



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0072180
(43) 공개일자 2020년06월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 30/60 (2006.01) B01D 15/22 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 30/60 (2013.01)
B01D 15/22 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0160077
(22) 출원일자 2018년12월12일
심사청구일자 2018년12월12일

(71) 출원인
인하대학교 산학협력단
인천광역시 미추홀구 인하로 100(용현동, 인하대 학교)
(72) 발명자
정원조
인천광역시 연수구 아트센터대로 203 (송도동, 송도 센트럴파크 푸르지오시티) A동 511호
문미리
충청남도 서산시 호수공원6로 19 (읍내동, 서산읍 내현대아파트) 108동 1303호
(74) 대리인
이원희

전체 청구항 수 : 총 9 항

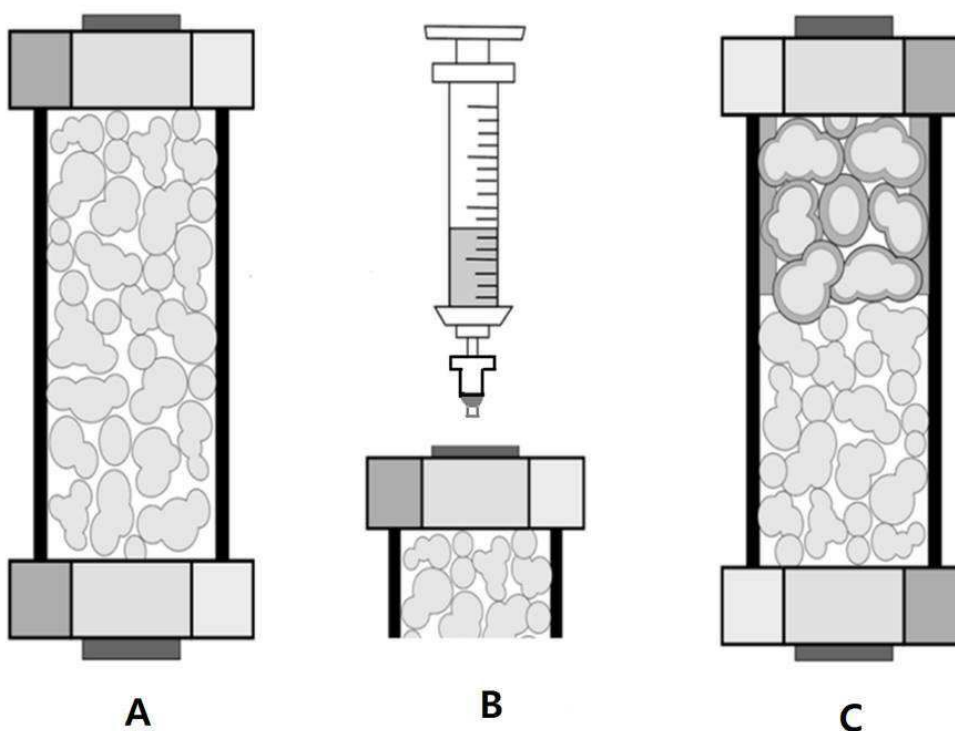
(54) 발명의 명칭 용접된 금속 프리트와 은시멘트 프리트를 지닌 일회성 크로마토그래피 컬럼 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 컬럼 출구에 용접된 금속 프리트를 장착하고, 정지상을 충전한 후에 컬럼입구에는 은경반응으로 은시멘트 프리트를 형성시키는 방법으로 제조하는 일회성 크로마토그래피 컬럼 및 그 제조방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로 상기 본 발명의 일회성 크로마토그래피 컬럼은, 우선 마이크로컬럼 출구에 미세용접기로 금속 스크린 프

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



릿을 용접하고, 컬럼입구를 슬러리 패커의 정지상 슬러리 저장조에 연결하여 충전한 다음, 정지상이 충전된 컬럼 상충부에 은경반응 용액을 주입하고 가열하여 은경반응으로 은시멘트가 형성되게 함으로써 제조할 수 있다.

본 발명에 따른 일회성 크로마토그래피 컬럼은, 컬럼 출구에 단단히 용접된 금속 스크린 프리트가 컬럼 충전시 슬러리 패커의 충격파에 요동치지 않음으로써 보다 좋은 컬럼 충전구조를 주어, 분리형 프리트를 사용한 경우보다 높은 컬럼 분리효율을 줄 뿐만 아니라, 입구에 형성되는 은 시멘트 프리트도 충분히 견고하여 일회성 컬럼으로 문제 없이 사용가능하고, 이러한 일회성 컬럼은 하루 정도 중요한 분석에 사용하고 연습용으로 사용하거나 폐기하면 되기 때문에, 컬럼을 관리해야 하는 부담으로부터 크로마토그래피 연구자들을 해방시켜 주는 장점이 있다.

명세서

청구범위

청구항 1

컬럼 출구는 금속 스크린 프릿이 용접되고, 컬럼 입구는 은시멘트 프릿이 형성된 충전 일회성 컬럼.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 컬럼은 외경이 1.6 ~ 3.2 mm이고, 내경이 0.1 ~ 1.0 mm 이며, 길이가 100 ~ 300 mm인 것을 특징으로 하는 충전 일회성 컬럼.

청구항 3

제1항에 있어서,

컬럼의 튜빙 재질은 스테인레스 스틸관 또는 유리로 내벽이 코팅된 스테인레스 스틸관인 것을 특징으로 하는 충전 일회성 컬럼.

청구항 4

금속관 바닥에 금속 스크린 프릿을 용접하는 제1단계; 상기 제1단계에서 생성된 용접 바닥 프릿을 지닌 금속관에 정지상을 충전하는 제2단계; 및 상기 제2단계에서 충전된 금속관 상층부에 은경반응 용액을 주입하고 가열하여 은경반응시켜 은 시멘트 프릿을 형성하는 제3단계;를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는, 충전 일회성 크로마토그래피 컬럼의 제조 방법.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 제1단계는 미세 아크 용접기를 사용하여 수행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 제3단계는 pH 7.0~7.5 인 10~100 mM 의 은이온 용액과, 40~500 mM 의 알데히드 용액을 따로 만들어 이 두 용액을 부피비 1:1 로 섞어 최종 은경반응 용액을 제조하여 사용하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 은경반응 용액은, 은 이온에 대한 알데히드의 몰비가 2~10 배 되도록 제조하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

제4항에 있어서,

상기 제3단계의 은경반응 용액은 컬럼 상부 10~40 % 까지 주입하고, 은경 반응의 반응 온도는 60~80 °C, 반응 시간은 1~6 시간 진행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

제4항에 있어서,

상기 제 3단계의 완결 후, 물/메탄올 혼합용매 (메탄올 부피비 함량 30~70%) 또는 물/아세토니트릴 혼합용매 (아세토니트릴 부피비 함량 30~70%)로 컬럼부피의 30배 이상이 흐르도록 세척하고 최종적으로는 순수 메탄올을 컬럼부피의 10 배 이상 흐르도록 세척하는 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 용접된 금속 프리트와 은시멘트 프리트를 지닌 일회성 크로마토그래피 컬럼 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 일반적으로 액체크로마토그래피의 컬럼에서 정지상의 유출을 방지하고 컬럼 내부에 보존하기 위하여 컬럼 입구와 출구에 장착하는 원관형 프리트로써 전체가 스테인레스 스틸로 되어있는 다공성 프리트, 또는 스테인레스 스틸 프리트가 단단한 고분자 링으로 둘러싸인 이중 구조의 프리트가 주로 사용되며, 특히 작은 틈새부피가 요구되는 마이크로 액체크로마토그래피에서는 얇은 스테인레스 스틸 스크린 프리트가 사용된다.

[0004] 액체 크로마토그래피 컬럼은 컬럼의 본체를 이루는 튜빙 (Tubing, 관)과 튜빙 양 끝의 엔드피팅 블록 (End-fitting Block), 그리고 본체 튜빙 내부에 채워진 정지상 충전재 (Filler as a Static Phase)등 크게 세 부분으로 구성되어 있다. 공지되어 있는 컬럼은 그 형태가 비록 다를지라도, 정지상을 컬럼 내부에 충전시키고 이동상만을 통과시키기 위하여, 컬럼 양 끝에 대개 다공성 원형 관 형태인 프리트(Frit)이 장착되도록 되어 있다.

[0005] 이러한 일반적인 크로마토그래피 컬럼들은 수개월 이상 상당히 오랜 기간 사용하도록 고안되어 있다. 사용 중 프리트가 막히는 등의 경우에 대비하여 그것을 교체할 수 있도록 분리형 프리트가 장착되어 있다. 그러나 컬럼을 수개월 이상 잘 관리하여 사용해야 한다는 것은 크로마토그래피 컬럼 사용자에게는 큰 부담이 되고 하나의 스트레스 요인이다. 문제성 있는 시료를 함부로 사용하게 되면 컬럼을 오염시키거나 컬럼 정지상의 손상을 가져올 수 있다. 컬럼이 오염되면 잘못된 분석결과를 얻을 수 있고, 심지어 어떤 경우에는 그것이 잘못된 분석결과라는 것을 인지하지 못할 수도 있다. 본인이 전처리를 하여 시료를 준비하더라도 그것이 문제성 있는 시료가 아니라는 것을 확신하지 못하는 경우도 많고, 타인이 시료를 의뢰할 때는 더욱 확신이 되지 않을 경우가 많은데, 그렇다고 그대로 분석을 하지 않을 수도 없다. 요컨대 항상 시료나 컬럼 운전상황에 따라 컬럼이 치명적인 오염이나 손상을 입을 가능성이 상존한다고 할 수 있다. 이런 경우 저렴한 일회성 컬럼을 사용할 수 있다면 매우 다행일 것이다. 여차피 하루 정도만 쓰고 폐기할 것이므로 부담없이 업무를 수행할 수 있다. 이러한 일회성 컬럼은 아직 상업화되어 있지 못하다.

[0007] 일회성 컬럼에는 두 가지 형태의 개념이 존재한다. 첫 째는 컬럼 본체는 계속해서 쓰고, 정지상만 하루 정도 쓰고 털어낸 다음, 새 정지상을 채워 다시 쓰는 것이다 (Cheong 등, J. Liq.Chrom. Rel. Technol. 2002, 25, 1367-1378; Cheong 등, Bull. Korean Chem. Soc. 2006, 27, 1059-1062; Seo 등, Bull. Korean Chem. Soc. 2007, 28, 999-1004). 이 경우, 새 정지상을 충전할 때 마다 컬럼 엔드피팅 유니온 내에 일회성 프리트를 새로 장착하는 것이 바람직하고 그 용도로 개발된 프리트에 대한 연구도 있다 (Kim 등, Bull. Korean Chem. Soc. 2008, 29, 1627-1629; Park 등, J. Sep. Sci. 2015, 38, 2938-2944; Park 등, Sep. Sci. 2016, 39, 1799-1803). 그러나 이와 같이 매일 새 정지상으로 직접 컬럼을 충전하여 사용하는 방법은 대부분의 실험실 종사자에게는 쉽게

감당할 수 있는 것이 아니다.

[0008] 더 나은 것은, 컬럼 양 끝에 프릿이 영구적으로 고정되어 있고, 이 컬럼 양 끝에 각각 유니온을 장착하여 시료 주입기와 검출기에 연결하여 하루 정도 사용하고, 유니온에서 제거한 후에 폐기하고 (또는 연습용 등 중요하지 않은 용도로 사용), 새 일회성 컬럼을 다시 유니온에 장착하여 사용하는 것이다. 이것이 사용자의 편의를 배려한 진정한 의미의 일회성 컬럼이라 하겠다. 이 용도로는 정지상이 고가이므로 컬럼의 내경이 작은 (최고 1 mm 이하) 마이크로 컬럼만 가능할 것이다.

[0009] 마이크로 컬럼 (0.5 mm 내경, 300 mm 길이)의 양 끝에 스테인레스 스틸 스크린 프릿을 용접한 일회성 컬럼이 보고된 바 있다 (Hong 등, J. Sep. Sci. 2016, 39, 235-460). 그런데 이 경우 사용한 정지상은 다공성 실리카 분말에 제한되었다. 일반적인 C18 리간드가 부착된 정지상을 사용할 경우, 입구 프릿을 용접할 때 정지상의 리간드가 파괴되기 때문이다.

[0011] 이에 본 연구자들은 충전된 C18 정지상이 손상되지 않게 입구 프릿이 마감된 일회성 컬럼의 제조에 대한 연구를 수행하던 중, 마이크로 컬럼의 바닥 출구에는 금속 스크린 프릿이 용접되고, 그 위에 정지상을 충전한 후, 컬럼 상층부에 은경반응 용액을 주입하고 가열하여 충전구조 틈새에 은을 석출시킴으로써, 컬럼 입구 부분에 은시멘트 프릿이 형성된 구조의 일회성 컬럼을 제조하였으며 이렇게 제조한 컬럼의 분리효율이 컬럼 양 쪽에 금속 스크린 프릿을 분리형으로 장착하여 만든 컬럼의 분리효율보다 우수함을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명의 목적은, 크로마토그래피 컬럼 사용자들이 수명이 길게 고안된 기존 크로마토그래피 컬럼의 유지관리라는 부담에서 자유롭게 하기 위하여, 컬럼 출구는 금속 스크린 프릿이 용접되고, 컬럼 입구는 은시멘트 프릿이 견고하게 형성된 충전 일회성 컬럼을 제공하는 데 있다.

[0014] 본 발명의 다른 목적은 금속 컬럼의 바닥 출구에 금속 스크린 프릿을 용접하고, 그 위에 크로마토그래피 정지상을 충전한 다음, 컬럼 상층부에 은경반응 용액을 주입하고 가열하여 은시멘트 프릿을 형성함으로써 완성되는 충전 일회성 컬럼의 제조방법을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0016] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 컬럼 바닥 출구는 용접된 금속 스크린 프릿, 컬럼 입구 부분은 영구적인 은시멘트 프릿으로 구성되며 크로마토그래피 정지상으로 충전된 일회성 크로마토그래피 컬럼을 제공한다.

[0018] 또한 본 발명은 금속관 바닥에 금속 스크린 프릿을 용접하는 제1단계; 상기 제1단계에서 생성된 용접 바닥 프릿을 지닌 금속관에 정지상을 충전하는 제2단계; 및 상기 제2단계에서 충전된 금속관 상층부에 은경반응 용액을 주입하고 가열하여 은경반응시켜 은시멘트 프릿을 형성하는 제3단계;를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는, 충전 일회성 크로마토그래피 컬럼의 제조 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0020] 본 발명에 의하여 컬럼 양 끝에 영구적인 프릿이 형성된 일회성 마이크로 컬럼을 제공할 수 있으며, 상기 일회성 크로마토그래피 컬럼은, 컬럼 출구에 단단히 용접된 금속 스크린 프릿이 컬럼 충전시 슬러리 패키지의 충격과에 요동치지 않음으로써 보다 좋은 컬럼 충전구조를 주어, 분리형 프릿을 사용한 경우보다 높은 컬럼 분리효율을 줄 뿐만 아니라, 입구에 형성되는 은시멘트 프릿도 충분히 견고하며 컬럼 효율에 악영향을 주지 않는 바, 컬럼을 관리해야 하는 부담으로부터 크로마토그래피 연구자들을 해방시켜 주는 장점이 있고, 컬럼 튜빙 재질과 정지상의 소모를 최소화하는 마이크로 컬럼의 제조 방법을 완성하였기 때문에, 적절한 가격 설정을 거쳐서 상업

화가 가능하다.

도면의 간단한 설명

- [0022] 도 1은 본 발명에 따른 일회성 컬럼의 제조법 개요도를 나타낸 것이다.
- A: 컬럼 출구 바닥에 금속 스크린 프린트가 용접된 위로 정지상이 충전되고 입구와 출구에 엔드펫팅 유니온이 장착된 모습,
- B: 컬럼 입구 부근에 은경반응 용액을 주입하는 과정의 모습,
- C: 은 시멘트 프린트가 완성된 컬럼의 모습.
- 도 2는 본 발명에 따른 일회성 컬럼의 제조과정 중 첫 단계인 금속 스크린 프린트의 용접을 완성한 모습을 용접기 부착 광학현미경으로 찍은 사진 (도 2A, 2B)과 별도 전자현미경으로 찍은 사진 (도 2C)을 나타낸 것이다.
- 도 3은 본 발명에 따른 일회성 컬럼의 제조과정 중 마지막 단계인 은경반응에 의한 은시멘트 프린트의 형성을 마친 컬럼 입구 전자현미경 사진을 나타낸 것이다. 도 3A에서 3D로 갈수록 배율을 높힌 사진이다.
- 도 4는 본 발명의 일회성 마이크로컬럼 (윗 크로마토그램)과 분리형 스크린 프린트가 장착된 같은 크기의 마이크로컬럼 (아래 크로마토그램)으로부터 얻은 크로마토그래피 분리분석 결과를 나타낸 것이다.
- 1: 페놀
- 2: 아세트페논
- 3: 4-메틸-2-니트로아닐린
- 4: 벤젠
- 5: 톨루엔

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0023] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0024] 본 발명의 제 1 견지에 의하면, 본 발명은 컬럼 바닥 출구에 금속 스크린 프린트가 용접되고, 그 위에 정지상이 충전되며, 충전된 컬럼 상층부에 은경반응으로 은시멘트 프린트가 형성된 구조로 된 것을 특징으로 하는 충전 일회성 크로마토그래피 컬럼을 제공한다.
- [0025] 본 발명에 따른 상기 충전 일회성 컬럼은 바닥에 금속 스크린 프린트가 용접된 상태에서 정지상이 충전되는 과정을 거쳐 제조되기 때문에 충전시 패키의 충격과에 의한 프린트의 요동이 억제되어 그 위 정지상의 충전구조가 안정적이고 효율적인 상태로 충전이 진행됨으로써 컬럼의 분리효율이 제고되는 장점이 있다. 또한 입구의 프린트 생성은 용접고열을 회피하고 은경반응으로 은시멘트를 형성하는 형태로 진행되므로 정지상이 파손되지 않고 잘 보존되는 이점도 있다.
- [0026] 또한, 본 발명에 따른 일회성 컬럼의 내경은 0.1 ~ 1.0 mm가 바람직하며 외경은 1.6 내지 3.2 mm가 바람직하다. 이는 일회성 컬럼의 제조단가를 최소화해야 하는 관점에서 컬럼의 물리적 크기도 줄이고 그 충전에 필요한 정지상의 양도 감축함으로써 그 목표를 이루기 위한 것이다.
- [0027] 또한, 본 발명에 있어서 컬럼의 재질로는 금속이 적당한데, 내부식성과 강도가 좋은 스테인레스 스틸이 바람직하고, 특히 내벽이 유리로 코팅된 스테인레스 스틸관이 가장 바람직하다.
- [0028] 또한, 본 발명의 컬럼에서, 정지상은 다공성 실리카 입자에 리간드를 유도체화 시킨 통상적인 정지상을 사용할 수 있다.
- [0030] 또한, 본 발명의 제 2 견지에 의하면 본 발명은,
- [0031] 금속관 바닥에 금속 스크린 프린트를 용접하는 제1단계;

- [0032] 상기 제1단계에서 생성된 용접 바닥 프릿을 지닌 금속관에 정지상을 충전하는 제2단계; 및
- [0033] 상기 제2단계에서 충전된 금속관 상층부에 은경반응 용액을 주입하고 가열하여 은경반응시켜 은 시멘트 프릿을 형성하는 제3단계;
- [0034] 를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는, 충전 일회성 크로마토그래피 컬럼의 제조 방법을 제공한다.
- [0036] 먼저, 상기 제1단계는 금속관 바닥 출구에 금속 스크린 프릿을 용접하는 단계로, 외경 1.6 mm의 관 바닥에 직영 1.6 mm 인 스크린 프릿을 용접하기 위해서는 보석의 미세가공용으로 쓰이는 미세용접기의 사용이 필요하다. 먼저 수직으로 세운 금속관 끝에 스크린을 정확하게 맞춰 올려놓고 가장자리 한 점에 미세 침전극을 접촉시켜 용접하고 그 점의 180도 반대 가장자리 한 점을 용접한 다음, 이 두 점의 가운데 가장자리 두 점을 또 용접한다. 이런 식으로 90도 간격으로 4점을 먼저 용접하여 자리 잡은 다음, 이 4 점의 사이사이를 돌아가며 용접하여 완성한다.
- [0038] 다음으로, 제2단계는 상기 제1단계에서 생성된 용접 바닥 프릿을 지닌 금속관에 정지상을 충전하는 단계로, 통상적인 정지상과 컬럼 충전 프로토콜을 사용하여 충전할 수 있으며, 일상적인 크로마토그래피 충전 방법을 사용할 수 있다. 한 예로 90 mg의 C18 정지상을 1.35 mL의 메탄올에 분산하고 10분 간 vortex하고 슬러리 팩커의 슬러리 저장조에 넣고 저장조에 컬럼 입구를 연결한 다음, 고무 패드 달린 2 개의 진동기로 컬럼과 슬러리 저장조 부위를 계속 진동시키면서, 충전압력으로 18,000 psi를 가하여 5분간 지속하고, 압력을 15,000로 변환하여 10분간 더 지속하여 충전을 완성한다. 충전에 사용하는 정지상은 일반적인 크로마토그래피 정지상은 다 사용할 수 있으나, 충분한 부피의 미세구조 틸새부피를 제공하여 다음 단계의 은시멘트 프릿 생성과정에서 더 견고한 구조의 프릿을 만들어준다는 점에서, 분쇄된 실리카 모노리트 분말에 리간드를 부착시켜 만든 정지상을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0040] 다음으로, 제3단계는 상기 제2단계에서 충전을 마친 컬럼의 상층부에 은경반응 용액을 주입하고 가열하여 입구 은 시멘트 프릿을 완성하는 단계이다. 다음과 같은 반응식 1에 따라 진행된다.
- [0041] [반응식 1]
- [0042] $2[Ag(NH_3)_2]^+ + RCHO + H_2O \rightarrow 2Ag(s) + 4NH_3 + RCO_2H + 2H^+$
- [0044] 상기 반응식 1에서,
- [0045] R의 치환기 정의는 상기 반응식 1에서 중요한 요소가 아닌 바, 특별히 한정되는 것은 아니며, 분자량 500 이하를 가지는 화학구조라면 구조적으로는 한정되지 않고, 어떤 치환기도 도입될 수 있다.
- [0046] 예를들어, 비치환 또는 치환된 알킬, 알콕시, 알케닐, 알카이닐, 고리형 알킬, 방향족 탄화수소, 당 구조 등이 사용될 수 있으나, 이는, 일례일 뿐, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0048] 은경반응 용액은 은 용액과 알데히드 용액을 따로따로 만들어 섞는 것이 좋다. 은용액은 질산은 ($AgNO_3$)을 10~100 mM 정도로 하여 0.5~2.0 M 암모니아 용액에 녹여서 만들고 초산을 방울방울 가하여 pH를 7.0~7.5 정도로 맞춘다. 알데히드 용액은 40~500 mM 정도의 농도로 만들어 두 용액을 1:1 비율로 섞어서 최종 은경반응 용액을 만든다. 최종 은경반응 용액에서의 은 이온에 대한 알데히드의 몰비는 2~10 정도인 것이 좋다. 알데히드는 분자량 500 이하면 어떤 알데히드를 써도 좋으나, 반응을 적절하게 통제하려면 과당 (D-fructose)을 쓰는 것이 가장 바람직하다. 은경반응의 온도는 60~90 °C, 반응시간은 1~6 시간이 적절하다. 은경반응 용액은 컬럼의 상부 10%~40% 정도에까지 채워준다.
- [0050] 컬럼 입구에 은시멘트 프릿이 형성된 일회성 컬럼은, 잔류 반응물질을 제거하기 위하여 펌프에 연결하여 통상적

인 크로마토그래피 이동상, 예를 들어 물/메탄올 혼합용매 (메탄올 부피비 함량 30~70%) 또는 물/아세트니트릴 혼합용매 (아세트니트릴 부피비 함량 30~70%)로 컬럼부피의 30배 이상이 흐르도록 세척해준다. 최종적으로는 순수 메탄올로 컬럼부피의 10 배 이상 흐르도록 세척해준다.

[0052] 출구 바닥의 용접 스크린 프린트 위로 정지상을 충전한 컬럼에 은경반응 용액을 주입하여 은시멘트 프린트를 형성하는 과정을 도 1에 도시하였다. 도 1에서 입구 및 출구 컬럼 엔드 핏팅 유니온은 일회성 컬럼 완성 후에는 제거한다.

[0054] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 더욱 상세히 설명한다.

[0055] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0057] <실시예 1> 컬럼 출구에 용접된 금속 스크린 프린트, 컬럼 입구에 은시멘트 프린트가 형성된 충전 일회성 마이크로 컬럼의 제조

[0059] 단계 1: 금속관 바닥에 금속 스크린 프린트 용접

[0060] 하기와 같은 과정을 수행하여, 금속관 바닥에 금속 스크린 프린트를 용접하였다.

[0061] 구체적으로, 길이 300 mm, 내경 0.5 mm, 외경 1.6 mm인 내벽이 유리코팅된 스테인레스 스틸관을 수직으로 똑바로 세우고, 금속관 끝에 직경 1.6 mm 인 스테인레스 스틸 스크린 (동공 크기 1 마이론)을 정확하게 맞춰 올려놓고 가장자리 한 점에 미세 침전극을 접촉시켜 용접하고 그 점의 180도 반대 가장자리 한 점을 용접한 다음, 이 두 점의 가운데 가장자리 두 점을 또 용접하는 식으로 90도 간격으로 4점을 먼저 용접하여 자리 잡은 다음, 이 4 점의 사이사이를 돌아가며 용접하여 완성하였다. 미세용접기로는 Orion 사 (Payson, UT, USA)의 150i 펄스 아크 용접기를 사용하였고, 거기에 0.1 mm 바늘 전극을 장착하여 용접하였으며, 용접 전력은 6.9 와트를 사용하여 50 ms 동안 접촉용접 하였다. 용접이 완료된 후 용접기 부착 광학현미경으로 찍은 사진 (도 2A, 2B)과 별도로 찍은 전자현미경 사진(도 2C)을 도 2에 실었다.

[0063] 단계 2: 용접 바닥 프린트를 지닌 금속관에 정지상 충전

[0064] 상기 단계 1에서 얻은 용접 바닥 프린트를 지닌 금속관에 하기와 같은 과정을 수행하여 금속관에 정지상을 충전하였다.

[0065] 구체적으로, 컬럼 출구와 입구에 각각 유니온을 장착하고 입구 유니온에 연결관을 삽입하여 슬러리 팩커에 연결하고 정지상을 충전하였다. C18 리간드가 부착된 실리카 모노리트 분말 (평균 입자크기 4 마이크론, 카본로드 7.9%)을 정지상으로 사용하였다. 건조된 정지상 90 mg을 1.35 mL의 메탄올에 분산시키고 10분간 강렬하게 vortex 하였다. 이 분산액을 슬러리 팩커의 저장조에 옮기고, 슬러리 저장조에 상기 컬럼 입구 연결관을 결합하여 충전하였다. 초기 충전 압력은 18,000 psi로 5분간 지속하였고, 15,000 psi로 변경하여 10분간 지속하였다. 충전하는 동안 고무 패드가 달린 2 개의 진동기로 컬럼 및 팩커의 슬러리 저장조를 강렬하게 진동하였다. 충전 후 슬러리 팩커의 전원을 끄고 적어도 30 분 이상 방치하여 압력이 완전히 대기압으로 떨어지도록 하고 컬럼을 팩커로부터 분리하였다.

[0067] 단계 3: 금속관 상층부에 은 시멘트 프린트를 형성

[0068] 상기 단계 2에서 제조한 정지상이 충전된 금속관 상층부에 은경반응 용액을 주입하고 가열하여 은 시멘트 프린트를 형성하였다.

[0069] 구체적으로, 컬럼 입구 유니온에 맞게 핏팅 처리된 주사기 바늘이 장착된 주사기에 은경반응 용액을 채우고 컬럼에 연결한 다음 은경반응 용액을 주입하였다. 은경반응 용액을 만들기 위하여 40 mM 은이온 용액과 188 mM 과당 용액을 각각 만들어, 이 두 용액을 부피비 1:1로 섞어 최종 은경반응 용액을 만들었다. 은이온 용액은 170

mg의 질산은 (AgNO_3)을 8.5 mL의 물에 녹이고, 여기에 1.5 mL의 5 M NH_4OH 용액을 가하고, 다시 순수 초산을 방울방울 가하여 pH를 7.0-7.5로 조절한 다음, 이 용액 4.0 mL와 6.0 mL의 아세토니트릴을 섞어 만들었다. 과당 용액은 과당 360 mg을 물 5.0 mL와 아세토니트릴 5.0 mL를 섞은 용액에 녹여 만들었다.

[0070] 은경반응 용액은 컬럼 상층부 1/3 까지 채우도록 주입하였다. 컬럼 입구 유니온에 프러그를 장착해 봉한 다음, 컬럼을 80 °C 오븐에 넣고 3 시간 가열하였다. 컬럼 입구 유니온을 제거하고 관찰한 은 시멘트 프릿의 모습을 찍은 전자현미경 사진들을 도3 에 실었다. 도3의 확대된 프릿 사진에서 C18 실리카 모노리트 분말이 충전된 구조의 틈새부피 일부를 생성된 은의 3차원 연결구조가 채워주고 있는 모습을 잘 관찰할 수 있다.

[0072] <실험예 1> 본 발명의 일회성 마이크로컬럼과 분리형 스크린 프릿이 장착된 같은 크기의 마이크로컬럼의 크로마토그래피 분리효율 비교.

[0073] 본 발명의 일회성 마이크로 컬럼의 효용성을 확인하기 위하여, 영구적인 프릿이 아니라 분리형 스크린 프릿이 입구와 출구에 모두 장착된 똑같은 물리적 크기의 마이크로 컬럼(길이 30 cm, 내경 0.5 mm) 제작하였다. 물론 정지상은 같은 것을 사용하였다.

[0075] 두 종류 모두 각각 3 개의 컬럼을 제작하였고 각 컬럼마다 크로마토그램을 구하여 이론단수의 평균을 구하여 두 종류 컬럼의 성능을 비교하였다. 제작된 마이크로컬럼은 분석용질로 페놀, 아세토페논, 4-메틸-2-니트로아닐린, 벤젠, 톨루엔으로 구성된 시험시료에 이동 용매로 아세토니트릴(acetonitrile)과 물이 50/50 (v/v %)로 혼합된 용매에 트리플루오로아세트산 (trifluoroacetic acid, TFA)을 0.1 % 가한 이동상을 분당 8 마이크로리터의 유속으로 이동시켜 분리 효율을 측정하였다. 분리효율의 척도로서 이론단수를 계산하였다. 이론단수가 높을수록 분리효율도 높다. 두 종류의 컬럼에 대하여 얻어진 결과를 표 1에 요약하였다. 각 컬럼에서 얻어진 크로마토그램을 도 4에 비교하여 수록하였다.

표 1

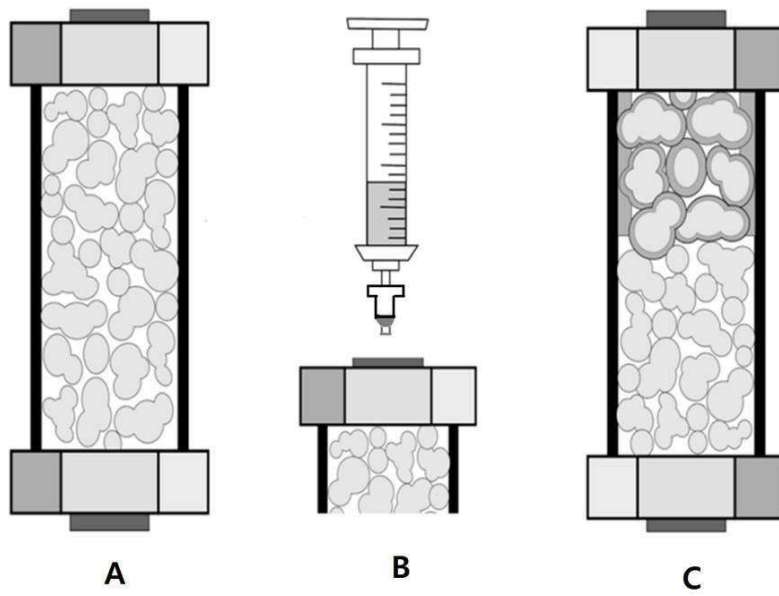
분석 성분	일회성 컬럼	분리형 스크린 프릿이 장착된 컬럼
페놀	26200 ± 900	20300 ± 700
아세토페논	26400 ± 1000	22000 ± 400
4-메틸-2-니트로아닐린	25800 ± 1000	21700 ± 1000
벤젠	25600 ± 400	21400 ± 1000
톨루엔	25800 ± 800	21900 ± 1800
평균	26000	21500

[0079] 상기 표 1은 본 발명의 일회성 마이크로 컬럼과 분리형 스크린 프릿이 장착된 같은 크기의 마이크로 컬럼의 크로마토그래피 분리효율 비교하여 나타낸 것이다.

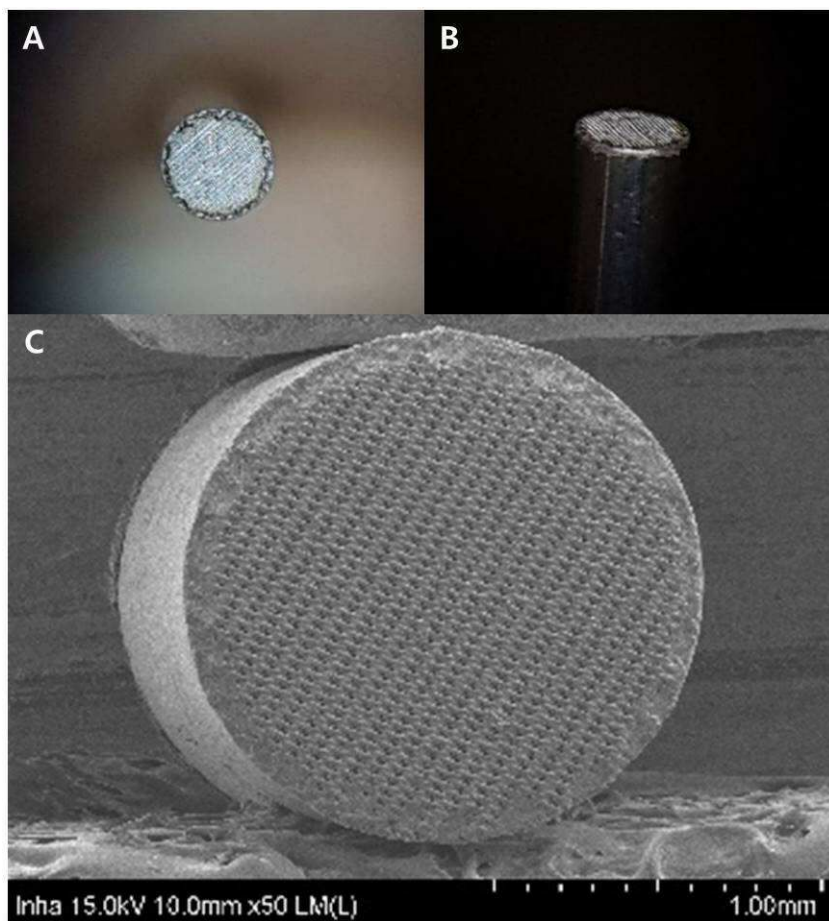
[0081] 상기 표 1과 도 4에서 나타난 바와 같이, 본 발명에 의한 일회성 마이크로 컬럼이 분리형 스크린 프릿을 장착한 마이크로 컬럼에 비하여 분리효율이 현저하게 우수한 것을 알 수 있다.

도면

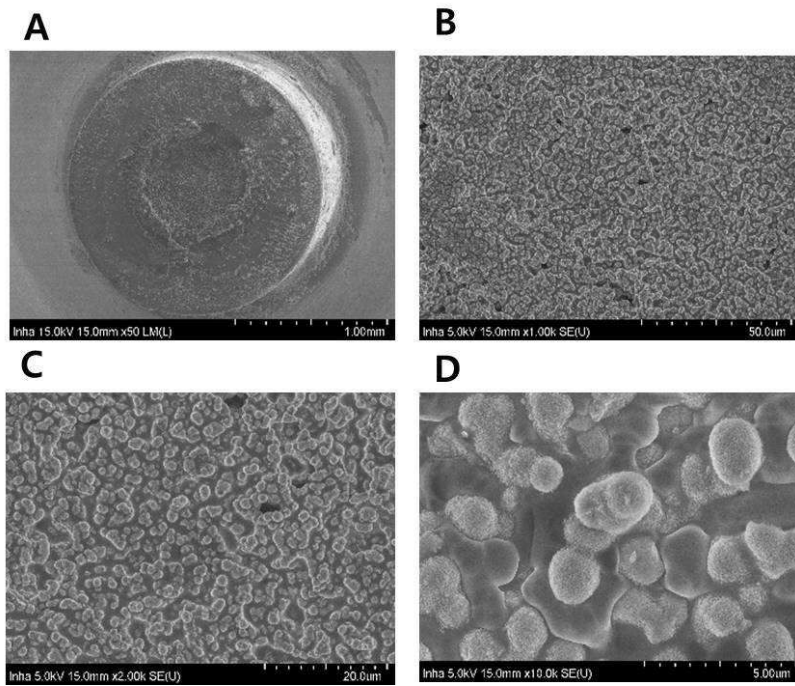
도면1



도면2



도면3



도면4

