

Estudo da ionização de microcistinas em análises por ESI-MS/MS

Nathália F. Finazzi-Porto* (IC), André F. Rodrigues-Oliveira (IC), Diogo Oliveira-Silva (PQ)

nathalia.fischer@unifesp.br

Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas; Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema

Palavras Chave: microcistinas, cianotoxinas, cianobactérias, ionização, ESI-MS/MS.

Introdução

As cianobactérias são organismos fotoautotróficos com grande versatilidade metabólica, o que ocasiona a síntese de uma diversidade de metabólitos secundários, como as cianotoxinas. O crescimento dessas bactérias é favorecido por uma grande oferta de nutrientes, chamada eutrofização.¹ Esse crescimento massivo, chamado de floração, ocasiona um aumento da concentração de cianotoxinas no meio. Dentre estas toxinas, encontram-se as Microcistinas (MC), que são heptapeptídeos cíclicos e agem como hepatotoxinas através da reação irreversível de fosfatases com sua porção Mdha.² Na estrutura das MC (figura 1), os aminoácidos encontrados nas posições 2 e 4 são variáveis e compõem a nomenclatura. Em conjunto com outras substituições menos comuns, estas modificações resultam em um grande número de variantes estruturais (acima de 80 MC descritas).³

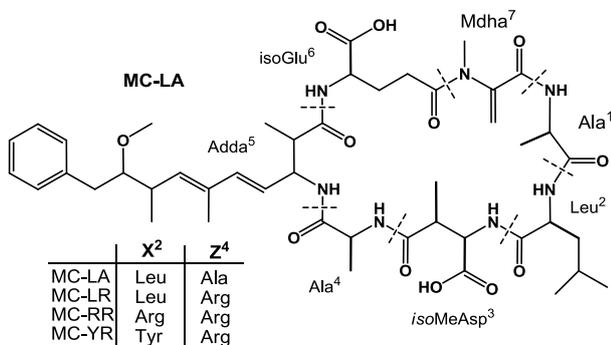


Figura 1. Estrutura geral das microcistinas.

A técnica de escolha para determinação das MC é LC-ESI-MS/MS, porém ainda não há consenso entre os métodos, uma vez que são descritos protocolos com eluentes constituídos de MeOH, ACN, THF e diferentes aditivos (formiato de amônio, TFA, ácido fórmico e ácido acético).⁴

Neste trabalho apresentamos os resultados iniciais de um estudo sistemático da ionização das MC-LR, MC-RR e MC-YR em diferentes condições de eluição.

Resultados e Discussão

A influência da composição da fase móvel na sensibilidade das análises por ESI-MS vem sendo

estudada há algum tempo, tanto pela dessolvatação,⁵ quanto pela ionização.⁶

Visando um melhor entendimento sobre a ionização das MC e permitindo a escolha de uma fase estacionária compatível, as MC (LR, RR e YR) foram extraídas de florações da Represa Billings e analisadas por ID-ESI(+)-MS/MS (modo SRM) com diferentes eluentes.

Os gráficos abaixo mostram os resultados de intensidade absoluta das MC eluídas com ACN/H₂O (1:1, v/v) na presença de ácido acético e ácido fórmico em diferentes concentrações (Figura 2).

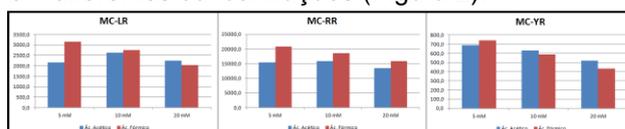


Figura 2. Ionização das MC com ácido acético e ácido fórmico.

Os experimentos revelaram que 5 mM de ácido fórmico na fase aquosa (conc. final 2,5 mM) resultaram os sinais mais intensos. Embora seja muito eficiente na separação cromatográfica, os testes usando TFA não apresentaram ionização significativa. Nos resultados adicionando MeOH e formiato de amônio é possível comparar as melhores condições de ionização e verificar quais condizem com as condições cromatográficas de maior resolução.

Conclusões

Os resultados atuais permitem afirmar que é possível aperfeiçoar as condições cromatográficas sem comprometer a sensibilidade dos métodos de quantificação de microcistinas.

Agradecimentos

Shimadzu do Brasil.

¹ Welker, M. et al. *Fems Microb. Rev.* **2006**, *30*, 530. ² Dittmann, E. et al. *Mol. Nutr. Food Res.* **2006**, *50*, 7. ³ Dorr, F.A. et al. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2011**, *25*, 1981. ⁴ (a) Pavagadhi, S. et al. *Environ. Sci. Technol.* **2013**, *47*, 14376. (b) Wang, L. et al. *Ecotoxicology* **2013**, *22*, 1555. (c) Miles, C. O. et al. *Toxicol.* **2013**, *70*, 21. (d) Ríos, V. et al. *Food Chem. Toxicol.* **2013**, *57*, 170. ⁵ Kostianen, R. et al. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1996**, *10*, 1393. ⁶ Apffel, A. et al. *J. Chromatogr. A* **1995**, *712*, 177.