



## “Desarrollo de nuevas metodologías avanzadas para el análisis de oligosacáridos bioactivos”

Autora: **Andrea Martín Ortiz**

Directores: María Luz Sanz Murias, Ana Isabel Ruiz Matute y Francisco Javier Moreno Andújar

Instituto de Química Orgánica General (IQOG, CSIC) /  
Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación  
(CIAL, CSIC-UAM)

30 de mayo de 2019

### **Resumen:**

El análisis de mezclas complejas de carbohidratos bioactivos no es una tarea sencilla y requiere de técnicas con gran poder de separación e identificación, como son las técnicas cromatográficas y su acoplamiento a la espectrometría de masas. Además, generalmente es necesaria una etapa previa de preparación de muestra para la extracción y/o fraccionamiento selectivo de estos carbohidratos que facilite su análisis. Por tanto, en esta Tesis Doctoral se han optimizado, validado y aplicado diferentes metodologías para el análisis de oligosacáridos bioactivos, tanto de preparación de muestra como de análisis, con el fin de superar muchas de las limitaciones asociadas a los métodos actualmente existentes.

La leche de cabra es una fuente rica de carbohidratos, mayoritariamente constituida por lactosa, pero también por mezclas complejas de oligosacáridos bioactivos (COS). En esta tesis se han empleado diferentes técnicas de fraccionamiento para la eliminación selectiva de la lactosa, destacando el uso combinado de enzimas con actividad  $\beta$ -galactosidasa y de levaduras, metodología que permitió preservar los COS originalmente presentes en la muestra. A continuación, los métodos desarrollados en esta tesis mediante técnicas cromatográficas y su acoplamiento a espectrometría de masas (GC-MS, HILIC-Q MS y nano-LC-Chip-Q-ToF MS) permitieron la caracterización de los COS, algunos de ellos descritos por primera vez, así como llevar a cabo un estudio exhaustivo de su evolución durante diferentes etapas de lactación.

Por otro lado, en esta tesis también se ha evaluado el uso de datos cromatográficos (basados en el empleo de columnas de HILIC y PGC) y espectrométricos ( $MS^n$ ) de disacáridos para establecer nuevos criterios para la caracterización tentativa de estructuras

más complejas, como son los trisacáridos. Además, se ha desarrollado por primera vez un método mediante cromatografía bidimensional completa (LC×LC) para el análisis de mezclas complejas de carbohidratos bioactivos, cuya resolución no era posible en una dimensión. Los resultados obtenidos abren una nueva y prometedora vía de investigación para futuras aplicaciones en este campo.

De manera genérica, se puede afirmar que los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral suponen una contribución destacable en el estudio de carbohidratos bioactivos, proponiendo soluciones a diversas problemáticas existentes, tanto en la etapa de preparación de muestra como en el análisis mediante el uso de técnicas cromatográficas y espectrométricas.