(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0112414
(43) 공개일자 2015년10월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 30/02 (2006.01) *G01N 30/16* (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0036548
(22) 출원일자 2014년03월28일
심사청구일자 2014년03월28일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
이상원
서울특별시 성북구 인촌로17가길 64 106동 503호(안암동1가, 래미안안암아파트)
이한겨레
서울특별시 성북구 인촌로7나길 41 (안암동1가)
(74) 대리인
특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 16 항

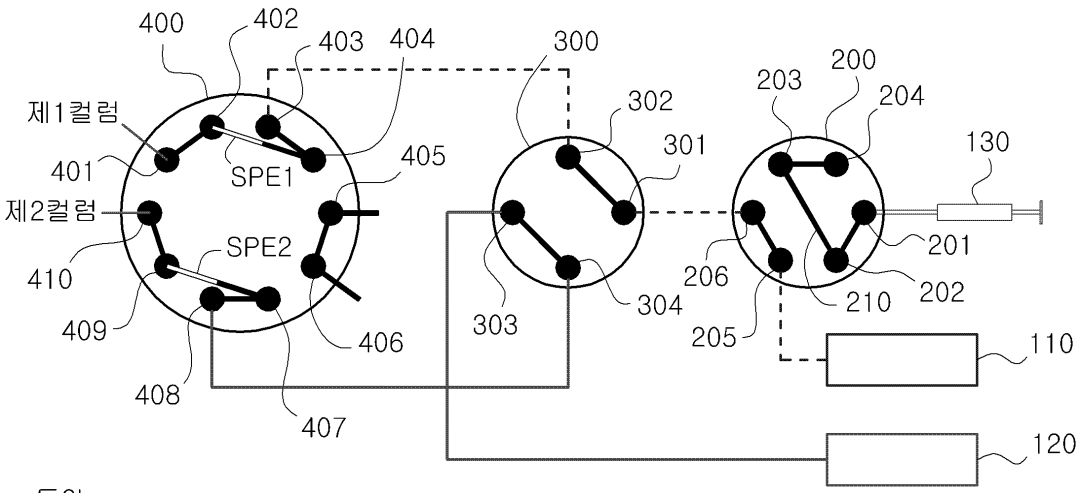
(54) 발명의 명칭 **이중 온라인 액체크로마토그래피 장치 및 그 제어 방법**

(57) 요 약

본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치는 제 1 용매 또는 상기 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액을 주입하는 제 1 펌프; 상기 제 1 용매 또는 상기 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액을 주입하는 제 2 펌프; 상기 제 1 펌프 및 시료를 주입하기 위한 시료 주입기 각각에 연결된 시료유입밸브; 상기 제 2 펌프와 상기 시료유입밸브에 각각 연결된 컬럼선택밸브; 및 상기 컬럼선택밸브에 일측이 연결되고, 제 1 컬럼과 제 2 컬럼 각각이 타측에 연결되며, 다수의 포트를 구비한 이중컬럼밸브;를 포함한다.

본 발명의 실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치는 종래에 컬럼의 평형화를 이루는 과정 중에 분석 데이터를 얻을 수 없는 휴지 시간(dead time)의 영향이 없이 분석을 연속 수행할 수 있게 하는 효과가 있다.

대 표 도 - 도2a



이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2012036675
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 원천기술개발사업
연구과제명 유전질환 특이적 생분자 시그너처의 효율적 발굴을 위한 단백체-to-유전체 매핑 원천기술 개발 및 적용
기 여 율 50/100
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2013.06.03 ~ 2014.05.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2013K000443
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 신기술융합형 성장동력사업
연구과제명 질량분석 기반의 질병 특이적 단백질 분자 정량화 및 검증기술
기 여 율 5/100
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2013.07.01 ~ 2014.06.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2010-0020209
부처명 교육부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 대학 중점연구소 지원사업
연구과제명 π-전자 제어를 통한 신기능성 분자체연구
기 여 율 5/100
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2013.05.01 ~ 2014.04.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2013M3C7A1072999
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 뇌과학원천기술개발사업
연구과제명 뇌영상근거 알츠하이머성 치매 환자에 대한 바이오 마커 발굴 및 조기진단 플랫폼을 통한 예측기술 개발
기 여 율 30/100
주관기관 서울대학교 산학협력단
연구기간 2013.11.20 ~ 2014.06.19이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 HI11V-0005-020013
부처명 보건복지부
연구관리전문기관 한국보건산업 진흥원
연구사업명 차세대 맞춤의료 유전체 사업
연구과제명 당뇨병환자의 관상동맥협착증과 관련된 후보단백질 바이오마커의 발굴
기 여 율 10/100
주관기관 분당 서울대병원
연구기간 2013.04.01 ~ 2014.03.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

제 1 용매 또는 상기 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액을 주입하는 제 1 펌프;

상기 제 1 용매 또는 상기 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액을 주입하는 제 2 펌프;

상기 제 1 펌프 및 시료를 주입하기 위한 시료 주입기 각각에 연결된 시료유입밸브;

상기 제 2 펌프와 상기 시료유입밸브에 각각 연결된 컬럼선택밸브; 및

상기 컬럼선택밸브에 일측이 연결되고, 제 1 컬럼과 제 2 컬럼 각각이 타측에 연결되며, 다수의 포트를 구비한 이중컬럼밸브;

를 포함하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 시료유입밸브는

상기 시료 주입기로부터 상기 시료가 유입되는 시료유입포트;

시료 루프의 양단에 구비된 제 1 시료루프 연결포트와 제 2 시료루프 연결포트;

여분의 상기 시료를 배출하는 시료배출포트;

상기 제 1 펌프에 연결되어 상기 제 1 용매 또는 상기 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액이 유입되는 용매유입포트; 및

상기 컬럼선택밸브에 연결된 용매배출포트;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 컬럼선택밸브는

상기 시료유입밸브에 연결된 제 1 유입포트;

상기 이중컬럼밸브의 일측에 연결된 제 1 유출포트;

상기 제 2 펌프에 연결된 제 2 유입포트; 및

상기 이중컬럼밸브의 타측에 연결된 제 2 유출포트;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 이중컬럼밸브는

상기 제 1 컬럼에 연결된 제 1 컬럼 포트;

제 1 고체상추출컬럼(SPE1)의 양단을 구성하는 제 1 고체상추출컬럼 선택포트와 제 1 고체상추출컬럼 경로포트;

상기 컬럼선택밸브의 일측에 연결되고, 상기 제 1 고체상추출컬럼 선택포트 또는 상기 제 1 고체상추출컬럼 경로포트에 선택적으로 연결되는 제 1 고체상추출컬럼 유입포트;

상기 제 1 고체상추출컬럼 경로포트에 인접한 제 1 배출포트;

상기 제 1 배출포트에 인접한 제 2 배출포트;

제 2 고체상추출컬럼(SPE2)의 양단을 구성하는 제 2 고체상추출컬럼 선택포트와 제 2 고체상추출컬럼 경로포트;

상기 컬럼선택밸브의 타측에 연결되고, 상기 제 2 고체상추출컬럼 선택포트와 상기 제 2 고체상추출컬럼 경로포트에 선택적으로 연결되는 제 2 고체상추출컬럼 유입포트; 및

상기 제 2 컬럼에 연결된 제 2 컬럼 포트;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

상기 이중컬럼밸브는

상기 제 1 컬럼 또는 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 제 1 유체연통; 및

상기 제 2 컬럼 또는 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 제 2 유체연통; 을 형성하고,

상기 제 1 유체연통을 이용한 상기 시료의 분리 분석과정과 상기 제 2 유체연통에 대한 세척과 평형화 과정이 동시에 이루어지는 모드, 및 상기 제 2 유체연통을 이용한 상기 시료의 분리 분석과정과 상기 제 1 유체연통에 대한 세척과 평형화 과정이 동시에 이루어지는 모드를 선택적으로 구비하는 것을 특징으로 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치.

청구항 6

(A) 제 1 컬럼 또는 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 평형화 과정, 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 평형화 과정 및 시료루프에 시료를 주입 저장하는 과정을 포함한 초기 모드를 수행하는 단계;

(B) 상기 시료루프의 시료를 제 1 용매와 함께 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)으로 주입하는 과정을 포함한 제 1 모드를 수행하는 단계;

(C) 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 주입된 시료를 분리 용출하는 과정, 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 세척과 평형화 과정 및 상기 시료루프에 다른 시료를 주입 저장하는 과정을 포함한 제 2 모드를 수행하는 단계;

(D) 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 평형화 과정, 및 상기 시료루프의 다른 시료를 상기 제 1 용매와 함께 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)으로 주입하는 과정을 포함한 제 3 모드를 수행하는 단계; 및

(E) 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 세척과 평형화 과정 및 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 주입된 다른 시료를 분리 용출하는 과정을 포함한 제 4 모드를 수행하는 단계;

를 포함하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서,

상기 (E) 단계는

상기 시료루프에 또 다른 시료를 저장하는 과정을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법.

청구항 8

제 6 항에 있어서,

상기 시료의 분리 분석의 횟수 또는 상기 시료의 개수에 따라 상기 (A) 단계 내지 상기 (E) 단계를 반복 수행하는 것을 특징으로 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법.

청구항 9

제 6 항에 있어서,

상기 (A) 단계는

제 1 펌프로부터 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 유체연통으로 상기 제 1 용매를 주입하여 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 평형화를 수행하고, 제 2 펌프로부터 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 유체연통으로 상기 제 1 용매를 주입하여 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 평형화를 수행하는 것을 특징으로 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법.

청구항 10

제 6 항에 있어서,

상기 (A) 단계는

(A-1) 제 1 펌프로부터 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 유체연통으로 상기 제 1 용매와 제 2 용매의 혼합용액을 주입하여 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 세척 과정, 및 제 2 펌프로부터 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 유체연통으로 상기 제 1 용매와 제 2 용매의 혼합용액을 주입하여 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 세척 과정을 수행하는 단계; 및

(A-2) 상기 제 1 펌프로부터 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 유체연통으로 상기 제 1 용매를 주입하여 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 평형화를 수행하고, 상기 제 2 펌프로부터 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 유체연통으로 상기 제 1 용매를 주입하여 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 평형화를 수행하는 단계;

를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법.

청구항 11

제 6 항에 있어서,

상기 (B) 단계는 상기 제 1 용매를 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)으로 더 주입하고 염들이 상기 제 1 용매에 녹아 제 1 배출포트로 빠져나가게 하여, 상기 시료를 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에서 농축하는 탈염 농축 과정을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법.

청구항 12

제 6 항에 있어서,

상기 (C) 단계에서 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 주입된 시료를 분리 용출하는 과정은 제 2 펌프에 의해

상기 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액을 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)을 거쳐 상기 제 1 컬럼으로 흘려주면서 수행되고,

상기 제 1 용매와 제 2 용매의 비율은 시간 경과에 따라 변화되는 것을 특징으로 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법.

청구항 13

제 6 항에 있어서,

상기 (C) 단계에서 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 세척과 평형화 과정은

제 1 펌프에 의해 상기 제 1 용매와 제 2 용매의 혼합용액을 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)을 거쳐 상기 제 2 컬럼으로 흘려주고, 상기 제 2 용매의 함량을 증가시키면서 흘려주는 세척과정; 및

상기 제 1 펌프에 의해 상기 제 1 용매를 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)을 거쳐 상기 제 2 컬럼으로 연속 흘려주는 평형화 과정;

을 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법.

청구항 14

제 6 항에 있어서,

상기 (D) 단계에서 상기 시료루프의 다른 시료를 상기 제 1 용매와 함께 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)으로 주입하는 과정은 상기 제 1 용매를 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)으로 더 주입하고 염들이 상기 제 1 용매에 녹아 제 2 배출포트로 빠져나가게 하여 상기 시료를 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에서 농축하는 탈염 농축과정을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법.

청구항 15

제 6 항에 있어서,

상기 (E) 단계에서 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 주입된 다른 시료를 분리 용출하는 과정은 제 2 펌프에 의해 상기 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액을 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)을 거쳐 상기 제 2 컬럼으로 흘려주면서 수행되고,

상기 제 1 용매와 제 2 용매의 비율은 시간 경과에 따라 변화되는 것을 특징으로 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법.

청구항 16

제 6 항에 있어서,

상기 (E) 단계에서 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 세척과 평형화 과정은

제 1 펌프에 의해 상기 제 1 용매와 제 2 용매의 혼합용액을 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)을 거쳐 상기 제 1 컬럼으로 흘려주고, 상기 제 2 용매의 함량을 증가시키면서 흘려주는 세척과정; 및

상기 제 1 펌프에 의해 상기 제 1 용매를 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)을 거쳐 상기 제 1 컬럼으로 연속 흘려주는 평형화 과정;

을 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치 및 그 제어 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 인간 게놈 프로젝트가 완성되면서 시작된 -오믹스(-omics) 분야는 핵산, 단백질, 탄수화물, 지방 등의 정성/정량 정보를 총체적으로 다루고 있으며 분석화학 분야에서 가장 활발하게 연구가 진행되고 있는 분야이다. 이중 단백질을 분석하는 프로테오믹스와 대사물질을 다루는 메타볼로믹스가 대표적인 분야이다. 이들 분야에서 펩타이드 또는 저분자 물질들을 분석하기 위해서는 여러 가지 방법을 이용할 수 있다. 핵자기 공명법, 적외선 분광법, 라만 분광법 등과 같은 분광학적 분석법을 이용할 수 있고, 물질을 여러 가지 방법으로 이온화시켜 질량을 측정하는 질량분석법을 이용할 수 있다.

[0003] 그 중 질량분석법에 관하여, 1970년도 후반까지도 단백질과 같은 생체 고분자들의 질량을 얻기 위해서는 전기영동, 크로마토그래피, 또는 초원심 분리와 같은 분석 기술을 이용해야 했다. 그러나 이들 방법들은 유체 흐름 속에서 생체 고분자들의 형상, 친수기, 소수기, 풀림 정도 등에 따라 많은 분석 오차가 발생하기 때문에 분석 결과의 정확성이 매우 떨어진다.

[0004] 이에 따라 1990년도 초반에 이러한 어려움을 극복하는 두 가지 새로운 이온화 기술(ESI 및 MALDI)이 등장하여 단백질의 질량, 구조적 분석이 가능하게 되었고, 이를 연구하는 프로테옴 분야에서 질량분석의 역할이 크게 대두 되었다.

[0005] 특히, 온라인 고체상 추출 및 역상 액체 크로마토그래피(on-line solid phase extraction/capillary reverse-phase liquid chromatography)는 그 분석 효율성이 매우 우수하여 프로테옴 연구에 있어서 매우 중요한 기술로 인식되고 있다. 이러한 온라인 고체상 추출 및 역상 액체 크로마토그래피는 미세량의 생체 물질을 효과적으로 분리할 수 있고, 분석물-고체상 반응 범위가 넓어서 높은 효율로 미세량의 단백질들을 동정하는 것을 가능하게 한다.

[0006] 단백질을 분석하기 위한 방법으로서 질량 분석법에 기초한 방법(mass spectrometry-base methods)은 프로테옴 연구의 표준 분석 플랫폼이 되고 있다. 대표적인 예로서 샷건 방법 또는 바텀-업 방법 등은 질량 분석기를 사용한 분석 이전에 단백질을 가수분해하여 펩티드로 분해하는데, 이러한 가수분해는 생체 시료들의 용해도를 증가시키며 질량 분석기 중에서 용이하게 이온화 및 검출할 수 있는 펩티드 절편들을 생성한다.

[0007] 그러나 이러한 공정은 불가피하게 시료의 복잡성을 야기하게 되는바, 예를 들어 가장 단순한 프로테옴 중의 하나인 효모 프로테옴의 경우에도 약 6,000 여개의 다양한 단백질로부터 300,000개 이상의 펩티드 절편들이 생성된다.

[0008] 따라서, 이러한 시료 복잡성을 해결하기 위한 방편으로서, 비특허문헌 1에 기재된 바와 같이 온-/오프-라인 다차원 단백질 동정 기술(on-/off-line multidimensional protein identification technology)과 같은 다양한 방법들이 개발되었으나, 액체 크로마토그래피 컬럼의 효율성 및 감도를 개선하여야 하는 필요성은 여전히 존재한다.

[0009] 이때, 액체 크로마토그래피/질량 분석법 실험의 감도는 비특허문헌 2에 기재된 바와 같이 분리 컬럼의 길이를 일정하게 유지한 채로, 내경을 감소시키는 경우에 급격히 증가될 수 있다는 사실이 알려진바 있다.

[0010] 그러나 종래의 이중 온라인 역상 액체크로마토그래피 장치에서 긴 길이 및 작은 내부 직경을 갖는 모세관 컬럼을 소수성 매질로 채우는 경우에는 컬럼 평형화 또는 재생을 위해서 장시간이 소요된다는 문제점이 있었다. 예를 들어, 1m 길이 및 75㎛의 내경을 갖는 컬럼을 재사용하기 위해서는 평형화에 적어도 2시간 이상이 소요된다.

[0011] 이에 따라, 종래의 이중 온라인 역상 액체크로마토그래피 장치에서 컬럼 세척과 평형화 또는 재생 과정이 이루어지는 동안에 다른 분석과정이 실시될 수 없는 휴지 시간(dead time)에 의해 비용과 시간의 측면에서 상당한 손실이 발생하는 문제점이 있다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0012] (비특허문헌 0001) 비특허문헌 1: Link, A. J., Eng, J., Schieltz, D. M., Carmack, E., et al., Nat. Biotechnol. 1999, 17, 676-682; Chen, E. I., Hewel, J., Felding-Habermann, B., Yates, J. R. III, Mol. Cell. Proteomics 2006, 5, 53-56.

(비특허문헌 0002) 비특허문헌 2: Kim, M. -S., Choie, W. -S., Shin, Y. S., Yu, M. H., Lee, S. -W., Bull. Korean Chem. Soc. 2004, 25, 1833-1839.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명은 상기 문제점을 해소하기 위하여 안출된 것으로, 본 발명의 목적은 일측 컬럼에 대해 분석 실험을 수행함과 동시에 타측 컬럼에 대한 세척과 평형화가 이루어지게 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치를 제공하는 데 있다.

[0014] 본 발명의 다른 목적은 일측 컬럼에 대해 분석 실험을 수행함과 동시에 타측 컬럼에 대한 세척과 평형화가 이루어지게 하는 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0015] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치는 제 1 용매 또는 상기 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액을 주입하는 제 1 펌프; 상기 제 1 용매 또는 상기 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액을 주입하는 제 2 펌프; 상기 제 1 펌프 및 시료를 주입하기 위한 시료 주입기 각각에 연결된 시료유입밸브; 상기 제 2 펌프와 상기 시료유입밸브에 각각 연결된 컬럼선택밸브; 및 상기 컬럼선택밸브에 일측이 연결되고, 제 1 컬럼과 제 2 컬럼 각각이 타측에 연결되며, 다수의 포트를 구비한 이중컬럼밸브;를 포함한다.

[0016] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치에서 상기 시료유입밸브는 상기 시료 주입기로부터 상기 시료가 유입되는 시료유입포트; 시료 루프의 양단에 구비된 제 1 시료루프 연결포트와 제 2 시료루프 연결포트; 여분의 상기 시료를 배출하는 시료배출포트; 상기 제 1 펌프에 연결되어 상기 제 1 용매 또는 상기 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액이 유입되는 용매유입포트; 및 상기 컬럼선택밸브에 연결된 용매배출포트;를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0017] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치에서 상기 컬럼선택밸브는 상기 시료유입밸브에 연결된 제 1 유입포트; 상기 이중컬럼밸브의 일측에 연결된 제 1 유출포트; 상기 제 2 펌프에 연결된 제 2 유입포트; 및 상기 이중컬럼밸브의 타측에 연결된 제 2 유출포트;를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0018] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치에서 상기 이중컬럼밸브는 상기 제 1 컬럼에 연결된 제 1 컬럼 포트; 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)의 양단을 구성하는 제 1 고체상추출컬럼 선택포트와 제 1 고체상추출컬럼 경로포트; 상기 컬럼선택밸브의 일측에 연결되고, 상기 제 1 고체상추출컬럼 선택포트 또는 상기 제 1 고체상추출컬럼 경로포트에 선택적으로 연결되는 제 1 고체상추출컬럼 유입포트; 상기 제 1 고체상추출컬럼 경로포트에 인접한 제 1 배출포트; 상기 제 1 배출포트에 인접한 제 2 배출포트; 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)의 양단을 구성하는 제 2 고체상추출컬럼 선택포트와 제 2 고체상추출컬럼 경로포트; 상기 컬럼선택밸브의 타측에 연결되고, 상기 제 2 고체상추출컬럼 선택포트와 상기 제 2 고체상추출컬럼 경로포트에 선택적으로 연결되는 제 2 고체상추출컬럼 유입포트; 및 상기 제 2 컬럼에 연결된 제 2 컬럼 포트;를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0019] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치에서 상기 이중컬럼밸브는 상기 제 1 컬럼 또는 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 제 1 유체연통; 및 상기 제 2 컬럼 또는 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 제 2 유체연통;을 형성하고, 상기 제 1 유체연통을 이용한 상기 시료의 분리 분석과정과 상기 제

2 유체연통에 대한 세척과 평형화 과정이 동시에 이루어지는 모드, 및 상기 제 2 유체연통을 이용한 상기 시료의 분리 분석과정과 상기 제 1 유체연통에 대한 세척과 평형화 과정이 동시에 이루어지는 모드를 선택적으로 구비하는 것을 특징으로 한다.

[0020] 또는, 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법은 (A) 제 1 컬럼 또는 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 평형화 과정, 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 평형화 과정 및 시료루프에 시료를 주입 저장하는 과정을 포함한 초기 모드를 수행하는 단계; (B) 상기 시료루프의 시료를 제 1 용매와 함께 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)으로 주입하는 과정을 포함한 제 1 모드를 수행하는 단계; (C) 상기 시료루프에 다른 시료를 주입 저장하는 과정, 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 주입된 시료를 분리 용출하는 과정 및 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 평형화 과정을 포함한 제 2 모드를 수행하는 단계; (D) 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 평형화 과정, 및 상기 시료루프의 다른 시료를 상기 제 1 용매와 함께 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)으로 주입하는 과정을 포함한 제 3 모드를 수행하는 단계; 및 (E) 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 평형화 과정 및 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 주입된 다른 시료를 분리 용출하는 과정을 포함한 제 4 모드를 수행하는 단계;를 포함한다.

[0021] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법에서 상기 (E) 단계는 상기 시료루프에 또 다른 시료를 저장하는 과정을 더 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0022] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법은 상기 시료의 분리 분석의 횟수 또는 상기 시료의 개수에 따라 상기 (A) 단계 내지 상기 (E) 단계를 반복 수행하는 것을 특징으로 한다.

[0023] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법에서 상기 (A) 단계는 제 1 펌프로부터 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 유체연통으로 상기 제 1 용매를 주입하여 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 평형화를 수행하고, 제 2 펌프로부터 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 유체연통으로 상기 제 1 용매를 주입하여 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 평형화를 수행하는 것을 특징으로 한다.

[0024] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법에서 상기 (A) 단계는 (A-1) 제 1 펌프로부터 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 유체연통으로 상기 제 1 용매와 제 2 용매의 혼합용액을 주입하여 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 세척 과정, 및 제 2 펌프로부터 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 유체연통으로 상기 제 1 용매와 제 2 용매의 혼합용액을 주입하여 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 세척 과정을 수행하는 단계; 및 (A-2) 상기 제 1 펌프로부터 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 유체연통으로 상기 제 1 용매를 주입하여 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 평형화를 수행하고, 상기 제 2 펌프로부터 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 유체연통으로 상기 제 1 용매를 주입하여 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 평형화를 수행하는 단계;를 더 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0025] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법에서 상기 (B) 단계는 상기 제 1 용매를 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)으로 더 주입하고 염들이 상기 제 1 용매에 녹아 제 1 배출포트로 빠져나가게 하여, 상기 시료를 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에서 농축하는 탈염 농축과정을 더 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0026] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법은 상기 (C) 단계에서 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 주입된 시료를 분리 용출하는 과정을 제 2 펌프에 의해 상기 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액을 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)을 거쳐 상기 제 1 컬럼으로 흘려주면서 수행하고, 상기 제 1 용매와 제 2 용매의 비율은 시간 경과에 따라 변화되는 것을 특징으로 한다.

[0027] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법은 상기 (C) 단계에서 상기 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 세척과 평형화 과정으로 제 1 펌프에 의해 상기 제 1 용매와 제 2 용매의 혼합용액을 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)을 거쳐 상기 제 2 컬럼으로 흘려주고, 상기 제 2 용매의 함량을 증가시키면서 흘려주는 세척과정; 및 상기 제 1 펌프에 의해 상기 제 1 용매를 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)을 거쳐 상기 제 2 컬럼으로 연속 흘려주는 평형화 과정;을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0028] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법은 상기 (D) 단계에서 상기 시료루프의 다른 시료를 상기 제 1 용매와 함께 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)으로 주입하는 과정이 상기 제 1 용매를 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)으로 더 주입하여 염들이 상기 제 1 용매에 녹아 제 2 배출포트로 빠져나가게

하여 상기 시료를 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에서 농축하는 탈염 농축과정을 더 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0029] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법은 상기 (E) 단계에서 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 주입된 다른 시료를 분리 용출하는 과정을 제 2 펌프에 의해 상기 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액을 상기 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)을 거쳐 상기 제 2 컬럼으로 흘려주면서 수행하고, 상기 제 1 용매와 제 2 용매의 비율은 시간 경과에 따라 변화되는 것을 특징으로 한다.

[0030] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어 방법은 상기 (E) 단계에서 상기 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 세척과 평형화 과정으로 제 1 펌프에 의해 상기 제 1 용매와 제 2 용매의 혼합용액을 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)을 거쳐 상기 제 1 컬럼으로 흘려주고, 상기 제 2 용매의 함량을 증가시키면서 흘려주는 세척과정; 및 상기 제 1 펌프에 의해 상기 제 1 용매를 상기 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)을 거쳐 상기 제 1 컬럼으로 연속 흘려주는 평형화 과정;을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0031] 본 발명의 특징 및 이점들은 첨부도면에 의거한 다음의 상세한 설명으로 더욱 명백해질 것이다.

[0032] 이에 앞서, 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이고, 사전적인 의미로 해석되어서는 아니 되며, 발명자가 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합되는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다.

발명의 효과

[0033] 본 발명의 실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치는 종래에 컬럼의 평형화를 이루는 과정 중에 분석 데이터를 얻을 수 없는 휴지 시간(dead time)의 영향이 없이 분석을 연속 수행할 수 있게 하는 효과가 있다.

[0034] 본 발명의 실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어방법은 3개의 밸브를 이용하여 시료에 대한 분리 분석과정 및 용매를 주입하여 평형화를 이루는 과정을 동시에 수행하고 반복할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 동작을 설명하기 위한 그래프.

도 2a는 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 초기 모드를 나타낸 동작 예시도.

도 2b는 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제 1 모드를 나타낸 동작 예시도.

도 2c는 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제 2 모드를 나타낸 동작 예시도.

도 2d는 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제 3 모드를 나타낸 동작 예시도.

도 2e는 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제 4 모드를 나타낸 동작 예시도.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 본 발명의 목적, 특정한 장점들 및 신규한 특징들은 첨부된 도면들과 연관되는 이하의 상세한 설명과 바람직한 실시예로부터 더욱 명백해질 것이다. 본 명세서에서 각 도면의 구성요소들에 참조번호를 부가함에 있어서, 동일한 구성 요소들에 한해서는 비록 다른 도면상에 표시되더라도 가능한 한 동일한 번호를 가지도록 하고 있음에 유의하여야 한다. 또한, 제1, 제2 등의 용어는 다양한 구성요소들을 설명하는데 사용될 수 있지만, 상기 구성요소들은 상기 용어들에 의해 한정되어서는 안 된다. 상기 용어들은 하나의 구성요소를 다른 구성요소로부터 구별하는 목적으로만 사용된다. 또한, 본 발명을 설명함에 있어서, 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발

명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명은 생략한다.

[0037] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 동작을 설명하기 위한 그래프이고, 도 2a는 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 초기 모드를 나타낸 동작 예시도이며, 도 2b는 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제 1 모드를 나타낸 동작 예시도이며, 도 2c는 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제 2 모드를 나타낸 동작 예시도이며, 도 2d는 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제 3 모드를 나타낸 동작 예시도이며, 도 2e는 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제 4 모드를 나타낸 동작 예시도이다.

[0038] 먼저, 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치는 도 2a 내지 도 2e에 도시된 바와 같이, 제 1 펌프(110), 제 2 펌프(120), 제 1 펌프(110)와 시료 주입기(130)에 각각 연결된 시료유입밸브(200), 제 2 펌프(120)와 시료유입밸브(200)에 각각 연결된 컬럼선택밸브(300), 및 컬럼선택밸브(300)에 연결되고, 제 1 역상 액체크로마토그래피 컬럼(이하, "제 1 컬럼"으로 지칭함), 제 2 역상 액체크로마토그래피 컬럼(이하, "제 2 컬럼"으로 지칭함), 제 1 고체상추출컬럼(Solid Phase Extraction Column: SPE1) 및 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)을 포함하여 다수의 포트로 이루어진 이중컬럼밸브(400)를 포함한다.

[0039] 제 1 펌프(110)와 제 2 펌프(120)는 각각 제 1 용매 또는 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액을 주입하는 펌프로서, 제 1 용매는 친수성 용매로서 예를 들어 0.1% 포름산 수용액을 사용할 수 있고, 제 2 용매는 소수성 용매로서 예를 들어 0.1% 포름산과 99.9% 아세토니트릴을 포함한 용액을 사용할 수 있다.

[0040] 시료유입밸브(200)는 시료 주입기(130)로부터 분석하고자 하는 시료를 유입하여 컬럼선택밸브(300)로 주입하는 밸브이다. 이러한 시료유입밸브(200)는 6개의 포트로서, 시료 주입기(130)로부터 시료가 유입되는 시료유입포트(201), 시료 루프(210)의 양단에 구비된 제 1 시료루프 연결포트(202)와 제 2 시료루프 연결포트(203), 여분의 시료를 배출하는 시료배출포트(204), 제 1 펌프(110)에 연결되어 제 1 용매 또는 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액이 유입되는 용매유입포트(205) 및 컬럼선택밸브(300)에 연결된 용매배출포트(206)로 구성된다.

[0041] 시료유입밸브(200)에서 시료유입포트(201), 제 1 시료루프 연결포트(202), 제 2 시료루프 연결포트(203), 시료배출포트(204)가 서로 유체연통되면, 시료 주입기(130)로부터 유입된 시료가 시료유입포트(201)를 통하여 시료루프(210)에 유입될 수 있다.

[0042] 이와 같은 시료루프(210)를 통해 사용자가 시료의 농도가 너무 낮은 경우에는 시료 주입기(130)를 통해 시료 주입을 다수 반복함으로써 충분한 시료 농도를 획득할 수 있다.

[0043] 또한, 시료유입밸브(200)는 시료루프(210)에 시료를 유입하여 저장한 상태에서 용매유입포트(205)와 용매배출포트(206)를 이용하여 시료루프(210)의 시료를 제 1 용매와 함께 컬럼선택밸브(300)로 주입할 수 있다.

[0044] 컬럼선택밸브(300)는 제 2 펌프(120)와 시료유입밸브(200) 각각에 연결된 밸브로서, 시료유입밸브(200)의 용매배출포트(206)에 연결된 제 1 유입포트(301), 이중컬럼밸브(400)의 일측에 연결된 제 1 유출포트(302), 제 2 펌프(120)에 연결된 제 2 유입포트(303) 및 이중컬럼밸브(400)의 타측에 연결된 제 2 유출포트(304)를 포함한 4개의 포트로 구성된다.

[0045] 이러한 컬럼선택밸브(300)는 제 2 펌프(120)와 시료유입밸브(200) 각각에 연결되어, 제 1 용매와 함께 시료가 유입되거나 또는 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액이 선택적으로 유입될 수 있다. 이렇게 선택적으로 유입된 시료 또는 제 1 용매와 제 2 용매의 혼합용액은 이중컬럼밸브(400)로 주입되어 분리 용출되거나 컬럼의 평형화에 이용될 수 있다.

[0046] 이중컬럼밸브(400)는 테두리를 따라 10개의 포트를 구비하여 제 1 컬럼과 제 2 컬럼 각각에 대해 어느 일측의 컬럼을 통해 시료에 대한 분리 분석이 진행되는 동안 다른 컬럼에 대한 세척과 평형화(equilibration)를 수행하는 유체연통을 선택할 수 있는 밸브이다.

[0047] 구체적으로, 이중컬럼밸브(400)는 제 1 컬럼에 연결된 제 1 컬럼 포트(401), 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)의 양단을 구성하는 제 1 고체상추출컬럼 선택포트(402)와 제 1 고체상추출컬럼 경로포트(404), 컬럼선택밸브(300)의 제 1 유출포트(302)에 연결되고 제 1 고체상추출컬럼 선택포트(402) 또는 제 1 고체상추출컬럼 경로포트(404)에 선택적으로 연결되는 제 1 고체상추출컬럼 유입포트(403), 제 1 배출포트(405), 제 2 배출포트(406), 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)의 양단을 구성하는 제 2 고체상추출컬럼 선택포트(409)와 제 2 고체상추출컬럼 경로포트

(407), 컬럼선택밸브(300)의 제 2 유출포트(304)에 연결되고 제 2 고체상추출컬럼 선택포트(409)와 제 2 고체상추출컬럼 경로포트(407)에 선택적으로 연결되는 제 2 고체상추출컬럼 유입포트(408), 및 제 2 컬럼에 연결된 제 2 컬럼 포트(410)를 포함한다.

[0048] 이러한 이중컬럼밸브(400)는 예를 들어 제 1 컬럼 또는 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 유체연통을 통해 시료에 대한 분리 분석이 진행되는 동안 제 2 컬럼 또는 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 유체연통을 통해 세척과 평형화를 수행하는 과정, 및 그 반대로 제 2 컬럼 또는 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 유체연통을 통해 시료에 대한 분리 분석이 진행되는 동안 제 1 컬럼 또는 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 유체연통을 통해 세척과 평형화를 수행하는 과정을 반복적으로 처리할 수 있다는 특징이 있다.

[0049] 이에 따라, 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치는 컬럼선택밸브(300)와 이중컬럼밸브(400)를 이용하여 제 1 컬럼 또는 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 유체연통 및 제 2 컬럼 또는 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 유체연통을 선택할 수 있고, 어느 일측의 유체연통에 시료를 주입, 탈염 및 농축하여 분리 분석하는 과정과 다른 타측에 제 1 용매와 제 2 용매의 혼합용액을 주입하여 세척한 후에 제 1 용매를 주입하여 평형화를 이루는 과정을 동시에 수행한다.

[0050] 따라서, 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치는 컬럼의 평형화에 소요되는 휴지시간(dead time)을 감소시켜 분석의 효율성을 향상시킬 수 있다.

[0051] 이하, 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치를 이용한 시료의 분리 분석과정과 동시에 평형화 과정을 수행하는 제어방법에 대해 도 2a 내지 도 2e를 참조하여 설명한다.

[0052] 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어방법은 도 2a에 도시된 바와 같이 먼저 초기 모드의 동작을 수행한다.

[0053] 구체적으로, 도 2a에 도시된 초기 모드는 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 평형화 과정, 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 평형화 과정 및 시료루프(210)에 시료를 저장하는 과정을 동시에 수행한다.

[0054] 즉, 제 1 펌프(110)로부터 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 유체연통으로 제 1 용매를 주입하여 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 평형화를 수행하고, 제 2 펌프(120)로부터 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 유체연통으로 제 1 용매를 주입하여 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 평형화를 수행한다.

[0055] 이때, 선택적으로 제 1 펌프(110)로부터 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 유체연통으로 제 1 용매와 제 2 용매의 혼합용액을 주입하여 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 세척 과정, 및 제 2 펌프(120)로부터 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 유체연통으로 제 1 용매와 제 2 용매의 혼합용액을 주입하여 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 세척과정을 먼저 수행한 후, 상술한 평형화를 수행할 수도 있다.

[0056] 이와 동시에 시료 주입기(130)의 시료를 시료유입포트(201)를 통하여 시료루프(210)에 유입 저장하는 과정을 수행한다. 이때 시료 주입기(130)를 통해 시료 주입을 다수 반복함으로써 충분한 시료량을 획득할 수 있다.

[0057] 초기 모드를 수행한 후, 도 2b에 도시된 바와 같이 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제 1 모드를 수행한다.

[0058] 제 1 모드는 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 평형화를 수행하면서 시료루프(210)의 시료를 제 1 용매와 함께 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)으로 주입하여, 탈염 및 농축하는 과정을 수행한다.

[0059] 구체적으로, 제 2 고체상추출컬럼 유입포트(408), 제 2 고체상추출컬럼 선택포트(409), 제 2 고체상추출컬럼 경로포트(407) 및 제 2 배출포트(406)로 연결된 유체연통을 형성하여 제 2 펌프(120)로부터 제 1 용매를 주입하여 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 평형화를 지속적으로 수행한다.

[0060] 이와 동시에, 시료루프(210)가 제 1 용매유입포트(205)와 제 1 용매배출포트(206) 사이에 유체연통하여, 제 1 펌프(110)로부터 유입된 제 1 용매와 함께 시료루프(210)의 시료를 컬럼선택밸브(300)로 주입한다.

[0061] 이렇게 제 1 용매와 함께 컬럼선택밸브(300)로 주입된 시료는 이중컬럼밸브(400)에서 제 1 고체상추출컬럼 유입

포트(403), 제 1 고체상추출컬럼 선택포트(402), 제 1 고체상추출컬럼(SPE1), 제 1 고체상추출컬럼 경로포트(404) 및 제 1 배출포트(405)를 연결한 유체연통을 따라 유입되어, 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 주입되고, 이때 제 1 용매를 예를 들어 2㎕ 정도 더 주입하여 염들이 수용성 용매인 제 1 용매에 녹아 제 1 배출포트(405)로 빠져나가게 한다. 이에 따라, 시료는 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에서 탈염 농축된다.

[0062] 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 제 1 용매와 함께 시료를 주입하는 제 1 모드를 수행한 후, 도 2c에 도시된 바와 같이 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제 2 모드를 수행한다.

[0063] 제 2 모드는 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 주입된 시료를 분리 용출하는 과정 및 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 세척과 평형화 과정을 동시에 수행하고, 이후 선택적으로 시료루프(210)에 다른 시료를 저장하는 과정을 수행할 수 있다.

[0064] 구체적으로, 제 2 모드의 시료를 분리 용출하는 과정은 시료유입밸브(200), 컬럼선택밸브(300) 및 이중컬럼밸브(400)를 스위칭하여, 제 2 펌프(120)에 의해 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액을 제 2 유입포트(303), 제 1 유출포트(302), 제 1 고체상추출컬럼 유입포트(403), 제 1 고체상추출컬럼 경로포트(404), 제 1 고체상추출컬럼(SPE1), 제 1 고체상추출컬럼 선택포트(402) 및 제 1 컬럼 포트(401)를 거쳐 제 1 컬럼으로 흘려주면서 수행된다.

[0065] 이때, 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에서의 시료 분리 용출은 도 1의 "Ⅰ"에서처럼 제 2 펌프(120)로부터 공급되는 혼합용액 중의 제 1 용매와 제 2 용매의 비율을 시간 경과에 따라 변화시켜가며 수행된다. 즉, 혼합용액의 제 2 용매 비율이 증가할수록 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 주입된 시료의 해리 정도가 증가하여 제 1 컬럼으로 유입되고, 이후 시료의 분리를 통해 분석이 이루어진다.

[0066] 제 1 용매 및 제 2 용매는 상술한 바와 같은 목적을 달성하기 위해서, 다양한 조합의 용매들이 선택될 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니지만, 상기 제 1 용매는 0.1%의 포름산 수용액이 사용될 수 있고, 상기 제 2 용매는 90%의 아세토니트릴 수용액이 사용될 수 있다. 즉, 이러한 용매의 특징은 전체 용매 중 아세토니트릴의 함량이 증가할수록 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 결합된 시료의 해리 정도가 증가하는 특징을 이용한 것이라 할 수 있다.

[0067] 또한, 제 2 모드의 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 세척과 평형화 과정은 (ⅰ) 제 1 펌프(110)에 의해 제 1 용매와 제 2 용매의 혼합용액을 용매유입포트(205), 용매배출포트(206), 제 1 유입포트(301), 제 2 유출포트(304), 제 2 고체상추출컬럼 유입포트(408), 제 2 고체상추출컬럼 경로포트(407), 제 2 고체상추출컬럼(SPE2), 제 2 고체상추출컬럼 선택포트(409), 제 2 컬럼 포트(410) 및 제 2 컬럼으로 흘려주되, 제 2 용매의 함량을 짧은 시간에 증가시키면서 흘려주는 세척과정 및 (ⅱ) 제 1 펌프(110)에 의해 제 1 용매를 연속으로 흘려주는 평형화 과정으로 수행된다.

[0068] 선택적으로, 제 2 모드의 다른 시료를 저장하는 과정은 상술한 제 2 컬럼과 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 대한 세척과 평형화 과정 이후에 시료 주입기(130)의 다른 시료를 시료유입포트(201), 제 1 시료루프 연결포트(202), 제 2 시료루프 연결포트(203) 및 시료배출포트(204)로 이루어진 유체연통을 따라 주입하여 시료루프(210)에 유입 저장할 수 있다.

[0069] 이러한 제 2 모드를 수행한 후, 도 2d에 도시된 바와 같이 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제 3 모드를 수행한다.

[0070] 제 3 모드는 시료유입밸브(200)와 이중컬럼밸브(400)를 스위칭하여, 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 평형화 과정 및 시료루프(210)의 다른 시료를 제 1 용매와 함께 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)으로 주입, 탈염 및 농축하는 과정을 동시에 수행한다.

[0071] 구체적으로, 제 3 모드의 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 평형화 과정은 제 2 펌프(120)에 의해 제 1 용매를 제 2 유입포트(303), 제 1 유출포트(302), 제 1 고체상추출컬럼 유입포트(403), 제 1 고체상추출컬럼 선택포트(402), 제 1 고체상추출컬럼(SPE1), 제 1 고체상추출컬럼 경로포트(404) 및 제 1 배출포트(405)를 연결한 유체연통을 따라 유입하여 수행한다.

[0072] 또한, 시료루프(210)의 다른 시료를 제 1 용매와 함께 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)으로 주입, 탈염 및 농축하는 과정은 먼저 다른 시료를 저장한 시료루프(210)가 제 1 용매유입포트(205)와 제 1 용매배출포트(206) 사이에 유체연통하여, 제 1 펌프(110)로부터 유입된 제 1 용매와 함께 컬럼선택밸브(300)로 주입된다.

[0073] 이렇게 제 1 용매와 함께 컬럼선택밸브(300)로 주입된 다른 시료는 이중컬럼밸브(400)에서 제 2 고체상추출컬럼

유입포트(408), 제 2 고체상추출컬럼 선택포트(409), 제 2 고체상추출컬럼(SPE2), 제 2 고체상추출컬럼 경로포트(407) 및 제 2 배출포트(406)로 연결된 유체연통을 따라 흘러, 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 주입된다.

[0074] 이후, 제 1 펌프(110)로부터 상술한 유체연통을 따라 제 1 용매를 예를 들어 2㎕ 정도 더 주입하여, 염들이 수용성 용매인 제 1 용매에 녹아 제 2 배출포트(406)로 빠져나가게 하고, 이에 따라 시료는 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에서 농축된다.

[0075] 시료루프(210)의 다른 시료를 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)으로 주입하는 제 3 모드를 마무리한 후, 도 2e에 도시된 바와 같이 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제 4 모드를 수행한다.

[0076] 제 4 모드는 시료유입밸브(200), 컬럼선택밸브(300) 및 이중컬럼밸브(400)를 스위칭하여, 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 세척과 평형화 과정 및 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 주입된 다른 시료를 분리 용출하는 과정을 동시에 수행하고, 선택적으로 시료루프(210)에 또 다른 시료를 저장하는 과정을 수행할 수 있다.

[0077] 구체적으로, 제 4 모드의 제 1 컬럼과 제 1 고체상추출컬럼(SPE1)에 대한 세척과 평형화 과정은 (ⅰ) 제 1 펌프(110)에 의해 제 1 용매를 제 1 용매유입포트(205), 제 1 용매배출포트(206), 제 1 유입포트(301), 제 1 유출포트(302), 제 1 고체상추출컬럼 유입포트(403), 제 1 고체상추출컬럼 경로포트(404), 제 1 고체상추출컬럼(SPE1), 제 1 고체상추출컬럼 선택포트(402) 및 제 1 컬럼 포트(401)를 거쳐 제 1 컬럼으로 흘려주되, 제 2 용매의 함량을 짧은 시간에 증가시키면서 흘려주는 세척과정 및 (ⅱ) 제 1 펌프(110)에 의해 제 1 용매를 연속으로 흘려주는 평형화 과정을 수행된다.

[0078] 또한, 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 주입된 다른 시료를 분리 용출하는 과정은 제 2 펌프(120)에 의해 제 1 용매와 제 2 용매를 함유한 혼합용액을 제 2 유입포트(303), 제 2 유출포트(304), 제 2 고체상추출컬럼 유입포트(408), 제 2 고체상추출컬럼 경로포트(407), 제 2 고체상추출컬럼(SPE2), 제 2 고체상추출컬럼 선택포트(409), 제 2 컬럼 포트(410) 및 제 2 컬럼으로 흘려주어 수행된다.

[0079] 이때, 다른 시료의 분리 용출은 도 1의 "Ⅱ"에서처럼 제 2 펌프(120)로부터 공급되는 혼합용액 중 제 2 용매의 비율을 시간 경과에 따라 증가시켜, 제 2 고체상추출컬럼(SPE2)에 주입된 다른 시료의 해리 정도를 증가시킬 수 있다.

[0080] 이러한 제 4 모드에서는 선택적으로 시료 주입기(130)를 통해 시료루프(210)에 또 다른 시료를 저장하는 과정을 수행할 수 있어서, 시료 주입기(130)의 또 다른 시료를 시료유입포트(201), 제 1 시료루프 연결포트(202), 제 2 시료루프 연결포트(203) 및 시료배출포트(204)로 이루어진 유체연통을 따라 주입하여 시료루프(210)에 유입 저장할 수도 있다.

[0081] 이와 같이 시료루프(210)에 유입 저장된 또 다른 시료에 대해 도 2b에 도시된 제 1 모드부터 도 2c에 도시된 제 2 모드를 수행하여, 도 1의 "Ⅲ"에서처럼 또 다른 시료에 대한 분리 용출과 평형화 과정을 반복 수행할 수 있다.

[0082] 따라서, 본 발명의 일실시예에 따른 이중 온라인 액체크로마토그래피 장치의 제어방법은 시료에 대한 분리 분석의 실험 횟수 또는 시료 주입기(130)를 통해 주입되는 시료의 개수에 따라 초기화 모드부터 제 4 모드를 반복할 수 있어서, 휴지시간의 영향 없이 분리 분석의 효율성을 향상시킬 수 있다.

[0083] 본 발명의 기술사상은 상기 바람직한 실시예에 따라 구체적으로 기술되었으나, 전술한 실시예들은 그 설명을 위한 것이며, 그 제한을 위한 것이 아님을 주의하여야 한다.

[0084] 또한, 본 발명의 기술분야의 통상의 전문가라면 본 발명의 기술사상의 범위 내에서 다양한 실시가 가능함을 이해할 수 있을 것이다.

부호의 설명

[0085] 110: 제 1 펌프 120: 제 2 펌프

130: 시료 주입기 200: 시료유입밸브

201: 시료유입포트 202: 제 1 시료루프 연결포트

203: 제 2 시료루프 연결포트 204: 시료배출포트

205: 용매유입포트 206: 용매배출포트

300: 컬럼선택밸브 301: 제 1 유입포트

302: 제 1 유출포트 303: 제 2 유입포트

304: 제 2 유출포트 400: 이중컬럼밸브

401: 제 1 컬럼 포트 402: 제 1 고체상추출컬럼 선택포트

403: 제 1 고체상추출컬럼 유입포트 404: 제 1 고체상추출컬럼 경로포트

405: 제 1 배출포트 406: 제 2 배출포트

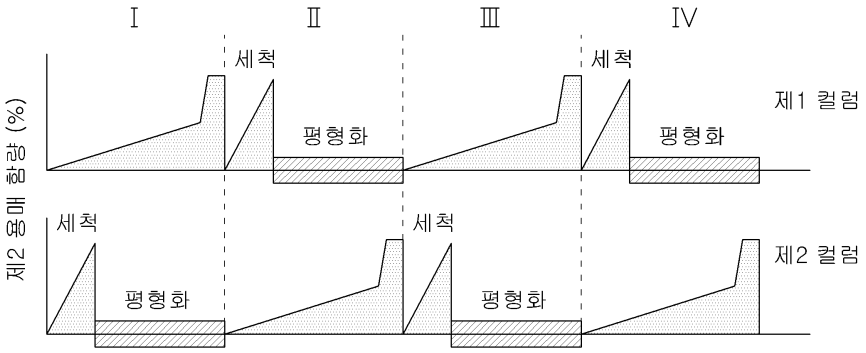
407: 제 2 고체상추출컬럼 경로포트 408: 제 2 고체상추출컬럼 유입포트

409: 제 2 고체상추출컬럼 선택포트 410: 제 2 컬럼 포트

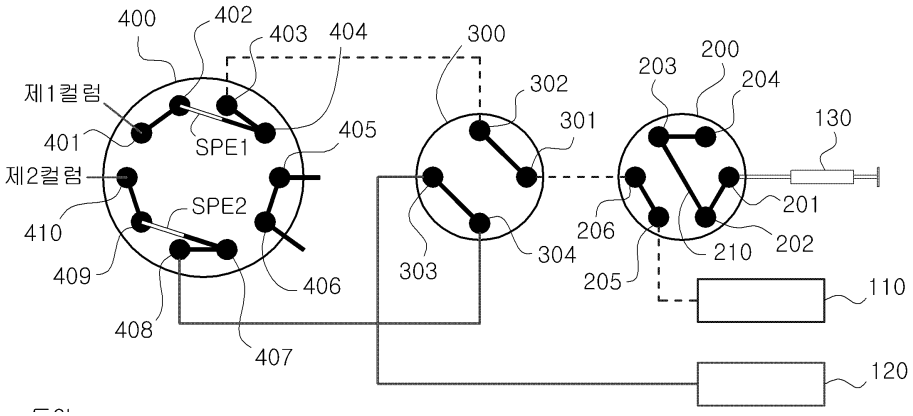
SPE1: 제 1 고체상추출컬럼 SPE2: 제 2 고체상추출컬럼

도면

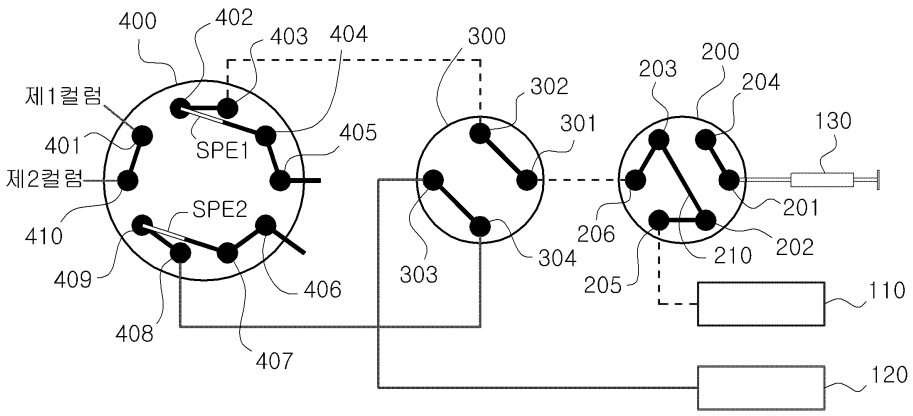
도면1



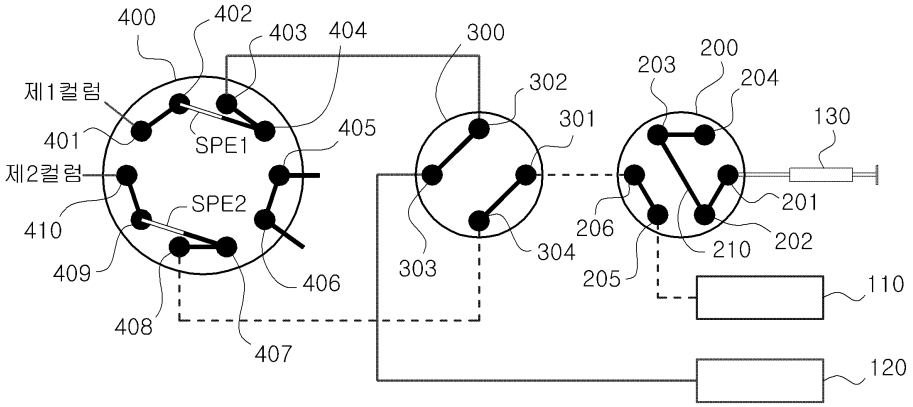
도면2a



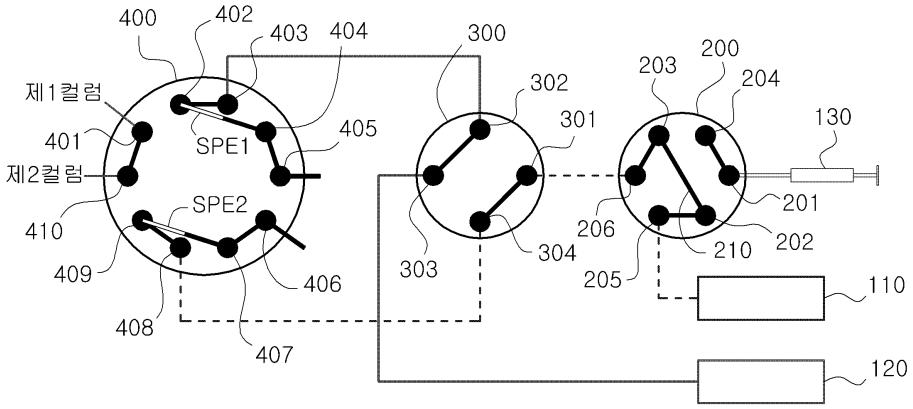
도면2b



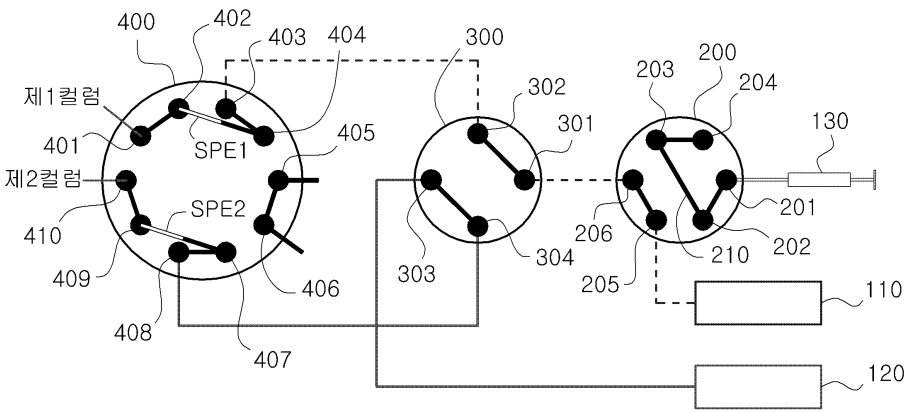
도면2c



도면2d



도면2e


400
402
403
404
300
제1컬럼
401
SPE1
405
제2컬럼
410
SPE2
409
406
408
407
303
302
301
304
203
200
204
130
201
206
210
202
205
110
120