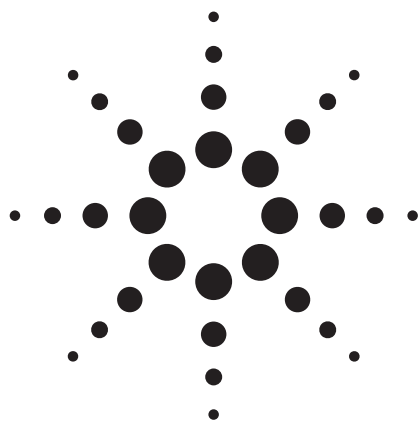




安捷伦 1290 超高压液相色谱/6460 三重串联四极杆液质联用仪用于葡萄中多种植物生长调节剂的分析

应用简报

食品安全

作者

Sunil Kulkarni

Agilent Technologies

India

Dr. Kaushik Banerjee, Sr. Scientist

NRCG

Pune, India



摘要

本应用介绍了一种高效、灵敏的三重串联四极杆液质方法，其样品前处理简单、快速和经济，此方法能检测葡萄中 12 种植物生长调节剂 (PGR)。

植物激素是一类能够调节植物生长的化学物质。其中人造的化合物，即植物生长调节剂 (PGR) 被用于调节农作物、杂草以及离体培养的植物和植物细胞的生长。合成植物生长调节剂 (PGR) 也被用于多种技术，如剪枝、嫁接和微体繁殖。

植物生长调节剂能激活细胞响应，如细胞死亡。其中某些化合物能够抑制人体癌细胞。欧盟已经列出了这些化合物，因此需要对其进行检测。



Agilent Technologies

实验

PGR 检测（正离子模式）

- 1. 矮壮素
- 2. 氘代 d4-矮壮素（内标）
- 3. 丁酰肼
- 4. 玉米素
- 5. 激动素（呋喃甲基腺嘌呤）
- 6. 吲哚醋酸
- 7. 6-苄基腺嘌呤
- 8. 吲哚丁酸 (IBA)
- 9. 氯吡脘
- 10. 多效唑

PGR 检测（负离子模式）

- 1. 赤霉素酸
- 2. 脱落酸
- 3. 2, 4-二氯苯氧基乙酸 (2, 4- D)

新方法

- 易用
耐用的超压液相色谱 (UHPLC) 方法和配置喷射流离子聚焦电喷雾源的安捷伦 6460 三重串联四极杆液质联用仪
- 样品制备
易用、快速和经济的分散 C18 固相萃取样品净化
- 可靠，耐用
方法稳定性显著改善，离子抑制效应降至最低
- 灵敏度
能检测 0.05 ppb 水平的矮壮素，具有很好的峰形和信噪比，是欧盟要求限量的百分之一（如 50 ppb）

方法和操作

利用三重串联四极杆液质联用技术进行 PGR 的分析。样品前处理只需要简单的分散 C18 固相萃取净化，即可直接分析。利用超高压液相色谱进行快速分离，采用 MRM 模式的电喷雾离子源串联质谱进行定量分析。

分析步骤

- 1. 液-液萃取，然后进行分散固相萃取净化
- 2. 样品和标样都加入氘代矮壮素（内标）

- 3. 超高压液相色谱分离，梯度洗脱
- 4. 配备喷射流离子聚焦电喷雾离子源的三重串联四极杆液质联用仪，多反应监测模式进行检测

样品前处理过程

5 克匀浆葡萄样品加入 40 mL 甲醇/水溶液(80:20)，室温下用 Rotaspin 振荡器以 50 rpm 振荡萃取 60 分钟。1 mL 上清液转移至 1.7 mL 的离心管中，14000 rpm 离心 5 分钟。0.8 mL 上清液与 200 mg C18 ODS 固相萃取吸附剂混合，涡旋振荡并离心。0.4 mL 样品溶液用甲醇定容至 1 mL，取 2 µL 进行 LC/MS/MS 分析。

液质分析方法

正离子模式下，测定 10 个 PGR 的总分析时间是 16 分钟。取 2 µL 样品萃取液进行液质分析，正离子模式的详细分析条件如下：

色谱柱	Agilent ZORBAX Extend C18 2.1 mm × 100 mm, 1.8 µm		
流速	0.2 mL/min,		
柱温	40 °C		
流动相 A	水（0.5% 甲酸）		
流动相 B	甲醇		
时间	% 流动相 A	% 流动相 B	
0	95	05	
7	10	90	
9	10	90	
12	95	05	

质谱条件

化合物名称	保留时间 (分钟)	碰撞解 离电压 (V)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
矮壮素	1.28	75	122.1	58.1	22
				63.0	22
氘代 d4-矮壮素	1.28	75	126.1	58.1	22
				67	25
丁酰肼	1.41	75	161.1	143.1	10
				61.1	10
玉米素	2.11	75	220.1	135.9	13
				148.1	13
激动素（呋喃甲基腺嘌呤）	3.81	75	216.1	81.1	17
				148.1	17
6-苄基腺嘌呤	5.31	75	226.1	91.0	19
				65.0	19
吲哚醋酸	6.01	75	176.1	130.1	6
				144.9	6
吲哚丁酸（IBA）	7.25	75	203.1	186.1	9
				168.0	9
氯吡脘	7.91	75	248.1	129.1	15
				154.9	15
多效唑	8.69	75	294.1	70.1	17
				60.2	17

正离子模式下 10 个 PGR 的分析

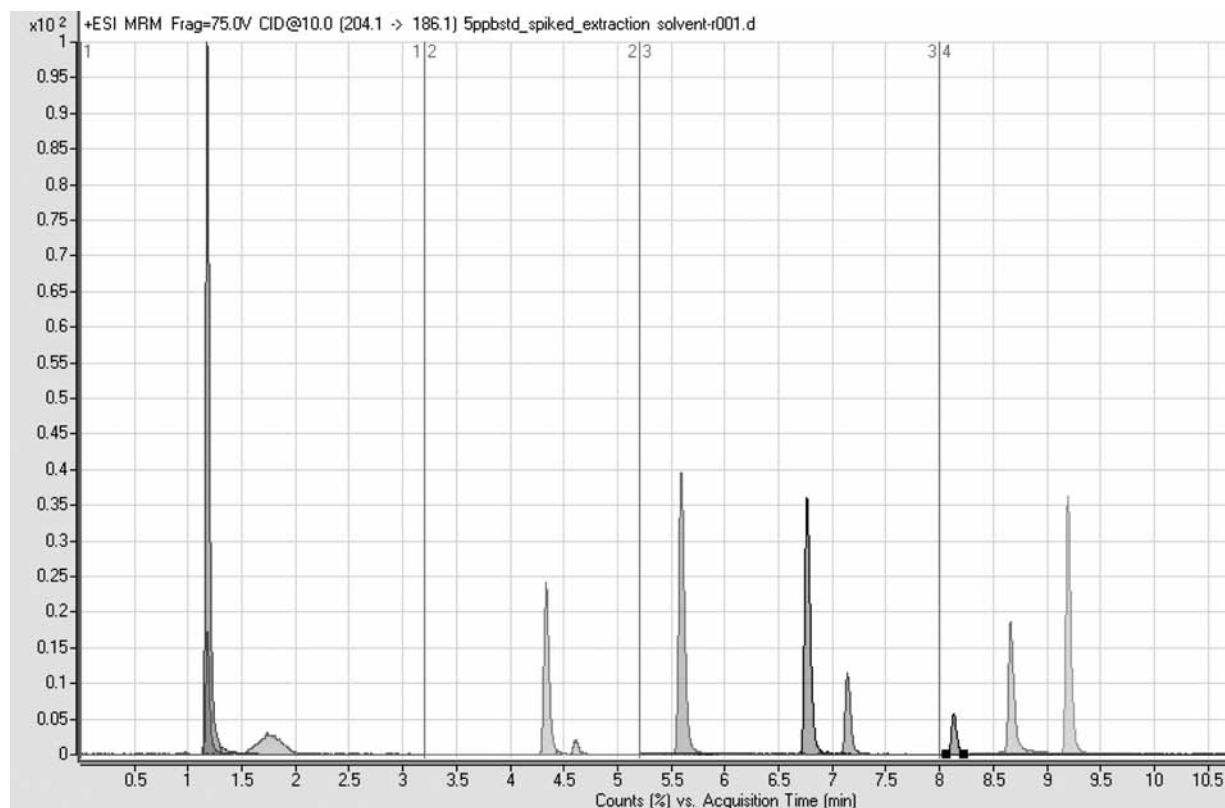


图 1. 5ppb 的 PGR 分析的典型谱图。组分流出顺序为：矮壮素、氘代 d4-矮壮素（内标）、丁酰肼、玉米素、激动素（咪唑甲基腺嘌呤）、吲哚醋酸、6-苄基腺嘌呤、吲哚丁酸(IBA)、氯吡脲和多效唑

负离子模式下测定三种 PGR 的总分析时间是 6 分钟。取 2 μ L 的样品萃取液用于液质分析。负离子模式下的详细分析参数如下：

色谱柱	Agilent ZORBAX Eclipse Plus Rapid Resolution High Definition C18 2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μ m	
流速	0.2 mL/min	
柱温	40 $^{\circ}$ C	
流动相 A	水 (0.5% 甲酸)	
流动相 B	甲醇	
时间	% 流动相 A	% 流动相 B
0	81	19
2.5	10	90
4.5	10	90
6	81	19

质谱参数

化合物名称	保留时间 (分钟)	碰撞解 离电压 (V)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
赤霉素酸	1.81	75	345.1	143.2	21
				221.2	21
脱落酸	2.41	75	263.1	152.9	11
				219.0	11
2, 4-二氯苯氧 基乙酸(2, 4- D)	2.81	75	218.9	160.9	13
				125.0	13

负离子模式下三个 PGR 的分析

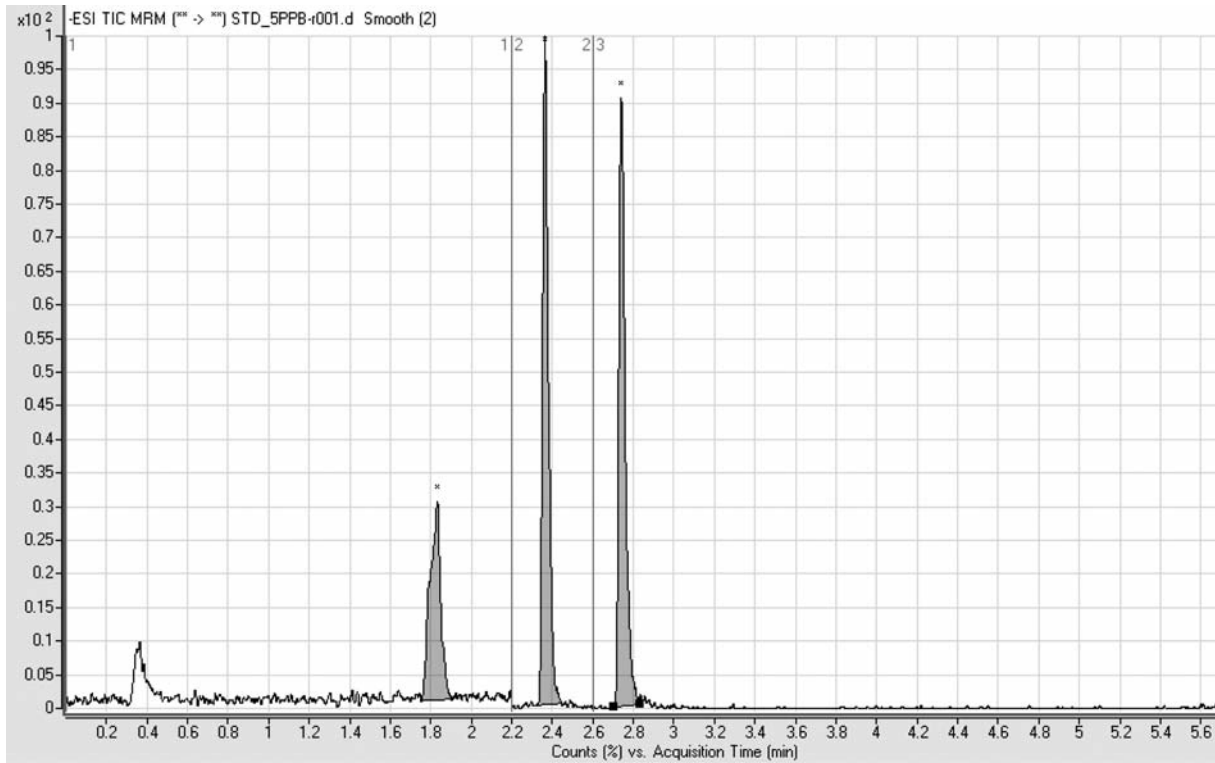


图 2. 5ppb 的三个 PGR 的典型谱图。组分流出顺序为赤霉素酸、脱落酸和 2, 4-二氯苯氧基乙酸(2, 4- D)

结果

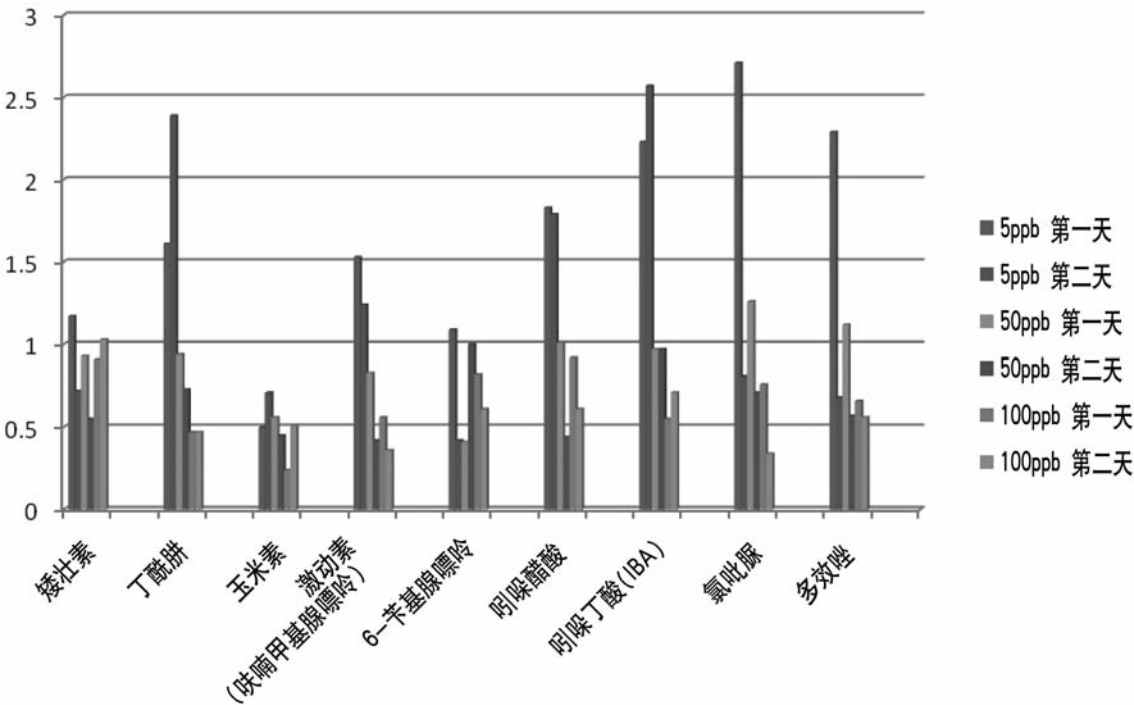


图 3. 葡萄样品添加 9 个 PGR 的重复性结果（正离子模式）

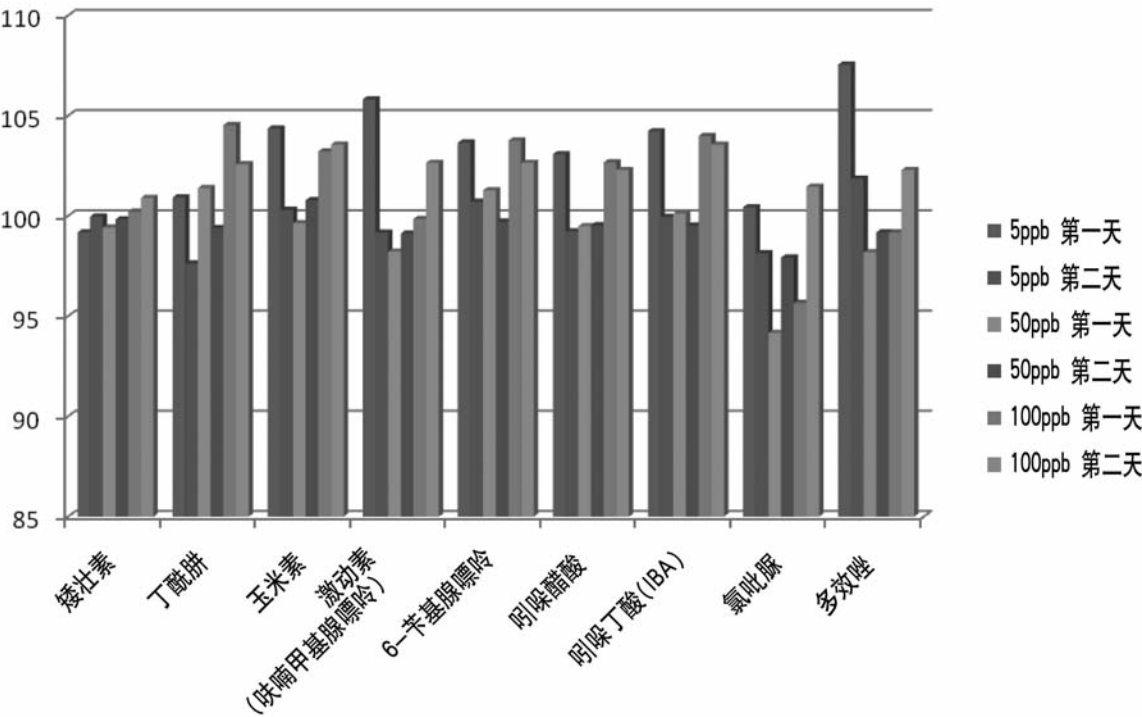


图 4. 葡萄样品添加 9 个 PGR 的回收率结果（正离子模式）

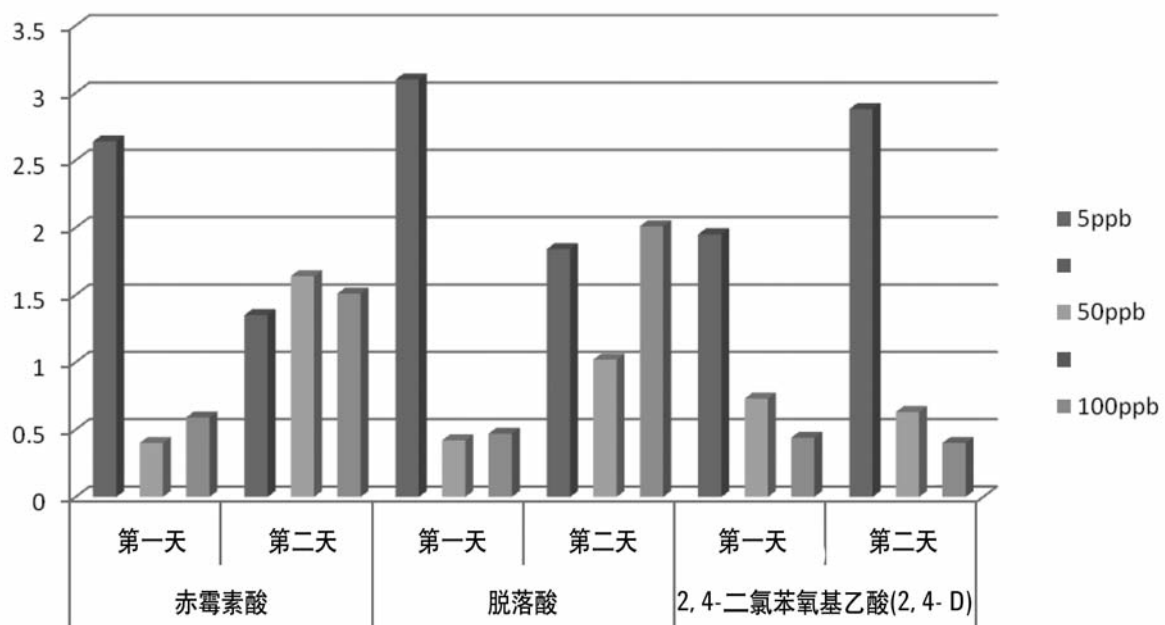


图 5. 葡萄样品添加 3 个 PGR 的重复性结果 (负离子模式)

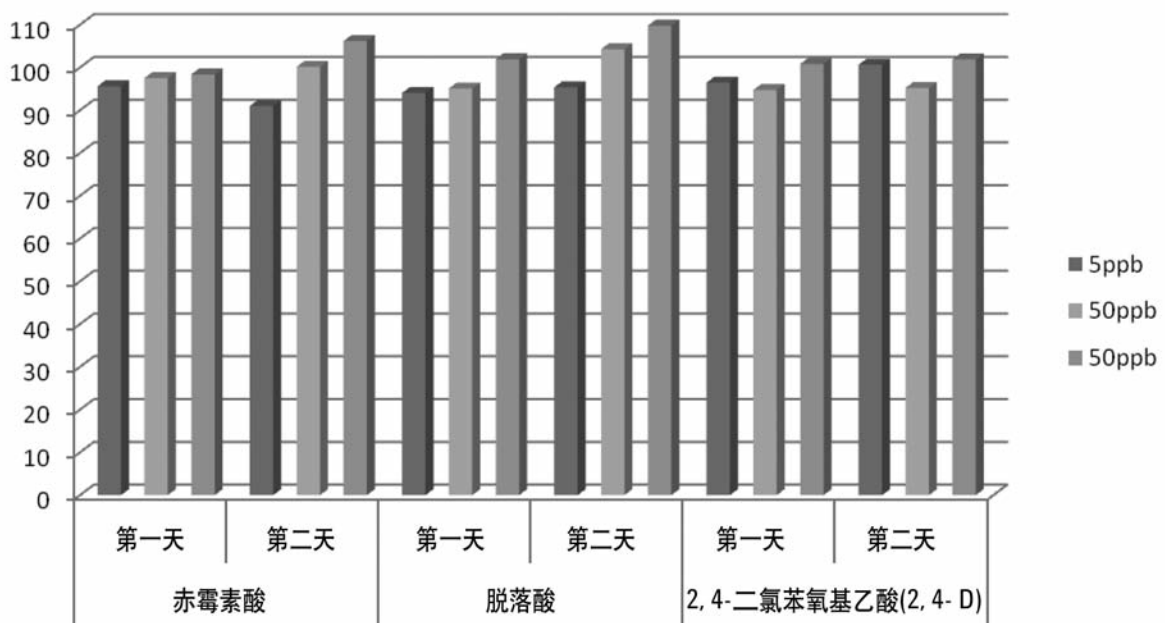


图 6. 葡萄样品添加 3 个 PGR 的回收率结果 (负离子模式)

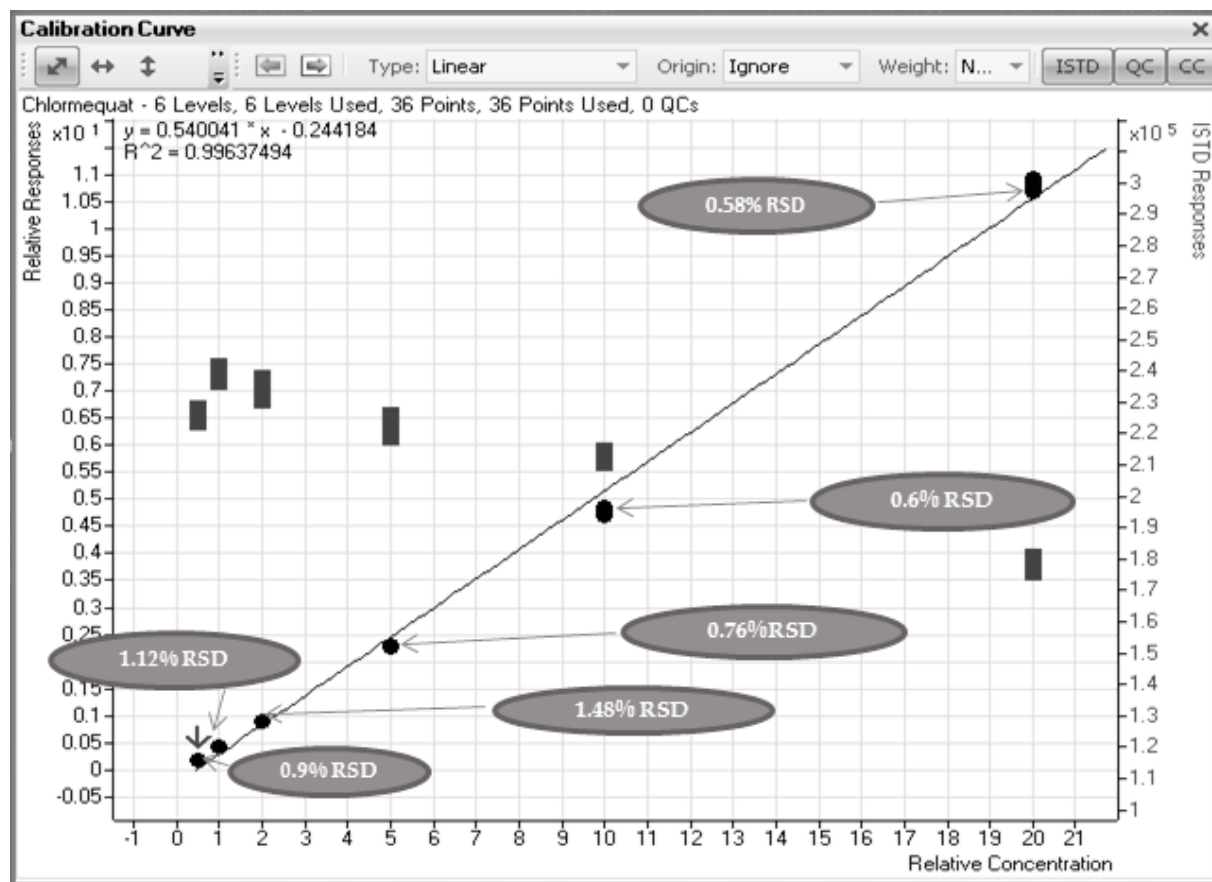


图7. 正离子模式下，矮壮素的校正曲线

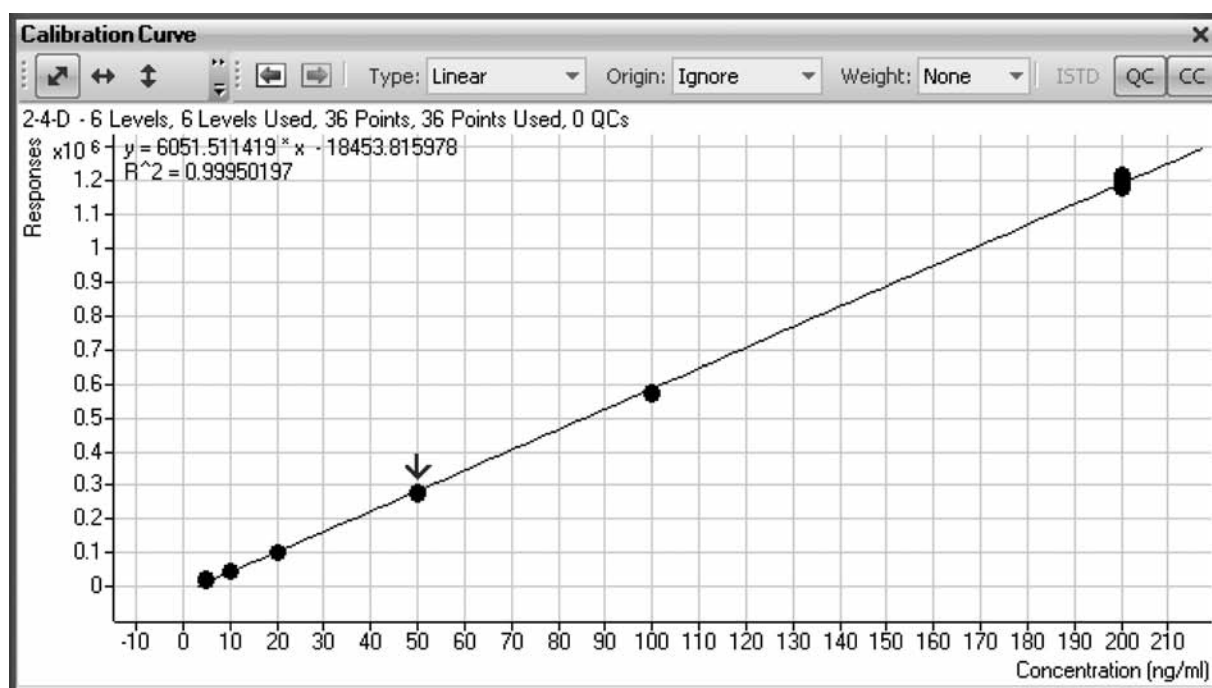


图8. 负离子模式下，2, 4-二氯苯氧基乙酸(2, 4-D)的校正曲线

结论

采用安捷伦 1290 超高压液相色谱和配备喷射流离子聚焦电喷雾离子源的 6460 三重串联四极杆液质联用仪,以及分散 C18 ODS 固相萃取净化对葡萄中的多种植物生长调节剂进行了定量分析。结果具有优异的灵敏度、线性和回收率。

致谢

葡萄样品由印度普纳国家葡萄研究中心提供,本研究与国家研究中心的高级化学家 Kaushik Banerjee 博士合作进行。

参考文献

1. Peter Stone, Yang Chen and Jack Cappozzo, “三重串联四极杆液质联用仪用于食品中黄曲霉素 B1, B2, G1 和 G2 的高灵敏度检测”, 5990-6894CHCN, 2010

更多信息

有关产品和服务的更多信息, 请访问
www.agilent.com/chem/cn

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦不对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失承担任何责任。

本文中的信息、描述和指标如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2011
2011 年 5 月 11 日, 中国印刷
5990-6893CHCN



Agilent Technologies