



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년05월16일
(11) 등록번호 10-2532719
(24) 등록일자 2023년05월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 30/50 (2006.01) G01N 30/02 (2006.01)
G01N 30/56 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 30/50 (2013.01)
G01N 2030/027 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-0180808
(22) 출원일자 2021년12월16일
심사청구일자 2021년12월16일
(56) 선행기술조사문헌
JP2016521858 A*
JP09127090 A
KR101017572 B1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
한국표준과학연구원
대전 유성구 가정로 267(가정동, 한국표준과학연구원)
울산과학기술원
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(72) 발명자
서정기
대전광역시 유성구 덕명로 26, 105동 1904호(덕명동, 운암네오미아아파트)
이창영
울산광역시 울주군 언양읍 반천강변길 51, 104동 2007호(현대아파트)
문승민
경상북도 구미시 도봉로 67, 507동 601호(도량동, 구미도량뜨란채5단지)
(74) 대리인
특허법인 플러스

전체 청구항 수 : 총 12 항

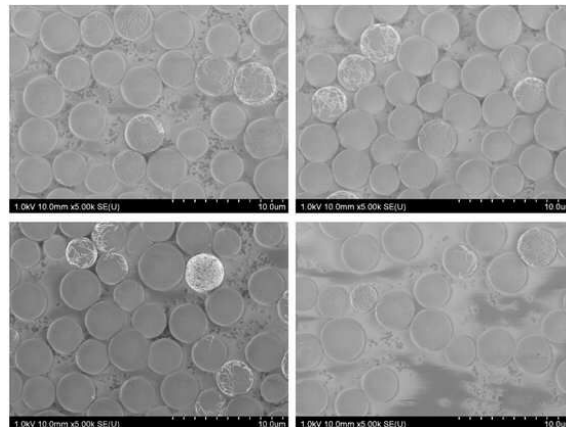
심사관 : 강대출

(54) 발명의 명칭 액체크로마토그래피 컬럼 충전제

(57) 요약

본 발명은 탄소나노튜브-실리카 입자를 포함하는 당류 분석용 액체크로마토그래피 컬럼 충전제로서, 당류 화합물로부터 각 성분간 분리가 용이하며, 특히 이성질체 화합물간 분리의 정밀성 및 재현성이 우수한 효과가 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

G01N 2030/562 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	20011218
과제번호	GP2020-0012-13
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	국가과학기술연구회
연구사업명	한국표준과학연구원 연구운영비지원
연구과제명	4-1-15. 대량 분취용 액체크로마토그래피 분리관 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	한국표준과학연구원
연구기간	2020.01.01 ~ 2021.12.31

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

탄소나노튜브-실리카 입자를 포함하는 당류 분석용 액체크로마토그래피 컬럼 충전제로서,

상기 탄소나노튜브-실리카 입자는 실리카 입자에 결합된 아미노실란계 커플링제가 상기 탄소나노튜브의 표면 상의 카복실기와 아미드 결합하여 형성되는 것을 특징으로 하는 액체크로마토그래피 컬럼 충전제.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 실리카 입자와 상기 탄소나노튜브의 중량비는 100: 0.05 내지 0.50인 것인 액체크로마토그래피 컬럼 충전제.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 실리카 입자의 평균 입경은 1 내지 10 μm 인 것인 액체크로마토그래피 컬럼 충전제.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 실리카 입자의 평균 기공크기는 1 내지 100 nm인 것인 액체크로마토그래피 컬럼 충전제.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 아미노실란계 커플링제는 아미노C1-C5알킬C1-C5알콕시실란을 포함하는 액체크로마토그래피 컬럼 충전제.

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 충전제는 이성질체의 당류 분자 분리용인 액체크로마토그래피 컬럼 충전제.

청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 당류는 단당류, 이당류, 다당류 또는 이들의 혼합물을 포함하는 액체크로마토그래피 컬럼 충전제.

청구항 8

관형 지지체; 및

상기 관형 지지체의 내부에 장입되는 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 당류 분리용 액체크로마토그래피 컬럼 충전제;를 포함하는 액체크로마토그래피 장치.

청구항 9

a) 실리카 입자의 표면 상에 아미노실란계 커플링제를 결합하는 단계; 및

b) 상기 실리카 입자에 결합된 아미노실란계 커플링제의 아민기와 탄소나노튜브의 표면 상의 카복실기를 반응시켜 결합하는 단계;를 포함하는 액체크로마토그래피 컬럼 충전제의 제조 방법.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 탄소나노튜브는 표면 상에 카복실기로 기능화된 것인 액체크로마토그래피 컬럼 충전제의 제조 방법.

청구항 11

제9항에 있어서,

상기 아미노실란계 커플링제는 아미노C1-C5알킬실란계 커플링제인 것인 액체크로마토그래피 컬럼 충전제의 제조 방법.

청구항 12

제9항에 있어서,

상기 a) 단계 이전에, 실리카 입자의 표면을 산처리하는 전처리 단계를 더 포함하는 액체크로마토그래피 컬럼 충전제의 제조 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 액체크로마토그래피 컬럼 충전제에 관한 것으로, 구체적으로는 당류 화합물을 정밀하고 재현성 있게 분리 및 분석할 수 있는 액체크로마토그래피 컬럼 충전제에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 크로마토그래피는 적절한 정지상과 이동상을 사용하여 분석 대상들이 섞여 있는 혼합물로부터 이동속도의 차이를 이용하여 각 성분들을 분리하는 기술로, 액체 크로마토그래피(Liquid chromatography)는 이동상(Mobile phase)으로 액체를 이용하는 크로마토그래피 분리 방법이다. 이때 액체 크로마토그래피의 정지상(Stationary phase) 충전제로는 다공성 분말이 주로 사용되며, 그 재질로는 실리카(SiO_2), 알루미나(Al_2O_3), 지르코니아(ZrO_2) 등이 사용되었다. 분말의 다공성 표면에 여러 리간드가 화학적으로 결합되거나 고분자 피막이 입혀진 것들이 사용되며, 여러 가지 형태의 블록 공중합 다공성 고분자 분말도 많이 사용되고 있다. 현재 가장 보편화된 충전제로는 옥타데실(Octadecyl) 리간드가 다공성 실리카 분말에 결합된 C18 정지상이 주로 사용되고 있다.

[0003] 그러나 당류 분자는 C18 컬럼에 잘 머무르지 않는 친유성이 낮은 화합물로서, 분리가 용이하지 않은 문제가 있으며, 특히 이성질체의 당류 분자들이 많으며 이들간 성분 분리가 용이하지 않은 한계가 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) 대한민국등록공보 제10-0290757호 B

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 목적은 각 성분간 분리가 용이하며, 특히 이성질체 화합물간 분리의 정밀성 및 재현성이 우수한 당류 화합물 분리용 액체 크로마토그래피 컬럼 충전제 및 이의 제조 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0006] 본 발명에 따른 액체크로마토그래피 컬럼 충전제는 탄소나노튜브-실리카 입자를 포함하는 것으로서, 상기 탄소나노튜브-실리카 입자는 실리카 입자에 결합된 아미노실란계 커플링제가 상기 탄소나노튜브의 표면 상의 카복실기와 아미드 결합하여 형성된다.
- [0007] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 실리카 입자와 상기 탄소나노튜브의 중량비는 100: 0.05 내지 0.50 일 수 있다.
- [0008] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 실리카 입자의 평균 입경은 1 내지 10 μm 인 것일 수 있다.
- [0009] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 실리카 입자의 평균 기공크기는 1 내지 100 nm인 것일 수 있다.
- [0010] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 아미노실란계 커플링제는 아미노C1-C5알킬C1-C5알콕시실란을 포함할 수 있다.
- [0011] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 충전제는 이성질체의 당류 분자 분리용일 수 있다.
- [0012] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 당류는 단당류, 이당류, 다당류 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다.
- [0013] 본 발명은 상술한 충전제를 포함하는 액체크로마토그래피용 컬럼을 포함한다.
- [0014] 본 발명은 상술한 충전제를 포함하는 액체크로마토그래피 장치를 포함한다.
- [0015] 본 발명에 따른 액체크로마토그래피 장치는, 관형 지지체; 및 상기 관형 지지체의 내부에 장입되는 상기 충전제;를 포함한다.
- [0016] 본 발명에 따른 액체크로마토그래피 컬럼 충전제의 제조 방법은, a) 실리카 입자의 표면 상에 아미노실란계 커플링제를 결합하는 단계; 및 b) 상기 실리카 입자에 결합된 아미노실란계 커플링제의 아민기와 탄소나노튜브의 표면 상의 카복실기를 반응시켜 결합하는 단계;를 포함한다.
- [0017] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 탄소나노튜브는 표면 상에 카복실기로 기능화된 것일 수 있다.
- [0018] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 아미노실란계 커플링제는 아미노C1-C5알킬실란계 커플링제일 수 있다.
- [0019] 본 발명의 일 예에 따른 액체크로마토그래피 컬럼 충전제의 제조 방법은, 상기 a) 단계 이전에, 실리카 입자의 표면을 산처리하는 전처리 단계를 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

- [0021] 본 발명에 따른 액체 크로마토그래피 컬럼 충전제는 당류 화합물로부터 각 성분간 분리가 용이하며, 특히 이성질체 화합물간 분리의 정밀성 및 재현성이 우수한 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0022] 도 1은 실시예 1에서 제조된 CNT-실리카 복합체의 주사전자현미경 이미지이다.
- 도 2 내지 도 6은 실시예 1에서 제조된 CNT-실리카 복합체를 충전제로 사용하여, 프럭토스, 갈락토스, 말토스, 수크로스의 혼합물을 분석 대상으로 측정한 액체 크로마토그래피 분석 결과를 나타낸 것이다.
- 도 7은 실시예 1에서 제조된 CNT-실리카 복합체를 충전제로 사용하여 9종의 당 혼합물에 대해 측정한 액체 크로마토그래피 분석 결과를 도시한 도면이다.
- 도 8은 시판되는 HPLC용 컬럼을 사용하여 9종의 당 혼합물에 대해 측정한 액체 크로마토그래피 분석 결과를 도시한 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0023] 이하 첨부한 도면들을 참조하여 본 발명에 따른 당류 분석용 액체크로마토그래피 컬럼 충전제를 상세히 설명한다.
- [0024] 본 명세서에 기재되어 있는 도면은 당업자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위해 예로서 제공되는 것이다. 따라서 본 발명은 제시되는 도면들에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있으며, 상기 도면들은 본 발명의 사상을 명확히 하기 위해 과장되어 도시될 수 있다.

- [0025] 본 명세서에서 사용되는 기술 용어 및 과학 용어에 있어서 다른 정의가 없다면, 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하고 있는 의미를 가지며, 하기의 설명 및 첨부 도면에서 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대한 설명은 생략한다.
- [0026] 본 명세서에서 사용되는 용어의 단수 형태는 특별한 지시가 없는 한 복수 형태도 포함하는 것으로 해석될 수 있다.
- [0027] 본 명세서에서 특별한 언급 없이 사용된 %의 단위는 별다른 정의가 없는 한 중량%를 의미한다.
- [0028] 본 발명에 따른 액체크로마토그래피 컬럼 충전제는 실리카 입자에 결합된 아미노실란계 커플링제가 탄소나노튜브의 표면 상의 카복실기와 아미드 결합하여 형성된 탄소나노튜브-실리카 입자를 포함한다. 이에 따라, 당류 분자들을 포함하는 혼합물로부터 성분들간 분리가 용이하며, 특히 이성질체 당류 화합물간 분리의 정밀성이 우수하고 재현성이 높은 효과가 있다.
- [0029] 상기 탄소나노튜브-실리카 입자는 탄소나노튜브-실리카 복합체로서, 탄소나노튜브에 기능화된 카복실기와 실리카 입자에 결합된 아미노실란계 커플링제가 화학적으로 결합 반응하여 형성된 것으로, 당류 분자 중 이성질체, 구체적으로 구조 이성질체 또는 부분 입체 이성질체를 포함하는 입체 이성질체인 당류 분자들간 분리 정밀성이 향상될 수 있다.
- [0030] 상기 아미노실란계 커플링제는 탄소나노튜브의 카복실기와 결합 반응할 수 있는 아민기를 가지며 실리카 입자에 결합할 수 있는 실란 화합물로서 전술한 효과를 구현할 수 있는 것이라면 크게 제한되지 않으나, 아미노C1-C5알킬C1-C5알콕시실란, 더 좋게는 아미노C1-C3알킬C1-C3알콕시실란인 것이 당류 분자 중 이성질체간 분리 정밀성이 향상될 수 있는 측면에서 바람직할 수 있다. 일 구체예에 있어, 실리카 입자에 결합되는 아미노실란계 커플링제는 카복실기를 갖는 탄소나노튜브와 잘 결합될 수 있을 정도로 도입되면 족하며, 실질적으로, 실리카 1 중량부 기준 0.05 내지 0.5 중량부의 아미노실란계 커플링제를 함유할 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0031] 아미노C1-C5알킬실란계 커플링제의 구체적인 일 예로, 3-아미노프로필트리에톡시실란(3-aminopropyltriethoxysilane, APTES), 3-아미노프로필트리메톡시실란(3-aminopropyltrimethoxysilane, APTMS), (3-아미노프로필)메틸디에톡시실란((3-aminopropyl)methyldiethoxysilane, APMDES) 및 비스-[3-(트리에톡시실릴)프로필]아민(bis-[3-(triethoxysilyl)propyl]amine, TESPA) 등에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상을 포함할 수 있으나, 이는 바람직한 일 예로서 설명된 것일 뿐, 본 발명이 이에 제한되어 해석되는 것은 아니다.
- [0032] 상기 탄소나노튜브는 탄소나노튜브의 표면 상에 카복실기가 형성된 것으로서, 표면에 카복실기가 도입되어 기능화(표면 개질)된 탄소나노튜브일 수 있다. 탄소나노튜브는 탄소들간 sp² 결합 구조를 가지며, 흑연면(Graphite sheet)이 나노 크기 직경의 실린더 형태를 가지는 물질로, 벽을 이루고 있는 결합수에 따라 단일벽 탄소나노튜브(Single-walled carbon nanotube, SWCNT, 이중벽 탄소나노튜브(Double-walled carbon nanotube, DWCNT), 다중벽 탄소나노튜브(Multi-walled carbon nanotube, MWCNT), 다발형 탄소나노튜브(Rope carbon nanotube)로 분류될 수 있다. 이 중 본 발명에 따른 탄소나노튜브는 카복실기로 기능화된 단일벽 탄소나노튜브(Single-walled carbon nanotube, SWCNT)인 것이 전술한 효과를 더 잘 구현할 수 있는 측면에서 바람직할 수 있다. 상기 카복실기는 커플링제의 아민기와 결합이 잘 될 수 있을 정도로 탄소나노튜브의 표면에 도입된 것이라면 크게 제한되지 않으며, 일 예로 0.5 내지 6 원자%(카복실기의 산소 원자 기준), 구체적으로 1 내지 3 원자%로 카복실기가 도입된 탄소나노튜브일 수 있다. 카복실기는 황산, 염산 등의 무기산으로 탄소나노튜브를 처리하여 탄소나노튜브에 도입된 것일 수 있다. 하지만 이는 바람직한 일 예로서 설명된 것일 뿐, 본 발명이 이에 제한되어 해석되는 것은 아니다.
- [0033] 유리한 일 예에 있어, 실리카 입자는 아미노실란계 커플링제로 표면 개질된 상태일 수 있으며, 컬럼 충전제는 아미노실란계 커플링제로 표면개질된 실리카의 아미노기가 탄소나노튜브의 카복시기와 아미드 결합하여 복합화된 것일 수 있다. 아미노실란계 커플링제로 표면개질된 실리카, 카복시기로 개질된 탄소나노튜브 및 아미노기와 카복시기간 아미드 결합에 의한 실리카와 탄소나노튜브의 복합화에 의해, 특히 물과 극성용매의 혼합물을 이동상으로 사용하는 액체 크로마토그래피에서, 당류 분자 중 이성질체인 분자들간 분리 정밀성이 크게 향상될 수 있다.
- [0034] 일 구체예에 있어, 실리카 입자와 탄소나노튜브의 중량비는 100(실리카):0.05 내지 0.50(탄소나노튜브), 구체적으로 100 : 0.1 내지 0.3, 보다 구체적으로 100 : 0.1 내지 0.2일 수 있다. 아미드 결합에 의해 결합되는 실리카 입자와 탄소나노튜브가 상술한 중량비를 가짐으로써, 에피머를 포함하는 부분입체 이성질체 당류

또한 액체 크로마토그래피에 의해 용이 분리될 수 있다.

- [0035] 상기 실리카 입자는 마이크로 단위의 사이즈를 가지는 입자일 수 있으며, 입자의 평균 입경은 당류 화합물로부터 각 성분간 분리가 용이하며, 특히 이성질체 화합물간 분리가 잘 될 수 있도록 0.5 내지 100 μm , 구체적으로 1 내지 30 μm , 바람직하게는 1 내지 10 μm 인 것일 수 있다.
- [0036] 상기 실리카 입자는 미세 기공을 가지는 다공성 실리카 입자인 것이 전술한 효과를 더 잘 구현할 수 있는 측면에서 바람직할 수 있으며, 예를 들어 평균 기공크기가 1 내지 100 nm인 실리카 입자가 사용되는 것이 좋을 수 있다.
- [0037] 상기 실리카 입자의 형태는 구형, 막대형, 박편형 등 다양한 형태를 가질 수 있으나, 전술한 효과를 더 잘 구현할 수 있는 측면에서 구형도가 0.9 이상인 구형 입자가 바람직할 수 있다.
- [0038] 전술한 바와 같이, 본 발명에 따른 액체크로마토그래피 컬럼 충전제는 전술한 특징을 가지는 탄소나노튜브-실리카 입자를 포함함으로써, 당류 분자를 포함하는 혼합물로부터 당류 분자의 분리가 높은 정밀도로 수행되며, 특히 구조 이성질체나 입체 이성질체인 당류 분자들간의 분리가 용이한 효과가 있다.
- [0039] 당류는 단당류, 이당류, 다당류 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다. 대표적인 단당류는 자일리톨등과 같은 알코올계 당, 글루코스, 만노스, 갈락토스등과 같은 알도스, 프럭토스등과 같은 케토스, 또는 이들의 혼합물등을 들 수 있다. 대표적인 이당류로 수크로스, 말토스, 락토스 또는 이들의 혼합물등을 들 수 있으며, 대표적인 다당류로 라피노스등을 들 수 있으나, 본 발명이 구체 당류에 의해 한정되는 것은 아니다. 다만, 통상의 액체 크로마토그래피에서 작은 분자량의 당류 분자간 및/또는 당류 이성질체간 분리 검출이 더욱 어려움에 따라, 본 발명의 일 구체예에 따른 효과를 고려할 때, 종게, 당류는 단당류, 이당류 또는 이들의 혼합물일 수 있으며, 보다 좋게는 600달톤 이하, 500달톤 이하, 또는 400 달톤 이하의 단당류, 이당류 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 본 발명의 일 구체예에 따른 충전제를 이용한 액체크로마토그래피에서, 피크가 겹치지 않고 서로 분리되는, 분리 검출 가능한 이성질체의 구체적인 예로, 프럭토스와 갈락토스간 분리, 말토스와 수크로스간 분리, 글루코스과 갈락토스간 분리, 프럭토스와 만노스간의 분리, 및/또는 자일리톨과 프럭토스간 분리등을 들 수 있다.
- [0040] 본 발명에 따른 액체크로마토그래피 컬럼 충전제는 다양한 방법으로 제조될 수 있으나, 다음과 같은 방법으로 제조되는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어 실리카 입자에 아미노실란계 커플링제를 결합한 후, 탄소나노튜브의 카복실기를 상기 커플링제에 결합 반응시키는 제1방법; 또는 탄소나노튜브의 카복실기에 아미노실란계 커플링제를 결합 반응시킨 후, 상기 커플링제를 실리카 입자에 결합시키는 제2방법;을 들 수 있으나, 상기 제1방법이 더 바람직할 수 있다. 이의 바람직한 제조 방법은, a) 실리카 입자의 표면 상에 아미노실란계 커플링제를 결합하는 단계; 및 b) 상기 실리카 입자에 결합된 아미노실란계 커플링제의 아민기와 탄소나노튜브의 표면 상의 카복실기를 반응시켜 결합하는 단계;를 포함한다.
- [0041] 상기 a) 단계는 실리카 입자의 표면 상에 아미노실란계 커플링제를 결합시키는 단계로, 예를 들어 실리카 입자를 용매에 분산시킨 후, 아미노실란계 커플링제를 첨가하여 수행될 수 있다. 상기 용매는 실리카 입자를 분산시킬 수 있는 것이라면 다양한 것들이 사용될 수 있으며, 예컨대 톨루엔 등의 무극성 용매가 사용될 수 있다. 하지만 이는 바람직한 일 예로서 설명된 것일 뿐, 본 발명이 이에 제한되어 해석되는 것은 아니다.
- [0042] 상기 b) 단계는 상기 a) 단계에서 제조된 실리카 입자와 탄소나노튜브를 결합시키는 단계로, 실리카 입자에 결합된 아미노실란계 커플링제의 아민기와 탄소나노튜브의 표면 상의 카복실기를 반응시키는 단계이다. 이의 구체적인 수단으로, 상기 a) 단계에서 제조된 실리카 입자를 물 등의 용매에 분산시킨 후, 카복실기로 기능화된 탄소나노튜브를 첨가하고 혼합하는 방법이 예시될 수 있다.
- [0043] 본 발명의 일 예에 따른 액체크로마토그래피 컬럼 충전제의 제조 방법은, 상기 a) 단계 이전에, 실리카 입자의 표면을 산처리하는 전처리 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 전처리가 더 수행됨으로써, 실리카 입자의 표면 상에 아미노실란계 커플링제를 더 잘 결합 반응시킬 수 있다. 상기 산처리로 염산, 질산, 황산 등의 무기산 또는 이의 수용액에 실리카 입자를 소정 시간 침지하는 수단을 예로 들 수 있다.
- [0044] 또한 본 발명은 전술한 충전제를 포함하는 액체크로마토그래피 장치를 제공한다. 구체적인 일 예로, 본 발명에 따른 당류 구조 이성질체의 당류 분자 분리용 액체크로마토그래피 장치는, 관형 지지체; 및 상기 관형 지지체의 내부에 장입되는 상기 충전제;를 포함한다.
- [0045] 상기 관형 지지체의 규격은 규모 및 설비 크기에 따라 적절히 제어될 수 있으며, 일 실시예로 내경이 1 내지 10 mm이고 길이가 10 내지 30 mm인 것을 들 수 있다. 하지만 이는 바람직한 일 예로서 설명된 것일 뿐, 본

발명이 이에 제한되어 해석되는 것은 아니다.

[0046] 이와 같이, 본 발명에 따른 충전제를 포함하는 액체크로마토그래피 장치를 통해 상기 충전제를 고정상으로 하여 액체크로마토그래피를 수행함으로써, 당류 분자들을 포함하는 혼합물로부터 성분들간 분리가 용이하고, 특히 이성질체 화합물간 분리의 정밀성이 우수하고 재현성이 높은 효과가 있다. 액체크로마토그래피 방법은 공지된 액체크로마토그래피 방법을 이용하면 무방하며, 예를 들어 액체크로마토그래피 시, 이동상 용매는 물, DMSO, 메탄올, 아세토니트릴, 테트라히드로퓨란 및 이의 혼합물 등이 사용될 수 있고, 실질적으로, 물;과 다이메틸설폭사이드(DMSO, 메탄올, 아세토니트릴, 테트라히드로퓨란등에서 하나 이상 선택되는 극성 용매;의 혼합물이 사용될 수 있다. 이때, 극성용매 : 물의 부피비는 1 : 0.1 내지 1의 수준, 구체적으로 1 : 0.1 내지 0.7의 수준일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 그러나 본 발명이 이러한 이동상의 물질에 의해 한정되는 것은 아니며, 이와 달리 이동상으로 헥산, 1-클로로부탄, 메틸렌 클로라이드, 아세토니트릴 및 이의 혼합물 등이 사용될 수 있다.

[0047] 액체크로마토그래피 시 측정 조건 또한 공지된 액체크로마토그래피 방법을 이용하면 무방하다. 예를 들어 분석 대상의 농도는 3 내지 30 중량%일 수 있고, 측정 온도는 20 내지 50℃일 수 있으며, 유속은 30 내지 3000 $\mu\text{L}/\text{min}$ 일 수 있다. 하지만 이는 구체적인 일 예로서 설명된 것일 뿐, 본 발명이 이에 제한되어 해석되는 것은 아니다.

[0048] 이하 본 발명을 실시예를 통해 상세히 설명하나, 이들은 본 발명을 보다 상세하게 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 권리범위가 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

실시예 1

[0049] <단계 1 : 실리카 비드의 표면 처리>

[0050] 입자 사이즈가 3.5 μm 인 실리카 비드 20 g을 37% 농도의 염산(HCl) 수용액 100 mL에 투입하여 24 시간 동안 전처리하고 탈이온수로 세척하였다. 이어서 세공 크기가 200 nm인 폴리카보네이트 필름을 이용하여 여과하고, 60℃오븐에서 충분히 진공 건조하여 산처리된 실리카 비드를 수득하였다. 다음으로, 상기 산처리된 실리카 비드를 톨루엔 120 mL에 투입하고 분산시켜 현탁액을 제조한 후, 상기 현탁액에 (3-아미노프로필)트리에톡시실란((3-Aminopropyl)triethoxysilane, APTES) 10 mL를 첨가하고 질소 분위기에서 48 시간 동안 교반하였다. 이어서 세공 크기가 200 nm인 셀룰로스아세테이트 필름을 이용하여 여과하고, 60℃오븐에서 충분히 진공 건조하여 아미노실란계 커플링제로 표면 처리된 실리카 비드를 수득하였다.

[0051] <단계 2 : CNT-실리카 복합체 제조>

[0052] 카복실기로 기능화된 탄소나노튜브(SWCNT-COOH)(P3, Carbon Solution Inc.) 25 mg을 물 100 mL가 담긴 바이알에 첨가한 후, 1 시간 동안 초음파 처리하여 CNT 용액을 제조하였다. 다음으로, 상기 CNT 용액에 상기 단계 1에서 제조된 아미노실란계 커플링제로 표면 처리된 실리카 비드 20 g을 첨가한 후, 80℃에서 12 시간 동안 300 rpm의 속도로 교반하였다. 이어서 세공 크기가 200 nm인 폴리테트라플루오로에틸렌 필름을 이용하여 여과하고, 60℃오븐에서 충분히 진공 건조하여 CNT-실리카 복합체를 수득하였다. 도 1은 실시예 1에서 제조된 CNT-실리카 복합체의 주사전자현미경 이미지이다.

[0054] [실험예]

[0055] 실시예 1에서 제조된 CNT-실리카 복합체를 충전제로 하여, 내경이 4.6 mm이고 길이가 150 mm인 관형 컬럼에 충전하였다. 구체적으로, 디클로로메탄(Dichloromethane) 및 사이클로헥산올(Cyclohexanol)이 1:1 중량비로 혼합된 슬러리에 상기 충전제를 분산시킨 후 상기 관형 컬럼에 충전시켰으며, 이때 50% 농도의 메탄올(Methanol) 수용액을 푸쉬 용매로 슬러리 펌프를 이용하여 500 kg/cm^2 로 가압하여 충전하였다.

[0056] 그리고 분석용 샘플 및 분석 조건을 하기 표 1에 나타내었고, 그 분석 결과를 하기 표 2와 도 2 내지 도 6에 나타내었다.

표 1

분석 대상	분석 조건				
	종류	Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose
	농도 (mg/mL)	7.92	15.3	10.4	20.48

이동상	Acetonitrile:Distilled water=6:4 (부피비)
유속	100 μ L/min
분리온도(컬럼온도)	35℃
검출 방법	굴절률 검출기(RID; Refractive Index Detector)

표 2

	compound name	RT[min]	Asymm.	plates	peak area
1회	Fructose	6.038	1.24510	8294	710800.19
	Glucose	7.297	1.20000	6035	1346603.75
	Sucrose	10.834	1.12698	9674	505907.91
	Maltose	13.646	1.09000	6825	127950.50
2회	Fructose	6.01	1.20000	7671	706679.94
	Glucose	7.263	1.16644	5606	1330745.75
	Sucrose	10.779	1.10162	8830	503220.78
	Maltose	13.578	1.07343	6269	1258162.63
3회	Fructose	6.062	1.16102	7632	716957.69
	Glucose	7.331	1.12047	5570	1314242.13
	Sucrose	10.898	0.98734	9022	504828.97
	Maltose	13.731	1.00000	6093	1247730.50
4회	Fructose	6.034	1.23636	7284	716637.25
	Glucose	7.292	1.18475	5320	1358354.38
	Sucrose	10.825	1.10549	8268	504473.66
	Maltose	13.632	1.09571	5906	1299644.75
5회	Fructose	6.014	1.21991	8441	712178.25
	Glucose	7.266	1.17537	6024	1326218.00
	Sucrose	10.777	1.13934	9600	501405.03
	Maltose	13.577	1.09000	6658	1262981.25
표준편차(%)	Fructose	2.09%	-	-	-
	Glucose	2.76%	-	-	-
	Sucrose	4.95%	-	-	-
	Maltose	6.31%	-	-	-

[0059] 상기 표 2와 도 2 내지 도 6에서와 같이, 구조 이성질체인 프락토스(Fructose)와 글루코스(Glucose)의 머무름 시간과, 구조 이성질체인 수크로스(Sucrose)와 말토스(Maltose)의 머무름 시간 모두, 이성질체간 명확한 차이를 보이며 정밀하게 분리됨을 확인할 수 있다. 또한 각 분석 대상에 대하여 동일한 실험을 5회 수행한 결과, 결과 값의 재현성도 우수함을 확인할 수 있다.

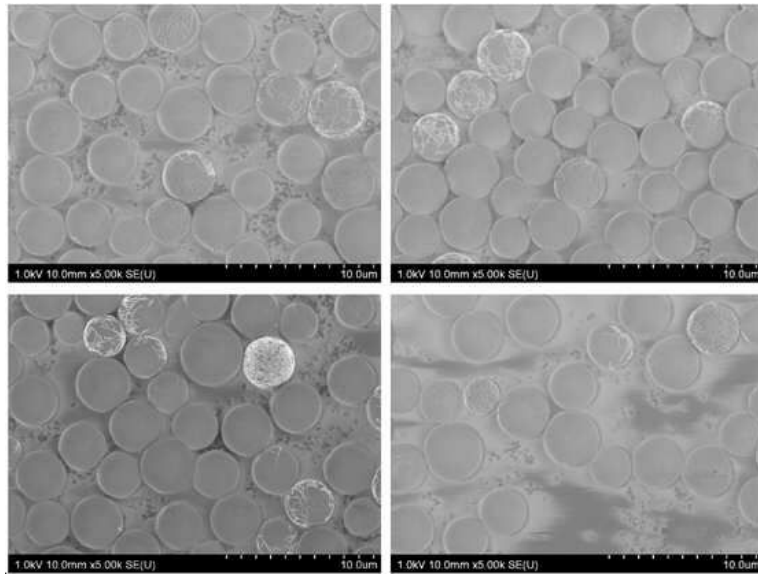
[0060] 도 7은 표 1의 조건에서, 아세토니트릴 : 증류수 =15:5 (부피비), 1.0mL/min의 유속 조건 및 자일리톨, 프럭토스, 글루코스, 만노스, 갈락토스, 수크로스, 말토스, 락토스 및 라피노스가 혼합된 혼합물을 분석 대상으로 수행한 액체 크로마토그래피 분석 결과를 나타낸 것이며, 도 8은 시판되는 HPLC 컬럼(agilent, Kromasil - Classic 100 Å SIL)을 이용하여 동일 조건으로 분석한 액체 크로마토그래피 분석 결과를 나타낸 것이다. 도 7 및 도 8에서 알 수 있듯이, 종래 컬럼으로는 자일리톨과 프럭토스의 피크가 서로 겹치고, 프럭토스와 만노스 피크가 서로 겹치고, 글루코스와 갈락토스의 피크 또한 겹쳐 분리가 어려웠으나, 본 발명의 일 구체예에 따른 충전제로 충전된 컬럼을 이용하는 경우, 에피머인 만노스와 글루코스, 갈락토스와 글루코스 모두 개별 피크로 분리 검출되며, 자일리톨과 프럭토스 또한 명확한 피크 분리가 이루어져, 극히 우수한 분해능을 갖는 것을 확인할 수 있다.

[0061] 이상과 같이 본 발명에서는 특정된 사항들과 한정된 실시예 및 도면에 의해 설명되었으나 이는 본 발명의 보다 전반적인 이해를 돕기 위해서 제공된 것일 뿐, 본 발명은 상기의 실시예에 한정되는 것은 아니며, 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이러한 기재로부터 다양한 수정 및 변형이 가능하다.

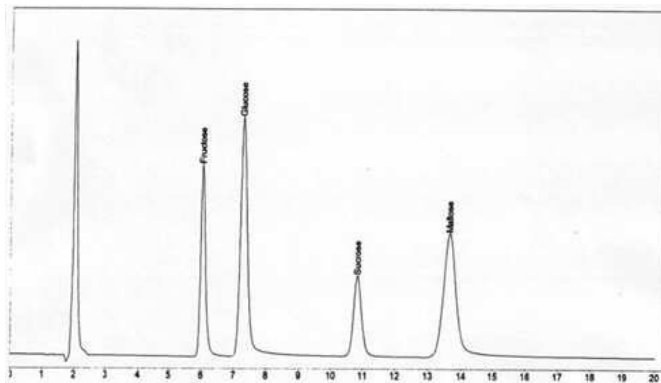
[0062] 따라서, 본 발명의 사상은 설명된 실시예에 국한되어 정해져서는 아니되며, 후술하는 특허청구범위뿐 아니라 이 특허청구범위와 균등하거나 등가적 변형이 있는 모든 것들은 본 발명 사상의 범주에 속한다고 할 것이다.

도면

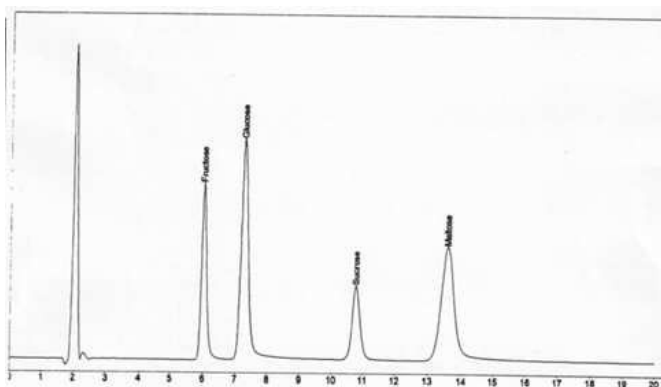
도면1



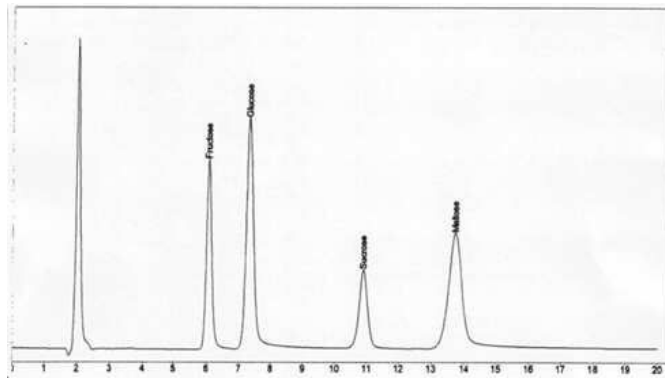
도면2



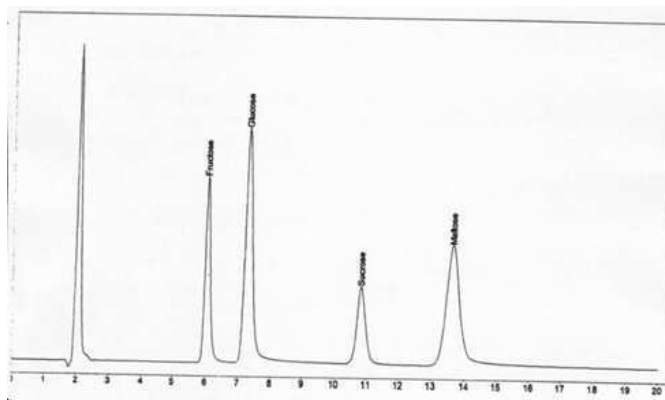
도면3



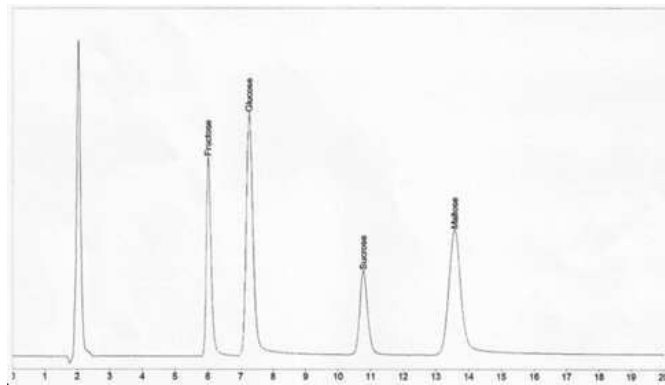
도면4



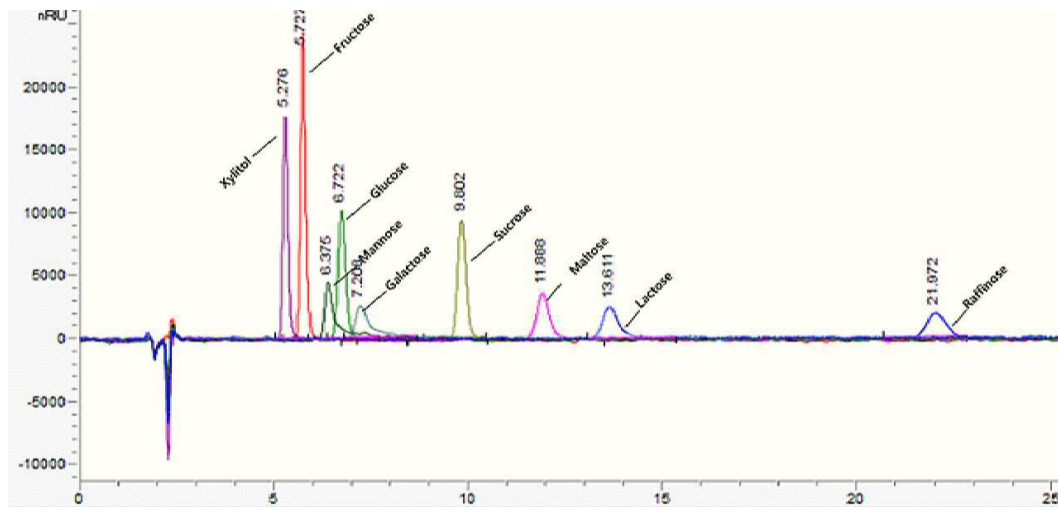
도면5



도면6



도면7



도면8

