

## Een terugblik op de ontwikkelingen van massaspectrometrie in Nederland

Nico M.M. Nibbering

LaserLab Amsterdam and Chemistry Department, Vrije Universiteit,  
De Boelelaan 1083, 1081 HV Amsterdam, Nederland

De geschiedenis van de massaspectrometrie gaat terug tot in de eerste decennia van de vorige eeuw, maar deze momenteel zeer gevoelige, molecuul specifieke en zeer breed toepasbare instrumentele methode heeft pas na de tweede wereldoorlog zijn plaats gevonden in de chemie. Interessant is daarbij op te merken, dat Prof. J. Kistemaker in het in 1949 door FOM opgerichte Instituut voor Massaspectrografie en latere directeur van het FOM-Instituut voor Atoom- en Molecuulfysica (Amolf), beide te Amsterdam, een grote electromagnetische isotopenseparator heeft gebouwd, waarmee 10 mg van verrijkt  $^{235}\text{U}$  in 1953 werd verkregen. Dit heeft in 1955 geleid tot “declassificatie” van de uranium isotopenseidingstechnologie in de VS, d.w.z. opheffing van het atoomgeheim.

In de vijftiger en beginjaren zestig hadden industriële research laboratoria, waaronder van Shell (bekend onder de naam: het Koninklijke Shell Laboratorium Amsterdam (KSLA)), Unilever te Vlaardingen, de Staatsmijnen (later DSM genoemd) te Geleen, AKU (later AKZO genoemd) te Arnhem en Philips te Eindhoven de beschikking over massaspectrometers voor analyse van organische verbindingen of materialen. Ook de TNO instituten te Rijswijk en Zeist en het RIVM te Bilthoven gebruikten in een vroeg stadium massaspectrometers in hun onderzoek.

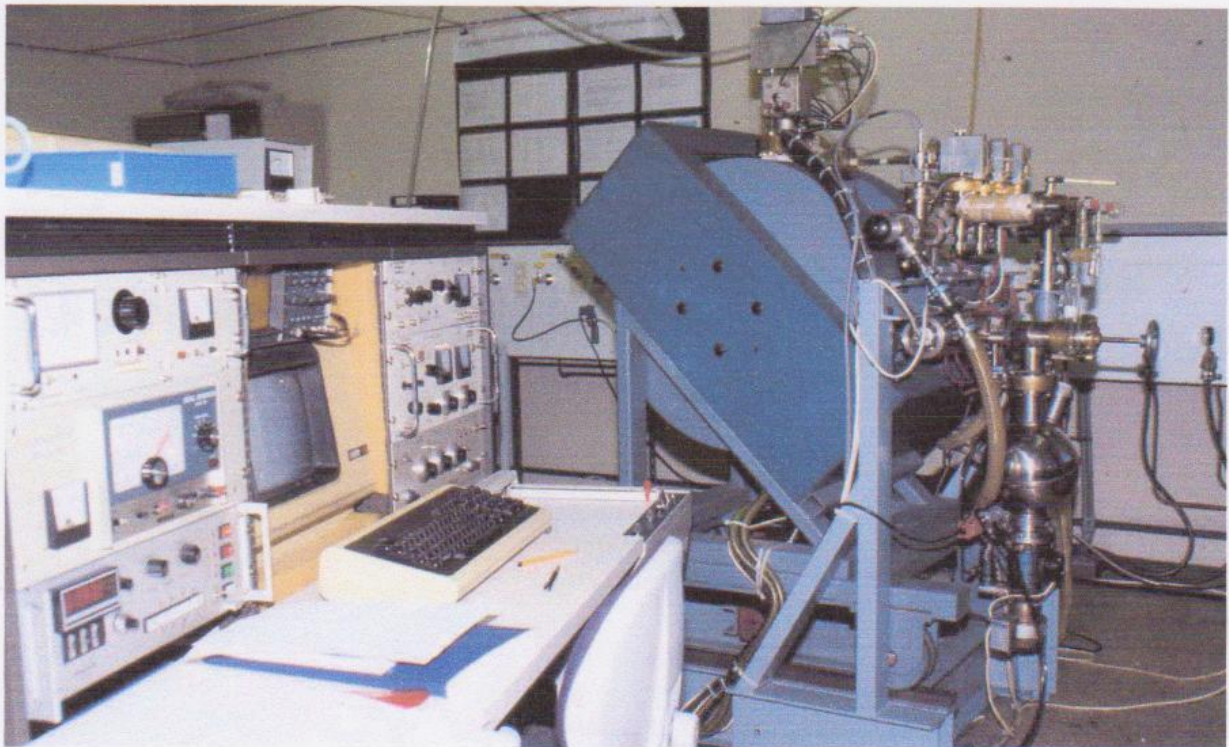
Universiteiten konden door financiële beperkingen dergelijke kostbare instrumenten niet aanschaffen en daarmee geen research op het gebied van de massaspectrometrie verrichten met uitzondering van de Universiteiten van Utrecht (UU) en Amsterdam (UVA), terwijl het eerder genoemde FOM-Amolf instituut in eigen beheer massaspectrometrische apparatuur voor specifieke fysische toepassingen ontwierp en bouwde. Van deze drie instellingen zullen in het kort in deze lezing voorbeelden van research en instrumentele ontwikkelingen genoemd worden, die bijgedragen hebben aan de ontplooiing van massaspectrometrie in Nederland. De auteur is in 1963 aan de UVA begonnen met onderzoek van de electron ionisatie-geïnduceerde fragmentatiemechanismen van organische moleculen met een enkelfocuserende AEI MS2H massaspectrometer. Enige jaren daarna werd een AEI MS 902 dubbelfocuserende massaspectrometer met een Nier-Johnson geometrie en een statisch oplossend vermogen van 100000 en een dynamisch oplossend vermogen van 10000 (beide gebaseerd op een dalhoogte van 10%) aangeschaft voor zowel analytische toepassingen als ook ionchemisch onderzoek. Een AEI MS9 massaspectrometer was tevens in de groep van Prof. G. Dijkstra van de UU reeds aangeschaft voor analytisch werk, waarmee destijds ook al de aminozuurvolgorde van peptides, bestaande uit 10 aminozuurresten, werd bepaald. Dit instrument is later gekoppeld aan een Argus Ferranti computer. In 1969 besloot de UVA een tweede dubbelfocuserende massaspectrometer aan te schaffen om hoog-oplossend vermogen GC-MS te ontwikkelen in een samenwerkingsproject tussen Prof. J.F.K. Huber van het Laboratorium voor Analytische Chemie en de auteur van het Laboratorium voor Organische Chemie. Hiervoor was de keus gevallen op de Varian MAT 711 dubbelfocuserende massaspectrometer met een Mattauch-Herzog geometrie en een statisch oplossend vermogen van gegarandeerd 70000 (in de praktijk bleek dit 90000 te zijn) en een dynamisch oplossend vermogen van 10000 (bij 10% dalhoogte), gekoppeld aan een Varian Data 620i computer. In tegenstelling tot het AEI MS902 instrument, waar de



ionenbundel in een verticaal vlak werd afgebogen, bewoog de ionenbundel in het Varian MAT 711 instrument zich door de vluchtbuis in een horizontaal vlak. Deze ionenbundel gedroeg zich aanvankelijk zeer grillig door een door de stroomkabels van de elektrische tram van Amsterdam (werkend op gelijkstroom, evenals het enige andere tramsysteem te Sao Paulo in Brazilië) opgewekt magneetveld, dat soms tot 80 mGauss kon oplopen, terwijl het niet meer dan het aardse magneetveld van 2 mGauss mocht bedragen. Met een magnetische sensor, gekoppeld aan een spoel van 740 m koperdraad boven de vluchtbuis, kon door een tegenstroom het storende magneetveld met succes gecompenseerd worden. Bij de aanschaf was er nog voldoende geld over om een veldionisatiebron te bestellen, die in 1974 beschikbaar kwam en daarmee tevens de mogelijkheid schiep velddesorptie massaspectrometrie analytisch toe te passen. Veldionisatie (FI) berust op het tunnelen van een electron vanuit de hoogs bezette orbitaal van een molecuul in de gasfase naar het laagst onbezette Fermi niveau van een metaal, waarvoor een zeer hoge elektrische veldsterkte vereist is. Hiervoor werden 10  $\mu\text{m}$  in diameter geactiveerde wolframdraden gebruikt, waarop door activering koolstofnaalden waren gegroeid. Bij velddesorptie (FD) werden niet-vluchtige en dikwijls polaire moleculen direct op de draad gebracht, waarbij door verhitting van de draad door een elektrische stroom de moleculen in geprotoneerde vorm direct vanaf de draad naar de gasfase desorbeerden, waarna ze met de massaspectrometer gedetecteerd konden worden. De verhitting van de draad was zeer subtiel, omdat bij te hoge opwarming ineens teveel ionen konden desorberen, die een soort ontlading teweeg brachten en tot breuk van de draad leidde. Hiervoor is in de groep van de auteur een zogenaamde “ion emission control unit” ontwikkeld, die dit probleem voorkwam en FD gebruikersvriendelijk maakte. Later is door de groep van de auteur ook negatieve ionen FI en FD ontwikkeld. In feite is FD de meest zachte ionisatiemethode gebleken te zijn, waarmee vele klassen van niet-vluchtige, polaire en ook thermisch labiele organische en organometaalverbindingen tot een moleculair gewicht van 5000 Daltons met succes geanalyseerd konden worden. Door de latere opkomst van fast atom bombardment (FAB) en daarna matrixgeassisteerde laser desorptie ionisatie (MALDI) en electrospray ionisatie (ESI) massaspectrometrie is FD in onbreuk geraakt. Echter, in 2004 is door Dr. B. Linden te Bremen, Duitsland, de robuuste techniek van “Liquid Injection Field Desorption Ionisation” (LIFDI) ontwikkeld, die bij voorbeeld uniek is voor de analyse van luchtgevoelige organometaalcomplexen. Rond 1974 is ook pyrolyse massaspectrometrie door het Amolf ontwikkeld. Hierbij werd niet vluchtig materiaal op een ferromagnetische draad gebracht, dat vervolgens in tienden van een seconde door een hoog-frequent veld tot de Curie-temperatuur (770  $^{\circ}\text{C}$  voor ijzer) werd verhit en waarbij de gevormde gasvormige moleculen met electron ionisatie werden geïoniseerd en vervolgens met een quadropool massaspectrometer geanalyseerd en gedetecteerd. Hiermee hebben Dr. H.L.C. Meuzelaar en zijn opvolger Dr. J. Haverkamp bacteriën onderzocht, waarna later Prof. J.J. Boon, allen bij Amolf, de methode heeft toegepast op onderzoek van polymeren. Omstreeks 1978 heeft Dr. P. Kistemaker van Amolf niet-vluchtige moleculen op een metaaloppervlak bestraald met een submicro-seconde  $\text{CO}_2$  laser puls in een zelf gebouwde enkelfocuserende massaspectrometer, waarbij geprotoneerde en gekationiseerde moleculen gevormd bleken te worden, zoals van bij voorbeeld digitonine met een moleculair gewicht van 1228 Daltons. Dit experiment kan als de voorloper van de zeer succesvolle en breed toepasbare MALDI-MS techniek beschouwd worden. Sinds 1971 had de groep van de auteur de beschikking over een Varian Syrotron drift cel ion cyclotron resonantie (ICR) massaspectrometer voor onderzoek van ion/molecuul reacties bij lage druk. Omdat toen dubbelfocuserende massaspectrometers met een omgekeerde geometrie, waarbij de magnetische sector voorafging aan de elektrische sector, in opkomst kwamen, heeft hij na een aanvraag daarvoor bij SON/ZWO het advies gekregen eerst bij Prof. F.W. McLafferty van de Cornell Universiteit te



Ithaca, New York, USA met een dergelijk instrument gedurende een aantal maanden experimenten te doen. Zo'n instrument, waarmee massa-geselecteerde ionen bestudeerd konden worden door "collisional activation" en hetgeen geleid heeft tot wijd verbreid gebruik van MS/MS, is hem in 1981 toegekend, waarbij Prof. G. Dijkstra van de UU in 1975 de eerste VG Micromass-ZAB omgekeerde geometrie massaspectrometer heeft weten te verwerven. Daarmee heeft zijn groep in 1981 de belangrijke ontdekking gedaan van het optreden van ion/dipool complexen tijdens unimoleculaire ontledingen van ionen in de gasfase. Het verblijf bij Prof. F.W. McLafferty stelde de auteur in staat de ASMS Conferentie in 1974 te Philadelphia in Pennsylvania bij te wonen, waar hij met zijn ICR ervaring zeer gefascineerd was door de lezing van Dr. M.B. Comisarow, die samen met Dr. A.G. Marshall aan de Universiteit van Vancouver, Canada, toepassing van Fourier transformatie (FT) op het ICR signaal van het molecuul van methaan had aangetoond. Een breedband FTICR spectrum, waarbij een volledig massaspectrum kon worden verkregen, was toen technisch niet haalbaar. Enige jaren later is het toch gelukt in de groep van de auteur om in de periode 1 April, 1979 - 2 April, 1980 in eigen beheer een breedband FTICR instrument te ontwerpen en bouwen als het eerste instrument in Europa (zie foto hieronder)



FTICR heeft zich ontwikkeld tot een tak van de massaspectrometrie, waarmee zowel fundamenteel ionchemisch onderzoek als zeer uitgebreide analytische toepassingen verricht kunnen worden, maar is vooral bekend om zijn extreem hoog-oplossend vermogen van enkele miljoenen. Een relatief recente en nieuwe tak van massaspectrometrie, waarbij ook FT wordt toegepast, is die van orbitrap met een hoog-oplossend vermogen maar nog steeds lager dan die van FTICR. Tenslotte wil de auteur de bijdragen van enige van zijn leerlingen aan de massaspectrometrie noemen. Deze zijn Dr. A.P. Bruins van de Rijksuniversiteit Groningen (RUG), die voor LC/MS "ion spray" heeft ontwikkeld naast zijn bijdragen van atmospheric pressure chemical ionization (APCI) en atmospheric pressure photoionization (APPI), Prof. J. van der Greef van TNO en de Universiteit van Leiden (UL), die vele jaren op het gebied van biomarkers werkzaam is geweest en thans actief is op het gebied van de systeembioologie en Prof. A.J.R. Heck van de UU, die zeer actief is op het gebied van proteomics.