

질량분석기의 원리와 응용

강민정

1. 서론

질량분석기는 분자의 질량을 재는 기기로 1912년에 Thompson 에¹ 의해 첫 질량분석기가 만들어진 이후 최근 50년 동안 눈부시게 발전하였다. 1918년에 electron ionization과 magnetic focusing 기술이 Dempster에² 의해 개발되었고, 1948년에 Time-of-flight³ 기술이 개발되었으며, 1953년에 quadrupole analyzer가⁴ 개발되었으며, 1966년에 chemical ionization(CI)⁵ 기술이 개발되고, 1974년에 McLafferty에⁶ 의해서 최초로 HPLC-MS coupling이 이루어졌다. 1974년에 comisarow와⁷ Marshall에⁸ 의해 FTICR MS가 개발되었으며, Fenn과⁹ Tanaka, Karas,¹⁰ 그리고, Hillenkamp에¹¹ 의해 개발된 ESI와 matrix-assisted laser desorption/ionization(MALDI)가 질량분석기의 응용범위를 단백질, 펩타이드, 탄수화물, DNA, 약, 고분자 등으로 넓히면서 최근에는 생명과학분야에서 질량분석기가 대체될 수 없는 중요한 도구가 되었다.¹²⁻¹⁴

질량분석기는 물질의 질량을 질량 대 전하의 비(m/z)로 측정하며, 이온은 여러가지 이온화 방법에 의해서 형성된다. 이온화과정을 electron ionization(EI)의 예를 들면, 아래와 같다.



이 분자이온들은 fragmentation과정을 거쳐 짝수의 전자를 갖는 이온과 라디칼로 나뉘어지거나 또는 홀수의 전자를 갖는 이온과 중성분자로 나뉘어지며, 이 각각의 이온들은 질량 대 전하의 비에 따라 분리되고 디지털화되어 ion detector에 검출된다. 이온들의 총전하는 q 로, 전자전하는 e 로, 전하의 수는 z 로 표현하면 $q = ze$ 이고 여기서 $e = 1.6 \times 10^{-19}$ coulomb이다. 질량은 Dalton(Da)이나 원자질량단위(u)을 사용하며, m/z 는 thomson(Th)이다. 원자질량단위 u나 Da는 같은 기본정의를 갖는다. $1u = 1 \text{ Da} = 1.665402 \times 10^{-27} \text{ kg} \pm 0.59 \text{ ppm}$ 이다.

일반적으로 정량분석화학에서는 여러가지 isotope의 평균질량이 사용되나, 질량분석학에서는 monoisotope이 주로 사용되고 그 표현은 질량분석기의 분해능에 의해 좌우된다.

이 글에서는 질량분석기의 이온화 원리 및 특성, 분리방법 그리고 검출기 종류와 특성에 관하여 설명하고, 질량분석기의 응용분야 및 결과를 기술하고자 한다.

2. 이온화 방법

이온화 과정은 질량분석기로 들어가는 필수적인 과정이며 다양한 기술들이 사용되고 있고 이온화 과정에서 내부에너지의 전달 조건이 가장 중요한 요소로 꼽힌다. 몇몇 이온화 과정은 매우 에너지가 넘치고 강한 fragmentation을 일으키고 또 다른 이온화 과정은 매우 온화하여 분자이온을 생성한다. 예를 들면 EI 방법과 CI 방법은 가스상태에서의 이온화가 이루어지며 따라서 충분히 열에 안정하고 증발성이 강한 화합물에 적합하다. 이온원은 주로 전자를 방출하거나 전자를 잡거나 수소이온을 붙이거나, 수소이온을 떼거나 이온탈착을 통해 중성분자를 이온화한다.

서로 다른 이온화 방법의 종류와 그 주요 적용 대상을 표 1에 간단하게 정리하였다.

2.1 Electron Ionization(EI)

EI 방법은, 전에 electron impact로 불리웠으며, Dempster에 의해 고안되고 Bleakney와¹⁵ Nier에¹⁶ 의해 개선되었고 유기 질량 분석화학에 많이 사용된다. 이 이온화 방법은 가스상태의 분자를 대상으로 작동하며 강한 fragmentation을 일으킨다. 따라서 분자이



강민정

1993 서울대학교 화학교육과
1995 서울대학교 화학과(석사)
1997 한솔제지 연구원
2002 Saarland 대학교(박사)
2004 Saarland 대학교 Post-Doc.
2004~ KIST 선임연구원
현재

Principles and Application of Mass Spectrometry

한국과학기술연구원, 생체대사연구센터 (Min-Jung Kang, Bioanalysis and Biotransformation Research Center, 39-1, Hawolgok-dong, Seongbuk-gu, Seoul 136-791, Korea) e-mail : mjkgang1@kist.re.kr

표 1. Different ionization methods

Ionization method	Ion type	Sample type	Separation technique
EI	M^{++} , fragments	Nonpolar and some polar organic compounds	GC
CI	$[M+H]^+$, $[M-H]^-$, M^{++}	Nonpolar and some polar organic compounds	GC
FAB	$[M+H]^+$, $[M-H]^-$	Peptides, proteins, lipids, carbohydrates, oligosaccharide, nucleotides, oligonucleotides	LC, CE
Thermospray	$[M+H]^+$, $[M-H]^-$, $[M+NH_4]^+$	Polar compounds	LC
APCI	$[M+H]^+$, $[M-H]^-$	Polar compounds, drugs	LC
ESI	$[M+nH]^{n+}$, $[M-nH]^{n-}$	Peptides, proteins, lipids, carbohydrates, oligosaccharide, nucleotides, oligonucleotides, low mass polymer	LC, CE
MALDI	$[M+H]^+$, $[M-H]^-$	Peptides, proteins, lipids, carbohydrates, oligosaccharide, nucleotides, oligonucleotides, polymers	LC, CE

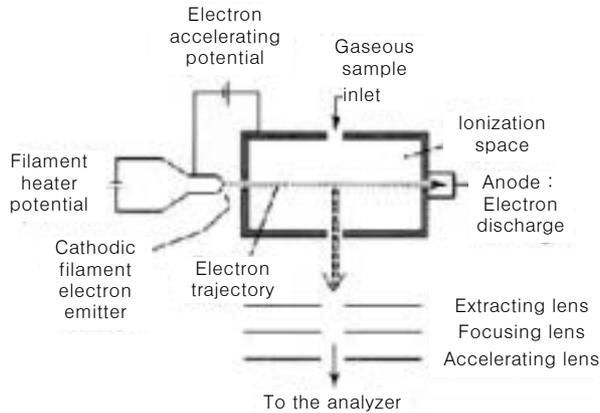


그림 1. Diagram of an electron ionization source.

온이 항상 관찰되지는 않는다. 가열된 필라멘트는 전자를 방출하고 방출된 전자는 음극을 향해 가속화되어 이온원으로 주입된 가스상태의 분석물질과 충돌한다. 각 이온은 파장과 연관되어 있으며($\lambda = h/mv$) 이는 운동에너지에 해당된다(1.4 A는 70 eV). 여러 파장 중 한 파장이 전자의 들뜸에 필요한 적당한 에너지를 가지고 있으면, 전자의 들뜸이 일어나며 그 에너지가 충분하면 전자가 방출된다.

그림 1에 EI 이온원을 그림으로 표현하였다.

2.2 Chemical Ionization(CI)

CI는 상대적으로 조금 초과된 에너지를 사용하여 이온을 생성하는 기술이다. 이는 적은 fragmentation을 만들어 분자이온이 쉽게 관찰되는 장점을 가지고 있고 이온화원에 존재하는 기본이온과 충돌하여 이온을 생성한다. 이 기본 이온들은 가스나 액체상태의 시료가 이온화됨으로써 얻어지며 이들은 분석물질이 주입되면 수소 이온을 전달하여 MH^+ 이온을 생성한다.

2.3 FAB : Fast Atom Bombardment

Fast atom bombardment는 중성원자, 분자들의 높은 빔에 시료를 집중시키는 기술이다. 시료를 비휘발성 액체에 용해시켜야 하는 것이 특징이다.

2.4 Thermospray

염과 분석물질을 포함하고 있는 용액이 최모세관으로 뽑어져 가열된 후 초음파의 빔형태로 진공관을 지나 미세한 방울로 스프레이된다. 용액으로부터 추출된 이온들이 가속화되어 analyzer를 향하게 된다. 스프레이된 방울에는 여러 개의 용매와 분석물질을 포함하고 있기 때문에 이온화 전에 증발이 되어야 한다. 이온들은 액체 상

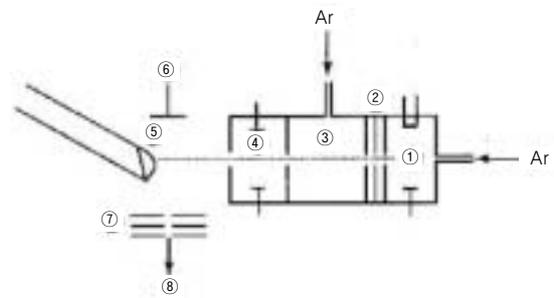


그림 2. Diagram of a FAB gun. (1) Ionization of argon ; the resulting ions are accelerated and focused by lenses (2) In (3) the argon ions exchange their charge with neutral atoms, thus becoming rapid neutral atoms. As the beam path passes between the electrodes (4) all ionic species are deflected. Only rapid neutral atoms reach the sample dissolved in a drop of glycerol (5) The ions ejected from the drop are accelerated by the pusher (6) and focused by electrodes (7) towards the analyzer (8).

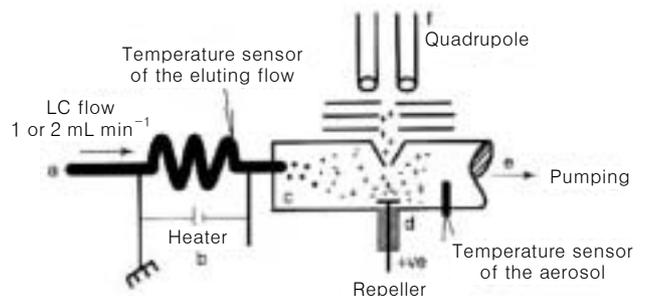


그림 3. Diagram of a thermospray source. The chromatographic effluent comes in at (a) the transfer line is suddenly heated at (b) and the spray is formed under vacuum at (c). At (d) the spray goes through a repeller with a positive potential and a negative cone for positive ions. The ions are thus extracted from the spray droplets and accelerated towards the spectrometer (f). At (e) a high-capacity pump maintains the vacuum.

에서 직접 기체상으로 이동한다. 이온화를 촉진하기 위해서 모세관 밖의 방울들을 코로나 방전으로 전하를 줄 수 있다.

2.5 ESI : Electrospray

이 이온원은 시료를 대기압에서 이온화하여 질량분석기로 이온을 전달한다. 강한 전기장(3~6 kV)을 모세관을 통과하는 낮은 유속의(1~10 $\mu\text{L}/\text{min}$) 액체에 걸쳐 10^6 V/m 정도의 전기장을 생성한다. 이 전기장은 모세관 끝에 위치한 액체 표면에 전하를 축적

하여 이 액체를 분해한다. 수직으로 주입된 낮은 유속의 가스는 스프레이로부터의 분무를 돕고, 이 방울들은 가열된 비활성 기체 또는 가열된 모세관을 통하여 마지막 용매분자를 제거한다.

스프레이는 설정된 전압으로부터 시작되며 용매의 표면장력에 의존한다. 낮은 전압에서 방울은 구의 형태를 띠다가 센 전압에서는 축적된 전하에 의해 모양이 변하며, 표면장력이 부서지면 방울은 테일러 콘으로 그 모양이 변하고 스프레이가 시작된다. 방울의 용매가 증발하면서 방울이 점점 줄어들고, 줄어드는 방울에서는 coulombic force가 늘어나 방울의 분산을 유도하여 점점 방울이 작아지게 된다. 방울 표면의 전기장이 충분히 커지면 표면에서 이온의 탈착이 일어난다. 이처럼 이온의 탈착은 방울의 표면에서 일어나므로 감도는 그 분석물질이 방울의 표면에 많이 존재하는 것일수록 좋다. 즉, 더 비극성일수록 감도가 좋다.

2.6 APCI : Atmospheric Pressure Chemical Ionization

이 이온화 방법은 대기중의 가스상태의 이온분자 반응을 이용한다. 이 방법은 주로 극성이면서 분자량이 약 1500 Da 이하를 갖는 물질에 주로 적용되며 모노이온이 주로 형성된다. 용액의 분석물질은 직접 주입하는 프로브나 liquid chromatography로부터 0.2에서 2 mL/min의 속도로 주입된 후 높은 속도의 질소빔으로부터 얇은 안개로 전환된다. 방울들은 다시 가스흐름에 의해 가열된 석영튜브(탈착/증발 chamber)에 담겨 증발이 일어나게 된다. 이

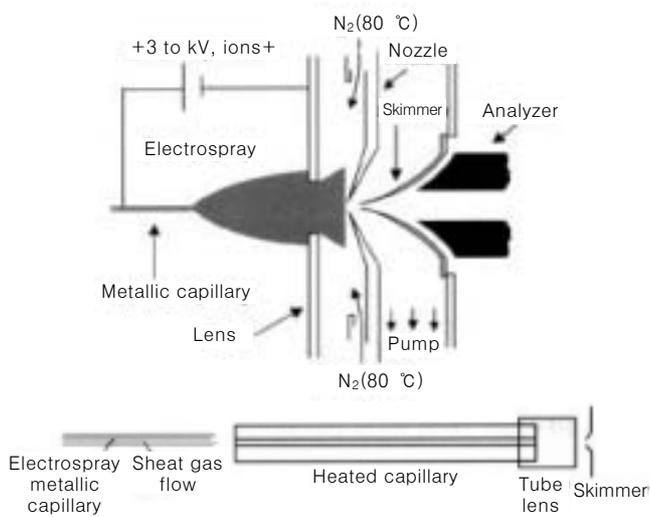


그림 4. Diagram of ESI source, using skimmer for ion focalization and a curtain of heated nitrogen gas for desolvation (TOP) or with a heated capillary for desolvation (bottom).

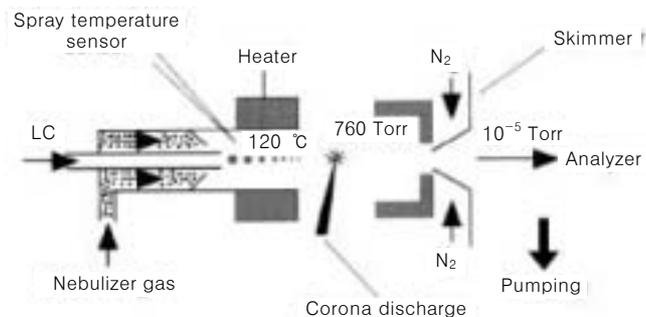


그림 5. Diagram of an APCI source.

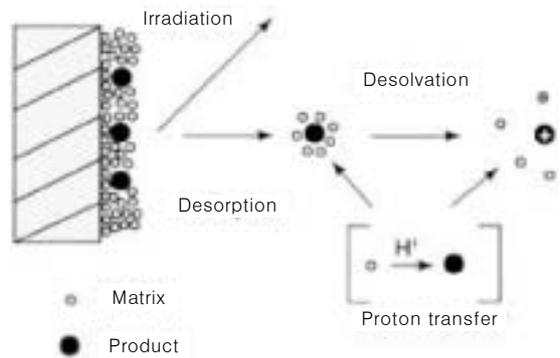


그림 6. Diagram of the principle of MALDI.

chamber의 온도는 조절되며 이것이 증발조건이 가스의 유속과 물질의 특성과 무관하게 해준다. 뜨거운 가스(120 °C)와 물질들은 이 튜브를 떠나 증발된 후 코로나 방전에 의해 이온화가 일어난다. APCI의 이온화 과정은 CI의 이온화 과정과 비슷하며 대기압하에서 일어난다.

일반적으로, 증발된 이동상은 이온화 가스로 행동하며, 반응하는 이온들은 분무된 용매로부터 코로나 효과에 의해 생성된다. 전형적으로 코로나 방전은 EI에 의한 초보이온처럼 N₂⁺나 O₂⁺로 형성되며 이 이온들은 증발된 용매와 충돌하여 두번째 반응 이온을 생성한다. 하지만 물질의 이온화가 대기압하에서 높은 진동수로 일어나면서 분석물질에 열을 전달하고 같은 방법으로 빠른 증발과 탈용매를 돕고 분석물질의 분해를 막는다. 대기압하에서 생성된 이온들은 작은 주입구를 통해 모여져 analyzer로 들어간다. 주입구는 적당한 진공상태를 유지하면서 최대한 많은 이온을 받아들일 수 있도록 충분히 넓어야 한다. 가장 좋은 해답은 구획을 나누어 서로 다른 펌프기술을 사용하는 것이다.

2.7 MALDI : Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization

MALDI는 두 단계로 이루어지는 이온화 방법이다. 첫번째 단계는 분석물질과 레이저 에너지의 강한 흡수를 보이는 매트릭스라고 불리는 작은 분자량의 유기화합물을 섞어서 그 혼합물을 말려서 고체 분석물질-매트릭스 혼합물을 만드는 것이다. 여기서 분석물은 매트릭스 사이에 과몰해서 서로 떨어져서 존재하게 된다. 두번째 단계는 짧은 주기의 강한 레이저 펄스를 사용하여 이 고체혼합물을 박리하는 것이다. 여기서 레이저는 결정들의 빠른 가열을 일으키고 가열된 팽창하는 매트릭스 구름에 의해 분석물질도 온전한 상태로 끌려가면서 내부에너지가 분석물질로 전해진다. 하지만 아직 MALDI에 의해 생성되는 이온화 메커니즘이 완전히 밝혀지지 않았다. 몇몇 제안된 이론은 “gas-phase photo-ionization”, “excited-state proton transfer”, “ion-molecule reactions” 등이다. 가장 많이 받아들여지고 있는 이론은 매트릭스가 photo ionization된 기체상태로 팽창하는 가운데 분석물질로 수소이온 전달이 일어난다는 것이다.

3. 질량 분석기기

한번 이온이 형성되면 그들은 각각의 질량에 따라 분리되어야 한다. 이온원이 다양한 것처럼 질량분석기기의 종류 또한 다양하다.

분석기의 세가지 중요한 특징은 질량 분석 상한선(upper mass limit), 투과효율(transmission), 분해능(resolution)이며, 질량분석 상한선이란 결정될 수 있는 m/z ratio에서 가장 높은 값을 말한다. 이 값은 Thomson 또는 atomic mass units(u)로 표현된다. 투과 효율이란 이온원으로부터 검출기에 도달하는 이온의 비율을 의미하며 분해능이란 작은 분자량의 차이로도 두 이온을 서로 다른 신호로 구분할 수 있는 능력을 의미한다(그림 7 참고).

두개의 피크 사이의 계곡이 10% 이상 분리되어 있으면, magnetic 또는 ion cyclotron resonance 기기의 경우 두개의 피크가 분해되었다고 간주되며, quadrupole의 경우 두 피크 사이의 계곡이 50% 이상 분리되어 있으면, 두개의 피크가 분해된 것으로 간주된다. 분해능(resolution)은 $m/\delta m$ 으로 정의되며 여기서 δm 은 두 피크 m과 δm 이 분해되었을 때 가질 수 있는 가장 작은 질량 차이이다. 또한 분리된 피크의 분해능은 종종 피크높이의 반인 지점에서의 full width로 표현된다.

3.1 Quadrupole Analyzers

사중극자 분석기는 1950년대부터 electron ionization 이온원과 함께 사용되었으며 아직도 가장 흔하게 사용되고 있는 질량분석 기기이다. 최근에는 electrospray ionization과 APCI와 함께 연

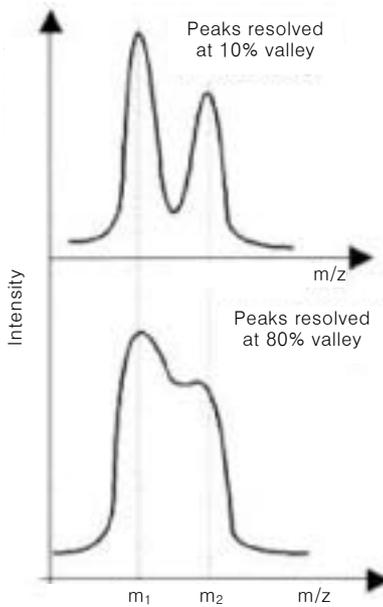


그림 7. Diagram showing the concept of peak resolution and valley.

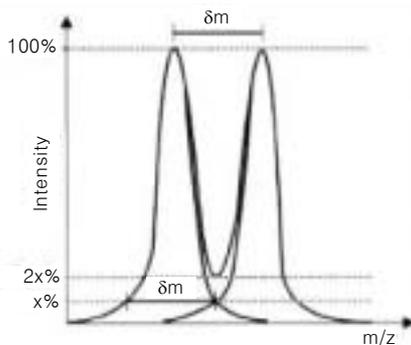


그림 8. Relationship between the two definitions of resolution.

결되어 많이 사용되고 있다. 쌍곡선 모양을 한 네 개의 원통이 평행하게 나열된 형태로 양이온이 사중극자안의 공간안으로 들어오면 음극 쪽으로 끌려가고, 이때, 극이 바뀌면 이온이 방향을 바꾸게 된다. Z축을 따라 이뤄지는 이온의 이동경로는 총 전기장의 영향에 의해 결정되며, 이 전기장은 사극자에 걸린 전압에 의해 결정된다.

$$\Phi_0 = + (U - V \cos \omega t) \text{ and } -\Phi_0 = - (U - V \cos \omega t)$$

Φ_0 : 사극자에 걸린 전압

ω : $2\pi\nu$: angular frequency (rad/s) and ν frequency of the radio frequency (RF)

U : direct potential (500–2000 V)

V : amplitude of the RF (–3000–3000 V)

사중극자는 이온의 궤도를 사중극자의 중앙으로 모이게 하는 특징을 가지고 있다. U 가 0이면, V 값에 의해 결정된 일정한 질량 값 이상을 가진 모든 이온들은 안정한 궤도를 갖게 된다. 사중극자의 이온 중앙 모음 효과는 이온의 충돌 후 이 이온들의 투과율을 높이는 효과가 있다.

사중극자 분석기는 “Q”로 기호화되며, RF 사중극자는 “q”로 표현한다. 충돌가스는 중앙 사극자 내부로(q2) 들어가 운동에너지를 내부에너지로 바꾸어 그 에너지를 분석물질에 전달하여 이온이 깨지고 그 조각들은 Q3에서 분석된다. 이를 도식화한 그림이 그림

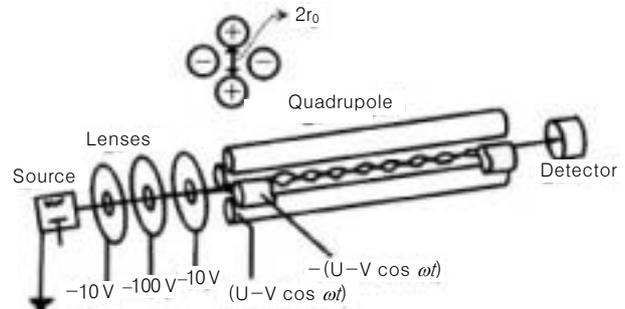


그림 9. Quadrupole instrument made up of the source, the focusing lenses, the quadrupole cylindrical rods and the detector. Ideally, the rods should be hyperbolic.

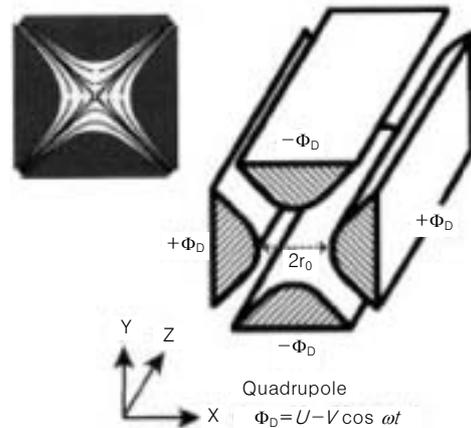


그림 10. Quadrupole with hyperbolic rods and potentials. The equipotential lines are represented on the left.

11이다.

몇 가지 서로 다른 방식으로 이온들을 스캔 할 수 있으며 몇몇 중요한 스캔모드를 **그림 12**에 도식화하여 표현하였다. 첫번째 스캔모드는 Q1에서 특정한 m/z 를 갖는 이온을 선택하여 q2에서 반응을 하거나, 조각으로 만든 후 Q3에서 이 fragment ion들을 스캔하는 것으로 이를 “product ion scan” 또는 “daughter scan”으로 부른다. 두번째 경우는 Q3에서 선택된 특정한 이온을 잡는 동안 이 이온을 내는 모이온들을 Q1에서 스캔하는 방법이다. 따라서 이 방법으로는 같은 fragment를 내는 모든 precursor 이온들을 잡아낼 수 있으며 이 방법을 “precursor scan” 또는 “parent scan”이라고 부른다. 세번째 경우는 “neutral loss scan”이라고 불리는 것으로 두 군데의 질량분석파트(Q1, Q3)에서 동시에 스캔하는 것으로 두 이온의 차가 일정한 이온들을 잡는 방법으로 예를 들면 첫번째 질량분석기(Q1)에서 m 의 이온을 잡고, 두 번째 질량분석기(Q3)에서 $m-a$ 이온을 잡는 것으로 a 라는 질량차이가 나는 이온들을 선택적으로 잡아 낼 수 있어 복용한 약의 메타볼라이트들을 찾아내는 clinical application에 응용할 수 있다. 이 방법을 “neutral loss scan”이라고 부른다.

3.2 Quadrupole Ion Trap

Ion trap 질량분석기는 tandem 질량분석기가 사중극자 사이로 겹치는 주파수의 경로를 따라 이온을 흘러 지나가게 하는 것과 달리 동일 주파수의 사중극자 범위에 원하는 이온을 잡아 넣고 나머지는 방출시킨다. Ion trap의 가장 유용한 점은 바로 이 선택된 이온의 분리이며, 분리된 이온은 충돌가스에 의해 fragmentation 된



그림 11. Diagram of a triple quadrupole instrument. The first and the last(Q1 and Q3) are mass spectrometers. The center quadrupole, q2, is a collision cell made up of a quadrupole using RF only. The quadrupole mass spectrometers are symbolized by “Q” and the RF-only quadrupoles by “q”.

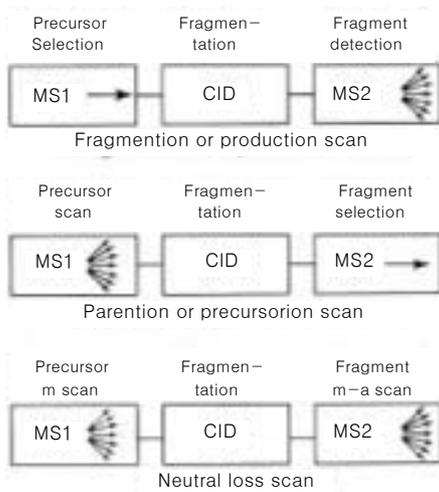


그림 12. Different scan modes for a tandem mass spectrometer ; CID=Collision induced dissociation.

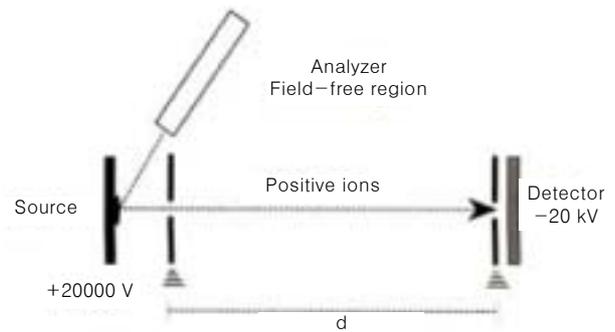


그림 13. Principle of a linear TOF instrument tuned to analyze positive ions produced by focusing a laser beam on the sample.

다. 다중 분석기 없이도 multi collision-induced dissociation (MS^2 , MS^3 ...)을 가능 하게 하는 최근의 LC-MS/MS 방법은 이제 거의 routine 하게 사용된다.

Quadrupole ion trap의 또 다른 장점은 작은 크기와 이온을 잡아서 축적시키는 능력으로 그 신호대 잡음비가 매우 낮은 것을 들 수 있다. Quadrupole ion trap은 최근에 electrospray ionization 과 MALDI와 결합하여 단백질의 확인에 많이 이용되고 있다.

3.3 Double-Focusing Magnetic Sector

Magnetic을 이용한 분석에서는 이온들이 전기장에 의해 자기장 속으로 가속된다 이때 이온들은 이온의 속도, 자기장의 세기, 이온의 m/z 값에 의존하는 직경을 갖는 원을 그리는 운동을 하게 된다. 자기장을 스캔하고 검출기에 도착하는 이온들을 모니터링함으로써 mass spectrum을 얻는다. Magnetic analyzer를 사용하는데서 오는 단점인 낮은 분해능을 극복하기 위해 electrostatic analyzer를 결합하여 double-sector instrument를 만들었으며, 이 electrostatic analyzer가 kinetic energy filter로 작용하여 검출기에 도착하는 이온들의 kinetic energy를 균일하게 함으로써 분해능을 향상시킨 기기이다. 이 기기는 주로 FAB이나, EI와 주로 결합되어 사용되고 있다.

3.4 Time-of-Fight Mass Spectrometer : TOFMS

Linear time-of-flight mass spectrometer는 가장 간단한 질량분석기로 MALDI, electrospray 또는 gas chromatography 와 연결되어 다양하게 사용되고 있으며, 이는 모든 이온들이 가속장에서 같은 에너지를 받고 검출기까지 가속화되면서 가벼운 이온은 먼저, 무거운 이온은 나중에 검출되는 원리에 의해 분석물질을 분리하는 것이다.

Kinetic energy (KE) = $1/2 mv^2$, 여기서 $v = (2 KE/m)^{1/2}$ 이다. 따라서 이온의 검출기까지 날아가는 속도는 $(m)^{1/2}$ 에 반비례하고 시간(t)는 $(m)^{1/2}$ 에 비례한다.

Linear TOFMS의 가장 큰 단점은 낮은 분해능이며 이는 이온 생성 pulse의 길이(시간 분포), 생성된 이온의 부피크기(공간 분포), 초반 이온들의 kinetic energy의 차이(운동에너지 분포)등에서 기인한다. Digitizer 또한 분해능과 정확도를 좌우하는 중요한 요인이다. 따라서 이 단점들을 극복하기위해 flight tube의 길이를 늘리고, electrostatic reflector(reflectron)를 사용하는 것이다. Reflectron은 grid series와 ring electrodes를 사용하는 것으로 이온들의 에너지 분포가 다르더라도 m/z 가 같으면 가속 출발을 고르게 하여 운동에너지 분포에 의한 낮은 분해능을 높이는 것이다. Reflec-

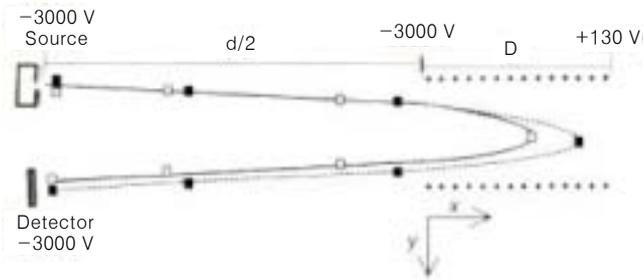


그림 14. Schematic description of a TOF instrument equipped with a reflectron; (■) ions given mass with correct kinetic energy; (□) ions of the same mass but with a kinetic energy that is too low. The latter reach the reflectron later, but come out with the same kinetic energy as before. With properly chosen voltages, path lengths and fields, both kinds of ions reach the detector simultaneously.

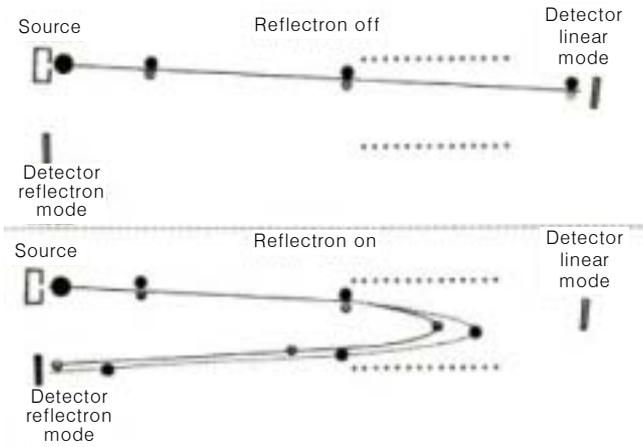


그림 15. Tandem mass spectrometry with combined linear and reflectron TOF instrument: (●) bundle of ions with one given mass leaving the source; during the flight, a fraction of these ions fragments (●) survivor ions; (○) fragment ions. Those ions fragmenting between the source and the reflectron are called post-source decay (PSD) ions.

tron을 도식으로 표현하면 **그림 14**와 같다.

Reflectron TOF 기기를 사용하여 tandem mass spectrometry를 실행할 수 있는데 이는 **그림 15**에 나타난 것처럼 linear mode와 reflectron mode를 결합하여 사용하는 것이다. 이온의 fragmentation이 가속화 이후 일어나고 reflectron으로 product ion과 neutral 이온이 들어갔을 때, reflectron이 꺼져 있으면 이들은 precursor이온들과 같은 kinetic energy를 갖게 되며, reflectron이 켜져 있으면 이들은 다른 kinetic energy를 갖게 된다. 따라서 이들 둘의(linear, reflectron) spectrum을 비교했을 때, reflectron에서는 발견되고, linear에서는 발견되지 않는 이온들이 바로 post-source decay (PSD)로부터 발생한 fragment들이다.

3.5 Fourier Transform-Ion Cyclotron Resonance

이온궤도는 자기장 안에서 굽는다. 이온의 이동속도가 낮고, 장의 세기가 클수록 궤도의 직경이 작아진다. 그리고 그 이온은 자기장안의 원 궤도에 잡히게 된다. 이것이 ion cyclotron의 기본원리이다. V 의 속도로 자기장 B 인 곳에 주입된 이온은 $F=qvB$ 와 $F=mv^2/r$ 의 힘을 받으므로 이 두 힘의 평형이 이루어지는 궤도에서 안정적이므로, $qvB=mv^2/r$ 즉, $qB=mv/r$ 이다. FTMS는 전하를 띤

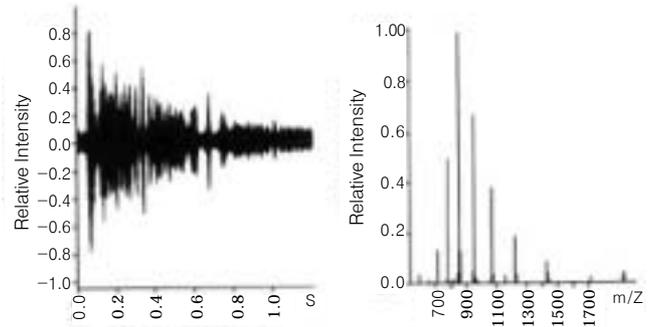


그림 16. Signal intensity as a time function is transformed, through a Fourier transform, into intensity as a function of frequency and hence into an intensity to m/z relationship.

입자가 자기장안에서 그리는 궤도운동을 관찰하는 것으로 이온이 궤도를 그리며 움직이는 동안 pulsed radio frequency는 이들을 여기 시킨다. RF 여기는 이온이 검출 가능한 전류(image current)를 생성하도록 돕는다. 이렇게 생성된 image current는 각각의 m/z 에 해당하는 주파수로 Fourier-transform 된다. 최근에는 12 T의 자기장이 도입되었다. 이 기술은 높은 분해능을 제공 할뿐만 아니라 multiple collision experiment (MS^n , $n\Delta$)가 가능하다. FT-ICRMS는 바이오 물질의 분석에는 새롭게 등장한 기기이다. 하지만 그 장점이 점점 더 부각되면서 다양한 서로 다른 이온화원과 (MALDI, electrospray, APCI, electron ionization) 결합되어 사용되고 있으며, 높은 분해능과 높은 정확도를 보여주고 있다.

4. Detectors

일단 이온이 질량분석기에 의해 분리되면 이온검출기에 도착한다. 이 이온들이 신호를 만든다. 가장 많이 사용되는 검출기는 electron multiplier로 이온의 운동에너지가 두 번째 전자를 방출하는데 사용된다.

4.1 Electron Multiplier

몇 개의 dynode 시리즈로 이루어진 electron multiplier는 이온이 첫 dynode의 표면을 때려 전자를 방출하고 이때 생성된 전자가 두 번째 dynode를 때리고 이 과정이 반복되어 신호를 증폭시킨 결과를 얻을 수 있다(**그림 17** 참고).

4.2 Faraday Cup

이온이 Dynode컵 표면을 때리면 secondary ion들이 방출되고 이 전자의 순간적인 방출이 전류를 유도한다. 이 검출기는 감도는 떨어지나, 높은 압력에 대한 tolerance를 가지고 있다.

4.3 Array Detectors

평행한 실린더형 채널이 판에 여러 개 뿔려 있는 형태이며 채널의 직경은 $4\sim 25\ \mu\text{m}$ 이고 center-to-center의 거리는 $6\sim 32\ \mu\text{m}$ 이다(**그림 18**). 전자의 증폭이 채널을 덮고 있는 반도체 물질에 의해 이루어지며, 채널커브가 양이온의 입구쪽에서의 가속을 막는 역할을 한다.

4.4 Photon Multipliers

이 검출기는 두개의 conversion dynode와 phosphorescent screen 그리고 photomultiplier로 구성되어 있으며, 양이온 모

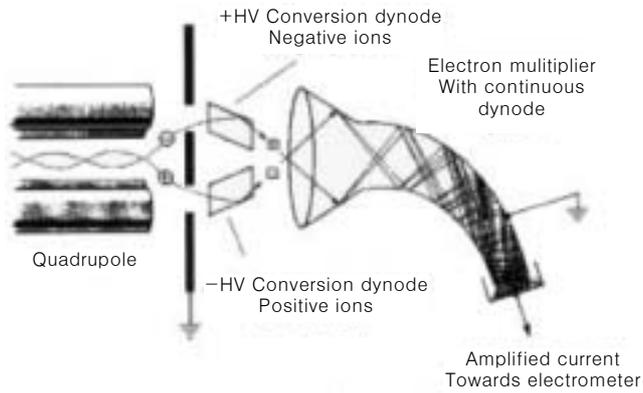


그림 17. Electron multiplier.

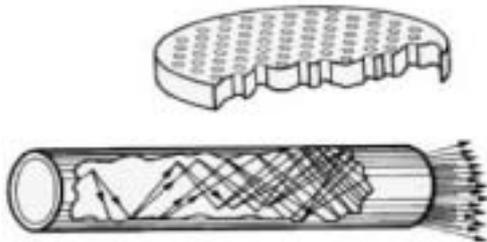


그림 18. Cross-section of an array plate and electron multiplication within a channel.

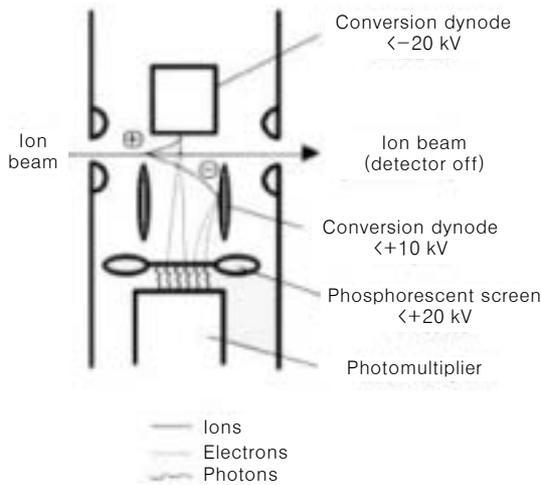


그림 19. Photomultiplier.

드에서는 증폭된 이온들이 음전하를 띤 dynode로 가속되며, 음이온 모드에서는 이온들이 양전하를 띤 dynode로 가속된다. 이들은 phosphorescent screen을 향해 가속되어 photon으로 전환된다. 이 photon들은 photomultiplier에 의해 검출된다(그림 19 참고).

5. 질량분석기의 응용(1) : 신약개발을 위한 프로티오믹스

질병은 흔히 유전자의 변화 및 환경요인에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다. 특히 환경요인은 점차 질병의 주요 요인으로 확인되고 있으며, 유전자의 변화에 절대적인 영향을 끼치는 것으로 알

려지고 있다. 이와 같이 환경과 유전자 변화의 상호작용으로 질병이 발생하는 일련의 과정에서 유전자의 산물인 단백질은 질병의 주요 마커 역할을 하여, 질병의 진단, 치료 및 처치를 위한 지침을 제공하는 물질로 사용된다. 이와 같이 질병과 관련된 단백질 및 단백질의 변형을 밝히기 위한 프로티오믹스의 연구를 위해 체액 내 단백질을 분석하기 위한 질량분석기와 축적된 실험정보를 통해 단백질의 신원을 밝히는 바이오 인포매틱스는 신약개발의 주요 도구로 자리잡고 있다.

질병과 관련된 단백질 분석의 걸림돌은 체액 내에 존재하는 단백질의 다양한 종류와 넓은 농도범위를 갖고 있다는 점이다. 일반적으로 인간 유전체는 35,000개의 유전자를 가지며, 각 유전자는 일반적으로 5~6개의 단백질을 생산하므로 인체 내에는 200,000개 이상의 단백질이 존재한다. 일례로 혈액의 경우 존재하는 단백질의 종류는 여전히 알려져 있지 않다. 또한 알부민의 경우 밀리몰라, 암인자(tumor necrosis factor)의 경우 펩토몰라 범위로 존재하는 등, 각각의 단백질 농도는 종류에 따라 10^{12} 배까지 차이를 보이는 것으로 알려져 있다.

이와 같이 다양한 종류와 넓은 농도범위의 체액시료를 처리하기 위해 사용되는 2차원 전기영동 젤의 경우 약 10^4 배의 농도범위차를 갖는 시료의 분석에 사용되어 전처리되지 않은 혈장을 처리할 경우 100개 이상의 단백질을 분석할 수 있다.¹⁷ 전처리를 통해 과량으로 존재하는 단백질 등을 제거하는 경우 시료분석에 요구되는 측정감도는 피코몰라 영역에 도달하므로 질량분석기의 적용이 가능하며, 새로이 개발되는 아토펙몰라의 측정감도 및 수 나노리터의 시료로 분석이 가능한 질량분석기가 속속 프로티오믹스에 응용되고 있다.

그림 20은 E. Coli 시료를 분자스캐너로 분석한 결과, 위 그림은 2차원 전기영동 결과를 보여주며, 아래 그림은 전기영동시의 해당 단백질 밴드를 트립신으로 분해한 후 질량분석기로 분석하여 단백

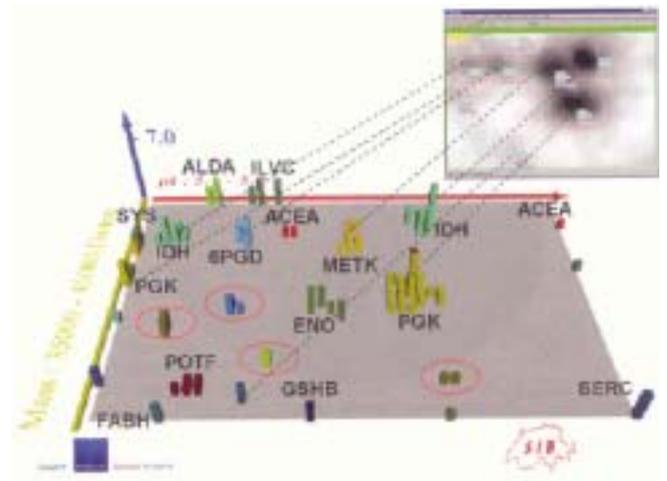


그림 20. The top image represents a portion of a two-dimensional gel electrophoresis analysis of E. coli sample scanned with the molecular scanner. The spots' intensities are related to the ion counts on the MS instrument and could be seen by "MS" staining. The lower image is a three-dimensional view of the top image, where the separated proteins are automatically identified and shown with their MS peak intensities. The circles highlight clustered peptides with no identification by peptide mass finger-printing.

질의 신원을 밝힌 결과를 보여준다.

근래에는 단백질을 분해하는 트립신이 고정된 멤브레인을 시료가 전기영동된 2차원 젤과 분석용 멤브레인 사이에 두고 전기이동 (blotting) 시킨 후, 트립신에 의해 분해되어 분석용 멤브레인에 이동된 펩티드를 MALDI-MS 혹은 MALDI-MS/MS로 분석하는 분자스캐너가 개발되어 대량샘플의 처리가 용이하게 되었다.¹⁸ 분석결과는 시료의 2차원 전기영동 젤과 분해된 단백질의 펩티드를 분석하여 자동으로 단백질의 신원 (identification) 을 밝힌 결과를 동시에 보여준다. 이와 같은 단백질 신원의 확인은 OLAV,^{19,20} Mascot,²¹ Sequest 등²² 여러 신호탐지이론에 기초한 시스템을 활용하여 이루어진다.

6. 질량분석기의 응용(2) : 법정 증거물의 분석(Forensic Analysis)

현재 질량분석기는 다양한 법정 증거물의 분석을 위해 활용되고 있다. 법적 분석분야는 1800년대 분석화학의 발전에 힘입어 시작되었다. 일례로 비소나 니코틴과 같은 독약을 고감도로 측정하는 방법이 1800년대 중반에 분석화학자인 Mathew Orfila와 Jean Servais Stas에 의해 개발되었으며, 1910년 스위스 로잔대학에 전문과정이 개설되었다.^{23,24} 이후 질량분석기를 포함한 고감도 분석화학의 비약적인 발전에 힘입어 법적 분석은 이전에는 법정에서 인정되지 않던 새로운 증거물을 탄생시키게 되었다. 근래에는 분자생물학과 생화학의 발전으로 개발된 질량분석기 등을 사용한 “DNA 지문검사”는 법적 분석에 대한 관심을 고조시켰다.

법적 분석의 일례로 자동차 유리파괴와 페인트조각은 교통사고 현장에서 흔히 발견되는 증거물이다.²⁵ 유리조각의 경우, 예전에는 색, 두께, 굴절율과 같은 물리 및 광학 성질 등이 일차적으로 조사되었으나 유리산업의 진보와 더불어 이들 성질은 큰 도움이 되지 못하고 있으며, 물성의 화학분석에 대한 ICP-OES, ICP-MS, X-ray fluorescence (XRF), scanning electron microscopy (SEM-EDS) 분석결과가 법적 분석을 위해 사용되고 있다. 근래에는 레이저조사 (laser ablation, LA)를 결합하여 소량의 시료를 처리하고 높은 감도를 얻는 LA-ICP-MS 등이 유리조각의 원소분석에 효과적으로 사용되고 있다. 페인트 조각이나 각종 코팅조각의 분석에도 LA-ICP-MS가 효과적으로 사용되고 있다.²⁶ 이 방법은 시료의 전처리가 필요하지 않으며, 분석을 위해 미량의 시료 (< 300 ng) 만이 사용되는 장점을 가지고 있다.

인화물질은 인위적인 방화에 대한 증거물로 사용되며, 미국 시험평가원은 인화물질을 6가지 카테고리로 분류하고 있다. 비슷한 예로 테러 등의 범죄가 유발함에 따라 관심이 고조되고 있는 폭발물은 인화물질과 산화제가 혼합되어 급격히 기체물질과 에너지를 발산하는 물질이며 5가지 카테고리로 분류되어 있다. 일반적으로 인화물질을 분석하는 방법은 증거물을 이황화탄소 등의 용매를 사용한 solid phase extraction을 통해 분석물질을 추출한 후, 추출액을 GC와 flame ionization detector (FID) 혹은 질량분석기를 통해 분석하여 인화물질을 확인하는 방법을 사용한다.^{27,28}

7. 질량분석기의 응용(3) : 고분자 특성분석

고분자 특성분석의 목적은 그 물질이 자연으로부터 유래된 것이든, 합성된 것이든 그 물질의 조성, 특성 그리고 기능까지를 분석하는 것을 말한다. 이 작업의 어려움은 자연고분자인 프로테인의 구조, 운동의 kinetic, 다른 분자와의 상호작용, 분자를 둘러싼 환경 등을 보면 알 수 있다. 단백질의 폴딩에 의한 3차원 구조는 그 물질의 조성 뿐만이 아니라 다른 단백질과의 상호작용, 환경에 의해 결정되며, 그 기능은 현재 채 밝혀지지 않은 것들도 있다. 합성고분자의 경우는 잘 정의된 원하는 기능을 할 수 있는 특성을 가진 고분자를 합성하는 것이 고분자 학자들의 소망이며, 고분자 특성분석의 중요한 부분은 고분자의 기능과 밀접한 관계를 갖는 모노머 조성, 엔드그룹의 농도와, 분자량의 분포, 점성도, 강도 등이다. MALDI가 개발되기 전까지는 질량분석기를 사용한 고분자의 분석이 활발히 이뤄지지 않았다. 하지만, 잘 조절된 특성을 갖는 고분자를 합성하는 것이 점점 더 중요해지고 가격이 저렴한 고분자를 합성하기 위해 조합화학의 방법을 사용하면서 조성 및 특성사이의 관계를 찾는 일에 MALDI와 electrospray (ESI)가 도입되어 질량분석기는 가장 중요한 분석 툴의 하나가 되었다. 많은 양의 조성, 분자량에 관한 분석과 넓은 범위의 다양한 종류의 고분자(이온화가 거의 불가능한 분자, 상호작용이 강한 분자 등)의 질량분석에 응용되기 위해서는 더 기술이 발전해야 하겠지만 재빠르게 조성, 분자량에 관한 정보와 질량에 관한 정보를 동시에 제공하는 능력이 질량분석기의 유용성을 더 한층 높일 것이다.

전형적으로 MALDI 시료준비는 매트릭스와 샘플을 모두 녹일 수 있는 용매를 필요로 하며, MALDI는 넓은 범위의 용매에 대해서 툴러턴스를 가지고 있다. 하지만 종종 고분자 분석의 성공여부가 용매에의 용해도에 달려 있다. 자주 고분자를 녹이기 위해 밤새 웨이킹이나, 가열을 하기도 한다. 이렇게 적당한 용해도를 갖는 용매 없이는 열분해방법으로 상대적으로 작은 분자량의 고분자로 분석하는 방법이 있다. 하지만 Skeleton에²⁹ 의해 무용매 시료준비 방법이 개발되면서 용해도가 낮은 폴리이미드를 4000 Da까지 썰 수 있게 되었고 Przybilla³⁰ 또한 무용매 시료준비 방법으로 거대 폴리사이클릭 아로마틱 탄화수소를 분석하였다. 새로운 종류의 매트릭스를 도입하였다. Trimpin³¹ 또한 무용매 시료분석법을 평가하여 이 방법이 2와 100 kDa 사이의 고분자에 대해서는 용매를 사용한 방법과 동일한 결과를 줌을 밝혔다. 이 무용매 방법을 불용성 또는 난용성 폴리머 분석에 사용하는데 좀더 편리하고 적은 양의 시료에도 적합한 시료준비방법의 개선이 이루어진다면 유용할 것이다.

탄화수소 고분자는 산업에 아주 중요한 클래스의 재료이다. 폴리스티렌, 폴리부타디엔, 그리고 폴리이소프렌 등의 불포화 고분자를 분석하는데 은이나 구리를 매트릭스에 첨가하여 MALDI MS로 분석하는 방법이 개발되었다. 그러나, 불포화의 수가 아주 적거나 없는 경우는 분석이 어렵다. Pruns³² 파라핀이나, 미세결정왁스에 있는 낮은 분자량의 탄화수소 올리고머를 AgTFA로 무용매처리한 후 Ag+ 양이온화하여 laser desorption MS로 측정하였다. 이일은 Kahr나, Wilkins이³³ 은이온을 사용하여 폴리에틸렌을 laser desorption FTMS로 측정한 것과 비슷하다. 최근에는 Yalcin이³⁴ 거친 코발트가루와 질산을 써서 폴리에틸렌을 5000까지 측정하였다. 최근에는 Schaub이³⁵ field desorption ionization과 FT-ICR

을 중간 끊는점을 가진 기류 증류물질의 분석에 사용하였다. 열분해 광이온 질량분석기는 최근에 무극성 고분자분석에 사용되고 있으며 유용한 툴이다. Bauer와³⁶ Lin-Gibson은³⁷ 폴리에틸렌 올리고머의 끝에 유기분자를 붙여서 양이온생성을 가능하게 하는 분석법을 도입하여 15,000의 질량까지 분석하였다. 하지만 이렇게 유도체화를 써서 구한 분자량은 예상 값보다 작았다. 폴리스티렌의 코발트 양이온화는 기존의 방법과 일치하는 결과를 보여주었다.

고분자 분석에 있어 질량분석기의 가장 중요한 기능은 끝 그룹의 특성분석과 정량이다. 고분자의 특성은 종종 끝 그룹의 조성과 관계되어 있으며 질량분석기를 사용하여 이 조성을 측정할 수 있다. 고분자가 어떻게 합성되었는지에 대한 정보와 다른 분석기에서 얻은 결과로 끝 그룹의 조성을 추측할 수 있다. Nandam은³⁸ MALDI MS와 FT-IR, 그리고 열화학적 계산을 통해 폴리메틸스티렌 페옥사이드의 끝그룹을 알아내었다. Accurate mass 측정과 fragmentation을 통해 끝그룹의 조성에 관한 추가정보를 얻을 수 있다. 끝그룹의 정량분석은 그룹의 이온화 효율차이의 정도에 따라 어려움이 있다. 고분자 구조와 매트릭스의 재료 그리고 이온화 정도에 대한 연구가 더 필요하다. Chen은³⁹ 에틸렌옥사이드/프로필렌옥사이드의 중합체의 끝그룹이 다른 사슬들이 매트릭스조성, 용매조성, 매트릭스대 분석물질 비율의 차이에 따라 다른 이온화

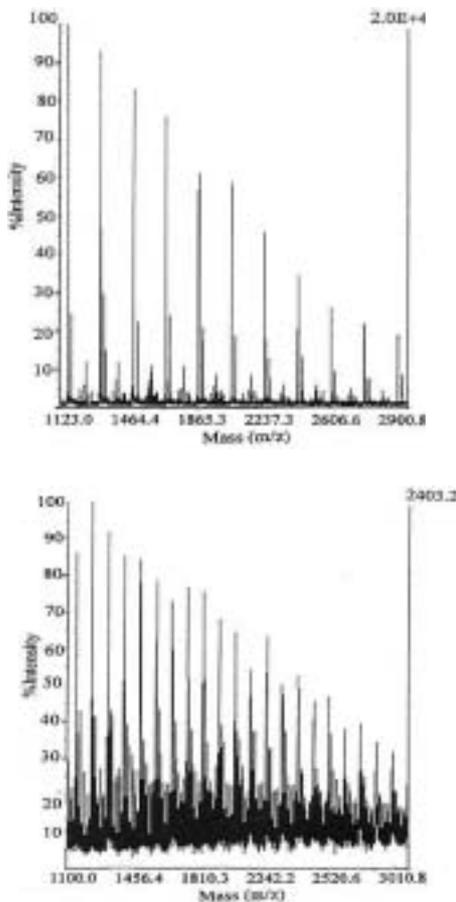


그림 21. Top; MALDI mass spectrum of a homopolymer submitted for end group comparison studies. Spectrum shows good signal to noise. Bottom; MALDI mass spectrum of a triblock copolymer submitted for end group comparison studies showing poor signal to noise for low abundance peaks.

정도를 보임을 관찰하였다. 같은 실험 조건에서는 끝 그룹의 농도에 따른 상대적인 변화를 검출할 수 있다. 끝 그룹의 특성분석은 크로마토그램과 질량분석기를 결합하면 효과적이다.

정량 분석을 할 경우에는 항상 신호대 잡음비가 큰 문제이다. 고분자가 반복되는 패턴을 보여주므로 일정한 분자량 범위에서 신호를 축적하면 신호대 잡음비를 높일 수 있다. 한가지 예가 **그림 21**에 보여진다. 왼쪽 스펙트럼은 고분자학자가 어떤 끝그룹을 제거하는 조건을 잡기 위해 적은 호모폴리머의 스펙트럼으로 좋은 신호대 잡음비를 보여준다. 오른쪽 스펙트럼은 호모폴리머를 만든 재료와 같은 재료를 사용하여 만든 세블록 중합체의 스펙트럼으로 훨씬 형편없는 신호대 잡음비를 보여준다 이와 같은 경우에는 끝그룹제거 조건을 잡는데 어려움이 있다. 신호를 축적하는 것으로 신호대 잡음비를 높일 수는 있으나 20에서 40사이로 모은 스펙트럼과 200에서 400 또는 2000에서 4000의 스펙트럼을 모은 것과는 별 차이가 없어 이 방법에는 한계가 있다. 새로운 크리오디텍터가 낮은 잡음을 내는 것으로 알려져 있으나 가격이 매우 비싸다. 용매의 조성이나, 계면활성제의 사용이 펩타이드의 신호를 광목적으로 향상시킨 경우도 있는데⁴⁰ 이를 고분자 분석에 응용하면 좋을 것이다.

MALDI MS의 또 한가지 중요한 분야는 분자량의 분포를 결정하는 것이다. MALDI는 좁은 분포의 고분자 분석에 정확성을 보이고 넓은 범위의 고분자 분포에는 상대적으로 취약하다. MALDI는 상대적으로 낮은 분자량의 신호가 높은 분자량의 신호보다는 큰데, 이런 이온화 효율의 차이가 끝 그룹의 효과와 관계가 있다고 알려져 있다. **그림 22**와 **그림 23**은 같은 양의 인슐린, 미오글로빈, 카보닉아니드레이즈 그리고 보바인 시림 알부민의 스펙트럼인데 **그림 22**는 MCP 디텍터로 얻은 스펙트럼이고, **그림 23**은 크리오디텍

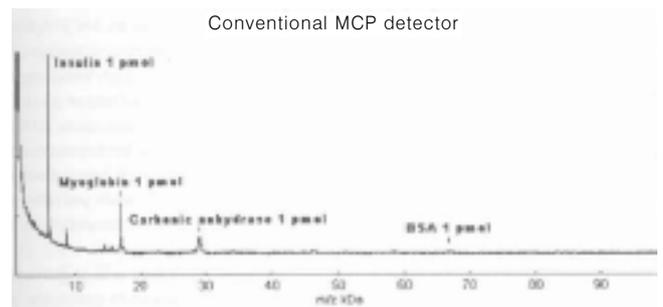


그림 22. MALDI-TOF mass spectrum of an equimolar mixture of four proteins with ion detection using an MCP detector.

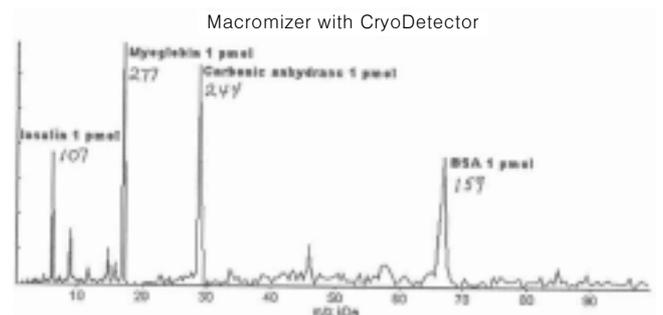


그림 23. MALDI-TOF mass spectrum of an equimolar mixture of the same four proteins shown in Figure 22 obtained using the Macromizer® cryodetector.

터로 전 스펙트럼이다. 크리오디텍터는 질량과 상관없이 같은 이온 화효율을 갖는다.

질량분석기가 질량을 분리해서 검출하는 기능을 추가한다면 높은 mass에서 좋은 신호대 잡음비를 얻을 수 있을 것이다. 질량분석기 덕분에 고분자 조성과 특성에 관한 보다 많은 정보를 얻을 수 있고 아직 완벽하지는 않지만 이 문제를 푸는 것 또한 연구해야 할 우리의 과제다.

참고문헌

1. J. J. Thomson, *Rays of Positive Electricity and Their Application to Chemical Analysis*, Longmans Green, London, 1913.
2. A. Dempster, *J. Phys. Rev.*, **11**, 316 (1918).
3. A. E. Cameron and D. F. Eggers, *Rev. Sci. Instrum.*, **19**, 605 (1948).
4. W. Paul and H. S. Steinwedel, *Z. Naturforsch.*, **8a**, 448 (1953); W. Paul, H. P. Reinhard, and von Zahn U., *Z. Phys.*, **152**, 143 (1958).
5. M. S. B. Munson and F. H. Field, *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 2681 (1966).
6. P. J. Arpino, M. A. Baldwin, and F.W. McLafferty, *Biomed. Mass Spectrom.*, **1**, 80 (1974).
7. 8. M. B. Comisarov and A. G. Marshall, *Chem. Phys. Lett.*, **25**, 282 (1974).
9. J. B. Fenn, M. Mann, and C. K. Meng, *et al.*, *Science*, **246**, 64 (1989).
10. M. Karas, D. Bachmann, and U. Bahr, *et al.*, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **78**, 53 (1987).
11. F. Hillenkamp, M. Karas, R. C. Beavis, and B. T. Chait, *Anal. Chem.*, **63**, 1193A (1991).
12. Gary Siuzdak, *The Expanding Role of Mass Spectrometry in Biotechnology*, MCC Press, San Diego, 2003.
13. Edmond de Hoffmann and Vincent Stroobant, *MASS SPECTROMETRY Principles and Applications*, John Wiley & Sons, LTD., Chichester, 2001.
14. E. A. Alison, B. Gareth, and J. M. John, *Advances in mass spectrometry*, Vol **16**, Elsevier, Edinburgh, 2004.
15. W. Bleakney, *Phys. Rev.*, **34**, 157 (1929).
16. A. O. Nier, *Rev. Sci. Instrum.*, **18**, 415 (1947).
17. G. J. Hughes, *et al. Electrophoresis*, **13**, 707 (1992).
18. M. Müller, *et al. J. Amer. Soc. Mass. Spectrom*, **13**, 221 (2002).
19. J. Colinge, *et al. Proteomics*, **3**, 1454 (2003).
20. J. Colinge, *et al.* "A systematic statistical analysis of ion trap tandem mass spectra in view of peptide scoring". In: R. Page, G. Benson (Eds.), *Proceeding of the Workshop on Algorithms in Bioinformatics (WABI)*, September, LNBI, Springer, Budapest (2003).
21. D. N. Perkins, *et al. Electrophoresis*, **20**, 3551 (1999).
22. M. J. MacCoss, *et al. algorithm. Anal. Chem.*, **1**, 5593 (2002).
23. J. R. Almirall, *et al. J. Anal. Bioanal. Chem.*, **376**, 1156 (2003).
24. S. Kind, *et al. Science against crime*, Aldus Books, London, UK, 1972.
25. J. R. Almirall, "Elemental analysis of glass fragments". B. Caddy, Editors, *Forensic examination of glass and paint*. Taylor&Francis, London, pp. 65-80, 1999.
26. D. C. Duckworth, *et al. J. Anal. Atom. Spectrom.*, **15**, 821 (2000).
27. "ASTM E1387-01 standard test method for ignitable liquid residues in extracts from fire debris samples by gas chromatography", *ASTM annual book of standards*, Vol **14**, 2002, ASTM International, West Conshohocken, PA 2002.
28. "ASTM E1618-01 standard test method for ignitable liquid residues in extracts from fire debris samples by gas chromatography-mass spectrometry", *ASTM annual book of standards*, Vol **14**, 2002, ASTM International, West Conshohocken, PA 2002.
29. R. Skelton, F. Dubois, and R. Zenobi, *Anal. Chem.* **72**, 1707 (2000).
30. L. Przybilla, J. D. Brand, K. Yoshimura, H. J. Rader, and K. Mullen, *Anal. Chem.* **72**, 4591 (2001).
31. S. Trimpin, A. Rouhanipour, R. Az, H.J. Rader, and K. Mullen, *Rapid Commun. Mass Spectrom* **15**, 1364 (2001).
32. J. K. Pruns, J. P. Vietzke, M. Strassner, C. Rapp, U. Hintze, and W. A. Konig, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **16**, 208 (2002).
33. M. S. Kahr and C. L. Wilkins, *J. Mass Spectrom.* **4**, 453 (1993).
34. T. Yalcin, W. E. Wallace, C. M. Guttman, and L. Li, *Anal. Chem.* **74**, 4750 (2002).
35. T. M. Schaub, C. L. Hendrickson, K. Qian, J. P. Quin, and A. G. Marshall, *Anal. Chem.* **75**, 2172 (2003).
36. B. J. Bauer, W. E. Wallace, B. M. Fanconi, and C. M. Guttman, *Polymer* **42**, 9949 (2001).
37. S. Lin-Gibson, L. Brunner, D. L. Vanderhart, B. J. Bauer, B. M. Fanconi, C. M. Guttman, and W. E. Wallace, *Macromolecules* **35**, 7149 (2002).
38. A. K. Nandam, K. Ganesh, K. Kishore, and M. Surimara-yanan, *Polymer* **41**, 9063 (2000).
39. R. J. Goldschmidt, S. J. Wetzel, W. R. Blair, and C. M. Guttman, *J. Amer. Soc. Mass Spectrom.* **11**, 1095 (2000).
40. P. M. Peacock, Enhanced sensitivity of MALDI via surfactant addition, *ASMS conference*, June 11-16, MPN258, 2003.