

## 폴리프로필렌 글리콜의 표면-보조 레이저 탈착/이온화에서 선형 비행시간 질량분석기의 분해능 개선을 위한 시간 지연 추출법의 응용

金廷桓 · 姜濟敬\*

송실대학교 자연과학대학 화학과  
(2000. 3. 14 접수)

### Pulsed-Delayed Extraction for Resolution Enhancement of Linear Time-of-Flight Mass Spectrometer in Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization of Polypropyleneglycol

Junghwan Kim and WeeKyung Kang\*

Department of Chemistry, Soongsil University, Seoul 156-743, Korea  
(Received March 14, 2000)

**요 약.** 폴리프로필렌 글리콜의 표면-보조 레이저 탈착/이온화를 이용하여 선형 비행시간 질량 분석기에서 시간-지연 추출법의 분해능 개선, 질량-초점 길이 및 기기 퍼짐 효과의 영향을 수치 계산과 비교하여 평가하였다. 비행시간 초점영역은 고전압 펄스의 지연 시간에 비례하였고 지연 시간 변화로 질량 초점 영역을 쉽게 조절할 수 있었다. 시간 지연 추출법으로 얻어진 질량 스펙트럼의 분해능은 4500으로 연속추출법(20 kV)에 비해 7배 정도 개선되었고  $\Delta m=2000$ 의 질량-초점 길이를 보여주었다. 시간 지연 추출법에서 기기 퍼짐 요인에 의한 분해능 개선의 한계를 계산하였고 5 ns의 기기 퍼짐 효과에 의해 동위원소 분리 검출은 분자량 2500까지 가능하였다. 시간 지연 추출법을 이용하여 폴리프로필렌 글리콜 분자가 탄소 표면에서 탈착될 때 생성되는 분열체 시리즈를 개선된 고분해능으로 동위원소 분포 수준으로 확인하였으며 분열 경로 규명 및 동위원소 비 질량분석기로의 응용 가능성을 시험하였다.

**ABSTRACT.** The pulsed-delayed extraction (PDE) in linear time-of-flight mass spectrometer (TOF MS) is characterized on the enhancement of resolution, mass-depth of focus and effect of instrumental broadening. The mass spectra obtained from the surface-assisted laser desorption/ionization (SALDI) of polypropyleneglycol (PPG) on graphite plate are compared with the results of the numerical calculation. The resolution in PDE is about 4500, which is improved 7 times to that of continuous extraction (20 kV), and the mass-depth of focus is more than 2000. The ion signals separate isotopically by up to molecular weight of 2500 in instrumental broadening of 5 ns, which is a good agreement with calculation. The fragmentation paths of PPG can be suggested by the isotopical distributions of fragment series produced when PPG desorbed from graphite surface.

## 서 론

고체 표면에서 광 흡수성 matrix 또는 기판을 이용한 레이저 탈착/이온화법(Matrix 또는 Surface-assisted laser desorption/ionization, M/SALDI)은 대표적인 연이온화 방법으로 비행시간 질량 분석기와 결합하여 거대분자의 분자량 측정에 응용된다.<sup>1,2</sup> 비행시간 질량 분석기는

장치가 간단하여 경제적이며, 분석방법이 쉽고 한번의 사전으로 전체 스펙트럼을 얻을 수 있어 분석시간이 짧다는 장점 때문에 많은 관심이 집중되었으나,<sup>3</sup> 주사형(scanning) 질량 분석기에 비해 상대적으로 질량 분해능이 낮아 주로 작은 분자를 대상으로 하는 물리화학적 연구에 많이 사용되어 왔다. 그러나 짧은 시간을 측정할 수 있는 빠른 소자 및 펄스형 레이저의 개발

로 단점이 많이 극복되었고 질량 분해능 개선을 위한 많은 연구들이 이루어졌으며,<sup>4</sup> 이론적으로 측정 질량 범위에 제한이 없다는 특성으로 인해 최근 다시 활발히 연구되어지고 있다.

비행시간 질량분석기에서 질량분해능에 영향을 주는 요인으로는 시간적 번짐(temporal broadening), 공간 번짐(spatial broadening) 그리고 초기 에너지 번짐(initial energy broadening) 효과가 있다.<sup>5</sup> 시간적 번짐과 공간 번짐 효과는 주로 기기적 요인으로 순간적인 이온화 방법과 점 이온화원을 이용하면 개선할 수 있으며 이는 나노초의 펄스 폭을 가지는 레이저를 사용함으로써 해결된다. 그러나 열적 평형 상태에 있는 분자는 일정 분포의 에너지를 가지며, 이는 비행관 내에서 이온의 운동에 영향을 주어 에너지 번짐 효과를 발생시킨다. 특히 레이저 또는 플라즈마 탈착 이온화와 같이 고체 표면에서 탈착되는 분자(이온)는 탈착/이온화 과정에 따라 속도분포를 갖게 되며, 이러한 속도분포로 인한 비행시간 번짐에 미치는 효과는 분자량에 비례해서 증가하게 되어 고분자량 물질의 분석에 제한을 받게 된다.<sup>6,7</sup>

에너지 번짐 효과를 제거하기 위한 방법으로 이온화 영역 내에서 보상해주는 in-source 에너지 보상법과 이온화 영역을 지나 비행구간에서 보상해 주는 post-source 에너지 보상법이 있다. Post-source 에너지 보상법으로는 Mamyrin 등에<sup>8</sup> 의해 보고된 이온 거울을 이용한 반사형 비행시간 방법이 대표적인 방법으로 질량 분해능과 검출 감도가 높으나 이온광학계 구성이 복잡하여 설치 및 작동이 어렵다는 단점을 갖는다.<sup>9,10</sup> In-source 에너지 보상법으로는 시료의 이온화 후 일정 시간이 지난 뒤에 가속 전압을 순간적으로 걸어 주는 시간 지연 펄스 추출법(pulsed delayed extraction)이 제안되었으나,<sup>2</sup> 이를 위해서는 빠른 상승/하강 시간을 갖는 고전압의 펄스가 필요하여 최근에 들어서야 MALDI와 결합하여 저대분자의 분자량 측정 및 탈착/이온화 반응 연구에 응용되기 시작하였다.<sup>11-14</sup> 시간지연 추출법에서 초기에너지 보상 효과는 관찰하고자 하는 질량에 따라 다르게 제한된 질량 범위 내에서만 이루어지므로 최적 초점 영역을 찾고 정확한 분자량 환산을 위해 복잡한 비행시간 방정식의 해를 구하는 여러 방법들이 제안되었다.<sup>15-18</sup> 그러나 이러한 방법들은 전기장 세기 및 전극 간 거리등의 기기 변수와 분자량에 따른 의존성을 단순화시키기 위하여 환산 변수를 사용

하여 이상적인 조건 가정 하에서 이루어지므로 실제 스펙트럼 적용에는 많은 어려움이 따른다. 그리고 기기 변수 변화에 따른 최적 초점 영역을 찾고 계산과 실험과의 비교를 위해서는 이온 신호가 지속적으로 발생되어야 하고 관찰하고자 하는 분자량 범위의 분포를 갖는 시료가 필요하나 여러 발표된 논문들에서 사용된 단일 분자량을 갖는 전형적인 생체분자를 이용하여 금속 판 위에 고체 매트릭스와 함께 시료처리를 한 일반적인 MALDI에서는 100-200 shor에서 시료가 고갈되고 발생 이온의 분자량이 제한되어 미시시료 분석 적용에는 어려운 점이 많다.<sup>11-14</sup>

본 논문에서는 구조가 단순한 선형 비행시간 질량분석기에 대해 비행시간 방정식을 이용, 간단한 수치 계산을 통하여 시간 지연 추출법에서 속도 보상 효과와 최적 초점 영역 조절을 위한 기기 변수의 영향을 조사하였다. 이온 신호가 지속적으로 발생하는 탄소 판(graphite plate) 위에 넓은 질량 분포를 갖는 polypropyleneglycol(PPG) 고분자 시료의 실험에서 시간 지연 추출법을 이용한 분해능 개선 효과와 질량 초점 영역 및 질량 초점 길이 등의 성능을 평가하고 탈착 과정에서 고분자의 분열 반응 관찰 적용의 가능성을 시험하고자 한다.

#### 시간 지연 추출법(Pulsed Delayed Extraction)

시간 지연 추출법은 1차 근사 조건에서 이온의 초기 속도의 비행시간에 대한 영향을 제거하여 질량분해능을 개선시키는 방법이다. Wiley 등이<sup>2</sup> 제안한 바에 의하면, 이온화 영역에서 발생한 이온을 일정 시간동안 field-free 공간에서 방치하면 각 이온의 초기 속도성분에 의해 이온 집단이 공간상에서 퍼지게 되어 에너지 번짐 효과는 근사적으로 공간 번짐 효과 문제로 전환된다. 이 때 공간 번짐 효과는 유한한 크기를 갖는 이온화원에 의한 효과와 초기 이온 에너지에 의한 효과가 중첩된 형태를 띠게 된다. 그러나 MALDI와 같은 표면 이온화 방법에서는 이온화원에 의한 공간 번짐 효과는 무시할 수 있으므로 시간 지연된 펄스에 의해 관찰되는 비행시간의 번짐은 근사적으로 초기 에너지 번짐에 의한 효과로 가정할 수 있다. 시간 지연 펄스 추출법의 개념도를 도시하면 Fig. 1과 같다.

시료 표면에서 레이저에 의해 탈착/이온화되고 시간 지연된 고전압 펄스에 의해 가속된 이온이 검출기에 도달할 때까지 걸리는 비행시간, T는 각 영역에서 존재하는 시간의 합과 같다.

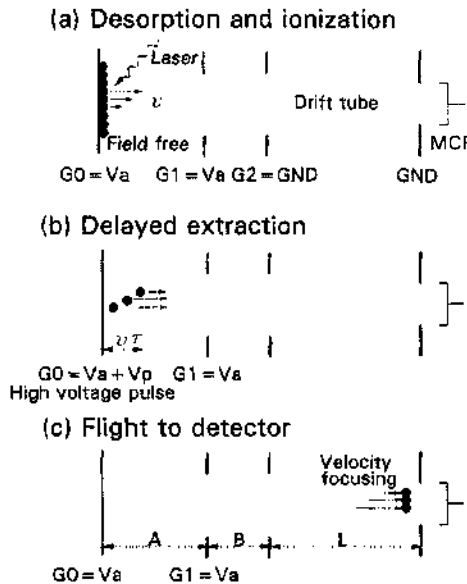


Fig. 1. Schematic of a pulsed-delayed extraction.

$$T(U_0, \tau_d) = T_A + T_B + T_L \quad (1)$$

$$U_0 = \frac{1}{2}mv^2 \text{ 분자이온의 초기 운동에너지}$$

$\tau_d$ : 지연 시간

추출 영역과 가속 영역에서의 전기장 세기를 각각  $E_A = (V_a + V_p)/A$ ,  $E_B = V_p/B$ 라 하면, 이온이 갖는 총 에너지,  $U$ 는 다음과 같다.

$$U_0 = U_0 + q(A - \tau_d v)E_A + qB E_B \quad (2)$$

$q$ : 이온의 전하량

$A, B$ : 추출 및 가속 영역의 거리

그러면 이온이 각 영역에서 존재하는 시간  $T_A, T_B, T_L$ 은 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$T_A = \frac{\sqrt{2m}}{qE_A} \{ \sqrt{q(A - \tau_d v)E_A + U_0} - \sqrt{U_0} \} \quad (3)$$

$$T_B = \frac{\sqrt{2m}}{qE_B}$$

$$\{ \sqrt{qB E_B + q(A - \tau_d v)E_A + U_0} - \sqrt{q(A - \tau_d v)E_A + U_0} \}$$

$L$ : Drift 영역의 길이

비행시간 질량분석기에서 질량분해능,  $R = m/\Delta m = T/2\Delta T$ 로 주어지므로  $\partial(T/\Delta v)_{m=0}$ 이 되는 조건에서 이온의 비행시간은 초기속도에 영향을 받지 않게 되고 질량분해능이 최대가 된다.

### 실험방법

#### SALDI/TOF 질량분석기

자체 제작한 비행시간 질량분석기를 이용하여 실험하였으며 그 구성은 Fig. 2에 나타내었다. 개략적인 특성을 설명하면 다음과 같다. 비행시간 질량분석기는 총 비행길이가 100 cm인 선형(linear type)으로 크게

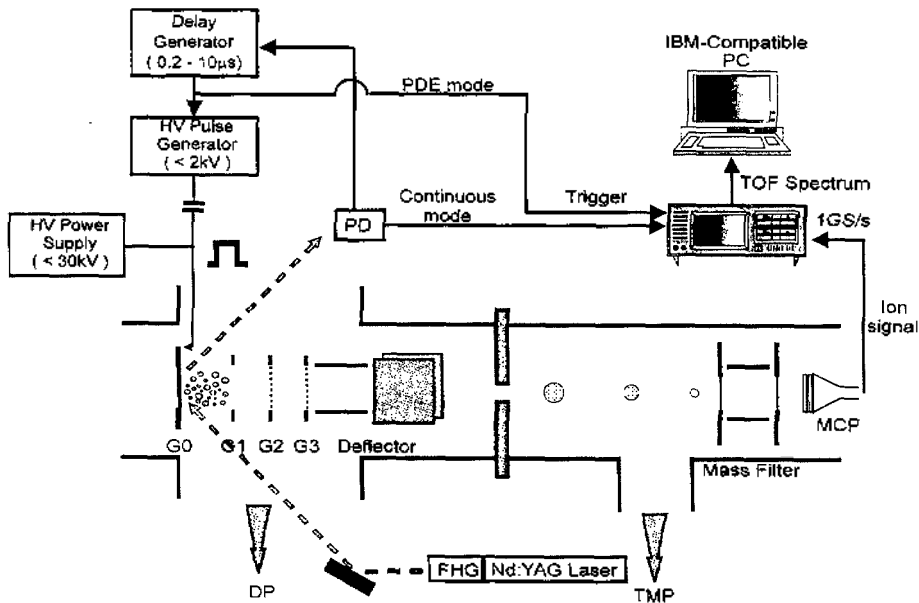


Fig. 2. Block diagram of laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometer.

이온화/탈착 챔버와 표류관(drift tube)으로 구성되고 오일확산 펌프(Varian, VHS-4)와 터보분자펌프(Varian SF-250)로 차동 펌핑하여 각각  $1 \times 10^{-6}$ 과  $1 \times 10^{-7}$  torr의 진공도를 유지하였다. 이온화/탈착 챔버 내부에는 이온 가속 전극과 x, y-편향기(deflector)로 구성된 이온광학계를 장착하였다. 이온가속 전극은 추출전극(extraction electrode, G0), 가속전극(repelling electrode, G1)과 ground electrode(G2)로 구성되며, G0 전극 위에 시료 기관으로 탄소 판을 부착하였으며 탄소 판의 두께로 G0과 G1 사이의 거리를 조절하였다. G1과 G2 사이의 거리는 26 mm로 고정하였다. 고전압 공급기는 Applied HV사의 HP-30P를 사용하였으며 고전압 펄스발생기는 Avtech 사의 AVRH-C를 사용하였다. 연속추출 모드에서는 G0에 20 kV를 걸고 G1과 G2에 그라운드 전압을 걸어 사용하였으며, 시간지연 추출 모드에서는 G0와 G1에 4.8 kV와 G2에 그라운드 전압을 걸고 일정시간 후에 G0에 펄스 폭이 10  $\mu$ s인 2 kV의 펄스를 실어 가속하였다. 광원으로는 펄스 폭이 5-6 ns인 Nd:YAG 레이저(Continuum, Minilite II)의 4배수 조화파인 266 nm를 사용하였으며, 1-5 Hz의 반복도로 작동하였고 레이저 빛의 세기는 neutral density 필터를 이용하여 0.2-2.0 MW/cm<sup>2</sup> 정도로 조절하였다. 레이저에 의해 발생된 이온은 자체 제작한 시간 지연 발생기(delay generator)를 이용하여 0.2-10  $\mu$ s의 지연 시간 후에 고전압 펄스로 가속하여 자유 비행 구간을 지난 후, microchannel plate(MCP) 검출기(Galileo, Chevron 3025)로 검출하였다. 검출된 이온 시그널의 비행시간은 디지털 오실로스코프(LeCroy, 9354AL)로 IGS/s 모드에서 측정하여 PC로 저장하여 완만화(smoothing) 과정 없이 질량 스펙트럼으로 변환하였다. 측정된 이온 신호는 신호 대 잡음비를 향상시키기 위해 50-200 펄스의 신호를 평균하여 사용하였으며 분자량 변환 시 내부 3점 보정방법을 이용하였다.

**시료처리**

고전압 펄스에 의한 에너지 번짐 효과 제거 성능 평가를 위해 분자량 측정에 사용된 시료는 좁은 분산도를 갖는 합성 고분자로 polypropylene glycol(Aldrich, PPG)을 사용하였으며, 양이온화 보조제로는 NaCl을 사용하였다. 시료 기관으로는 두께가 2 mm인 시중에서 유통 및 기계 가공용으로 사용되는 탄소 판을 사용하였으며 불순물로 함유되어 있는 염의 효과를 배제하기 위해 먼저 3차 증류수로 씻은 후, 500 °C에서 2시간

진조하여 사용하였다. 염 제거 정도는 세척용액의 전기 전도도를 측정하여 확인하였다. 금속 염은 1 g/L 농도로 수용액에, 그리고 고분자 시료는 10 g/L의 농도로 acetonitrile(AcCN)에 녹여 사용하였다. 탄소 판 위에 고분자 용액과 지지체 용액의 혼합용액을 1-4  $\mu$ L 정도 떨어뜨려 고르게 퍼지도록 한 후 건조기로 건조시켰다. 시료 판을 진공 챔버 내에 장착한 후 진공도가  $3 \times 10^{-7}$  Torr 이하로 떨어진 후 실험하였다.

**결과 및 고찰**

주어진 조건하에서 시간 지연 추출법의 velocity focusing 성능을 시험하기 위하여 식 (1)을 이용하여 수치 계산을 수행하였다. 비록 이온의 비행시간에는 기기적 요인 및 동위원소 분포가 영향을 미치지만 계산에서는 단지 이온의 초기 속도에 의한 영향만을 고려하였다. Fig. 3(a)에 분자량이 2000인 분자에 대해 고전압 펄스의 여러 지연 시간에서 초기속도에 따른 비행시간 변화를 나타내었다. 계산에 사용된 기기 조건은 펄스전압은 2 kV, 가속 전압은 8 kV에서 계산하였다. 이 실험 조건에서 펄스 지연 시간이 약 2.55  $\mu$ s일 때 이온의 초기 속도에 관계없이 이상적으로 같은 비행시간을 갖고, 최적 지연 시간에서 벗어나면 초기 이온 속도가 클수록 비행시간 차이가 커질수록, 즉 이온 신호가 퍼짐을 보여준다. 여기서 펄스 지연시간이 0.0  $\mu$ s 일 때의 비행시간 차이는 연속 추출법(continuous

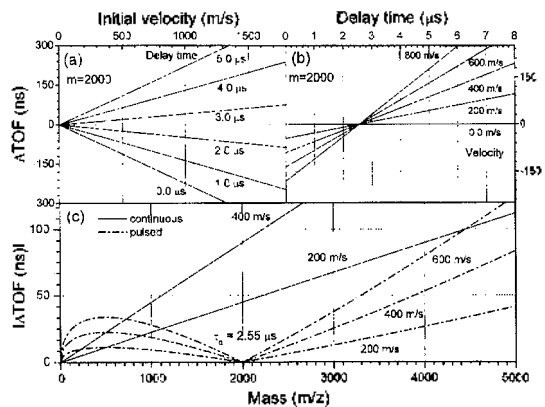


Fig. 3. Numerically predicted broadening of TOF, (a) and (b) m=2000 according to variation of initial velocity and delay time, respectively; (c) comparison of continuous ( $V_a=20$  kV) and PDE mode ( $\tau_d=2.55$   $\mu$ s). The instrumental conditions are as follows. A=2.2 cm, B=2.6 cm, L=100 cm,  $V_s=8$  kV,  $V_r=2$  kV.

extraction)에서의 퍼짐을 나타내며 분해능 감소에 주요한 요인임을 보여준다.

Fig. 3(b)에서 보여주는 시간 지연 추출법의 velocity focusing 효과는 광학 렌즈의 역할과 유사하게 해석할 수 있다. 비행시간-지연시간 도표에서 지연시간은 광학계에서의 초점거리에 해당된다. 렌즈에서 수차를 가지는 것과 마찬가지로 비행시간에 있어서도 최적 지연시간에서 이온들의 비행시간은 일정한 분포를 갖게 되며 이러한 분포를 고려하면 유효 최적 지연시간은 유한한 범위, 즉 시간-초점 길이(time-depth of focus)를 갖게된다. 시간-초점 길이 내에서 비행시간은 같은 정도로 퍼지게 되고 이로 인해 시간 지연 추출법에서 고전압 펄스를 발생시키는 지연시간의 떨림(jitter)에 대해 민감하지 않게 된다. 비행시간 분석기에서 수차에 해당되는 요인으로는 레이저 펄스 폭, 검출기 및 electronics 감응시간 등 기기적 요인과 발생한 이온의 수직 속도 성분과 이온 광학계의 전기장 왜곡 등에 의하여 영향을 받는다. 그림에서 보면 일정한 초기속도에서 지연시간과 비행시간 차이는 일차 선형 관계를 가짐을 알 수 있다. 이는 기기 조건이 1차 근사(first order approximation)가 적용되는 구간임을 보여주며 고체 표면에서 분자가 탈착될 때 지연시간에 따른 비행시간 변화를 관찰함으로써 간단하게 분자의 탈착 속도 측정에 응용될 수 있음을 보여준다.<sup>14</sup>

Fig. 3(c)에서는 연속 추출법과 지연 시간 추출법에서 분자량에 따른 초기속도의 비행시간 퍼짐에 미치는 영향을 비교하였다. 연속 추출법의 경우 일정한 초기 속도에 대해 분자량이 증가함에 따라 비행시간 퍼짐은 비례해서 증가함을 알 수 있다. 지연시간 추출법은 분자량 2000에서 focus되는 지연시간이 2.55  $\mu\text{s}$ 인 조건에서 분자량에 따른 비행시간 퍼짐을 계산하였다. 초점 영역인 분자량 2000에서 비행시간 퍼짐은 최소가 되어 연속 추출법에 비해 분해능이 현저히 증가됨을 보여주나 초점 영역에서 벗어나게 되면 이온의 초기 속도가 클수록 비행시간 퍼짐은 급격하게 증가함을 알 수 있다. 시간 지연 추출법에서 고려되어야 할 점은 분자량 초점에서 분해능 증가와 함께 유효 분해능을 갖는 분자량 영역, 즉 질량-초점 길이(mass-depth of focus)를 증가시키는 것이다. 질량-초점 길이가 길수록 주어진 지연시간에서 관찰할 수 있는 분자량 범위가 넓어지고 이는 미시적으로 분석에의 적용을 용이하게 한다. 질량-초점 길이는 이온의 초기속도가 커질수록, 주어

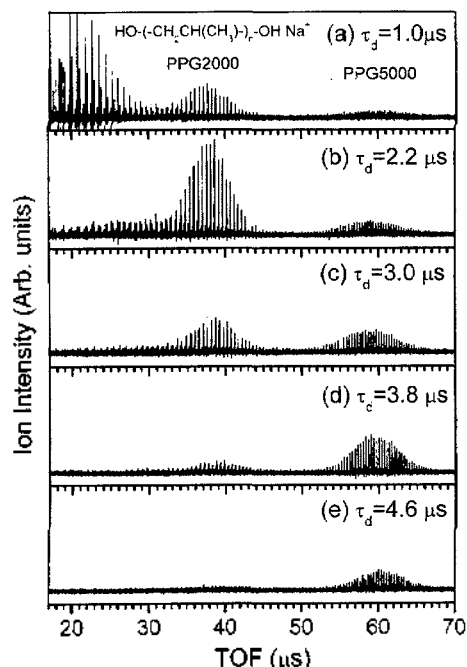


Fig. 4. Effect of varying delay time on the SALDI TOF spectra of a mixture of PPG 2000 and PPG 5000 in PDE mode.

진 이온의 초기 속도에서 분자량에 따른 비행시간 퍼짐의 기울기가 커질수록 좁아짐을 알 수 있으며 비행시간 퍼짐의 기울기는 펄스전압, 가속전압과 비행시간 질량 분석기의 구조 등 기기적 요인에 영향을 받는다.

시간 지연 추출법에서 기기 조건에 따른 영향 및 최적 운영 조건을 찾기 위해서는 이온신호가 지속적으로 발생되어야 하고 넓은 분자량 분포에서 실험이 가능해야 한다. 그런 점에서 탄소 판에서 surface-assisted 탈착이온화를 이용한 합성 고분자시료의 분석이 훌륭한 대상이다.<sup>20</sup> Fig. 4에 PPG 2000과 PPG5000을 1:1의 몰 비로 혼합한 시료의 지연시간에 따른 질량 스펙트럼을 나타내었다. 40  $\mu\text{s}$  및 60  $\mu\text{s}$  영역의 비행시간에서 관찰된 이온 신호는 PPG2000 및 PPG5000의 분자이온의 이온신호로 계산된 분자량은  $58n+41$ 로 PPG oligomer:  $\text{HO}-(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O})_n\text{-H}$ 에 sodium 이온이 결합된 형태와 일치하였으며 20-30  $\mu\text{s}$ 의 이온신호는 분자량 1000-1500으로 PPG5000의 분열반응에 의한 분열체 이온을 나타낸다(Fig. 7참조) 그림에서 보면 펄스 지연 시간이 증가함에 따라 focus되는 비행시간 영역이 비례해서 증가하고 focusing 영역의 이온 검출 세기가 크게 증가함을 볼 수 있다. 이러한 이온

새기의 증가는 속도 보상에 따른 비행시간 퍼짐 감소에 따른 효과와 지연시간 동안 레이저에 의해 발생된 plume 내에서 양이온 부착(attachment)에 의한 고분자 이온 생성이 증가하기 때문으로 해석된다.<sup>21</sup> 그러나 지연 시간이 증가할수록 focus되는 비행시간 영역이 선형관계에서 벗어나게 되는 데 이러한 결과는 두 가지 요인에 의해 해석될 수 있다. 첫 번째는 고분자 시료의 intrinsic 분자량 분포가 Gaussian 분포를 가지므로 이온 새기에 따라 비행시간 퍼짐에 영향을 주고, 분자량이 커짐에 따라 동위원소 분포에 의해 이온 신호가 퍼지게 되어 최적 비행시간 영역을 찾기가 어려우며 두 번째 요인으로는 지연시간이 커질수록 이온화 영역에서 초기 이온속도에 의한 공간 퍼짐이 증가하게 되어 속도 보상을 위한 1차 근사 조건에서 벗어나기 때문이라 해석된다. 1차 근사 조건 적용을 위해 짧은 지연시간에서 focusing이 되려면 가능한 추출 영역의 길이 A는 짧게, 펄스전압( $V_p$ )은 높게, 그리고 가속 전압( $V_a$ )은 낮게 조절하여야 하나, A와  $V_p$ 의 조절은 이온 광학계의 구조적 분해와 고전압 펄스 발생기의 성능에 의해 제한을 받으므로 가속 전압이 주요 변수가 된다. 그러나 가속 전압이 낮으면 비행시간이 증가하고 그에 따라 off-axis velocity 성분에 의한 검출-solid angle의 감소로 검출 감도가 감소하므로 고분자량 검출에 제한을 받는다. 즉, 분해능 개선과 고분자량 검출 영역 조절을 위한 최적 조건 설정을 필요로 한다.

Brown<sup>12</sup>과 Colby<sup>13</sup> 등이 제안한 펄스 전압 변화로 분자량-초점 영역을 조절하는 방법은 펄스 전압과 최적 질량 영역이 비례하여 변화하므로 조절이 쉽다는 장점이 있으나 펄스 전압이 바뀌에 따라 총 가속 전압이 변화하므로 비행시간-분자량 보정을 매번 해주어야 하며 고전압 펄스를 실험 중 직접 관찰할 수가 없어 미지시료 분석에 적용은 쉽지가 않다. 그러나 지연시간을 변화시켜 최적 질량 영역을 조절하는 방법은 총 가속 전압은 일정하므로 같은 실험 조건 내에서 비행시간-분자량 보정 곡선이 근사적으로 동일하게 사용될 수 있다. 최적 비행 시간은 지연시간에 비례하여 변화하므로 조절이 용이하며 실험 중 지연시간은 지연시간 발생기의 펄스를 계속해서 관찰할 수가 있으므로 전체 영역을 쉽게 조사할 수 있다는 장점을 갖는다.

Fig. 5(a)는 PPG2000에 대해 최적화된 조건에서 관찰한 질량 스펙트럼을 보여준다. 시간 지연 추출법의 성능은 다음의 3가지 관점에서 평가된다. 첫 번째는

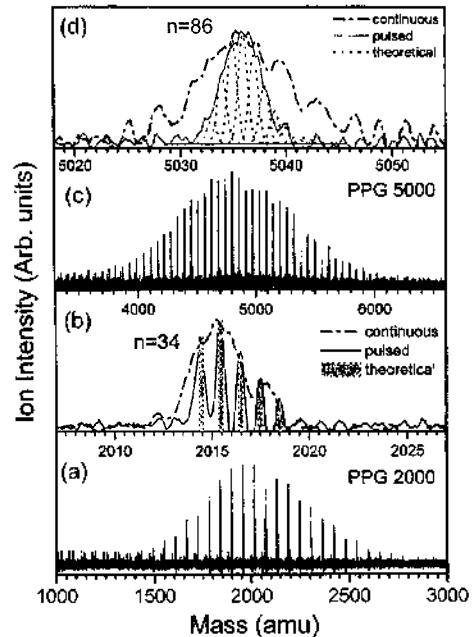


Fig. 5. Mass spectra of (a) PPG 2000 and (c) PPG 5000 obtained at optimized condition in PDE mode. (b) and (d) show the expanded ion signal profiles of (a) and (c), respectively. Spectra are obtained at PDE condition of (a)  $V_a=6$  kV,  $V_p=2$  kV and  $\tau_d=1.7$   $\mu$ s; and (c)  $V_a=8$  kV,  $V_p=2$  kV and  $\tau_d=3.6$   $\mu$ s.

초점 영역에서 분해능 개선, 두 번째는 일정 분해능 이상을 갖는 분자량 영역의 확보, 즉 질량-초점 길이, 세 번째는 관심 질량 영역에서 mass-discrimination 효과의 배제이다. 특히 세 번째 조건은 합성 고분자 시료 분석의 중요한 항목인 분산도 측정에 절대적인 요인이다. Fig. 5(a)에서 보면 전체 PPG oligomer ( $n=25-45$ ) 분포가 정규분포 모양과 잘 맞고 스펙트럼에서 계산된 수평균 분자량, 기중평균 분자량 및 분산도는 각각 2002, 2043, 1,020로 연속 스펙트럼에서의 2005, 2050, 1,022와 잘 일치하여 본 실험 조건에서 mass-discrimination 효과는 무시할 수 있었고 전체 스펙트럼 영역에서 각 올리고머 신호들이  $\Delta m=1$ 인 단일 이온 질량 분포별로 잘 분리되었다. 올리고머에서 단일 이온 질량 분포는 탄소 및 산소의 자연 동위원소 분포 비에 의한 것으로 탄소 동위원소의 자연 존재비,  $P(^{13}C:^{12}C)=0.01$ 를 고려하면 저분자량에서는 영향이 크지 않으나 분자량이 커질수록 복잡해지고 이온 신호를 퍼지게 하는 요인으로 작용한다. Fig. 5(b)는  $n=34(m=2014$  amu)인 oligomer 신호를 확대한 그림으로 50%

peak-height 분해능이 약 4500으로 동위원소 별로 잘 분리되고 그 분포가 이론적인 동위원소 분포 비와 잘 일치함을 보여준다. 가속 전압이 20 kV인 연속 추출법에서는 동위원소 분리가 일어나지 않고 분해능이 약 600정도로 시간 지연 추출법으로 인해 7배 이상 개선되었고 전체 스펙트럼에서 동위원소 분리가 이루어지는 영역, 즉 분해능이 3500 이상인 영역은 1500-2500의 구간으로 질량초점 길이가 1000이상임을 보여준다. 질량분석기의 개선은 분해능 향상과 관찰 분자량 범위의 확대에 분해능 향상은 관찰 분자량 범위에서 동위원소 분리가 그 목표가 된다. 질량 스펙트럼에서 동위원소 분리 능력은 화학물의 구조 확인 및 반응 전점에 중요한 의미를 가지며, 특히 생체 반응과 같이 양성자 전달이 관여하는 반응계에서는 관찰된 화학종이 양성자화 또는 탈양성자화 되었는지가 반응기작 규명 및 분열 반응에 의한 구조 해석에 결정적 단서를 제공하여 질량 정확도와 함께 동위원소 분포 비로부터 해석될 수 있다.

Fig. 5(c)는 분자량 5000 영역에 최적화된 조건에서의 PPG 5000의 질량 스펙트럼을 보여준다. 분자량 4000-6000의 영역에서 잘 관찰되었으며 평균 분자량 및 분산도는 각각 4890 및 1.001로 연속 추출법에서의 값과 비교할 때 거의 비슷하였다. 분자량 5032인  $n=86$ 인 올리고머 신호를 확대한 Fig. 5(d)를 보면 동위원소 별로 분리가 이루어지지 않는 않았으나 연속 추출법(20 kV)에서의 스펙트럼과 비교할 때 약 2배 이상 개선되었음을 보여준다. 이처럼 분자량 2000영역에 비해 분해능 개선 효과가 작은 이유는 동위원소 분포와 기기 퍼짐(instrumental broadening)에 의해 설명될 수 있다. 자연 존재비를 고려하면 분자량이 커질수록 동위 4.5% 이상의 단일 이온 신호가 중첩된 형태를 띠게 된다. 동위원소에 의해 중첩된  $\bar{c}$ 중 질량 신호에서 단일 이온신호의 폭을 구하기 위해 식 (6)과 같이 Gaussian 신호 모양을 가정하여 Fig. 5(d)에 비교하였다.

$$I(t) = \sum A_i \exp\left\{-\frac{(t-\tau_i)^2}{2\omega^2}\right\} \quad (6)$$

$A_i$ : 분자량  $M_i$ 의 존재 비

$\tau_i$ : 분자량  $M_i$ 의 비행시간

$\omega$ : 단일 질량 신호의 비행시간 폭

계산된 단일 질량 신호의 폭은 지연시간 추출법의 경우 5 ns일 때, 연속 추출법의 경우 30 ns일 때 관찰된

질량 스펙트럼과 잘 일치하였다. 단일 질량 신호의 폭으로 계산한 50%-peak height 분해능은 각각 약 4000과 600으로 분자량 2000 영역에서의 분해능과 비슷하였다. 지연 시간 추출법의 5 ns는 모든 분자량 범위에서 일정하였으며 실험에서 관찰된 동위원소 중첩 효과를 무시할 수 있는 저분자량 영역에서의 최소폭 6 ns와 비교할 때, 기기 퍼짐 요인에 의한 결과로 해석된다. 실험에 사용된 장치의 주요 기기 퍼짐 요소로는 문턱치 이상의 레이저 세기를 고려할 때, 레이저 펄스 폭이 4 ns 이하, 검출기의 응답속도가 1-2 ns이고 오실로스코프를 trigger하는 지연 펄스 발생기의 펄스 폭이 3-4 ns이며 이들이 중첩된 퍼짐 요소는 약 5-6 ns으로 잘 일치함을 보여준다. 그러나 연속 추출법에서의 경우 관찰된 이온 신호의 비행 시간 폭은 분자량이 증가함에 따라 거의 비례하여 증가하여 이온의 초기속도에 의한 퍼짐과 중첩되었음을 나타내며 비행시간 퍼짐을 이용하여 근사적으로 계산한 결과, 약 250 m/s의 탈착 속도를 가짐을 알 수 있었다.

지연 시간 추출법의 계산에서 보편 속도-보상 효과 때문에 focusing 영역에서 분해능이 급격하게 증가하나 실제 조건에서는 수차 역할을 하는 기기 퍼짐 요인에 의해 제한을 받게 된다. 기기 퍼짐은 비행시간 영역에서는 분자량에 상관없이 일정 폭을 가지나 분자량 영역에서는 분자량의 제곱근에 비례하여 증가하게 되고 분해능을 제한하게 된다. Fig. 6은 시간 지연 추출법에서 최대 초기 이온 속도가 500 m/s 일 때 기기 퍼짐 요인을 고려한 분해능 개선과 질량초점 길이를 보여

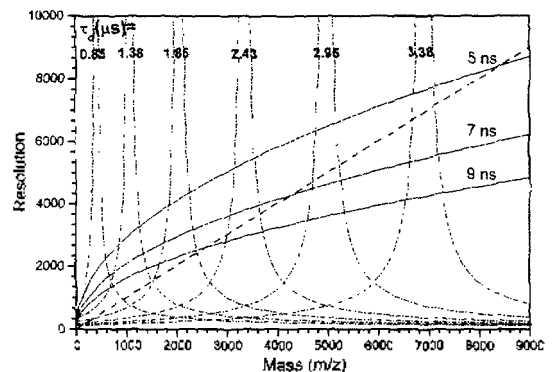


Fig. 6. Calculated mass resolution as a function of mass: (dash dotted line) at given delay time in ideal PDE node; and (solid line) by instrumental broadening. Dashed line represent the minimum resolution required for isotopical separation. The instrumental conditions are the same as in Fig. 5(a).

준다. 질량-초점 길이는 이온의 초기 속도가 클수록 작아지나 Juhász<sup>19</sup> 등의 결과에 의하면 MALDI에서 탈착 속도는 300-500 m/s의 값을 갖는다고 보고되어있다. 그림에서 보면 Fig. 4와 동일 조건에서 기기 퍼짐 효과를 5 ns으로 가정했을 때 분자량 2000 영역에서 최대 50% peak-height 분해능이 4000-4500으로 실험과 잘 일치함을 보여준다. 질량 스펙트럼에서 탄소 및 산소의 동위원소에 따른 질량 차이 1인 신호의 분리가 가능하기 위해서는 관찰 분자량 이상의 분해능을 가져야 하고 잘 분리된 신호 파형을 관찰하기 위해서는 10% peak-height에서의 신호 폭이 더 중요한 의미를 갖는다. 그림에서 보면 기기 퍼짐을 최소 폭을 갖는 단일 질량 신호의 10% 높이에서의 신호 폭 9 ns을 적용하면 동위원소 분리가 가능한 영역은 세 가지 조건을 만족하는 영역, 분자량 1500-2500으로 실험 결과와 잘 일치함을 보여준다. 즉, 시간 지연 추출법에서 동위원소별 분리에 있어 기기 퍼짐 요인이 upper bound로 작용함을 알 수 있다. 그리고 high mass 영역에서는 동위원소 구별이 불가능하나 속도-보상 효과에 의해 분해능이 개선되어 분자량 5000에 최적화된 조건에서  $\pm 1000$  보다 넓은 영역에서 분해능이 1000 이상을 가져 질량-초점 길이가 2000 이상임을 보여준다.

시간 지연 추출법은 속도-보상 효과에 의한 분해능 개선과 함께 그로 인해 이온 신호의 세기를 증가시키는 장점을 갖는다. 특히 분열체 이온 신호에 있어서 분열 과정에서 얻어지는 운동에너지로 인한 속도 분포와 분열 반응 속도에 따른 이온 생성 시간의 퍼짐 효과에 의해 연속 추출법에서는 어미 이온 신호 보다 넓은 폭을 갖게 되고 이것은 신호 대 잡음비를 낮게 하여 관찰이 힘들게 된다. 그러나 시간 지연 추출법에서는 속도-보상뿐만 아니라 펄스 지연 시간 내에 일어나는 이차 반응으로 생성되는 이온은 space-focusing 효과에 의해 같은 비행 시간을 갖게 되고 신호 대 잡음비를 향상시킨다. 같은 레이저 조건에서 연속 추출법과 시간 지연 추출법으로 관찰한 PPG 5000의 질량 스펙트럼을 Fig. 7에 비교하였다. 그림에서 보면 연속 추출법 모드에서는 분열체 이온 신호의 세기가 아주 작고 폭이 넓어 정확한 분자량 결정이 어려운 반면 분자량 1500 영역에 초점을 맞춘 시간 지연 추출법에서는 분자량 500-2000의 범위에서 A, B, C의 3가지 series의 분열체 이온들이 분자량 1차이로 잘 분리되어 관찰된다. PPG 분자의 레이저에 의한 graphite 표면에

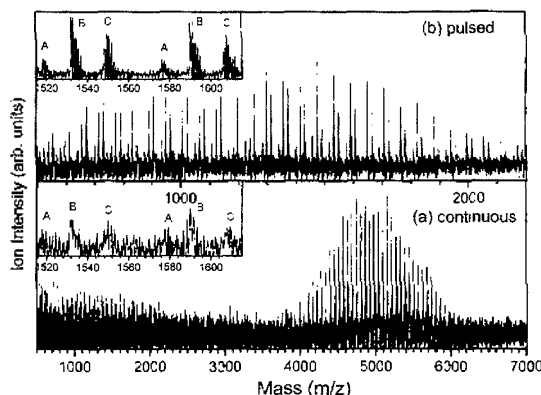
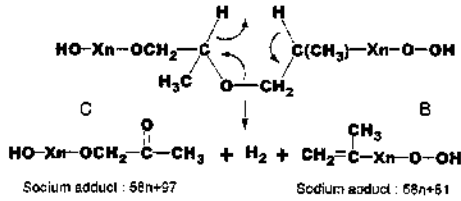


Fig. 7. Comparison of SALDI mass spectra of PPG 5000 obtained from (a) PDE and (b) continuous extraction at same laser fluence of 0.41 MW/cm<sup>2</sup>.

서의 탈착/이온화 현상은 가속 전극에 걸어주는 전기장에 무관하여 동일한 탈착/이온화 과정을 가지리라 예상되므로 두 스펙트럼에서의 차이는 시간 지연 추출법의 focusing 효과에 의한 차이로 해석된다. Juhász 등에 의하면 레이저 탈착 과정에서 발생된 plume 내에서 이차 충돌 반응은 수십 ns 내에 일어나고<sup>19</sup> 이 때 발생된 분열체 이온은 연속 추출법에서는 시간 퍼짐 효과에 의해 관찰이 어려우나 시간 지연 추출법에서는 지연 시간 이내의 시간-퍼짐 효과가 영향을 미치지 못함을 알 수 있다. Fig. 7(b)에서 보이는 분열체 시리즈, A, B, C의 분자량은 각각  $58n+67(\text{H-X}_n\text{-O-CH=CH}_2 \cdot \text{Na}^+)$ ,  $58n+81(\text{HO-X}_n\text{-C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2 \cdot \text{Na}^+)$ ,  $58n+97(\text{H-X}_n\text{-O-CH}_2\text{-COCH}_3 \cdot \text{Na}^+)$ 을 나타내어 Mowat 등의 결과<sup>21</sup>와 일치함을 보여준다. (X은 반복단위,  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O}-$ ,  $m=58$  amu) 그러나 확대된 그림에서 A 시리즈는 비슷한 분자량을 갖는  $n=27(M=1585$  amu)인 PPG 올리고머의 동위원소를 고려한 분자량 1증가에 따른 분포 비, 1:0.912:0.412:0.171:0.005와 비슷한 분포를 보이거나 B와 C 시리즈의 경우 그 분포가 많이 다름을 알 수 있다. B와 C 시리즈의 이온 신호는 단일 분자의 동위원소 분포와는 맞지 않으며 수소원자가 결합된 즉, (B+H)와 (C+H)의 시리즈와 섞인 적어도 2개 이상의 화학종으로 구성되어있으리라 예측되며 이는 B와 C 시리즈의 이온 생성에 있어 PPG의 분열 반응에 각각 2개 이상의 반응 경로가 관여함을 보여준다. B와 C 시리즈의 생성 가능한 분열 반응 경로를 나타내면 Fig. 8과 같다. 정확한 반응 경로 비를 계산하기



(a) Fragmentation pattern for B and C series



(b) Homolytic cleavage for (B+H) and (C+H) series

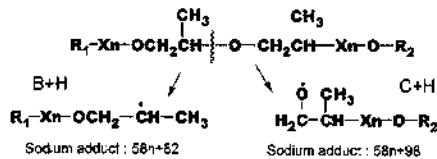


Fig. 8. Possible mechanisms to explain the origin of the fragment ions observed in Fig. 5: (a) for B and C series, see the reference 5 for more details; (b) homolytic cleavage for (B+H) and (C+H) series.

위해서는 기기의 신호 대 잡음비 향상시켜 좀 더 정밀한 분포 비 계산과 반복 단위에 따른 여러 율리고머에서의 분포 비를 비교하여야 하나 본 논문에서는 그 가능성 제시만으로 충분하다고 생각한다. 고분자량 질량 분석에 있어 동위원소에 따른 분포 측정은 분열체 및 분열반응경로 관찰뿐만 아니라 비교적 작은 분자에만 적용되는 동위원소 비 질량 분석기(Isotope Ratio Mass Spectrometer, IRMS)에 적용될 경우 그 관찰 가능한 분자량 범위를 크게 확대시킬 수 있고  $^{13}\text{C}$  이 표지된 생체 분자의 대사 경로를 직접 추적함으로써 생리 작용 해석에 적용할 수 있을 것이다.

본 연구는 교육부 기초과학 연구소지원 학술연구조성비(1998-015-D00293)에 의하여 수행 되었으며 이에 감사 드립니다.

## 안 용 문 헌

1. Karas, M.; Hillenkamp, F. *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 2299.
2. Price P.; Milnes G. J. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1990**, *99*, 1.
3. Stephens, W. E. *Phys. Rev.* **1946**, *69*, 691.
4. Wiley W. C.; McLaren, I. H., *Rev. Sci. Instrum.* **1955**, *26*, 1150.
5. Opsal, R. B.; Owens, K. G.; Reilly, J. P. *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 1884.
6. Beavis, R. C.; Chait, B. T. *Chem. Phys. Lett.* **1991**, *181*, 479.
7. Zhou, J.; Ens, W.; Standing K.; Veremchikov, A. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1992**, *6*, 671.
8. Mamyrin, B. A.; Karataev V. I.; Shmikk, D. V.; Zagulin, V. A. *Soc. Phys.-JETP* **1973**, *37*, 45.
9. Boesl, B. A.; Weinkauff, R.; Schlag, E. W. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1992**, *112*, 121.
10. Cotter, R. J. *Time-of-Flight Mass Spectrometry*; A. C. S. Symposium Series 549; American Chemical Society: Washington DC, 1994; pp 16-48.
11. Vestal M. L.; Juhasz, D.; Martin S. A. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1995**, *9*, 1044.
12. Brown R. S.; Lennan, J. I. *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 1998.
13. Colby, S. M.; King, T. B.; Reilly, J. P. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1994**, *8*, 865.
14. Whittal, R. M.; Li, L. *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 1950.
15. Kovtoun, S. V. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1997**, *11*, 810.
16. Ioanovicu, D. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1994**, *43*, 131.
17. Yefchak, G. E.; Enke, C. G.; Holland, J. F. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1989**, *87*, 313.
18. Erickson, F. D.; Yefchak, G. E.; Enke, C. G.; Holland, J. F. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1990**, *97*, 87.
19. Juhasz, D.; Vestal M. L.; Martin S. A. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1997**, *8*, 209.
20. Kim, J. H.; Kang, W. K. *Bull. Korean. Chem. Soc.* **2000**, *21*, 401.
21. Mowat, I. A.; Donovan, R. J.; Maier, R. R. J.; *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1997**, *11*, 89.