

# 크로마토그래피의 원리와 분석법

## HPLC의 column

Soonchunhyang University

Department of Chemical Engineering

Prof. Jungkyun Im

순천향대

나노화학공학과

임정균 교수





# HPLC 의 column



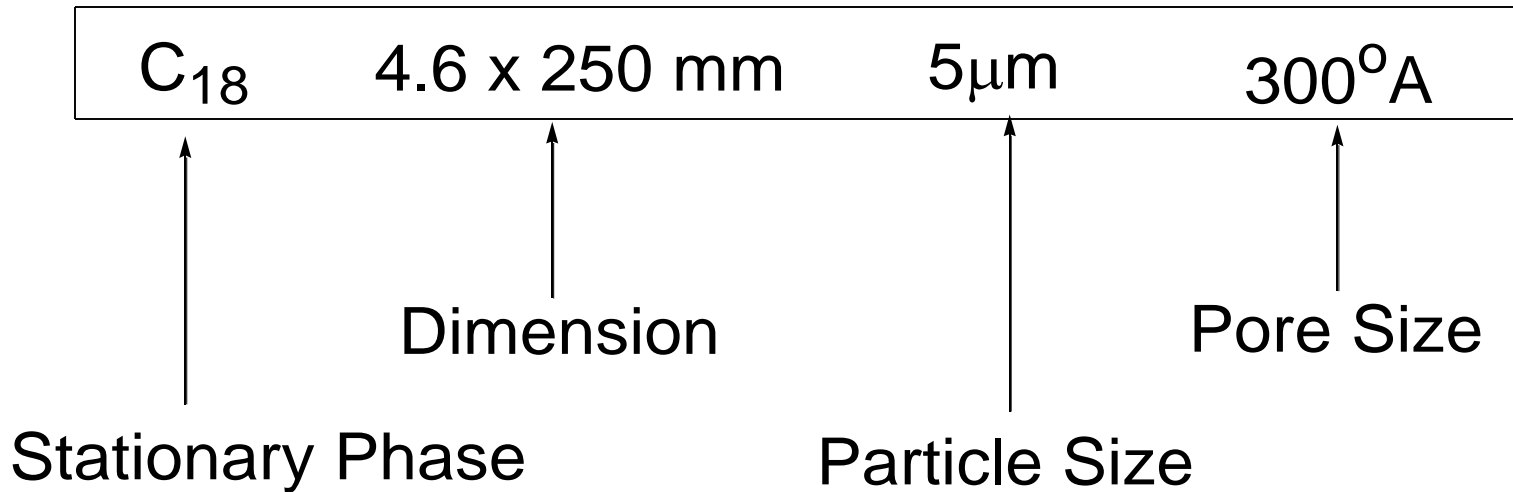
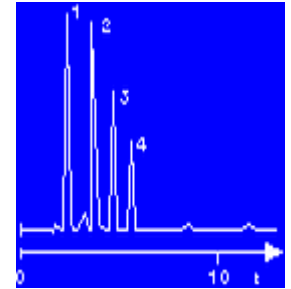


# Column(고정상)



Column dimension (size), particle size and pore size, stationary phase

Water/Methanol





# Column(고정상)



## ■ Column이란?

- 혼합 성분을 각각의 단일 성분으로 분리시키는 곳
- Column 선택 시 고려할 점
  - 입자 크기
    - ◆ 3.5 $\mu\text{m}$ , 4 $\mu\text{m}$ , 5 $\mu\text{m}$ , 6 $\mu\text{m}$ , 7 $\mu\text{m}$ , 10 $\mu\text{m}$ , 37 $\mu\text{m}$ , 55 $\mu\text{m}$ , 75 $\mu\text{m}$
  - 재질
    - ◆ Silica, Alumina, Silica-Bonded, Polymer(resin)-Bonded
  - 형태 : Spherical, irregular
  - Pore 크기 : 50 Å ~ 300 Å

- **Pore size & Distribution :**
  - **Small Pore = higher efficiency = less band broadening**
- **Spherical or Irregular :**
  - **Irregular = higher Surface area = higher carbon load**
  - **Spherical = lower pressures = longer life**
  - **Spherical = better structural stability = longer life**
- **Particle size**
  - **Smaller particle = higher operating pressure = higher efficiency**

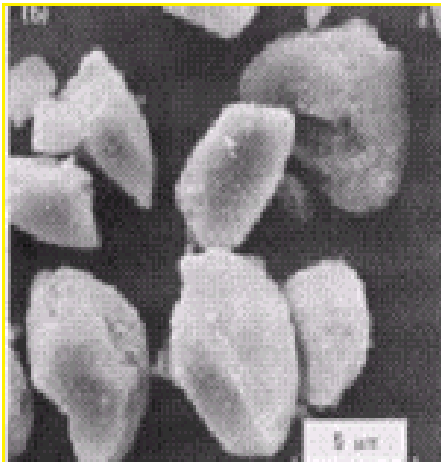
- 컬럼의 효율은 작은 pore size와 particle size, irregular type일 경우에 좋아진다. 그러나, 컬럼의 수명면에서 본다면 irregular type보다는 spherical type이 좋다.



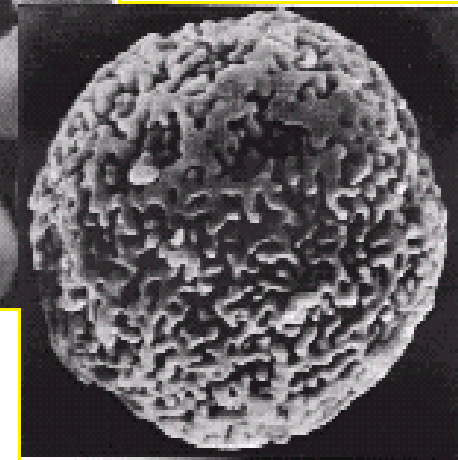
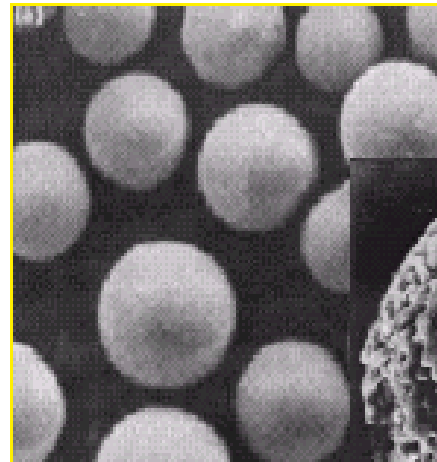
# Packing Material(충진제)



Irregular type



Spherical type





# 충진제 입자 크기



- ▶ 입자 크기가 작을수록 분리 효율 → 증가  
back pressure → 증가

입자 크기	용도
5 $\mu$ m	높은 분리효율과 적합한 작동압력을 제공, 분석용 컬럼으로 가장 많이 사용됨
3 $\mu$ m	분석시간 단축, 컬럼 제작에 어려움이 있음
10 $\mu$ m	QA 목적 실험이나 분취 목적 응용에 사용됨
> 10 $\mu$ m	분취 목적 응용에 사용됨

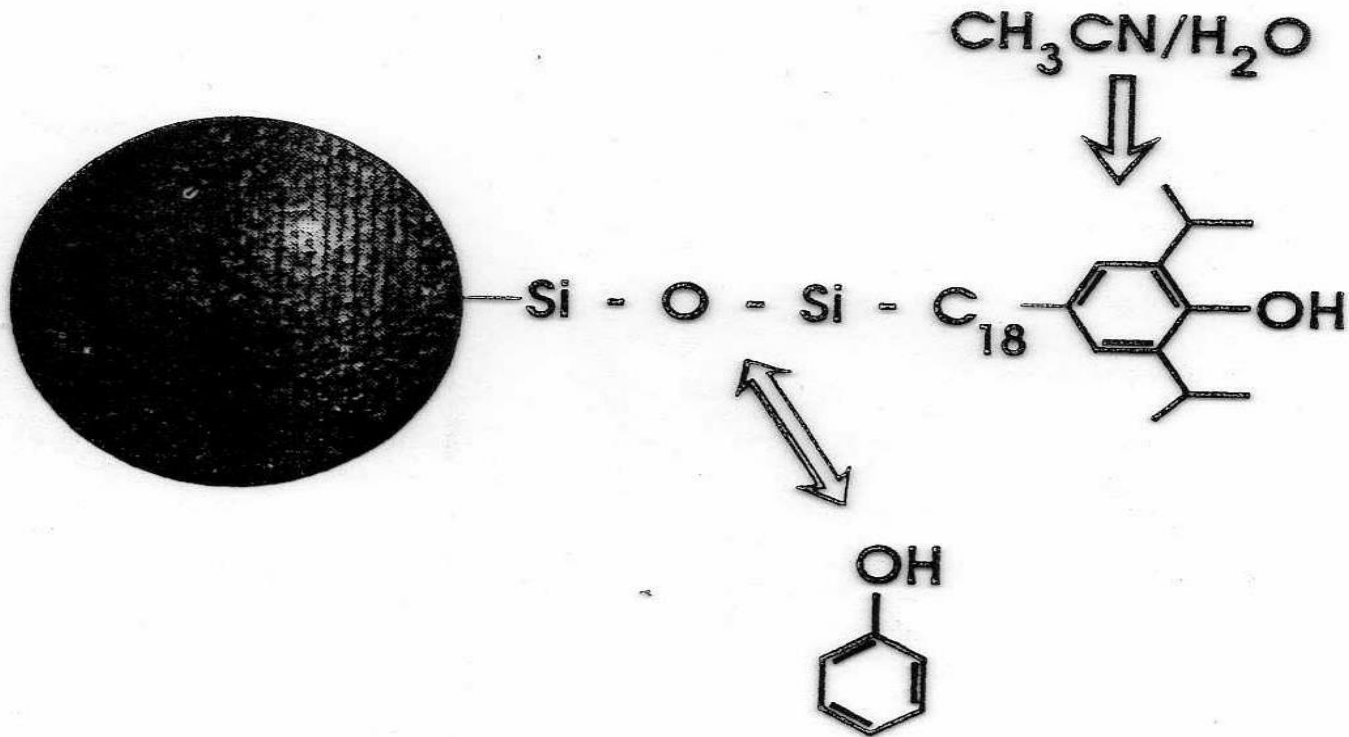




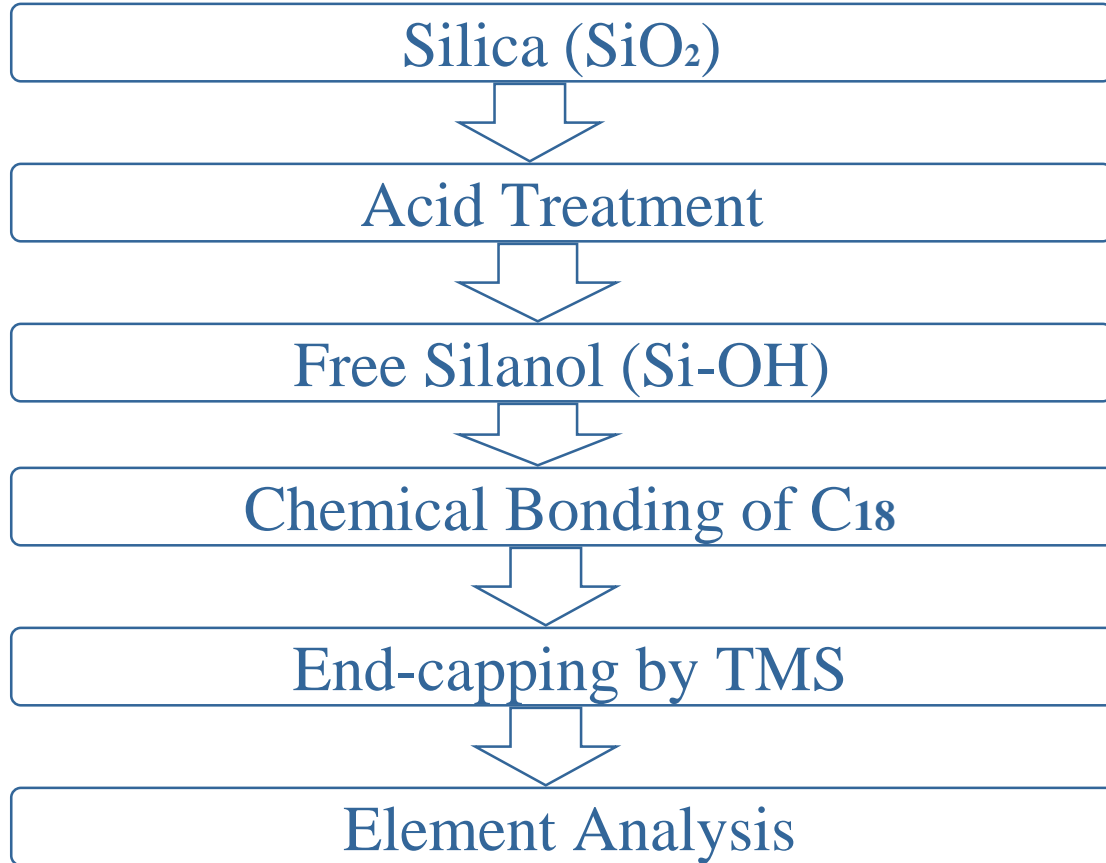
# 역상



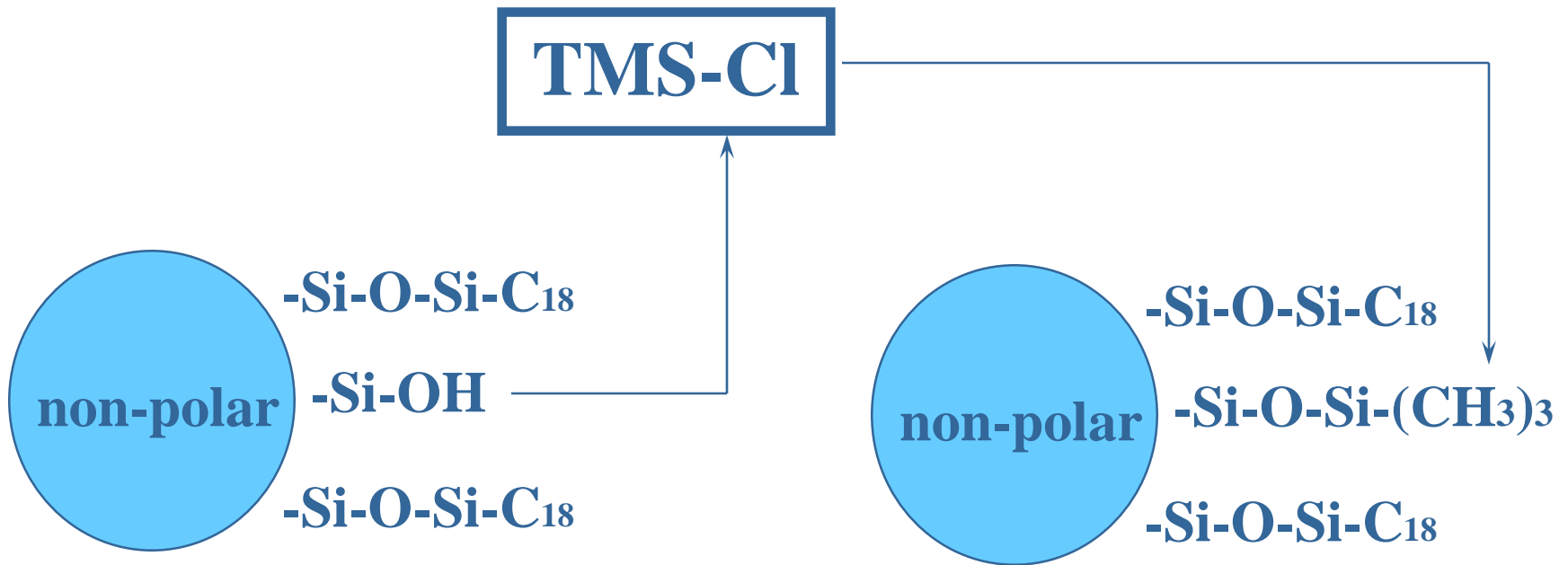
## Reverse Phase (분배: Partition)



# 제조방법



# End-capping이란?



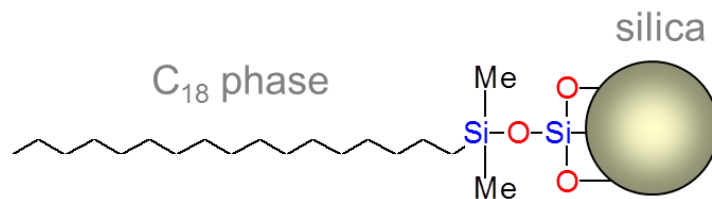
end-capping을 하면 -NH<sub>2</sub>와 같은 염기성 시료의 분석시 문제가 되는 peak의 tailing현상을 줄일 수 있다. 왜냐하면 SiOH의 분자구조를 가지고 있으면 산으로 작용하여 SiO-형태의 음이온구조를 형성하게된다. 이 음이온은 중성의 mobil phase를 사용하여 분석을 할때 염기성시료와의 상호작용으로 말미암아 peak broadening이나 tailing의 효과를 형성하게 된다.

이러한 작용은 염기성시료를 분석할때 많은 제약을 가져오게 되어 현재는 많은 컬럼에서 end-capping을 하고 있다.

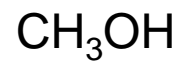
## Types of columns

- **Normal phase** Hexane, Ethyl Acetate, Methanol

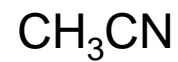
- **Reverse phase**



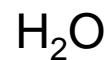
Methanol



Acetonitrile

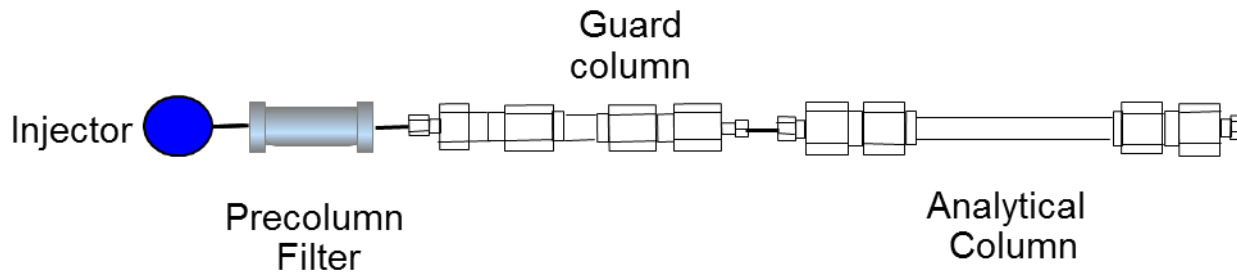


Water



# Guard Column

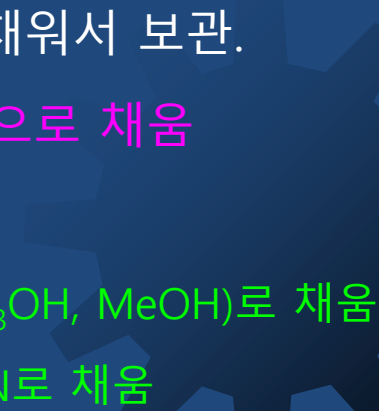
- These are placed anterior to the separating column. This serves as protective factor.
- They are dependable columns designed to filter or remove :
  1. Particles that clog the separation column
  2. Compounds and ions that could ultimately cause " Baseline drift ", decreased resolution, decreased sensitivity and create false peaks.
- These columns must be changed on a regular basis in order to optimize their protective function



## 컬럼의 세척 및 재생법

- Normal phase column (컬럼 부피의 10배)
  - MeOH-Methylene Chloride-Heptane(Isooctane)
- Reverse phase column (컬럼 부피의 10배)
  - H<sub>2</sub>O-MeOH-H<sub>2</sub>O

## 컬럼의 보관

- 충진제와 반응하지 않는 용매로 채워서 보관.
  - Normal phase column -- Hexane으로 채움
  - Reverse phase column
    - 세척 후 60%~ 70% 유기 용매(CH<sub>3</sub>OH, MeOH)로 채움
    - 장기 보관시 100% CH<sub>3</sub>OH, CH<sub>3</sub>CN로 채움
- 

**The End.**