

“Improvements in Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry methods for the determination of legislated and emerging marine toxins in the Northwest Mediterranean coast”

Autor: **María García-Altres Pérez**

Directores: Pablo de la Iglesia y Jorge Diogène
Universitat Rovira i Virgili (Facultad de Química)
27 de abril de 2015



Resumen

El objetivo de esta Tesis es mejorar la aplicación de métodos de cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) para el estudio de toxinas lipofílicas y emergentes producidas por microalgas en un ecosistema litoral mediterráneo (Delta del Ebro, NO Mar Mediterráneo). El primer capítulo describe la evaluación de diferentes condiciones para implementar el método de control de referencia de toxinas lipofílicas en bivalvos, para mejorar el rendimiento del método y cumplir con los requerimientos legales. Este método se aplicó al estudio de una floración de *Dinophysis sacculus* en la bahía de Alfacs, considerando diferentes aproximaciones para caracterizar el riesgo: análisis de toxinas en microalgas, disueltas en agua, y en bivalvos. Los perfiles toxínicos de *D. sacculus* sólo presentaron ácido okadaico y pectenotoxina-2 (la más abundante). El contenido de toxina total por célula se incrementó hacia el final de la floración, coincidiendo con la máxima concentración de ácido okadaico en mejillones (hasta 3,7 veces el máximo permitido en Europa), la concentración de pectenotoxinas fue menor. Las ostras no acumularon toxinas por encima del nivel permitido. El método LC-MS permitió la detección de pinatoxina-g (primera detección en España) y espirólido-1 (toxinas emergentes), confirmadas inequívocamente mediante MS de alta resolución, en concentraciones bajas en bivalvos y muestreadores pasivos. No se detectaron metabolitos acilados de pinatoxinas, y los falsos positivos se descartaron con información ortogonal. Las toxinas emergentes “palitoxinas” también se investigaron, y se descubrieron dos nuevas palitoxinas en cultivos de nuevas cepas de *Ostreopsis cf. ovata* de Cataluña: ovatoxina-g (46-dehidroxi ovatoxina-a) y un isómero de la palitoxina (anteriormente “palitoxina putativa”), igual que la palitoxina pero hidroxilada en C42 y entre el extremo A y C8, y dehidroxilada en C17 y probablemente en C64. Los perfiles toxínicos contenían ovatoxinas-a,-b,-c,-d y -e, con concentraciones por célula mayores que las de otras cepas mediterráneas.