

Identificação de microcistinas diretamente nas células de cianobactérias por Espectrometria de Massas

Marina F. Giubbina (IC), José D. G. Neto (IC), Janine M. Bellicanta (IC), Cíntia D. F. Milagre (PQ), Humberto M. S. Milagre (PQ)*

hmilagre@rc.unesp.br

Departamento de Bioquímica e Microbiologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus Rio Claro, Av. 24A, 1515, 13506-900, Rio Claro, SP.

Palavras Chave: Espectrometria de Massas, MALDI-TOF, Cianobactérias, Microcistinas.

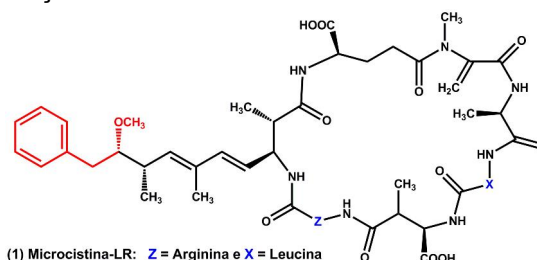
Introdução

As microcistinas são um grupo de heptapeptídeos tóxicos produzidos durante as florações de cianobactérias.¹ Essas florações tóxicas são um problema de saúde pública pois podem provocar intoxicações e mortes de animais domésticos, silvestres e de seres humanos, principalmente quando o corpo d'água contaminado é um reservatório para captação de água. O objetivo deste trabalho é identificar e caracterizar microcistinas diretamente nas células íntegras de cianobactérias por Espectrometria de Massas (MALDI-TOF)

Resultados e Discussão

Dez amostras de água (HM-1 a HM-10) foram coletadas pelo Departamento de Análises Ambientais da CETESB – São Paulo durante florações de cianobactérias nas Represas Billings e Guarapiranga. As análises foram realizadas com as células íntegras das cianobactérias eliminando a necessidade de extração do analito. A primeira etapa do trabalho consistiu de uma avaliação da matriz ideal para as análises, onde foram testados os ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico, ácido gentísico, ácido sinapínico e ácido ferúlico. As análises realizadas com as matrizes ácido gentísico, ácido sinapínico e ácido ferúlico detectaram apenas os lipídeos presentes na parede celular para todas as amostras. A detecção dos lipídeos já era esperada, pois durante o processo de ionização a parede celular das microcistinas é rompida pelo laser. Porém, nas análises utilizando a matriz ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico além dos lipídeos foram observadas as microcistinas LR (1) e YR (2) para as amostras HM-3 e HM-8, respectivamente (Figura 1). O espectro de massas (Figura 2) da amostra HM-3 que contém as cianobactérias do gênero *Microcistis* e *Planktothrix* apresentou o íon m/z 995 relativo ao íon $[M + H]^+$ da microcistina-LR (1). A identificação e caracterização desta microcistina foi comprovada pelos valores de massas de alta resolução e pela presença dos íons m/z 967 e m/z 861 relativos a $[M + H - CO]^+$ e $[M + H - 135]^+$, respectivamente. O íon

de m/z 861 é formado a partir da perda do fragmento neutro, destacado em vermelho na Figura 1, característico do aminoácido não proteinogênico ADDA. Na amostra HM-8 contendo as cianobactérias do gênero *Planktothrix* e *Pseudoanabaema* foram identificados a presença de lipídeos e do íon m/z 1045 relativo ao íon $[M + H]^+$ da microcistina YR (2) por massas de alta resolução.



(1) Microcistina-LR: Z = Arginina e X = Leucina
(2) Microcistina-YR: Z = Arginina e X = Tirosina

Figura 1. Estrutura das microcistina-LR (1) e YR (2).

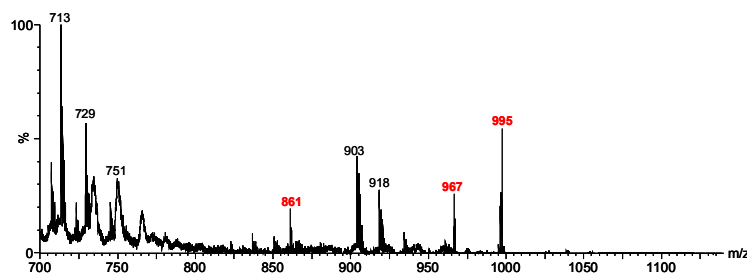


Figura 2. Espectro de massas por MALDI-(+)-TOF da microcistina-LR.

Conclusões

A técnica de MALDI-TOF se mostrou eficiente na detecção, identificação e caracterização de microcistinas diretamente nas células bacterianas eliminando a etapa de extração dos mesmos.

Agradecimentos

CETESB e Laboratório ThoMSon de Espectrometria de Massas – UNICAMP.

¹ van Apeldoorn, M. E.; van Egmond, H. P.; Speijers, G. J. A.; Bakker, G. J. I. *Mol. Nutr. Food Res.* **2007**, *51*, 7-60.