

전기분무 질량분석법 (Electrospray Ionization Mass Spectrometry)을 이용한 고분자 분석

오한빈

1. 서론

1980년대 중반에 전기분무법 (Electrospray Ionization: ESI)과 MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization) 방법이 개발되어진 이후, 이들 방법은 질량분석기의 발전과 아울러져 단백질, DNA를 비롯한 생체고분자 및 합성고분자의 분석에 획기적으로 널리 쓰이게 되었다.¹⁻³ 그 이전에는 질량분석시 열적으로, 화학적으로 분해되는 제한으로 인해, 질량분석법은 고분자 연구에서의 활용이 매우 한정적이었다. 그러나, 이 새로운 발견들은 고분자를 분해시키지 아니하고 원상태대로, 질량분석기에 도입될 수 있는 형태인 기체상태의 이온으로 만들 수 있는 길을 열어주었다. 특히, 이 방법들의 생명과학 및 공학에서의 응용은 그 동안 가능하지 못하였던 수많은 연구 방법론을 현실적으로 가능케 하였다. 그 대표적인 예로써, 그동안 유전자의 확인 및 조작을 중심으로 진행되었던 생명분야의 연구가 유전자의 실제 생체내의 구체적 정보구현체인 단백질로 그 중심이 이동하여, 소위 프로티오믹스 (Proteomics)라는 신학문, 기술분야의 탄생 및 활용을 가능케 하였다.⁴

생명연구 분야에서 질량분석법이 점차 그 활용의 영역을 널리 하는 것과 더불어, 합성고분자 연구 분야에서의 질량분석법의 이용 또한 점차 보편화되고 있다. 이러한 실제 활용분야의 요구를 반영하여, 2000년에 유종신박사는 본지에서 지금 현재 고분자연구에 가장 널리 쓰이고 있는 MALDI TOF (Time-

Of-Flight: 비행시간차) 질량분석법에 대한 상세한 고찰을 하였다.⁵ 이 고찰은 질량분석법이 적절한 실험방법으로 시행되어질 때, 고전적인 방법인 겔 투과 크로마토그래피 (Gel Permeation Chromatography, GPC), 점성도 측정 (Viscometry), 삼투압 측정 (Osmometry), 레이저 산란실험 (Laser Light Scattering)에 비해 보다 정확하고, 빠르며, 직접적으로 질량정보를 제공할 수 있음을 자세한 예를 들어 보여주었다.⁶ 합성고분자의 특성에 있어서 중요한 정보인 수평균분자량 (M_n), 무게평균분자량 (M_w), 다중분산도 (polydispersity) 등의 정보가 질량분석을 통해 손쉽게 얻어진 많은 예들이 상세히 소개되었다. 또한, 비교적 질량이 작은 소중합체 (oligomers)의 경우, 비행시간차 질량분석기의 향상된 질량분해능을 이용하여 합성고분자의 반복기, 말단기, 변형체에 대한 질량 정보를 알려줄 수 있음을 보여주었다.⁷ 이와 같이 오랫동안 질량분석법이 유용한



오한빈

1989~ 서울대학교 화학과 졸업 (학사)
1993
1996~ University of Toronto, Dept. of
2000 Chemistry (박사)
2000~ Cornell University
2003 Dept. of Chemistry and
Chemical Biology
(박사후 연구원)
2003~ 서강대학교 화학과 조교수
현재

Electrospray Ionization Mass Spectrometry in the Analysis of Synthetic Polymers

서강대학교 화학과 (HanBin Oh, Department of Chemistry, Sogang University, Sinsudong, Mapogu, Seoul 121-742, Korea) e-mail: hanbinoh@mail.sogang.ac.kr

정보를 제공하여 왔으며, 고분자 이온화법의 쌍두마차인 전기분무법이 최근에 들어 후리에변환 질량분석법 (Fourier Transform Mass Spectrometry (FTMS): 이하 FTMS를 기기 통칭에 한정되어 사용함)과 결합되어 점차로 그 활용의 폭을 넓혀가고 있어, 유종신박사의 논문에서 논의되지 않은 전기분무 질량분석법을 본 지면을 빌어 살펴보는 것은 시의적절하다고 생각되어진다.⁸⁻¹² 이곳에서는 다양한 전기분무를 이용한 질량분석법 중 FTMS 질량분석법에 강조를 두어 논의를 진행하고자 한다. 이렇게 FTMS를 논의의 중심에 두는 이유는 아래에 점차로 설명되어질 것이다. 그 이유 중 가장 먼저 언급하고 싶은 점은, FTMS의 효용가치가 국가적으로 인식되어, '고분해능 질량분석기 사업'의 일환으로 표준과학연구원에 12 Tesla의 극초고 분해능 전기분무 FTMS가 2004년도 하반기에 도입될 예정이며, 2004년 상반기에는 기초과학지원연구원에서 7 Tesla의 질량분석기가, 본인이 재직하고 있는 서강대에는 4.7 Tesla의 질량분석기가 각기 설치될 예정이어서 그 활용이 실제적으로 국내에서 가능하다는 점이다.

합성고분자에 대한 전기분무법의 이용은 개발 초기단계부터 이루어졌다. 이것은 전기분무법을 본격적으로 개발시켜 2002년 노벨상을 수상한 존 켄 (John Fenn) 박사가 합성고분자가 활발히 연구되었던 예일대학의 화학공학과에 재직하였던 상황과 무관하지 않다. 켄 교수는 초기연구에서 전기분무법을 이용하여 약 5,000,000 Da 분자량의 질량을 측정할 수 있음을 보여주었다.¹³ 하지만, 전기분무법을 이용할 경우, MALDI법과는 달리 '다가 이온' (multiply charged ions)이 생성되어, 다중분산의 성질을 가진 합성고분자의 질량분석 스펙트럼이 매우 복잡하여 정확한 질량정보를 얻기가 힘들어 개발 초기단계부터 인식되었다. 이로 인해, 합성고분자의 질량분석은 주로 MALDI 비행시간차 질량분석기를 이용하여 이루어졌다. **그림 1**의 두 스펙트럼 (a, b)는 각기 전기분무와 MALDI MS를 통해 얻어진 고분자 질량분석 스펙트럼이다.^{14,15} 전기분무 스펙트럼 (a)의 경우 복잡성에서 MALDI 스펙트럼 (b)에 비해 단순하나, 다가 이온들로 말미암아 정확한 정보를 획득하기가 쉽지 않다. 그 이유는 질량스펙트럼의 x 축이 질량 m 이 아니라, 질량대-전하 비율 (mass-to-charge ratio: m/z)이기 때문에, 질량을 알아내기 위해서는 고분해능 질량분석을 통해 전하값 (z)

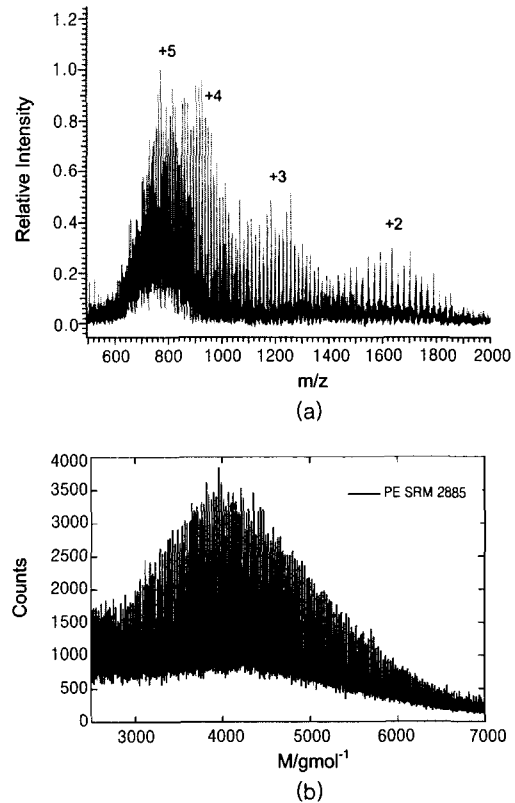


그림 1. (a) PEG 3350의 전기분무. (b) PE의 MALDI-TOF 질량분석 스펙트럼.

을 먼저 결정할 수 있어야 하기 때문이다. 하지만, 다중분산된 고분자를 분석할 때, 대부분의 질량분석기는 FTMS를 제외하고 충분한 분해능을 가지고 있지 못하기 때문에, +1가 이온만을 주로 생성하는 MALDI MS와는 달리 질량을 정확히 알아내기가 쉽지 않다.

최근에 들어 극초고분해능을 가진 FTMS가 널리 보급됨에 따라, 비교적 큰 고분자 소중합체들을 $m/\Delta m \sim 430,000$ FWHM (7 Tesla 자석 이용시) 이상의 동위원소 분해능 (Isotopic Resolution) 수준으로 질량분석하게 되었다.^{9,16} 게다가, FTMS는 강력한 MS/MS 질량분석법을 수행할 수 있어, 공중합체의 배열순서를 결정할 수 있는 등의 고유한 장점이 있다.¹¹ 현재까지는 FTMS의 합성고분자 연구에서의 활용이 주로 MALDI 비행시간차 질량분석법으로 얻을 수 없는 정보에 대해 FTMS 고유의 기능을 이용한 측면에 한정되었기에, 본 지상강좌에서도 이점에 강조를 두어 논의를 진행시키고자 한다. 좀 더 일반적인 측면에서 고분자의 질량분석

법에 아시고자 하는 독자는 유종신박사의 강좌를 참조하면서 이 글을 읽기 바란다.⁵ 또한, 독자들의 이해를 돕기 위해, 전기분무법과 FTMS 질량분석법의 원리 및 특징에 대해 아래에 간략히 설명하고자 한다.

2. 본론

2.1 전기분무법의 실행 원리

전기분무법은 다른 논문들에 자세히 설명이 되어 있어, 이곳에서는 간략히 그 실행원리의 핵심만을 다루고자 한다.¹⁷⁻¹⁹ 전기분무법에 대한 설명은 아직도 논쟁의 대상이 되고 있지만, 이곳에서는 그중 저자가 생각하기에 적절하다고 여겨지는 하나의 이론을 택해 설명하고자 한다.¹⁶⁻²⁰ **그림 2**에서 보여주듯이, 분석하고자 하는 물질이 포함된 용액을 고전위가 걸린 가는 모세관을 통해 흘려 보낸다. 용액이 모세관 말단부를 통해 나올때, 용액은 고전위의 전기효과로 인해 많은 전하를 띤 이온방울 (droplets)의 안개를 만들어 낸다. 좀 더 자세히 말하자면, 용액상의 양이온들은 표면에 축적되어지며, 질량분석기 방향으로 끌리어져 ‘테일러 콘 (Taylor cone)’을 형성한다. 축적된 양이온들로 말미암아 생긴 정전기력이 표면장력 이상으로 증가할 때, 이온방울이 모세관 말단부를 통해 분출되게 된다. 이 이온방울은 전기장 및 압력장 기울기 (Potential and pressure gradient)를 따라 질량분석기의 도입부로 이동하게 되는데, 그 도중 이온방울내의 용매들이 증발하게 되고 그에 따른 이차분열 (Secondary fissions: Coulomb ex-

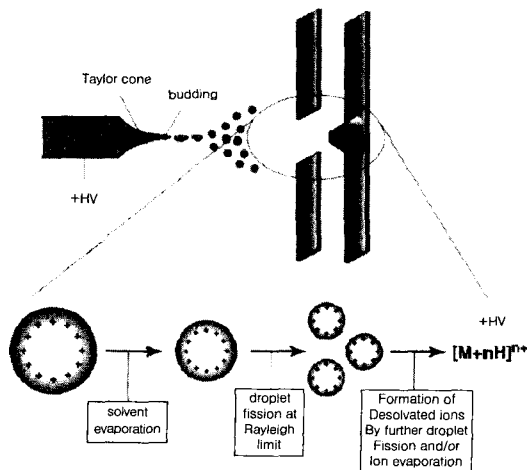


그림 2. 전기분무 경계면에서의 이온방울 형성.

plosion)을 통해 더 작은 방울로 변하며 궁극적으로 단분자 이온만이 남게 된다.

이온방울내의 용매 증발을 돕기 위해 분무기체 (nebulizer gas)를 함께 흘려주는데, 이때 이온 스프레이의 분출속도, 용매의 조성, 모세관에 걸린 전기장의 세기 등이 분무기체 및 분무속도를 결정하는 주요 요소들이다. 이온 스프레이의 분출속도는 분석하고자 하는 물질의 필요량을 결정하게 되는데, 그 분출속도에 따라 마이크로-스프레이 ($\sim \mu\text{L}/\text{min}$) 또는 나노-스프레이 ($\sim \text{nL}/\text{min}$)로 구분한다. 미세량 생체분자들을 질량분석 할 때에는, 분출속도는 중요한 고려요소로 작용하나, 다량의 합성고분자 분석시 그리 중요치 않다.

2.2 전기분무 용액

일반적으로 전기분무에 쓰이는 용매의 선택은 극성, 점성도, 표면장력, 전기전도도 등의 요소들을 고려하여 결정한다. 특별히, 고분자 전기분무에 쓰이는 용매의 선택에는 크게 두가지 요소가 중요한데, 첫째로 고분자를 잘 용해시킬 수 있는 용매이어야 하며, 동시에 전기분무가 안정적으로 이루어져야 한다는 점이다.²¹ 반복기에 산소나 질소와 같은 친양성자 원자가 포함되어 있거나, 이중결합 또는 벤젠고리가 있는 경우는 비교적 쉽게 물, 메탄올, AcCN 등의 양성자성 용매 (protic solvent)에 약간의 산 (대표적인 예로, 고순도 AcOH)을 넣어 용매로 사용할 수 있다. 고분자의 극성정도에 따라, 위에서 언급된 용매들을 적절한 혼합비로 섞어서 이용할 수 있다. 또한, THF, 벤젠, trichlorotrifluoro ethane 등의 용매도 위의 용매들과 섞어서 사용하기도 한다. 질량분석을 위해서는 양이온이 생성되어야 하는데, 이를 위해 산을 첨가하기도 하지만, 고분자 분석시 Li^+ , Na^+ , Ag^+ , Cu^{+2} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} 등의 알칼리 금속이온 또는 전이 금속이온을 포함하는 수용액을 일반적으로 첨가한다. **그림 3**은 다양한 금속이온들을 이용하여 얻어진 PEG 메틸에테르의 질량분석 스펙트럼을 보여준다.¹⁴ 일반적으로 금속이온 질량스펙트럼들이 양성자 질량스펙트럼에 비해 신호대 잡음비 (signal-to-noise ratio)가 높은 것으로 알려져 있다. 그 이유는 고분자 분리과정중 불가피하게 금속이온들이 소량으로 남게 되어 양성자의 고분자 흡착을 방해하기 때문이다.

위에서 언급한 고분자와는 달리 양이온과 쉽게 결합하는 반응기 (functional group)를 가지지 않는 폴리올레핀 (polyolefins)의 경우, 비교적 많은 양의 산

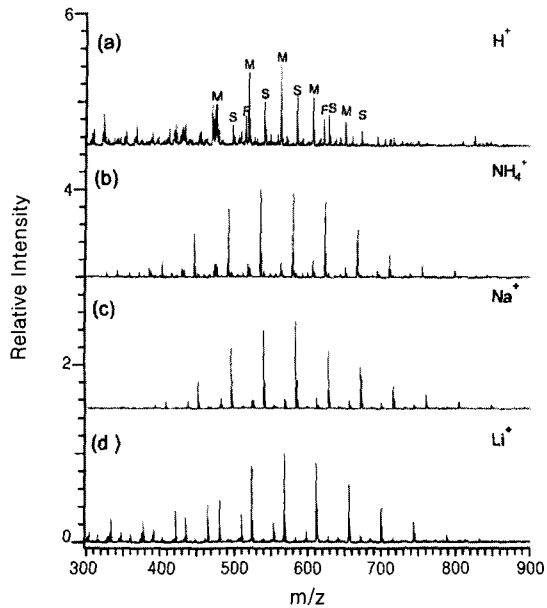


그림 3. 각기 다른 양이온을 이용하여 얻어진 PEG methyl ether의 질량스펙트럼.¹⁴

또는 금속이온을 첨가하지만 그 효율은 상대적으로 높지 않고, 그것도 분자량이 작은 소중합체에서만 가능하다 알려져 있다.²² 이러한 어려움을 극복하기 위해, 양이온을 포함하는 분자를 유기반응을 통해 고분자에 연결시켜 질량분석하는 방법도 최근에 개발되기도 하였다.¹⁵ 하지만, 아직까지는 소수성 고분자를 손쉽게 이온화하는 방법은 더욱 개발될 많은 여지를 포함하고 있다. 전기분무 용액의 고분자 농도는 대략 0.5 mg/mL 정도 (40~1000 μM)가 적당하다.

2.3 후리에 변환 질량분석기 (Fourier Transform Mass Spectrometry)의 원리

전기분무법은 다양한 질량분석기에 연결될 수 있다. 흔히 많이 쓰이는 전기분무 질량분석기로는 사중극자 이온트랩 (Quadrupole Ion-Trap Mass Spectrometer), 사중극자-비행시간차 혼성 질량분석기 (Quadrupole Time-of-Flight Hybrid Mass Spectrometer), 삼중 사중극자 질량분석기 (Triple Quadrupole Mass Spectrometer) 등이 있다. 이들 질량분석기들은 현재 국내에 비교적 많이 보급되어 있어, 이들 질량분석기에 대한 이해가 보편화되어 있다. 하지만, 이곳에서 비교적 상세히 설명하게 될 전기분무 FTMS의 경우, 국내에 보급이 되어있지 않아 그 기본 원리가 생소하므로, 이 기회를 빌어 기본 원

리와 다른 질량분석기와의 차이점을 간략히 설명하고자 한다.²³

FTMS는 강한 자기장 영향하에서 이온들이 사이클로트론 운동 (Cyclotron motion)을 하는 것을 이용한다. 자기장이 이온속도 벡터의 자기장 직각요소에 작용하여 이온들이 자기장의 직각방향으로의 원형운동을 하게 되는데, 이 사이클로트론 운동의 주기 (frequency)는 다음의 식에 나타나는 세 가지 파라미터에 의해 결정되어진다.

$$f_c = \frac{qB}{2\pi m} \quad (1)$$

(q : 이온의 전하수, B : 자기장의 세기, m : 이온의 질량)

이 식과 같이, 사이클로트론 운동의 주기는 정해진 자기장 세기에서, 단지 이온의 질량대 전하비, m/q (또는 m/z), 의해 결정되게 된다. 또한, 사이클로트론 운동을 하고 있는 이온들의 운동 반경은 이온의 운동에너지에 일정 상관관계를 갖고 비례한다. 특정한 질량을 가진 이온들을 측정하고자 할 때, 그림 4에서 보듯이 자기장 축에 평행한 들뜸판 (excitation plates)에 사인파 전위 (sinusoidal voltage)를 걸어준다. 이온들의 사이클로트론 주기와 들뜸판에 걸어진 라디오 주기와 (radio frequency) 전기장의 주기가 일치 될 때, 그림 4의 위 그림에서와 같이 이온들은 밖으로 회오리 모양으로 나가게 된다. 이때, 라디오 주기를 계속해서 제공하게 되면, 이온들은 궁극

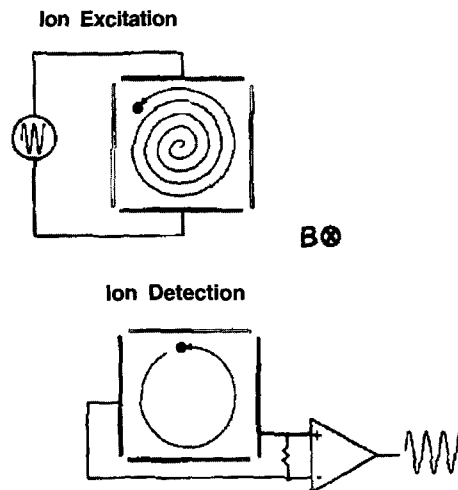


그림 4. 이온 들뜸과 이온검출 단계의 그림상상 전류 생성 원리를 나타낸 그림.

적으로 들뜸판 또는 검출판 (detector plates)에 충돌하여 소멸하게 된다. 이러한 원리를 이용하여, FTMS는 원하지 않는 이온들을 제거하고, 실험하고자 하는 이온들을 보존한다. 반면에, 라디오 주파를 이온들이 들뜸판 또는 검출판과 충돌하기 전에 끈다면 (turn-off), 이온들은 **그림 4**의 아랫 그림에서와 같이 큰 반경을 갖고 사이클로트론 운동을 한 상태로 남게 된다. 같은 질량대 전하비를 갖고 있는 수많은 이온들이 결맞게 들뜬상태에 있게 되는 것이다 (Coherent excitation). 반면에, 이들 이온들이 들뜸판 또는 검출판과 충돌하지 아니하고, 검출판에 매우 가까운 곳을 지나칠 경우, 그때마다 검출판에는 일종의 유도전류, 소위 그림상 전류 (image current)를 생성

하게 된다.

FTMS에서는 한꺼번에 각기 다른 질량을 가지고 있는 여러 종류의 이온들을 동시에 검출할 수 있다. 광대역 검출 (broadband detection)을 위해서는 들뜸을 시도할 때, 여러 주파를 동시에 주어야 한다. 실제적으로 가장 보편적으로 쓰이는 방식은 빠른 주기 훑음 (frequency sweeping)을 통해, 여러 질량대 전하비를 가지고 있는 이온들을 동시에 들뜨게 만들어 검출하는 것이다. 일정 주기영역 내에 포함된 이온들은 같은 지름을 갖는 넓은 궤도로 들뜨게 되고, 이로 인해 그림상 전류가 검출되게 된다. 그림상 전류는 각기 다른 질량대 전하비를 갖는 이온들로부터 기인한 각기 다른 주기와 진폭을 가지는 여러 사인파들의 합성파가 될 것이며, 이 전류는 **그림 5(a)**에서 보듯 시간축 선상에서 검출될 것이다. 이 스펙트럼으로부터 주기정보는 후리에 변환을 통해 과도 스펙트럼 (transient spectrum)으로부터 끄집어 낼 수 있으며, 이는 다시 식 (1)을 통해 질량정보로 바꿀 수 있다 (**그림 5(b)**).

2.4 후리에 변환 질량분석기의 극초고 분해능

FTMS의 가장 큰 장점은 얻어지는 극초고 분해능에 있다. **그림 6**은 약 8,600 Da의 생고분자 (Biopolymer, 단백질)의 11+ 이온을 9.4 Tesla 전기분무 FTMS를 통해 얻은 질량분석 스펙트럼이다.¹⁶ (저자주: 문헌상에 고분자의 극초고 분해능 질량스펙트럼이 없어 단백질의 스펙트럼으로 대체하였다). 그림에 보이는 각각의 피크들은 주로 자연계에 존재하는 탄소의 동위원소 비율 (¹²C:¹³C 98.8:1.2) 때문에 생성되는 동위원소 분포를 나타낸다. 각각의 피크간의 간격은 이 경우 1/11 Thompson (m/z unit)

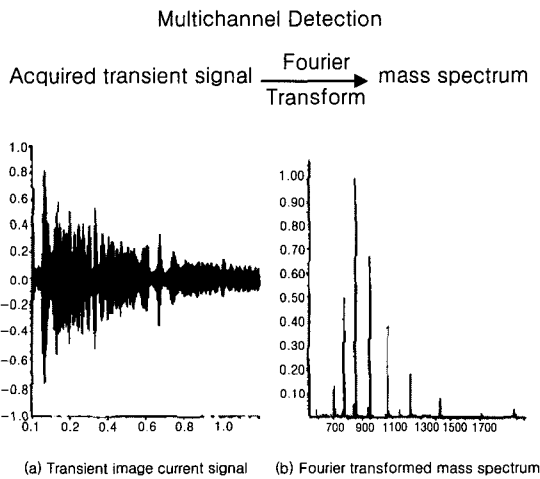


그림 5. 시간 영역에서의 스펙트럼과 이의 후리에 변환을 통해 얻어진 질량스펙트럼.

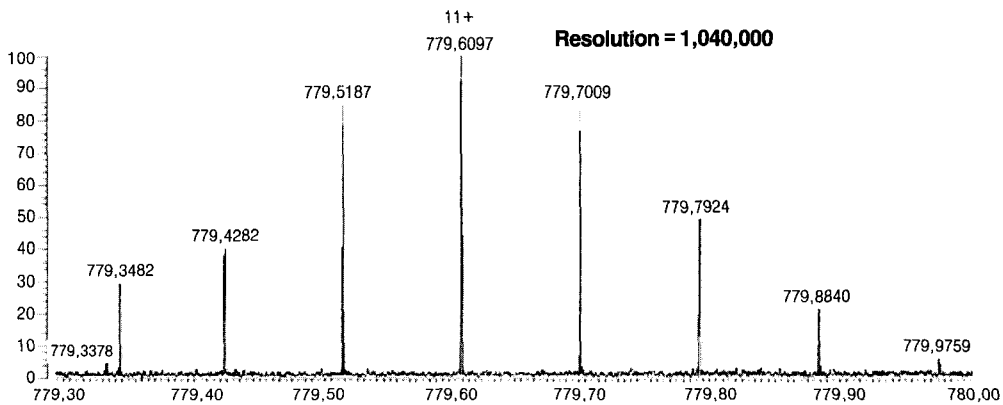


그림 6. Ionspec사의 9.4 Tesla 전기분무 FTMS를 이용해 얻은 ~8,600 Da 단백질의 11+ 이온 질량분석 스펙트럼: 1,040,000의 질량분해능.¹⁶

이며, 이것으로부터 이 이온이 11+ 이온임을 알아낼 수 있다. 이 그림은 이온들이 가지는 전하수를 알아내고자 할 때, 질량분석기의 분해능이 얼마나 중요하느냐를 명백히 보여준다. 그림에서 보여준 스펙트럼의 경우, 전기분무 FTMS가 약 1,000,000의 질량분해능을 가짐을 나타내었다. 보편화된 MALDI 비행시간차 질량분석기의 경우, 약 10,000~20,000의 질량분해능을 가지고 있어 좋은 대조를 이룬다. 얻어진 피크들의 질량은 m/z 축상의 값을 읽고, 이로부터 높은 질량분해능을 통해 알아낸 전하수 z 값을 곱하게 되면, 높은 정확도를 갖는 질량값을 얻을 수 있다.

3. 전기분무 질량분석기의 고분자특성 연구에의 응용

3.1 질량분석 (Mass Analysis: MS)을 통한 고분자 특성 연구

분자량이 작고, 좁은 다중분산도를 갖는 고분자의 경우, 전기분무 질량분석법은 MALDI 비행시간차 질량분석법과 마찬가지로 평균분자량 값을 제공할 수 있다. 그러므로, 전기분무 질량분석법은 RAFT (Reversible addition-fragmentation chain-transfer) 또는 ATRP (Atom transfer radical polymerization)와 같이 ‘살아있는 자유라디칼’ 방법 (Living free-radical polymerization techniques)을 통해 합성되어진 비교적 낮은 다중분산도를 갖고,

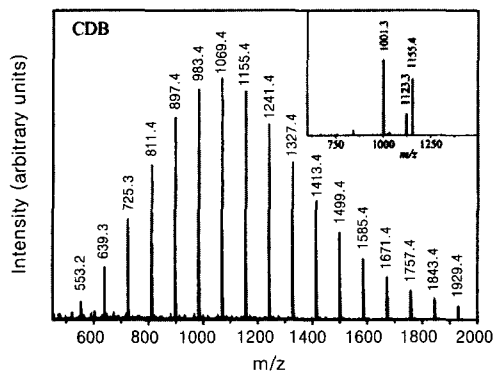


그림 7. CDB (Cumyl dithiobenzoate)가 증개된 methyl acrylate의 RAFT (reversible addition-fragmentation chain-transfer) 고분자 반응을 통해 만들어진 고분자들의 전기분무 질량분석스펙트럼 (Thermo Finnigan LCQ Deca Ion-Trap Mass Spectrometer가 이용됨).²⁴

명확한 말단기를 갖는 복잡한 거대분자 구조 등의 분석에 유용하게 쓰일 수 있다. 예를 들어, **그림 7**은 CDB (Cumyl dithiobenzoate)가 증개된 methyl acrylate의 RAFT 고분자 반응을 통해 만들어진 고분자들이 전기분무 질량분석스펙트럼에 의해 쉽게 그 고분자 평균질량, 분산도 등을 알아낼 수 있음을 보여준다.²⁴ 하지만, MALDI 질량분석법을 이용해 평균 질량을 구할 시, 사용되는 매트릭스나 양이온의 종류에 따라 다른 질량분석 분포를 나타내어 각기 다른 평균질량을 제공하듯이, 전기분무 질량분석법의 경우도 이용되는 용매와 도입부의 이온오프셋에 걸려진 전위에 따라 각기 다른 질량분포를 나타내기도 한다. 그러므로, 다른 고전적인 방법에서 얻어진 값과 질량분석을 통해 얻어진 값들은 각기 상대적인 의미를 지닌다. 예를 들어, **그림 7**을 통해 얻어진 평균분자량 값은 GPC를 통해서 얻은 값에 비해 컸다. 이것은 작은 소중합체의 경우, 큰 소중합체에 비해 이온화 효율이 적어 상대적으로 큰 값을 제공하기 때문이다. 이는 MALDI 질량분석법에서 얻어진 평균분자량이 다중분산도가 높은 고분자를 분석할 때 ($M_w/M_n > 1.2$), GPC를 통해 얻어진 값에 비해 작다고 알려진 사실과 반대이다. 또한, 반복기와 단말기 등의 정보들은 피크들의 간격들과 각각 피크들의 질량값으로부터 역시 얻어낼 수 있다.

분자량이 크고, 다중분산도가 큰 고분자를 분석할 때에는, 서론에서 언급하였듯이 전기분무 질량분석법의 경우 다가이온 (multiply-charged ions)의 형성으로 말미암아 질량분석이 쉽지 않다. 이런 경우, 크로마토그래피를 통해 미리 분획하는 과정 (pre-fractionation procedures)이 필요하다.²⁶ 주로 이용되는 분획방법으로는 임계조건 액체 크로마토그래피 (Critical Liquid Chromatography), 겔 투과 크로마토그래피 (GPC) 등이 있다.^{9,26,27} **그림 8**은 분자량이 커서 벌크 샘플을 검출할 수 없었던 GMA (glycidyl methacrylate)/BMA (butyl methacrylate) 공중합체를 GPC를 통해 분획한 뒤, 전기분무 9.4 Tesla FTMS를 이용하여 얻은 스펙트럼이다.⁹ 좌, 우와 위쪽에 보여준 질량분석 스펙트럼은 각각 소분획 4, 5, 6번에 해당하는 고분자들을 분석한 것이다. 이 실험에서는 각각의 소분획된 샘플에서 500개 이상의 피크들이 검출되었다. 이 복잡한 스펙트럼 상에 존재하는 피크들은 9.4 Tesla FTMS의 극초고 분해능을 이용하여 정확히 질량을 측정할 수 있었고, SWIFT라고 불리는 FTMS 고유의 기능을 이용하여 질

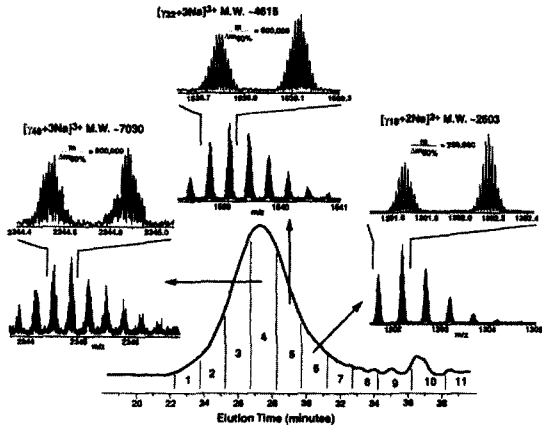
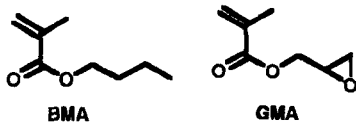


그림 8. 겔 투과 크로마토그래피를 통해 분획된 GMA/BMA 공중합체의 전기분무 9.4 Tesla FTMS 질량분석 스펙트럼.⁹

량분석기내에 분리할 수 있었다.²³ 이렇게 분리된 고분자 이온들은 아래에 설명될 MS/MS 연속질량 분해법을 이용하여 좀 더 자세한 특성연구를 할 수 있게 된다. Marshall 그룹에서는 약 $m/\Delta m_{50\%}$ 500,000의 분해능을 얻어내었고, 이렇게 우수한 분해능을 이용하여, 명목질량은 같지만 (142 Da), 정밀질량이 미세하게 다른 (0.036 Da, CH₄ 대 O) GMA/BMA의 공중합체의 조성비율을 알아내기도 하였다.⁹



전기분무법과 MALDI법 모두 매우 부드러운 이온화 방법으로 알려져 있다. 하지만, 그중에서도 전기분무법이 보다 부드러운 것으로 일반적으로 알려져 있다.²⁸ RAFT를 통해 합성되어진 고분자를 각기 전기분무법과 MALDI법을 이용하여 질량분석한 결과, 서로 다른 말단기를 가지는 것이 관찰되었다. 이것은 MALDI법이 좀 더 거센 실험조건하에서 이온화가 되어, 말단기가 잘라져 나가 다른 말단기를 가진 것으로 관측되기 때문이다.

3.2 연속질량 분해법 (Tandem Mass Spectrometry: MS/MS)을 이용한 고분자특성 연구

MALDI 비행시간차 질량분석법은 고분자 단순 질량분석 (MS analysis)을 통한 반복기, 말단기의 확인 및 평균분자량, 다중분산도 측정 목적으로 이용되어왔다. MALDI 질량분석법에서는 Post-Source

Decay (PSD)라 불리는 일종의 연속질량 분해법이 부분적으로 이용되기는 하였지만, 대부분의 고분자는 PSD를 통한 약한 충돌법에는 골격구조 (backbone chain)가 해리되지 않아, 그다지 유용한 방법으로 사용될 수 없었다. 반면에, 전기분무와 연계되어 있는 대부분의 질량분석기들은 연속질량분해 능력 (Tandem mass spectrometry: MS/MS)을 가지고 있어, 이 기능을 고분자의 특성을 좀 더 자세히 밝히는데 사용하고자 하는 시도들이 최근에 들어 이루어지고 있다.^{10-12,14,29,30,31} 일찍이 Jedlinski와 Kowalczyk 등은 다중 연속질량분해법 (MSⁿ)을 수행할 수 있는 이온트랩 질량분석기의 능력을 충분히 발휘하여 다양한 말단기를 가진 생체모방 poly(3-hydroxybutanoic acid) 유사체들의 화학구조를 분석할 수 있었다.²⁹ 예를 들어, 이 실험에서는 penicillin G potassium salt가 poly[(R,S)-3-hydroxybutanoic acid]에 부착된 고분자의 단순 질량분석 스펙트럼 (그림 9)을 얻어, 각각의 피크간의 간격이 86 Da임을 확인함으로써 반복기가 PHB라는 것을 알아내었다. 그리고, 그중 가장 많이 존재하는 칠중체 (heptamer)를 선택하여 충돌유발분해 (Collisionally activated (induced) dissociation: CAD or CID) MS/MS를 행하고, 다시 여기에서 얻어지는 딸 이온들 (daughter ions)에 대해 다시 MS/MS를 수행함으로써, 이 고분자의 분해반응 경로를 이해할 수 있었다 (그림 10).

MS/MS 방법은 촉매, 재활용 용해 (Recyclable solubilization), 제약전달 (Drug delivery), 자기공

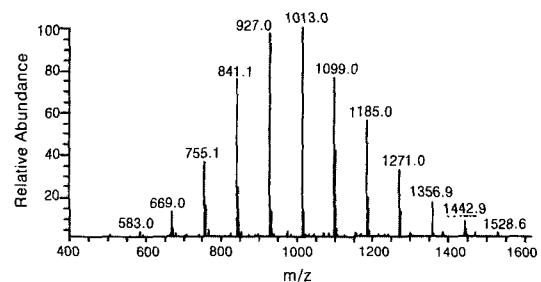
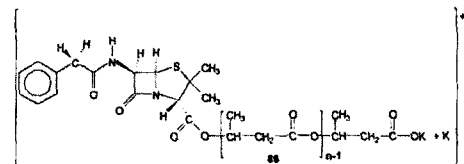


그림 9. Atactic poly[(R,S)-3-hydroxybutanoic acid]의 전기분무 스펙트럼.

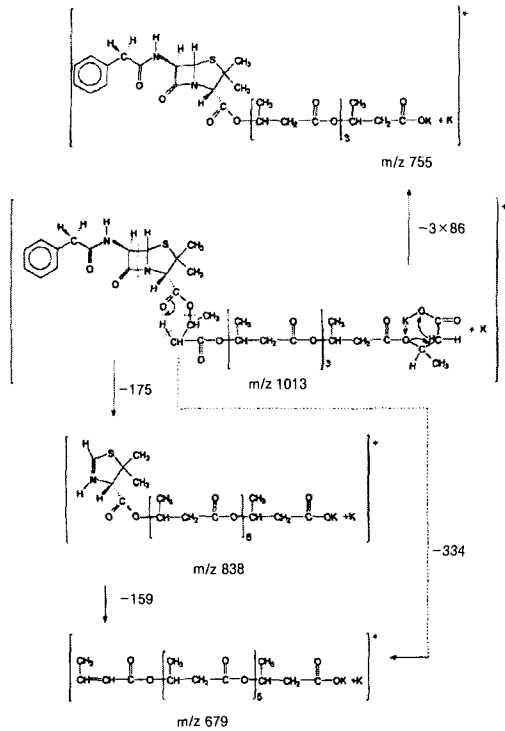
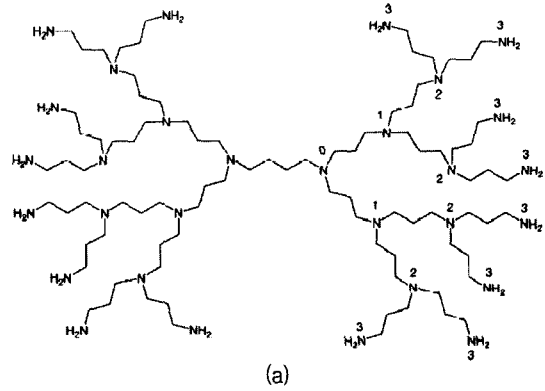
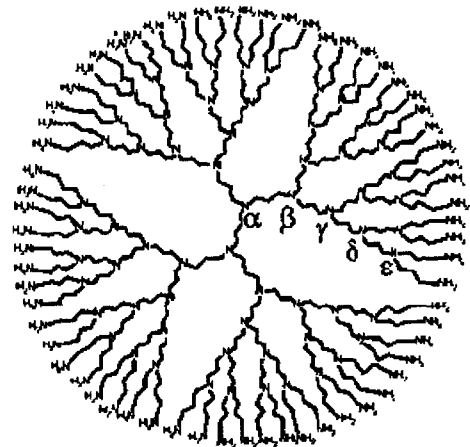


그림 10. Penicillim G potassium salt가 poly[(R,S)-3-hydroxybutanoic acid]에 부착된 고분자의 다중 연속질량분해법을 이용해서 얻은 분해반응 경로.

명 영상장치 등에 쓰임새가 많은 dendrimer의 특성화에도 성공적으로 이용되었다.^{30,32-34} 그림 11에서 보듯, poly(propylene imine) dendrimer는 중앙의 두 개의 질소를 중심으로 propylene imine 단위가 구형으로 가치를 쳐나간 형태를 가진 고분자이다. 이 고분자는 합성을 안쪽에서 바깥쪽으로, 또는 반대방향으로 할 수 있는데, 합성도중 부반응 (side reactions)에 의해 비교적 많은 동질량 이성질체 혼합물이 생성된다. McLuckey 그룹은 시약회사에서 판매하는 dendrimer를 MS/MS 방법에 의해 분석한 결과, 4,5세대에서 적지 않은 합성실패 (동질량 이성질체)가 존재함을 확인하였다.³⁴ 또한, 전기분무에서만 생성되는 ‘다가 이온’들을 MS/MS 분석할 때, ‘단가 이온’에 비해 더 자세한 구조정보를 알아낼 수 있음을 알아내었다. 이와 같이 다가 이온들이 MS/MS 분석에 보다 효율적이라는 점은, 전기분무 질량분석기종들이 MS/MS 효율성이 높다는 점과 더불어 전기분무 질량분석법의 강점을 보여준다. 또한, Li는 MS/MS 분석시 고분자 양이온의 종류에 따라 효율이 상당히 영향을 받는다는 점을 지적하였다.¹⁴ 이 그룹은



(a)



(b)

그림 11. Poly(propylene imine) dendrimer, DAB-dendr-(NH₂)_n. (a) n=16 and (b) n=64.

PEG methyl ether 소중합체의 MS/MS 실험에서 Li⁺, Ag⁺에 의해 양이온화된 고분자들이 좀 더 쉽게 충돌에 의한 연속질량 분해법에서 분해됨을 발견하였다. 그러므로, 고분자 특성연구시 양이온의 선택에 세심한 주의를 기울여야 한다.

위에서 언급된 연속질량 분해법들은 모두 충돌을 통해 고분자의 내부에너지를 증가시켜 분해하는 방법을 채택하였다. 이 방법은 분자수준에서 고분자를 전체적으로 가열시키는 방법이라 할 수 있다. 최근에 들어, McLaffery 그룹은 양성자에 (H⁺)의 의해 양이온화 (생체 또는 합성)된 고분자와 전자사이에 중성화 반응 (neutralization reaction)을 유도시켜, 이때 생성되는 높은 에너지에 의해 국지적으로 양성자 주위에서 분해를 일으키는 소위 ‘전자포획 분해법’ (Electron capture dissociation)을 개발하였다.^{10,11} 충돌에 의하는 방법이 고분자를 전체적으로 분자수

준에서 가열시켜 분해하는 방법이라면, 전자포획 분해법은 국지적으로 에너지를 생성시켜 분해하는 방법으로 보다 적은 총에너지를 이용한다. 이 방법은 충돌분해법과는 다른 분해경로를 따르므로, 각기 다른 딸 이온들 (daughter ions)을 생성한다. 그러므로, 충돌분해법과 상보적으로 좀 더 자세한 구조정보를 얻어낼 수 있는 장점이 있다. 전자포획 분해법의 가장 큰 장점은 공중합체의 조성분석에 있다. 기존의 충돌에 의한 분해법은 높은 총내부 에너지를 가하기 때문에, MS/MS 생성물이 자리옮김 반응 (rearrangement reactions)을 일으켜, 실제 고분자 구조가 아닌 인위적이고 잘못된 정보를 줄 가능성이 상존한다.¹¹ 하지만, 전자포획 분해법의 경우, 적은 에너지를 국지적으로 생성시켜 분해하기 때문에, 자리옮김 현상이 일어나지 않아 올바른 정보를 나타낸다는 사실이 알려졌다. McLafferty 그룹은 PEG/PPG 공중합체 분석에서 1% 미만의 피크 높이를 가진 특정 소중합체를 FTMS의 고유한 분리기능인 SWIFT를 이용하여 분리해 내고, 이 고분자를 전자포획 분해법과 충돌분해법을 통해 MS/MS 분석하였다. 이 결과, 충돌분해법과는 달리 전자포획 분해법은 자리옮김을 유발하지 않았고, 고분자의 말단기 및 반복 조성을 정확히 확인할 수 있었다. 이 실험은 FTMS의 강점을 최대한 이용한 실험으로 인정되어진다. 우선, 강력한 분리기능을 통해 1% 미만으로 존재하는 특정길이 고분자를 질량분석기내에서 분리해 낼 수 있었으며, 충돌분해법과 전자포획법 (전자포획법은 지금까지는 오로지 FTMS에서만 실행가능한 것으로 알려져 있다.)을 동시에 시행하여 보다 구체적인 정보를 알아낼 수 있는 장점을 구현한 FTMS 고분자분석 실험이었다. 특히, 공중합체의 반복 조성 분석에 있어서 전자포획 분해법의 장점은 더욱 더 두드러진다는 사실은 주목할 가치가 있다. 또한, 전자포획 분해법은 원칙적으로 MALDI 법에 의해 생성된 단가 이온에는 적용할 수 없는 방법이고 (1+이온+전자→중성분자, 중성분자는 질량분석기로 검출이 불가능하다.) 고분자의 전하수가 증가할수록 그 효율이 증가하는 것을 알려져 있다.

4. 결론

이 지면을 활애하여 고찰한 전기분무 질량분석법은 MALDI 질량분석법과 독립적 또는 상보적으로 고분

자 질량분석에 사용되어 질 수 있다. 두 질량분석법 모두 고분자 시료의 반복기, 말단기, 변형체에 대한 정보를 제공할 수 있다. 하지만, 평균분자량을 측정할 경우, MALDI 질량분석법이 단가 이온만을 생성시키는 장점으로 인해 더 복잡한 (더 크게 다중분산된) 고분자 시료들을 손쉽게 질량분석하는 장점을 가지고 있다. 하지만, 다중분산도가 비교적 작은 고분자 샘플의 경우, 전기분무 질량분석법 역시 어렵지 않게 평균분자량을 측정할 수 있다. 이러한 한계 역시 최근에 들어 국내·외에서 보급되고 있는 극초고 분해능 FTMS에 의해 희석되고 있다. FTMS는 높은 분해능뿐만 아니라, 다양한 연속질량 분해법을 지니고 있어, 고분자 특성을 좀 더 자세히 분석하고자 할 때 그 쓰임새가 확대되고 있다. 또한, 최근에 들어, 보다 복잡한 고분자 시료에 대한 분석요구에 따라 선분획 (pre-fractionation) 크로마토그래피와 질량분석법을 직렬로 연결하여 연구하고자 하는 많은 시도들이 많이 이루어지고 있어, 멀지 않은 미래에 지금보다 더 복잡하고 큰 분자들에 대한 질량분석이 일반적으로 사용될 것으로 기대된다.²⁶

참고문헌

1. J. B. Fenn, M. Mann, C. K. Meng, S. F. Wong, and C. M. Whitehouse, *Science*, **246**, 64 (1989).
2. K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, and T. Yoshida, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2**, 151 (1988).
3. H. Karas and F. Hillenkamp, *Anal. Chem.*, **60**, 2299 (1988).
4. J. Godovac-Zimmermann and L. R. Brown, *Mass Spectrom. Rev.*, **20**, 1 (2001).
5. J. S. Yoo, *Polymer Science and Technology*, **11**, 305 (2000).
6. D. C. Schriemer and L. Li, *Anal. Chem.*, **68**, 2721 (1996).
7. R. M. Whittall, L. Li, S. Lee, and M. A. Winnik, *Macromol. Rapid. Commun.*, **17**, 59 (1996).
8. P. B. O'Connor and F. W. McLafferty, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 12826 (1995).
9. S. D. -H. Shi, C. L. Hendrickson, A. G. Marshall, W. J. Simonsick, Jr., and D. J. Aaserud, *Anal. Chem.*, **70**, 3220 (1998).
10. B. A. Cerda, K. Breuker, D. M. Horn, and F. W. McLafferty, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **12**, 565

- (2001).
11. B. A. Cerda, D. M. Horn, K. Breuker, and F. W. McLafferty, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 9287 (2002).
 12. S. Koster, M. C. Duursman, J. J. Boon, R. M. A. Heeren, S. Ingemann, R. A. T. M. van Benthem, and C. G. de Koster, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **14**, 332 (2003).
 13. T. Nohmi and J. B. Fenn, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 3241 (1992).
 14. R. Chen and L. Li, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **12**, 832 (2001).
 15. B. J. Bauer, W. E. Wallace, B. M. Fanconi, and C. M. Guttman, *Polymer*, **42**, 9949 (2001).
 16. <http://www.ionspec.com>.
 17. J. B. Fenn, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **4**, 524 (1993).
 18. P. Kerbarle and L. Tang, *Anal. Chem.*, **65**, 972A (1993).
 19. S. J. Gaskell, *J. Mass Spectrom.*, **32**, 677 (1997).
 20. B. A. Thompson and J. V. Iribarne, *J. Chem., Phys.*, **71**, 4451 (1979).
 21. L. Latourte, J. Blais, J. Tabet, and R. B. Cole, *Anal. Chem.*, **69**, 2742 (1997).
 22. C. Hinderling and P. Chen, *Int. J. Mass Spectrom.*, **196**, 377 (2000).
 23. I. J. Amster, *J. Mass Spectrom.*, **31**, 1325 (1996).
 24. P. Vana, L. Albertin, L. Barner, T. P. Davis, and C. Barner-Kowollik, *J. Polymer Sci. Part A*, **40**, 4032 (2002).
 25. C. McEwen, C. Jackson, and B. S. Larson, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **160**, 387 (1997).
 26. R. Murgasova and D. M. Hercules, *Anal. Bioanal. Chem.*, **373**, 481 (2002).
 27. X. Jiang, P. J. Schoenmakers, J. L. J. van Dongen, X. Lou, V. Lima, and J. Brokken-zijp, *Anal. Chem.*, **75**, 5517 (2003).
 28. D. Musat, H. Henderickx, G. Kwakkenbos, R. van Benthem, C. G. de Koster, R. Fokkens, and N. M. M. Nibbering, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **11**, 218 (2000).
 29. G. Adamus and M. Kowalczyk, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **14**, 195 (2000).
 30. A. Adhiya and C. Wesdemiotis, *Int. J. Mass Spectrom.*, **214**, 75 (2002).
 31. M. Giguere and P. M. Mayer, *Int. J. Mass Spectrom.*, **231**, 59 (2004).
 32. J. de Maaijer-Gielbert, C. Gu, A. Somogyi, V. H. Wysocki, P. G. Kistemaker, and T. L. Weeding, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **10**, 414 (1999).
 33. J. W. Weener, J. L. J. van Dongen, and E. W. Meijer, *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 10346 (1999).
 34. S. A. McLuckey, K. G. Asano, T. G. Schaaff, and J. L. Stephenson Jr., *Int. J. Mass Spectrom.*, **195/196**, 419 (2000).