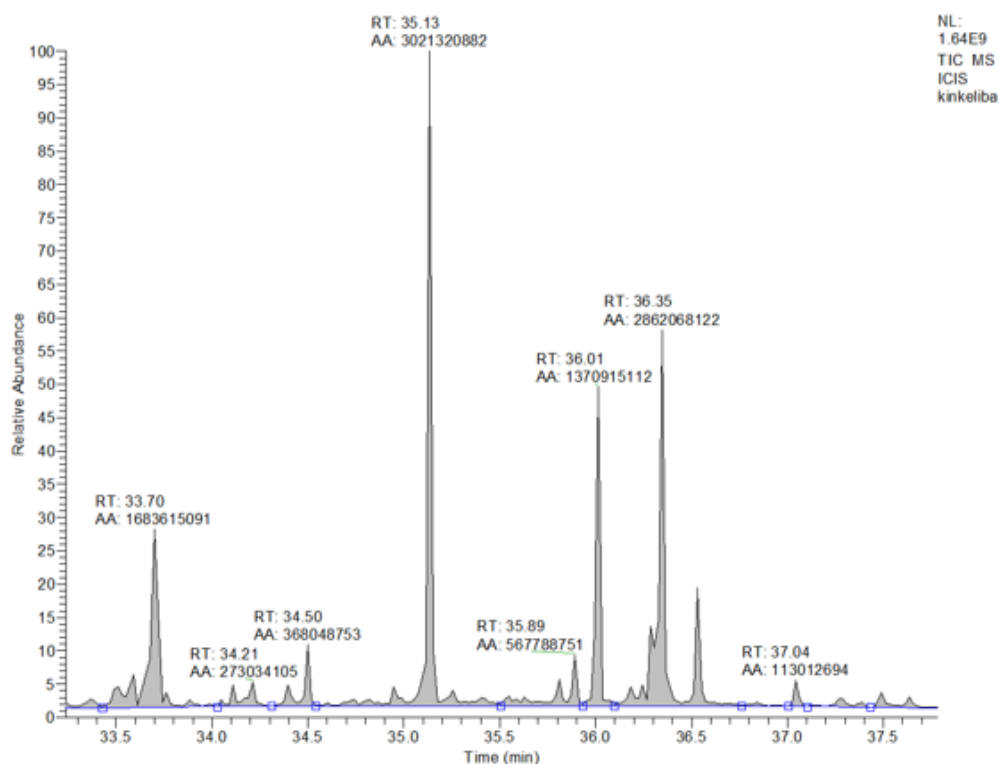


Figura 15. Àrees d'uns pics del kinkeliba: imatge extreta del Xcalibur.

Taula 2: compostos identificats amb les seves àrees.

Temps de retenció	Nom del compost	Àrea	% ÀREA
13,38	Etylbis(trimetylsilyl)amina	10721156323	13,00
26,45	Desconegut	7536656,503	3,00
27,25	Desconegut	7536656,503	3,00
27,47	Desconegut	940075,859	2,00
28,2	Eudesmadiè/beta-selinè	257061,409	1,00
28,39	Alfa-Selinè	844326,761	1,50
28,7	Beta-bisabolè	2175707,073	1,58
29,59	Eudesma-3,7(11)-diè	500210,83	1,13
29,96	Transnerolidol	388718,145	1,10
30,4	Òxid de Cariofilè	427478,395	1,11
30,64	Desconegut	3386794,25	2,90
31,56	Desconegut	791740,119	2,21
31,93	Desconegut	434470,845	2,12
32,08	Heptadecà	3250367,754	2,86
33,16	Octadecà	292489,974	1,08

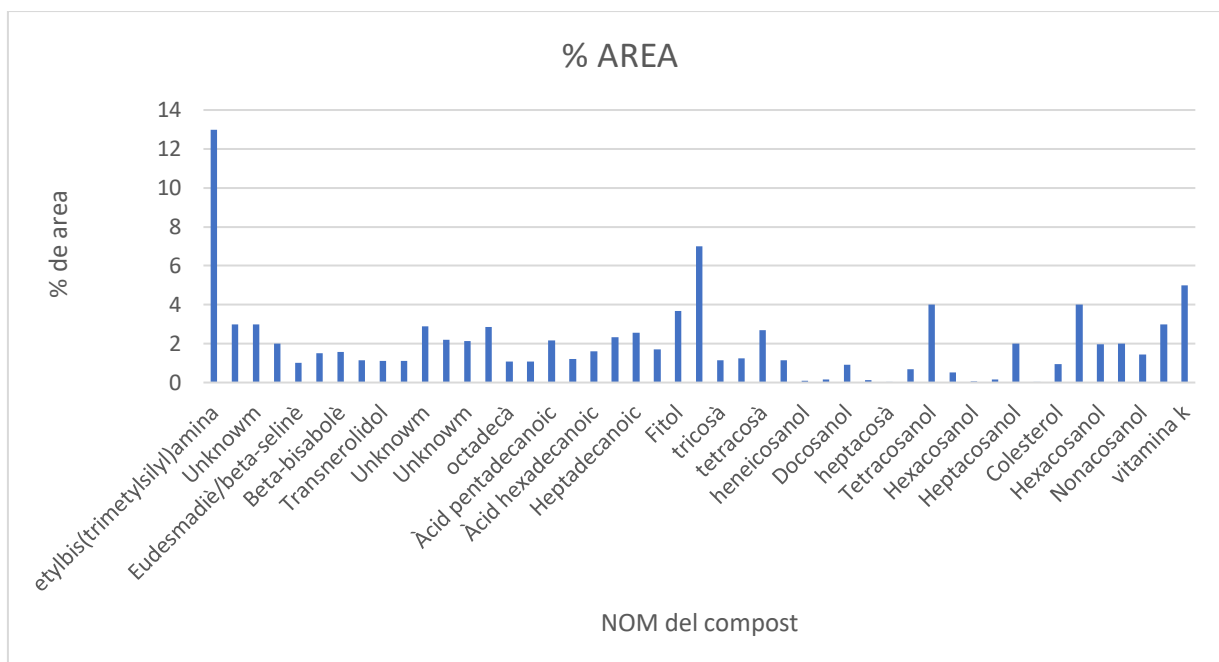


<b>34,05</b>	Nonadecà	355094,221	1,09
<b>34,39</b>	Àcid pentadecanoic	621624,791	2,16
<b>34,83</b>	Eicosà	808244,745	1,21
<b>35,13</b>	Àcid hexadecanoic	6049897,841	1,60
<b>35,55</b>	Heneicosà	1249015,749	2,33
<b>35,81</b>	Heptadecanoic	2129200,815	2,56
<b>35,89</b>	Octadecanol	567788750,5	1,70
<b>36,01</b>	Fitol TMS	1370915112	3,69
<b>36,25</b>	Docosà	2862068122	7,00
<b>37,04</b>	Tricosà	113012693,8	1,14
<b>37,49</b>	Eicosanol	185640934,7	1,23
<b>38,00</b>	Tetracosà	551119786,6	2,68
<b>38,41</b>	Àcid Eicosanoic	123761384,7	1,15
<b>38,55</b>	Heneicosanol	79846659,2	0,10
<b>39,22</b>	Pentacosà	138196047,3	0,17
<b>39,9</b>	Docosanol	744928445,9	0,92
<b>40,77</b>	Hexacosà	111159071,5	0,14
<b>42,75</b>	Heptacosà	5056225,705	0,01
<b>45,32</b>	Octacosà	541059434	0,67
<b>43,79</b>	Tetracosanol	1208747636	4,00
<b>48,66</b>	Nonacosà	424625901,1	0,52
<b>50,41</b>	Hexacosanol	45575026,87	0,06
<b>51,88</b>	22-TMS decosanoat de TMS	121385047,2	0,15
<b>55,24</b>	Heptacosanol	52181,986	2,00
<b>58,66</b>	Heneitcontà	81988,726	0,02
<b>59,13</b>	Colesterol	289694,857	0,95
<b>59,74</b>	Vitamina E	261556154,1	4,00
<b>61,62</b>	Hexacosanol	52643,127	1,95
<b>66,29</b>	Campesterol	43962770,28	2,00
<b>69,93</b>	Nonacosanol	40391,175	1,45
<b>73,91</b>	B-Sitosterol TMS	47962,586	3,00
<b>75,77</b>	Vitamina k	16056147,98	5,00

Després d'haver calculat les àrees de cada compost i el tant per cent que representa el compost sobre el cromatograma del kinkeliba, en la figura (16) tenim una gràfica per veure de forma més clara l'abundància de cada compost i els compostos més abundants.

L'abundància dels pics petits en el cromatograma del corrent iònic del kinkeliba, poden generar errors en el càlcul de l'àrea i, per tant, afecta el percentatge de l'àrea.

En els pics on hem pogut observar errors en el càlcul automàtic de les àrees, hem procedit el càlcul manual de les àrees en aquests pics.



**Figura 16.** Àrea dels components.

A partir de la figura (16), observem que els compostos amb més abundància són el Etylbis(trimethylsilyl)amina a causa de la derivatització, el Tricosà, el Tretacosà, el Fitol i l'àcid Pentadecanoic, però, no obstant això, els compostos més abundants en el kinkeliba són els alcans però en petites quantitats.

### 3-2-Discusió

Després d'haver identificat tots els compostos així que la seva quantificació, farem un estudi comparatiu sobre els compostos que hem pogut identificar amb els que ja estaven identificats i, farem un estudi grupal dels compostos i traurem unes conclusions sobre la importància de la presència de cadascun dels grups. En el nostre treball hem pogut identificar 47 compostos principals descrits en la taula (2) en els quals podem destacar alcans, àcid, terpenoides i vitamines.

Anteriorment, s'havien identificat alcans com el 3-tetradecà, alcohols com el fitol, terpenoides com el campesterol, sitosterol, stigmaterol i també està identificat el tocoferol, monoterpè (Bony et al., 2014). la majoria dels compostos trobats per Bony et al., (2014) no estan identificats.

En comparació veiem que el Tocoferol, el Fitol, el Campesterol, el  $\beta$ -sitosterol, que hem pogut identificar ja s'havien identificat (Bony et al., 2014).

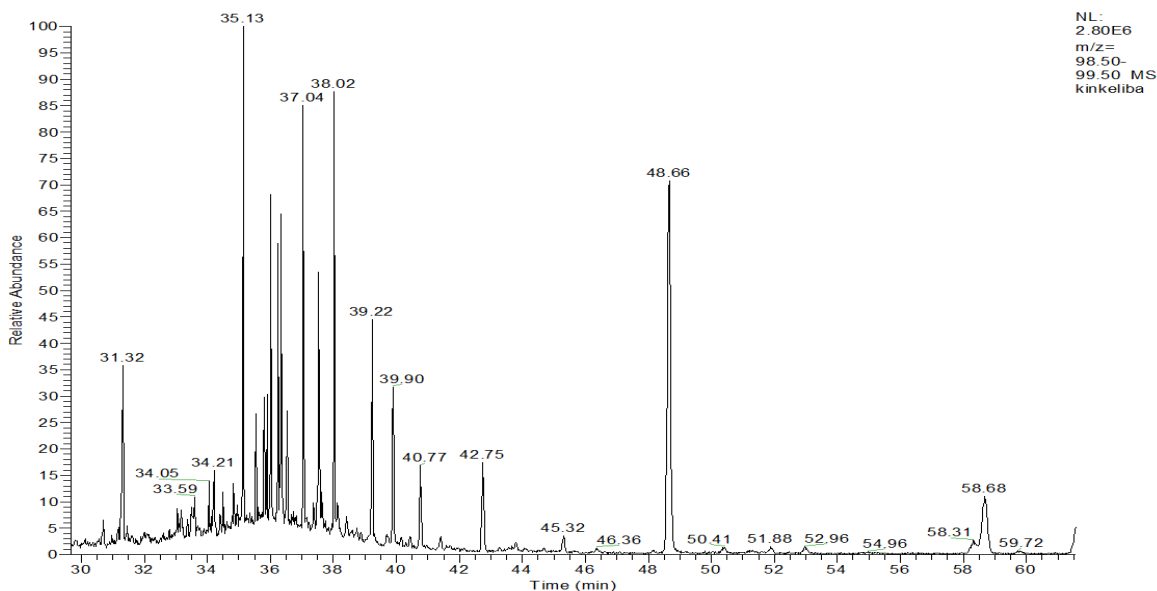
### 3-3- Alcans

Els alcans són molècules orgàniques formades en unir covalentment un nombre variable de carbonis units a àtoms d'hidrogen. Els alcans es caracteritzen per tenir enllaços senzills, per la qual cosa també es poden anomenar hidrocarburs saturats perquè contenen el nombre més gran d'àtoms d'hidrogen que es poden combinar amb el nombre d'àtoms de carboni presents en cada molècula. Per als alcans d'estructura de cadena recta (alcans alifàtics) o amb cadenes ramificades, la fórmula molecular corresponen és el  $C_nH_{2n+2}$ , i per als d'estructura cíclica (anomenats cicloalcans), la fórmula molecular correspon a la fórmula molecular és el  $C_nH_{2n}$ . Els alcans no tenen grups funcionals de cap mena, la qual cosa determina la seva baixa reactivitat respecte a altres compostos orgànics i explica el seu nom llatí: parafina, que significa baixa afinitat.

Durant l'anàlisi hem pogut identificar una sèrie d'alcans entre els quals especificarem alguns d'entre ells.

Per poder identificar-los ens hem basat sobre la massa  $m/z$ , amb el programa de xcalibur hem reunit tots els perfils de la massa  $m/z=99$  en un fragmentograma amb diferents temps de retenció.

En el nostre fragmentograma hem pogut identificar una gran quantitat d'alcans com ja podem veure en la figura (17).



**Figura 17.** Cromatograma de la massa  $m/z=99$  del corrent iònic total del kinkeliba: imatge extreta en Xcalibur.

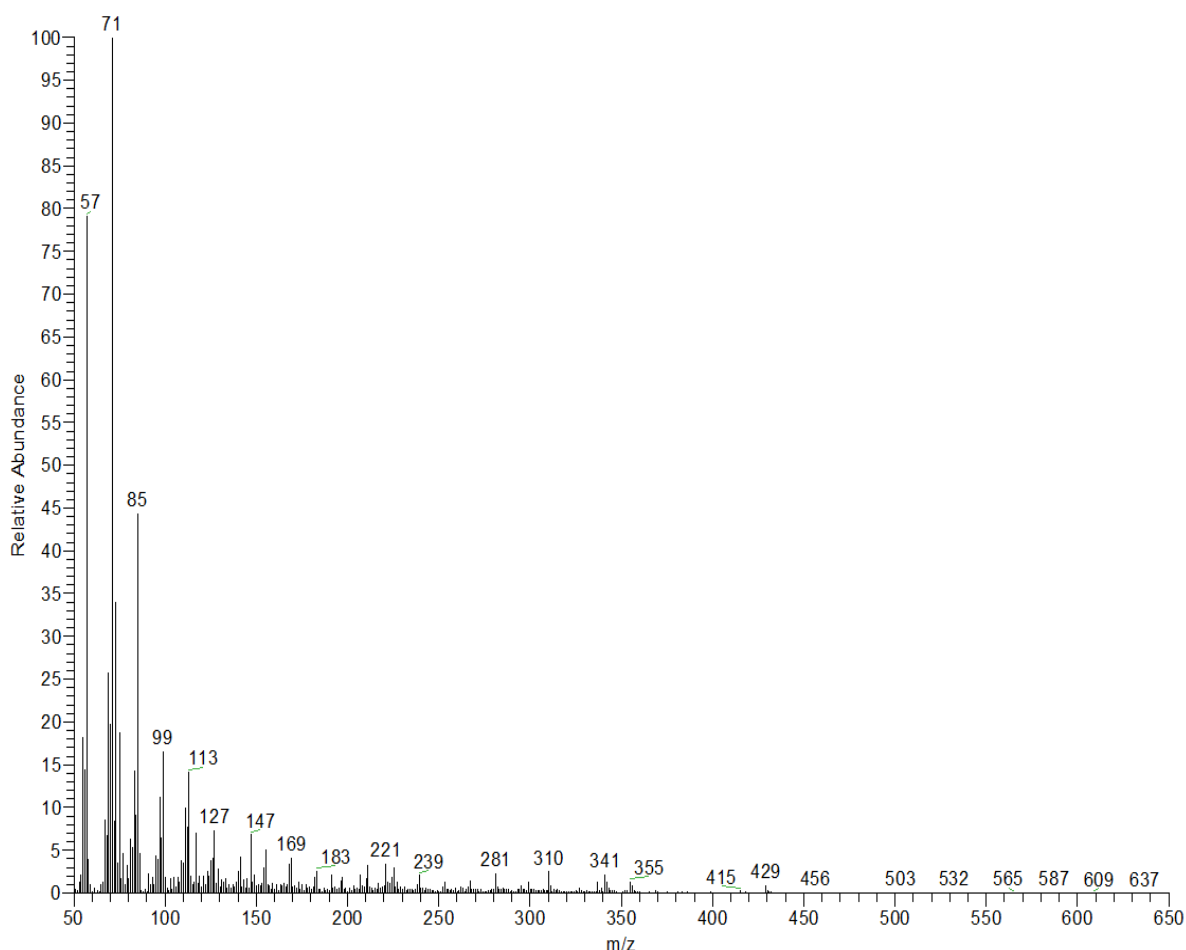
Per entendre bé el fragmentograma  $m/z$  dels alcans, especificarem alguns espectres que hem pogut identificar. Les figures (18-37) veurem espectres de masses dels compostos identificats i les taules (3-22) hi trobarem resum sobre la identificació dels compostos i unes informacions importants del compost com

la fórmula molecular, l'estructura molecular i el número d'identificació del compost.

Temps de retenció: 36,25

Nom: Docasà

Fórmula molecular:  $C_{22}H_{46}$



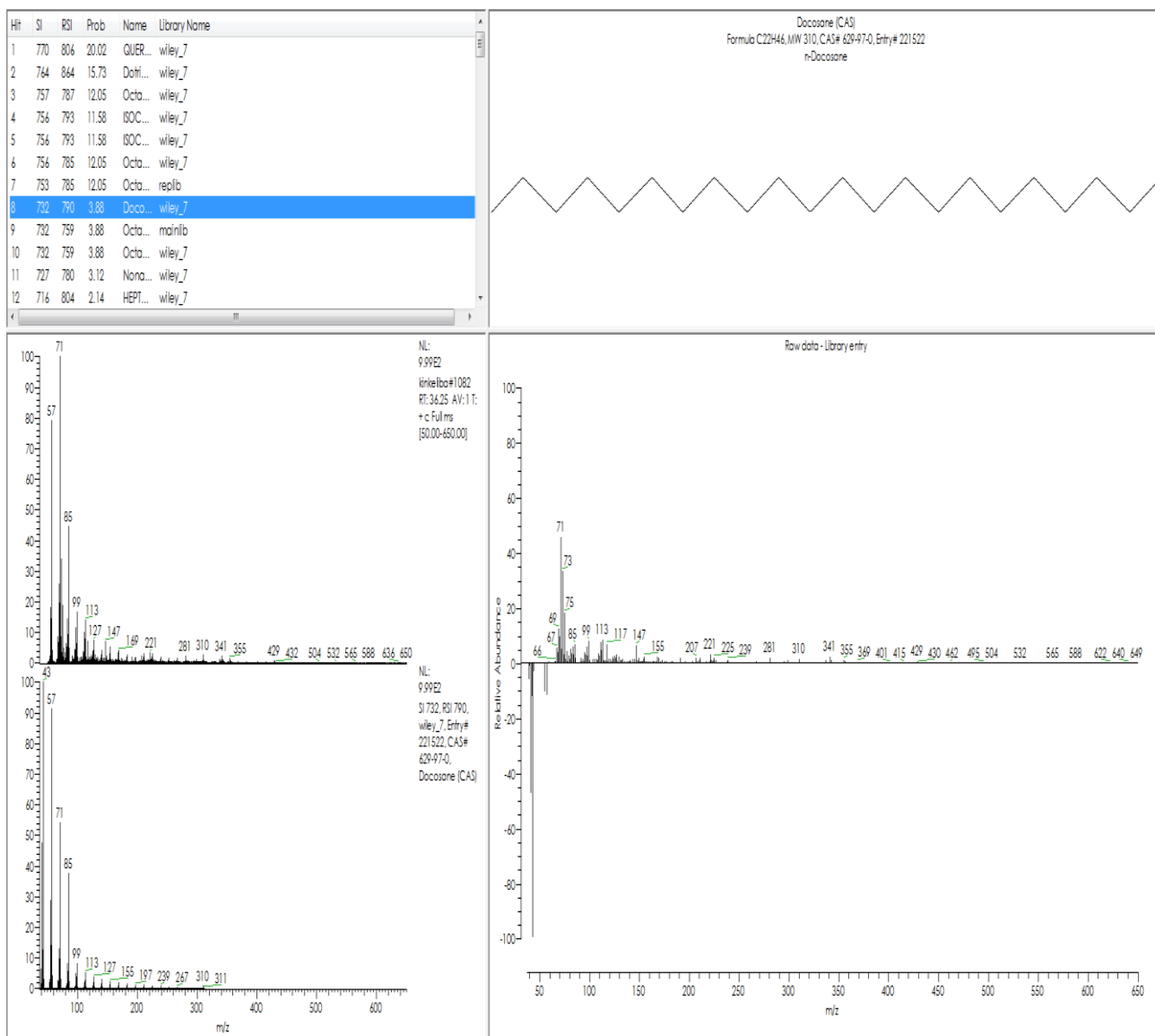
**Figura 18.** Espectre de masses del Docasà: imatge extreta del Xcalibur.

En aquesta taula (3), podem apreciar tots els paràmetres amb els quals hem pogut identificar el compost. El primer quadre de l'esquerra ens mostra el nom del compost amb la probabilitat que sigui aquest compost, el segon quadre de l'esquerra ens mostra una comparació entre el nostre espectrometre amb el que es troba en la base de dades del programa. A la dreta ens mostra en el primer quadre l'estructura molecular del compost, el segon ens mostra una diferència entre els dos espectres de masses. Per tots els compostos que identificarem tindrem aquesta taula com a resum informatiu del compost i tindrà la següent forma.

**Taula 3:** detalls del resum d'anàlisi

Nom del compost	Fórmula estructural del compost
Comparació entre els dos espectres de masses	Diferència entre els espectres de masses

**Taula 4:** Resum d'anàlisi del Docosà trobat en el seu temps de retenció.



Temps de retenció: 37,04

Nom: Tricosà

Fórmula molecular:  $C_{23}H_{48}$

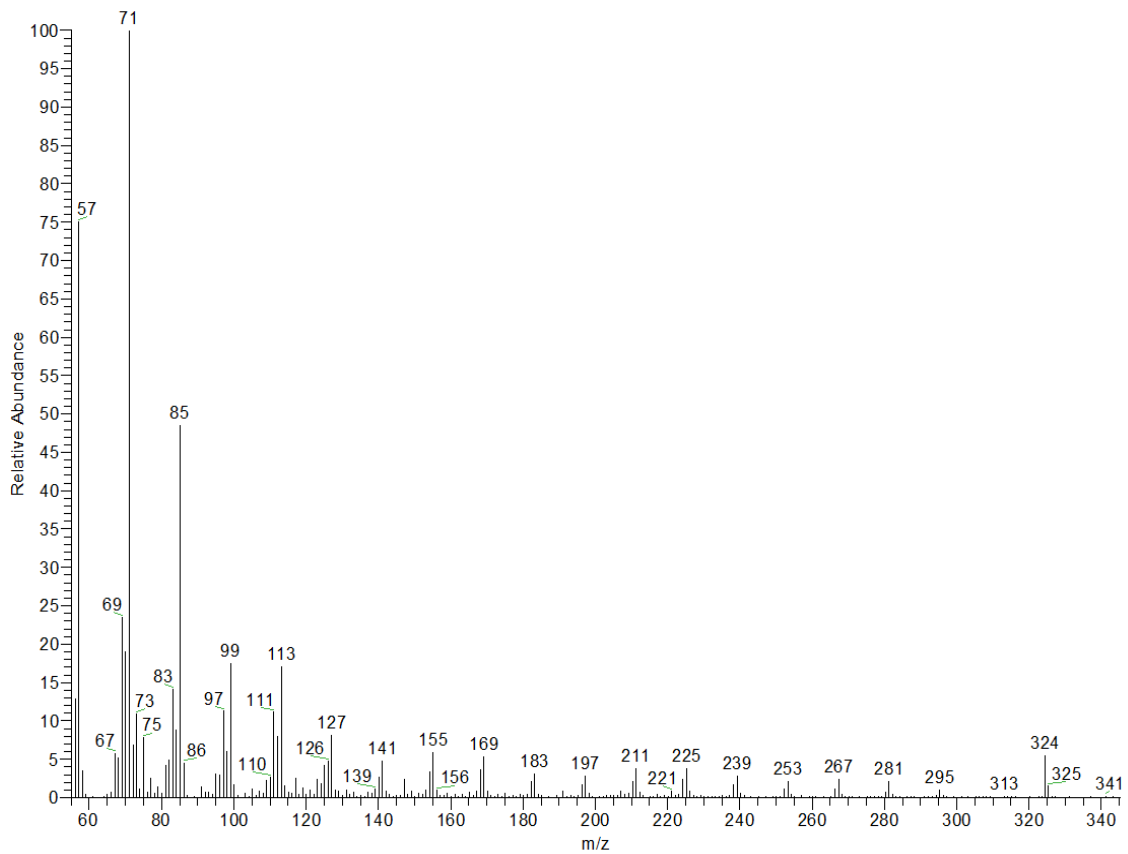
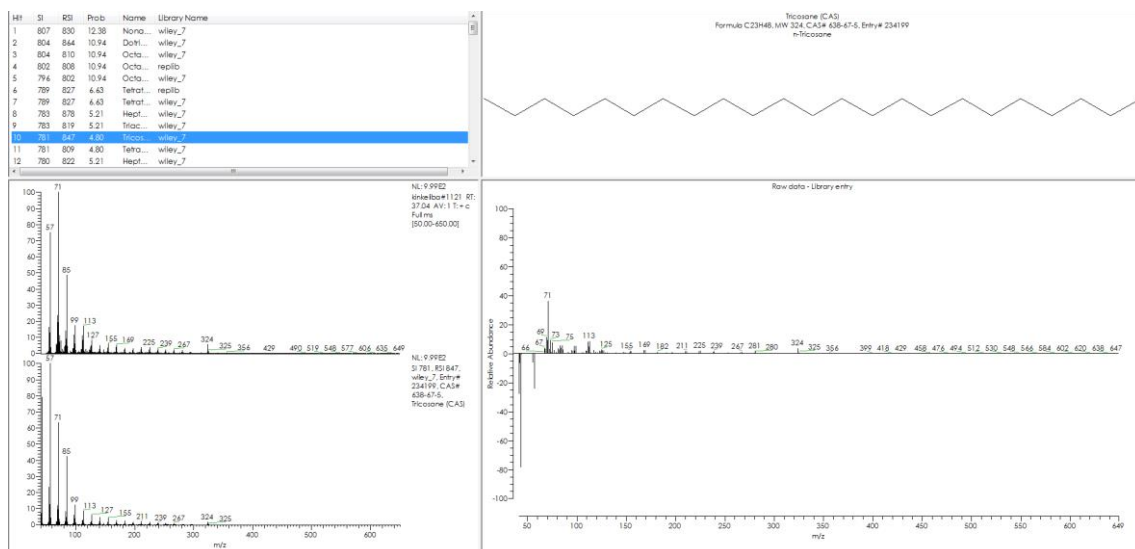


Figura 19. Espectre m/z del Tricosà: Xcalibur.

Taula 5: Resum d'anàlisi del Tricosà trobat en el seu temps de retenció.



Temps de retenció: 38.00

Nom: Tetracosà

Fórmula molecular:  $C_{24}H_{50}$

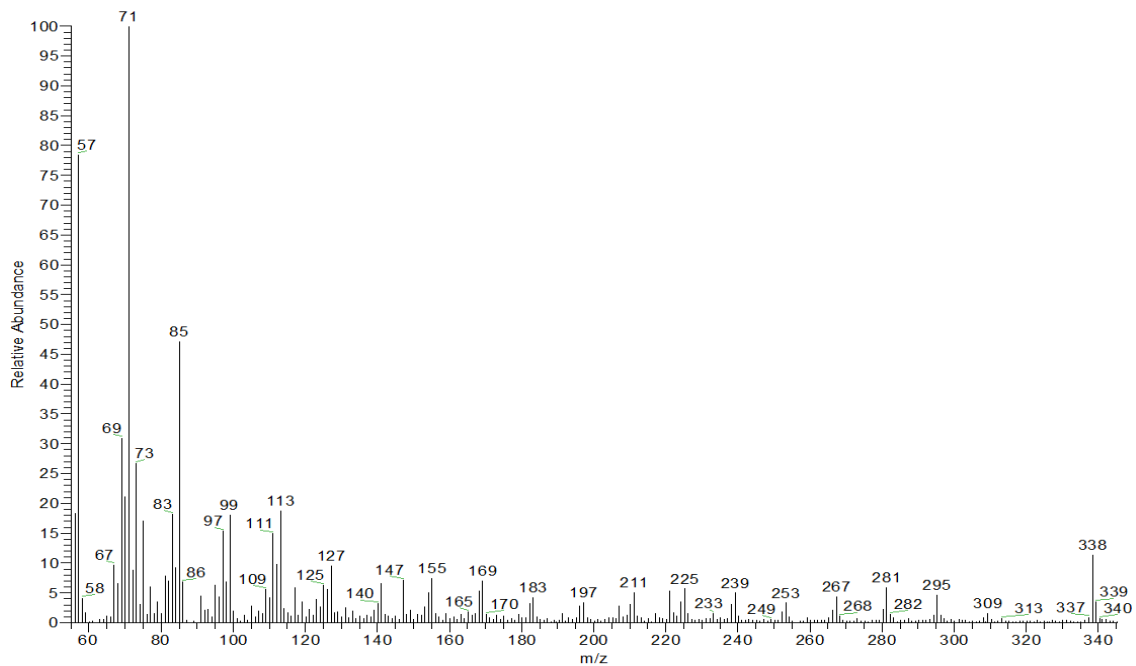
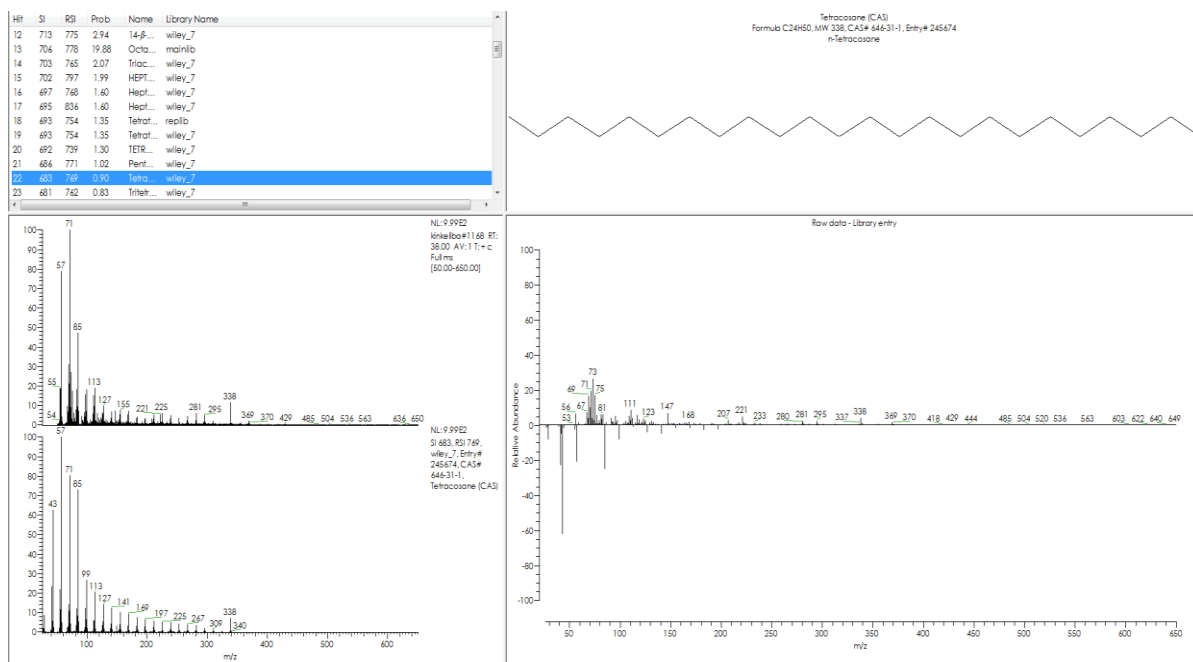


Figura 20. Espectre de masses del Tetracosà: imatge extreta del Xcalibur.

Taula 6: Resum d'anàlisi del Tetracosà trobat en el seu temps de retenci.



Temps de retenció: 39,22

Nom: Pentacosà

Fórmula molecular:  $C_{25}H_{52}$

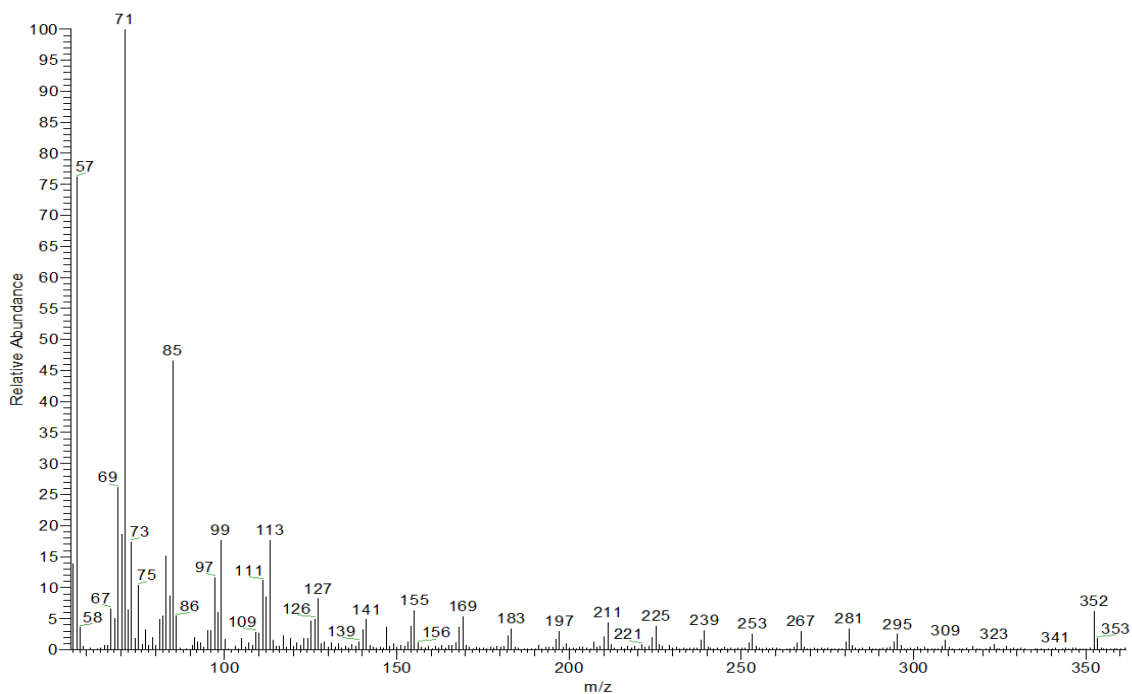
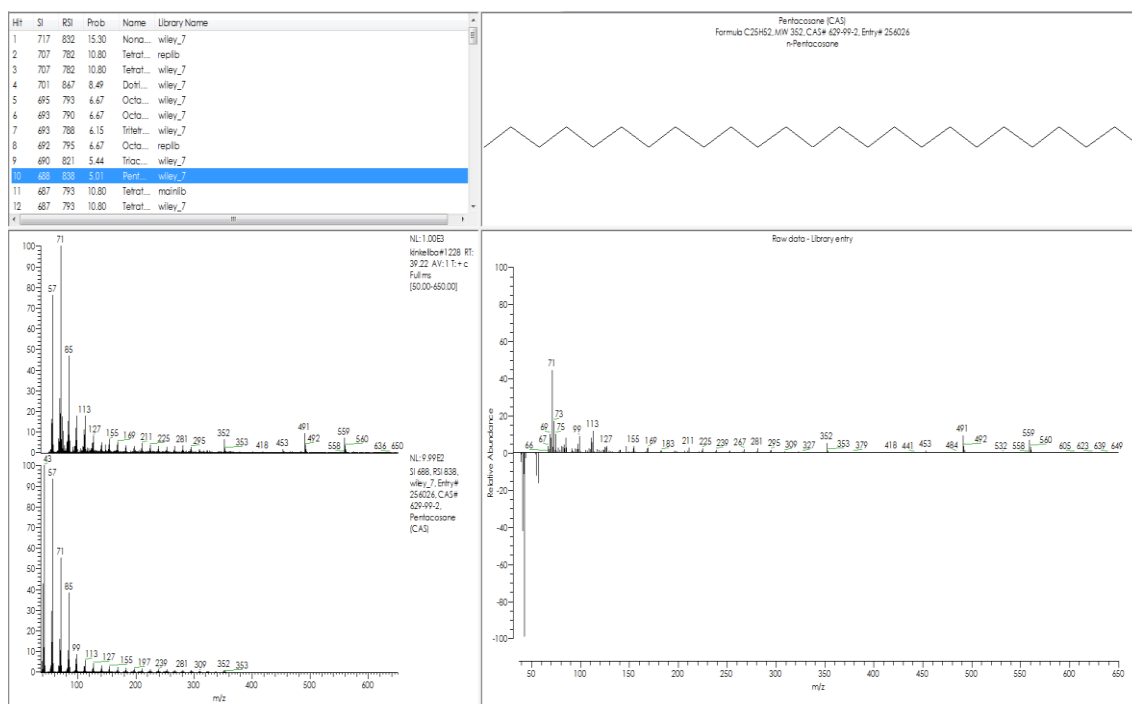


Figura 21. Espectre m/z del Pentacosà: Xcalibur.

Taula 7: Resum d'anàlisi del Pentacosà trobat en el seu temps de retenció.





Temps de retenció: 40,77

Nom: Hexacosà

Fórmula molecular:  $C_{26}H_{54}$

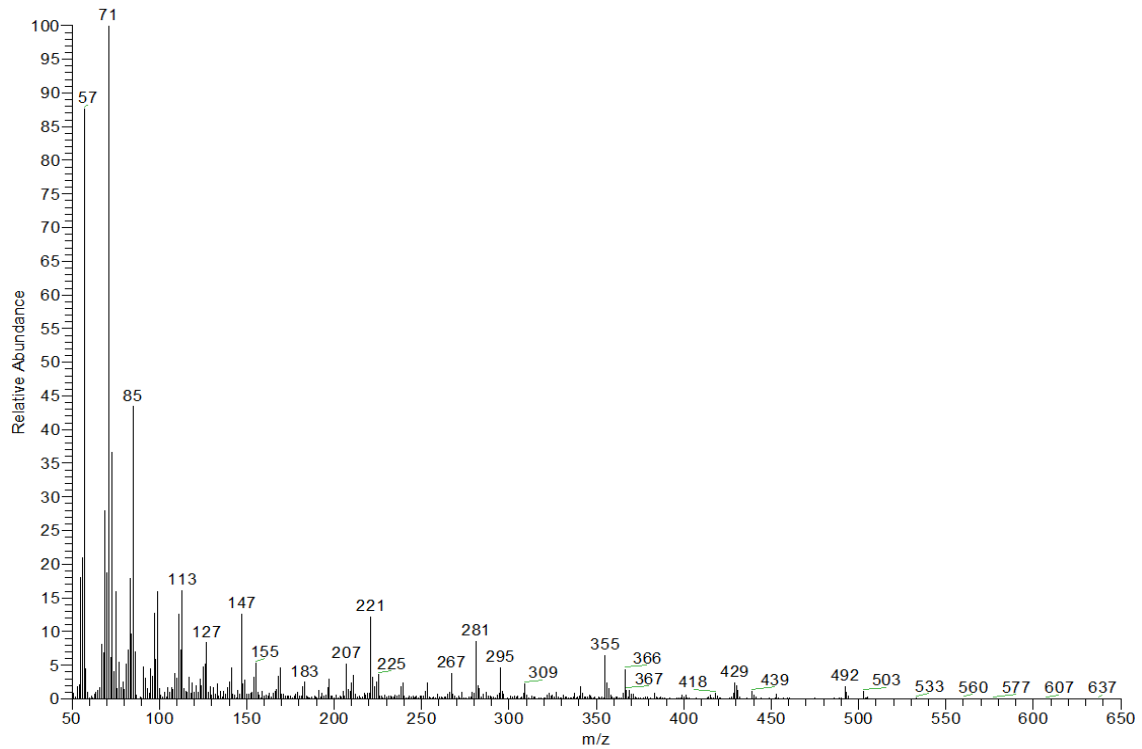
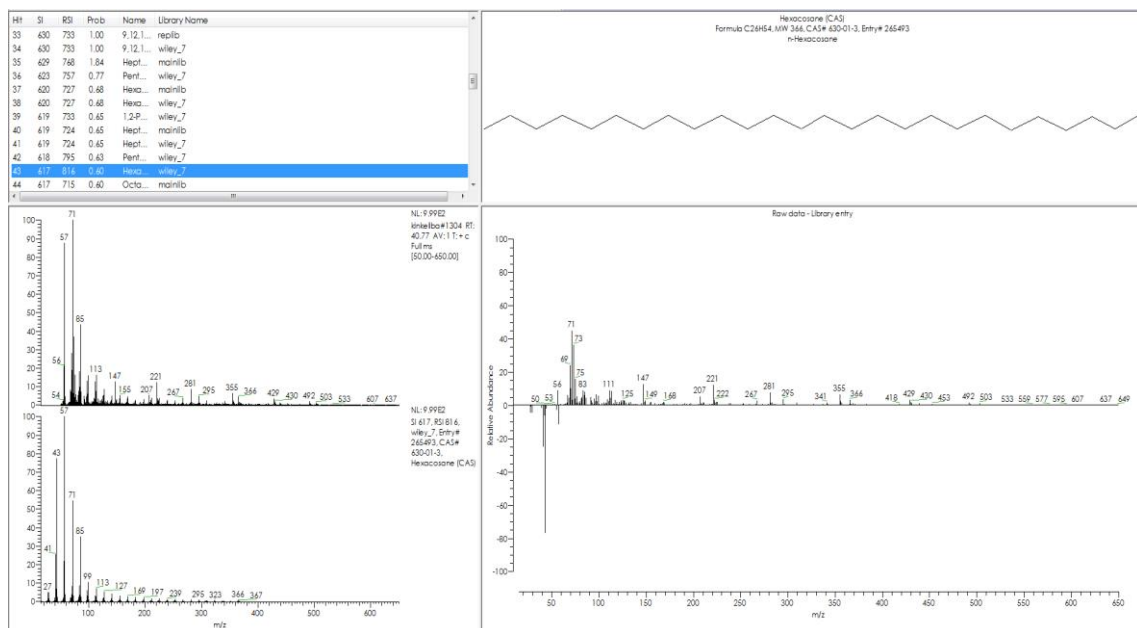


Figura 22. Espectre m/z de l'Hexacosà: Xcalibur.

Taula 8: Resum d'anàlisi de l'Hexacosà trobat en el seu temps de retenció.



Temps de retenció: 40,77

Nom: Heptacosà

Fórmula molecular:  $C_{27}H_{56}$

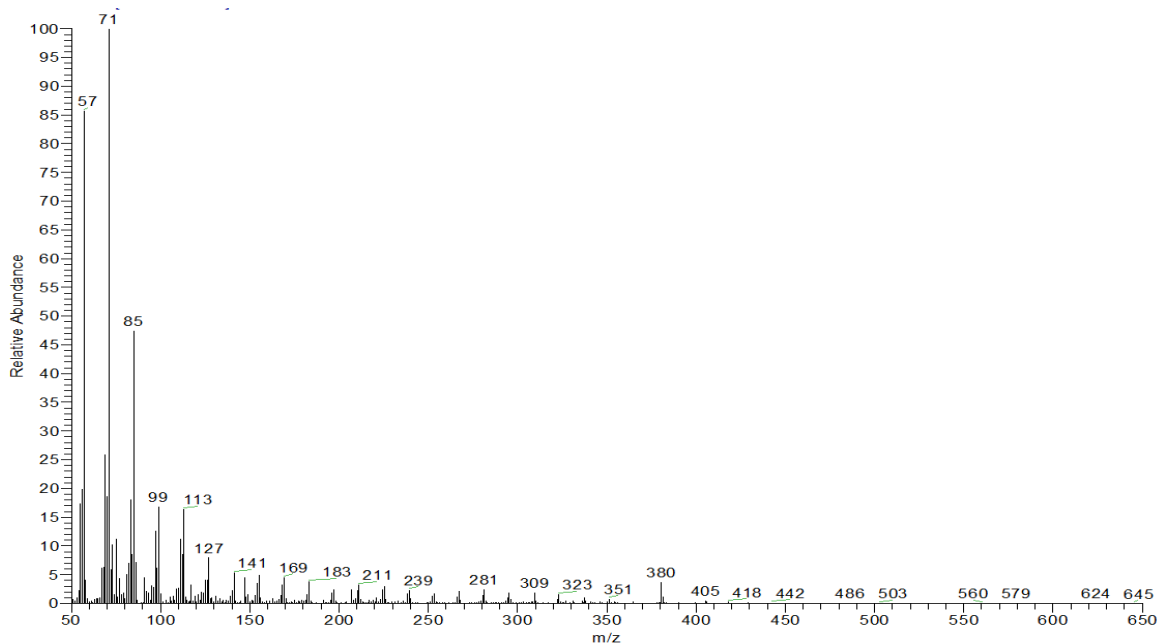
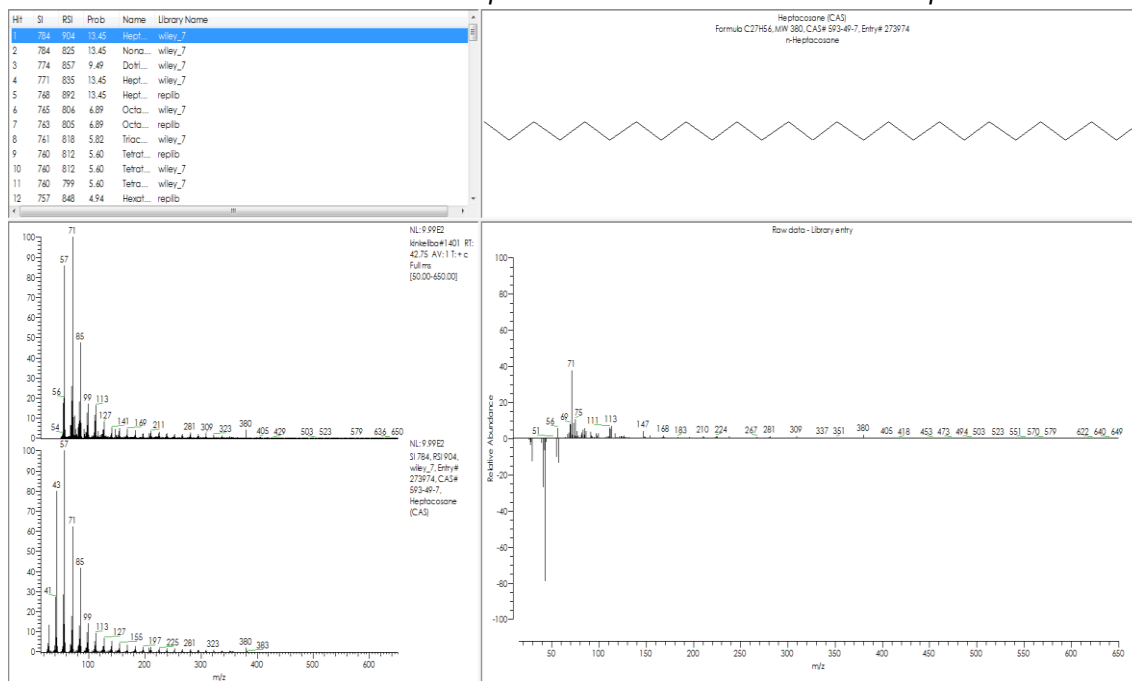


Figura 29. Espectres de masses de l'Heptacosà: imatge extreta del Xcalibur.

Taula 9: Resum d'anàlisi de l'Heptacosà trobat en el seu temps de retenció.



Temps de retenció: 48,66

Nom: Nonacosà

Fórmula molecular:  $C_{29}H_{60}$

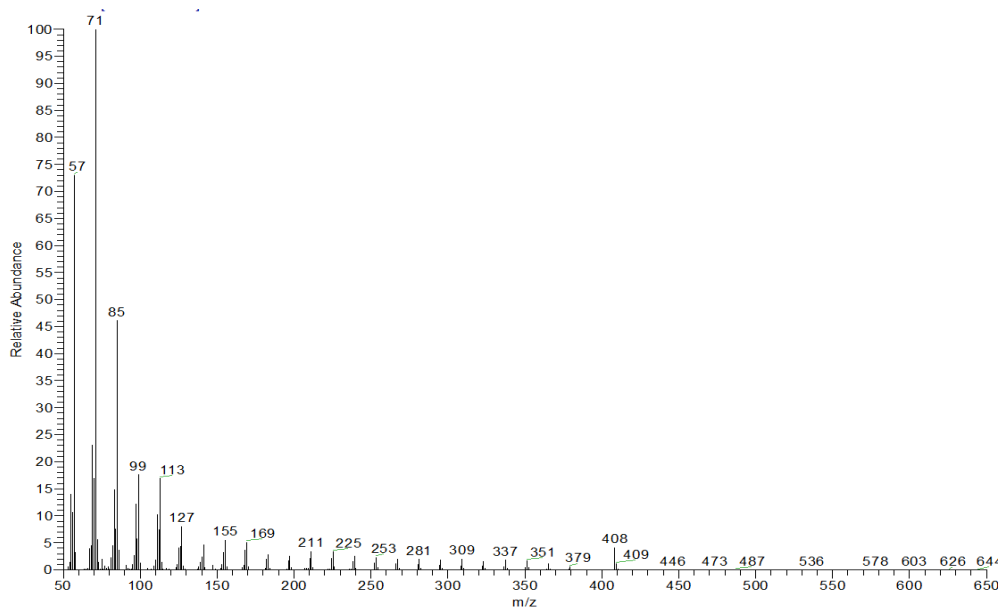
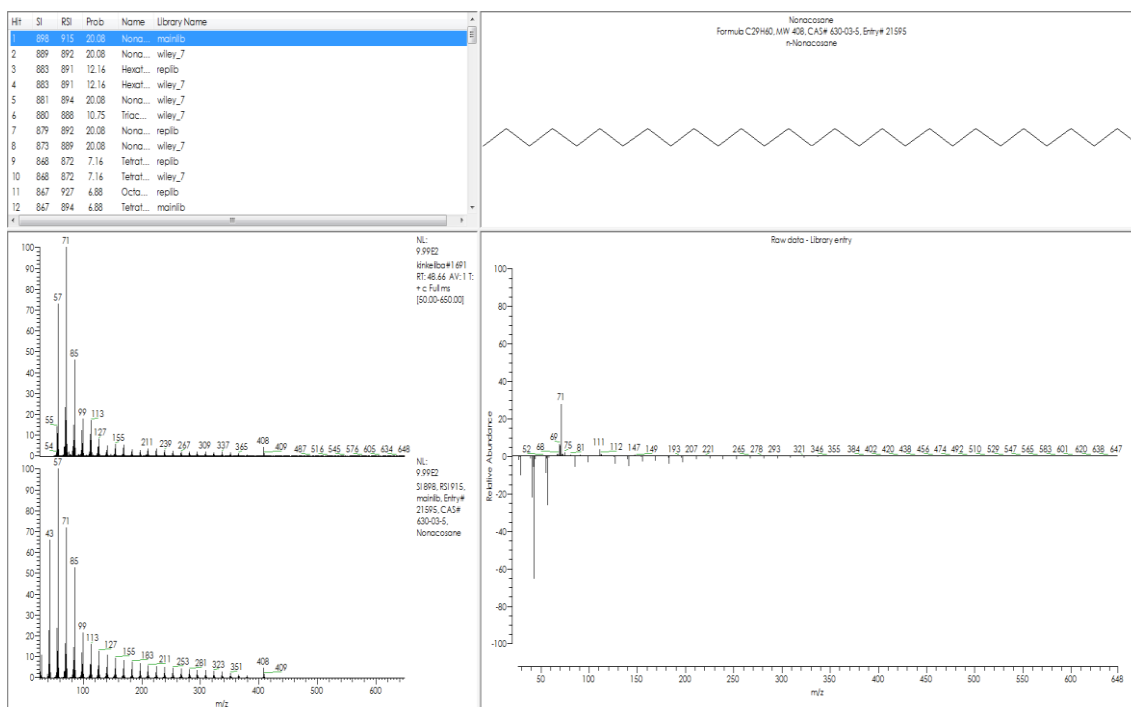


Figura 24. Espectre m/z del Nonacosà: Xcalibur.

Taula 10: Resum d'anàlisi del Nonacosà trobat en el seu temps de retenció.



Temps de retenció: 58,66

Nom: Hentriacontà

Fórmula molecular:  $C_{31}H_{64}$

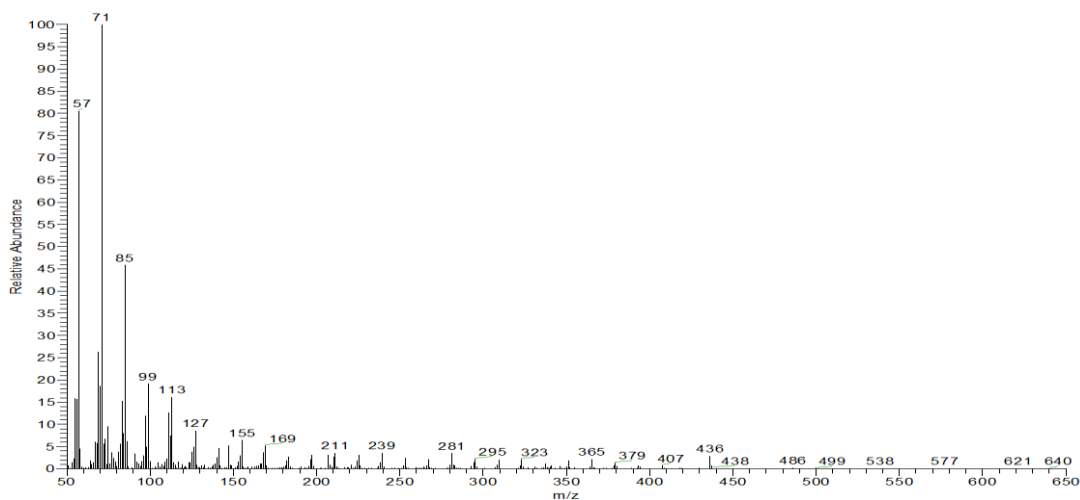
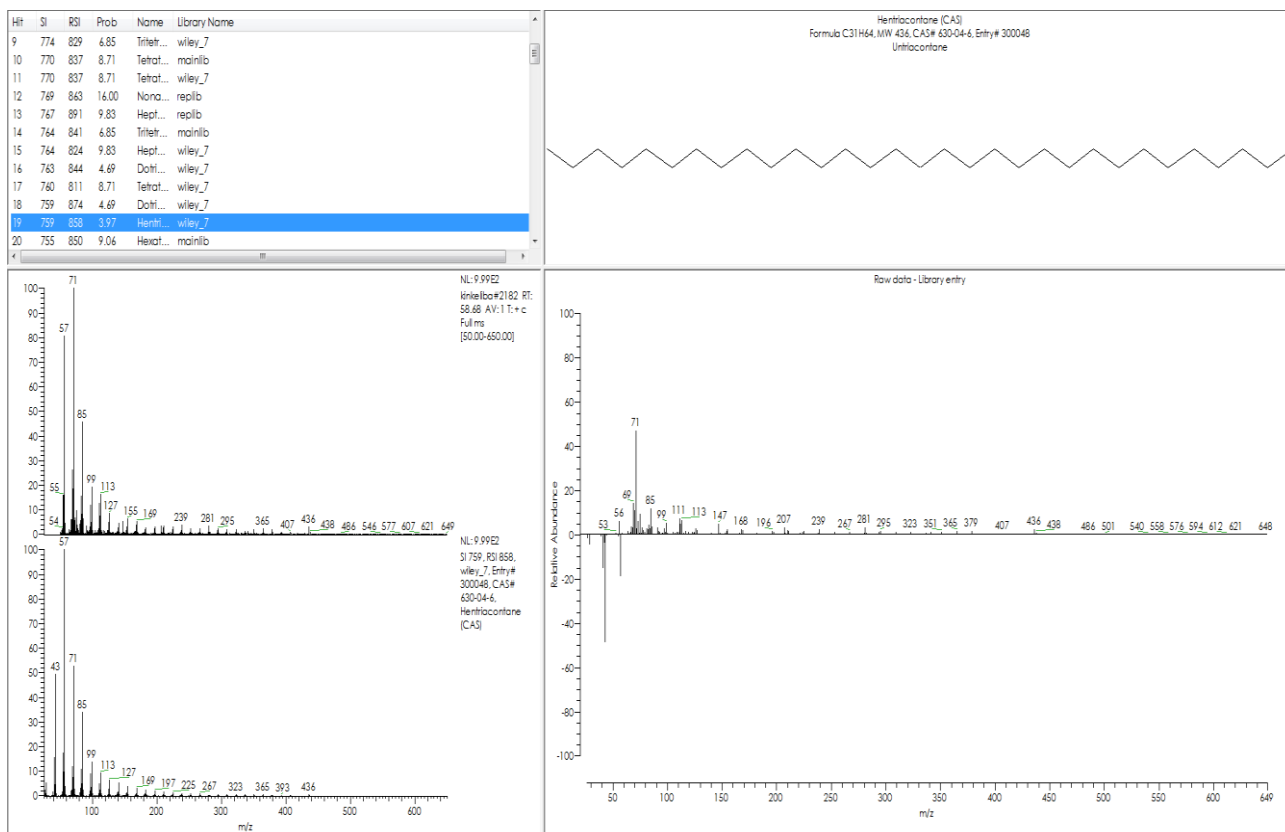


Figura 25. Espectre m/z del Hentriacontà del kinkeliba: Xcalibur

Taula 11: Resum d'anàlisi de l'Hentriacontà trobat en el seu temps de retenció



Com ja hem pogut observar al llarg d'aquest experiment, el kinkeliba és una planta poca estudiada en el laboratori per tant, respecte els alcans de tots articles que hem pogut consultar no s'havia identificat gaires alcans i, el 3-tetradecà és l'únic que s'havia descrit (Bony et al., 2014).

La majoria d'alcans identificats són lineals de cadena llarga. Malgrat que vam trobar una gran quantitat d'alcans destaquem que els alcans més abundants són el Tricosà i el Tetracosà.

### 3-4-Alcohols

En química orgànica, un alcohol és un compost orgànic que té un grup hidroxil (-OH) unit a un àtom de carboni i substitueix l'àtom d'hidrogen del grup alquil d'un hidrocarbur saturat o alcà. La fórmula molecular d'un alcohol acíclic simple és  $C_nH_{2n+1}OH$ .

Contràriament amb els alcans en el nostre espectre de masses hem identificat menors nombres d'alcohols, però, no obstant això, hem trobat una quantitat important, on especificarem alguns d'entre ells.

Temps de retenció: 35,89

Nom: Octadecanol

Fórmula molecular:  $C_{18}H_{38}O$

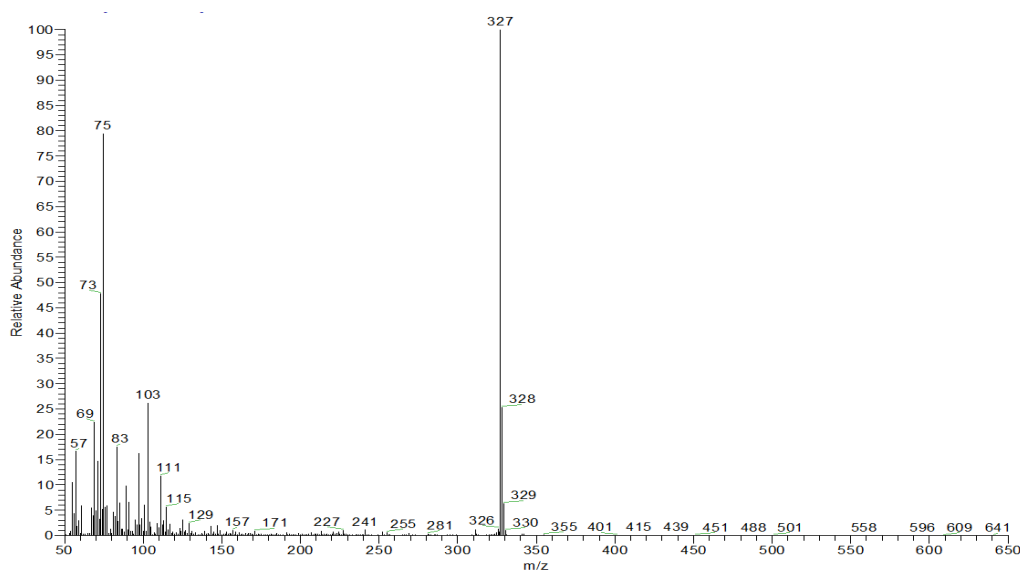
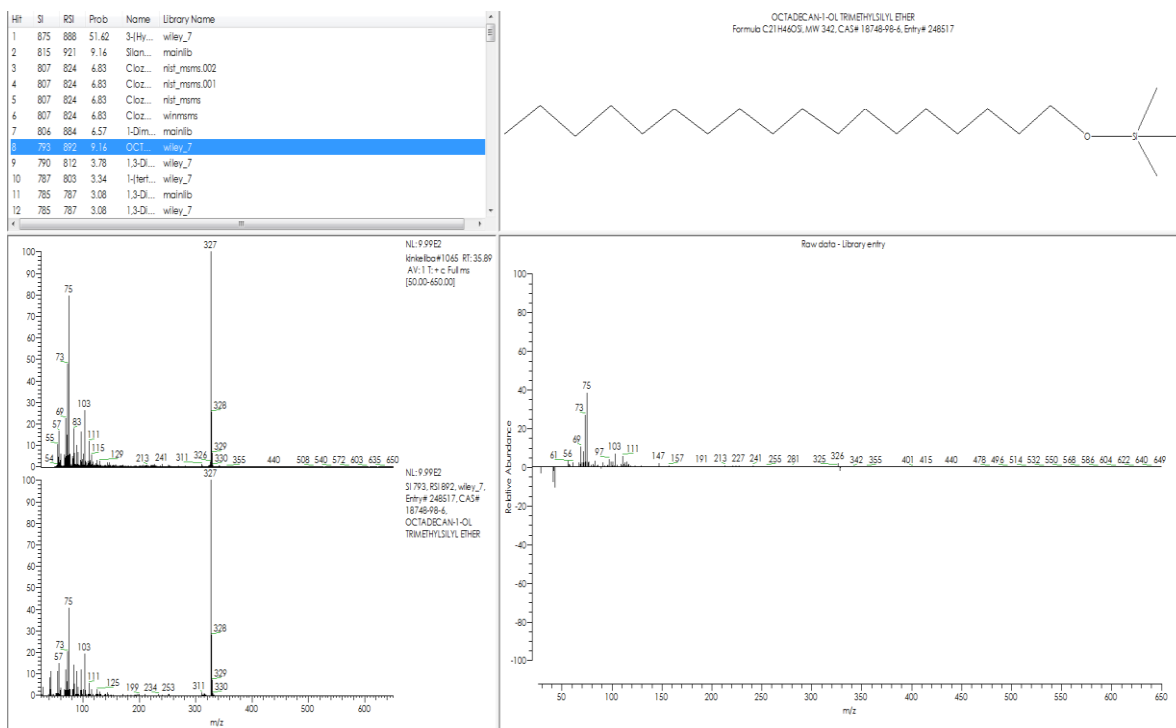


Figura 26. Espectre m/z de l'octadecanol: Xcalibur.

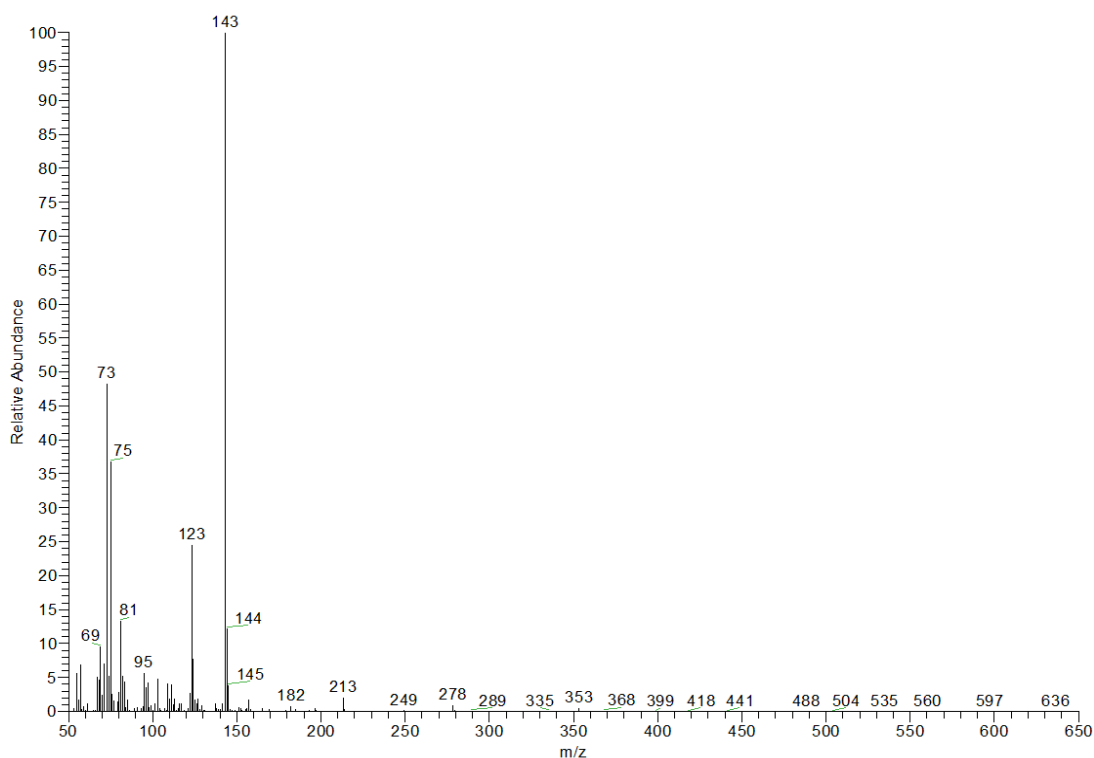
**Taula 12:** Resum d'anàlisi de l'octadecanol trobat en el seu temps de retenció.



Temps de retenció: 36,01

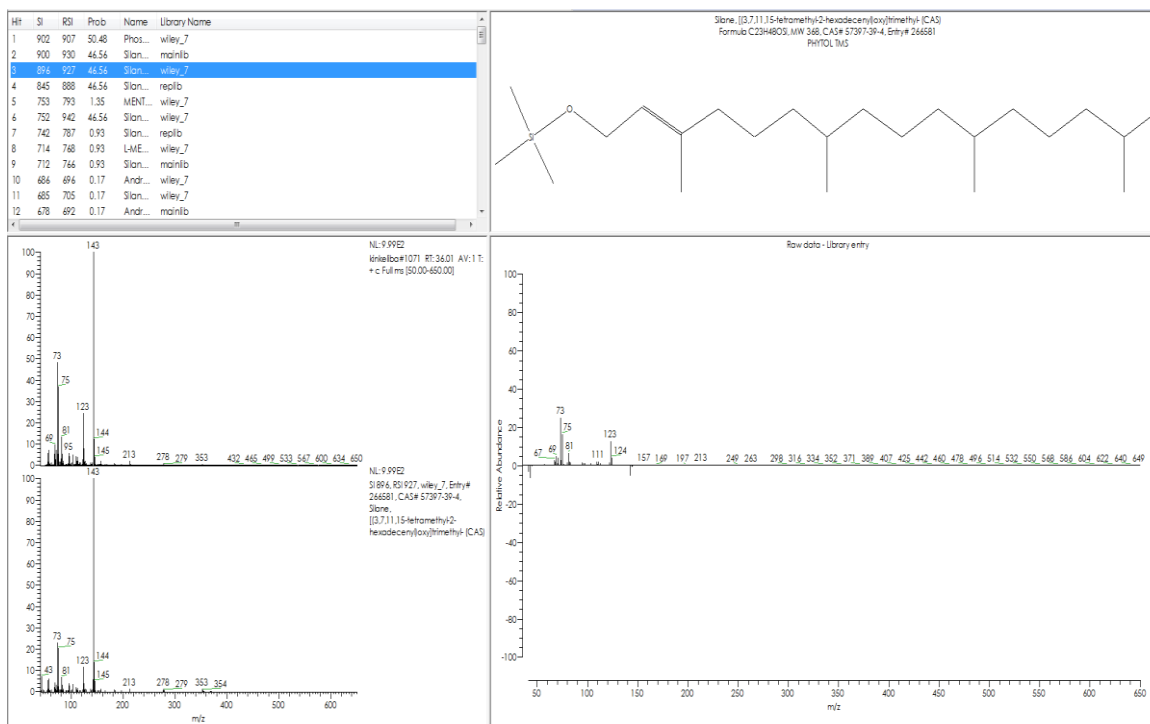
Nom: Fitol TMS

Fórmula molecular:  $C_{23}H_{48}OSi$



**Figura 27.** Espectre m/z del Fitol TMS: Xcalibur.

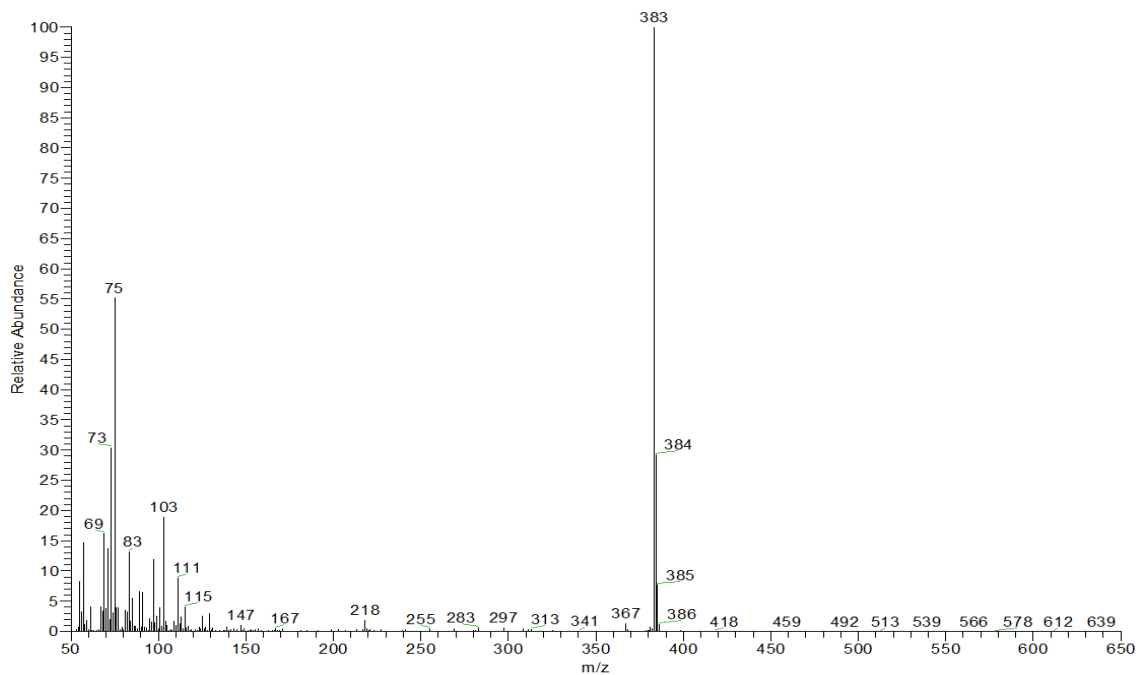
**Taula 13:** Resum d'anàlisi del Fitol TMS trobat en el seu temps de retenció.



Temps de retenció: 39,90

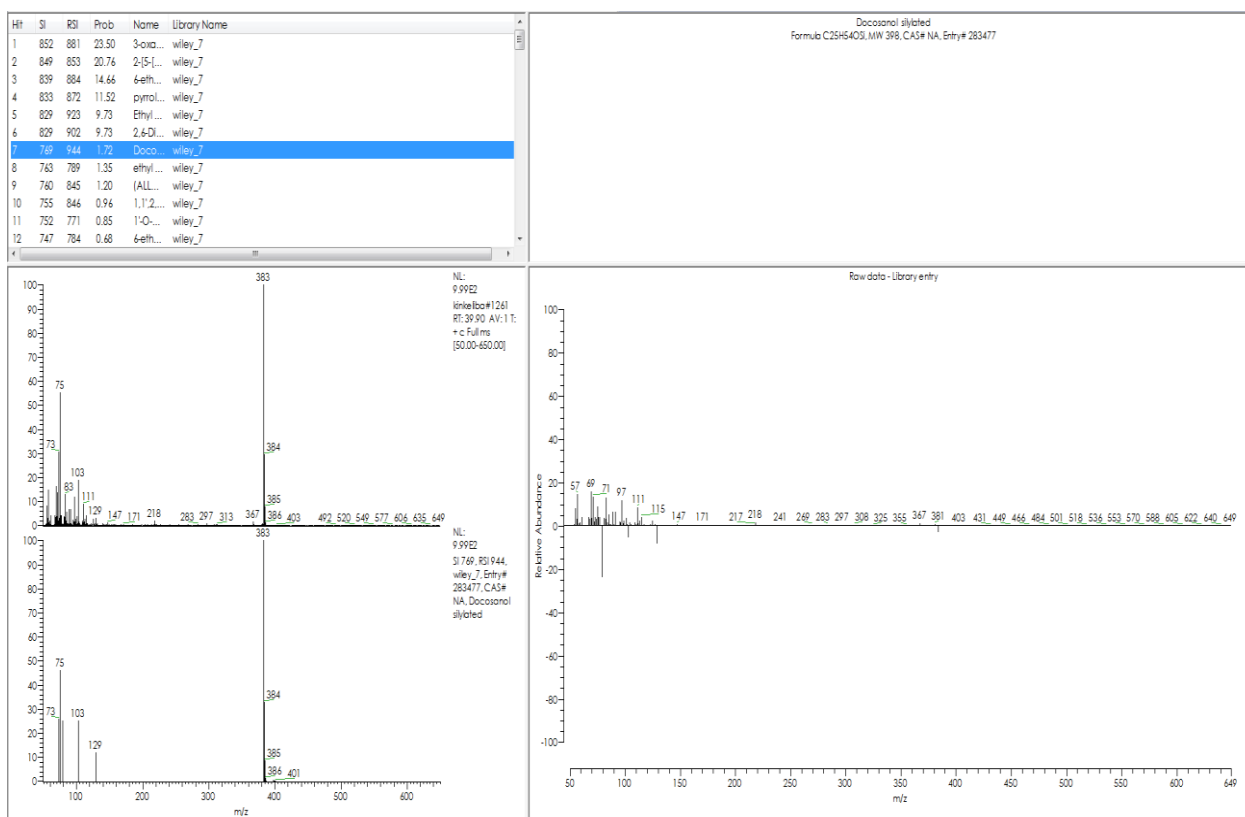
Nom: Docosanol

Fórmula molecular: C<sub>22</sub>H<sub>46</sub>O



**Figura 28.** Espectre m/z del Docosanol: Xcalibur .

**Taula 14:** Resum d'anàlisi del Docosanol trobat en el seu temps de retenció.



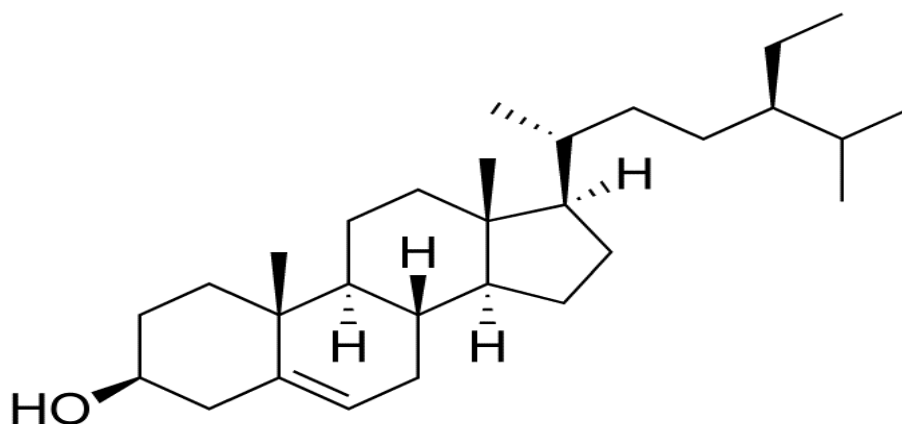
En comparació amb els alcans malgrat la poca quantitat d'alcohols identificats, podem destacar que tots els alcohols identificats són abundants. L'alcohol en major percentatge és el Tetracosanol i el Fitol TMS que és un alcohol diterpènic acíclic i té una funció vital en la síntesi de les vitamines k i E. Dels articles citat, fins ara no s'havia identificat cap alcohol a Bony et al., (2014).

### 3-5- Terpenoides

Es deriven d'èsters alcans o ciclopentahidrofenantrens i consten de quatre anells fusionats, 3 dels quals tenen 6 àtoms i 1 amb 5; un total de 17 àtoms de carboni. En els esteroides, aquesta estructura bàsica es modifica afegint diversos grups funcionals, com ara grups carbonil i hidroxil (hidròfils) o cadenes hidrocarbonades (hidrofòbiques).

Aquestes substàncies es troben en grans quantitats en els organismes vius.





## Sitosterol

Figura 29: Estructura sitosterol: imatge extreta en:

<https://uniiquim.iquimica.unam.mx/compuesto-item/b-sitosterol-1099/>

Temps de retenció: 59,13

Nom: Colesterol

Fórmula molecular:  $C_{27}H_{47}O$

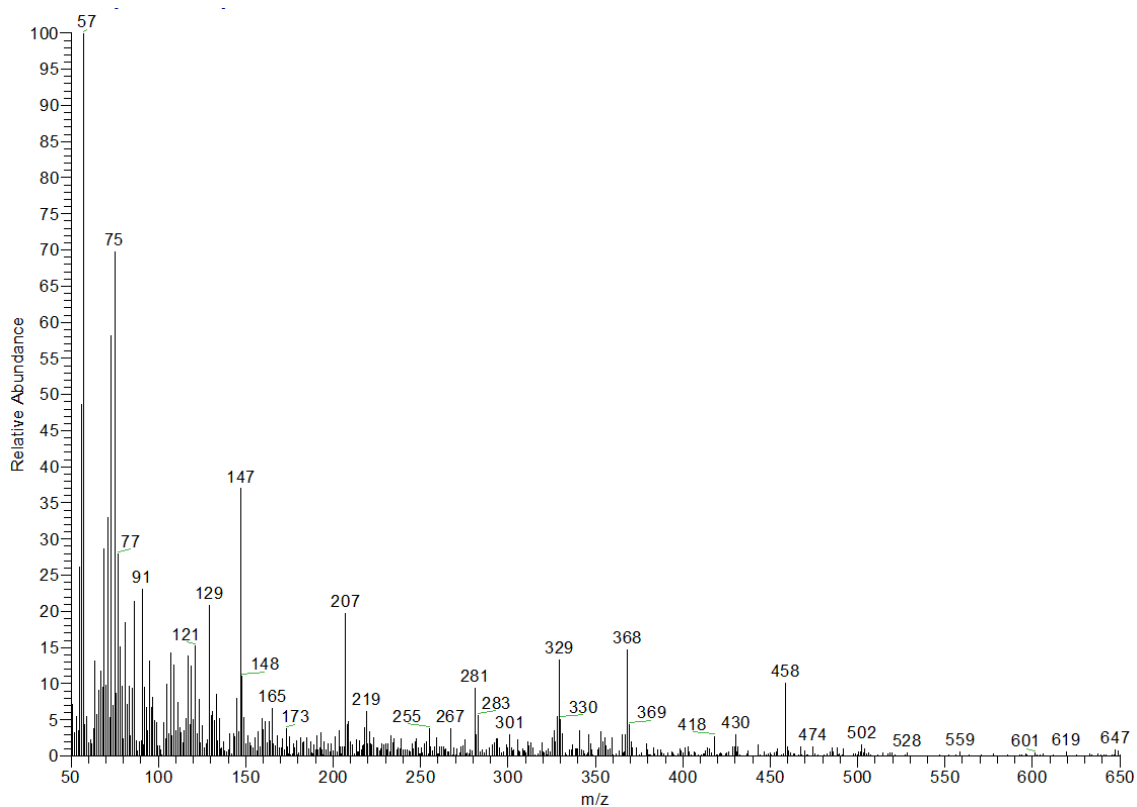
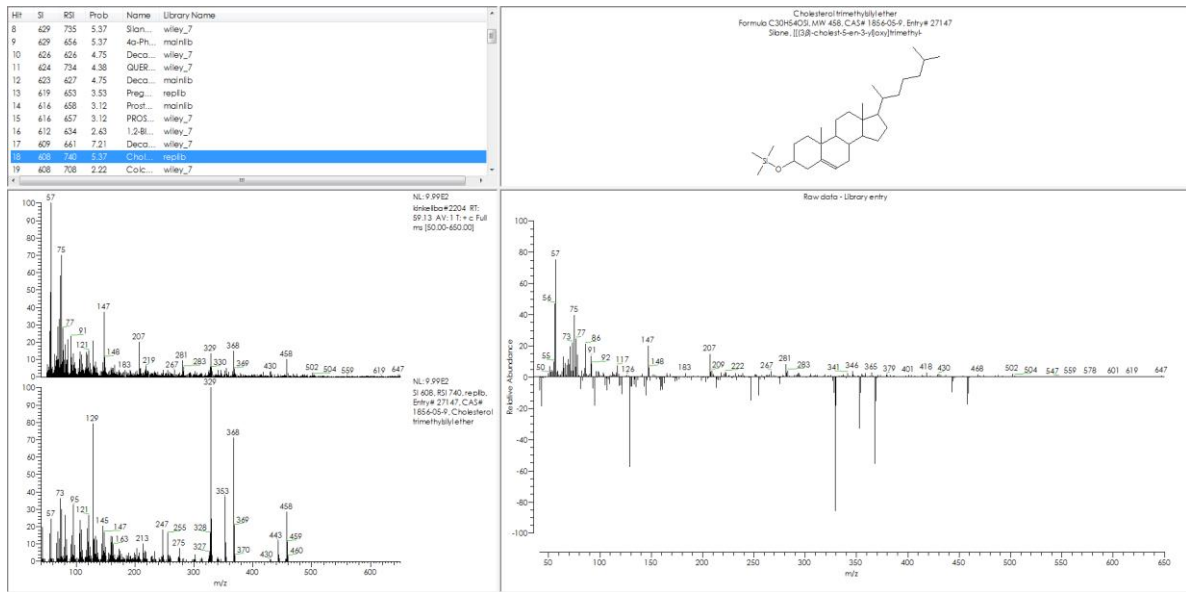


Figura 30. Espectre m/z del Colesterol: Xcalibur.

Taula 15: Resum d'anàlisi del Colesterol trobat en el seu temps de retenció.



Temps de retenció: 66,31

Nom: Campesterol

Fórmula molecular:  $C_{28}H_{48}O$

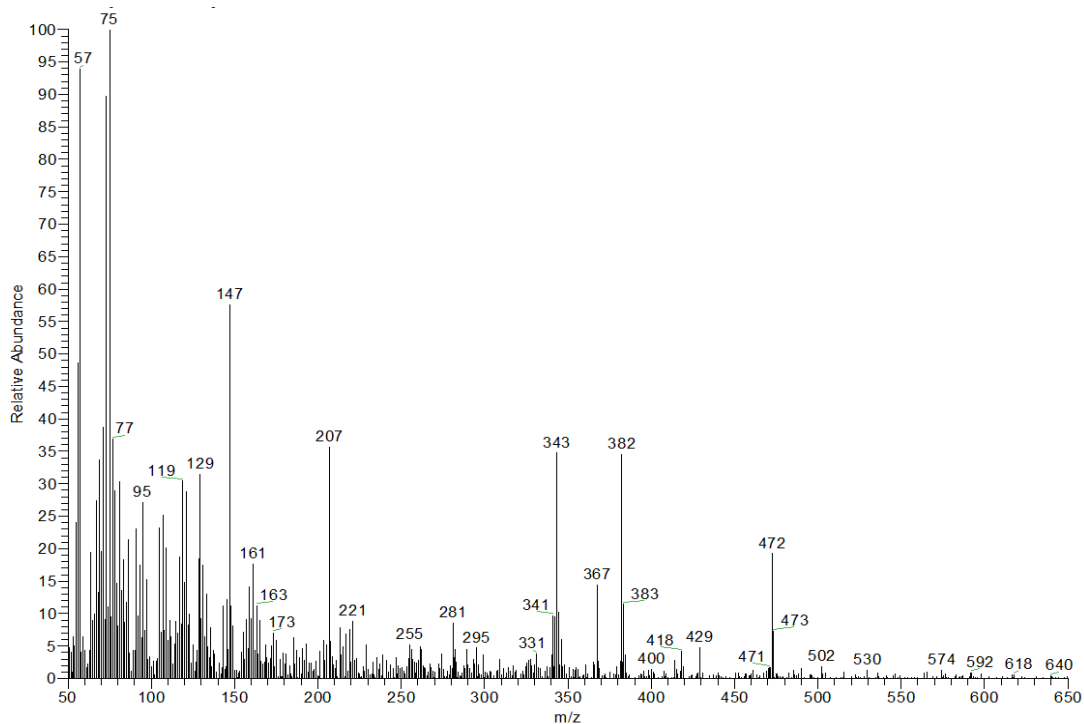
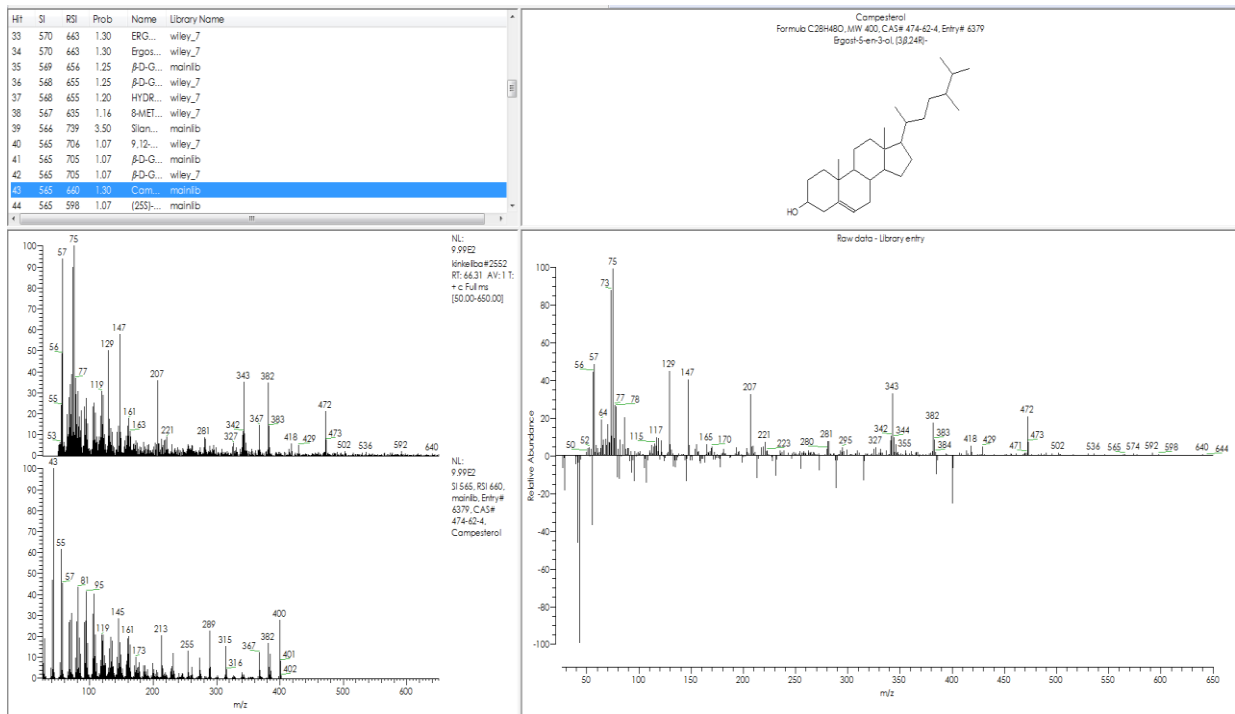


Figura 31. Espectre m/z del Campesterol: Xcalibur.

Taula 16: Resum d'anàlisi del Campesterol trobat en el seu temps de retenció.



Temps de retenció: 73,93

Nom: β-Sitosterol TMS

Fórmula molecular:  $C_{32}H_{58}OSi$

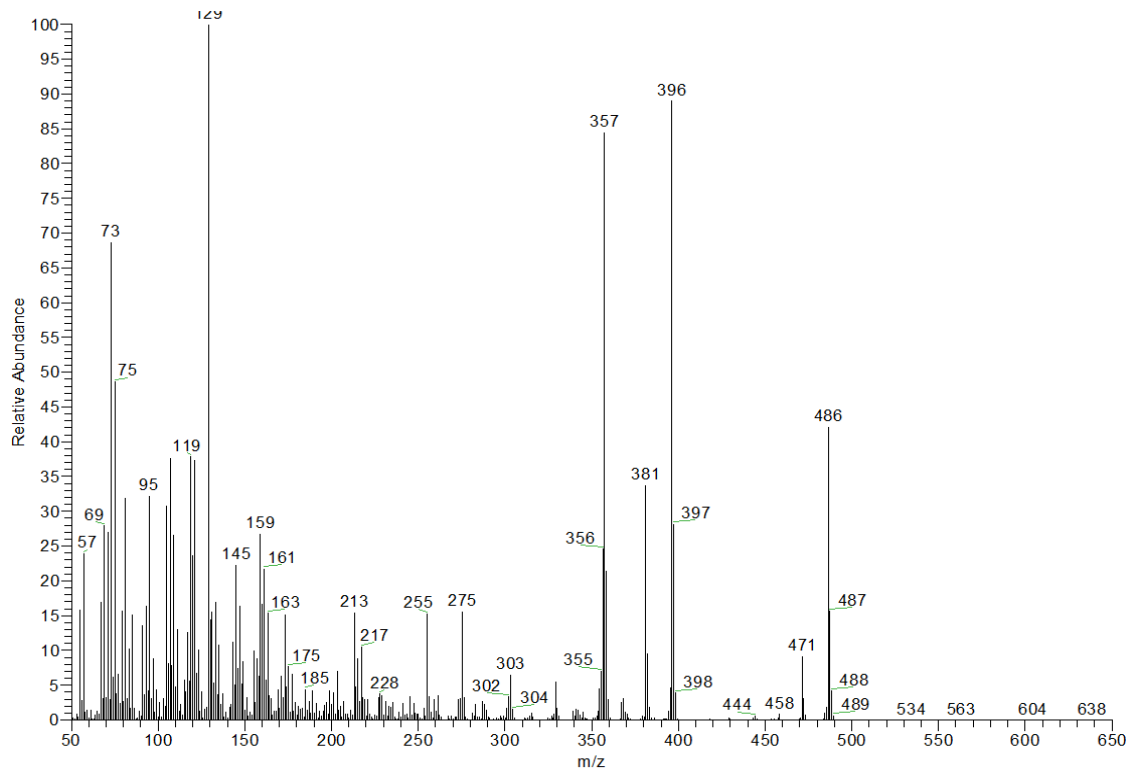
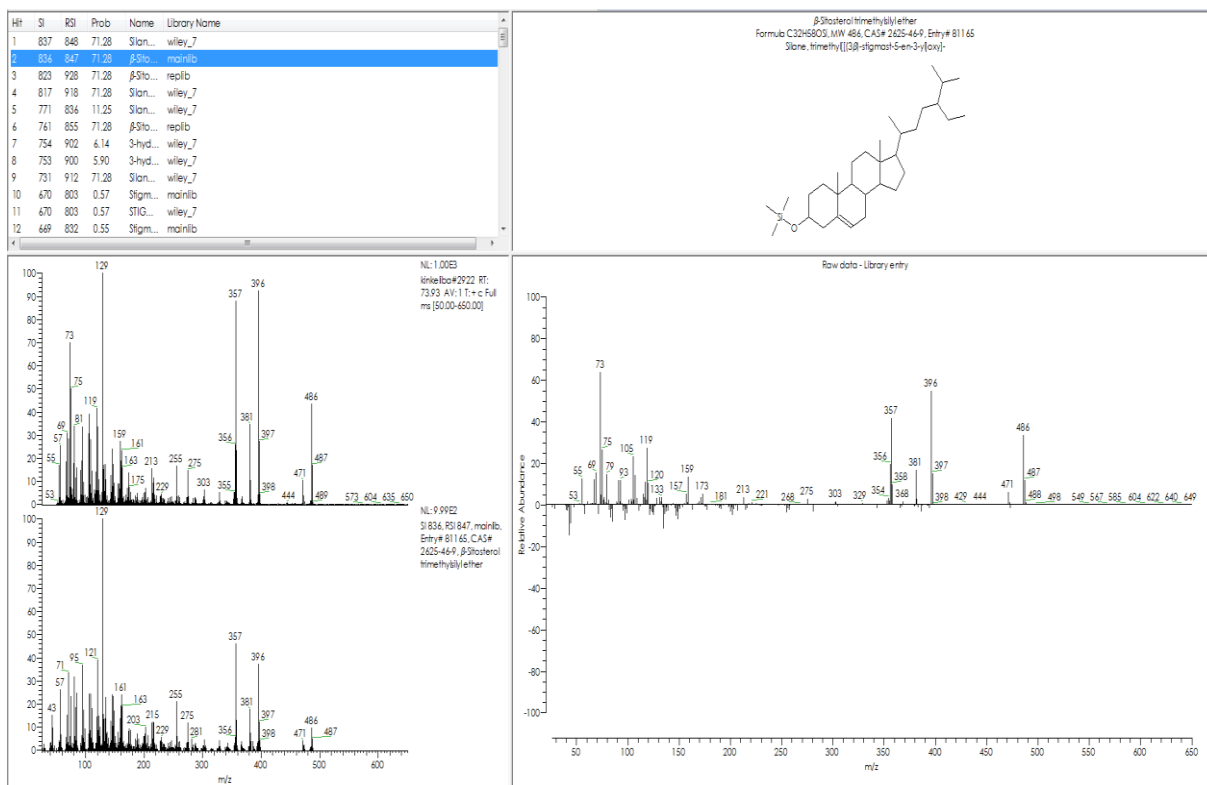


Figura 32. Espectre m/z del β-sitosterol TMS: Xcalibur

**Taula 17:** Resum d'anàlisi del  $\beta$ -Sitosterol TMS trobat en el seu temps de retenció.



Com ja podem observar hem pogut identificar la majoria d'esterols present en les plantes en general i la presència ja del  $\beta$ -Sitosterol TMS en el kinkeliba denota la importància que pots tenir aquesta planta en un futur en les investigacions de la biomedicina. Hem pogut observar que en la planta la presència del colesterol és molt petita, una bona informació que ens recorda llavors la utilitat de la planta. El  $\beta$ -sitosterol, el campesterol ja s'havien descrit (Bony et al., 2014), i, per tant, això confirma la presència d'aquests terpenoides en la planta.

### 3-6-Àcids grassos

Els àcids grassos són molècules de lípids orgànics formades per cadenes d'hidrocarburs llargues i rectes formats en general per nombres parells de carbonis entre 16 i 18 àtoms i fixat al final per un grup carboxil (COOH). Els carbonis estan units entre ells per un enllaç covalent.

En l'anàlisi del *Combretum micranthum* hem pogut detectar la presència d'àcids grassos contràriament els diferents articles llistats i fonts que vam consultar sobre l'anàlisi del Kinkeliba (Bony et al., 2004). Destacarem als àcids grassos més abundants en la planta. Cal assenyalar que durant la identificació i anàlisi dels àcids grassos hem pogut identificar àcids a partir de la massa molar del

composts que en la base de dades del programa Xcalibur no l'hem pogut identificar, en aquest cas llistarem i detallarem els compostos més abundants.

Temps de retenció: 35,13

Nom: Àcid hexadecanoic

Fórmula molecular:  $C_{16}H_{32}O_2$

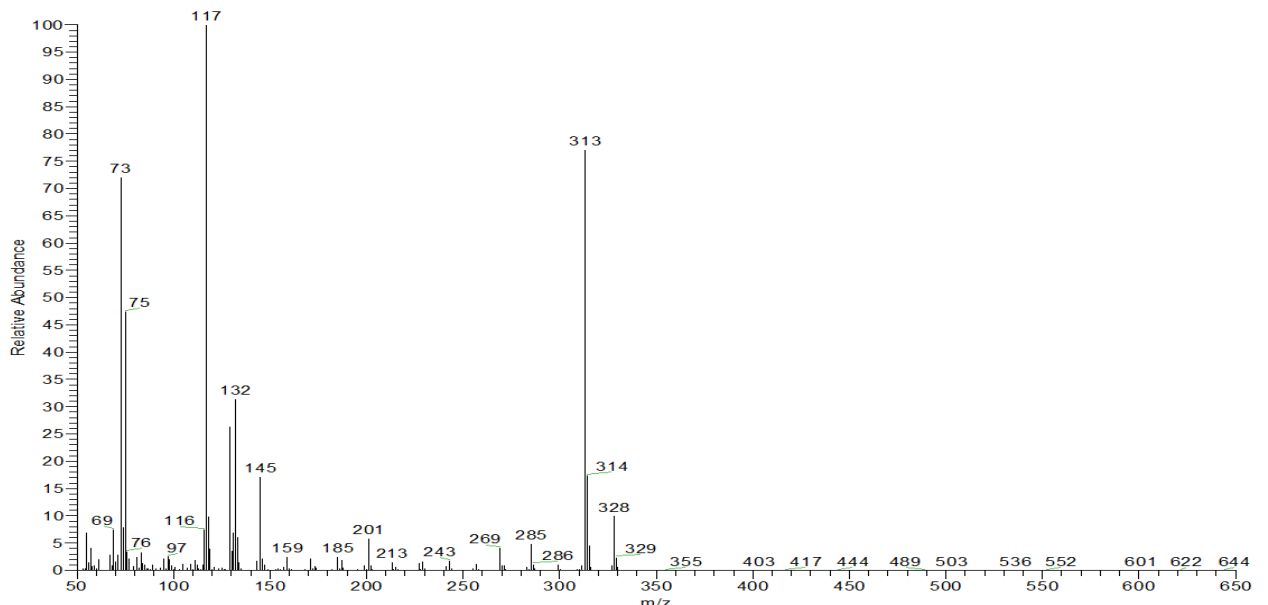
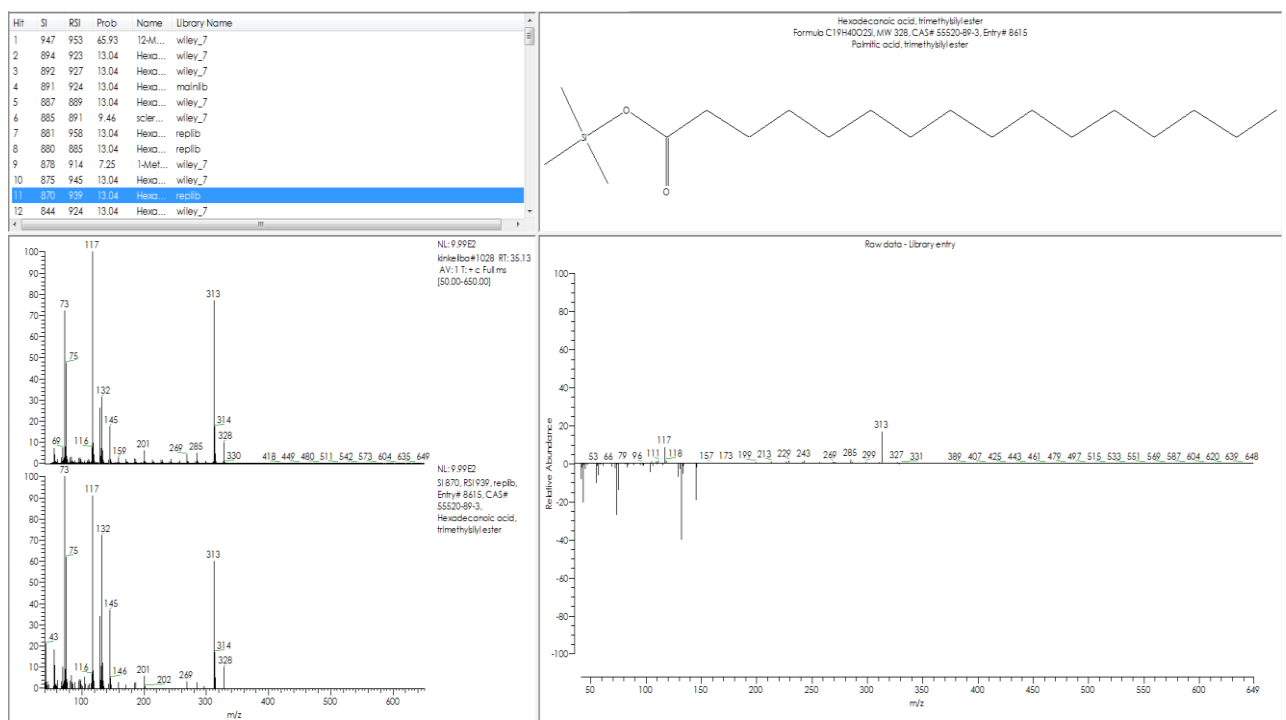


Figura 33. Espectre m/z de l'àcid Hexadecanoic TMS : Xcalibur.

Taula 18: Resum d'anàlisi de l'àcid Hexadecanoic TMS trobat en el seu temps de retenció.



Temps de retenció: 35,81

Nom: Àcid heptadecanoic TMS

Fórmula molecular:  $C_{20}H_{42}O_2Si$

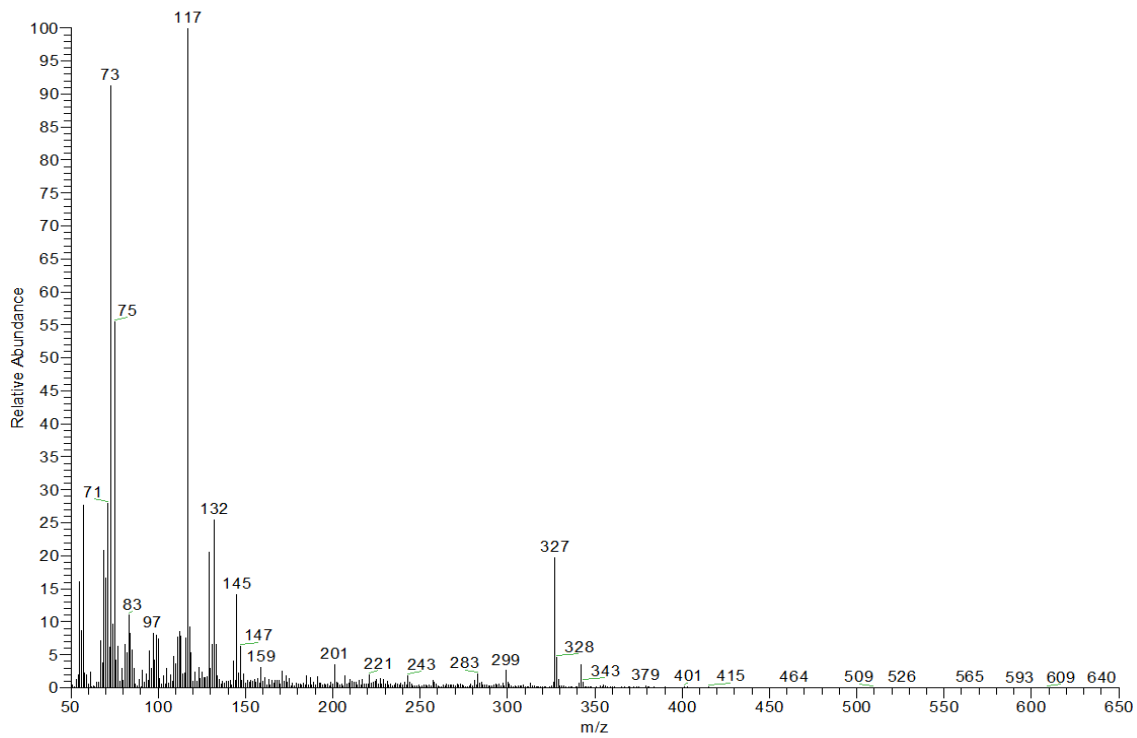
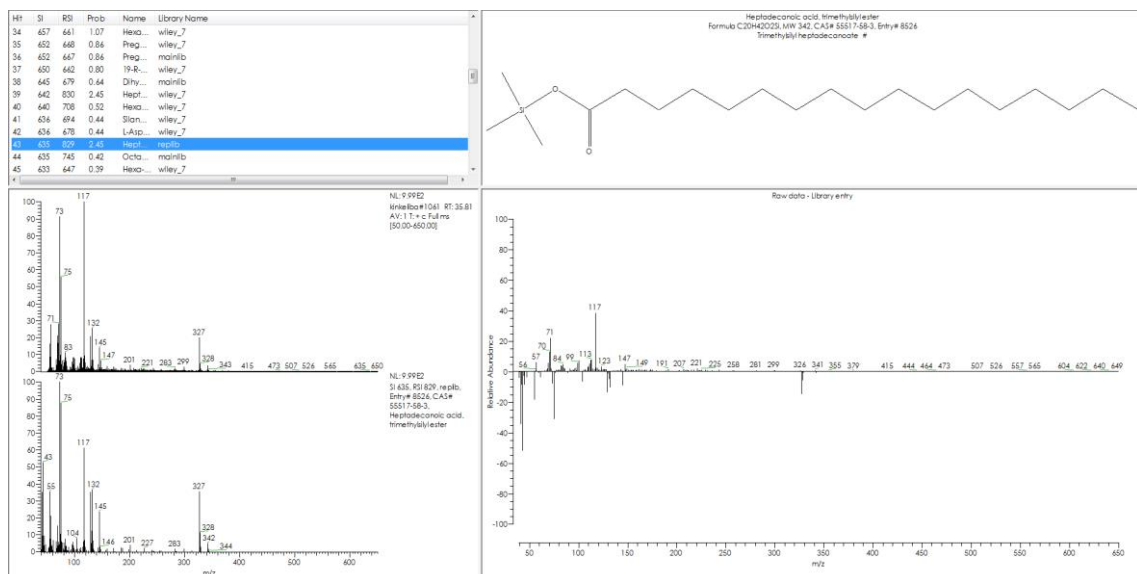


Figura 34. Espectre m/z de l'àcid Heptadecanoic TMS del kinkeliba: Xcalibur

Taula 19: Resum d'anàlisi de l'àcid Heptadecanoic TMS trobat en el seu temps de retenció



Temps de retenció: 38,41

Nom: Àcid Eicosanoic TMS

Fórmula molecular:  $C_{23}H_{48}O_2Si$

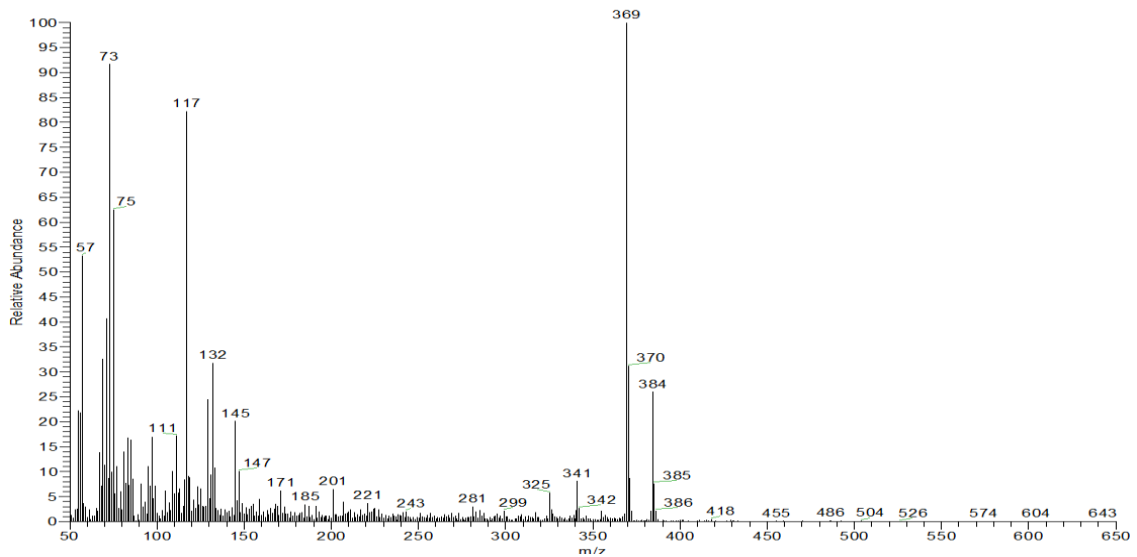
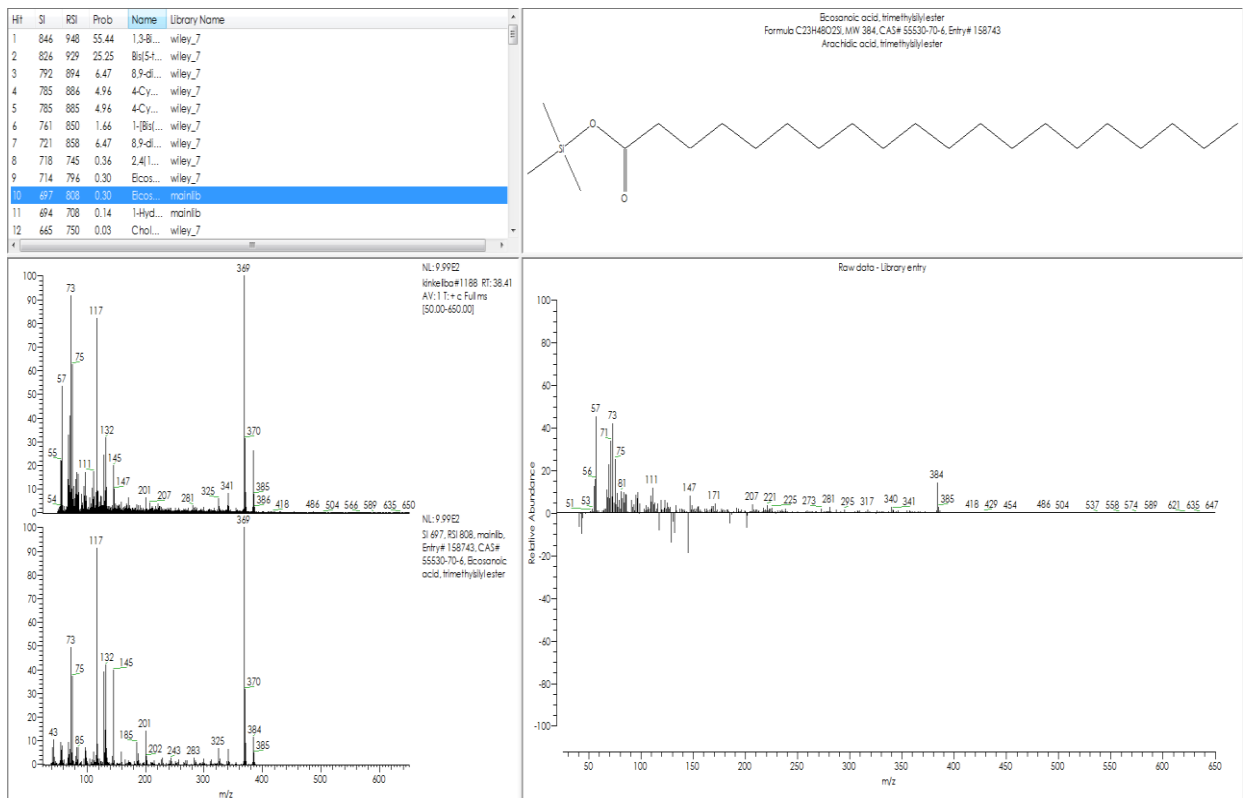


Figura 35. Espectre m/z de l'àcid Eicosanoic TMS: Xcalibur.

Taula 20: Resum d'anàlisi de l'àcid Eicosanoic TMS trobat en el seu temps de retenció.



Contràriament a la resta de compostos identificats, l'àcid més abundant és l'àcid Pentadecanoic i també, cal assenyalar igual que els alcohols els àcids que hem identificat no s'havien descrit en referència als articles citats (Bony et al., 2014).

## 3-7-Terpens

Els terpens són polímers de l'Isoprè (2,metil - 1,3 butadiè), compostos orgànics de fórmula general  $(C_5H_8)_n$ . Químicament, formen una família de substàncies naturals molt àmplia i molt diversa. Es produeixen principalment per una varietat de plantes. Principalment durant aquest treball hem identificat algunes vitamines.

### 3-7-1-Vitamines

Les vitamines són matèria orgànica i, en particular, són nutrients important que el nostre cos absorbeix a través dels aliments, perquè ell no en produeix de forma natural quantitats suficients. Les vitamines són regeneradores i són elements claus en el manteniment de les funcions vitals gràcies a la seva participació en les reaccions químiques.

A la natura hi trobem 13 tipus de vitamines classificats en diferents grups com: les vitamines hidrosolubles (vitamines B i C), les vitamines liposolubles (la vitamina A, D, E, K).

Al llarg de la nostra investigació sobre el *Combretum micramtum* hem pogut identificar dues vitamines important pel nostre cos.

Hem pogut identificar el Tocoferol conegut com a vitamina E que és una vitamina molt important que participa en el manteniment de l'estructura de les membranes cel·lulars.

L'altra vitamina que hem pogut identificar és la vitamina K que té molta rellevància en la síntesi de les proteïnes i també és necessari per a la síntesi de la coagulació on el seu dèficit pots provocar més risc d'hemorràgia.



Temps de retenció: 75,77

Nom: Vitamina K

Fórmula molecular:  $C_{31}H_{46}O_2$

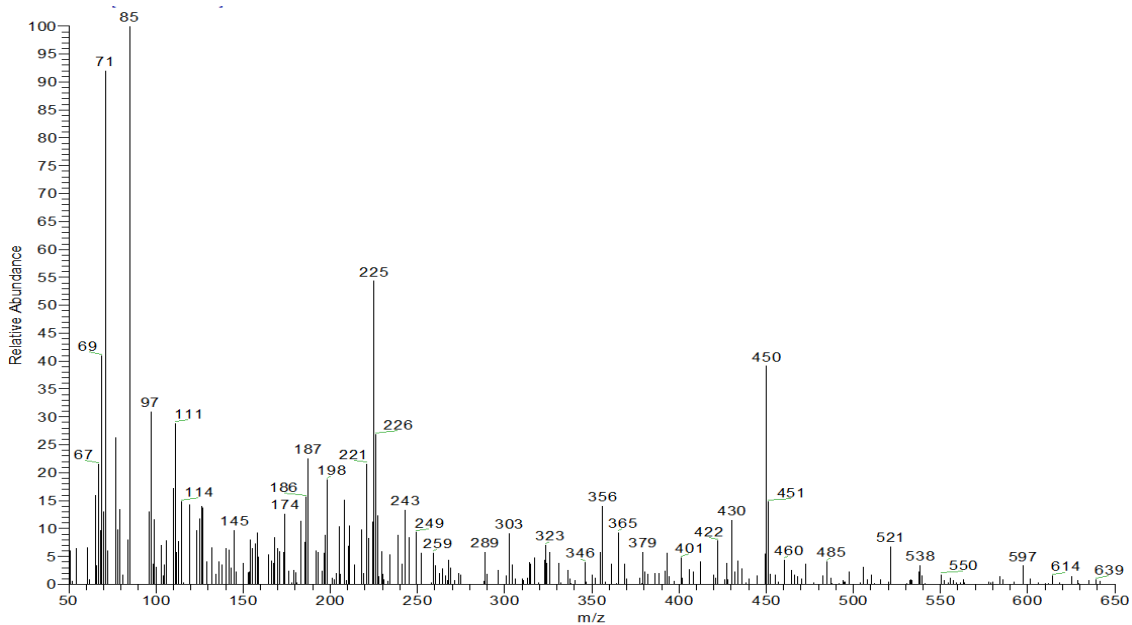
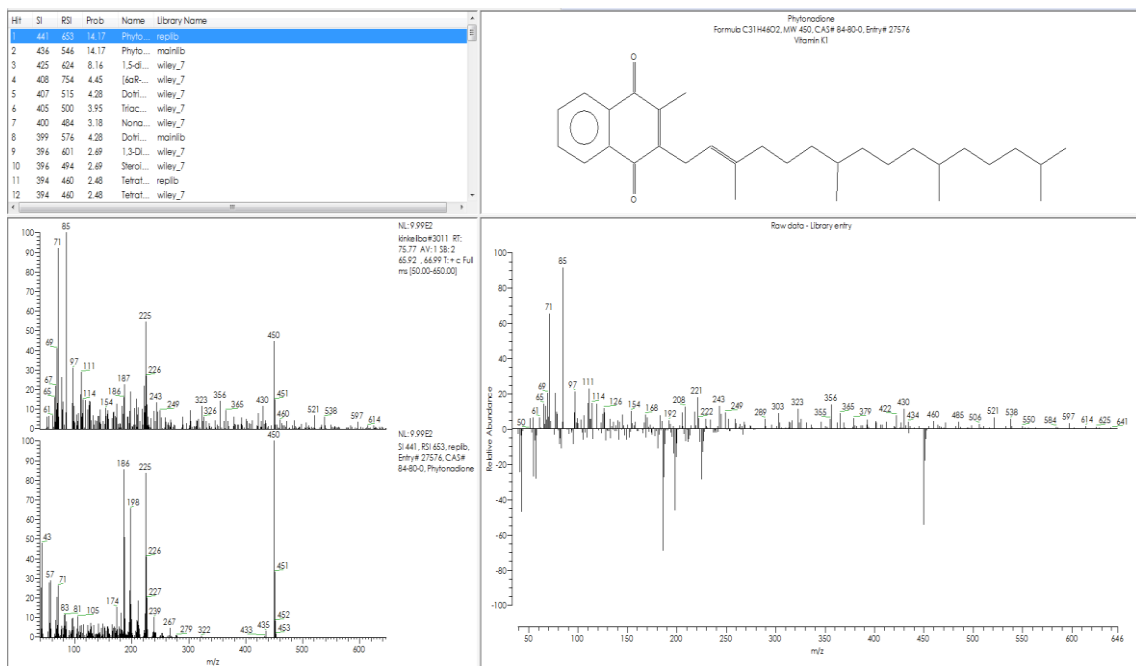


Figura 36 Espectre m/z de la vitamina k1: Xcalibur.

Taula 21: Resum d'anàlisi de la vitamina k1 trobat en el seu temps de retenció.



Temps de retenció: 59,74

Nom: Tocoferol

Fórmula molecular:  $C_{32}H_{58}OSi$

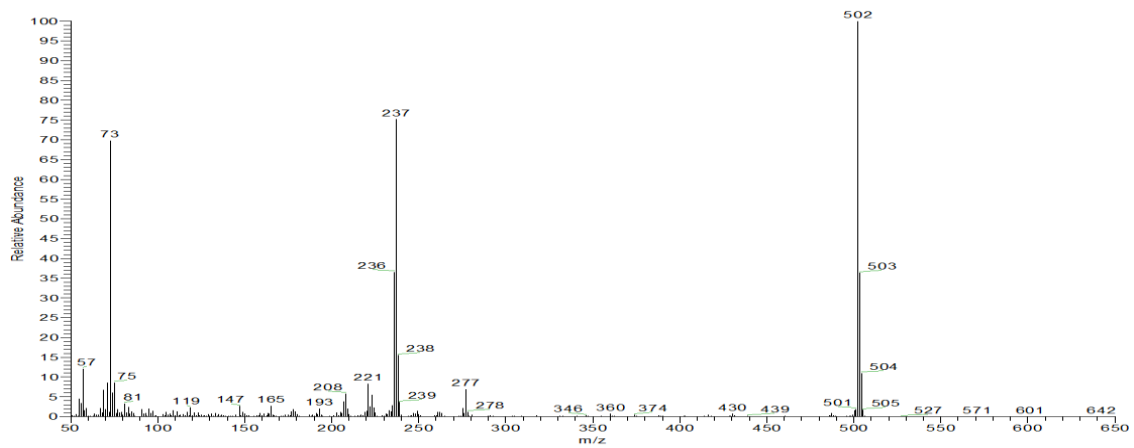
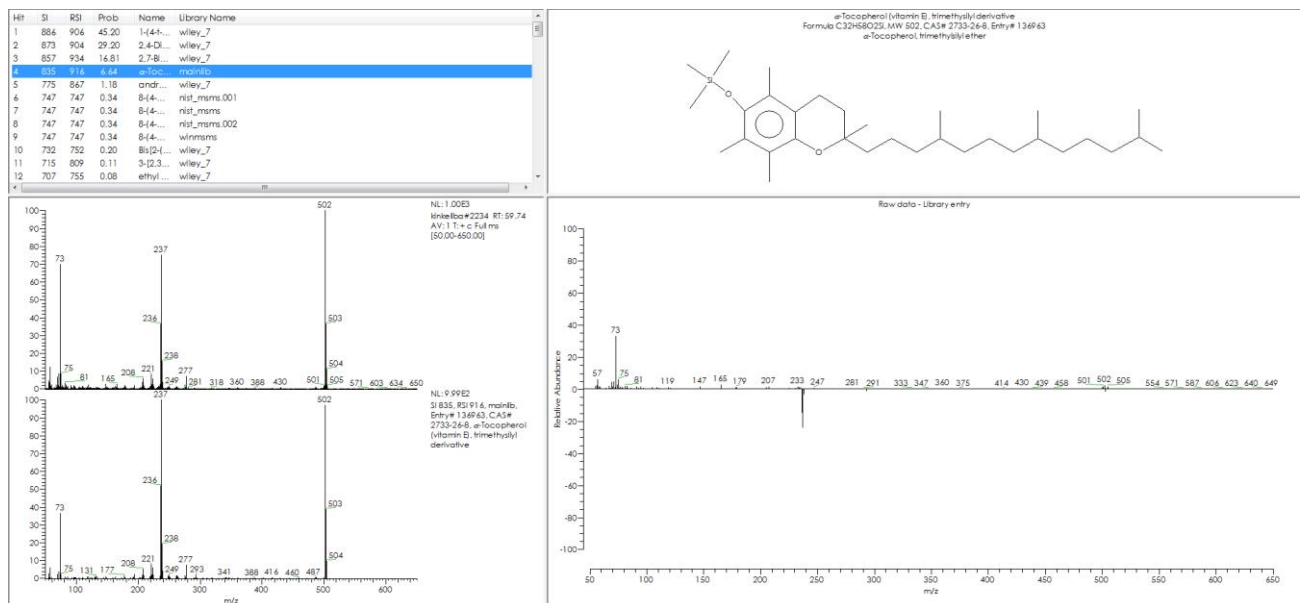


Figura 37. Espectre m/z del Tocoferol del kinkeliba: Xcalibur.

Taula 22: Resum d'anàlisi del tocoferol trobat en el seu temps de retenció.



Fins ara segons tots els articles que hem llistat, no se sabia que el *Combretum micranthum* tenia la vitamina K, una vitamina important pel cos humà, i està present en la planta amb una quantitat considerable. En el *Combretum micranthum* la vitamina k té més abundància que la vitamina E. Vist la importància de les dues vitamines en el cos, veiem a través un angle alfa la utilitat que podria tenir aquesta planta en la biomedicina. Cal recordar que la vitamina E Conegut també amb el nom de Tocoferol s'havia identificat (Bony et al., 2014).

## 4-Conclusions

Aquest treball ha sigut el resultat de l'estudi dels compostos lipídics del *Combretum micranthum* comunament conegut com a kinkeliba. El kinkeliba és una planta medicinal africana poc coneguda.

Després d'haver realitzat un estudi dels compostos lipídics del kinkeliba mitjançant la tècnica d'anàlisi GC-MS cal retenir que malgrat els pocs estudis fets sobre la planta, hem pogut identificar varies tipus de compostos des dels alcans fins als terpens incloses les vitamines.

La major part dels resultats trobats segons Bony et al (2014) no s'havien trobat anteriorment. Hem pogut identificar la major part dels compostos trobats en total una quarantena de compostos. Els compostos més abundants són el el Etylbis(trimetylsilyl)amina degut a la derivatització, el Tricosà, el Tetracosà, el Fitol TMS i la vitamina K

La vitamina K és un dels compostos que fins ara no s'havia descrit en cap dels articles que hem llistat i vist la importància d'aquesta vitamina en el cos humà, confirma les aptituds del kinkeliba com a planta medicinal.

És important assenyalar en el kinkeliba la presència de compostos utilitzada en la biomedicina moderna com el  $\beta$ -sitosterol i el Campesterol que estan present en unes quantitats considerables i, en canvi, el colesterol un compost que en gran quantitat no és bo per la salut es troba en poca quantitat, amb la qual cosa podem destacar les principals virtuts del kinkeliba.

Al llarg d'aquesta investigació hem pogut identificar compostos importants per treure un estudi sobre l'ús tradicional del kinkeliba, a part de la presència del Tocoferol conegut com a vitamina E, hem pogut identificar una altra vitamina coneguda com a vitamina k clau com a cofactor en l'activació de les proteïnes i la presència d'aquesta vitamina en la planta confirma encara més la mitologia sobre les virtuts del Kinkeliba.

De tots els compostos identificats i vist la seva importància podem concloure que amb un estudi més profunditzat, en un futur el kinkeliba podria servir com a base de resolució de molts problemes en la biomedicina.

Al llarg d'aquest treball d'investigació cal notar que ens hem trobat amb algunes limitacions sobretot en la recerca dels articles d'estudi del kinkeliba, però, no obstant això, hem pogut identificar quarenta-set compostos importants com la vitamina k, el Campesterol, el Tocoferol, el  $\beta$ -Sitosterol, que poden fer que el kinkeliba sigui una base com a planta medicinal en un futur.

Després de tota aquesta investigació i informació obtenida sobre el kinkeliba queda a saber si el *Combretum micranthum* seria una base en la fabricació d'un nou fàrmac en el tractament de la hipertensió arterial.

## 5-Bibliografia

1- Augé ,A ( 2014). Projecte fi de màster, UPC Manresa. Identificació i anàlisi dels diferents principis actius presents en la camamilla (*Matricaria recutita* L) i la flor de neu (*Leontopodium alpinum*). 14-25.

2-Basas i Jaumandreu J. (2015). Estudi de biomarcadors lipídics en plantes de la conca mediterrània i les seves implicacions geoquímiques en sistemes aquàtics. Universitat Politècnica de Catalunya, [En línia], [Consultat el 20/05/22] Disponible en : <http://hdl.handle.net/10803/321362>

3-Biopili, [En línia ],[Consultat el 15/06/22] Disponible en : <http://biopili.weebly.com/agravecids-grassos.html>

4- Bony N.F, Libong, D., Solgadi, A., Bleton, J., Champy, P., & Malan, A. K. (2014). Establishing high temperature gas chromatographic profiles of non-polar metabolites for quality assessment of African traditional herbal medicinal products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 88, 542–551,[en línia ], [consultat el 20/06/22] Disponible en : <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.10.013>.

5- Curesdecoded, Kinkeliba para que sirve y propiedades curativas ,[ En línia], [Consultat el 25/05/2022], Disponible en : <https://www.curesdecoded.com/es/productos/kinkeliba/1490>

6-Cerceda Bolívar, G. (2020). Caracterització mitjançant cromatografia de gasos-espectrometria de masses dels compostos orgànics d'extractes de camamilla. Universitat Politècnica de Catalunya, [ En línia], [Consultat el 10/09/2022], Disponible en: <http://hdl.handle.net/2117/335641>

7- Ortuño D, (2017). Treball de Fi de Grau, UPC Manresa. Identificació i anàlisi dels lípids del cargol bover 6-13, [En línia], [Consultat el 10/09/2022], Disponible en : <https://upcommons.upc.edu/handle/2117/113317?locale-attribute=ca>

8- De las Heras i Cisa, F. Xavier. (1991). Geoquímica orgànica de conques lacustres fòssils. Institut d'Estudis Catalans.

9- Fundació CANNA, els terpens, [En línia], [Consultat el 15/09/22] Disponible en : <https://www.fundacion-canna.es/ca/els-terpens>

10- Guardiola, & Villalobos Galindo, M. (1992). Cromatografia de gasos. Generalitat de Catalunya, Departament d'Ensenyament, Servei de Difusió i Edicions.

11- Robards. (2003). Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. Journal of Chromatography A, 1000(1), 657–691. [En línia] ,[Consultat el 05/06/22], Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00058-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00058-X)

12- Soïn et nature, Combretum Kinkeliba cut IPHYM Herboristería Combretum micranthum, [En línia], [Consultat el 10/06/222], Disponible en: <https://www.soin-et-nature.com/es/5339-combretum-kinkeliba-cut-hoja-iphym-herboristeria-combretum-micranthum.html>

13- Stobiecki. (2000). Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides. Phytochemistry, 54(3), 237–256. [En línia], [Consultat el 20/08/22], Disponible en : [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00091-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00091-1)

14- Saghatelian, & Cravatt, B. F. (2005). Discovery metabolite profiling — forging functional connections between the proteome and metabolome. Life Sciences (1973), 77(14), 1759–1766, [En línia], [Consultat el 22/08/2022], Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.05.019>

15-Tura D, Robards K. Sample handling strategies for the determination of biophenols in food and plants. J Chromatogr A. 2002 Oct 25;975(1):71-93. doi: 10.1016/s0021-9673(02)00879-8.PMID: 12458749, [En línia], [Consultat el 15/07/2022], Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12458749/>

16-UNIIQUIM,  $\beta$ -Sistosterol, [En línia], [Consultat el 20/09/2022], Disponible en: <https://uniquim.iquimica.unam.mx/compuesto-item/b-sitosterol-1099/>

17- Welch C, Zhen J, Bassène E, Raskin I, Simon JE, Wu Q. Bioactive polyphenols in kinkéliba tea (*Combretum micranthum*) and their glucose-lowering activities. *J Food Drug Anal.* 2018 Apr;26(2):487-496. doi: 10.1016/j.jfda.2017.05.009. Epub 2017 Jun 13. PMID: 29567217; PMCID: PMC9322244. [En línia], [Consultat el 25/05/22] Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29567217/>

18-Wikipedia, *Combretum micranthum*, [Consultat el 10/06/2022], Disponible en: [https://en.wikipedia.org/wiki/Combretum\\_micranthum](https://en.wikipedia.org/wiki/Combretum_micranthum)