

渔用麻醉剂 MS-222 的电子轰击电离质谱 裂解规律研究

李晋成*, 刘欢, 许玉艳, 吴立冬, 王朝英, 李强, 王书
(中国水产科学研究院, 北京 100141)

摘要: **目的** 建立气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)法研究渔用麻醉剂 MS-222 电子轰击电离的裂解途径的分析方法。**方法** 针对 MS-222, 采用电荷和游离基理论, 解释主要碎片离子的裂解机制。**结果** MS-222 经电子轰击电离产生特征碎片离子 m/z 150、137、120 和 93; 分子离子以饱和氧和不饱和氧为电荷/游离基中心引发 α 断裂和酯基上伴随 γ 重排的 β 断裂, 碎片离子进一步发生简单 α 裂、消除反应等反应, 产生相应的特征碎片离子。**结论** 电子轰击电离结合 GC-MS/MS 可用于鱼类麻醉剂 MS-222 的质谱断裂机制研究, 方法简便, 可推广到其他鱼类麻醉剂的研究中去。

关键词: 麻醉剂; MS-222; 电子轰击电离; 裂解规律

Fragmentation pattern of fish anesthetic MS-222 by electron ionization mass spectrometry

LI Jin-Cheng*, LIU Huan, XU Yu-Yan, WU Li-Dong, WANG Chao-Ying, LI Qiang, WANG Shu
(Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100141, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the investigation of the fragmentation pathways of anesthetic MS-222 under electron ionization (EI) condition by gas chromatography tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). **Methods** The fragmentation pathways of MS-222 were gotten and interpreted using radical-site and charge-site initiation theory. **Results** The main fragment ions of MS-222 were m/z 150, 137, 120 and 93. The reaction of molecular ions initiated at the radical-site and charge-site of unsaturated oxygen and saturated oxygen. The molecular ions produced different fragment ions from the α -cleavage reaction and inductive-cleavage reaction with hydrogen rearrangement. These fragment ions continued to produce other ions from α -cleavage, elimination reaction and other reactions. **Conclusion** EI combined with GC-MS/MS can be used for the investigation of the fragmentation mechanism of fish anesthetic MS-222. This method is simple and convenient, and can be extended to the study of other fish anesthetics.

KEY WORDS: anesthetic; MS-222; electron ionization; cleavage pathways

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目(2016HY-ZD1104)

Fund: Supported by the Special Scientific Research Funds for Central Non-profit Institutes, Chinese Academy of Fishery Sciences (2016HY-ZD1104)

*通讯作者: 李晋成, 副研究员, 主要研究方向为水产品质量安全研究。E-mail: lijc@cafs.ac.cn

*Corresponding author: LI Jin-Cheng, Associate Researcher, Quality and Standard Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100141, China. E-mail: lijc@cafs.ac.cn

1 引言

MS-222 的化学名称为 3-氨基苯甲酸乙酯甲基磺酸盐(图 1), 分子式为 $C_9H_{11}NO_2CH_4O_3S$, 分子量为 261.3, 别名鱼安定, 是一种在水产动物中使用的麻醉药物^[1-4]。

现阶段国内外的文献对 MS-222 的研究多侧重于其对各种鱼的麻醉效果及使用鱼体血液生理生化指标的影响^[5], 对其代谢产物以及食用安全性评估等则研究很少。电子轰击电离(electron ionization, EI)具有能够快速得到化合物的分子量信息的优点, 并且可以通过串联质谱得到其二级质谱图^[6-12]。通过解析化合物的二级质谱图可以为化合物代谢产物的分析提供理论依据^[12-17]。

本研究拟采用电子轰击电离串联质谱(electron ionization tandem mass spectrometry, EI-MS/MS), 研究 MS-222 电子轰击电离的质谱裂解规律, 为 MS-222 在水产品内代谢产物研究提供理论依据。

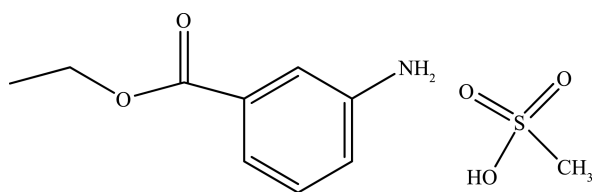


图 1 MS-222 的结构式
Fig. 1 Structure of MS-222

2 材料与方法

2.1 仪器与设备

7890A/7000 三重四极杆气质联用仪(美国 Agilent 公司), 配有电子轰击电离源(EI)。

2.2 样品与试剂

乙酸乙酯(色谱纯, Merck 公司); MS-222(TCI 公司), 溶解在乙酸乙酯中, 浓度为 1 mg/L。

2.3 样品制备及处理

取 1 mg/L MS-222 的乙酸乙酯溶液 2 μ L, 进行 GC-MS/MS 碎片离子扫描分析。

2.4 气相色谱条件

色谱柱: Agilent HP-5ms 弹性石英毛细管柱(30 $m \times 0.25$ mm, 0.25 μ m); 载气为氦气(纯度 99.999%), 流

速 1.0 mL/min; 初始柱温 70 $^{\circ}C$, 保持 1 min, 以 15 $^{\circ}C/min$ 升至 170 $^{\circ}C$, 保持 1 min; 不分流进样, 不分流时间 0.7 min; 进样量 2 μ L, 进样口温度 280 $^{\circ}C$, 传输线温度 280 $^{\circ}C$ 。

2.5 质谱条件

离子化方式为 EI; 离子化电压 70 eV; MS 扫描范围为 m/z 60~200; MS/MS 采用产物离子扫描, 碰撞气体为高纯氮气(纯度 99.999%), 碰撞能量 5 eV。

3 结果与讨论

3.1 EI-MS/MS 分析

MS-222 在离子源中的分子离子以 3-氨基苯甲酸乙酯(m/z 165)的分子离子形式存在, 属于中等极性化合物, 其存在不饱和氧 O- n 电子、饱和氧 O- n 电子和 π 电子, 导致其电离能较低, 在 EI 电离下易失去电子, 成为电荷和游离基。为了研究分子结构与裂解途径之间的关系, 对 MS-222 的分子离子峰进行碰撞诱导解离(CID)分析。实验结果表明, m/z 为 165 的分子离子在 CID 条件下会发生碎裂, 产生一系列碎片离子, 得到 MS-222 的二级质谱图(图 2)。

3.2 质谱裂解途径分析

MS-222 的分子离子在氮气的碰撞下, 主要产生 4 个碎片离子: m/z 150、 m/z 137、 m/z 120 和 m/z 93。本研究主要以饱和氧和不饱和氧为电荷和游离基中心进行碎裂途径讨论, 探讨 MS-222 的质谱裂解规律。

3.2.1 以饱和氧为游离基和电荷中心引发的断裂

MS-222 分子离子以饱和氧为游离基和电荷中心, 发生 α 断裂丢失一个甲基自由基, 产生离子 m/z 150。部分分子离子丢失甲基后, 在氮气的碰撞下将在 C1 位上继续发生 α 断裂丢失一个甲醛分子, 得到 m/z 为 120 的碎片离子峰。碎裂过程见图 3。

3.2.2 以不饱和氧为游离基和电荷中心引发的断裂

MS-222 分子离子以不饱和氧为游离基和电荷中心, 通过六元环, γ -H 重排到不饱和氧上并伴随 β 键断裂丢失一个乙烯分子, 产生碎片离子 m/z 137。在氮气的继续碰撞诱导 β -H 重排丢失一个二氧化碳分子, 得到 m/z 为 93 的碎片离子峰。碎裂过程见图 4。

4 结论

本研究证明利用电子轰击结合 GC-MS/MS 可用于鱼类麻醉剂 MS-222 的断裂机理研究, 方法简便, 可推广到其他鱼类麻醉剂的研究中去。本研究获得的断裂规律, 也会为 MS-222 的代谢过程研究, 提供借鉴。

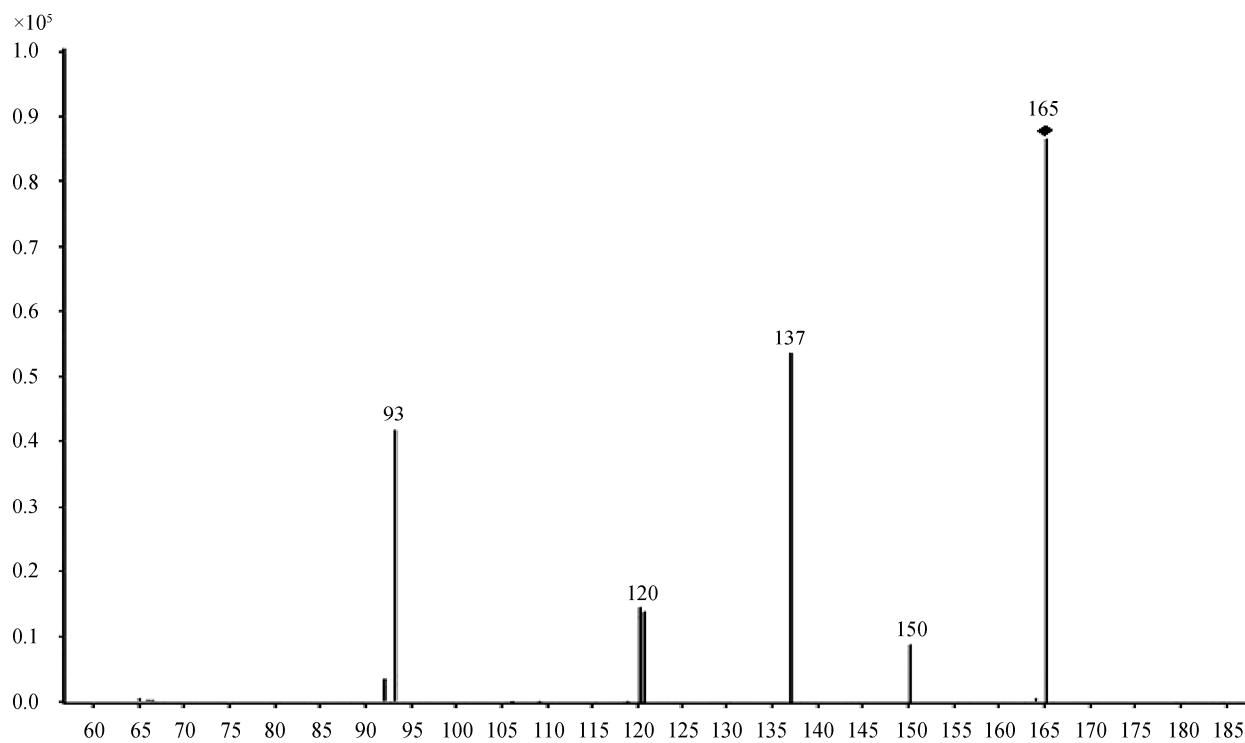


图 2 MS-222 的 EI-MS/MS 质谱图
Fig. 2 EI-MS/MS spectrum of MS-222

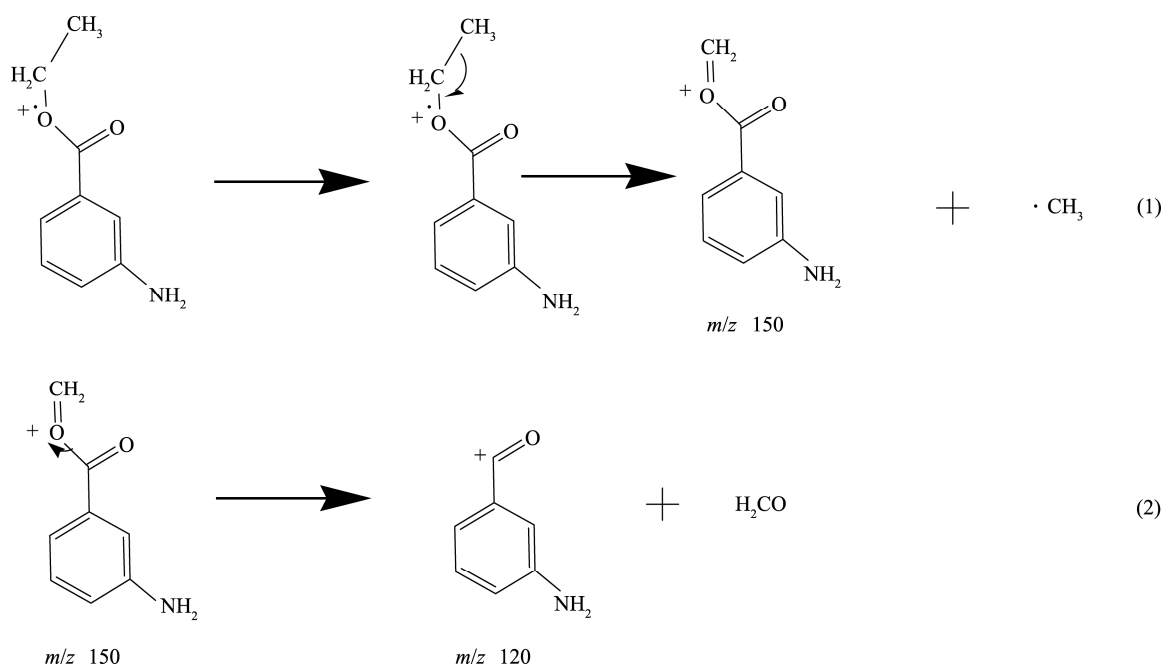
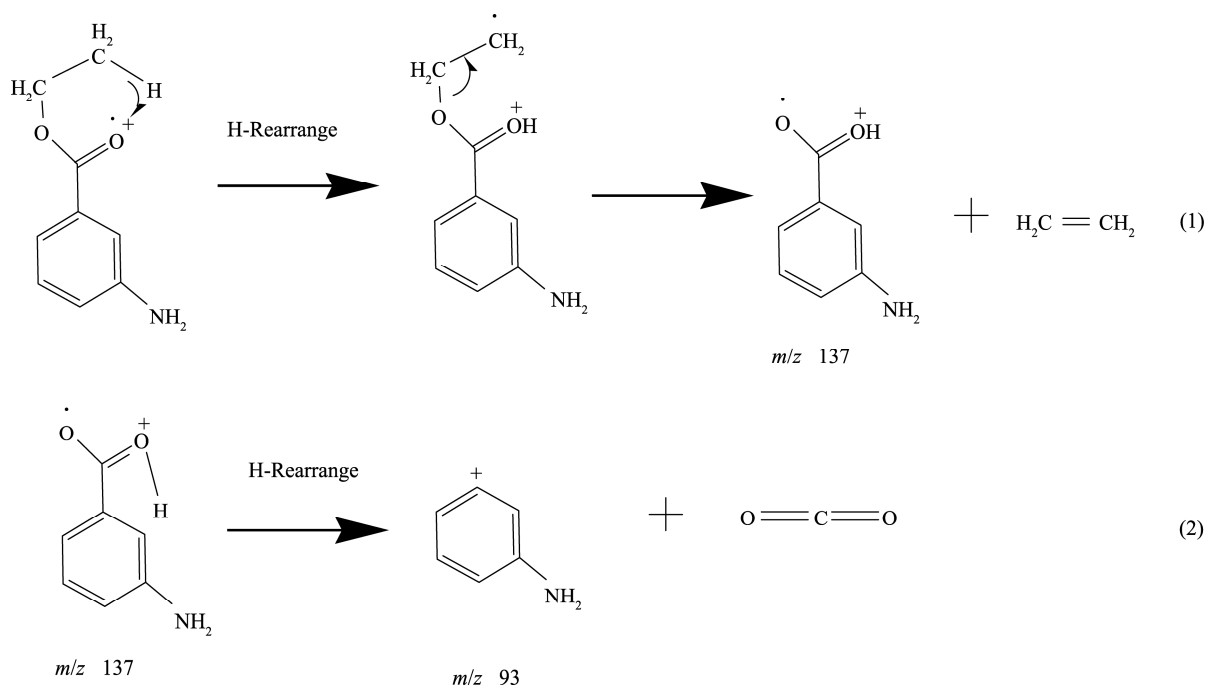


图 3 离子 m/z 150 和 m/z 120 的生成途径
Fig. 3 The formation path of ions m/z 150 and m/z 120

图 4 离子 m/z 137 和 m/z 93 的生成途径Fig. 4 The formation path of ions m/z 137 and m/z 93

参考文献

- [1] King WV, Hooper B, Hillsgrove S, *et al.* The use of clove oil, metomidate, tricaine methanesulphonate and 2-phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata* L.) [J]. *Aquac Res*, 2005, 36(14): 1442-1449.
- [2] Weber RA, Peleteiro JB, Garcia Martin LO, *et al.* The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) [J]. *Aquaculture*, 2009, 288(1-2): 147-150.
- [3] Topic Popovic N, Strunjak-Perovic I, Coz-Rakovac R, *et al.* Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia [J]. *J Appl Ichthyol*, 2012, 28, 553-564.
- [4] 李晋成, 刘欢, 吴立冬, 等. 动物体内麻醉剂残留检测技术研究进展[J]. *食品科学*, 2104, 35(5): 251-256.
Li JC, Liu H, Wu LD, *et al.* Progress in detection of anesthetic residues in food-producing animals [J]. *Food Sci*, 2014, 35(5): 251-256.
- [5] 张志明, 刘东超, 丁慧萍, 等. 间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐及丁香油对锦鲤血液生化指标及酶活性影响研究[J]. *水产科学*, 2015, 34(2): 71-76.
Zhang ZM, Liu DC, Ding HP, *et al.* Effects of MS-222 and Clove Oil on Blood Biochemical Parameters and Immune indices of *Koi carp cyprinus carpio* [J]. *Fish Sci*, 2015, 34(2): 71-76.
- [6] 李晋成, 刘欢, 马兵, 等. 丁香酚的电喷雾负离子质谱裂解规律研究[J]. *中国渔业质量与标准*, 2013, 3(4): 11-14.
Li JC, Liu H, Ma B, *et al.* Cleavage pathways of eugenol by negative electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Chin Fish Qual Standard*, 2013, 3(4): 11-14.
- [7] 杜振霞, 余申义. 多取代嘧啶类杂环生物体的质谱裂解规律[J]. *质谱学报*, 2004, 25(4): 232-234.
Du ZX, Yu SY. Fragmentation of 2,4-alkylsulphur-5-cyano-6-amidopyrimidine derivatives by mass spectrometry [J]. *J Chin Mass Spectr Soc*, 2004, 25(4): 232-234.
- [8] 矫桂丽, 焦晓云, 华玉夏, 等. 氯霉素及其衍生物的质谱特征[J]. *质谱学报*, 2004, 25(2): 100-102.
Jiao GL, Jiao XY, Hua YX, *et al.* Mass spectra characteristics of chiral tertiary amines and quaternary ammonium salts derived from chlomephenicol [J]. *J Chin Mass Spectr Soc*, 2004, 25(2): 100-102.
- [9] 韩海, 李章万, 张强, 等. 盐酸雷诺希芬的电子电离质谱和快原子轰击电离(-)质谱研究[J]. *质谱学报*, 2004, 25(2): 107-109.
Han H, Li ZW, Zhang Q, *et al.* Study on realoxifen hydrochloride by electron ionization mass spectrometry and fast-atom bombardment mass spectrometry [J]. *J Chin Mass Spectr Soc*, 2004, 25(2): 107-109.
- [10] 于林芳, 徐杰, 陈士国, 等. 仿刺参皂苷类化合物的电喷雾负离子质谱裂解规律研究[J]. *质谱学报*, 2011, (02): 77-81.
Yu LF, Xu J, Chen SG, *et al.* Study on the fragmentation pathways of triterpene glycosides from *apostichopus japonicus selenka* by negative electrospray ionization mass spectrometry [J]. *J Chin Mass Spectrom Soc*, 2011, 3(2): 77-81.
- [11] Fu L, Chen T, Xue G, *et al.* Selective cleavage enhanced by acetylating the side chain of lysine [J]. *J Mass Spect*, 2013, 48(1): 128-134.
- [12] 张兰波, 刘景全, 裴承新, 等. 二甲基焦磷酸二烷基酯的EI-MS裂解规律研究[J]. *分析测试学报*, 2014, 33(4): 442-448.
Zhang LB, Liu JQ, Pen CX, *et al.* Fragmentation characterization of dialkyl dimethylpyrophosphonate under electron impact mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2014, 33(4): 442-448.

- [13] Peng J, Zu L, Fang W, *et al.* Selective cleavage of protonated penetratin and its substitutes under low-energy collision-induced dissociation condition [J]. *J Mass Spect*, 2010, 45(6): 627–634.
- [14] Jeilani YA, Cardelino BH, Ibeanusi VM. Hydrogen rearrangement and ring cleavage reactions study of progesterone by triple quadrupole mass spectrometry and density functional theory [J]. *J Mass Spect*, 2011, 46(7): 625–634.
- [15] Perdivara I, Perera L, Sricholpech M, *et al.* Unusual fragmentation pathways in collagen glycopeptides [J]. *J Am Soc Mass Spect*, 2013, 24(7): 1072–1081.
- [16] Jennifer SC, Michael LE, Jeffrey NA. Structural characterization of intact proteins is enhanced by prevalent fragmentation pathways rarely observed for peptides [J]. *J Am Soc Mass Spect*, 2010, 21(6): 949–959.
- [17] Clark DF, Go EP, Toumi ML, *et al.* Collision induced dissociation products of disulfide-bonded peptides: ions result from the cleavage of more than one bond [J]. *J Am Soc Mass Spect*, 2011, 22(3): 492–498.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



李晋成, 博士, 副研究员, 主要研究方向为水产品中药物及其他有害物质残留检测技术开发。

E-mail: lijc@cafs.ac.cn

声 明

本刊 2016 年第 7 卷第 7 期(2016,7(7): 2860-2866)张云等作者“超高效液相色谱-串联质谱法测定植物油中邻氨基苯甲二酰胺类农药”一文中做如下更改:

原作者: 张 云^{1*}, 黄传辉², 陈泽宇¹

(1. 三明出入境检验检疫局, 三明 365000; 2. 三明市食品药品审评与不良反应监测中心, 三明 365000)

修改作者为: 张 云^{1*}, 黄传晖², 陈泽宇¹

(1. 三明出入境检验检疫局, 三明 365000; 2. 三明市食品药品审评与不良反应监测中心, 三明 365000)

《食品安全质量检测学报》编辑部