第 30 卷 第 6 期
2009 年 11 月

质 谱 学 报
Journal of Chinese Mass Spectrometry Society

Vol. 30 No. 6
Nov. 2009

官能团对染料在电喷雾串联质谱中的离子化和裂解行为的影响

丁友超，杨安南，蔡建和，周绍强，吴 浩

（江苏出入境检验检疫局纺织实验室，江苏 南京 210001）

摘要：采用电喷雾串联质谱（ESI-MS/MS）直接进样法研究了直接红 28、碱性红 9、分散蓝 1 和分散黄 1 等 4 种有害的纺织品染料的质谱行为规律，探讨了染料的电喷雾电离和碰撞诱导裂解（CID）的机理。实验发现，强极性染料直接红 28 和碱性红 9 的电喷雾电离与其分子结构内的强极性基团有关，弱极性染料分散蓝 1 和分散黄 1 的电喷雾电离与其分子结构内的电负性基团有关，染料电喷雾特征离子都为最外层带有偶数电子的偶电子离子；偶氮、三苯甲烷、蒽醌和硝基苯等发色团在染料的二级质谱中都发生了裂解，偶电子离子在 CID 模式下除了发生中性丢失，还会裂解生成 1 个奇电子离子和 1 个奇电子自由基；偶电子离子和奇电子离子的质量数都满足其相应的氮规则。

关键词：纺织染料；官能团；电喷雾质谱；氮规则；裂解方式

中图分类号：O 657.63 **文献标识码**：A **文章编号**：1004-2997(2009)06-0340-06

Effects of Functional Groups on Ionization and Fragmentation of Dyestuffs by ESI-MS/MS

DING You-chao, YANG An-nan, CAI Jian-he, ZHOU Shao-qiang, WU Hao

(*Textile Laboratory, Jiangsu Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Nanjing* 210001, *China*)

Abstract: Mass behavior of electrospray ionization and fragmentation mechanism of 4 harmful textile dyestuffs (direct red 28, basic red 9, disperse blue 1 and disperse yellow 1) were discussed using electrospray ionization-tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS). Experiments demonstrate that polar groups in molecule affect the ionization behavior of strong polar dyestuffs (direct red 28 and basic red 9). But for weak polar dyestuffs (disperse blue 1 and disperse yellow 1), the electron-withdrawing groups and electron-donating groups have great effects on the ionization behavior. Most characterized ions are even-electron ions (*EE*) due to soften ionization of ESI. The chromophore groups in the researched dyestuffs, such as azo, triphenylmethane, anthraquinone and nitrobenzene are found to cleavage in the mode of collision induced dissociation (CID). In ESI-MS/MS spectra, there are two main

收稿日期：2009-03-26；**修回日期**：2009-07-02

基金项目：国家“十二五”科技支撑计划项目资助

作者简介：丁友超（1977～），男（汉族），江苏泗阳人，工程师，从事生态纺织品研究。E-mail：dingyc@jsciq.gov.cn

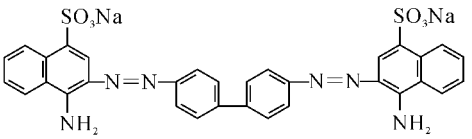
通信作者：蔡建和（1954～），女（汉族），江苏扬州人，研究员，从事纺织生产工艺和质控研究。E-mail：caijh@jsciq.gov.cn

fragmentation pathways of a EE: one involves loss of an neutral molecule to yield another EE, and the other involves loss of an neutral radical (EE^{0}.) to yield an odd-electron ion (OE.). Beside, the molecular mass (m/z) of both EE and OE. are found to follow their corresponding nitrogen rules in accordance with the nitrogen atoms contained.

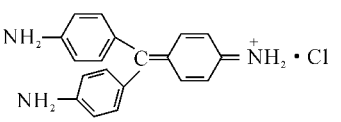
Key words: textile dyestuffs; functional groups; electrospray ionization-tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS); nitrogen rule; fragmentation pathway

由于纺织品中的有害染料可通过皮肤吸收而对人体产生毒害作用[1-2]，欧盟委员会的纺织品生态标签 Eco-label（欧盟 2002/371/EC 指令）[3]和国际环保纺织协会的纺织品生态标准 Oeko-tex standard 100[4]都要求纺织品中不得使用可分解生成致癌物质，或对人体有直接致癌致敏作用的染料，禁用的有害染料包括直接、酸性、碱性和分散等多类型染料。

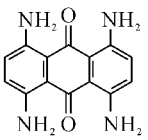
由于大部分染料不能汽化，气相色谱（GC）和气相色谱-质谱（GC/MS）联用法都难以直接检测。染料中常含有合成中间体，同分异构体和分散剂等复杂成分。高效液相色谱（HPLC）虽然对染料具有较强的分离能力，并且可以提供可靠的定量信息，但由于光谱检测器的抗干扰能力较差，难以对染料进行准确的定性鉴定。电喷雾质谱（ESI-MS）法具有较高的选择性和抗干扰能力，HPLC-ESI/MS 已被广泛应用于染料的检测[5-8]。本课题组在采用高效液相色谱-电喷雾串联质谱检测有害纺织品染料的研究中[9-10]发现，强极性染料的电喷雾电离与其分子结构内的极性基团有关，弱极性染料的电喷雾特征离子与其分子结构内的电负性基团有关，而染料的碰撞诱导裂解（CID）与其分子结构内的发色团的裂解有关，这些现象目前尚未见其他文献报道[7]。本工作拟选取直接红 28、碱性红 9、分散蓝 1 和分散黄 1 等 4 种典型的有害染料，其结构示于图 1。用直接进样法对染料进行电喷雾串联质谱检测，并对染料的 ESI 电离和 CID 裂解机理进行分析，推断官能团可能对染料在电喷雾质谱中的电离和裂解行为的影响规律，为染料的电喷雾质谱行为解析提供参考。



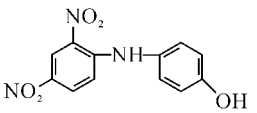
a. 直接红28（相对分子质量 696.67）



b. 碱性红9（相对分子质量 323.83）



c. 分散篮1（相对分子质量 268.27）



d. 分散黄1（相对分子质量 275.22）

图 1　染料的结构示意图和相对分子质量

Fig. 1　The structures and the relative molecular weight of dyestuffs

1　试验部分

1.1　主要仪器与装置

Accela 高效液相色谱-Access 串联四极杆质谱仪（HPLC-MS/MS）：美国 Thermo-Fisher 公司产品，配有电喷雾离子源（ESI），样品由注射泵直接进样。

1.2　主要材料与试剂

直接红 28（纯度 93%）、碱性红 9（纯度 94.5%）、分散蓝 1（纯度 81%）和分散黄 1（纯度 91%）标准品：德国 Dr. Ehrenstorfer 公司产品；甲醇和乙腈（色谱纯）：德国 Merck 公司产品；去离子水：由 MilliQ 系统纯水制备。

1.3 样品溶液的配置

准确称取各种染料的标准物质(精确至 0.01 mg),用甲醇为溶剂准确配制 1.0 g·L^{-1} 储备液,于 −18 ℃避光保存。以 V(甲醇):V(水)=50:50 为溶剂,对储备液进行梯级稀释,配制浓度为 1 mg·L^{-1}样品溶液。

1.4 质谱条件

采用 ESI 离子源,在正离子(ESI+)和负离子(ESI−)模式下检测;离子源喷射电压:−3 500 V(ESI−),4 500 V(ESI+);鞘气(N_2)流速:1.5 L·min^{-1};毛细管温度:270 ℃;碰撞气(Ar)压力:0.199 5 Pa;碰撞能量:20 eV(ESI−),−20 eV(ESI+);注射泵进样速度:5 μL·min^{-1}。

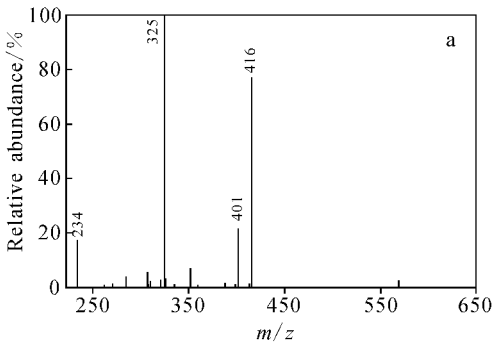
2 结果与讨论

4 种染料的化学结构和水溶性差异较大:直接红 28 分子中含有水溶性的磺酸基,是强极性的阴离子染料;碱性红 9 是阳性电荷色素和盐酸生成的盐,易溶于水电离生成阳离子,是强极性的阳离子染料;分散蓝 1 和分散黄 1 的分子中不含有强极性基团,为弱极性的分散染料,难溶于水。按分子结构中的发色团分类,直接红 28、碱性红 9 分散蓝 1 和分散黄 1 分别为:偶氮、三苯甲烷、蒽醌和硝基苯染料[11]。

本工作首先对样品进行一级质谱(ESI-MS)全扫描,选取信号较强的电喷雾特征离子作为染料的母离子,再进行母离子的碰撞诱导裂解反应(CID),对裂解生成的子离子进行全扫描,得到染料的二级质谱图(ESI-MS/MS),示于图 2a,3a,4a 和 5a。在 HPLC-MS/MS 联机的分析检测中,选取 2~3 个特征离子对(母离子/子离子)对分析物进行检测。本研究中,选取每种染料的 3 个特征离子对进行质谱解析,研究染料的 ESI 电离和 CID 裂解的机理。此外,4 种染料分子中都含有氮元素,利用特征离子的质量数满足氮规则,也是解析这 4 种染料质谱行为的手段之一。

2.1 氮规则和碰撞裂解规则

相对分子质量为 M 的分析物在电子轰击质谱(EI-MS)中,通过“硬电离”可得到分子离子 M^+。M^+最外层为奇数电子,可称为奇电子离子(odd-electron ion, *OE*.)。*OE*. 的质量数符合所谓的氮规则:结构中含有奇数个氮原子的化合物的质量数为奇数[12]。而 ESI-MS 作为一种“软电离”技术,分析物在电喷雾高电压下电离生成的准分子离子最外层电子数常为偶数,可称为偶电子离子(even-electron ion, *EE*)。*EE* 也满足氮规则,但表述与 *OE*. 相反,即结构中不含有或含有偶数个氮原子,其质量数为奇数[12]。



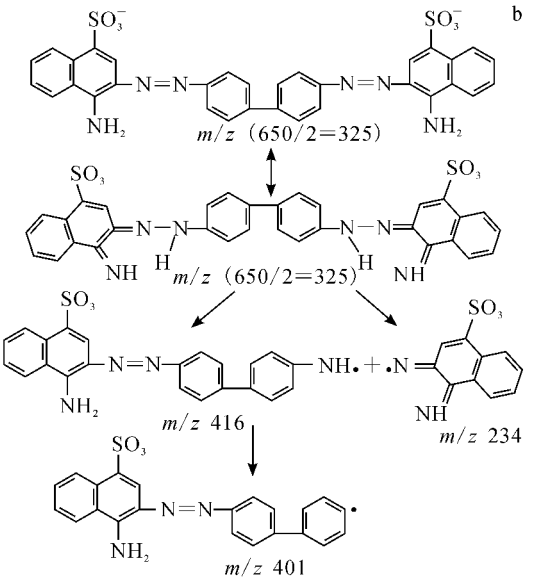


图 2 直接红 28 的二级质谱图(a)和特征离子对可能的裂解方式(b)

Fig. 2 Product-ion spectra(a) and scheme of the proposed fragmentation pattern(b) of DR28

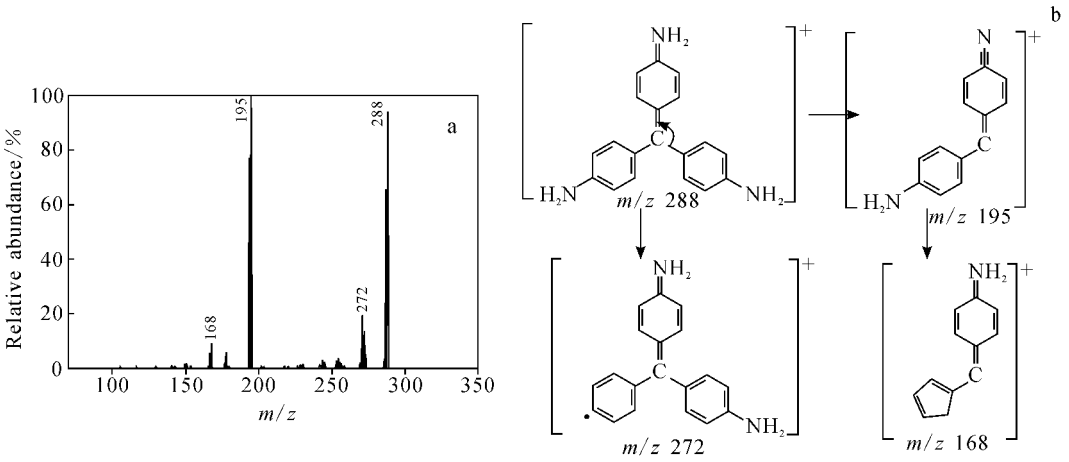


图 3　碱性红 9 的二级质谱图(a)和特征离子对可能的裂解方式(b)

Fig. 3　Product-ion spectra(a) and scheme of the proposed fragmentation pattern(b) of basic red 9

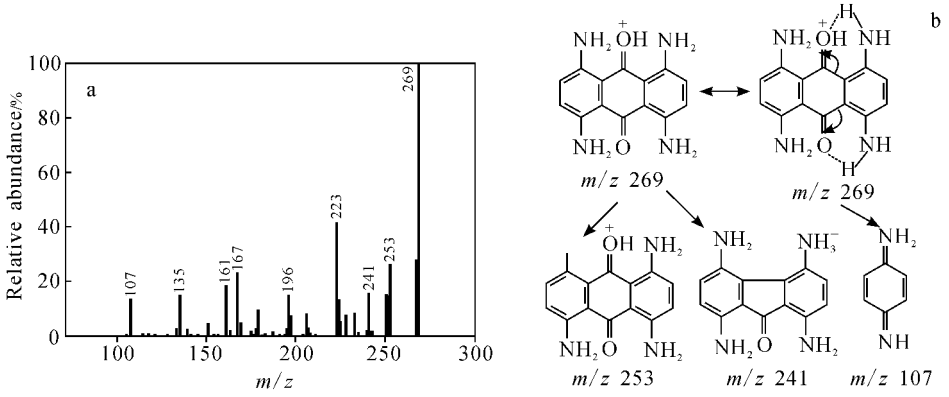


图 4　分散蓝 1 的二级质谱图(a)和特征离子对可能的裂解方式(b)

Fig. 4　Product-ion spectra(a) and scheme of the proposed fragmentation pattern(b) of disperse blue 1

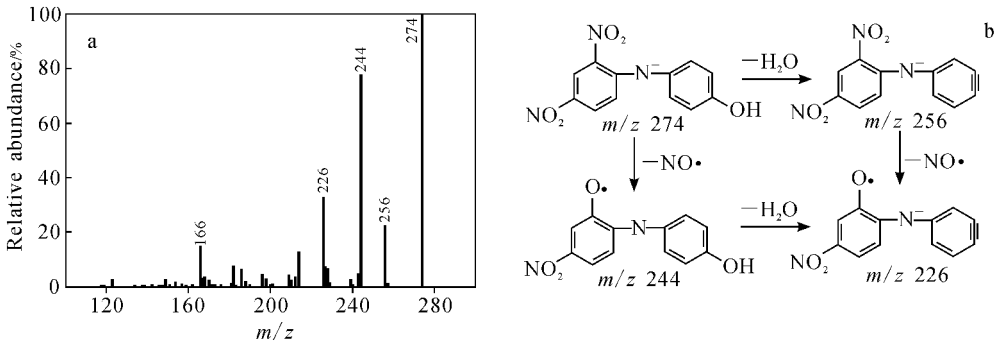


图 5　分散黄 1 的二级质谱图(a)和特征离子对可能的裂解方式(b)

Fig. 5　Product-ion spectra(a) and scheme of the proposed fragmentation pattern(b) of disperse yellow 1

电喷雾质谱中,母离子在 CID 模式下易发生中性丢失,即 1 个 *EE* 裂解生成另一个 *EE* 和 1 个中性分子(EE^0)[12]。Karni 和 Mandelbaum[13]通过研究发现:1 个 *EE* 也可裂解生成 1 个 *OE*· 和 1 个奇电子自由基($EE^{0}\cdot$)。

2.2　直接红 28 的 ESI-MS/MS 分析

文献报道,带有 $-SO_4Na$ 的化合物易电离生成 $[M-SO_4-Na]^-$[14] 或 $[M-SO_4]^+$[7]。但

本研究没有发现磺酸根直接电离的现象，直接红 28 的电喷雾电离与水溶液中电离情况相同：电离出 2 个 Na^+ 后，生成带有 2 个负电荷的 m/z 325$[M-2Na]^{2-}$。m/z 325 结构中含有 6 个氮原子，符合 EE 的氮规则。在二级质谱中，m/z 325 进一步碰撞裂解生成的 3 个特征子离子为 m/z 234、416 和 401[9]。

由于偶氮结构存在着叠氮-偶氮的互变异构[5]，直接红 28 的偶氮键在叠氮形式时发生均裂，由带 2 个负电荷的母离子 m/z 325 的偶氮键断裂生成 2 个都带 1 个负电荷的子离子 m/z 234 和 m/z 416，这 2 个子离子的外层都带有奇数个电子，其结构内含有偶数个氮，而质量数也为偶数，符合 $OE.$ 的氮规则。m/z 416 内的 C—N 键进一步断裂，生成另一个 $OE.$ m/z 401。

2.3 碱性红 9 的 ESI-MS/MS 分析

碱性红 9 的电喷雾特征离子为 m/z 288，是分子中 Cl^- 电离后形成的阳离子$[M-Cl]^+$，与其在水溶液中的电离情况相同。m/z 288 结构中含有 3 个氮原子，符合 EE 的氮规则。在二级质谱中，m/z 288 碰撞裂解生成的 3 个特征子离子为 m/z 272、195 和 165[9]。

三苯甲烷结构是一个离域的共轭系统，整个结构在同一平面上，其带的电荷可被认为加在整个系统上，而不是某个特定的原子上。在碰撞裂解过程中，EE^+ m/z 288 在丢失 1 个中性氨基自由基($OE^0.$ m/z 16)后，裂解成 $OE^0.$ m/z 272，而 m/z 288 的三苯甲烷结构也发生断裂。中心碳发生 C—C 键断裂并伴随氢的迁移，丢失 1 个中性分子苯胺(EE^0 m/z 93)后，裂解成另一个偶电子离子 EE^+ m/z 195。EE^+ m/z 195 进一步裂解生成 EE^+ m/z 168 和 1 个 HCN(EE^0 m/z 27)中性分子。3 个特征子离子的质量数都符合其相应的氮规则。

2.4 分散蓝 1 的 ESI-MS/MS 分析

分散蓝 1(相对分子质量为 268)分子中含有 4 个具有供电子能力的 $-NH_2$，在电喷雾电离中，易得到 1 个由溶剂电离生成的 H^+，形成 EE^+ m/z 269$[M+H]^+$ 的母离子。在二级质谱中，m/z 269 碰撞裂解生成的 3 个特征子离子为 m/z 253、241 和 107[9]。

在蒽醌染料结构中，由于在吸电子的羰基 a 位有给电子的氨基，易造成整个结构的极化[6]，同时由正电荷引起的 2 个电子向羰基的迁移易造成 i 断裂，使得整个蒽醌结构发生断裂和重排[12]。分散蓝 1 中的蒽醌结构 i 断裂后，重排生成苯胺的偶电子离子 m/z 107。Michal[7] 认为：蒽醌染料通过缩短芳香环上的 1 个碳原子后产生中性丢失。本研究中，分散蓝 1 的 EE^+ m/z 269 丢失 1 个中性分子 CO (EE^0 m/z 28)，缩短芳香环上的 1 个羰基生成 m/z 241(EE^+)。偶电子离子 EE^+ m/z 269 进一步裂解生成 1 个氨基自由基($OE^0.$ m/z 16)和奇电子离子 $OE^0.$ m/z 253。

2.5 分散黄 1 的 ESI-MS/MS 分析

分散黄 1(相对分子质量为 275)分子中含有 2 个具有吸电子能力的 $-NO_2$，在电喷雾电离中易失去 1 个 H^+，而形成 EE^- m/z 274$[M-H]^-$ 的特征离子。在二级质谱中，m/z 274 碰撞裂解生成的 3 个特征子离子为 m/z 256[8]、244 和 226。

在 EE^- m/z 274 的碰撞裂解中，分散黄 1 中的羟基易以 H_2O 中性分子形式脱去，而形成 EE^- m/z 256。此外，发色团的硝基苯[7] 丢失 1 个一氧化氮自由基($OE^0.$ m/z 30)后，裂解生成 $OE^0.$ m/z 244。EE^- m/z 256 继续丢失 1 个 $OE^0.$ m/z 30，$OE^0.$ m/z 244 继续脱去 1 个 H_2O 分子后，都可生成奇电子离子 $OE^0.$ m/z 226。

3 结 论

本研究探讨了直接红 28，碱性红 9，分散蓝 1和分散黄 1 等 4 种染料的 ESI 电离机理和 3 个特征离子对的 CID 裂解机理。虽然这 4 种染料的化学结构和化学性质差异较大，但仍具有如下相似的质谱行为规律：

1) 与 EI-MS“硬电离”主要生成奇电子离子不同，染料通过电喷雾“软电离”生成偶电子离子，电喷雾特征离子的质量数符合氮规则。

2) 极性染料直接红 28 和碱性红 9 虽然在不同的正负模式下检测，但其电喷雾特征离子都与其在水溶液中电离离子相同，主要与其化学结构中的极性基团有关。分子结构中不含强极性基团的分散蓝 1 和分散黄 1，其电喷雾电离与其分子结构中的电负性基团有关：含供电子能力基

团的分散蓝 1 易得到 1 个质子 H^+,而含有吸电子能力基团的分散黄 1 易失去 1 个质子。ESI 正负检测模式与电喷雾中由液态转化为气态化合物电离的离子类型有关[5]。

3) 以上 4 种染料在二级质谱中的特征子离子都与偶氮,三苯甲烷,蒽醌和硝基苯等 4 种发色团的诱导裂解有关。染料的颜色主要由于不饱和发色团吸收某种波长的光而产生,而这些不饱和基团在碰撞诱导裂解质谱中也容易发生断裂。

4) 偶电子离子主要发生两种碰撞裂解方式:丢失中性分子生成另一个偶电子离子和丢失中性自由基生成另一个奇电子离子,这与以往的研究结果比较一致。

由于 ESI 质谱裂解行为比较复杂,本研究仅对 4 种典型染料的特征裂解方式进行了推理。要完全理解染料的电喷雾质谱行为,还需进一步扩大染料的研究范围,对其二级质谱的碰撞裂解展开更全面和更深入的研究。

参考文献:

[1] ANLIKER R. Ecotoxicology of dyestuffs—a joint effort by industry [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1979, 3(1): 59-74.

[2] KLAUSE S, CHRISTOPH H, ISMENE J. Mutagenicity of textile dye products [J]. Journal of applied toxicology, 2004, 24:83-91.

[3] Official Journal of European Communities L133/29. COMMISION DECISION of 15 May 2002 on establishing the ecological criteria for the award of the Community eco-label to textile products and amending Decision 1999/178/EC [EB/OL]. http://eur-lex. europa. eu/lexUriServ/site/en/oj/2002/1-133/1-13320020518en00290041. pdf.

[4] International association for research and testing in the field of textile ecology. Oeko-tex standard 100: general and special conditions[EB/OL]. http://www. oeko-tex. com/xdesk/ximages/470/16459_100def2007. pdf.

[5] THORSTEN R. Liquid chromatography-mass spectrometry and strategies for trace-level analysis of polar organic pollutants[J]. Journal of Chromatography A, 2003, 1 000(1/2):477-501.

[6] EPOLITO W J, LEE Y H, BOTTOMLEY L A, et al. Characterization of the textile anthraquinone dye Reactive Blue 4[J]. Dyes and Pigments, 2005, 67(1):35-46.

[7] MICHAL H, KATERINA V, DANA V. Effects of functional groups on the fragmentation of dyes in electrospray and atmospheric pressure chemical ionization mass spectra[J]. Dyes and Pigments, 2007, 75(1):156-165.

[8] 全国纺织品标准化技术委员会. GB/T 20383—2006 纺织品-致敏性分散染料的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2006.

[9] 丁友超,曹锡忠,吴丽娜,等. 高效液相色谱-电喷雾串联质谱快速分离鉴定纺织品中的 9 种致癌染料[J]. 色谱, 2008,26(5):603-607.

[10] 丁友超,徐鑫华,孙　成,等. 液相色谱-串联质谱测定纺织品中分散黄 23 和分散橙 149[J]. 分析化学,2008,36(9):1 289-1 292.

[11] 化学工业部染料工业科技情报中心站. 化工产品手册-染料·有机颜料[M]. 北京:化学工业出版社, 1995.

[12] MCLAFFERTY F W. Interpretation of mass spectra[M]. 3rd. California: University Science Books Mill Valley,1980.

[13] KARNI M, MANDELBAUM A. The even electron rule[J]. Organic Mass Spectrometry, 1980, 15(2):53-64.

[14] STORM T, REEMTSMA T, JEKEL M. Use of volatile amines as ion-pairing agents for the high performance liquid chromatographic-tandem mass spectrometric determination of aromatic sulfonates in industrial wastewater [J]. Journal of Chromatography A, 1999, 854(1/2):175-186.