

## **ANEXO I. TÉCNICAS ANALÍTICAS UTILIZADAS PARA ÁCIDOS GRASOS Y COLESTEROL**

**PROTOCOLO: Quím. Osvaldo Rampoldi.**

### ***1. Acidos Grasos***

La preparación de las muestras se realizó mediante una transesterificación in situ (ISTE), según el trabajo de P. Park y R. Goins.

En una misma etapa se realiza la extracción de la parte lipídica con diclorometano y la saponificación con soda metanólica.

Posteriormente, en el mismo tubo, se realiza la derivatización de los ácidos grasos (para obtener los FAMES) los cuales son extraídos con hexano y colocados en viales.

El análisis cromatográfico se realizó en un cromatógrafo Hewlett Packard 5890 II con detector FID. La columna utilizada fue una HP INNOWAX de 30 m x 0.53 mm (1  $\mu$ m).

Para la identificación se comparó los tiempos de retención contra estándares certificados de los FAMES, tomando para la cuantificación directamente el área % como peso %.

### ***2. Colesterol***

La preparación de las muestras se realizó de acuerdo con el trabajo de Sander, Addis, Park y Smith.

Se extrajeron los lípidos con cloroformo/metanol (de acuerdo al método de Folch). Luego se realizó la saponificación en frío con potasa metanólica y la extracción con dietileter. Por último se derivatizaron los esteroides para obtener los trimetilsililéteres. El análisis cromatográfico se realizó en un cromatógrafo Hewlett Packard 5890 II con detector FID y columna HP-1 de 25 m x 0.25 mm (0.25  $\mu$ m).

Se confirmó la identificación del colesterol por GC-MS con un detector HP 5972 y por comparación de tiempo de retención contra estándar.

La cuantificación se realizó por áreas, comparando contra estándar de concentración conocida.