

土壤中一种新的尿素衍生物的电喷雾 萃取电离质谱分析

潘素素¹, 赵娜², 欧阳永中¹, 黄科科³, 丁健桦¹,
陈焕文¹, 袁龙³, 王兴祥⁴

(1. 东华理工大学江西省质谱科学与仪器重点实验室, 南昌 330013;

2. 江西省测绘地理信息局, 南昌 330025;

3. 吉林大学化学学院, 无机合成与制备化学国家重点实验室, 长春 130012;

4. 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘要 采用电喷雾萃取电离串联质谱(EESI-MSⁿ)技术直接分析马尾松根际土壤溶液, 发现了一种不稳定的尿素衍生物 3,3-二氨基-3-羟基丙酸. 为确证其结构, 以尿素为原料合成了该衍生物, 并采用 EESI-MSⁿ 分析合成产物. 结果表明, 合成产物与土壤溶液中的 3,3-二氨基-3-羟基丙酸的 EESI-MSⁿ 分析结果相吻合, 说明土壤中确实存在该衍生物, 其可能是一种尿素在土壤里代谢过程的中间体. 本文结果表明, EESI-MS 技术可以直接分析复杂基体样品中痕量物质的信号, 为研究尿素在土壤中的氮素转化机理提供了新的思路.

关键词 电喷雾萃取电离; 串联质谱; 土壤; 尿素衍生物

中图分类号 O657.63 **文献标志码** A

氮素是植物生长发育所需最多的矿质元素, 土壤氮库中的氮主要以有机氮的形式(如尿素)存在. 尿素以其含氮量高、肥效较快及肥效期较长的优势, 被广泛用于现代农业生产. 许多生物(如植物)均利用尿素作为唯一的氮源^[1]. 植物有多种吸收尿素的途径, 目前经典的理论是尿素易被土壤中微生物释放的脲酶水解为 CO₂ 和 NH₃, NH₃ 作为氮源最终被植物吸收; 另一种理论是尿素可以在膜蛋白(MIPs 和 DUR3)的作用下直接被植物吸收^[1,2]. 除了在尿素转运蛋白的作用下之外, 尿素必须转化成有效态氮的形式从而被植物吸收. 由于土壤中尿素转化过程十分复杂, 迄今尚无报道明确指出尿素转化为有效态氮的详细过程. 因此, 了解尿素在土壤中具体的氮素转化机理具有重要意义.

通常, 分析复杂基体样品(如土壤、尿样和血液等)时需要进行研磨、过筛和萃取(如固-液萃取法、加速溶剂萃取法及超临界流体萃取法)等复杂、耗时的样品预处理^[3-8]. 土壤中一些重要的物质(如活泼中间体)往往浓度较低、结构较不稳定, 经过一系列复杂的预处理过程后, 难以被常用分析仪器检测到. 电喷雾萃取电离质谱(EESI-MS)具有质谱特有的高灵敏度和高特异性, 而且能承受复杂基体的影响, 可直接分析气体和液体样品, 无需样品预处理^[9-11]. 分析固体土壤样品时, 可采用水或甲醇等溶剂简单提取其中的待测物, 无需进行富集和分离纯化等复杂的样品预处理过程. 本研究采用 EESI-MS 技术直接分析马尾松根际土壤溶液, 发现了土壤中一种不稳定的尿素衍生物 3,3-二氨基-3-羟基丙酸(结构见图 1), 采用串联质谱(MSⁿ)技术快速获得了其结构信息^[12-14], 并通过高分辨质谱分析结合人工合成实验确证了其分子结构. 本文发现的尿素衍生物可以采用尿素为原料合成得到, 是尿素转化过程的一种中间体, 为研究尿素在土壤中的氮素转化机理提供了新的思路.

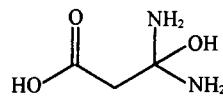


Fig. 1 Molecular structure of 3,3-diamino-3-hydroxypropanoic acid

收稿日期: 2012-09-04.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 21175019)和江西省自然科学基金(批准号: 2010GZH0002)资助.

联系人简介: 黄科科, 男, 博士, 讲师, 主要从事合成科学研究. E-mail: huangkeke_79@yahoo.com.cn

陈焕文, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事有机质谱分析和仪器研究. E-mail: chw8868@gmail.com

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

甲醇(色谱纯,美国 Fisher Scientific 公司);尿素(分析纯,中国联试化工试剂有限公司);结晶乙酸钠(天津市大茂化学试剂厂);叔丁醇锂(阿拉丁试剂公司,纯度 99%)。

LTQ XL 离子阱质谱仪、LTQ Orbitrap XL 组合式高分辨质谱仪和 Xcalibur 数据处理系统(美国 Thermo Scientific 公司);EESI 电离源^[15-18](江西省质谱科学与仪器重点实验室自行研制);KQ3200B 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司);Discover-SP 型微波反应器(美国 CEM 公司)。

1.2 实验过程

1.2.1 土壤样品的采集和制备 20 年生马尾松根际土壤于 2010 年 4 月采自江西鹰潭中国科学院红壤生态实验站(E116°55', N28°15')长期实验区,采样深度为 0~20 cm. 土壤为典型红黏土发育的红壤(普通简润富铁土),将采集的新鲜土壤样品去除肉眼可见根系和砾石,放入冰箱于 0~4 °C 保存,7 d 内浸提检测。

模拟鹰潭中国科学院红壤生态实验站土壤条件(未施用尿素)进行对比实验. 挖去 10~20 cm 上层覆土,多点采集土壤约 500 g. 均匀喷洒 1 g/L 尿素水溶液,做好标记,将挖出的上层覆土重新堆积,3 d 后采用同样方式采集标记处的土壤样品. 将施用尿素前后采集的新鲜土壤样品去除肉眼可见根系和砾石,立即浸提检测. 称取 5 g 土壤样品,加入 20 mL 水,浸泡 5 min,超声波处理 5 min 后,冷却,过滤. 滤渣再分别加入 20 mL 水浸泡 5 min,超声波处理 5 min 后,冷却,过滤,合并滤液,即得土壤样品溶液,冷冻保存,备用。

1.2.2 合成 分别称取 0.5 mmol 的尿素、结晶乙酸钠和叔丁醇锂置于 5 mL 反应管中,加入 0.5 mL 甲醇,将反应混合物置于微波反应器中反应 15 min,反应器的温度为 80 °C,功率为 70 W,压力为 344.75 kPa. 实验条件已进行了优化,但产率仍然很低,这可能是因为化学催化剂效率不高,难以制备大量的 3,3-二氨基-3-羟基丙酸。

1.3 质谱条件

设置 LTQ-MS 为正离子检测模式,扫描范围 m/z 50~300;喷雾电压 3.5 kV;毛细管温度 180 °C;萃取剂为甲醇;喷雾气(N_2)压力为 1.4 MPa;溶剂和样品溶液流速均为 5 μ L/min;样品雾化管与质谱进样口的距离为 5 mm;两个通道间的距离为 1~2 mm;样品雾化管与质谱进样口的角度为 90°,两个通道间的夹角为 120°,萃取剂雾化管与质谱进样口的角度为 150°. 在进行串联质谱分析时,母离子的隔离宽度为 1.0 Da,碰撞时间为 30 ms,碰撞能量为 10%~25%. 其它参数由 LTQ-MS 系统自动优化. 高分辨质谱扫描模式:一级质谱质量分辨率 $R=60000$.

1.4 理论计算

为了预测和解释离子裂解的最优路径,运用 Gaussian 03W 程序包^[19],采用 B3LYP 密度泛函(DFT)方法,在 6-31G±(d,p)水平上对分子的几何构型进行结构优化和频率计算,在所得优化结构的基础上,通过频率计算进行验证,并保证所得结构的合理性(频率为正). 通过计算和比较离子碎裂反应前后吉布斯自由能的变化情况[ΔG (kJ/mol)]来确定其碰撞诱导解离(CID)碎裂的可能路径。

2 结果与讨论

2.1 土壤中 3,3-二氨基-3-羟基丙酸的 EESI-MS 分析

如图 2 所示,土壤样品中的 3,3-二氨基-3-羟基丙酸在 EESI 中质子化后产生的准分子离子 $[M+H]^+$ (m/z 121)的丰度相对较低. 这是因为土壤是复杂基体样品,所以谱图也比较复杂,而且目标物的含量较低,致使其信号难以从纷杂的背景信号中凸显出来。

为进一步确定该化合物的结构,选择母离子 m/z 121 进行碰撞诱导解离(CID)分析,获得的二级和三级质谱图如图 3 所示. 在图 3 中可观察到比母离子(m/z 121)质荷比更高的质谱峰 m/z 223,说明母离子含有二价离子形式. 基峰 m/z 223 对应 $[2M+2H-H_3O]^+$,是母离子 $[2M+2H]^{2+}$ 失去 H_3O^+ 形成

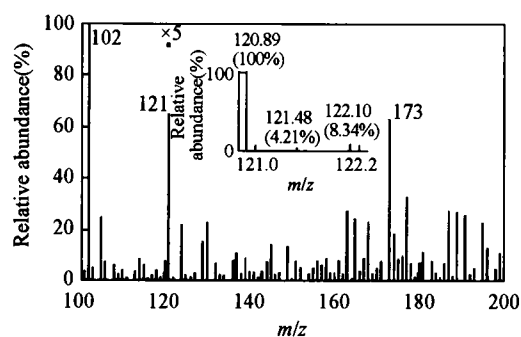


Fig. 2 EESI-MS spectrum of 3,3-diamino-3-hydroxypropanoic acid in soil extracts from the rhizosphere of *Pinus massoniana*

Inset shows the zoomed-view of the peak at m/z 121.48.

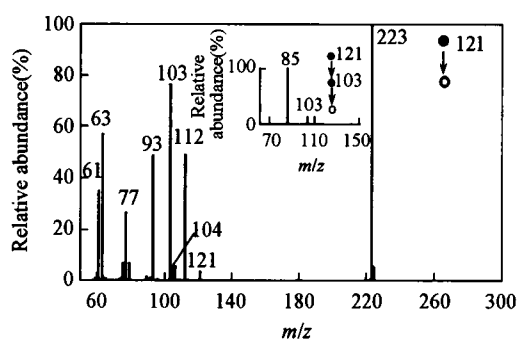


Fig. 3 EESI-MS² spectrum of fragment ion m/z 121 in soil extracts from the rhizosphere of *Pinus massoniana*

Inset shows the MS³ spectrum of fragment ion m/z 121.

的. 假设主要碎片离子 m/z 112 是一价母离子 $[M+H]^+$ (m/z 121) 丢失质量数为 9 的分子而得, 但根据元素周期表却找不到合理的分子. 由此可知, 碎片离子 m/z 112 应为二价母离子 $[2M+2H]^{2+}$ 失去 H_2O 而得, 对应于 $[2M+2H-H_2O]^{2+}$ 离子. 因为多电荷离子在 CID 过程中会产生电荷分离, 从而得到质荷比 (m/z) 比母离子大的碎片离子^[20]. 因此推断母离子有 $[M+H]^+$ 和 $[2M+2H]^{2+}$ 两种形式. 碎片离子 m/z 112 和 223 是由二价离子 $[2M+2H]^{2+}$ 碎裂产生. 放大离子区域 m/z 120.8 ~ 122.3 (图 2 插图), 可见与 m/z 121 质量数相差 0.5 Da (m/z 121.48) 和 1.0 Da (m/z 122.10) 的离子峰, 分别证明二价和一价离子的存在. 其中 m/z 121.48 和 122.10 离子的相对丰度分别为 4.21% 和 8.34%. 该同位素峰丰度比接近理论值: m/z 121.5, 4.26%; m/z 122, 8.53% [计算过程见本文电子刊支持信息 (<http://www.cjcu.jlu.edu.cn>)]. 质量数相差 0.5 Da 的离子丰度低于质量数相差 1 Da 的, 说明 3,3-二氨基-3-羟基丙酸更容易质子化形成一价离子 ($[M+H]^+$). 本文对母离子 m/z 121 及二级碎片离子 m/z 223 和 112 可能性较大的几种结构进行了理论计算, 选出相对较稳定的结构进行反应焓变的计算. 由于大量分子内氢键的存在, 母离子 m/z 121 及二级碎片离子 m/z 223 和 112 存在多种同分异构体结构. 对上述离子的几种最可能结构均进行了计算, 通过频率计算验证 (频率为正), 能确保所找到的结构是合理和可靠的 [具体内容见本文电子刊支持信息 (<http://www.cjcu.jlu.edu.cn>)]. 通过理论计算得出, 由 3,3-二氨基-3-羟基丙酸的质子化离子 (m/z 121) 裂解产生碎片离子 m/z 112 的反应过程中吉布斯自由能的变化 ($\Delta G = 43.26$ kJ/mol) 大于碎裂生成离子 m/z 223 的自由能变化 ($\Delta G = -105.36$ kJ/mol), 说明优先裂解生成了 m/z 223 离子而非 m/z 112 离子, 故母离子 (m/z 121) 的二级谱图 (图 3) 中 m/z 223 的相对丰度比 m/z 112 的相对丰度高. 理论计算还得出由母离子 m/z 121 裂解产生碎片离子 m/z 223 的另一种同分异构体的吉布斯自由能变化 ($\Delta G = -21.20$ kJ/mol). 从热力学理论角度分析, 二价母离子丢失 H_3O^+ 的可能性比较大, 这可能是由于二价离子电荷间的排斥导致容易丢失 H_3O^+ . 然而, 由于丢失 H_3O^+ 过程中涉及多个键的同时断裂, 因此很难得到其过渡态. 通常, 小分子难以获得多电荷离子, 除非该小分子中含有多个碱性很强的质子化位点. 由此推断, 该母离子应该含有不少于 2 个容易结合质子的碱性基团, 如伯氨基. 二级谱图中的主要碎片离子 m/z 103 和 93 分别为母离子丢失 H_2O 和 CO 所得, 说明该母离子还含有 $-OH$ 和 $=CO$. 三级谱图 (图 3 插图) 中的主要碎片离子 m/z 85 是由二级碎片离子 m/z 103 继续丢失 1 分子 H_2O 而得, 可知初级母离子 $[M+H]^+$ (m/z 121) 结构中含有 2 个 $-OH$. 碎片离子 m/z 61, 63, 77 和 104 是母离子 m/z 121 分别丢失 $C_2H_4O_2$, $C_2H_2O_2$, CO_2 和 NH_3 所得. 综上所述, 该母离子结构中应含有 1 个 $=CO$ 、2 个 $-OH$ 和 2 个易结合质子的强碱性基团. 根据该母离子的质荷比为 121, 可判断这 2 个容易结合质子的碱性基团是伯氨基 ($-NH_2$). 结合谱图中各碎片的丰度推导出的结构式如图 1 所示, 其系统命名为 3,3-二氨基-3-羟基丙酸 (3,3-Diamino-3-hydroxypropanoic acid).

2.2 合成的 3,3-二氨基-3-羟基丙酸的 EESI-MS 分析

为探究 3,3-二氨基-3-羟基丙酸的来源并验证其结构, 本实验采用尿素为原料进行合成反应, 得到的反应混合物直接进行 EESI-MSⁿ 分析. 由待测物的质谱图 (图 4) 可见, m/z 121 (对应于 $[M+H]^+$) 为

3,3-二氨基-3-羟基丙酸的质子化准分子离子峰. 此外, 谱图中还有较高的 m/z 143 分子离子峰, 可能是待测物与 Na^+ 形成的特征非共价配合物(对应于 $[\text{M}+\text{Na}]^+$). 反应混合物的一级谱图(图4)中 m/z 143 离子的相对丰度明显高于其在土壤溶液一级谱图(图2)中的相对丰度, 这是因为合成反应过程中加入了大量醋酸钠, 使得待测物易结合 Na^+ 形成钠化离子. 采用高分辨质谱对合成产物进行确证, 在 EESI-MS 正离子模式下得到目标物分子离子的精确质荷比为 121. 06194, 与理论计算值的相对误差仅为 9.66×10^{-6} .

为进一步验证合成产物的结构, 选择质子化的 3,3-二氨基-3-羟基丙酸(m/z 121)和钠化 3,3-二氨基-3-羟基丙酸(m/z 143)分别进行串联质谱分析, 获得的特征碎片分别如图5和图6所示. 从 m/z 121 的 CID 谱图(图5)可观察到明显的碎片离子峰 m/z 112 和 223, 这2个特征碎片是证明该化合物为 3,3-二氨基-3-羟基丙酸的重要依据. 相对应的碎片离子 m/z 63 和 77 是由母离子 m/z 121 分别丢失 $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2$ 和 CO_2 所得, 结构如图5所示. 碎片离子 m/z 61 是母离子 m/z 121 丢失 $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ 得到的质子化尿素, m/z 103 为母离子 m/z 121 丢失 H_2O 而得. 继续对碎片离子 m/z 103 进行 CID 分析, 也得到了其丢失 H_2O 形成的碎片离子 m/z 85(如图5插图所示). 合成 3,3-二氨基-3-羟基丙酸的质子化分子离子 m/z 121 的二级谱图主要碎片离子(如 m/z 112, 223, 103, 104 等)和三级谱图的碎片离子均与土壤的分析结果一致, 只是丰度有所不同, 这是由于2种样品基体不同所致. 图6是钠化 3,3-二氨基-3-羟基丙酸(m/z 143, 对应于 $[\text{M}+\text{Na}]^+$)的二级谱图. 其中的主要碎片离子 m/z 125, 111 和 107 是母离子分别丢失 H_2O , N_2H_4 和 $2\text{H}_2\text{O}$ 所得; m/z 97 是 m/z 143 同时丢失一分子 CO 和 H_2O 后得到的; m/z 83 离子是母离子 m/z 143 从中间断裂而得, 结构如图6所示.

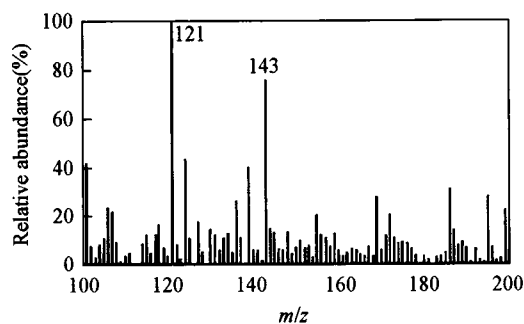


Fig. 4 EESI-MS spectrum of 3,3-diamino-3-hydroxypropanoic acid in synthetic sample

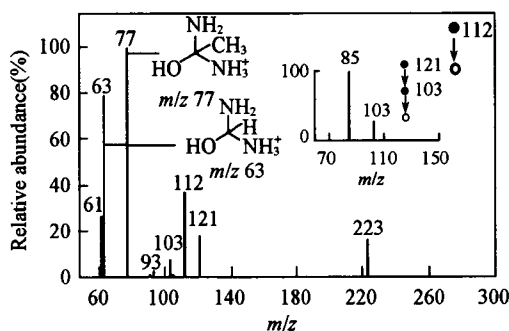


Fig. 5 EESI-MS² spectrum of fragment ion m/z 121 in synthetic sample

Inset shows the MS³ spectrum of fragment ion m/z 121.

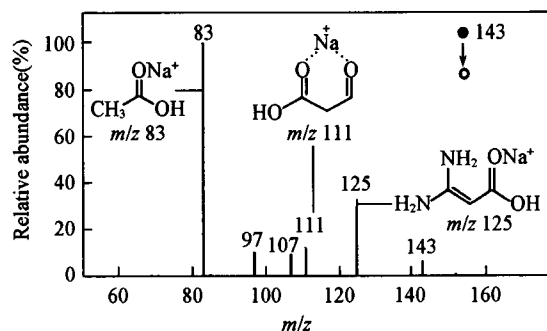


Fig. 6 EESI-MS² spectrum of fragment ion m/z 143 in synthetic sample

继续选择碎片离子 m/z 83, 125, 111 和 97 进行三级质谱分析, 所得谱图如图7所示. 图7(A)中的碎片离子 m/z 55 为 $[\text{NaCH}_3\text{OH}]^+$, 是离子 m/z 83 丢失 CO 所得; 离子 m/z 125 的 MS³ 分别丢失 H_2O

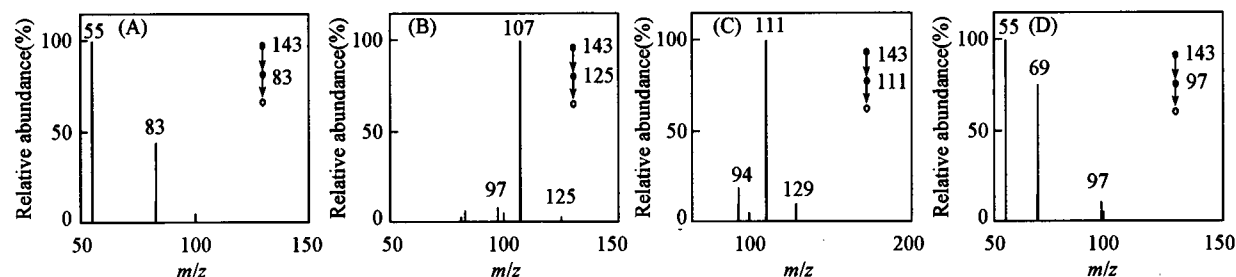


Fig. 7 MS³ spectra of m/z 143 in synthetic sample

和 CO 得到离子 m/z 107 和 97 [如图 7(B) 所示]; 离子 m/z 111 的 MS^3 则丢失 OH 得到离子 m/z 94, 此外还观察到相对丰度较低的碎片离子峰 m/z 129 [如图 7(C) 所示], 是离子 m/z 111 结合 H_2O 产生的^[21,22]; 图 7(D) 中的离子 m/z 55 和 69 分别对应 $[NaCH_3OH]^+$ 和 $[NaNH_2CH_2NH_2]^+$, 是二级碎片离子 m/z 97 分别丢失 CH_2N_2 和 CO 而得. 通过对尿素和醋酸钠合成产物的 EESI-MS 谱图分析, 进一步确认了 3,3-二氨基-3-羟基丙酸的存在, 其串联质谱数据也与这种结构的碎裂方式吻合.

此外, 对同一份土壤样品以及合成的 3,3-二氨基-3-羟基丙酸样品进行了重复实验, 发现约 20 d 后, 检测不到 3,3-二氨基-3-羟基丙酸的信号. 说明 3,3-二氨基-3-羟基丙酸在水溶液中不稳定, 这与本实验提出的化合物结构一致. 从该化合物的结构及合成实验可知, 它可看作是尿素转化成可被植物吸收利用的氮素形式的一种中间体. 由于化学合成产率较低, 所以该过程可能有特定的酶进行催化.

采用 EESI-MSⁿ 检测模拟对比实验的土壤样品. 在施用尿素前的土壤样品中未检测到 3,3-二氨基-3-羟基丙酸的信号, 而在施用尿素 3 d 后的土壤中发现了 3,3-二氨基-3-羟基丙酸, 但其信号相对较弱, 可能是因为模拟条件与原始土壤的条件不同所致.

在无尿素转运蛋白的作用下, 尿素无法直接进入植物体内. 此外, 尿素属于非蛋白氮 (Non-protein nitrogen, NPN), 可作为反刍动物的蛋白质饲料来源. 然而, 尿素在瘤胃脲酶作用下快速分解所释放出的大量氨会导致动物发生氨中毒^[23,24]. 因此, 尿素必须经过转化, 才能更好地被生物体吸收利用. 本文结果表明, 在特定催化剂 (如酶) 作用下, 尿素可能先转化为 3,3-二氨基-3-羟基丙酸这一衍生物, 最终以氨基酸等形式被生物体吸收利用. 因此, EESI-MS 为研究尿素在土壤里氮素转化过程的机理及其中间体提供了新思路和技术. 当然, 揭示尿素在土壤中的详细转化过程, 实现 3,3-二氨基-3-羟基丙酸在作物生长方面的应用价值还需要深入研究: 例如采用 ¹⁵N 示踪技术追踪 3,3-二氨基-3-羟基丙酸在土壤中的去向; 深入研究消耗尿素和生成 3,3-二氨基-3-羟基丙酸之间的数量关系; 进一步研究 3,3-二氨基-3-羟基丙酸对提高植物产量和氮肥利用率的效果等.

3 结 论

采用 EESI-MSⁿ 技术直接分析马尾松根际土壤溶液, 发现了土壤中一种新的化合物 3,3-二氨基-3-羟基丙酸, 该化合物可采用尿素为原料合成得到, 并通过 EESI-MSⁿ 分析确证了其结构. 3,3-二氨基-3-羟基丙酸在水溶液中性质不稳定, 很有可能是尿素在土壤中代谢过程的中间体. 本研究为阐明氮素转化过程的机理提供了新的思路, 也为 EESI-MS 在土壤学研究中的应用提供了可能.

参 考 文 献

- [1] Cao F. Q., Liu G. W., Wang W. H., Wu X. M., Liu L. H., *Chinese Bulletin of Botany*, **2009**, *44*(3), 273—282 (曹凤秋, 刘国伟, 王伟红, 吴学民, 刘来华. 植物学报, **2009**, *44*(3), 273—282)
- [2] Witte C. P., *Plant Sci.*, **2011**, *180*, 431—438
- [3] Hyötyläinen T., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2009**, *394*, 743—758
- [4] Remusat L., Hatton P. J., Nico P. S., Zeller B., Kleber M., Derrien D., *Environ. Sci. Technol.*, **2012**, *46*, 3943—3949
- [5] Scheibe A., Krantz L., Gleixner G., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2012**, *26*, 173—180
- [6] Zheng Y. B., Lu C. H., Xu L., Su W. J., Shen Y. M., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2012**, *28*(6), 976—979
- [7] Sun L., Zhao Y. S., Nie X. M., Ling Y., Chu X. G., Shang D. J., Dong Y., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2012**, *28*(5), 797—801
- [8] Yang G. Y., Zhao H. F., Xie F., Li Y., Sun L., Shi Q. H., He C. Y., Liu N., Song L. N., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2012**, *28*(6), 1031—1034
- [9] Gu H. W., Xu N., Chen H. W., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2012**, *403*(8), 2145—2153
- [10] Law W. S., Chen H. W., Ding J. H., Yang S. P., Zhu L., Gamez G., Chingin K., Ren Y. L., Zenobi R., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*, 8277—8280
- [11] Zhou Z. Q., Jiang J., Li M., Zhao Z. F., Fu J., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2012**, *28*(2), 200—203
- [12] Sun C. R., Chen J. J., Pan Y. J., *Science China Chemistry*, **2010**, *40*(6), 621—630 (孙翠荣, 陈娟娟, 潘远江. 中国科学: 化学, **2010**, *40*(6), 621—630)
- [13] Shi Y., Liu N., Song F. R., Liu Z. Q., Liu S. Y., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2011**, *27*(5), 773—776

- [14] Bai J., Shi X. W., Du Y. F., Xiang B., Wang S., Cao D. Y., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2012**, 28(3), 399—405
- [15] Li X., Hu B., Ding J. H., Chen H. W., *Nat. Protoc.*, **2011**, 6, 1010—1025
- [16] Zhu L., Hu Z., Gamez G., Law W. S., Chen H. W., Yang S. P., Chingin K., Balabin R. M., Wang R., Zhang T. T., Zenobi R., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2010**, 398, 405—413
- [17] Chen H. W., Zenobi R., *Nat. Protoc.*, **2008**, 3, 1467—1475
- [18] Ding J. H., Yang S. P., Liu Q., Wu Z. Z., Chen H. W., Ren Y. L., Zheng J., Liu Q. J., *Chem. J. Chinese Universities*, **2009**, 30(8), 1533—1537(丁健桦, 杨水平, 刘清, 吴转璋, 陈焕文, 任玉林, 郑健, 刘清璐. 高等学校化学学报, **2009**, 30(8), 1533—1537)
- [19] Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Montgomery J. A., Jr. T. V., Kudin K. N., Burant J. C., Millam J. M., Iyengar S. S., Tomasi J., Barone V., Mennucci B., Cossi M., Scalmani G., Rega N., Petersson G. A., Nakatsuji H., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Kitao Y. H. O., Nakai H., Klene M., Li X., Knox J. E., Hratchian H. P., Cross J. B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R. E., Yazyev O., Austin A. J., Pomelli R. C. C., Ochterski J. W., Ayala P. Y., Morokuma K., Voth G. A., Salvador P., Dannenberg J. J., Zakrzewski V. G., Dapprich S., Daniels A. D., Strain M. C., Farkas O., Malick D. K., Rabuck A. D., Raghavachari K., Foresman J. B., Ortiz J. V., Cui Q., Baboul A. G., Clifford S., Cioslowski J., Stefanov B. B., Liu G., Liashenko A., Piskorz P., Komaromi I., Martin R. L., Fox D. J., Keith T., Al-Laham M. A., Peng C. Y., Nanayakkara A., Challacombe M., Gill P. M. W., Johnson B., Chen W., Wong M. W., Gonzalez C., Pople J. A., *Gaussian 03, Revision E.01*, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2004**
- [20] Adams J., Strobel F. H., Reiter A., Sullards M. C., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **1996**, 7(1), 30—41
- [21] Guo M. Q., Song F. R., Chen M. L., Bai Y., Liu Z. Q., Liu S. Y., *Chem. J. Chinese Universities*, **2003**, 24(9), 1577—1581(郭明全, 宋凤瑞, 陈貌连, 白玉, 刘志强, 刘淑莹. 高等学校化学学报, **2003**, 24(9), 1577—1581)
- [22] Zhang Y. C., Pi Z. F., Liu C. M., Song F. R., Liu Z. Q., Liu S. Y., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2012**, 28(1), 31—36
- [23] Sawyer J. E., Mulliniks J. T., Waterman R. C., Petersen M. K., *J. Anim. Sci.*, **2012**, 90(7), 2324—2330
- [24] Ribeiro S. S., Vasconcelos J. T., Morais M. G., Ítavo C. B. C. F., Franco G. L., *Anim. Feed Sci. Tech.*, **2011**, 164, 53—61

Detection of a Novel Metabolite of Urea in Soil by Extractive Electro spray Ionization Mass Spectrometry

PAN Su-Su¹, ZHAO Na², OUYANG Yong-Zhong¹, HUANG Ke-Ke^{3*}, DING Jian-Hua¹,
CHEN Huan-Wen^{1*}, YUAN Long³, WANG Xing-Xiang⁴

(1. Jiangxi Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation, East China Institute of Technology, Nanchang 330013, China; 2. Jiangxi Bureau of Surveying and Mapping, Nanchang 330025, China; 3. State Key Laboratory of Inorganic Synthesis and Preparative Chemistry, College of Chemistry, Jilin University, Changchun 130012, China; 4. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract As an important nitrogen(N) source for the growth of many organisms, urea is intensively used as a nitrogen fertilizer. A better understanding of urea metabolism is required. Using extractive electro spray ionization tandem mass spectrometry(EESI-MSⁿ), a new urea metabolite(3,3-diamino-3-hydroxypropanoic acid) was detected in soil extracts from the rhizosphere of *Pinus massoniana*. A 3,3-diamino-3-hydroxypropanoic acid standard was synthesized from urea, sodium acetate and lithium tert-butoxide. The protonated molecular ion and the sodium adduct were observed in the mass spectrum. With tandem mass spectrometry, the two signals from the synthetic sample were quickly identified and verified the protonated molecular ion from the soil extracts. It can be inferred that 3,3-diamino-3-hydroxypropanoic acid is a metabolite from urea in soil, and this study provides clues for future research of nitrogen transformation processes in urea fertilized soils. EESI-MS is a promising tool for the rapid and accurate identification of trace levels of short-lived metabolites.

Keywords Extractive electro spray ionization; Tandem mass spectrometry; Soil; Urea metabolite

(Ed.: N, K)

土壤中一种新的尿素衍生物的电喷雾萃取电离质谱分析

作者: [潘素素](#), [赵娜](#), [欧阳永中](#), [黄科科](#), [丁健桦](#), [陈焕文](#), [袁龙](#), [王兴祥](#)
作者单位: [潘素素, 欧阳永中, 丁健桦, 陈焕文\(东华理工大学江西省质谱科学与仪器重点实验室, 南昌, 330013\)](#), [赵娜\(江西省测绘地理信息局, 南昌, 330025\)](#), [黄科科, 袁龙\(吉林大学化学学院, 无机合成与制备化学国家重点实验室, 长春130012\)](#), [王兴祥\(中国科学院南京土壤研究所, 南京, 210008\)](#)
刊名: [高等学校化学学报](#) 
英文刊名: [Chemical Journal of Chinese Universities](#)
年, 卷(期): 2013, 34(6)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_gdxxhxb201306012.aspx