



CONCLUSIONES  
DE LA MEMORIA

---



Del trabajo realizado a lo largo de esta Tesis Doctoral se pueden extraer las siguientes conclusiones globales:

- La ruta de fragmentación de las dos familias de HAs, los aimoimidazoazaarenos (AIAs) y las carbolinas, es diferente. Los AIAs se fragmentan principalmente por el anillo aminoimidazólico, lo que da lugar entre otros al ion  $[M+H-CH_3]^{+}$ , que es el pico base del espectro MS/MS de estos analitos. En el caso de las quinoxalinas, se ha observado además la rotura de la pirazina, lo que ha originado la aparición de intensos iones producto derivados de la pérdida de HCN y/o  $CH_3CN$ . La fragmentación de las carbolinas se caracteriza por la rotura de los heterociclos con pérdidas de HCN y/o  $CH_3CN$  entre otros y, en el caso de  $\alpha$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -carbolinas, por la pérdida del grupo amino primario. El conocimiento de las rutas de fragmentación de las AIAs y las carbolinas puede permitir la identificación en alimentos de nuevos compuestos pertenecientes a estas dos familias de HAs.

Por otro lado, el estudio de la fragmentación de las HAs, llevado a cabo mediante espectrometría de masas en tándem múltiple ( $MS^n$ ) en un instrumento de trampa de iones y utilizando la espectrometría de masas en tándem con colisión en la fuente en un triple cuadrupolo (*in-source* CID-MS/MS), ha permitido constatar diferencias significativas entre los espectros de masas obtenidos en los dos instrumentos. De entre ellas, la más destacable es la formación de aductos del ion  $[M+H-NH_3]^+$  de las carbolinas con moléculas neutras, tales como agua o acetonitrilo, en el interior de la trampa de iones.

- Para el análisis de HAs en muestras de alimentos se recomienda el uso de métodos basados en cromatografía de líquidos acoplada a la espectrometría de masas en modo tándem (LC-MS/MS). La mayor selectividad de este modo de trabajo comparado con el modo MS reduce las interferencias y proporciona una mayor relación señal/ruido, permitiendo determinar HAs a niveles de concentración bajos. Aunque los límites de detección proporcionados por el instrumento de triple cuadrupolo han sido algo mejores que los correspondientes al instrumento de trampa de iones, este último instrumento ofrece la posibilidad de confirmar la identidad del pico cromatográfico mediante la obtención del espectro de iones producto sin pérdida de señal.

- Se propone un nuevo método de tratamiento de muestra basado en el acoplamiento LLE(tierra de diatomeas)-SPE(ácido propilsulfónico)-SPE(octadecilsílice). Con este procedimiento, más sencillo que los normalmente utilizados, se consigue reunir todos los analitos en un único extracto y las recuperaciones son aceptables. Aunque este método no proporciona una limpieza exhaustiva del extracto, el empleo de métodos de análisis de elevada selectividad, como es la LC-MS/MS, permite obtener resultados satisfactorios en la cuantificación de las HAs incluso en matrices de elevada complejidad, tal y como se ha demostrado mediante la participación en diversos ejercicios interlaboratorio.
- La metodología analítica desarrollada en la presente memoria ha permitido determinar el contenido de HAs en carne de ternera a la plancha. Así, la combinación del procedimiento de tratamiento de muestra de un único extracto y del método de análisis LC-MS/MS(IT) ha posibilitado la cuantificación de los analitos así como la confirmación de su identidad a niveles de concentración bajos, del orden de los  $\sim 0,2 \text{ ng g}^{-1}$ .