

# 三重四极杆质谱测定烟丝中的植物激素

## LCMSMS-104

**摘要：**本文建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定烟丝中吲哚乙酸 (IAA)，萘乙酸 (NAA) 和水杨酸 (SA) 3 种植物激素的方法。样品经提取、液液萃取和反萃取后，液相色谱三重四极杆质谱仪进行定量分析。3 种植物激素分别在 10~200 ng/mL, 40~800 ng/mL 浓度范围内线性良好；对 100 ng/mL 混合标准溶液连续 5 次进样，3 个化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.09~0.21% 和 0.98~1.89% 之间，仪器精密度良好；能同时分析烟草样品中的 IAA, NAA 和 SA。

**关键词：**吲哚乙酸 萘乙酸 水杨酸 烟丝 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

吲哚乙酸 (IAA)，水杨酸 (SA) 和萘乙酸 (NAA) 均属于植物生长调节剂，具有促进细胞生长或细胞分化等特点。IAA 是植物体内普遍存在的内源生长素，在较低浓度促进生长，较高浓度抑制生长。因为生长素在植物体内存在量很少，且不易保存。为了调控植物生长，通过化学合成，人们发现了生长素类似物，它们具有和生长素类似的效果且可以进行量产，如 NAA 和 SA，在植物组织培养中很是常用。而且水杨酸除了可调节植物生长发育，还作为内生信号参与植物对病原

体的抵御，当植物的一部分受到病原体感染时在其他部分产生抗性。虽然以上植物生长调节剂能显著提高烟叶的产量，但是人工合成的 SA 和 NAA 对人体和动物都有不同程度的伤害，具有致畸性和形成肿瘤潜在危险。

本文建立了 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用同时测定烟丝中吲哚乙酸，萘乙酸和水杨酸的方法，具有操作简单、快速、可靠、准确等特点，可满足烟丝中 IAA, NAA 和 SA 的检测要求。

### 实验部分

#### 1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.53 色谱工作站。

#### 1.2 分析条件

##### 液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统  
 色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS  
 3.0 mmI.D. × 75 mmL., 2.2 μm  
 流动相：A - 0.1% 甲酸水溶液；  
 B - 甲醇  
 流速：0.3 mL/min  
 进样体积：10 μL  
 柱温：40℃

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 40%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time	Module	Action	Value
12.00	Pumps	Pump B Conc.	85
15.00	Pumps	Pump B Conc.	85
15.01	Pumps	Pump B Conc.	40
18.00	Controller	Stop	

##### 质谱条件

分析仪器：LCMS-8040  
 离子源：ESI，正、负离子扫描  
 离子源接口电压：-3.5 kV  
 雾化气：氮气 3.0 L/min  
 干燥气：氮气 15 L/min  
 碰撞气：氩气  
 脱溶剂管温度：300℃  
 加热模块温度：500℃  
 扫描模式：多反应监测 (MRM)  
 驻留时间：100 ms  
 延迟时间：3 ms  
 MRM 参数：见表 2

表 2 MRM 参数

编号	英文名称	化合物名称	CAS No.	离子化方式	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	Indole-3-acetic acid	吲哚乙酸	87-51-4	ESI(+)	176.20	130.20*	-21.0	-14.0	-25.0
						103.20	-22.0	-32.0	-20.0
2	salicylic acid	水杨酸	69-72-7	ESI(-)	137.20	93.20*	10.0	15.0	16.0
						65.2	10.0	28.0	24.0
3	1-naphthylacetic acid	萘乙酸	86-87-3	ESI(-)	185.10	141.2*	13.0	8.0	24.0

\*表示定量离子

### 1.3 样品前处理方法

取 1 g 样品，液氮冷冻研磨，加 5 mL 90% 乙腈水溶液涡旋，4°C 提取过夜，离心取上清液。加少量 NaCl 促进水和乙腈分层，离心后取乙腈层，氮气吹干。加 2 mL 乙酸乙酯溶解，2 mL 50 mM NaHCO<sub>3</sub> 溶液反萃取，涡旋离心，去除有机相。加约 80 μL 甲酸调节 pH 至 2~3，5 mL 乙酸乙酯萃取，涡旋离心取有机相，氮气吹干，500 μL 40% 甲醇溶解。

## 结果讨论

### 2.1 标准样品的 MRM 色谱图

100 ng/mL 标准样品的 MRM 色谱图如图 1 所示。IAA, SA 和 NAA 的保留时间分别为 4.442, 5.690 和 8.182 min。

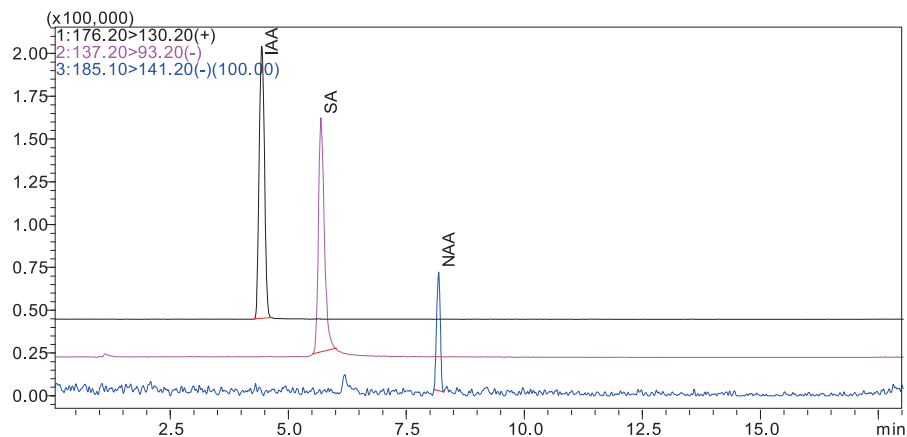


图 1 100ng/mL 标准样品 MRM 色谱图

### 2.2 线性关系

配制 5 个不同浓度的标准溶液，IAA 和 NAA 和浓度分别为 10, 20, 50, 100, 200 ng/mL, SA 的浓度为 40, 80, 200, 400, 800 ng/mL，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标制作标准曲线。具体见图 2~4。3 个化合物在检测浓度范围内线性良好。线性方程、相关系数及由软件计算得检出限和定量限见表 3。

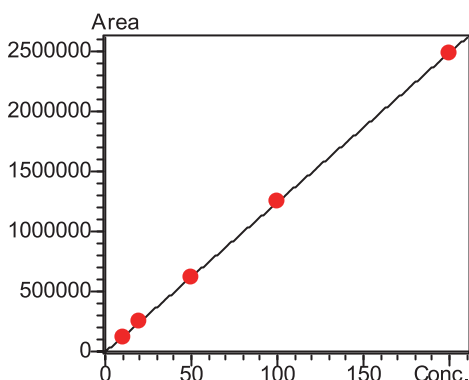


图 2 IAA 的标准工作曲线

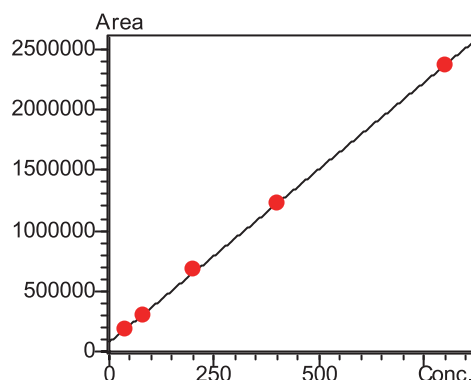


图 3 SA 的标准工作曲线

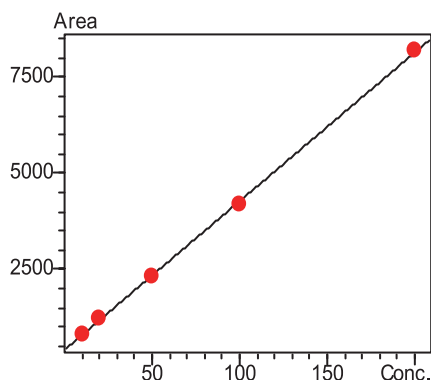


图 4 NAA 的标准工作曲线

表 3 3 种有机酸的校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	相关系数r	检出限(ng/mL)	定量限(ng/mL)
1	IAA	$Y = (12426.2)X + (-609.8)$	0.9999	0.2	0.7
2	SA	$Y = (2849.8)X + (79382.4)$	0.9997	1.2	3.6
3	NAA	$Y = (42.0)X + (-196.8)$	0.9994	10.5	31.8

### 2.3 精密度实验

对 100 ng/mL 混合标准溶液连续 5 次进样，3 个化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.09 ~0.21% 和 0.98~ 1.89% 之间，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果(n=3)

ID	IAA		SA		NAA	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	4.459	1,189,172	5.712	371,176	8.193	4,360
2	4.463	1,154,974	5.712	374,739	8.198	4,249
3	4.465	1,178,230	5.716	370,881	8.206	4,293
4	4.472	1,166,172	5.715	371,917	8.213	4,321
5	4.484	1,148,445	5.725	364,788	8.225	4,466
AVE.	4.469	1,167,399	5.716	370,700	8.207	4,338
RSD%	0.214	1.425	0.094	0.982	0.151	1.892

## 2.5 烟草样品分析

分析由湖北中烟集团提供的样品，某样品色谱图见图 5。具体检测结果见表 5。

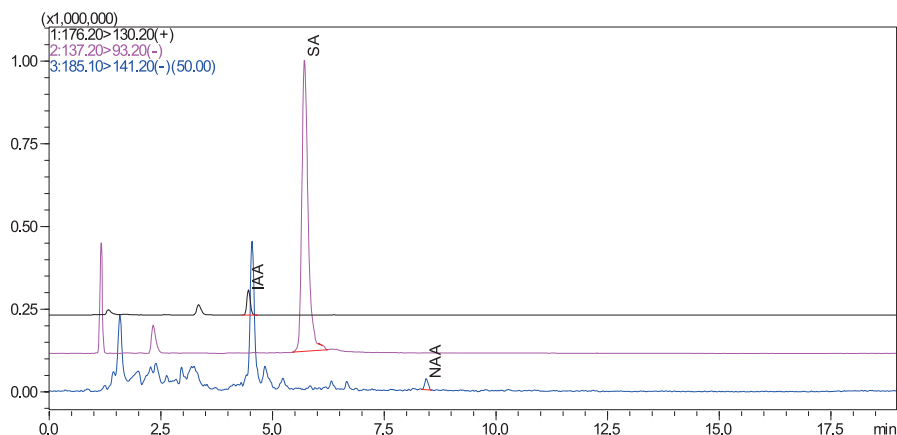


图 5 某烟草样品的色谱图

表 5 烟草样品检测结果

ID	浓度 (ng/g)		
	IAA	SA	NAA
1	16.4	1394.1	40.9
2	25.3	562.5	19.1
3	14.2	353.8	21.2

## 结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定烟丝中植物激素的方法。3 种植物激素分别在 10~200 ng/mL, 40~800 ng/mL 浓度范围内线性良好；100 ng/mL 标准溶液的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.09~0.21% 和 0.98~1.89% 之间，仪器精密度良好；在烟丝样品中可检出 IAA, NAA 和 SA。