

Identificação e quantificação de fitohormônios produzidos por bactérias por UPLC-ESI-MSMS

Márcia R. Assalin¹, Aliny M. Piovesana¹, Maria A. Rosa¹, Vera L. Ferracini¹,
Rosana F. Vieira¹

massalin@cnpma.embrapa.br

¹Laboratório de Resíduos e Contaminantes/Embrapa Meio Ambiente - Jaguariúna/SP

Hormônios vegetais são compostos orgânicos de ocorrência natural, produzidos na planta, os quais mesmo em baixas concentrações são capazes de promover, inibir ou modificar processos morfológicos e fisiológicos do vegetal. Os hormônios de plantas são tradicionalmente classificados nos seguintes grupos: auxinas, citocininas, ácidos giberélico e abscísico. A detecção e quantificação de fitohormônios em diferentes matrizes é um processo bastante complexo [1]. Neste trabalho desenvolveu-se uma metodologia de extração, identificação e quantificação por UPLC-ESI-MSMS do ácido indol-3-acético (auxina), zeatina (citocinina) e Ácido Giberélico (giberelina), em Trypticase Soy Broth (TSB), para a seleção de bactérias produtoras desses hormônios, eficientes para o feijoeiro.

A extração dos fitohormônios foi realizada com acetato de etila, seguida por uma etapa de partição, promovida pela adição de sais. Após centrifugação, uma alíquota do sobrenadante foi submetida à evaporação até *secura* e o resíduo foi ressuspenso em fase móvel (75% de ácido fórmico 0,1% e 25% de metanol). A amostra foi injetada em um cromatógrafo líquido de ultra eficiência (UPLC – Ultra Performance Liquid Chromatography), com coluna Waters (Acquity UPLC® BEH, C18; 17µm; 2,1x 50mm) acoplado a espectrometria de massas com interface electrospray e analisador tipo triploquadropolo (UPLC-ESI-MS/MS). Tempo de corrida total de 3 minutos. Parâmetros de instrumento: Capilar (kV) 3.00; Cone (V) 25.00; Extractor (V) 4.00, Temperatura da fonte (°C) 120; Temperatura dessolvatação (°C) 300. O modo MRM foi selecionado, com monitoramento de duas transições por analito. Os limites de detecção (LD) do instrumento para Zeatina e Ácido indolacético foram de 0,010 µg mL⁻¹ e para o Ácido Giberélico foi de 0,025 µg mL⁻¹. Os limites de quantificação (LQ) do instrumento obtidos para Zeatina, Ácido indolacético e Ácido Giberélico foram de 0,050 µg mL⁻¹. A curva analítica foi utilizada na faixa de 0,05 – 1,00 µg mL⁻¹.

	Modo de ionização	Transições	
Zeatina	(+)	352.16 > 135.90	352.16 > 220.00
Ácido Giberélico	(-)	345.00 > 143.00	345.00 > 239.00
Ácido Indolacético	(+)	176.10 > 103.00	176.10 > 130.00

As recuperações obtidas para a Zeatina foram de 68,5% e 57,0% para 0,10 e 0,50 µg mL⁻¹ respectivamente, para o Ácido indolacético foram de 80,5% e 73,0% para 0,10 e 0,50 µg mL⁻¹ respectivamente e para o Ácido Giberélico foram de 70,0% e 75,6% para 0,10 e 0,50 µg mL⁻¹ respectivamente.

[1] Boiero, L.; Perring, D.; Masciarelli, O.; Penna, C.; Cassán, F.; Luna, V. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, 74, 874 - 880.