

液相色谱串联质谱法测定植物中的激素成分

Determination of Plant Hormones in Plants by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry

陈金梅, 司丹丹, 龙志敏, 郭立海

Chen Jinmei, Si Dandan, Long Zhimin, Guo Lihai

SCIEX应用支持中心, 中国

SCIEX, China

Key Words: Plant Hormones, Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry, ABA, SA, IAA, JA

3. 使用各个化合物同位素标准品作为内标, 内标法定量分析, 使用溶剂标准曲线可以对样品进行准确的含量测定。

前言

植物激素 (Phytohormone) 亦称植物天然激素或植物内源激素, 是一组天然存在的激素, 在低浓度下会影响生理过程的有机物质。它们虽然都是些简单的小分子有机化合物, 但它们的生理效应却非常复杂、多样。从影响细胞的分裂、伸长、分化到影响植物发芽、生根、开花、结实、休眠和脱落等。所以植物激素对植物的生长发育有重要的调控作用。目前用于植物激素检测的方式有放射免疫分析法、酶联免疫吸附分析法, 方法灵敏度高但特异性和准确度低; 火焰离子化法、紫外分光光度法、荧光或电化学检测灵敏度和特异性低, 无法满足植物体内植物激素水平检测需求; 气相色谱串联质谱法需要衍生化操作, 液相色谱串联质谱法具有高的灵敏度、特异性、准确性和重复性, 更适合植物体内植物激素的检测。

本文实验方法特点

本文使用液相色谱串联质谱法对脱落酸 (ABA), 水杨酸 (SA), 吲哚乙酸 (IAA) 和茉莉酸 (JA) 进行检测, 方法具有以下特点:

1. 仪器的灵敏度高, 满足植物提取液中植物激素的检测需求。
2. 仪器和方法的特异性好, 9 min的方法即可准确定量, 检测效率高。



仪器设备

液相方法

色谱柱: BEH C18 100A (100 × 3.0mm, 1.8 μm)

流动相: A相: 水 (0.001mM乙酸铵)

B相: 乙腈

流速: 0.3 ml/min

柱温: 40 °C

进样量: 2 μL

表1. 液相梯度

Time	Flow	B
0.3	0.3	5
3.5	0.3	65
4.5	0.3	65
5	0.3	95
7	0.3	95
7.1	0.3	5
9	0.3	5

质谱方法

离子源: ESI源, 负离子模式

离子源参数:

IS电压: -4500 V

气帘气 CUR: 35 psi

雾化气 GS1: 50 psi

辅助加热气 GS2: 50 psi

碰撞气 CAD: Medium

源温度 TEM: 500 °C

表2. 化合物的质谱参数

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Dwell Time (msec)	ID	DP (volts)	CE (volts)
1	263.200	153.200	50.0	ABA	-40.000	-14.000
2	269.200	156.100	50.0	ABA_D6	-40.000	-14.000
3	137.200	93.000	50.0	SA	-40.000	-23.000
4	141.100	97.000	50.0	SA_D4	-40.000	-23.000
5	174.000	130.100	50.0	IAA	-30.000	-13.000
6	176.000	132.100	50.0	IAA_D2	-30.000	-13.000
7	209.100	59.200	50.0	JA	-35.000	-15.000
8	214.100	61.000	50.0	JA_D5	-35.000	-15.000

实验结果

1. **线性范围:** 用50%甲醇逐级稀释ABA、D6-ABA、SA、D4-SA、IAA、D2-IAA、JA、D5-JA的标准工作溶液至1-200 ng/ml, 以峰面积比值对浓度做标准曲线。图2为四个化合物的线性范围、线性方程和相关系数。

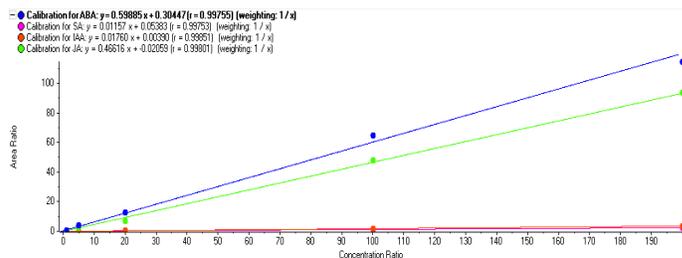


图1. 四个化合物的标准曲线

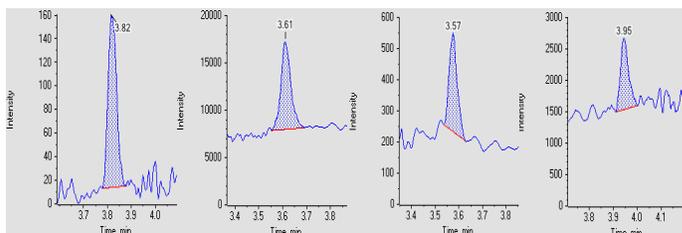


图2. LLOQ浓度下色谱图展示

2. **LLOQ的重现性:** 平行制备六份LLOQ溶液, 进样分析, 测定结果如下所示。ABA、SA、IAA、JA四个化合物LLOQ分别为0.01 ng/ml、0.1 ng/ml、0.2 ng/ml、0.1 ng/ml, 峰面积的重现性RSD%分别为7.88%、2.98%、4.94%、4.82%, 重现性好。

3. **植物提取液中植物激素的含量测定:** 使用液液萃取法对植物进行提取后上样分析, 使用内标法计算样品中含量, 结果如表3所示。

表3. 植物提取液中植物激素的含量测定结果

Sample Name	Component Name	Area	IS Area	Calculated Concentration
8	ABA	475001.6	65282.0	10.947
8	SA	626808.2	2867168.1	13.917
8	IAA	7752.5	382831.9	0.968
8	JA	54483.2	54200.9	2.121
18	ABA	697685.1	63755.8	16.518
18	SA	2402753.7	3199760.5	58.470
18	IAA	109267.5	370171.3	16.391
18	JA	132849.8	49523.3	5.883
COL_3	ABA	211546.3	54443.3	5.797
COL_3	SA	4052759.0	3658578.8	88.336
COL_3	IAA	340410.3	310947.5	61.243
COL_3	JA	569798.9	37077.2	34.335

总结

本文建立了液相色谱串联质谱法测定植物中的植物激素。方法灵敏度高，脱落酸（ABA），水杨酸（SA），吲哚乙酸（IAA）和茉莉酸（JA）四个化合物LLOQ分别为0.01 ng/ml、0.1 ng/ml、0.2 ng/ml、0.1 ng/ml，可满足植物中植物激素的检测需求。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-13364-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
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
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
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
官网：sciex.com.cn

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话：020-8510-0200
传真：020-3876-0835
官方微信：[SCIEX-China](#)