

# 液相色谱法测定花生酱中植物生长调节剂

韩朝家, 周建科\*, 唐翠苓

(河北大学理化分析中心, 河北省分析科学技术重点实验室, 河北 保定 071002)

**摘要:** 采用固相分散萃取-高效液相色谱法同时测定花生酱中的吲哚乙酸(IAA)、吲哚丁酸(IBA)和 $\alpha$ -萘乙酸(NAA)三种植物生长调节剂。无水硫酸钠作分散剂、甲醇作萃取剂。色谱条件:Diamonsil C18柱; 甲醇-水(55:45, V/V, 甲酸调PH=3.0)为流动相; 流速:1.0 mL/min; 检测波长:272 nm。在0.50~100  $\mu$ g/mL范围内线性良好。方法检出限均为1.25  $\mu$ g/g, 平均回收率为98.97%、86.41%和84.24%, 相对标准偏差为2.23%、1.75%和1.90%。

**关键词:** 固相分散萃取; 高效液相色谱法; 植物生长调节剂

中图分类号:0657.72 文献标识码:A 文章编号:1009-8143(2012)01-0020-04

## Determination of plant growth regulators in peanut butter by liquid chromatography

Han Chao-jia, Zhou Jian-ke\*, Tang Cui-ling

(Research Center of Physics and Chemistry Analysis, Key Laboratory of Analytical Science and Technology of Hebei Province, Hebei University, Baoding 071002, China)

**Abstract:** The method was established for the separation and determination of three kinds of plant growth regulators—3-indolylacetic acid (IAA), 3-indolylbutyric acid (IBA) and 1-naphthylacetic acid (NAA) in peanut butter by solid-phase dispersive extraction with high performance liquid chromatography (HPLC). Anhydrous sodium sulfate was used as dispersant and methyl alcohol as extractive agent. The three components were separated by Diamonsil C18 column at the wavelength of 272 nm. The mobile phase was the mixture of methanol and water (55:45, V/V, the PH was adjusted by methanoic acid until it was three) with the flow rate of 1.0 mL/min. The linear ranges were 0.50~100  $\mu$ g/mL with correlation coefficient greater than 0.9999. The determination limits were all 1.25  $\mu$ g/g with the average recoveries of 98.97%, 86.41% and 84.24%. The relative standard deviations were 2.23%, 1.75% and 1.90% respectively.

**Keywords:** solid phase dispersive extraction; high performance liquid chromatography; plant growth regulators

植物生长调节剂是一类调节和控制植物生长发育的物质。随着科学技术和农业的发展,运用植物生长调节剂调控植物的生长发育和产量形成已逐渐成为农业生产中的重要措施<sup>[1]</sup>。植物生长调节剂作为一类农药,滥用会对人体健康造成一定危害。因此对食品中这类物质的残留检测很有必要。

有关植物生长调节剂的检测主要有光谱法<sup>[2-4]</sup>、毛细管电泳法<sup>[5,6]</sup>、离子色谱法<sup>[7]</sup>、气相色谱法<sup>[8]</sup>和液相色谱法<sup>[9-12]</sup>,目前最常用的是高效液相色谱法。有关花生酱中这类植物生长调节剂的检测尚未见报道。

本实验采用固相分散萃取技术处理样品,高效液相色谱法同时测定花生酱中的吲哚乙酸、吲哚丁酸和 $\alpha$ -萘乙酸,结果令人满意。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

岛津 LC-6A 高压输液泵;7125 型手动进样阀;LINEAR 200 紫外检测器;N2000 色谱工作站(浙江大学智能信息工程研究所);旋涡混合器。

收稿日期:2011-11-2

作者简介:韩朝家(1986-),女,在读硕士研究生。研究方向:色谱分离分析。

\* 通讯联系人:周建科,研究员,硕士生导师。E-mail:zhoujianke@yahoo.com.cn

吲哚乙酸(中国福山生化试剂厂);吲哚丁酸(天津市大茂化学试剂厂); $\alpha$ -萘乙酸(天津南开化工厂);甲醇为色谱纯;无水硫酸钠为分析纯(300℃马弗炉烘烤2小时密封备用);二次蒸馏水;花生酱购自当地超市。

## 1.2 色谱条件

色谱柱:Diamondsil C18柱(250×4.6mm,5 $\mu$ m);柱温:室温;流动相:甲醇-水(体积比55:45,甲酸调PH=3.0);流速:1.0mL/min;检测波长:272nm;进样量:10.0 $\mu$ L。采用色谱峰保留时间定性,外标法峰面积定量。

## 1.3 标准溶液配制

准确称取吲哚乙酸、吲哚丁酸和 $\alpha$ -萘乙酸标准品各2.0mg,用甲醇溶解并定容至2mL的具塞锥形刻度管中,配成质量浓度均为1mg/mL的标准储备液。用甲醇逐级稀释标准储备液,配制系列工作溶液,4℃冰箱存放。

## 1.4 样品预处理

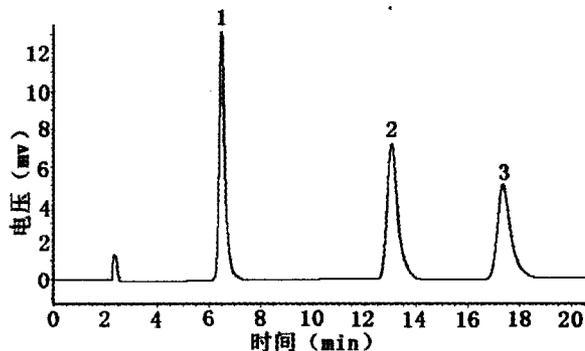
准确称取1.0g花生酱和3.5g无水硫酸钠,于微型研钵中混合研磨,使花生酱充分脱水并分散均匀。将研磨好的混合物转入离心管中,加入5mL石油醚,充分摇匀后于离心机离心3min(3000r/min),弃去上层醚相。剩余残渣依次用4.0、2.0、2.0mL甲醇按上述方法萃取,合并三次萃取液于10mL具塞锥形刻度管中,用甲醇定容至10.0mL,混匀。准确移取2mL于2.0mL锥形刻度管中,用微氮气流吹至0.5mL,经0.45 $\mu$ m微孔滤膜过滤,取10 $\mu$ L进样分析。

# 2 结果与讨论

## 2.1 检测波长和流动相

考察了210~280nm范围内三组份的响应情况,在272nm处三组份有较强吸收,灵敏度较高且基线噪音较小,故选272nm作为最佳检测波长。本实验仅用甲醇-水做流动相时,色谱峰拖尾严重,峰形极差。实验表明甲酸可以抑制组份的离解,改善峰形及拖尾现象,在PH=2.5~4.0范围内对色谱分离情况进行了考察。结果表明流动相PH值小于3时,三组份不能完全分开,PH值大于3时,开始出现峰形拖尾现象,故调节PH为3。调节酸度后,甲醇-水体积比大于55:45时,三组份虽能分开,但在实际样

品测定过程中有杂质峰干扰;随着甲醇量的减少,保留时间迅速增加;甲醇-水体积比为55:45时,三组份能完全分开,无干扰峰且保留时间较短。故选择甲醇-水体积比为55:45、甲酸调PH=3.0为流动相,既能保证三组份色谱峰完全分开,又能有效除去拖尾现象。在此条件下,标准品色谱图见图1。



1-吲哚乙酸,2-吲哚丁酸,3- $\alpha$ -萘乙酸

图1 标准品色谱图

Fig1. Chromatogram of standers

## 2.2 分散剂的选择

固相分散萃取中分散剂多用无水硫酸钠、硅胶、氧化铝、弗洛里硅土等处理样品。本实验考察了无水硫酸钠,无水硫酸钠+硅胶、无水硫酸钠+氧化铝、无水硫酸钠+弗洛里西土四种方法对样品的分散能力和对回收率的影响情况。结果表明后三种方法回收率低;无水硫酸钠作为分散剂和脱水剂,可以起到破坏细胞结构、分散样品以及脱水的作用,且无杂质峰干扰,回收率较高。故本实验采用无水硫酸钠做分散剂。

当样品量是1g时,考察了加入2.5~4.5g无水硫酸钠作为分散剂时样品的分散、脱水情况。结果表明,当加入量为小于3.5g时,样品不能被很好干燥;大于3.5g时,明显有无水硫酸钠剩余且回收率降低;加入量为3.5g时,样品恰好干燥充分、分散均匀。故选择分散剂的量为3.5g。

## 2.3 萃取剂体积及萃取次数选择

吲哚乙酸、吲哚丁酸和 $\alpha$ -萘乙酸三组份在甲醇中有较大的溶解度且无杂质峰干扰,故采用甲醇为萃取剂。考察了6~10mL的一系列萃取剂体积对回收率的影响。如图2所示,当甲醇体积为8mL时,回收率最高,故选择8mL作为最佳萃取剂体积。

8mL甲醇作为萃取剂时,不同萃取次数对回收率的影响情况如表1所示,总体积一定时分三次萃

取的回收率明显高于另外两种萃取方法,故采用8ml 甲醇分三次萃取。

#### 2.4 线性方程及检出限

移取系列标准工作液,在所选的色谱条件下,以Y(峰面积)对X(质量浓度)绘制工作曲线,三组份在0.50~100 $\mu$ g/mL范围内线性良好,其线性方程、相关系数及方法检出限见表2。

#### 2.5 加标回收率和精密度

在最佳条件下,考察了吡啶乙酸、吡啶丁酸和 $\alpha$ -萘乙酸在花生酱样品中的加标回收率,实验结果见表3,样品加标色谱图见图2。

#### 2.6 样品测定

在优化的色谱条件下,对市售花生酱样品进行了测定,三组份未被检出。样品色谱图见图3。

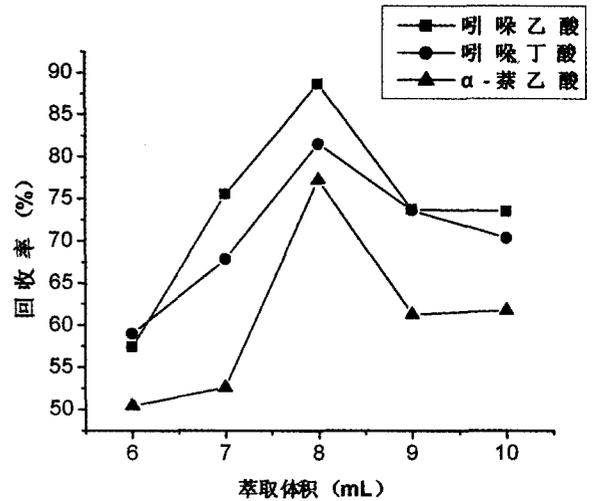


图2 萃取剂体积对回收率的影响

Fig2. Effect of extractant volume on recovery

表1 萃取次数对回收率的影响

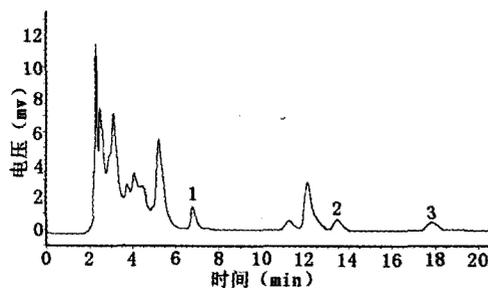
Tab1. Effect of extracting times on recovery

组分	加标回收率(%)		
	萃取1次(8)mL	萃取2次(5+3)mL	萃取3次(4+2+2)mL
吡啶乙酸	88.68	91.55	93.59
吡啶丁酸	81.56	84.02	85.49
$\alpha$ -萘乙酸	77.24	80.60	81.84

表2 线性方程及检出限

Tab2. Liner equations and detection limits

组分	本底值(mg/kg)	加入量(mg/kg)	回收率(%)	RSD(%)
吡啶乙酸	0	6.25	98.97	2.23
吡啶丁酸	0	6.25	86.41	1.75
$\alpha$ -萘乙酸	0	6.25	84.24	1.90



1-吡啶乙酸,2-吡啶丁酸,3- $\alpha$ -萘乙酸

图2 样品加标色谱图

Fig2. Chromatogram of the spiked samples

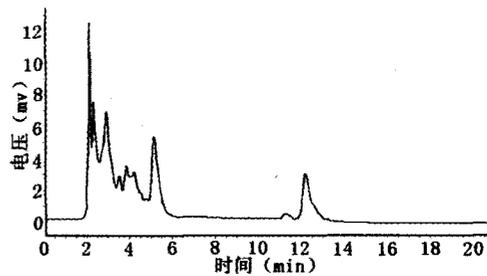


图3 样品色谱图

Fig3. Chromatogram of the real sample

### 3 结论

本文建立了固相分散萃取-高效液相色谱法同时测定花生酱中吡啶乙酸、吡啶丁酸和 $\alpha$ -萘乙

酸的方法。以无水硫酸钠作分散剂,甲醇作萃取剂,萃取效果良好。该方法快速、简便、廉价,适合实际样品测定。市售花生酱中三组份均未检出。

表3 加标回收率及RSD(n=6)

Tab3. Recoveries and RSD(n=6)

组分	线性方程	R	检出限( $\mu\text{g/g}$ )
吲哚乙酸	$Y=-95.56+8758.92X$	0.9999	1.25
吲哚丁酸	$Y=-304.91+8885.79X$	0.9999	1.25
$\alpha$ -萘乙酸	$Y=4303.63+7609.38X$	0.9999	1.25

## 参考文献

- [1] 赵敏,邵凤翥,周淑新,等. 植物生长调节剂对农作物和环境的安全性 [J]. 环境与健康杂志. 2007,24(5): 370~372.
- [2] Garcia S F, Garnero R C, Heredia B A. Fluorimetric determination of indole derivatives by fluorophore generation in copper (II)-sulfuric acid solution [J]. Talanta. 1990,37(12):1137~1140.
- [3] 董胜利,杜黎明,许庆琴,等. 导数-同步荧光光谱法同时测定  $\alpha$ -萘乙酸和吲哚-3-乙酸[J]. 分析科学学报. 2002,18(1):33~35.
- [4] 龙文清. 无保护流体室温磷光法同时测定  $\alpha$ -萘乙酸和吲哚-3-乙酸[J]. 分析科学学报. 2005,21(4):399~401.
- [5] 郑冰,杨海新,何金兰. 毛细管电泳定量分析植物激素[J]. 分析化学. 1999,27(6).
- [6] 王东新,周耀明,陈维. 溶胶-凝胶毛细管柱气相色谱法直接测定萘乙酸[J]. 分析仪器. 2003(3):35~37.
- [7] 张培志,徐育,朱岩. 离子色谱分离-抑制电导检测吲哚乙酸和吲哚丁酸[J]. 理化检验-化学分册. 2002,38(9): 448~449.
- [8] 杜黎明,许庆琴. 气相色谱法直接测定植物生长素[J]. 色谱. 2000,18(2). 160~161.
- [9] 汪伟. 几种植物生长调节剂的高效液相色谱分析[J]. 农药. 2009,48(2).
- [10] Hans G.J. Mol, Ruud C.J. van Dam, Rob J. Vreeken, et al. Determination of daminozide in apples and apple leaves by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. J.Chromatogr. A., 1999,833:53~60.
- [11] S.Hou, et al. Simultaneous determination of gibberellic acid, indole-3-acetic acid and abscisic acid in wheat extracts by solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. Talanta, 2008, 76: 798~802.
- [12] 杨途熙,魏安智,郑元,等. 高效液相色谱法同时分离测定仁用杏花芽中8种植物激素[J]. 分析化学. 2007,35(9): 1359~1361.

## 《福建分析测试》承办国内外广告业务, 欢迎联系刊登

(广告经营许可证编号:3500004000002)

联系人:郭升平

E-mail: fjtot@163.com

电话:(086591)87830371 传真:(086591)87816597

## 液相色谱法测定花生酱中植物生长调节剂

作者: [韩朝家](#), [周建科](#), [唐翠苓](#)  
作者单位: [河北大学理化分析中心, 河北省分析科学技术重点实验室, 河北保定071002](#)  
刊名: [福建分析测试](#)  
英文刊名: [Fujian Analysis & Testing](#)  
年, 卷(期): 2012(1)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_fjfxcs201201007.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_fjfxcs201201007.aspx)