

# 离子阱-飞行时间串联质谱定性检测 古代纺织品中的染料

## LCMS-IT-TOF-023

**摘要：** 本文使用LCMS-IT-TOF飞行时间串联质谱仪定性研究了一种黄色古代纺织品上使用的未知染料。依据LCMS-IT-TOF的高质量数精度和多级质谱能力，从染料库中筛选出了4种可能使用的染料，并给出多级质谱图。

**关键词：** UFLC LCMS-IT-TOF 液质联用 古代纺织品 染料

中国古代纺织品印染的历史可以追溯到新石器时代的后期，上下数千年。几千年的历史长河中，无数不知名的印染工艺匠师通过艰巨的劳动、长期的实践，发现发明了矿物原料和植物染料，并创造了纺织品印花工艺技术。纺织品印花染料之丰富，印花技术之先进，印花工艺之精湛，在世界纺织品印花史上是非常杰出的和十分罕见的。对于现代来说，研究古代染料染色对于现代纺织品修复有重要的意义。本文使用岛津超快速液相色谱仪与离子阱飞行时间串联质谱仪LCMS-IT-TOF联用系统，分析了一种黄色古代纺织品上使用的染料，推测了可能的染料种类并给出可能的裂解途径。

### 实验部分

#### 1.1 仪器

岛津超快速液相色谱仪(UFLCX)与离子阱飞行时间串联质谱仪(LCMS-IT-TOF)联用系统。具体配置C-20AD×2(输液泵)，DGU-20A3(在线脱气机)，SIL-20AC(自动进样器)，CTO-20AC(柱温箱)，SPD-M20A(二极管阵列检测器)，CBM-20A(系统控制器)，LCMS-IT-TOF(离子阱飞行时间串联质谱仪)，LCMSsolution Ver. 3.6(色谱工作站)。

#### 1.2 分析条件

##### 1.2.1 液相条件

分析仪器：UFLC系统

流动相：使用两种流动相条件进行检测。条件1：A：水；B：乙腈；条件2：A：10 mM醋酸铵水溶液，用醋酸调pH值至4.0；B：乙腈

流速：0.4 mL/min

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS II 2.0 mm×100 mm，2.2 μm

进样体积：5 μL

柱温：40°C

洗脱方式：梯度洗脱

梯度程序：

| Time  | Module     | Action | Value |
|-------|------------|--------|-------|
| 5.00  | Pumps      | B.Conc | 80    |
| 7.00  | Pumps      | B.Conc | 80    |
| 8.00  | Pumps      | B.Conc | 10    |
| 11.00 | Controller | Stop   |       |

### 1.2.2 质谱条件

分析仪器：LCMS-IT-TOF

离子源：ESI，正负离子同时扫描

扫描范围：MS<sup>1</sup>：m/z 100-600；MS<sup>n</sup>：m/z 70-600

加热模块温度：200℃

脱溶剂管温度：200℃

雾化气流速：1.5 L/min

干燥气流速：10 L/min

离子源电压：正离子模式：+4.5 kV；负离子模式：  
-3.5 kV

检测器电压：1.70 kV

离子累积时间：10 ms

CID参数：碰撞能量50%，碰撞气50%

校准方法：自动调谐优化电压，外标法校准质量数。

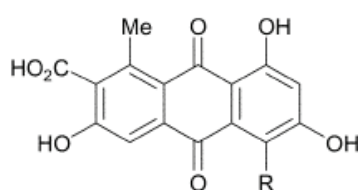
### 1.3 样品制备

将织物放在小瓶中，加入1 mL水/甲醇/37%HCl (1/1/2, v/v/v)，将小瓶敞口放在加热板上，105℃加热10 min，此时样品近干，加入1 mL甲醇/水(1/1, v/v)溶解残渣，加盖涡旋，溶液经0.22 μm滤膜过滤后进样检测。

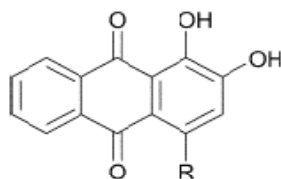
## 结果讨论

### 2.1 黄色纺织品用染料的可能结构

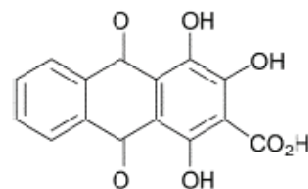
备选的结构式共13种，结构及名称如下，其质谱信息见下表。



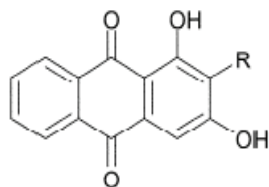
**21** R = OH, kermesic acid  
**22** R = H, flavokermesic acid



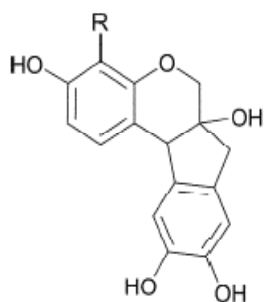
**26** R = H, alizarin  
**27** R = OH, purpurin



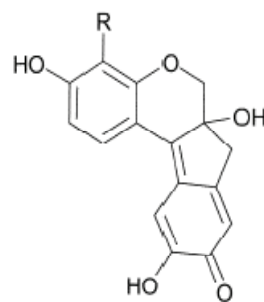
**28**, pseudopurpurin



**29** R = H, xanthopurpurin  
**30** R = Me, rubiadin  
**31** R = CH<sub>2</sub>OH, lucidin  
**32** R = CO<sub>2</sub>H, munjistin



**33** R = H, brazilin  
**34** R = OH, haematoxylin



**35** R = H, brazilin  
**36** R = OH, haematein

| No. | 染料编号 | 名称             | 分子式  | [M+H] <sup>+</sup> | [M-H] <sup>-</sup> |
|-----|------|----------------|--|--------------------|--------------------|
| 1   | 21   | Kermesic acid  | C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub> | 331.0448           | 329.0303           |
| 2   | 22   | Flavokerseemic | C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub> | 315.0499           | 313.0354           |
| 3   | 26   | Alizarin       | C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>  | 241.0495           | 239.0350           |
| 4   | 27   | Purpurin       | C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> O <sub>5</sub>  | 257.0444           | 255.0299           |
| 5   | 28   | Pseudopurpurin | C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>  | 301.0343           | 299.0197           |
| 6   | 29   | Xanthopurpurin | C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>  | 241.0495           | 239.0350           |
| 7   | 30   | Rubiadin       | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> | 255.0652           | 253.0272           |
| 8   | 31   | Lucidin        | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> | 271.0601           | 269.0455           |
| 9   | 32   | Munjistin      | C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>  | 285.0758           | 283.0248           |
| 10  | 33   | Brazilin       | C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub> | 287.0914           | 285.0768           |
| 11  | 34   | Haematoxylin   | C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> | 303.0863           | 301.0718           |
| 12  | 35   | Braziliein     | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub> | 285.0758           | 283.0612           |
| 13  | 36   | Haematein      | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> | 301.0707           | 299.0561           |

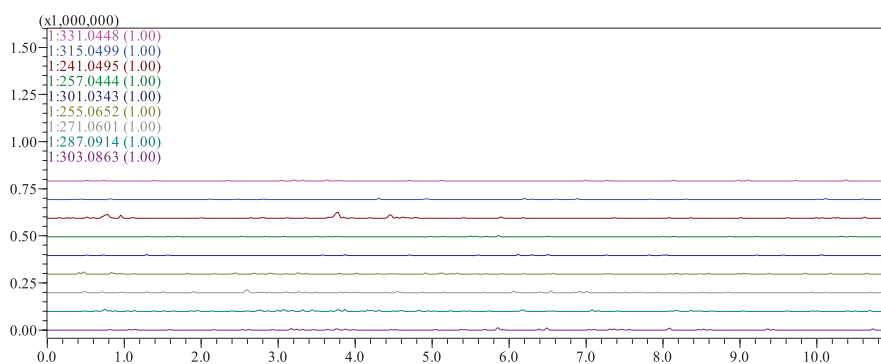
## 2.2 样品的质谱图

### 2.2.1 水-甲醇体系(条件1)

使用水和甲醇作为流动相的测试结果如下。

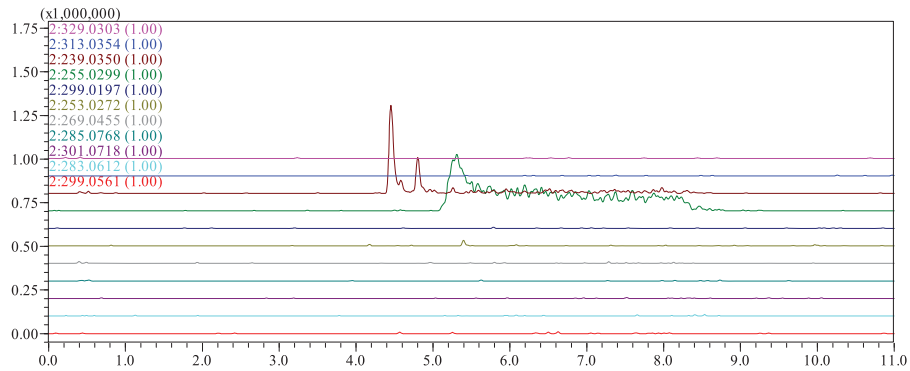
#### 2.2.1.1 正离子模式提取离子流图

正离子模式下样品的提取离子流图如下图所示。目标染料在正离子模式下没有明显响应。

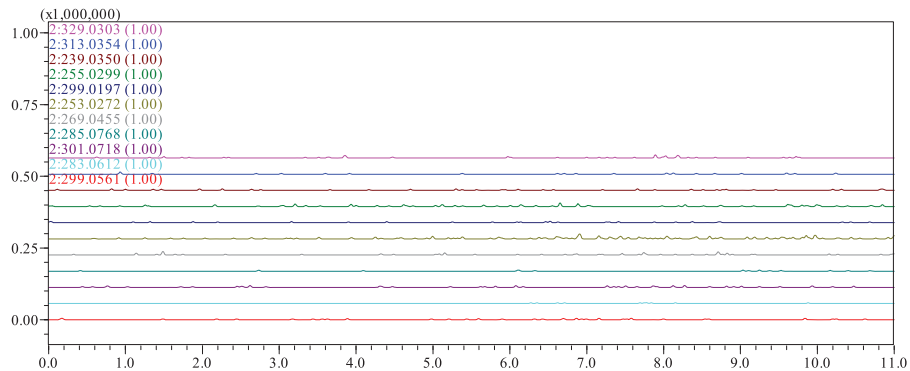


### 2.2.1.2 负离子模式提取离子流图

负离子模式下样品的提取离子流图如下图所示。m/z 239.0350和m/z 255.0299均有明显响应，其中m/z 239.0350为Alizarin(26号)和Xanthopurpurin(29号)的[M-H]<sup>-</sup>峰，由于Alizarin极性大于Xanthopurpurin，所以m/z 239.0350前后两个出峰分别对应Alizarin(26号)和Xanthopurpurin(29号)；m/z 255.0299为Purpurin(27号)的[M-H]<sup>-</sup>峰。

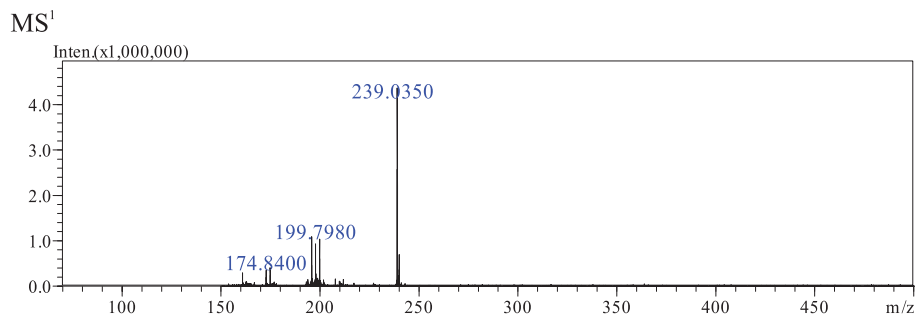


所有检测到的化合物在空白中没有发现，空白的质谱图如下所示。

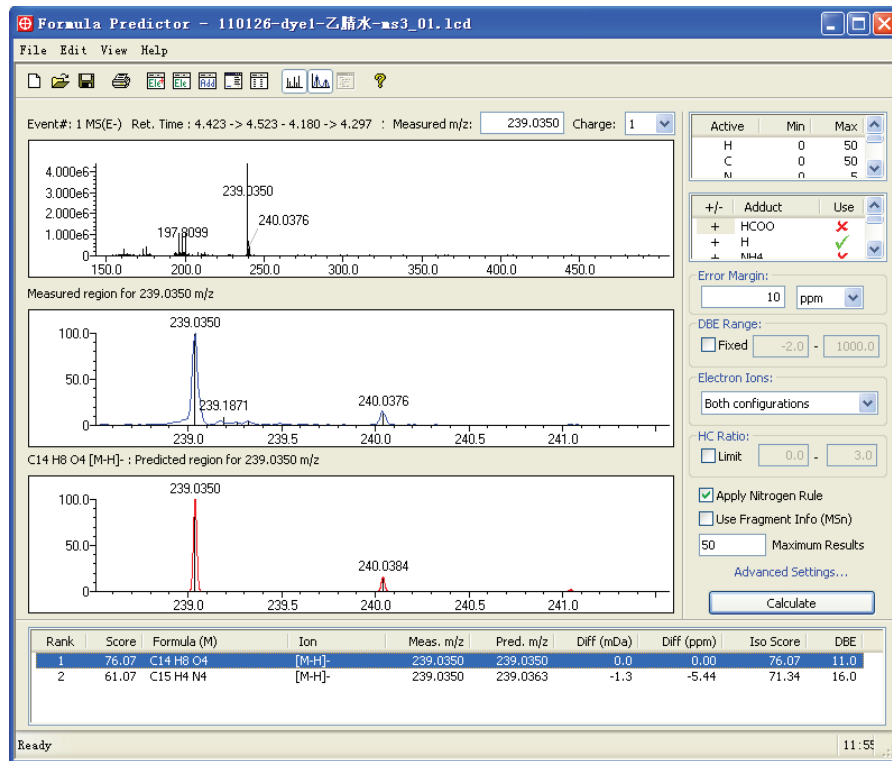


### 2.2.1.3 Alizarin(26号)的多级质谱图

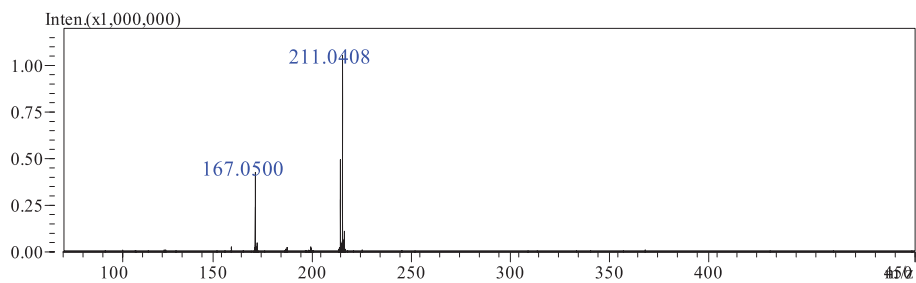
由于Alizarin在负离子模式下响应较好，所以，多级质谱使用负离子模式扫描。



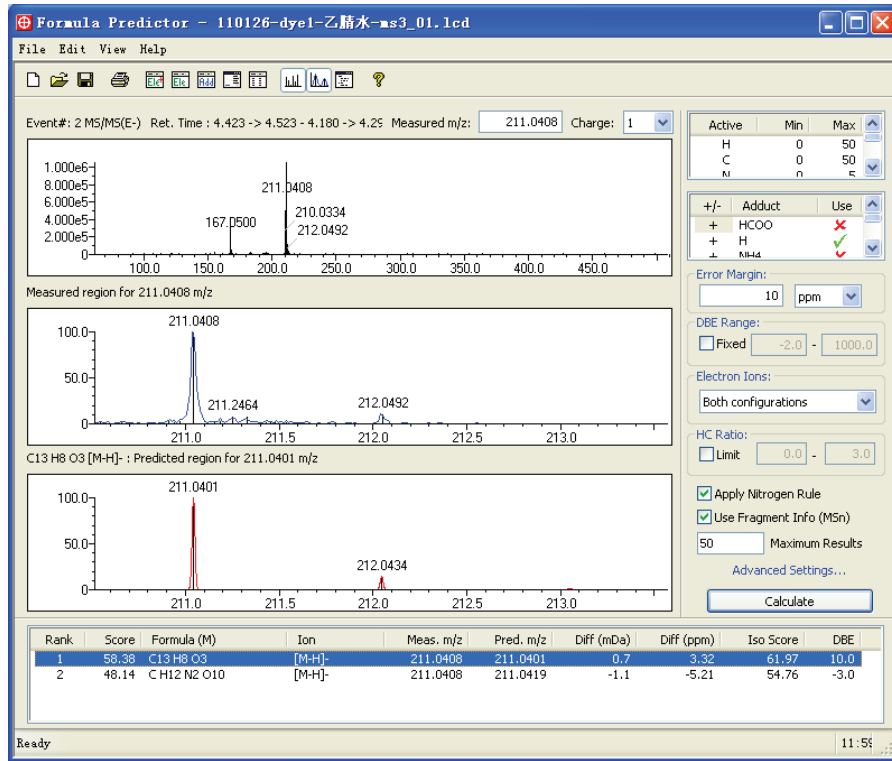
使用分子式预测软件预测，设置误差范围为10 ppm，使用同位素规则，碎片信息，不饱和度及氮率，同时预测，得到预测结果为C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>，与理论值的相对偏差为-0.00 ppm。



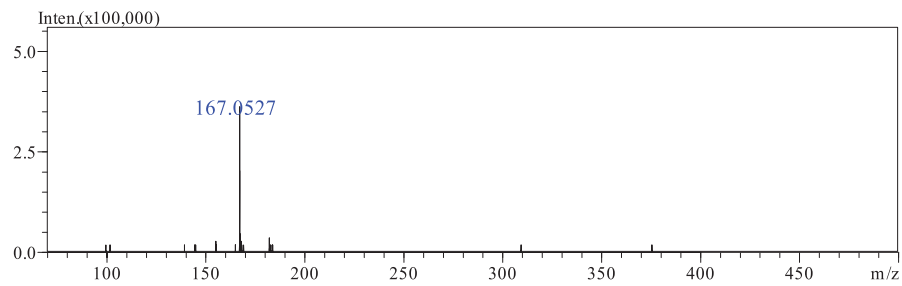
MS<sup>2</sup>, precursor: 239.0350



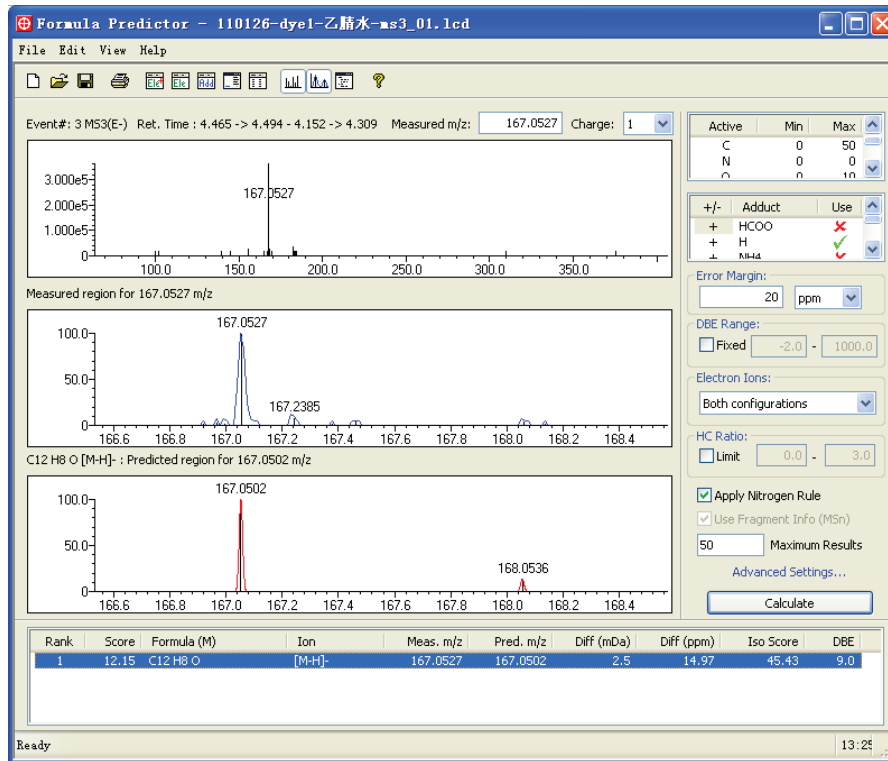
使用分子式预测软件预测结果为C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>，为C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>脱羧结果。



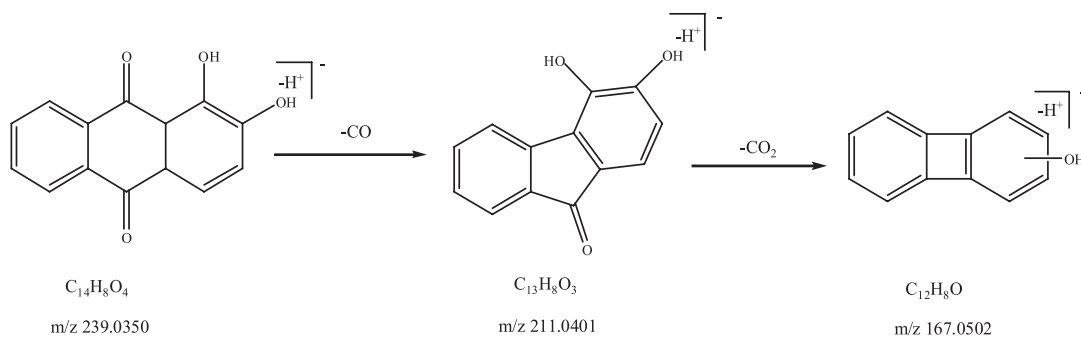
MS<sup>3</sup>, precursor: 211.0401



使用分子式预测软件预测结果为C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>O，是C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>脱CO<sub>2</sub>的结果。

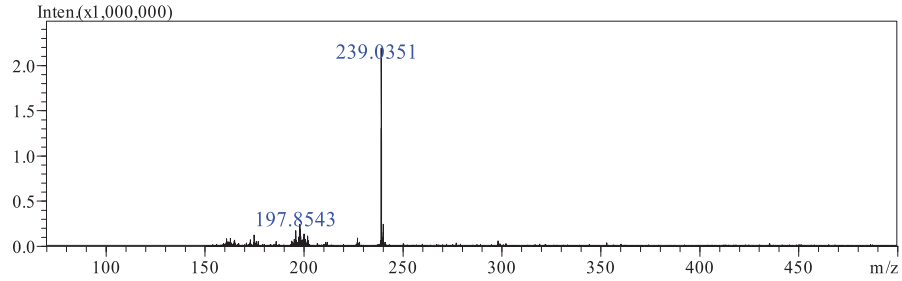


根据三级质谱推导其可能的裂解机理如下:

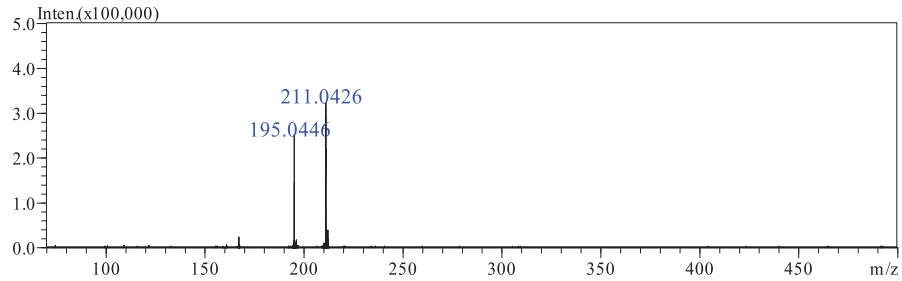


## 2.2.1.4 Xanthopurpurin(29号)的多级质谱图

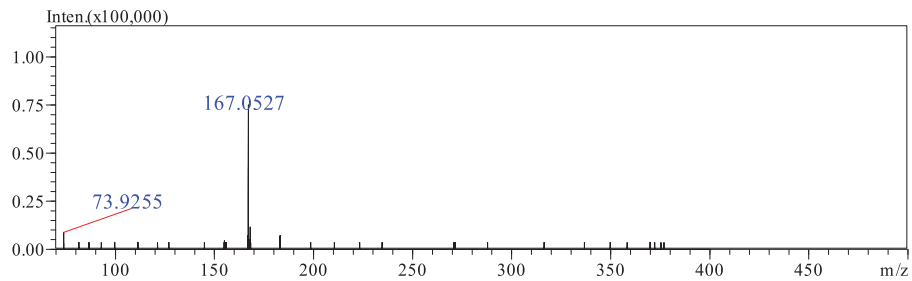
Xanthopurpurin与Alizarin为同分异构体，多级裂解规律相似，如下所示：



MS<sup>2</sup>, precursor: 239.0350



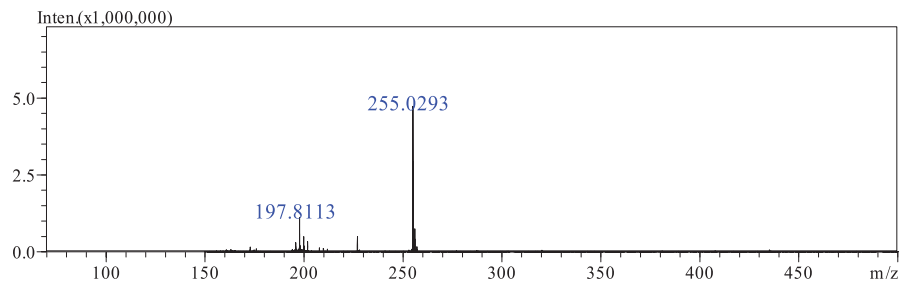
MS<sup>3</sup>, precursor: 211.0401



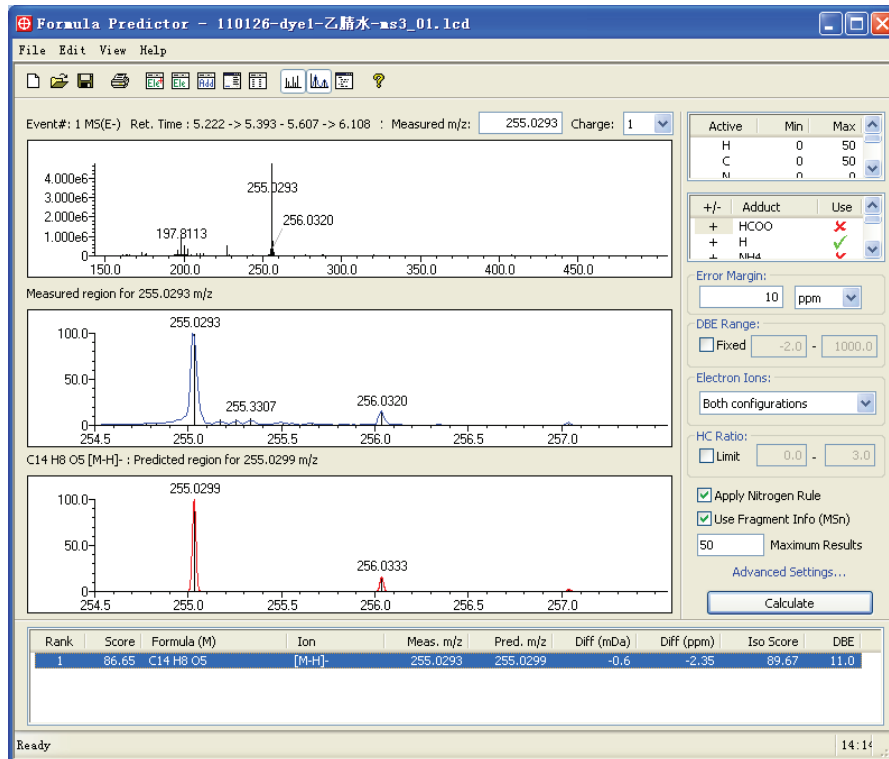
## 2.2.1.5 Purpurin(27号)的多级质谱图

负离子模式下Purpurin的多级质谱图如下所示：

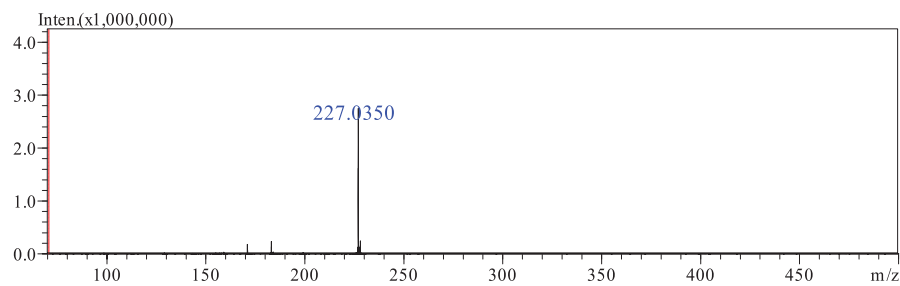
MS<sup>1</sup>



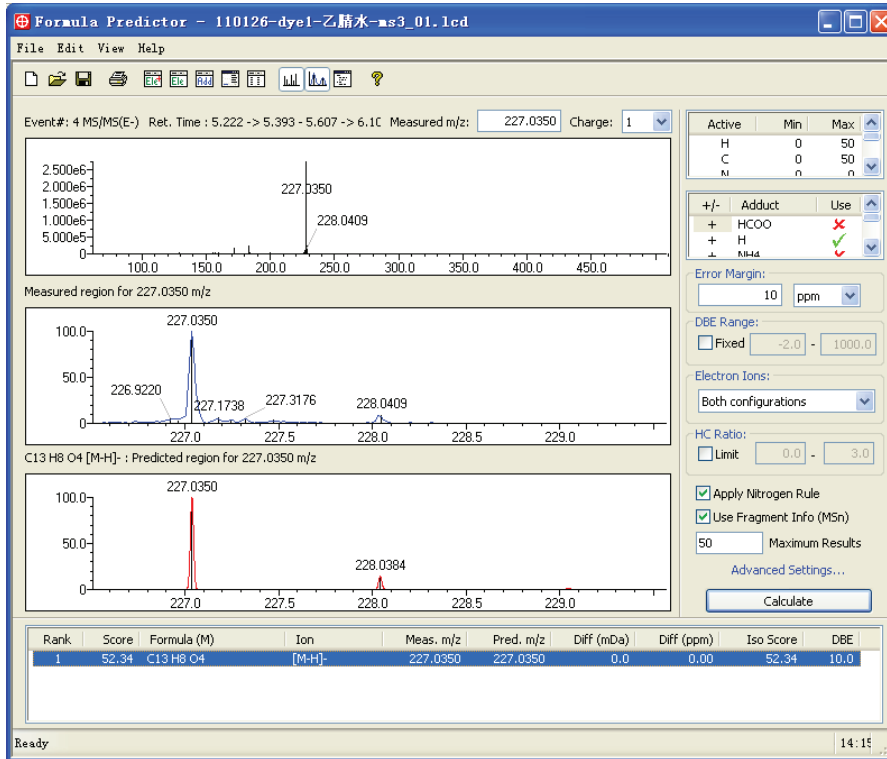
使用分子式预测软件预测，设置误差范围为10 ppm，使用同位素规则，碎片信息，不饱和度及氮率，同时预测，得到预测结果为 $C_{14}H_8O_5$ ，与理论值的相对偏差为-2.35 ppm。



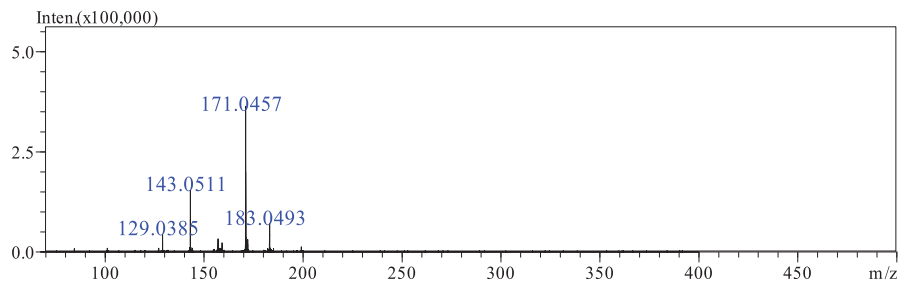
MS<sup>2</sup>, precursor: 255.0299



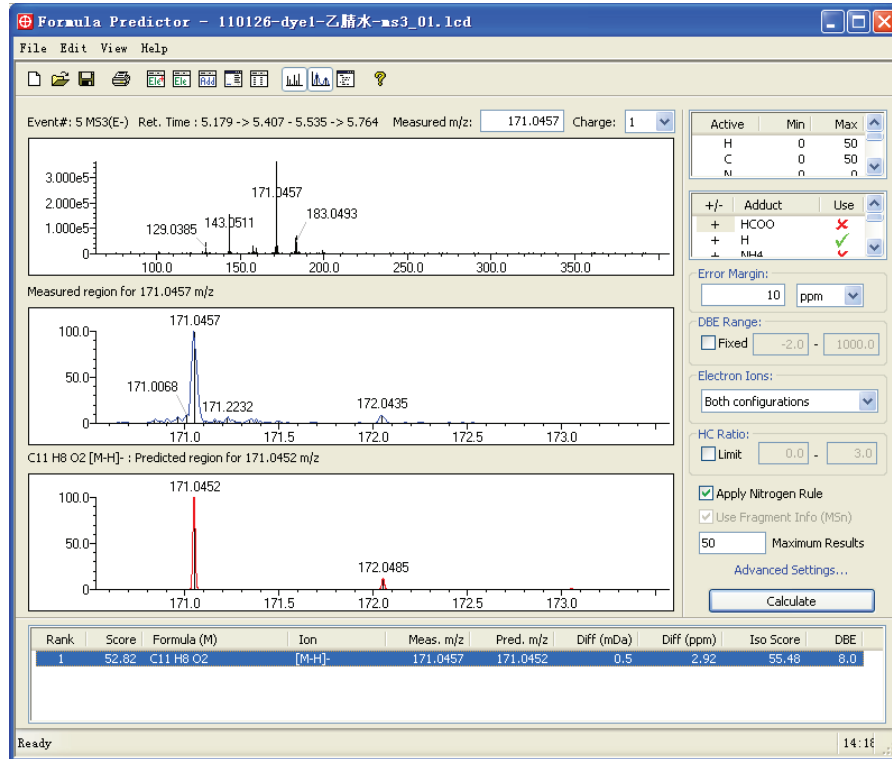
使用分子式预测软件预测结果为 $C_{13}H_8O_4$ ，为 $C_{14}H_8O_5$ 脱羧结果。



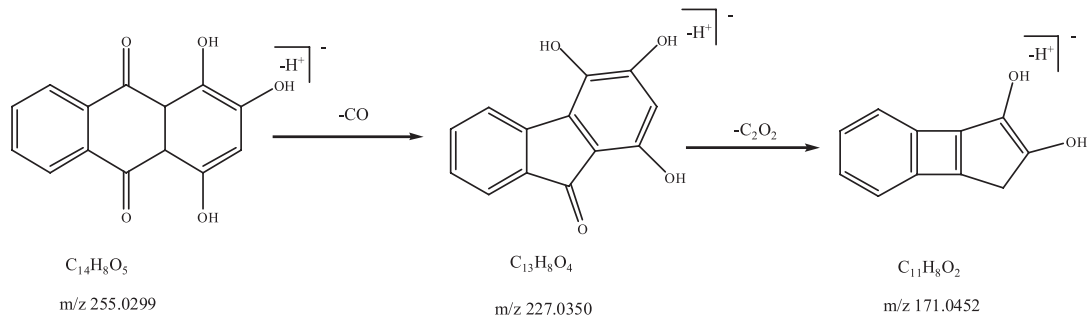
MS<sup>3</sup>, precursor: 227.0350



使用分子式预测软件预测结果为C<sub>11</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>, 是C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>脱2个CO的结果。



根据三级质谱推导其可能的裂解机理如下:

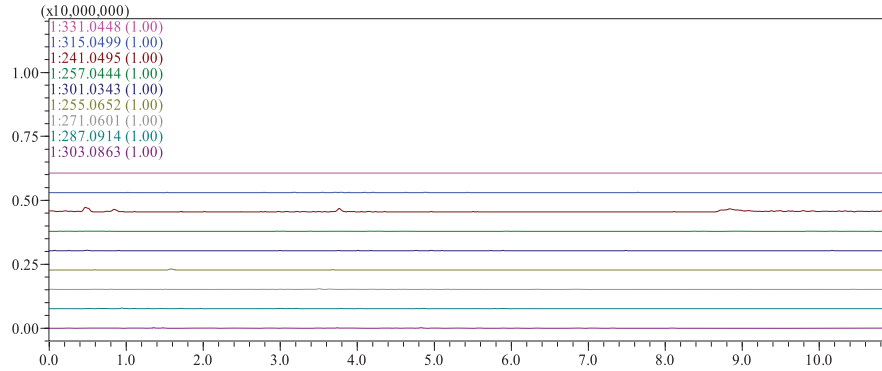


## 2.2.2 醋酸铵-甲醇体系(条件2)

使用醋酸-醋酸铵和甲醇作为流动相的测试结果如下。

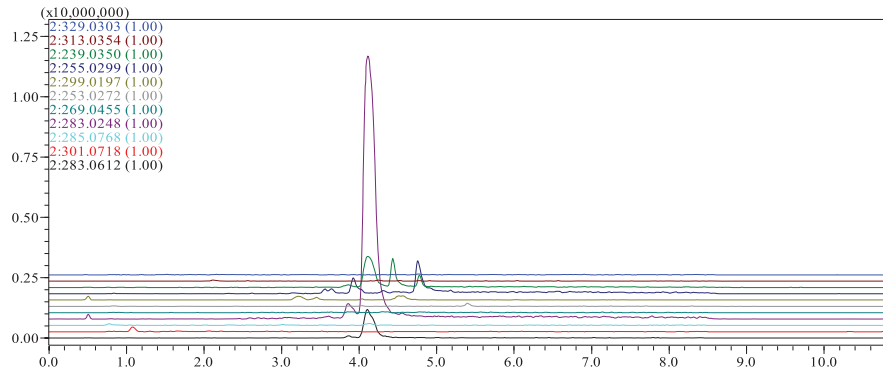
### 2.2.2.1 正离子模式提取离子流图

正离子模式下样品的提取离子流图如下图所示。结果同水-甲醇体系(条件1)，目标染料没有明显响应。

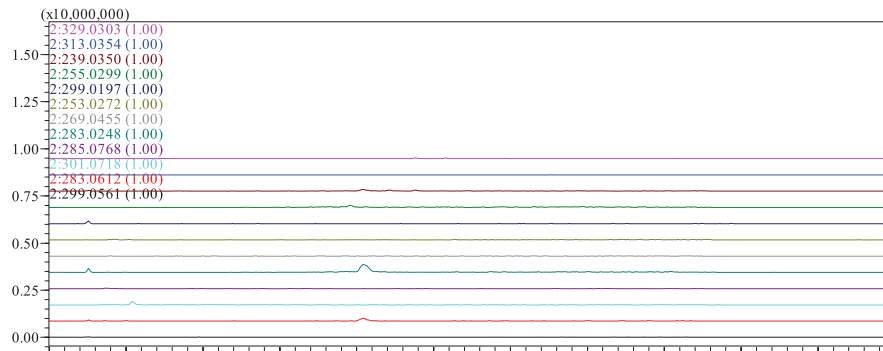


### 2.2.2.2 负离子模式提取离子流图

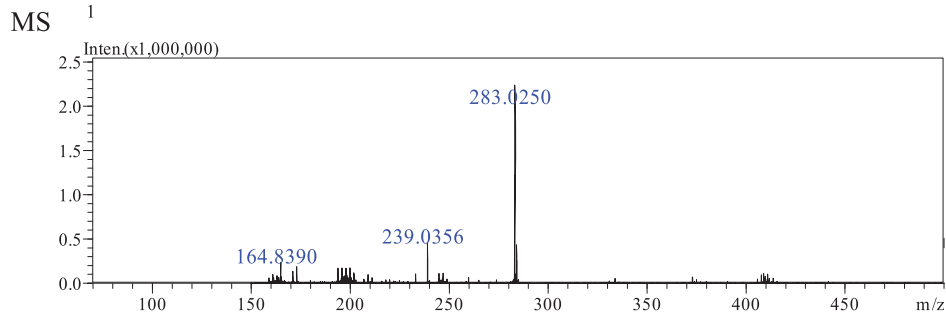
负离子模式下样品的提取离子流图如下图所示。相比水-甲醇体系，除m/z 239.0350和m/z 255.0299有明显响应外，m/z 283.0248也有响应，且具有较强的响应强度。m/z 283.0248为Munjistin(32号)的[M-H]<sup>-</sup>峰。



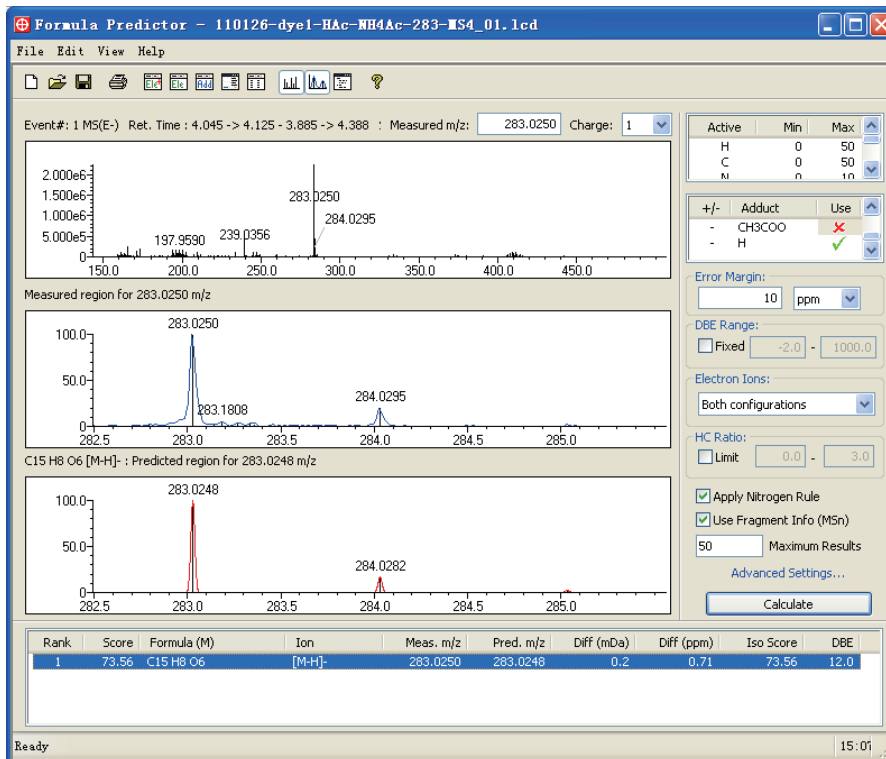
所有检测到的化合物在空白中没有明显响应，空白的质谱图如下所示。



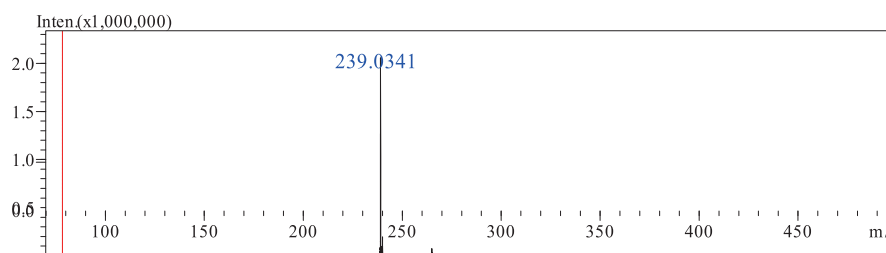
## 2.2.2.3 Munjistin(32号)的多级质谱图



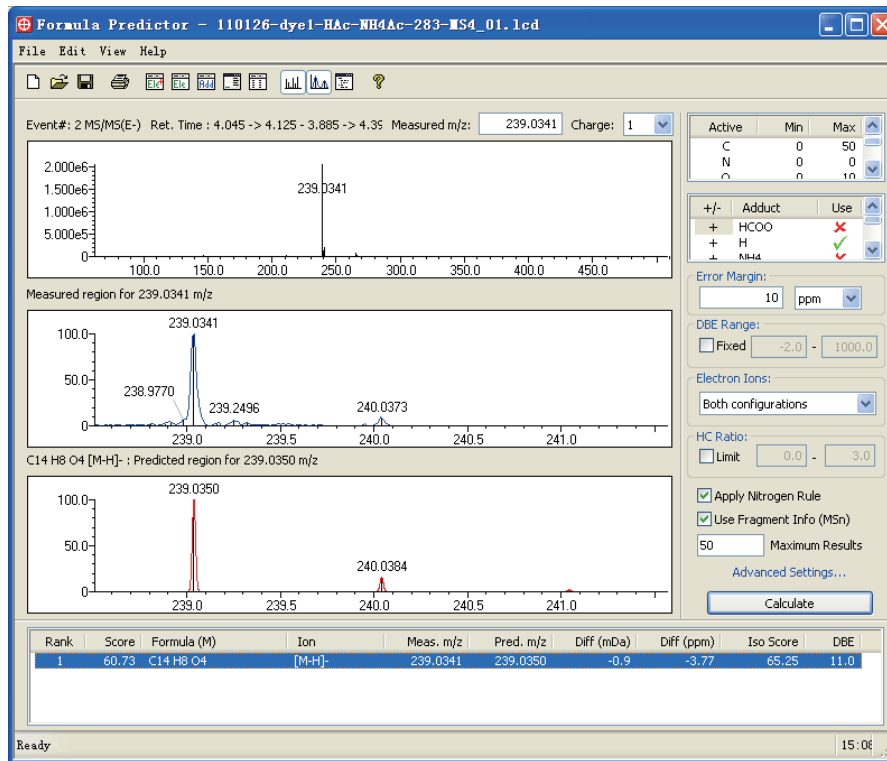
使用分子式预测软件预测，设置误差范围为10 ppm，使用同位素规则，碎片信息，不饱和度及氮率，同时预测，得到预测结果为 $C_{15}H_8O_6$ ，与理论值的相对偏差为0.71 ppm。



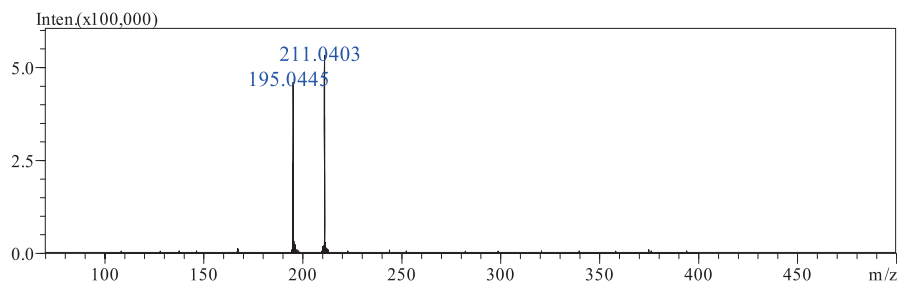
MS<sup>2</sup>, precursor: 283.0248



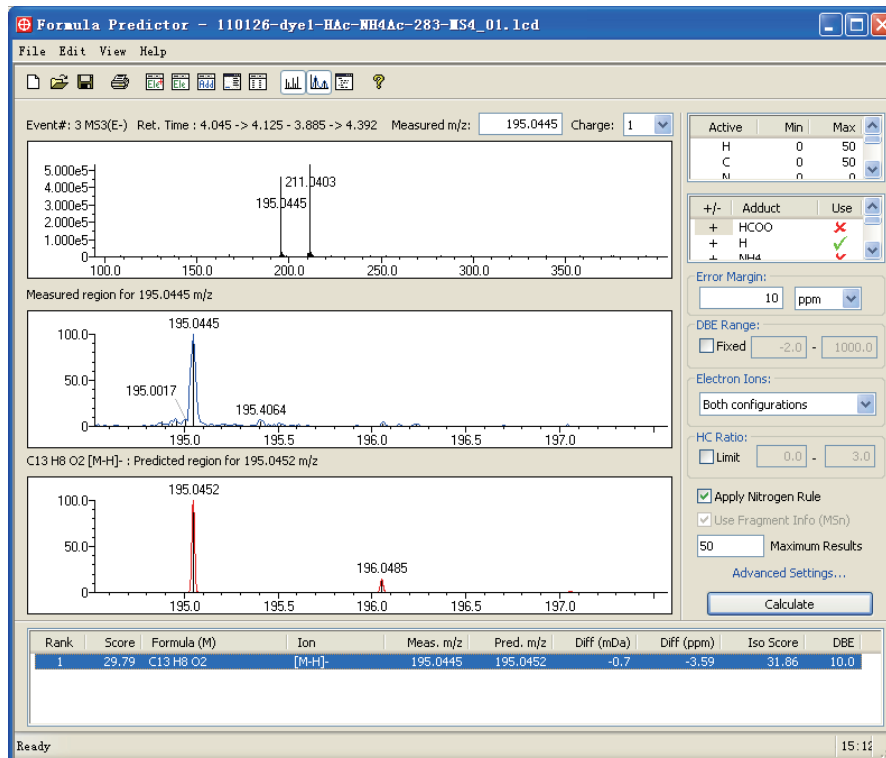
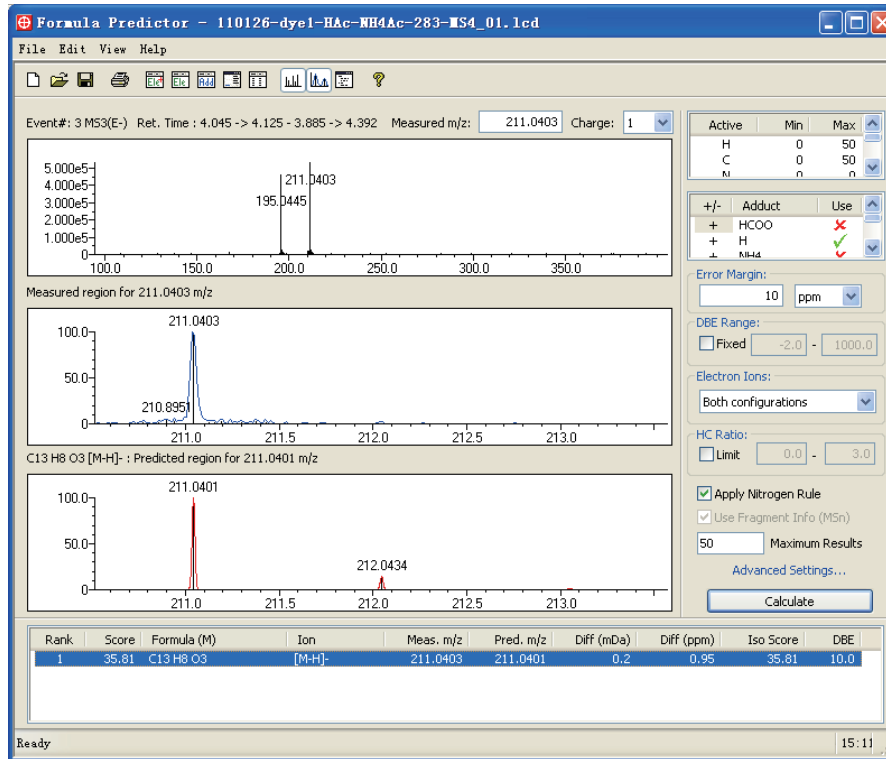
使用分子式预测软件预测结果为 $C_{14}H_8O_4$ ，为 $C_{15}H_8O_6$ 脱 $CO_2$ 结果。



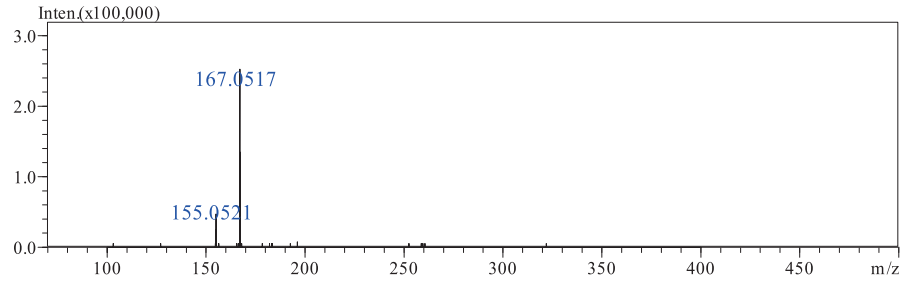
MS<sup>3</sup>, precursor: 239.0350



使用分子式预测软件预测m/ 211.0403, 结果为C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>, 为C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>脱羰结果; 预测m/z 195.0445, 结果为C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>, 为C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>脱CO<sub>2</sub>结果。



MS<sup>4</sup>, precursor: 211.0401



使用分子式预测软件预测m/z 211.0403, 结果为C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>O, 为C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>脱CO<sub>2</sub>结果。

Formula Predictor - 110126-dyel-HAc-NH4Ac-283-MS4\_01.lcd

Event#: 4 MS4(E-) Ret. Time : 4.032 -> 4.165 - 3.765 -> 3.952 Measured m/z: 167.0517 Charge: 1

Active Min Max  
 H 0 50  
 C 0 50  
 N 0 0

+/- Adduct Use  
 + HCOO   
 + H   
 + NH4

Error Margin: 10 ppm

DBE Range:  Fixed -2.0 - 1000.0

Electron Ions: Both configurations

HC Ratio:  Limit 0.0 - 3.0

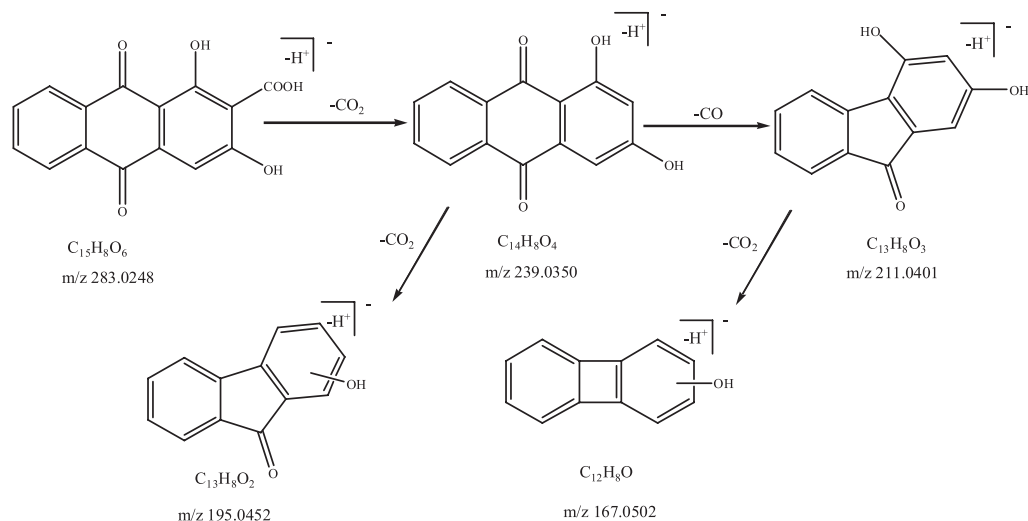
Apply Nitrogen Rule  
 Use Fragment Info (MSn)  
 50 Maximum Results

Advanced Settings... Calculate

| Rank | Score | Formula (M)                      | Ion                | Meas. m/z | Pred. m/z | Diff (mDa) | Diff (ppm) | Iso Score | DBE |
|------|-------|----------------------------------|--------------------|-----------|-----------|------------|------------|-----------|-----|
| 1    | 8.02  | C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> O | [M-H] <sup>-</sup> | 167.0517  | 167.0502  | 1.5        | 8.98       | 15.97     | 9.0 |

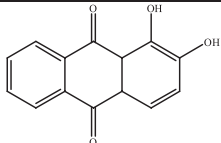
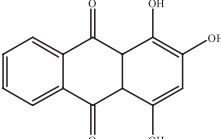
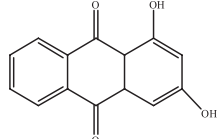
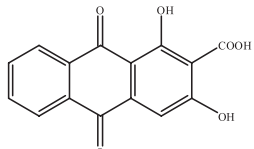
Ready 15:18

根据四级质谱推导其可能的裂解机理如下：



### 2.3 结果汇总

样品分析结果汇总于下表。样品中可能存在4种染料，具体结果见下表。

| No. | 备选编号 | 名称             | 分子式   | 结构式  |
|-----|------|----------------|---|--|
| 1   | 26   | Alizarin       | C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> |  |
| 2   | 27   | Purpurin       | C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> O <sub>5</sub> |  |
| 3   | 29   | Xanthopurpurin | C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> |  |
| 4   | 32   | Munjistin      | C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> |  |

### 讨论

使用岛津LCMS-IT-TOF质谱仪定性分析了古代纺织品上用的染料，使用正负离子同时扫描，两种液相条件，从备选库中筛查出了4种可能的染料。并根据分子式预测结果及多级质谱图，推测了可能的裂解规律。