

偶氮胂 III 的电喷雾质谱行为

胡 斌^a 杨水平^a 张 燮^a 胡秀丽^b 陈焕文^{a, b*}

(^a 东华理工大学化学生物与材料科学学院 抚州 344000 ^b 吉林大学化学学院 长春 130023)

摘 要 采用电喷雾质谱法研究了偶氮胂 III 离子化过程。结果发现, 偶氮胂 III 易于在电喷雾电离过程中通过去质子化作用形成带有单电荷或双电荷负离子。考察了酸度和醋酸根等离子对偶氮胂 III 电喷雾电离的影响。结果表明, 偶氮胂 III 在弱酸性条件下有利于形成负离子。提出了偶氮胂 III 在电喷雾电离源中通过去质子化作用形成负离子的可能机理, 并用串联质谱法研究了所形成不同价态离子的裂解规律。结果表明, 电喷雾串联质谱法能方便快捷地研究偶氮胂 III 的电离行为和所形成不同价态离子的性质, 其检测限达 0.74×10^{-15} g。

关键词 偶氮胂 III 电喷雾, 串联质谱

中图分类号: O657.6

文献标识码: A

文章编号: 1000-0518(2008)05-0510-04

偶氮类化合物与科学研究、社会生产和日常生活有着密切的联系。许多偶氮化合物不但是重要的医药中间体、食品或纺织品的染色剂, 还是重要的光学材料^[1]和有机分析试剂^[2], 在痕量组分的分离分析中起着重要的作用。但部分偶氮化合物也对环境产生污染, 对人体有毒害作用。偶氮胂 III 是对称性双偶氮化合物的典型代表, 是分光光度法测定痕量铀、钍等金属离子最为重要的试剂^[2]。对偶氮胂 III 的电喷雾 (ESI) 串联质谱法研究不但能够直接考察这类偶氮化合物在 ESI 这一常见软电离源中的行为, 揭示这类化合物在串联质谱研究中碰撞诱导解离 (CID) 的规律, 为 ESI/MS 测定多种样品 (如印染废水、纺织品) 中痕量偶氮化合物提供依据, 而且还可能在 ESI 中形成偶氮胂 III 铀的多元配合物, 为复杂基体中痕量铀组分的快速质谱分析与鉴定提供思路。因此, 本文采用 ESI/LTQ-MS 质谱仪对偶氮胂 III 的电喷雾质谱行为进行了探索性研究。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

LTQ-XI 型线性离子阱质谱仪 (美国 Finnigan 公司), 离子源 (ESI 美国 Finnigan 公司), 偶氮胂 III 为化学纯试剂, 冰醋酸为分析纯试剂, 所用水为二次蒸馏水。

1.2 偶氮胂 III 溶液配制

称取 0.05 g 偶氮胂 III 溶于水稀释定容至 100 mL 配制成质量分数为 0.05% 的溶液。分别用冰醋酸配制 pH 值为 2.0 ~ 6.0 的水溶液各 100 mL, 然后将以上醋酸溶液用蒸馏水稀释氮胂 III 母液, 获得不同酸度下的 0.01×10^{-12} ~ 10×10^{-12} g/mL 的偶氮胂 III 工作溶液, 室温避光存放备用。

1.3 质谱条件

将 LTQ-MS 设置为负离子检测模式, 喷雾电压为 3.0 kV, 仪器毛细管温度为 300 °C, 喷雾气 (N₂) 为 172.25 kPa, 偶氮胂 III 溶液通过注射泵进样, 流速为 4 μ L/min。多级串联质谱通过碰撞诱导解离 (CID) 反应获得, 母离子选择的窗口宽度为 1.6 Da, 碰撞时间为 30 ms, 碰撞能量为 15% ~ 25%。其它参数采用 LTQ-MS 推荐的缺省参数, 实验时没有进行优化。所有质谱的记录时间为 1 min。

2 结果与讨论

2.1 一级质谱

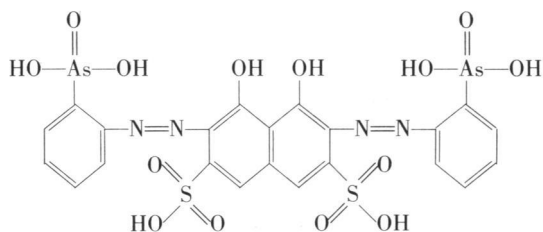
偶氮胂 III (MW 776) 在水溶液中为八元有机酸, 其结构式如 Scheme 1 所示。实验发现, 偶氮胂 III 在

2007-05-06 收稿, 2007-08-29 修回

国家自然科学基金 (20505003) 和国家科技部公益基金 (2005D1B6 132) 资助项目

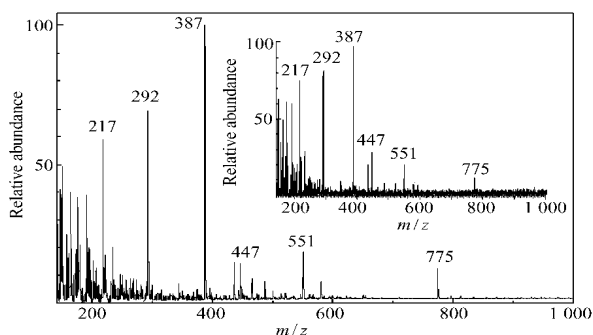
通讯联系人: 陈焕文, 男, 博士, 教授; E-mail: chw8868@163.com; 研究方向: 分析化学

ESI 正离子模式下难以获得信号, 表明偶氮胂 III 难以被质子化。ESI 是软电离源, 一般仅通过质子化 / 去质子化作用形成待测物离子。在 ESI 正离子模式下, 由于存在醋酸等酸性物质, ESI 产生的质子主要由酸性较强的醋酸提供。如果待测物的质子亲和势 (PA) 比试剂分子的质子亲和势大, 则质子化作用易于进行, 该待测物能够在 ESI 中形成稳定的 $(M+H)^+$ 离子^[3]。反之, 如果待测物的质子亲和势 (PA) 比试剂分子的质子亲和势小, 则易于发生去质子化作用, 该待测物能够在 ESI 中形成稳定的 $(M-H)^-$ 离子^[3] 需要在负离子检测模式下进行观察。由此推测, 在偶氮胂 III 中虽然存在许多易于接受质子的 Q N 原子, 但是这些原子通过 $N=N$ 结构与苯环和萘环相连, 形成超级共轭结构, 分散了这些原子上的电子, 因而难以被质子化。实验证明, 在醋酸体系中, 偶氮胂 III 不能形成质子化正离子, 表明在气相中偶氮胂 III 的 8 个羟基均具有一定酸性。



Scheme 1 Molecular structure of arsenazo III

因此, 使用同种偶氮胂 III 溶液, 在 ESI 负离子模式下获得了良好的信号, 其一级质谱如图 1 所示。从图 1 可以看出, 该偶氮胂 III 溶液在 ESI-MS 中形成一系列质谱峰, 主要分布在低质荷比区域, 除基峰 m/z 387 外, 其它峰的强度均较小, 可能由偶氮胂 III 中杂质引起。实验发现, 谱图中 m/z 775 为偶氮胂 III 通过去质子化丢失 1 个 H 后形成的单电荷离子, 约占 13% 丰度。基峰 m/z 387 为丢失 2 个 H 后获得的双电荷离子。从不同酸度的醋酸介质对偶氮胂 III ESI 谱图的影响结果发现, 在较宽的范围内 (pH 值为 2~6), ESI 质谱所获得的主要的质谱峰一致, 但其峰的绝对强度随着溶液酸度的降低而略有增加。当 $pH=6$ 时, m/z 387 的绝对强度值为 $pH=2$ 时的 1.3 倍 (见图 1 中插入图), 表明弱酸性条件有利于偶氮胂 III 形成负离子。在不同 pH 值下的双电荷离子的丰度比单电荷离子的丰度高许多, 表明在该条件下形成的双电荷离子要比单电荷离子稳定得多。

图 1 偶氮胂 III 在醋酸-水介质 ($pH=2$) 中获得的 ESI-MS 谱图 (插入图为 $pH=6$ 时所获得)Fig 1 ESI-MS of arsenazo III in water/acetate acid solution ($pH=2$)Insert mass spectrum obtained from a solution with pH value of 6

在 ESI 负离子模式下, 有机分子首先通过解离分子中活泼氢而形成负离子。偶氮胂 III 为八元酸, 在水溶液中存在强弱不等的八级电离常数^[4], 分别为 $k_1=1.8$ $k_2=2.4$ $k_3=3.5$ $k_4=5.1$ $k_5=6.7$ $k_6=7.8$ $k_7=9.3$ $k_8=11.5$ 对应的酸式 H 分别为磺酸基、砷酸基和酚羟基中的氢。在水介质中, 2 个磺酸基中羟基上的氢在强酸 (pH 值为 0~3) 中可离解。可见在水溶液中, 受水分子的溶剂化效应的影响, 磺酸基的酸性远大于其它活泼氢的酸性, 是水溶液中最易于电离的 H。然而, ESI 是一个从液相到气相的复杂的物理化学过程, 在该过程中形成的离子直接暴露在气相中, 因此溶剂效应基本被消除, 而物质在气相中的本质属性^[5] 成为决定因素。根据偶氮胂 III 分子的结构特点, 偶氮胂 III 整个分子是一个共轭体系。共价键的量子化学理论^[6] 和电子在有机物离子迁移^[7] 规律表明, 在没有溶剂影响的前提下, 偶氮胂 III 中所形成的电荷和游离基中心应在与该共轭体系直接共轭的氧原子上才使电荷得到最大程度的分散。因此, 只有萘环上羟基中的氧满足此条件, 而其它的羟基则没有直接与共轭体系相连。此外, 由于偶氮胂 III 中磺酸基是强吸电子基且处于该羟基的间位, 更有利于分散该羟基氧原子上的负电荷。在气相中, 由于没有溶剂的作用, 磺酸基中羟基上的氧原子受到与其相连的硫原子诱导效应的影响 (Scheme 1), 使该氧原子上的电子密度较大, 因而使该羟基上的氢原子难以解离。因此, 偶氮胂 III 负离子的电荷中心可能在萘环羟基的氧原子上, 而且该电荷能够很好地分散在整个分子体系中, 使整个体系的能量最低。

2.2 多级串联质谱

为了对一级质谱中偶氮胂 III 负离子进行鉴定, 需要对其进行串联质谱研究。首先选择 m/z 775 为

母离子, 获得二级质谱如图 2^a所示, 同时选择二级质谱中的基峰 m/z 757 进行碰撞诱导裂解实验, 获得三级质谱如图 2^b所示。图中可见, 在二级质谱中, 母离子 m/z 775 丢失水后得到基峰 m/z 757, 而其它碎片的丰度均低于 10%, 说明母离子 m/z 775 很容易丢失 H_2O 而产生一个相对稳定的碎片 m/z 757。如果母离子 m/z 775 同时丢失 2 个水分子, 则获得了 m/z 739。母离子 m/z 775 中存在 7 个羟基, 如果需要丢失水分子, 则该羟基的 α 或 β 位需有活泼氢。由于 2 个膦酸基中的羟基满足此条件, 且消去水后形成的 $O=A=O$ 基团的吸电子能力比原来的 $HO-A=OH$ 基团更强, 更有利于将分子中的负电荷分散, 因此该结构很稳定。因碰撞能量较小, 从母离子中离去的水分子也带走部分能量, 使得母离子丢失 2 个水分子的可能性较小, 所以碎片 m/z 739 的丰度仅为 m/z 757 的 6% 左右。母离子 m/z 775 还能够在丢失 H_2O 后继续丢失磷酸基中的 SO_2 而得到碎片 m/z 693, 该碎片丰度很小 (4%), 表明该途径的能垒很高, 不易于进行。如果增加碰撞能量或者将 m/z 757 选择后进行 CD 则可获得稳定的碎片 m/z 739 (图 2^b), 离子 m/z 739 也可能发生此消去反应, 形成低丰度 (2%) 碎片 m/z 675, 再次表明该途径难以进行。在三级质谱 (图 2^b) 中, 母离子 m/z 757 首先丢失水分子形成基峰 m/z 739。由于多级质谱中离子的能量较高, 能进行深度裂解, 所以碎片 m/z 739 还可丢失 N_2 而得到碎片 m/z 711, 该碎片继续丢失 H_2O 和 SO_2 而得到 m/z 629。碎片 m/z 629 可能再次丢失 SO_2 而得到碎片 m/z 565 或再次丢失 N_2 后得到碎片 m/z 601。在母离子 m/z 757 中, 受电子的迁移诱导效应影响, 使负电荷中心同一苯环上磷酸基容易丢失 1 个 SO_2 得到碎片 m/z 693 (55%), 后者继续丢失 H_2O 而得到 m/z 675 或继续丢失 N_2 而得到 m/z 665。

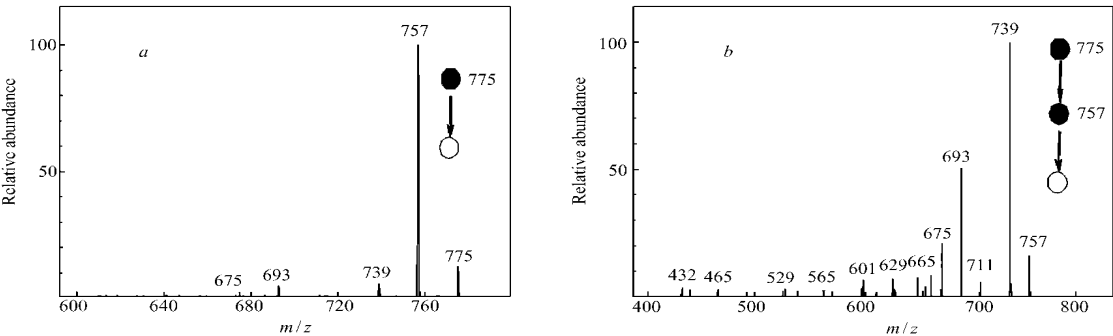


图 2 偶氮膦 III 的串联质谱

Fig 2 Tandem MS of deprotonated arsenazo III

a MS/MS spectrum of m/z 775, b MS/MS/MS spectrum of m/z 775

当在羟基的氧原子上形成一个负电荷中心后, 由于共轭效应的影响, 将诱导另外一个羟基上形成新的负电荷中心, 形成带双电荷的负离子 m/z 387。对 m/z 387 做串联质谱分析, 所获得质谱如图 3 所示。在二级质谱中, m/z 387 丢失 H_2O 后得到基峰碎片 m/z 378, 该碎片再次丢失 H_2O 后得到 m/z 369 或者丢失 N_2 后得到碎片 m/z 364, 该碎片再次丢失 H_2O 后分别得到 m/z 355 和 m/z 346 后者的丰度较高 (73.5%), 表明该裂解途径占优势。图 3 结果表明, 不管是丢失 H_2O 还是 N_2 , 在质谱图中标示的间隔为 9 或 14 单位, 恰好是这些中性碎片分子量的一半。因此数据表明 m/z 387 确实是一个二价离子。在 ES 中, 多电荷的生物大分子离子^[8-9] 比较常见, 但是这些生物活性物质的结构明显与偶氮膦 III 不同。前人报道^[10-11] 过的二价小分子负离子的结构也与偶氮膦 III 不同, 因此, 形成偶氮膦 III 二价负离子的机理还有待于进行深入研究。

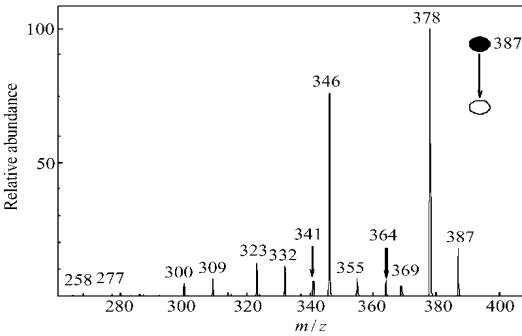


图 3 偶氮膦 III 的 m/z 387 二级质谱

Fig 3 MS/MS spectrum of arsenazo III at m/z 387

由于二价负离子的丰度比一价离子丰度高至少 10 倍, 因此选择二价离子为偶氮胂 II 的分析信号时可获得较高的灵敏度。实验表明, 当偶氮胂 III 的质量浓度低至 1.0×10^{-12} g/mL 时, 仍然可以获得良好的信号 (m/z 387 绝对强度信号平均为 131, 噪音相对标准方差为 6.8%, $n=24$)。计算表明, 本方法的检测限为 0.74×10^{-15} g ($S/N \geq 3$)。因此, 研究结果不但有助于了解偶氮类化合物的电喷雾电离的行为和性质, 同时表明电喷雾串联质谱法可以快速、灵敏、准确地检测偶氮胂 III 为偶氮类化合物的电喷雾质谱法的研究提供了可借鉴的经验, 为建立偶氮类化合物的质谱检测方法提供了依据。

参 考 文 献

- 1 Dvornikov A S Renzepis P M Opt Commun J, 1997 136(1-2): 1
- 2 ZHANG X ie(张燮), Chief Editor(主编). Industrial Analysis Chemistry(工业分析化学)[M]. Beijing(北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), 2003
- 3 Pramanik B N Gross M L Ganguy A Chief Editor(主编). JIANG Hong Jian(蒋宏健), YU Ke Jia(俞克佳) Trans(译). Applied Electrospray Mass Spectrometry(电喷雾质谱应用技术)[M]. Beijing(北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), 2005: 142
- 4 SUN Jia Yan(孙嘉彦), YN You Lin(殷有林). Chemical Analysis of Uranothorite(铀钍矿石的化学分析)[M]. Beijing(北京): Nuclear Energy Press(原子能出版社), 1986: 45
- 5 Reichardt C Auth(著). Solvent Effects in Organic Chemistry(有机化学中的溶剂效应)[M]. Beijing(北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), 1978: 70
- 6 Michael Mueller. Fundamentals of Quantum Chemistry Molecular Spectroscopy and Modern Electronic Structure Computation[M]. Kluwer Academic Publishers New York 2002
- 7 McLafferty F W. Interpretation of Mass Spectra[M], 3rd Ed. California University Science Books 1980
- 8 CHENG Hai Ping(成海平), QIAN Xiao Hong(钱小红). Prog Biochem Biophys(生物化学与生物物理进展)[J], 2000 27(6): 584
- 9 ZHANG Tian Mu(张天幕). Life Sci Instrum(生命科学仪器)[J], 2004 2(5): 21
- 10 Andreas Dreuw Lorenz S. Phys Rev J, 2002: 102
- 11 Markus K Scheller Robert N Compton Lorenz S. Cederbaum Sci J, 1995 5239(17): 270

Multiple Stage Electrospray Ionization Mass Spectrometry of Arsenazo III

HU Bin^a, YANG Shui Ping^a, ZHANG Xie^a, HU Xiu Li^b, CHEN Huan Wen^{a, b*}

(^a East China Institute of Technology Fuzhou 344000

^b Chemistry College Jilin University Changchun 130023)

Abstract Electron spray ionization mass spectrometry (ESIMS) was employed for direct investigation of arsenazo III aqueous solutions. Experimentally, it was found that arsenazo III formed singly (m/z 775) or doubly charged ions (m/z 387) by deprotonation in the ESI process. Under the experimental conditions, the signal of m/z 387 was 20 times higher than that of m/z 775. The formation of the negative ions of arsenazo III was favored in weakly acidic solution. The characteristic fragmentation patterns of the anions (i.e., m/z 775, m/z 387) of arsenazo III were obtained by multiple stage tandem mass spectrometry with a collision energy of 15% ~ 25%, providing evidence for identifying arsenazo III in a complex mixture. The data showed that a low limit detection of 0.74×10^{-15} g was obtained with tandem mass spectrometry for the doubly charged anions (m/z 387), showing that electrospray ionization tandem mass spectrometry is a useful tool for the study and detection of arsenazo III.

Keywords arsenazo III ESI tandem mass spectrometry