

LC/TSP/MS에 의한 이온종들의 생성에 관한 연구

김연제

한국과학기술연구원 도핑콘트롤센터

(1995. 6. 22. 접수)

The Study of Generation of Adduct and Fragment Ions by LC/TSP/MS

Yunje Kim

Doping Control Center, Korea Institute of Science and Technology, Seoul 136-791, Korea

(Received Jun. 22, 1995)

요약 : 열에 불안정하면서 -OH기를 함유하는 미지의 화합물은 LC/TSP/MS에서 $[MNH_4^+]$ 이온, $[MH^+]$ 이온, 그리고 $[MH^+-OH]$ 이온의 생성이 가능하며, 이들 이온의 m/z 값의 차이가 17로서 같기 때문에 이들의 생성 정도에 따라 분자량 추정에 혼란이 일어날 수가 있다. 따라서 다른 보완 가능한 실험결과가 요구되며 $CF_3COOD+NH_4OH$ 이온화 용액을 사용하여 그 유용성을 검토하였다. 또한 LC/TSP/MS에서 생성되는 토막이온들이 필라멘트의 전자살에 의해 생성되는 것인지 아니면 다른 어떤 생성기전이 존재하는지를 검토하였다.

Abstract : The thermally labile compounds with hydroxyl group generate the $[MNH_4^+]$ ion, $[MH^+]$ and $[MH^+-OH]$ ion by ion-molecule reaction in LC/TSP/MS. But these ions create the trouble in the estimation of molecular weight of an unknown compound because the margin of $[MNH_4^+]$ ion and $[MH^+]$ ion is same to that of $[MH^+]$ ion and $[MH^+-OH]$ ion. If it is compensated for the results by using of the $CF_3COOD+NH_4OH$ LC eluent, the molecular weight of analyte will be able to be confirmed. And this study was tried to recognize whether the fragment ions of thermally labile compound are generated by electron impact or by thermal degradation in ion source.

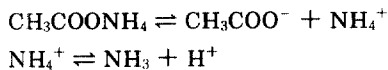
Key words : corticosteroids, thermally labile compounds, $CF_3COOD+NH_4OH$ and $CF_3COOH+NH_4OH$ LC eluent, filament ON and OFF mode, LC/TSP/MS.

1. 서론

Liquid Chromatograph/Thermospray/Mass Spectrometry(LC/TSP/MS)는 이동상이 흐르는 모세관을 전기적으로 직접 가열하여 증기화시키고 증기화된 이동상의 일부가 분석시료와 함께 이온원 내에서 이온-분자반응에 의해 이온화된 후 질량분석기로 들어가게 한다. Thermospray는 LC와 MS를 연결시켜 주는 일

종의 장치로서 용리액이 전기적 가열에 의해 이온원 내부로 spraying 또는 bubbling되게 한다. 이리하여 용리액과 분석물질은 미세한 방울이 되고 이러한 미세 방울들은 이온화용액으로부터 $[NH_4^+]$ 이온이나 $[H^+]$ 이온을 제공받아 이온화된 첨가이온을 형성하여 질량분석기로 들어간다. 질량분석기 내부로 들어가지 못한 나머지 방울들은 이온원 및 질량분석기 내의 진공 유지를 위해 보조펌프에 의해 제거된다.

한편, 이 미세한 방울들은 양이온과 음이온들로 구성되며 온도가 상승되면 방울 내부의 전자들이 표면으로 분리되어 자기장을 걸어 주지 않더라도 전하를 좀 더 강하게 띠게 된다. 또한 이러한 전하를 띠고 있는 과열된 미세 방울들은 비교적 높은 전기장을 형성하여 용리액과 뭉치를 형성하고 있는 분석물질이온들이 계속 기체상태를 유지할 수 있도록 하기도 한다.^{1,2} 그러므로 자기장이 충분히 강할 경우에 증성물질보다는 이온성물질들의 증발이 더 잘 일어나는 동시에 미세 방울들 속에서 우선적으로 전하를 띠게 된다. 이러한 이온생성기전은 LC/TSP/MS가 전자충격(Electron Impact: EI)에 의한 것보다는 chemical ionization (CI)에 의한 것이기 때문이며, 이 때 반응기체로 대응되는 것은 이온화용액이다. 지금까지 주로 사용되고 있는 이온화 용액은 ammonium acetate이며, 이 이온화용액은 용리 중에서나 이온원 내에서 다음과 같은 이온종들을 형성한다.



양이온 검출법에서 $[\text{NH}_4^+]$ 이온이나 $[\text{H}^+]$ 이온이 거의 증성을 띠고 있는 분석물질에 흡착됨으로써 첨가 이온을 형성하며 이 첨가이온들은 반발판의 반발력과 질량분석기 내와 이온원 사이의 압력차에 의해 질량분석기로 들어가 검출된다.³ LC/TSP/MS에서, 필라멘트를 사용하면 감도가 향상될 뿐만 아니라 이동상의 조성에 있어서 유기용매의 함유도가 높아져 상대적으로 이온화용액의 함유량이 적어지더라도 높은 감도를 유지시킬 수 있다. 그런데 필라멘트는 이러한 첨가이온의 생성에 기여할 뿐만 아니라 토막이온을 생성시키는 원인이 되기도 한다. 토막이온은 이외에도 증기화 장치와 이온원의 온도, 방전, 반발판과의 충돌, 그리고 3단계 사중극자 또는 MS/MS system의 또다른 필라멘트로부터의 전자살에 의해 생성되기도 한다.^{4,5} 일반적으로 질량분석기는 이러한 토막반응에 의한 토막이온들로부터 분석물질의 기능기 및 구조에 관한 정보를 제공받을 수 있다. 그러나 LC/TSP/MS에서는 질량분석기의 화학적 이온화반응⁶⁻⁸ 유사하기 때문에 토막이온의 생성은 미지 물질의 분자량 추정에 혼란이 유발될 수가 있다. 즉, -OH 기능기를 함유한 미지 물질

의 경우 분자(M)에 $[\text{NH}_4^+]$ 이온 또는 $[\text{H}^+]$ 이온이 첨가된 $[\text{MNH}_4^+]$ 이온과 $[\text{MH}^+]$ 이온이 $[\text{MNH}_4^+ - \text{OH}]$ 토막이온과 함께 생성될 수 있다. 이 때 분석물질의 proton affinity가 NH_3 보다 매우 커서 $[\text{MNH}_4^+]$ 이온이 잘 생성되지 않으면 $[\text{MH}^+]$ 이온과 $[\text{MNH}_4^+ - \text{OH}]$ 토막이온의 질량값이 서로 같기 때문에 $[\text{MH}^+]$ 이온을 $[\text{MNH}_4^+]$ 이온으로, 그리고 $[\text{MNH}_4^+ - \text{OH}]$ 토막이온을 $[\text{MH}^+]$ 이온으로 잘못 해석할 가능성이 있다. D. Barcelo가 보고한 simazine, atrazine 및 propazine의 검출 결과¹¹로부터 이러한 경우가 발생할 수 있다는 것을 알 수 있다.

본 연구에서는 $[\text{MH}^+]$ 이온과 $[\text{MNH}_4^+ - \text{OH}]$ 이온의 생성에 의한 분자량 추정의 혼란을 제거할 수 있는 가능성을 알아보기 위해 $\text{CF}_3\text{COOH} + \text{NH}_4\text{OH}$ 이온화 용액과 $\text{CF}_3\text{COOD} + \text{NH}_4\text{OH}$ 이온화 용액을 사용하였다. CF_3COOD 를 이온화 용액으로 사용하면 $[\text{MH}^+]$ 이온 대신에 $[\text{MD}^+]$ 이온이 생성되기 때문에 $[\text{MD}^+]$ 이온과 $[\text{MNH}_4^+ - \text{OH}]$ 토막이온을 쉽게 구별할 수 있을 것이다. 즉, 이들은 질량값이 1의 차이를 나타내기 때문에 어떤 이온이 생성된 것인지를 쉽게 구별할 수 있을 것이다. 또한 이 이온화 용액들에 의해 생성된 토막이온들을 비교검토하여 이들의 생성이 필라멘트에 의한 것인지 아니면 probe 또는 이온원의 온도 상승에 의한 열분해에 의해 생성된 것인지를 알아보고자 하였다.

2. 실험

2.1. 측정 기기

본 연구에 사용된 액체크로마토그래프/질량분석계는 Hewlett Packard(HP) 1090A LC와 HP5988A MS가 모델번호 HP5955-7598인 Thermospray 증기화 장치로 연결된 LC/TSP/MS였다. 모든 데이터는 HP 9000/300에 저장하였으며 disc 및 tape driver는 HP 7946, Printer는 HP 2934A dot printer였다.

2.2. 시약

본 연구에 사용된 분석시료는 triamcinolone 등 corticosteroid류 14종이었으며, 이들은 Sigma사 특급 시약을 정제하지 않고 그대로 사용하였다. 표준용액은 0.01mg을 정확히 단 다음 methanol 용액 10ml에 녹여

Table 1. Molecular Weight, Functional Groups and Basic Structure of Corticosteroid.

Compounds	M.W.	Carbon Number			
		1	11	16	17
Triamcinolone(TAL)	394	=	-OH	-OH	-OH
Cortisone(CTN)	360		=O		-OH
Methylprednisolone(MPS)	374	=	-OH		
Prednisone(PSN)	358	=	=O		-OH
Dexamethasone(DXS)	392		-OH	-CH ₃	-OH
Corticosterone(CCN)	346		-OH		
Prednisolone(PSL)	360	=	-OH		-OH
Deoxycorticosterone(DCS)	330				
11-OH-Progesterone(PGN)	330		-OH		
Hydrocortisone(HCS)	362		-OH		-OH
Triamcinoloneacetoneide(TAA)	434	=	-OH		
Desoxymethasone(DMS)	376	=	-OH	-CH ₃	
Methylprednisoloneacetate(MPA)	416	=	-OH		

= : Double Bond

1,000ppm이 되게 만들었으며 냉장보관하여 사용하였다.

측정 대상시료는 Table 1과 같고 각 화합물의 분자량과 약호는 괄호 안에 표시하였으며 구조는 Table 1에 함께 나타내었다.

한편, 이온화 용액으로 사용된 CF₃COOH, CF₃COOD 및 NH₄OH는 E. Merk사제 특급시약을 그대로 사용하였으며 농도는 각각 0.1M이 되게 하였다. 특히 CF₃COOD는 0.1M 이온화용액으로 조제한 후 일정 시간이 경과하면 CF₃COOH로 변하기 때문에 실험 시작 직전에 조제하여 사용하였다. 실험에 사용된 물은 Millipore사의 초순수제조장치를 통과한 것이었으며 헬륨가스를 통과시켜 기포를 제거하였다.

2. 3. 측정조건

본 연구에 사용된 액체크로마토그래프 및 질량분석

계의 측정조건은 Table 2와 같다.

2. 3. 1. 분석시료의 용리

각 분석시료 일정량을 자동 시료주입기를 이용하여 액체크로마토그래프에 주입시킨 다음 Table 2에서의 속도로 용리시켰으며 용리액의 조성은 각 이온화 용액 75%와 methanol 용액 25%였다.

2. 3. 2. 질량스펙트럼의 측정

가. 각 이온화 용액의 최저 증발 조건인 95% 증발지점을 찾기 위하여 probe survey를 하였으며 100% 증기화가 일어나는 온도에 0.95를 곱하여 결정하였다.

나. 이온원 온도는 미세 방울들의 증기화가 계속 유지되어 이온원 내에서 액화가 일어나지 않도록 하기 위해 사용되는 온도는 일반적으로 250~300℃ 범위인데, 본 연구에서는 기기의 최적 조건을 찾을 때 사용하는 온도인 276℃를 선택하여 조절하였다.

다. 반발판 전극의 전압은 각 이온화 용액에 대한 이온 검출조건이 동일하게 유지되도록 하기 위해 tune에서의 최적 조건을 그대로 사용하였으며 electron voltage는 최대의 감도를 나타내는 1055eV를 선택하였다. 또한 이온화 용액의 함량이 변하더라도 감도의 변화가 거의 없는 filament ON mode를 사용하였으며, 토막이온의 생성에 관한 연구에서는 전자살에 의한 토막이온의 생성을 방지하기 위하여 filament OFF mode를 사용하였다.

Table 2. Experimental Condition

stem temperature	: 각 이온화용액에 따라 실험시 측정
ion source temperature	: 276℃
flow rate	: 0.8ml/min.
repeller voltage	: tuning값을 그대로 사용
electron energy	: 1055eV
injection amount	: 2μg

3. 결과 및 고찰

3. 1. CF₃COOH+NH₄OH와 CF₃COOD+NH₄OH 이온화용액으로부터 생성된 토막이온들의 비교

일반적으로 LC/TSP/MS에서는 첨가이온 뿐만 아니라 이온원의 온도상승 등에 의한 열분해 또는 필라멘트로부터 나오는 전자살과의 충돌 등으로부터 질량 토막이온이 생성되는 것으로 알려져 있다. buffer-ionization을 위해 주로 사용되고 있는 이온화 용액은 CH₃COONH₄이며, 이 이온화 용액으로부터 [NH₄⁺] 이온 또는 [H⁺] 이온을 제공받아 [MH⁺] 또는 [MNH₄⁺] 첨가이온을 생성한다. 그러나 corticosteroids 등과 같은 열에 약한 화합물이 -OH기를 함유하고 있으면 [MH⁺-OH] 및 [MNH₄⁺-OH] 토막이온이 [NH⁺] 및 [MNH₄⁺] 첨가이온과 함께 생성될 수 있다. 이 때 이온들의 감도를 향상시키기 위해 필라멘트를 켜면 [MH⁺-OH] 등과 같은 토막이온들은 probe 또는 이온원의 열에 의해 생성된 토막이온 뿐만 아니라 필라멘트로부터의 전자살에 의한 토막이온들도 함께 생성될 수 있을 것이다. 그러므로 얻게 되는 질량스펙트럼은 [MH⁺-OH], [MNH₄⁺-OH] 토막이온 및 [MH⁺], [MNH₄⁺] 첨가이온 등을 포함하게 될 것이다. 이 때 [MNH₄⁺] 첨가이온이 잘 생성되지 않고 [MH⁺] 첨가이온과 [MH⁺-OH] 토막이온만이 주로 생성된다면 이미 설명한 바와 같이 [MH⁺] 첨가이온을 [MNH₄⁺] 첨가이온으로 잘못 해석할 수 있게 될 것이다. 이미 서론에서 예를 든 바와 같이 1989년에 D. Barcelo가 발표한 논문에 의하면 [MH⁺] 첨가이온이 주로 생성되고 [MNH₄⁺] 첨가이온은 전혀 생성되지 않는 경우가 있음을 알 수 있다. 이렇게 미지 화합물의 분자량 이온을 잘못 해석할 수 있는 경우를 피하고 분자량을 확실하게 결정할 수 있도록 하기 위하여 CF₃COOD+NH₄OH 이온화 용액을 사용하여 보았다. 즉 이 이온화 용액을 사용하면 [MNH₄⁺] 첨가이온과 [MD⁺] 첨가이온이 생성될 수 있다. 따라서 [MNH₄⁺-OH] 토막이온과 [MD⁺] 첨가이온이 함께 생성된다 하더라도 이들의 질량값은 서로 다르기 때문에, 분자량이온의 해석에 보완자료로 첨가된다면 좀 더 확실하게 분

자량이온임을 결정할 수 있을 것이다.

한편, M. M. Burseley 등의 연구에 의하면



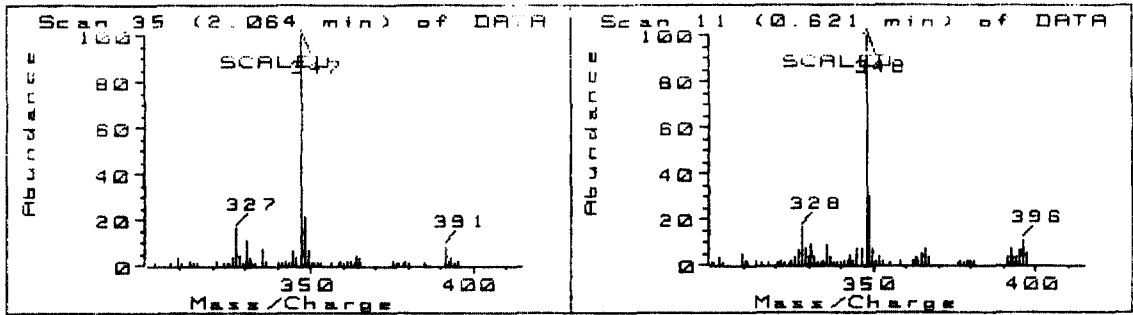
에 의해 [NH₄⁺] 이온으로부터 [H⁺] 이온을 제공받는다 고 보고¹²되어 있다. 따라서 CF₃COOD+NH₄OH 이온화 용액을 사용한다면 [MD⁺] 첨가이온과 [MH⁺] 첨가이온이 함께 생성될 뿐만 아니라 -OH기를 가지고 있는 corticosteroid의 경우 [MD⁺-H₂O] 이온과 [MH⁺-H₂O] 이온도 생성될 수 있을 것으로 예상되었다.

이러한 예측의 결과를 확인하기 위하여 CF₃COOD+NH₄OH 이온화 용액과 CF₃COOH+NH₄OH 이온화용액을 사용하였으며 얻어진 각 corticosteroid들의 질량 스펙트럼을 Fig. 1에 나타내었다. 그림에서 보면 [MD⁺] 첨가이온이 주봉우리로 나타나는 methylprednisolone, dexamethasone, corticosterone, deoxycorticosterone, 11-hydroxy progesterone, desoxymethasone, 그리고 triamcinoloneacetoneide의 경우에 CF₃COOD+NH₄OH 이온화용액을 사용했을 때에는 (1)의 반응에 의한 [MH⁺] 첨가이온은 거의 생성되지 않음을 알 수 있다. 뿐만 아니라 [MD⁺-COCH₂OH] 이온과 [MD⁺-CH₂OH, -OH] 이온이 최대 질량값을 가지는 triamcinolone, cortisone, prednisone, dexamethasone, prednisolone, hydrocortisone, methylprednisoloneacetate에서 보면 [MH⁺-COCH₂OH] 이온과 [MH⁺-CH₂OH, -OH] 이온은 검출되지 않음을 알 수 있다. 따라서 [MH⁺] 첨가이온에 첨가된 [H⁺] 이온은 이온화용액의 산으로부터 제공되는 것이지 (1)의 반응에서와 같이 [NH₄⁺] 이온으로부터 제공되는 것이 아니라는 것을 알 수 있다. 그러므로 CF₃COOD+NH₄OH 이온화용액을 사용한다면, [MH⁺] 및 [MH⁺-OH] 이온 등과 같이 [H⁺] 이온이 첨가된 이온은 생성되지 않고 [NH₄⁺] 이온 또는 [D⁺] 이온에 의한 [MNH₄⁺], [MNH₄⁺-OH], [MD⁺] 및 [MD⁺-OH] 이온 등이 생성될 것이다. 그러므로 CF₃COOH+NH₄OH 이온화용액을 사용한다면 [MNH₄⁺] 이온과 [MH⁺] 이온, 그리고 [MH⁺] 이온과 [MH⁺-OH] 이온의 m/z값의 차이가 각각 17로서 서로 같기 때문에 -OH 기능을 함유하고 있으

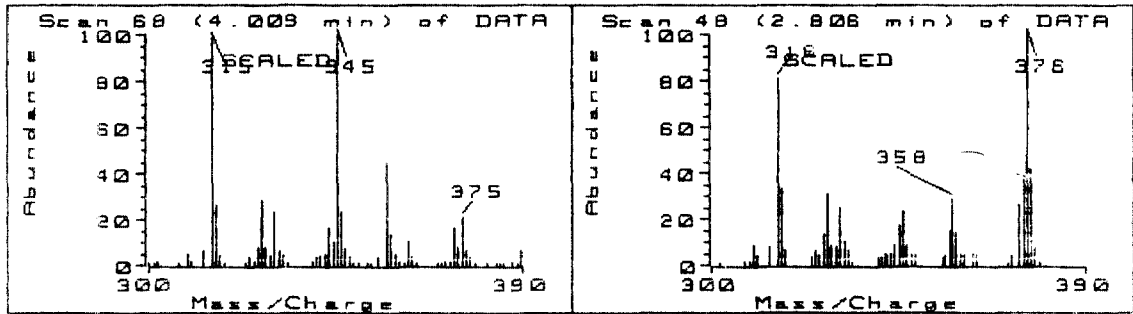
CF₃COOH

CF₃COOD

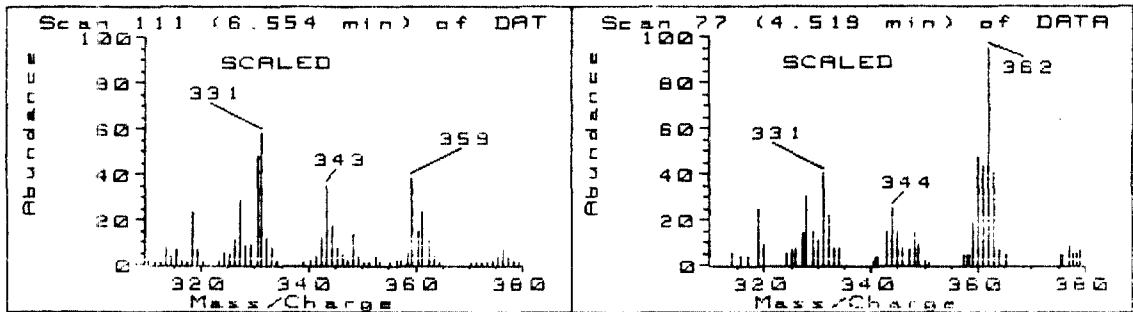
TRIAMCINOLONE



METHYLPREDNISOLONE



CORTISONE



PREDNISONE

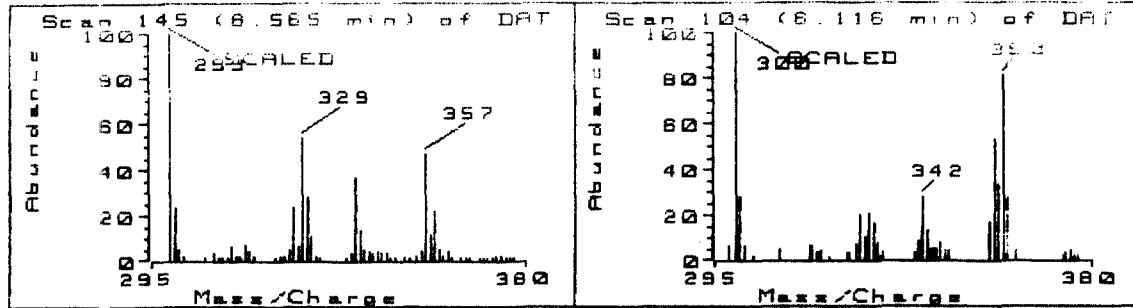
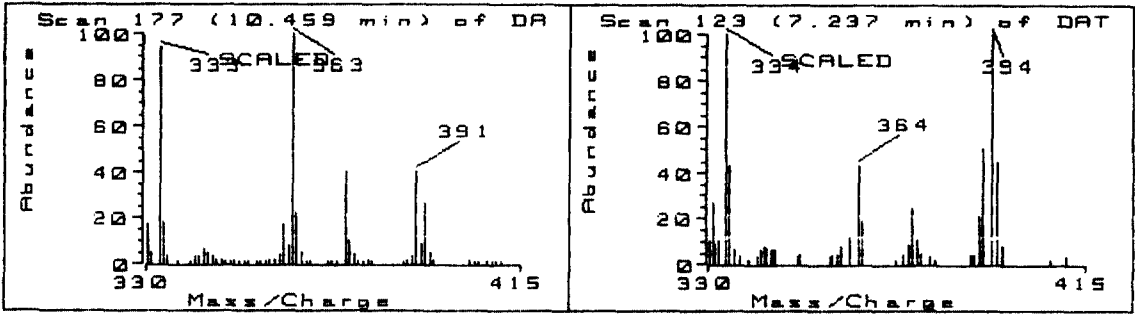


Fig. 1. The Mass Spectra of Corticosteroids by Use CF₃COOH+NH₄OH and CF₃COOD+NH₄OH LC Eluents in LC/TSP/MS.

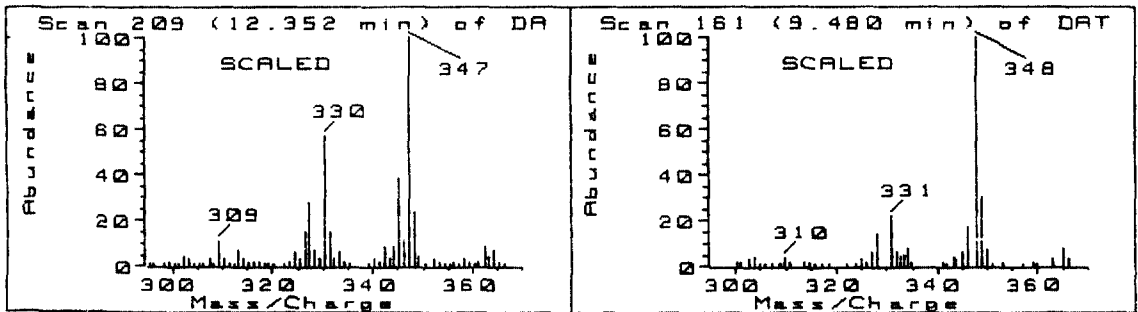
CF3C00H

CF3C00D

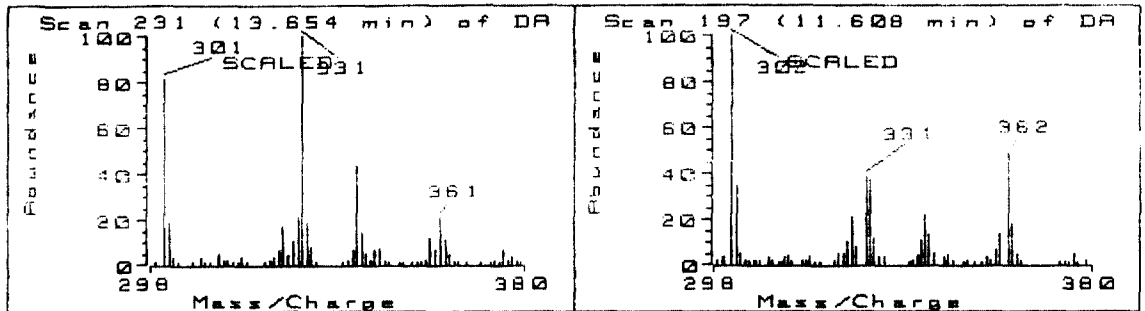
DEXAMETHASONE



CORTICOSTEORNE



FREDNISOLONE



DEOXYCORTICOSTERONE

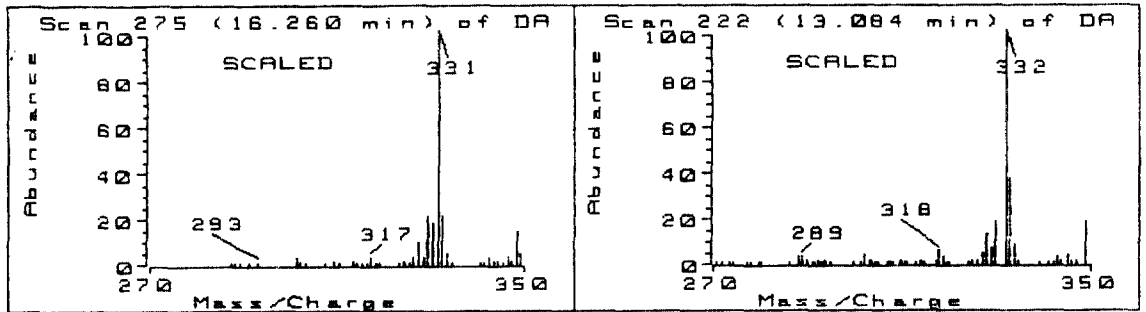
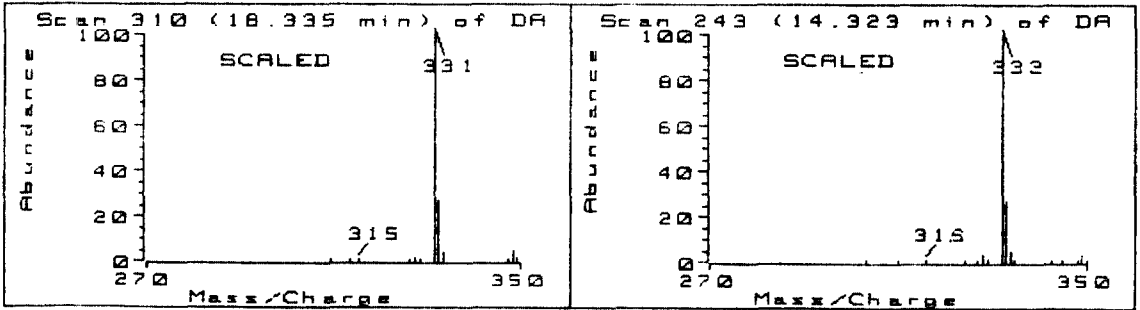


Fig. 1. Continued

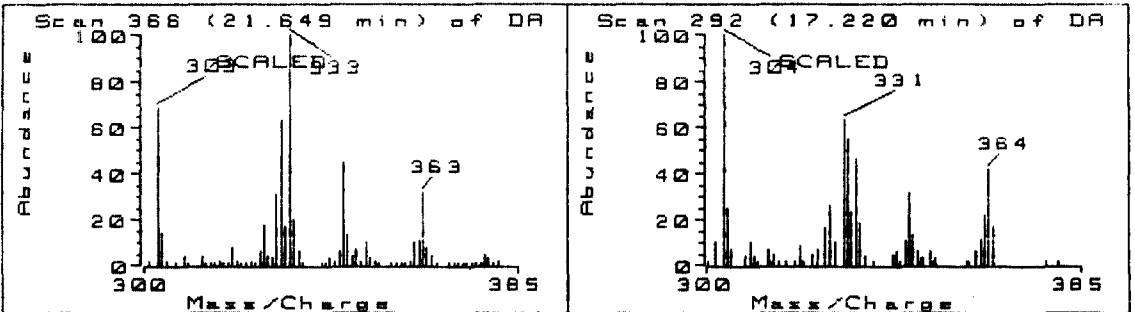
CF3COOH

CF3COOD

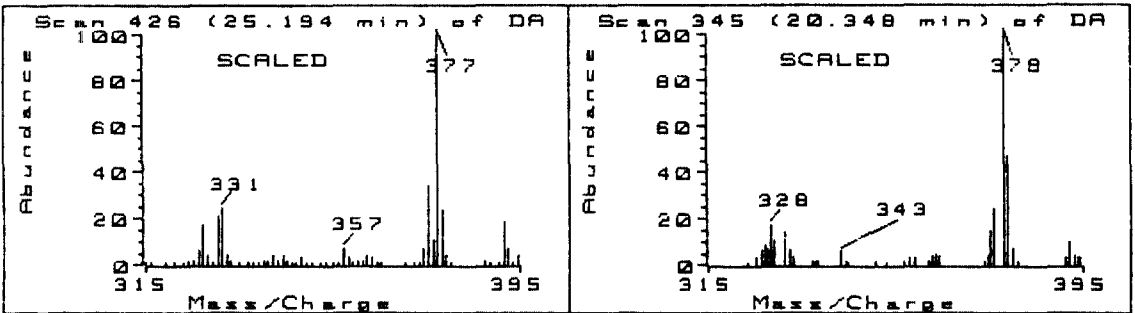
HYDROXY-PROGESTERONE



HYDROCORTISONE



DESOXYMETHASONE



TRIAMCINOLONEACETONIDE

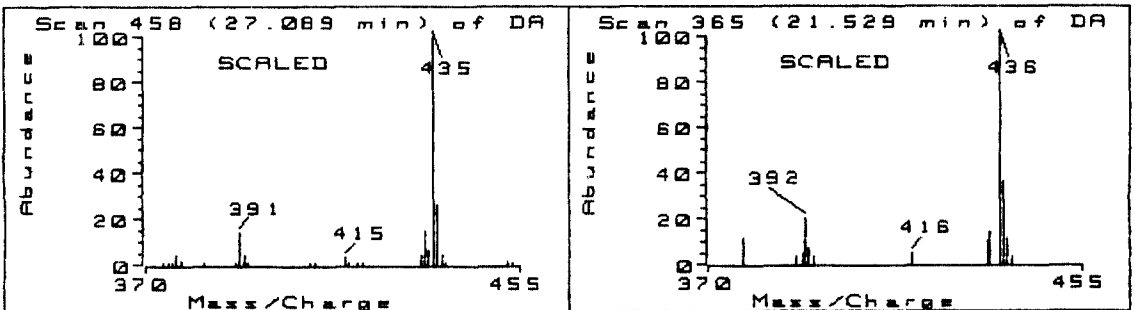


Fig. 1. Continued

CF₃COOHCF₃COOD

METHYLPREDNISOLONE ACETATE

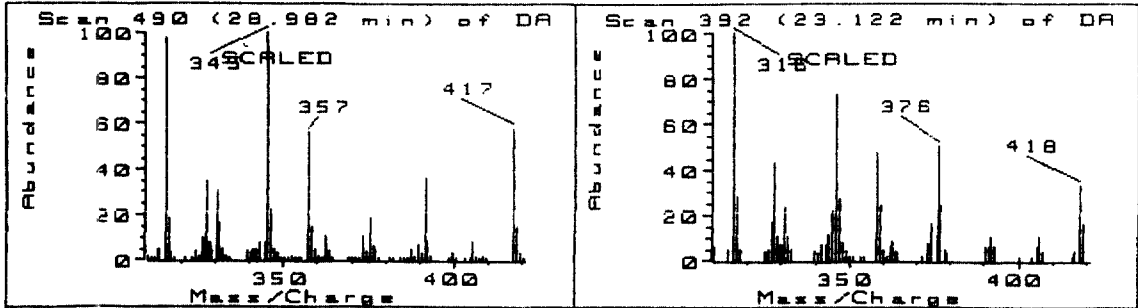


Fig. 1. Continued

Table 3. The Comparison of Relative Abundance of Corticosteroids by CF₃COOH+NH₄OH and CF₃COOD+NH₄OH LC Eluent.

compound	CF ₃ COOH/CF ₃ COOD								
	Adduct Ion or Fragment Ion								
	MNH ₄ ⁺	MNH ₄ ⁺ -B	MNH ₄ ⁺ -C	MNH ₄ ⁺ -D	MH ⁺	MH ⁺ -A	MH ⁺ -B	MH ⁺ -C	MH ⁺ -D
TAL	-/-	-/-	1/2	4/2	2/10	1/2	4/7	7/9	100/100
MPS	23/10	10/5	4/6	16/17	21/100	45/29	100/23	99/81	29/31
CTN	2/5	13/14	23/25	58/40	23/95	35/25	58/40	100/100	7/5
PSN	1/2	4/8	7/6	54/21	22/81	36/28	23/21	100/100	1/-
DXS	1/3	1/-	2/3	17/43	26/100	40/24	17/12	94/100	6/6
CCN	7/8	6/8	1/1	2/1	100/100	57/22	2/1	5/3	2/2
PSL	3/2	7/4	3/3	100/39	21/49	43/22	100/37	82/100	5/4
DCS	15/19	3/6	1/3	3/4	100/100	2/2	3/4	-/1	-/-
PGN	5/3	-/-	-/-	-/-	100/100	-/1	-/-	-/-	-/-
HCS	2/2	7/6	8/9	100/46	32/42	45/32	63/63	69/100	1/5
TAA	2/-	-/-	14/20	-/-	100/100	1/-	-/-	4/12	-/-
DMS	4/3	4/5	1/-	4/-	100/100	2/2	2/-	-/-	21/14
MPA	3/3	1/2	19/50	5/-	58/33	3/2	1/-	56/48	1/-

주 : A : -OH B : -CH₂OH C : COCH₂OH D : -CH₂OH, -OH

면서 [MNH₄⁺] 이온을 거의 생성시키지 않는 미지의 화합물인 경우, [MH⁺] 이온을 [MNH₄⁺] 이온으로, 그리고 [MH⁺] 이온을 [MNH⁺-OH] 이온으로 잘못 해석할 수 있을 것이다. 따라서 CF₃COOD+NH₄OH 이온화용액을 사용하게 되면 [MNH₄⁺] 이온과 [MD⁺] 이온, 그리고 [MD⁺] 이온과 [MD⁺-OH] 이온의 m/z값이 각각 16과 17로 다르

게 나타나기 때문에 좀 더 확실하게 분자량 이온을 찾을 수 있을 것으로 예상되었다. 이러한 예상의 결과를 비교하기 위하여 각각의 이온화용액을 사용하여 corticosteroid 화합물들을 LC/TSP/MS에 주입하여 얻은 결과를 Table 3에 나타내었다. 표에 의한 결과는 이미 예상되었던 결과와 잘 일치하고 있음을 보여 주고 있으며, 따라서 CF₃COOD+NH₄OH 이온화용액

을 사용하면 $[MNH_4^+]$ 이온, $[MH^+]$ 이온, 그리고 $[MH^+-OH]$ 이온에 의한 혼란을 제거함으로써 미지 화합물의 분자량 이온을 검출하거나 해석에 있어서 보완자료로 사용한다면 좀 더 확실한 결과를 얻을 수 있음을 알 수 있다.

한편, dexamethasone의 경우 $[MD^+-OH]$ 이온으로 예상되는 m/z 376의 relative abundance가 24%로 나타나고 $[MD^+-H_2O]$ 이온으로 예상되는 m/z 375의 relative abundance가 45%를 나타내었다. 또한 prednisolone에서도 $[MD^+-H_2O]$ 이온으로 예상되는 m/z 343이 약 13%를 나타내었다. Hydrocortisone과 cortisone에서도 $[MD^+-H_2O]$ 이온이 $[MD^+-OH]$ 이온과 함께 검출되었다. 하지만 이와 같이 $[MD^+-H_2O]$ 이온과 $[MD^+-OH]$ 이온이 함께 생성되더라도 $[MD^+-H_2O]$ 이온을 $[MD^+]$ 이온으로, 그리고 $[MH^+-OH]$ 이온을 $[MNH_4^+]$ 이온으로 잘못 판단할 우려가 전혀 없다. 즉 $[MD^+-H_2O]$ 이온과 $[MD^+]$ 이온은 질량값이 18, 그리고 $[MD^+-OH]$ 이온과 $[MNH_4^+-OH]$ 이온은 질량값이 16으로 차이가 나기 때문이다. 그 외의 corticosteroid들에서도 $[MD^+-H_2O]$ 이온이 검출되었지만 이들의 relative abundance가 2% 내의 낮은 값을 가졌었기 때문에 noise peak로 간주하였다. 다만 이 이온화용액을 사용하면 $CF_3COOH+NH_4OH$ 이온화용액을 사용할 때보다 감도가 약 1/3 정도밖에 되지 않기 때문에 같은 감도의 질량스펙트럼을 얻고자 한다면 시료 주입량을 증가시켜야 한다. 특히 공기 중에서 $CF_3COOH+NH_4OH$ 이온화용액으로 쉽게 전환되기 때문에 1회에 한하여 짧은 시간 내에 사용 하여야만 하는 결정적인 단점을 가지고 있으므로 사용에 있어서 각별히 주의하여야 한다.

3. 2. filament ON mode와 filament OFF mode를 사용하였을 때 생성되는 토막이온들의 비교

LC/TSP/MS로는 필라멘트를 켜고 이온화시키는 filament ON mode 방법과 끄고 이온화시키는 filament OFF mode 방법이 있는데, filament ON mode 방법을 사용하면 전자살에 의해 토막이온이 생성되며 이러한 토막이온의 생성은 분자의 구조 해석에 많은 도움을 주기 때문에 이들의 생성에 관하여 검토하여야 할 필요가 있다고 생각된다. 만약 $[H^+]$ 이온이 21번

탄소원자의 $-OH$ 기에 첨가되고 이 기능기의 토막반응에 의해 각 토막이온들이 생성된다면 $[MH-OH_2^+]$ 이온, $[MH-CH_2OH_2^+]$ 이온 및 $[MH-COCH_2OH_2^+]$ 이온들도 검출되어야 할 것이다. 그러나 $CF_3COOH+NH_4OH$ 이온화용액을 사용하여 얻어진 Fig. 1에서 보는 바와 같이 methylprednisolone의 m/z 315, prednisone의 m/z 299, hydrocortisone의 m/z 301 및 dexamethasone의 m/z 333 등에서 보면 $[MH-COCH_2OH_2^+]$ 이온이 검출되지 않음을 볼 수 있다. 그리고 21번 탄소원자가 아니라 링구조상의 어딘가에 흡착이 되었다고 가정할 수도 있을 것이다. 그러나 링구조에 $-OH$ 기가 전혀 없는 deoxycorticosterone의 경우를 검토해 보면 $[MH^+-OH]$ 이온이 2%의 매우 낮은 relative abundance를 가지는 것을 알 수 있다. 뿐만 아니라 11번 탄소위치에 $-OH$ 기를 가지는 prednisolone, methylprednisolone 및 corticosterone 이 36~57%의 비교적 높은 relative abundance를 가지기도 하지만 11-hydroxy progesterone, triamcinoloneacetoneide, dexoxymethasone, 그리고 methylprednisoloneacetate는 0~3%의 매우 낮은 값을 보여 주고 있다. 한편, 17번 탄소위치에 $-OH$ 기를 가지고 있는 cortisone, prednisone, dexamethasone, prednisolone 및 hydrocortisone의 경우 35~45%로서 서로 거의 비슷한 값들을 보여 주었다. triamcinolone은 16번 위치의 $-OH$ 기와 수소결합으로 추측되는 인접기와의 상호작용으로 안정하게 되어진 것으로 보이며 이러한 예외를 제외하고 나면 17번 위치의 $-OH$ 기는 11번 위치의 $-OH$ 기보다 쉽게 떨어져지는 것을 알 수 있다. 이러한 경향은 $CF_3COOH+NH_4OH$ 이온화용액을 사용하더라도 마찬가지로 보여 주고 있다. 따라서 필라멘트의 전자살에 의해 토막이온이 생성된다면 17번 위치에 $-OH$ 기를 가지는 corticosteroid는 이 기능기가 쉽게 떨어지기 때문에 $[MH^+-OH]$ 이온과 함께 $[MH-OH_2^+]$ 이온이 검출되어야 할 것으로 생각된다. 그러나 이러한 이온은 dexamethasone의 경우와 같이 전혀 생성되지 않거나 15% 이하의 낮은 값을 보이고 있다. 이와 같은 결과들을 종합적으로 고려해 볼 때 필라멘트로부터의 전자살에 의해 토막이온이 생성된다는 가정은 어느 정도 무리가 따르는 것으로 보여진다. 즉 이러한 결과들은 토막이온의 생성 기전이 전자살에 의한 토막반응에 의해

생성된다고만 할 수 없으며 또 다른 어떤 토막이온 생성기전이 있음을 예상할 수 있다. 따라서 probe 내에서 화합물이 분해되고 그 분해산물과 [H⁺] 이온이 probe 나 이온원 내에서 이온-분자반응을 하여 분해산물에 [H⁺] 이온이 흡착되어져 토막이온이 생성되는 기전을 가정해 볼 수 있을 것이다.

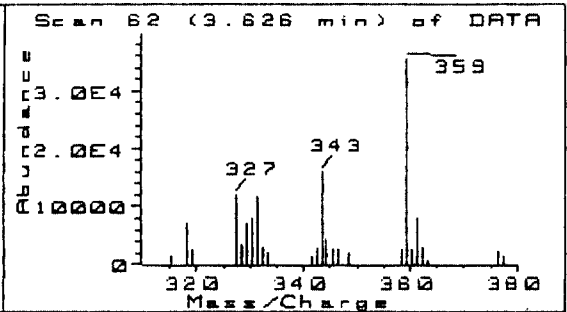
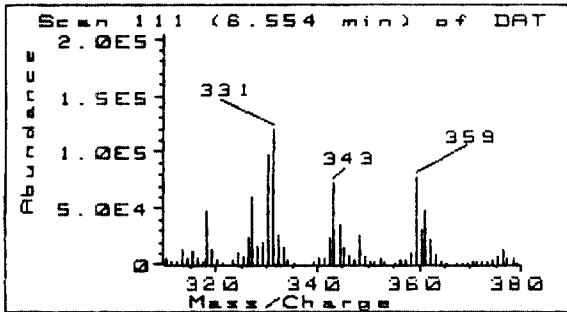
이 기전을 검토해 보기 위해 전자살을 사용하지 않

는 filament OFF mode를 이용하여 전자살에 의한 토막이온의 생성을 제한시켜 보고자 하였다. 이 때 사용한 이온화용액은 CF₃COOH+NH₄OH였으며 필라멘트를 켜지 않는 것을 제외한 probe의 온도 등은 모든 실험조건은 filament ON mode와 동일하였다. 이 결과로 얻어진 질량스펙트럼은 filament ON mode와 함께 Fig. 2에 나타내었다. 그림에서 보면 각 corticosteroid

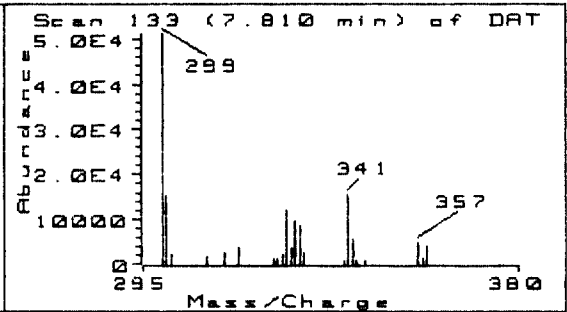
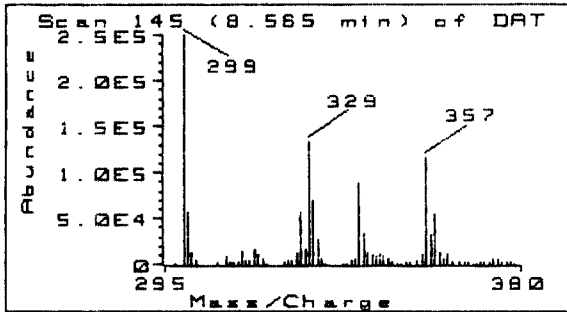
FILAMENT ON MODE

FILAMENT OFF MODE

CORTISONE



PREDNISONE



DEXAMETHASONE

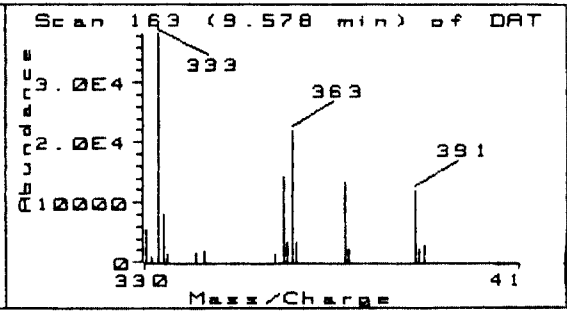
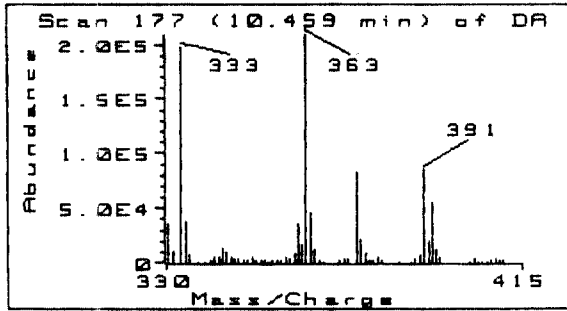
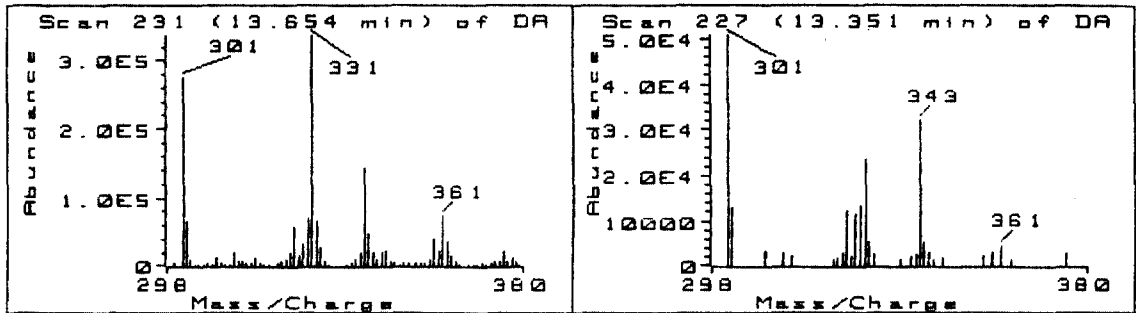


Fig. 2. The Mass Spectra of Corticosteroids by Use Filament ON Mode and Filament OFF Mode in LC/TSP/MS.

FILAMENT ON MODE

FILAMENT OFF MODE

PREDNISOLONE



HYDROCORTISONE

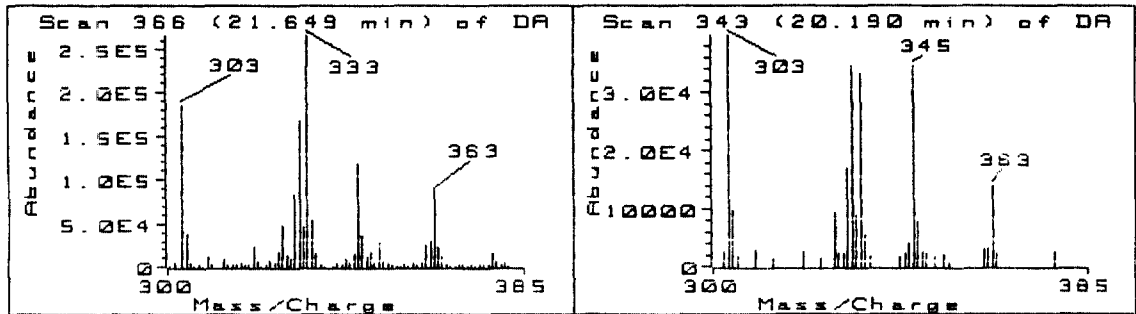


Fig. 2. Continued

의 스펙트럼이 비록 filament OFF mode의 감도가 filament ON mode보다 낮기는 하지만 토막이온들의 모습은 두 mode에서 같은 형태를 보여 주고 있다. 이 결과는 각각의 토막이온들이 필라멘트의 전자살에 의해 생성되어지기보다는 corticosteroid가 열에 불안정한 화합물이기 때문에 probe의 온도 상승에 의한 열에 의해 토막이온이 생성되어진다고 예상할 수 있다. 따라서 corticosteroid의 토막이온은 probe의 열에 의해 분해 반응이 일어나고 이 분해 산물이 probe의 모세관 내에서나 이온원 내에서 $[H^+]$ 이온이 흡착되는 이온-분자반응에 의해 생성된다는 것이 보다 합리적이라고 판단된다.

4. 결론

1. 열에 불안정한 -OH기를 함유하는 미지의 화합물은 LC/TSP/MS에서 $[MNH_4^+]$ 이온, $[MH^+]$ 이

온, 그리고 $[MH^+-OH]$ 이온의 생성이 가능하며 이들 이온의 m/z값의 차이가 17로서 같기 때문에 이들의 생성 정도에 따라 분자량 추정에 혼란이 일어날 수가 있다. 그러나 $CF_3COOD+NH_4OH$ 이온화용액을 사용한 결과를 보완한다면 이러한 혼란을 제거하여 보다 정확한 분자량을 추정할 수 있음을 알 수 있다.

2. LC/TSP/MS에서 생성되는 토막이온들은 필라멘트의 전자살에 의해 생성되는 것이 아니라 주로 probe의 온도에 의한 열에 의해 열에 약한 화합물들의 열분해가 일어나고 그 후 열분해산물에 $[H^+]$ 이온이 흡착되어져 토막이온이 생성되어지는 것으로 예측된다.

참고문헌

1. T. R. Covey, E. D. Lee, A. P. Bruins and J. D.

- Henion, *Anal. Chem.*, **58**, 1451A(1986).
2. H. Y. Kim and N. Salem, *Anal. Chem.*, **59**, 722 (1987).
 3. D. Barcelo, F. A. Maris, R. B. Greedink, R. W. Frei, G. J. DeJong and U. A. Brinkman, *J. Chromatogr.*, **394**, 65(1987).
 4. C. Lindberg and J. Paulson, *J. Chromatogr.*, **394**, 117(1987).
 5. F. A. Benesath and F. H. Field. *Anal. Chem.*, **60**, 1323(1988).
 6. C. Julein-Larose, P. Voilin, C. Mas-Chamberlin and A. Dufour, *J. Chromatogr.*, **562**, 39(1991).
 7. J. A. Koropchak and H. Aryamanya-Mugisha, *Anal. Chem.*, **60**, 1838(1988)
 8. J. V. D. Greef, W. M. A. Niessen and U. R. Tjaden, *J. Chromatogr.*, **474**, 5(1989).
 9. M. E. Harrison, G. J. Langley and M. A. Baldwin, *J. Chromatogr.*, **474**, 139(1989).
 10. W. Genuit and H. V. Binsbergen, *J. Chromatogr.*, **474**, 145(1989).
 11. D. Barcelo, *Org. Mass Spectrom.*, **24**, 219(1989).
 12. M. M. Bursey, C. E. Parker, R. W. Smith and S. J. Gaskell, *Anal. Chem.*, **57**, 2597(1985).