

## LC-MS/MS测定植物样本中的SQDG, DGDG和MGDG

### Detection of SQDG, DGDG and MGDG in Plants on LC-MS/MS

刘婷

SCIEX, 亚太应用支持中心, 中国

**Key words:** LC/MS, MRM, SQDG, DGDG, MGDG

甘油糖脂是植物光合膜脂的主要成分, 在影响光合作用的效率、帮助植物体适应生态条件的改变等方面起着非常重要的作用, 糖脂及其降解产物在抗肿瘤活性及影响细胞凋亡、分化、衰老等方面的研究现在也越来越深入, 所以研究植物膜糖脂具有十分重要的意义。

甘油糖脂包括 SQDG (sulfoquinovosyldiacylglycerol), DGDG (digalactosyldiacylglycerol) 和 MGDG (monogalactosyldiacylglycerol)。本文根据 SQDG, DGDG 和 MGDG 标准品, 通过解析其 MS/MS 断裂规律, 总结碎片离子; 然后摸索其 CE, DP, CXP 等质谱参数; 根据断裂规律和质谱参数, 建立测定 SQDG, DGDG 和 MGDG 脂族的 MRM 方法。本方法灵敏度高, 重现性好, 可直接转移方法到 SCIEX Triple Quad 5500, Triple Quad 6500 和 QTRAP® 5500 和 QTRAP® 6500 仪器上, 进行甘油糖脂的定性定量测定。

#### 标准品配置

使用甲醇:二氯甲烷 (1:1, v/v, 包含 5 mM 醋酸铵) 溶液稀释标准品 (Avanti Polar Lipids, Inc.) 到 100 ng/mL。

#### 样品前处理

使用 Bligh and Dyer (1959) Protocol 处理植物叶片样本, 样品最后复溶在甲醇:二氯甲烷 (1:1, v/v) 溶液中。上样前, 注意样品浓度, 如果预测试结果, 甘油糖脂过饱和, 请使用甲醇:二氯甲烷 (1:1, v/v) 溶液稀释合适倍数再进样。

#### 仪器设备

ExionLC™ + QTRAP® 5500 质谱系统



#### 液相方法

色谱柱: Eclipse Plus C18 100 × 4.6 mm, 5 μm;  
Agilent, PN: 959996-902

流动相: A相: 甲醇:乙腈:水 (2:2:1, v/v, 10 mM 醋酸铵)  
B相: 异丙醇 (10 mM 醋酸铵)

梯度洗脱:

Time (min)	Flow Rate (mL/min)	A Phase (%)	B phase (%)
0	0.6	60	40
8.5	0.6	10	90
9	0.6	5	95
10	0.6	5	95
10.5	1	60	40
14.5	1	60	40
15	0.6	60	40

柱温: 40°C;

进样量: 1 μL

#### 质谱方法

离子源: ESI 源, 正 / 负离子模式;

离子源参数:

IS 电压: 5500V/-4500V      气帘气 CUR: 35 psi  
 雾化气 GS1: 55 psi      辅助气 GS2: 55 psi  
 源温度 TEM: 550°C      碰撞气 CAD: Medium

接上表. DGDG和MGDG的正离子模式MRM质谱参数 (续)。

表1. DGDG和MGDG的正离子模式MRM质谱参数。

Q1	Q3	Dwell Time	ID	DP	EP	CE	CXP
882.6	541.5	5	DGDG 30:0	80	10	25	25
880.6	539.5	5	DGDG 30:1	80	10	25	25
878.6	537.5	5	DGDG 30:2	80	10	25	25
910.6	569.5	5	DGDG 32:0	80	10	25	25
908.6	567.5	5	DGDG 32:1	80	10	25	25
906.6	565.5	5	DGDG 32:2	80	10	25	25
938.7	597.5	5	DGDG 34:0	80	10	25	25
936.7	595.5	5	DGDG 34:1	80	10	25	25
934.6	593.5	5	DGDG 34:2	80	10	25	25
932.6	591.5	5	DGDG 34:3	80	10	25	25
930.6	589.5	5	DGDG 34:4	80	10	25	25
966.7	625.6	5	DGDG 36:0	80	10	26	25
964.7	623.6	5	DGDG 36:1	80	10	26	25
962.7	621.5	5	DGDG 36:2	80	10	26	25
960.7	619.5	5	DGDG 36:3	80	10	26	25
958.6	617.5	5	DGDG 36:4	80	10	26	25
956.6	615.5	5	DGDG 36:5	80	10	26	25
954.6	613.5	5	DGDG 36:6	80	10	26	25
992.7	651.6	5	DGDG 38:1	80	10	26	25
990.7	649.6	5	DGDG 38:2	80	10	26	25
988.7	647.6	5	DGDG 38:3	80	10	26	25
986.7	645.5	5	DGDG 38:4	80	10	26	25
984.7	643.5	5	DGDG 38:5	80	10	27	25
982.6	641.5	5	DGDG 38:6	80	10	27	25
1014.7	673.6	5	DGDG 40:4	80	10	27	25
1012.7	671.6	5	DGDG 40:5	80	10	27	25
1010.7	669.5	5	DGDG 40:6	80	10	27	25
1008.7	667.5	5	DGDG 40:7	80	10	27	25
1006.6	665.5	5	DGDG 40:8	80	10	27	25
1004.6	663.5	5	DGDG 40:9	80	10	27	25
1042.7	701.6	5	DGDG 42:4	80	10	28	25
1040.7	699.6	5	DGDG 42:5	80	10	28	25
1038.7	697.6	5	DGDG 42:6	80	10	28	25
1036.7	695.6	5	DGDG 42:7	80	10	28	25

Q1	Q3	Dwell Time	ID	DP	EP	CE	CXP
1034.7	693.5	5	DGDG 42:8	80	10	28	25
1032.7	691.5	5	DGDG 42:9	80	10	28	25
720.6	541.5	5	MGDG 30:0	80	10	19	25
718.5	539.5	5	MGDG 30:1	80	10	19	25
716.5	537.5	5	MGDG 30:2	80	10	19	25
748.6	569.5	5	MGDG 32:0	80	10	19	25
746.6	567.5	5	MGDG 32:1	80	10	19	25
744.6	565.5	5	MGDG 32:2	80	10	19	25
776.6	597.5	5	MGDG 34:0	80	10	19	25
774.6	595.5	5	MGDG 34:1	80	10	19	25
772.6	593.5	5	MGDG 34:2	80	10	19	25
770.6	591.5	5	MGDG 34:3	80	10	19	25
768.6	589.5	5	MGDG 34:4	80	10	19	25
804.7	625.6	5	MGDG 36:0	80	10	20	25
802.6	623.6	5	MGDG 36:1	80	10	20	25
800.6	621.5	5	MGDG 36:2	80	10	20	25
798.6	619.5	5	MGDG 36:3	80	10	20	25
796.6	617.5	5	MGDG 36:4	80	10	20	25
794.6	615.5	5	MGDG 36:5	80	10	20	25
792.6	613.5	5	MGDG 36:6	80	10	20	25
830.7	651.6	5	MGDG 38:1	80	10	20	25
828.7	649.6	5	MGDG 38:2	80	10	20	25
826.6	647.6	5	MGDG 38:3	80	10	20	25
824.6	645.5	5	MGDG 38:4	80	10	20	25
822.6	643.5	5	MGDG 38:5	80	10	20	25
820.6	641.5	5	MGDG 38:6	80	10	20	25
852.7	673.6	5	MGDG 40:4	80	10	21	25
850.6	671.6	5	MGDG 40:5	80	10	21	25
848.6	669.5	5	MGDG 40:6	80	10	21	25
846.6	667.5	5	MGDG 40:7	80	10	21	25
844.6	665.5	5	MGDG 40:8	80	10	21	25
842.6	663.5	5	MGDG 40:9	80	10	21	25
880.7	701.6	5	MGDG 42:4	80	10	21	25
878.7	699.6	5	MGDG 42:5	80	10	21	25
876.7	697.6	5	MGDG 42:6	80	10	21	25
874.6	695.6	5	MGDG 42:7	80	10	21	25
872.6	693.5	5	MGDG 42:8	80	10	21	25
870.6	691.5	5	MGDG 42:9	80	10	21	25

表2. SQDG的负离子模式MRM质谱参数。

Q1	Q3	Dwell Time	ID	DP	EP	CE	CXP
765.5	225.0	5	SQDG 30:0	- 50	- 10	- 60	- 11
763.5	225.0	5	SQDG 30:1	- 50	- 10	- 60	- 11
761.5	225.0	5	SQDG 30:2	- 50	- 10	- 60	- 11
793.5	225.0	5	SQDG 32:0	- 50	- 10	- 60	- 11
791.5	225.0	5	SQDG 32:1	- 50	- 10	- 60	- 11
789.5	225.0	5	SQDG 32:2	- 50	- 10	- 60	- 11
787.5	225.0	5	SQDG 32:3	- 50	- 10	- 60	- 11
785.5	225.0	5	SQDG 32:4	- 50	- 10	- 60	- 11
819.5	225.0	5	SQDG 34:1	- 50	- 10	- 60	- 11
817.5	225.0	5	SQDG 34:2	- 50	- 10	- 60	- 11
815.5	225.0	5	SQDG 34:3	- 50	- 10	- 60	- 11
813.5	225.0	5	SQDG 34:4	- 50	- 10	- 60	- 11
811.5	225.0	5	SQDG 34:5	- 50	- 10	- 60	- 11
809.5	225.0	5	SQDG 34:6	- 50	- 10	- 60	- 11
845.5	225.0	5	SQDG 36:2	- 50	- 10	- 60	- 11
843.5	225.0	5	SQDG 36:3	- 50	- 10	- 60	- 11
841.5	225.0	5	SQDG 36:4	- 50	- 10	- 60	- 11
839.5	225.0	5	SQDG 36:5	- 50	- 10	- 60	- 11
837.5	225.0	5	SQDG 36:6	- 50	- 10	- 60	- 11
835.5	225.0	5	SQDG 36:7	- 50	- 10	- 60	- 11
875.6	225.0	5	SQDG 38:1	- 50	- 10	- 60	- 11
871.6	225.0	5	SQDG 38:3	- 50	- 10	- 60	- 11
869.5	225.0	5	SQDG 38:4	- 50	- 10	- 60	- 11
867.5	225.0	5	SQDG 38:5	- 50	- 10	- 60	- 11
865.5	225.0	5	SQDG 38:6	- 50	- 10	- 60	- 11
863.5	225.0	5	SQDG 38:7	- 50	- 10	- 60	- 11
861.5	225.0	5	SQDG 38:8	- 50	- 10	- 60	- 11
901.6	225.0	5	SQDG 40:2	- 50	- 10	- 60	- 11
899.6	225.0	5	SQDG 40:3	- 50	- 10	- 60	- 11
897.6	225.0	5	SQDG 40:4	- 50	- 10	- 60	- 11
895.6	225.0	5	SQDG 40:5	- 50	- 10	- 60	- 11
893.5	225.0	5	SQDG 40:6	- 50	- 10	- 60	- 11
891.5	225.0	5	SQDG 40:7	- 50	- 10	- 60	- 11
889.5	225.0	5	SQDG 40:8	- 50	- 10	- 60	- 11
929.6	225.0	5	SQDG 42:2	- 50	- 10	- 60	- 11
927.6	225.0	5	SQDG 42:3	- 50	- 10	- 60	- 11
925.6	225.0	5	SQDG 42:4	- 50	- 10	- 60	- 11
923.6	225.0	5	SQDG 42:5	- 50	- 10	- 60	- 11
921.6	225.0	5	SQDG 42:6	- 50	- 10	- 60	- 11
919.6	225.0	5	SQDG 42:7	- 50	- 10	- 60	- 11
917.5	225.0	5	SQDG 42:8	- 50	- 10	- 60	- 11
915.5	225	5	SQDG 42:9	- 50	- 10	- 60	- 11

## 实验过程和结果

### 1. 根据标准品，解析断裂规律，优化质谱参数，推测MRM离子对信息；

DGDG 和 MGDG 在正离子模式下，能获得较高的灵敏度，且母离子容易形成  $[M+NH_4]^+$  形式，MS/MS 碎裂中，DGDG 容易发生 341.1 的中性丢失，MGDG 容易发生 179.1 的中性丢失，见图 1。因此，可以推断出 DGDG 和 MGDG 的 MRM 的离子对信息，且质谱参数 (CE, DP, CXP) 与标准品具有相似性，见表 1。

SQDG 在负离子模式下，能获得较高的灵敏度，且母离子为  $[M-H]^-$ ，MS/MS 碎裂中，SQDG 容易产生碎片  $m/z$  225，见图 2。因此，可以推断出 SQDG 的 MRM 的离子对信息，且质谱参数 (CE, DP, CXP) 与标准品具有相似性，见表 2。

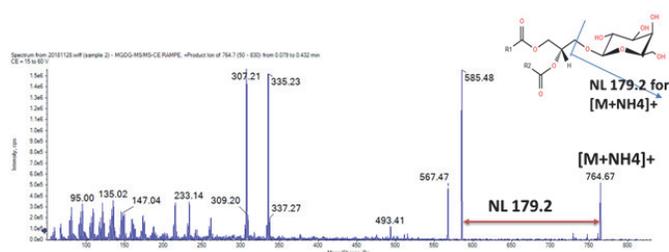


图1. MGDG MS/MS谱图。

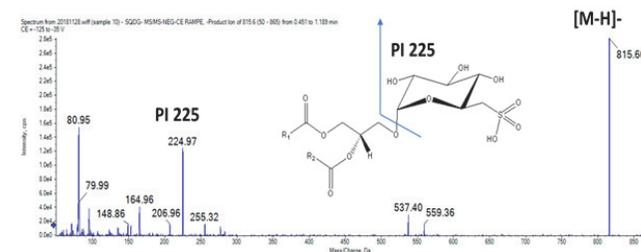


图2. SQDG MS/MS谱图。

### 2. 植物样本测定结果：

SQDG, DGDG 和 MGDG 出峰时间窗口分别为：3.5 min-6min, 4.5 min-7.5 min 和 5.0-8.0 min，色谱分离良好，见图 3；

以 DGDG 为例，由图 4 可以看出：DGDG 36:1 到 DGDG 36:6，随着双键的每增加 1 个不饱和度，保留时间向前移动 0.5 min。由图 5 可以看出：DGDG 32:2, DGDG 34:2 和 DGDG36:2，随着碳数的增加，保留时间向后移 0.6 min。这两条规律，可作为 DGDG 保留时间定性的一个指标。

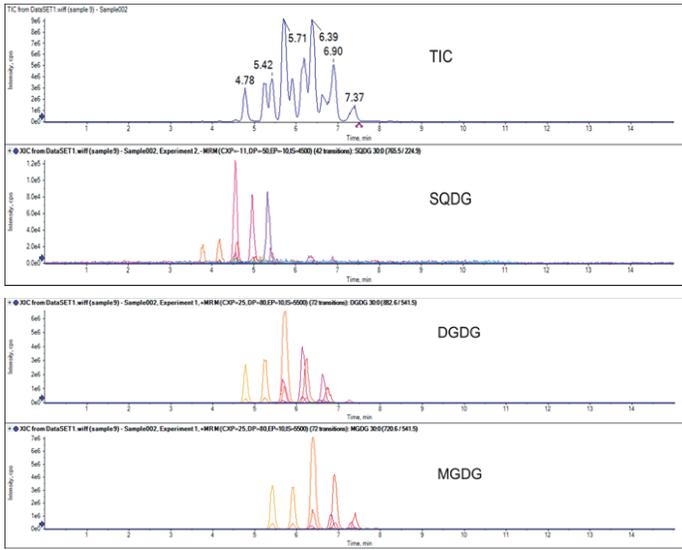


图3. TIC 和 SQDG, DGDG 和 MGDG MRM 谱图。

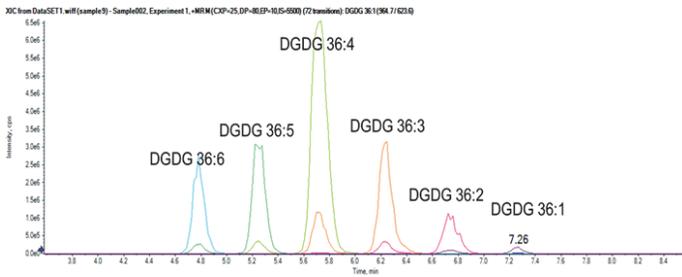


图4. DGDG 36:1 - DGDG 36:6 色谱图。

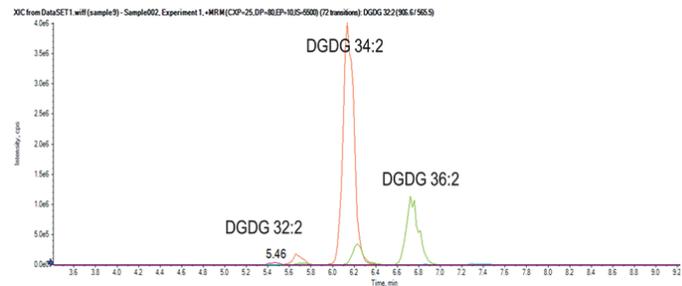


图5. DGDG 32:2, DGDG 34:2, DGDG 36:2 色谱图。

### 3. 快速定量分析

使用 MultiQuant™ (MQ) 软件快速定量分析, SQDG, DGDG 和 MGDG 峰面积结果见表 3.

表3. MQ 软件鉴定定量结果。

Index	Component Name	Area	Retention Time
1	DGDG 30:0	33849	5.9
4	DGDG 32:0	1481016	6.5
5	DGDG 32:1	154522	6.0
6	DGDG 32:2	228153	5.5
7	DGDG 34:0	201566	7.2
8	DGDG 34:1	13727619	6.6
9	DGDG 34:2	28576698	6.1
10	DGDG 34:3	11661588	5.7
11	DGDG 34:4	83525	5.1
12	DGDG 36:0	17366	7.7
13	DGDG 36:1	1129994	7.3
14	DGDG 36:2	8904793	6.7
15	DGDG 36:3	23005399	6.2
16	DGDG 36:4	58478330	5.7
17	DGDG 36:5	22962237	5.2
18	DGDG 36:6	16713875	4.8
19	DGDG 38:1	50119	7.8
20	DGDG 38:2	187718	7.3
21	DGDG 38:3	482907	6.8
22	DGDG 38:4	371716	6.4
23	DGDG 38:5	176060	5.9
24	DGDG 38:6	46378	5.4
25	DGDG 40:4	16485	7.0
26	DGDG 40:5	7253	6.5
40	MGDG 32:0	257387	7.2
41	MGDG 32:1	51655	6.7
42	MGDG 32:2	60341	6.1
43	MGDG 34:0	30117	7.8
44	MGDG 34:1	3403694	7.3
45	MGDG 34:2	7665953	6.8
46	MGDG 34:3	1810403	6.4
47	MGDG 34:4	118474	5.8
49	MGDG 36:1	216724	7.9
50	MGDG 36:2	7568984	7.4
51	MGDG 36:3	31031584	6.9
52	MGDG 36:4	60989844	6.4
53	MGDG 36:5	22164706	5.9
54	MGDG 36:6	23287012	5.4
55	MGDG 38:1	6373	8.4
56	MGDG 38:2	41489	8.0
57	MGDG 38:3	170468	7.5
58	MGDG 38:4	136503	7.0
59	MGDG 38:5	104625	6.6
60	MGDG 38:6	21323	6.1
73	SQDG 30:0	10997	4.7
76	SQDG 32:0	513234	5.3
77	SQDG 32:1	14946	4.8
81	SQDG 34:1	93639	5.4
82	SQDG 34:2	451077	5.0
83	SQDG 34:3	718967	4.6
87	SQDG 36:2	30304	5.6
88	SQDG 36:3	64624	5.0
89	SQDG 36:4	144409	4.6
90	SQDG 36:5	178698	4.2
91	SQDG 36:6	119926	3.8
92	SQDG 36:7	53368	5.2
93	SQDG 38:1	14036	5.3
101	SQDG 40:3	17584	5.0
102	SQDG 40:4	36707	4.6

## 总结

本文使用 SCIEX QTRAP® 5500 建立了 LC-MS/MS 方法测定植物样品中的甘油糖脂 ( SQDG, DGDG 和 MGDG )。方法灵敏度高, 可用于不同样本中甘油糖脂的测定。且由于 SCIEX 5500 系列和 6500 系列质谱参数的相似性, 可直接使用此方法到相应质谱进行检测。

For Research Use Only. Not for use in Diagnostics Procedures.

AB Sciex is operating as SCIEX.

© 2018. AB Sciex. The trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners. AB SCIEX™ is being used under license.

RUO-MKT-02-8897-ZH-A



### SCIEX中国公司

#### 北京分公司

地址: 北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层

电话: 010-5808 1388

传真: 010-5808 1390

全国免费垂询电话: 800 820 3488, 400 821 3897

#### 上海公司及亚太区应用支持中心

地址: 上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室

电话: 021-2419 7200

传真: 021-2419 7333

网址: [www.sciex.com.cn](http://www.sciex.com.cn)

#### 广州分公司

地址: 广州市天河区珠江江西路15号  
珠江城1907室

电话: 020-8510 0200

传真: 020-3876 0835

微博: @SCIEX