

40
Young since 1976

고귀함은 우리가족

영 인 과 학
소 식 지
2 0 1 6 년
봄 호

영인 Lab.Highlight

71호

2016년 3월 발행



영인 과학

영인과학이 함께한 과학기술서비스 산업 40년...

이제, 미래 과학기술서비스 산업의 동반자로서 **Re-Start**합니다.

과학기술서비스 산업

개척

선도

리더

동반

2010년대, 과학기술 연구개발 토털서비스 구축 및 해외로 확장

분석, 과학 장비, 시약 및 연구소모품에서 40년의 축적된 경험을 바탕으로 한 계약분석서비스(CAS)는 물론 Bio analytical, 메타볼릭분석, Process, 방사능 분석 등 전문 분석서비스의 확대와 해외 플랜트 연구 실험실 설계 및 구축 서비스로 성장 발전하고 있습니다.

2000년대, 미래 바이오 사업으로의 확대

2000년대에 들어서면서, 세계 최고 수준의 항체기술을 개발하고 국내 최대규모의 실험 동물 사육시설을 통해 '항체독립'과 진단 키트 사업으로 확장하고, 항체 전문 시약을 개발하는 등 바이오 사업의 미래를 열어가고 있습니다.

1990년대, 분석기기 국산화 선도

분석 기술을 한 단계 업그레이드 하고자 분석 실험실 소모품 공급 회사인 영인과학, 분석기기 국산화 개발 회사인 영린기기를 설립하였습니다. HPLC, GC, 초순수 제조장치 국내 최초 개발, 세계 4번째 ICP-MS 개발(국내 최초), 신기술 실용화 대상 대통령 표창, 기술 진보상, EM마크 획득, 그리고 2009년 5백만불 수출탑 수상 등을 통해 국내 뿐만 아니라 해외 시장에서도 우수한 기술을 인정받고 있습니다.

1980년대, 분석기술 세계 수준으로 도약

1986년 아시안 게임, 1988년 올림픽에서 성공적인 도핑 테스트 지원으로 한국 분석기술의 우수함을 세계에 알리고, 이후 분석 기술 선도 기업으로 발돋움하였습니다. 특히, 세계적인 분석기기 기업인 HP의 한국 총 대리점으로 세계의 분석기술을 한국에 전달하는 선구자 역할을 하였습니다.

1970년대, 한국 과학기술 개척

1976년 한국종합기상사를 시작으로 한국 과학 기술 서비스 산업의 개척을 시작한 영인과학. 연구 기기 판매에만 주력하던 시절에 국내 최초로 세미나에서 HPLC로 직접 분석 시연하는 획기적인 시도를 한 것을 비롯하여 해외의 첨단 분석 기술 정보를 제공하여 한국과학 기술의 발전을 위한 첫발을 내디뎠습니다.

C o n t e n t s

04

초청 칼럼

분석과학과 함께 지나간 여정

08

스페셜 칼럼

미생물 대사체 분석시

Sample preparation 최적화의 중요성

12

최신 분석 동향

수질오염공정시험기준

일부개정 고시

14

특별 기획

무기 시료전처리 솔루션

17

분석 TIP & TRICKS

Agilent GC, GC/MS

Capillary Flow Technology

: Splitters

20

임상

내 몸 속의 잔류성 유기오염물질로

질병을 알아낸다?

23

일반

포괄적 이차원 액체 크로마토그래피

기법을 이용한 분석법 개발

32

환경

휴대용 가스분석기를 이용한

메탄가스 중 NH_3 분석

36

임상

HbA1c(Hemoglobin A1c)

분석적, 임상적 양상

38

세계 첨단 기업

대기 모니터링, 휘발성/중간휘발성 물질 분석의

세계적 리더, ENTECH

40

Product Story

42

스스로 하는 기기 진단

Agilent GC Ignitor 교체 방법

43

영인 계열사 소식

58

독자카드

59

생활의 쉼표



분석과학과 함께 지나간 여정



글 | 이재성
현 해양생물자원연구원 원장
한국과학기술연구원 명예연구원
한국환경분석학회 명예회장

1986년, 미국의 Texas Tech University에서 분석화학 박사 학위를 받은 후, 네브라스카 대학에서 2년 동안 단백질 분리와 구조 규명, 특성평가연구 등 생화학분야의 심층연구를 진행하였습니다.

이후 1988년 중반부터 한국의 KIST에서 유기분석팀장으로 업무를 시작한 이래 2014년까지 측정 분석 및 식물을 이용한 환경 연구개발에 전념하였습니다.

2015년에 해양생물자원연구원을 설립하고 오랫동안 라오스, 미얀마, 스리랑카에 농장을 운영하고 계신 분과 함께 현재까지 개발된 기술과 연구결과를 접목하여 천연 식물소재로 만든 의약품, 화장품, 기능성재료, 건강식품과 바이오매스의 활용을 위한 사업을 시작하였습니다.

어떻게 사업분야가 다른 것을 시작할 수 있었나 의문을 제기할 수도 있으나, 모든 연구개발은 분석과학에 기초하여 발전하고 정립되는 만큼 모든 학문과 연구는 분석능력이 있으면 어떠한 첨단연구와 사업도 가능한 것입니다.

일부 연구자 및 경영인들을 포함한 대부분 인사들은 분석과학을 적당히 기기를 사용하면 금방 숙련되는 것으로 착각하는 경우가 많은데, 연구와 제품생산 과정에 매우 중요하고 많은 숙련과 경험축적이 필요하여 단시간에 수준향상을 이룰 수 없다는 현실을 직시할 필요성이 있습니다.

1990년대에 20여분의 열렬 선구자들과 함께 한국환경분석학회를 설립하였고 제3대 한국환경분석학회 회장을 역임한 것 때문인지, 얼마 전 영인과학으로부터 분석과학발전에 관련된 내용을 편하게 기술해 주었으면 하는 제언을 받았고, 제가 지나왔던 분석의 길을 회고하며 글을 쓰게 되었습니다.

분석과학분야에서 중요한 이정표는 제5대 한국환경분석학회 김삼권 회장의 노력으로 국가 환경분석기사 자격증을 신설함으로써 학문과 연구개발, 품질관리에 필수적인 분석 분야에 획기적인 기여를 한 일이라고 생각합니다. 앞으로는 분석전문가들이 고가장비로 분석할 수 있는 공정시험법과 더불어 저렴하고 쉬운 방법으로 측정할 수 있는 시험법을 많이 만들어서 여건이 부족한 실험실에서도 활용할 수 있는 새로운 이정표를 만들어 줄 것을 기대합니다.

저온살균 우유의 우수성 입증

분석과학의 불모지나 다름 없던 1988년에 고국에 돌아와 보니, 당시 한국에서 제일 좋은 측정분석 평가장비를 보유하고 있던 KIST에는 전국 각지에서 의뢰된 다양한 시료들이 기다리고 있었습니다. 분석방법이 있든 없든, 고객들이 원하면 대부분 분석을 해 주었기 때문에 인기는 많이 얻었으나, 가끔 기관을 나쁘게 활용하는 불량인사들로 인하여 곤혹도 치른 경험도 지나간 추억으로 기억됩니다.

그 중에서 제일 기억에 남는 일은 파스퇴르 유업이 설립되어 모든 유제품 생산단체로 구성된 유가공협회를 상대로 한국에서

처음 도입한 저온살균우유로 생산된 유제품의 우수성을 홍보하고 경쟁할 때 관련된 측정분석들을 의뢰 받아 파스퇴르 유제품의 우수성을 과학적으로 증명하여 회사가 생존하고 발전할 수 있는 기틀을 마련해 준 것이 생각이 납니다.

파스퇴르 유업의 최명재 사장은 그 데이터를 기초로 법정 다름에서 많은 부분 승소하여 저온살균우유가 한국에서 뿌리를 내림으로써 전체적인 한국 유제품의 품질이 세계적으로 도약하는 계기를 마련하였습니다.

당시 분석 내용 중 하나는, 열변성이 안된 알부민 유단백질은 용해성이 높아 소화흡수가 잘 되어 그 함량은 유제품의 품질기준으로 삼을 수 있었습니다. Iso-electric point를 조절하여 분리하고 중량법으로 함량을 측정하는 과정으로 실험을 하였었고, 실제 저온살균우유에서의 열변성도가 훨씬 적음을 증명하였습니다.

이러한 방법으로 세계의 분유들을 대상으로 용해성 알부민을 측정하고 품질을 검토한 결과, 놀랍게도 일본과 미국, 대부분 유럽의 분유들은 용해성 알부민이 적은 반면 파스퇴르 유업의 분유와 덴마크에서 생산된 분유에서만 높은 함량의 용해성 알부민이 측정되었습니다.

이런 품질 증명을 통해 해외 수출까지 진행되도록 도와준 사례가 기억에 납니다. 저온살균우유는 섭씨 63도에서 30분 살균하는 반면, 고온살균우유는 105도에서 1~2초면 충분하니, 분석과학으로 인한 우수성이 입증되지 않으면 경제성이 없는 저온살균유업이 생존할 수 없는 상황이었다고 할 수 있습니다. 현재는 많은 회사들이 저온살균우유를 출시하고 있습니다.

라면 포장지 중 톨루엔 분석

그 당시에는 라면을 많이 먹으면 머리가 아프고 몸이 이상하게 변화하는 느낌을 받았었는데 그 이유를 밝혀 개선한 것도 기억에 납니다. 당시 KBS의 박선규 기자(전 문광부 차관)와 라면봉지의 인쇄시 사용되었던 톨루엔이 잔류되어 있다가 라면의 기름층에 흡수되고 그것이 조리 중에 잔류하여 우리 몸에 들어오는 것을 확인하였습니다.

당시에는 라면포장지를 유기용제의 이동이 차단된 알루미늄박 포장지로 바꾸게 되어 국민건강에 획기적인 기여를 하였습니다. 라면 뿐 아니라 한국에서 사용하는 과자의 포장지도 마찬가지로의 상황이었습니다.

실제 당시 많은 어린이들이 용제에 의한 피해를 입었는데도 원인규명과 관리를 못하였습니다. KIST에서는 라면 및 과자 속 잔류유기용제 분석을 통하여 한국의 라면 및 과자류가 세계에 나가서 인기를 얻을 수 있는 품질향상의 계기를 마련해 주었습니다.

1990년 초의 분석 결과, 놀랍게도 미국 및 일본의 라면과 과자류에서는 용제가 검출이 되지 않았습니다. 역시 선진국은 분석기술에 의한 품질관리도 잘했다는 단면을 볼 수가 있었던 계였습니다. 요즘 한국에서는 대부분 알루미늄박을 이용하여 라면, 과자와 식품들을 포장하는데 그 분석결과 발표 후 식품포장을 개선하게 된 것이 현재까지 이어지고 있습니다.

분석에도 중요한 절차와 규정 준수 필요

분석서비스를 통하여 큰 피해를 본 경우도 있었습니다. 경실련에서 산분해 간장 중에 들어있는 MCP(Monochloropropanol)나 DCP(Dichloropropanol)의 검출을 의뢰해서 분석을 진행하였습니다. 그런데 이 결과를 정치세력이 이용해서 곤경에 빠지게 되었고, 이를 계기로 분석서비스 제공도 중요하지만 행정적 절차와 서비스 제공 규정의 준수도 중요함을 새삼 느끼게 되었습니다.

국제적인 분석 실수로 인해 문제가 된 경우도 있었습니다. 국내 검역 기관에서 미국에서 수입되는 밀을 잘못 검사하여 오판함으로써 미국과 한국 사이에 큰 외교적 마찰을 일으켰던 일이었습니다.

미국의 밀 수출업자들은 변질을 방지하기 위해서 휘발성 유기인계 농약들을 첨가하였습니다. 그러나 이 물질들을 찾아내지도 못했을 뿐만 아니라 존재하지도 않은 비휘발성 Thiophanate Methyl(TM) 농약을 잔류로 판정해 통관거절을 함으로써 한국의 밀수입업자들만 손해를 많이 보았습니다.

그 당시 KIST의 분석센터에는 20년 이상된 숙련된 분석기술자들이 이동상의 극성을 바꾸는 등 분석조건의 조절 및 HRGC/MS를 통하여 휘발성 유기인계 농약 등이 있음을 밝혀냈으나 국익상 차마 발표를 하지 못한 것이 아쉬운 부분입니다. 한국정부는 미국밀을 통관하여 미국의 압력을 무마시켰고 이후 이것을 식용이 아닌 사료용으로만 판매 가능하도록 함으로써 밀 수입업자들의 손실이 매우 컸었습니다.

큰 폭풍 후 조용해진 약 3개월 뒤에 농림부장관이 미국에서 밀에 사용하는 농약의 허용기준치를 조용히 대폭 상향 조정하여 국민건강에 상당히 우려되는 조치를 취함으로써 미국에 대해 완전 항복과 적절한 배상을 해 준 사건으로, 국가분석기관의 저능력으로 인한 분석결과의 파급효과가 대단하다는 교훈을 얻은 경우이었습니다. 그 당시 이 사실을 알고 있었으나 정부관련기관이라 언론발표와 대처를 하지 못한 것이 매우 아쉽습니다.

한국분석과학의 발전을 위한 방안

2005년부터 2년 동안 국무조정실의 규제개혁심의관실 상임심의위원으로 근무하면서 환경부의 사전 환경성평가 등의 많은 법률제정에 일조를 하였고, 특히 하수처리장에 TMS 설치 관련법을 제정하는데 많은 도움을 준 것이 분석과학의 발전에 기여가 되었다고 생각합니다.

선진국을 포함하여 한국처럼 광범위하게 TMS 시설의 의무조항을 도입한 국가는 없지만, 설치시설 갯수가 적으면 기기의 국내 개발이 어려울 수 있다고 판단하여 점차적으로 한국 내 모든 하수처리장에 도입되도록 한 것이었습니다. 도입 초기에는 외국산 기기들만 사용되었던 것이 점차 국산기기의 비율이 높아지면서 한국분석과학의 수준이 향상되고 있음을 느낄 수 있었습니다.

한국의 분석과학 수준은 세계 선두와 어깨를 나란히 하는 듯 하지만, 실은 기초가 허약하여 마치 크리스마스 트리와 같은 상황이라 평가할 수 있습니다. 크리스마스 트리는 아름답고 현란한 장식물로 꾸며져 많은 사람들에게 즐겁고 멋진 감흥을 일으켜 정말 좋은 나무로 여겨지나 실은 뿌리가 없는 죽은 나무입니다.

저자는 미국에서 분석화학을 전공하며 공부할 때에 교수들이 강의하는 내용 및 깊이에 놀랐으나 알고 보니 한국에서 보던 참고 서적에 많은 부분이 이미 기술되어 있었습니다. 그러나 이러한 내용을 한국에서는 가르쳐 주는 교수와 학교가 없다 보니 생소한 느낌으로 매우 힘들게 과정을 마친 경험이 있습니다.

현재 한국의 분석과학분야는 세계 속에서 장래의 발전이 매우 우려할 수 있는 수준이라는 생각이 듭니다. 한국사람들은 손재주가 좋아서 기기의 사용에 있어서는 천부적 소질이 있는데 반하여, 원리 파악과 응용에는 너무 취약한 특징이 있습니다. 이것은 분석과학을 배울 때 기초적 이론만 일부 지도하고 강의할 뿐 실제상황의 연습문제들을 풀면서 진행하지 못하고 있습니다.

이런 교육을 받은 수강생들은 응용력있게 분석분야를 활용하는 것이 어려울 수밖에 없습니다. 대학교 및 학회와 교육단체에서 이론 및 문제풀이식 적용교육을 다양하게 실시하여야 고차원의 분석과학이 활용될 수 있습니다. 대부분 오해하기로는, 다양한 학문 및 응용분야에서 분석과학은 그냥 1~2시간 배워서 쓰는 기술로 취급함으로써 수준 높은 측정분석의 발전이 되지 않는 것이 매우 안타까운 현실입니다.

연구개발에서는 측정 분석할 수 있는 범위 만큼만 연구할 수 있습니다. 옛말에 부인의 치마폭 넓이 만큼만 남편의 활동범위가 정해진다는 얘기와 비슷합니다. 삼성의 세계적 반도체 연구도, 나노기술연구도, 식품, 의약품, 환경, 소재 관련 연구들은 적절한 분석기술의 도움이 없으면 창의적으로 진보된 연구가 불가능합니다. 이렇게 소중한 분석과학의 분야를 발전시키기 위한 방안에 관하여 몇 가지 제언하며 앞으로의 분석과학발전에 기여가 되기를 기대합니다.

첫째, 한국 분석과학의 현주소를 검토하고 잘하는 분야와 모자란 분야를 파악한 다음 어떻게 한국의 분석과학이 진행해야 되는지의 로드맵이 그려져 있어야 되리라 생각합니다. 적은 전문인력으로 광범위한 분야의 분석능력을 커버하기 위하여는 조직적인 분업 형태를 유지해야 할 필요성이 있습니다. 분석과학 전반적인 분야를 조사하고 평가하여 발전시킬 수 있는 상위의 조직 및 운영이 필요합니다.

둘째, 분석과학에 관련된 기초적인 강좌 등을 영상녹음 등 IT 기술을 접목한 대중매체를 통해 보급함으로써 학회 및 대학에서 심도있는 분석과학 이론교육의 질적 향상에 노력해야 합니다. 한국 분석과학의 기초실력이 너무도 허약하고 교육기관도 부족하여 한국만의 특별한 방안을 구축하지 않으면 영원히 분석기기 및 분석방법의 종속국가로 남아있을 것입니다.

셋째, 기기별, 매트릭스별, 분석분야별, 기관별, 학술단체별 소그룹이나 연구회, 분과회에서 교류 모임체계를 구축하여 적은 인원으로 많은 분야의 정보와 기술축적을 교류할 수 있는 체계로 운영을 해야 합니다. 가능하면 자체나 정부보조를 받아서 분야별 간단한 분석기술서적을 발간하여 상호 소통을 증대시켜야 합니다.

넷째, 국산 기기를 만들기 위해서는 전문적인 전자공학, 기계공학, 컴퓨터공학과 더불어 분석과학자들 및 사업가들의 연대가 필요한데, 한국에서 어렵기는 하지만 조합이나 학술단체, 정부출연기관의 주도로 조속히 협력체계를 구축해야 합니다. 그 래야만 외국에서 들어오는 기종도 다양해지고 수준도 높아질 수 있습니다.

다섯째, 분석결과의 해석기법에 관련된 모임도 활성화해야 합니다. '기기분석 후 결과를 얻으면 끝이다.'라고 생각하는 경우가 많은데, 실은 그 데이터를 어떻게 해석하느냐가 분석과정에서 매우 중요한 역할을 하기 때문입니다.

여섯째, 측정분석 실험실 간 정도관리(interlab correlation) 교류를 좀 더 활성화하여 상호 신뢰도 수준을 향상할 필요성이 있습니다. 측정분석을 시행하면 결과치는 나오지만 그것이 정확하고 신뢰성이 있느냐는 다른 차원의 문제입니다.

일곱째, 국제적인 학술단체와의 교류를 증대하여 한국의 분석과학이 세계 속에서 중요한 역할을 할 수 있도록 전문가들과의 교류를 활성화 하여야 합니다.

분석과학과 다른 연구분야와 사업체는 물과 물고기와 같은 존재입니다. 즉 연구분야와 사업기관이 물이고 분석과학분야가 물고기입니다. 분석과학이 연구분야와 좀더 유기적으로 협력하

고 지도하며 도와줄 때 연구활성화와 분석과학분야의 위상상승이 이루어 질 수 있을 것입니다.

분석과학의 진도를 위해 해야 할 일들이 많다는 생각으로 분석과학분야의 조직적 구성과 연구, 산업분야와의 유기적이고 효율적인 교류를 통해 상호 발전의 시너지를 창출할 것을 기대합니다. 물고기는 물을 떠나서 살 수가 없으니까요. 

미생물 대사체 분석시 Sample preparation 최적화의 중요성

글 | 김경현 교수(고려대학교 생명과학대학 식품공학과)

서론

대사체학(metabolomics)은 살아있는 유기체의 전체적인 대사체, 그리고 그 변화를 분석하는 분야로, 크게 세 단계의 분석과정으로 진행된다. 첫 번째는 대사체를 추출하는 단계(sample preparation), 두 번째는 분석장비를 이용한 대사체의 분석, 마지막으로 분석 결과에 대한 통계적, 생물학적 해석의 과정을 거친다. 정확한 대사체 데이터를 얻기 위해서는 재현가능하고 최적화된 샘플 준비과정과 가능한 많은 대사물질을 분석할 수 있는 조건에서의 정확한 분석이 이루어져야 하며, 얻어진 데이터에 대한 정확하고 다각적인 해석이 이루어져야 한다.

Sample preparation은 세포 내 대사반응 및 효소반응을 정지시키는 quenching, 그리고 cellular metabolites를 추출하는 extraction의 과정을 거친다. 미생물 대사체 분석에 있어서 정확한 데이터를 얻기 위해서는 각 미생물에 최적화된 sample preparation이 필수적으로 선행되어야 한다. 이를 위한 다양한 sample preparation 방법이 시도되어 왔으며, 각기 다른 미생물에 대해 sample preparation의 최적화가 필요하다.

가장 널리 사용되어 온 quenching method인 cold methanol quenching의 경우 cell leakage로 인해 상당한 양의 세포 내 대사물질이 손실된다는 것이 보고되었다. 이에 대한 대안으로 fast filtration method가 개발되었으나 대상 미생물에 따른 조정이 필요하다. Quenching 혹은 fast filtration 후에 extraction을 진행한다.

Extraction solvent로는 *Saccharomyces cerevisiae*의 경우 boiling ethanol이 흔히 사용되어 왔으며, 이외에도 cold methanol, cold chloroform, cold perchloric acid 등의 다양한 물질이 extraction solvent으로 사용된다. 미생물의 종류에 따라 세포벽과 막의 구조가 다르기 때문에 최적의 extraction solvent 또한 달라져야 한다. 본문에서는 세포 내부의 대사물질을 측정하기 위한 sample preparation의 최적화에 대해 다루고자 한다.

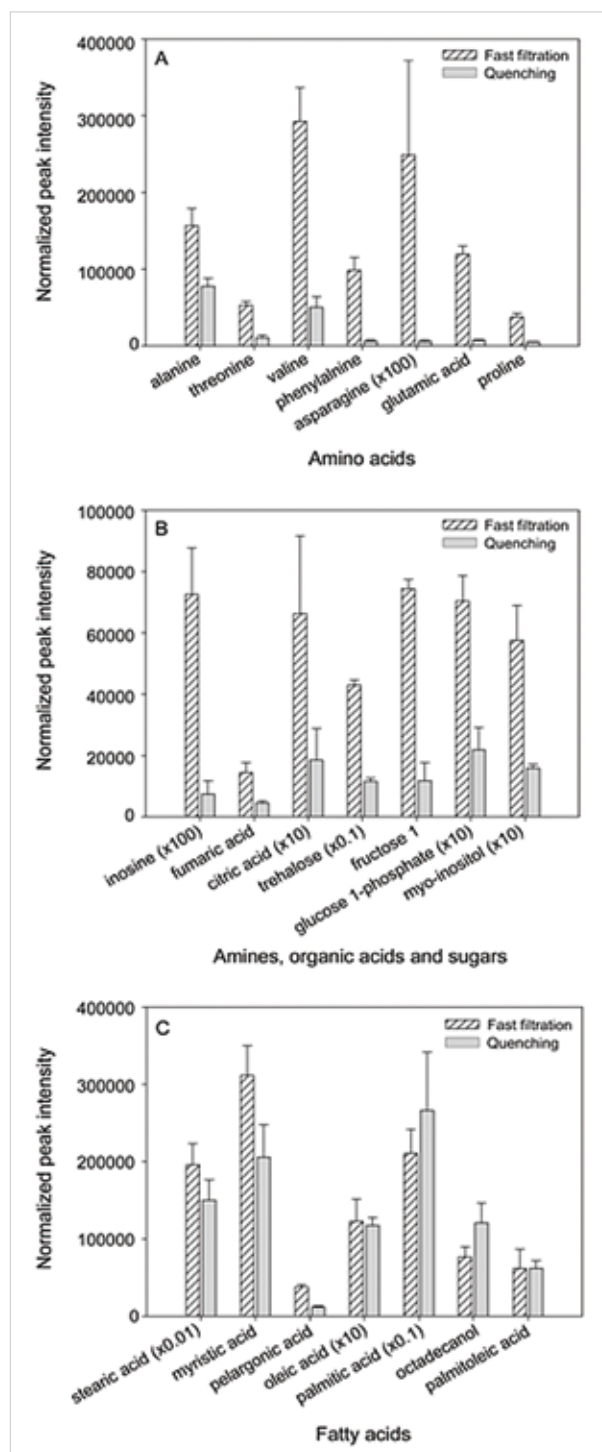
기기분석 조건

분석장비로는 Agilent 7890A GC가 연결된 TOF MS를 사용하였다.

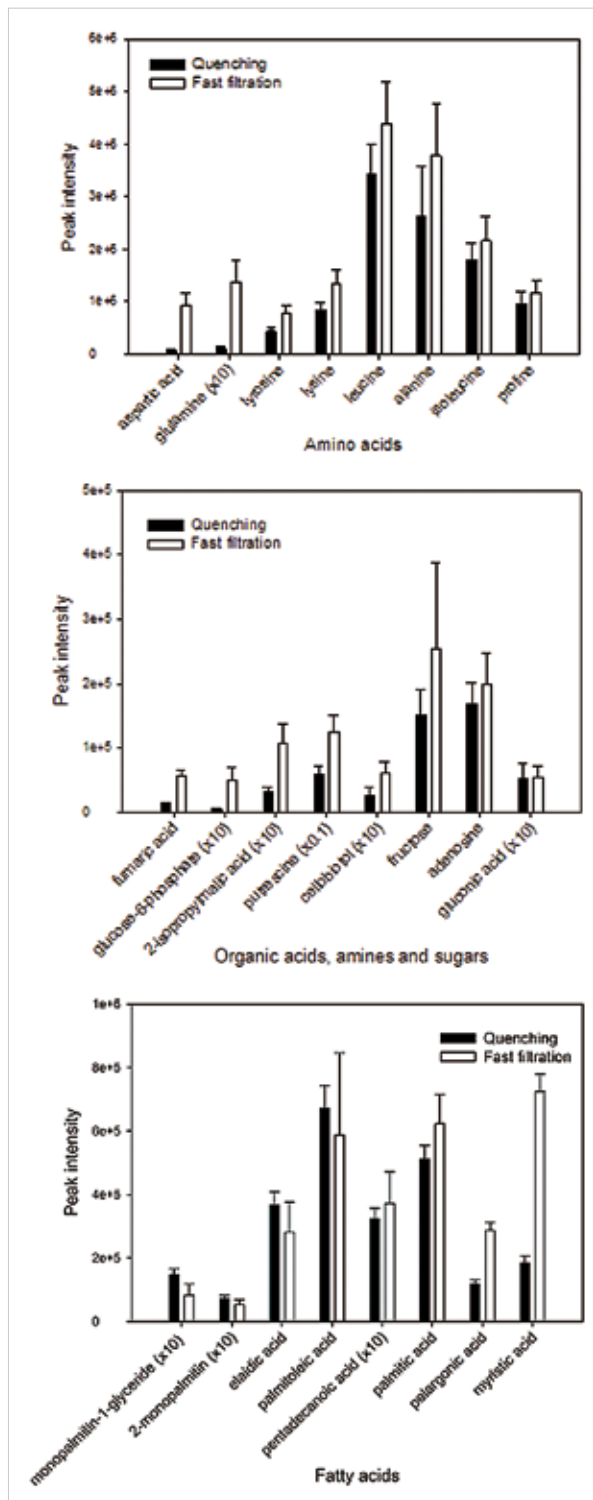
〈표 1〉 기기분석 조건

Column	RTX-5Sil MS column(30 m×0.25 mm, 0.25 μm film thickness) and an additional 10 m long integrated guard column
Injection	1 μL aliquot, splitless mode
Oven temperature	50 °C for 1 min, followed by ramping to 330 °C at 20 °C / min, Final holding for 5 min
Mass spectra	Mass range of 85 – 500 m/z at an acquisition rate of 10 spectra / s
Ion source	250 °C
Transfer line	280 °C
Electron ionization	70 eV

Quenching / fast filtration



〈그림 1〉 *S. cerevisiae*에서의 cold methanol quenching과 fast filtration의 비교 (출처: Kim, S et al. Analytical Chemistry, 2013)



〈그림 2〉 *Saccharophagus degradans*에서의 cold methanol quenching과 fast filtration의 비교 (출처: Shin, MH et al. Analytical Chemistry, 2010)

앞서 언급한대로 cold methanol quenching법은 cell leakage로 인한 세포 내 대사물질의 손실이 일어날 수 있으며 이는 곧 데이터의 손실을 의미한다. <그림 1>은 *S. cerevisiae*에서 cold methanol quenching과 fast filtration을 각각 시행했을 때의 대사물질별 peak intensity의 차이를 보여준다.

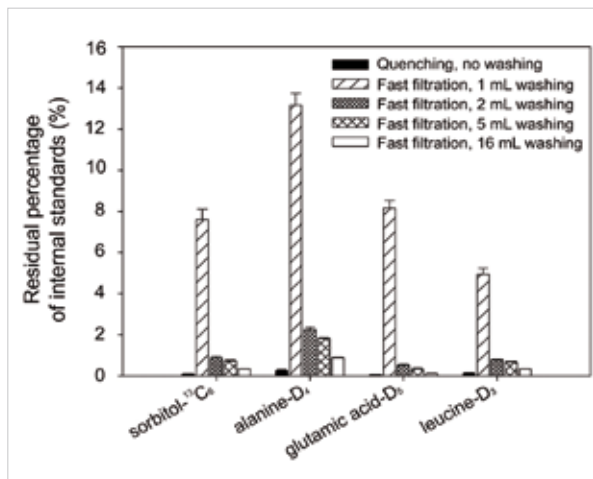
Cold methanol quenching의 경우, -40°C 의 순수한 메탄올을 사용하여 quenching한 후 extraction solvent로 -20°C 의 순수한 메탄올을 사용했다. 이때 washing은 하지 않았다. Fast filtration의 경우 washing volume은 5 mL로 하였고 extraction은 cold methanol quenching한 샘플과 동일하게 했다.

*S. cerevisiae*에서 fast filtration 방법을 시행했을 경우에, cold methanol quenching을 사용했을 때보다 대부분의 대사물질의 peak intensity가 유의적으로 높았다. 이 결과를 통해 fast filtration 방법이 *S. cerevisiae*에서 cell leakage에 의한 세포 내 대사물질의 손실을 억제하고 비교적 온전한 데이터를 제공함을 확인했다. 이와 유사한 양상을 그람 음성균인 *Saccharophagus degradans*에서도 관찰하였다.

Washing

세포 내 대사체를 분석할 때는, 세포 외부의 대사물질이나 배지 성분을 제거하기 위해 sample preparation 과정 중 sample washing이 필요하다. 하지만 그람 음성균의 경우 cold methanol quenching 이후 washing을 거치면 많은 양의 세포 내 대사물질의 손실이 일어나며 이와 같은 손실은 *S. cerevisiae*에서도 관찰된다. Cold methanol quenching에서는 quenching 과정에서 대부분의 세포 외부의 대사물질이나 배지성분이 제거되지만 fast filtration에서는 washing 과정이 필수적이다.

<그림 3>은 isotope를 이용해 washing의 효과를 나타낸 것이다. Isotope로는 sorbitol- $^{13}\text{C}_6$, alanine-2,3,3,3- d_4 , glutamic acid-2,3,3,4,4- d_5 , leucine-2,3,3- d_3 의 4종류를 사용했으며 quenching 및 fast filtration 직전에 각각의 최종 농도가 0.08mg/mL의 되도록 넣어주었다. 그 후 초기값 대비 기기분석 과정까지 잔류하는 isotope의 양을 나타내었다.



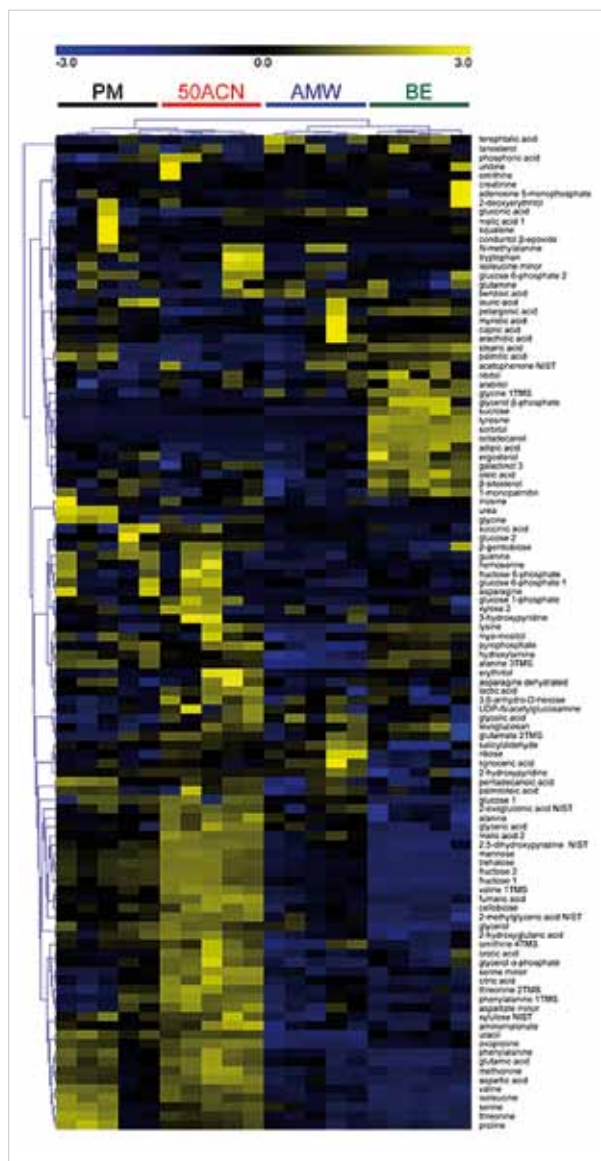
<그림 3> Washing의 효과 (출처: Kim, S et al. Analytical Chemistry, 2013)

Cold methanol quenching의 경우, 거의 모든 isotope가 제거된 것을 확인할 수 있다. Fast filtration의 경우 washing volume이 1 mL일 때에는 상당히 많은 양의 isotope가 잔류했지만 washing volume이 2 mL, 5 mL, 16 mL일 때에는 각각의 washing volume에 따른 큰 차이를 보이지 않았다.

하지만 washing volume이 너무 커지면 세포 내 대사물질의 손실 가능성이 있다. Washing의 목적을 달성하면서 동시에 세포 내의 대사물질을 많이 손실하지 않는 수준의 최적 washing volume을 찾아야 한다. 위의 실험에서는 *S. cerevisiae*에 대한 최적 fast filtration washing volume이 5 mL이라는 것을 확인했다.

Extraction

Cold methanol quenching 또는 fast filtration을 통해 얻은 샘플에서 세포 내 대사물질을 얻는 extraction 과정이 필요하다. 이때 가장 이상적인 결과는 최대한 많은 종류의 대사물질을 높은 수준으로 재현 가능하게 얻는 것이다. 이를 위해 대상 미생물에 최적화된 extraction 조건과 extraction solvent를 선정해야 한다. 아래 실험에서 -20°C 에서 acetonitrile/water 혼합물(1:1, v/v)이 *S. cerevisiae*에 대해 기존에 널리 사용되던 boiled ethanol 등에 비해 좋은 성능을 보여준다는 것을 확인했다(<그림 4>).



(그림 4) *S. cerevisiae*의 hierarchical clustering analysis 결과
(출처: Kim, S et al. Analytical Chemistry, 2013)

Extraction solvent로는 pure methanol(PM, 1:1, v/v), acetonitrile/water 혼합물(50ACN, 1:1, v/v), acetonitrile/methanol/water 혼합물(AMW, 2:2:1, v/v/v), boiling ethanol(BE, 75%, v/v)의 네 종류가 사용되었으며 boiling ethanol은 95 °C에서, 나머지 세 종류는 -20 °C에서 extraction을 했다. Sample preparation은 fast filtration으로, washing volume은 5 mL로 했다.

네 종류의 extraction solvent 중 50ACN에서 가장 많은 대사 물질이 확인되었고 peak intensity의 평균값도 가장 높았다. *S. cerevisiae*에서는 50ACN이 가장 좋은 성능을 보인 반면에 *Clostridium acetobutylicum*에 대해서는 pure methanol이 가장 좋은 성능을 보였다. 이 결과는 미생물 대사체 샘플을 분석할 때 각 미생물에 최적화된 sample preparation method가 필요하다는 것을 나타내고 있다.

맺음말

서로 다른 미생물의 대사체 분석을 위해서는 각 미생물에 대한 최적화된 sample preparation 과정이 꼭 필요하다. 이 과정이 선행되지 않으면 cell leakage, 적절하지 못한 extraction solvent의 선정 등으로 데이터의 손실이 유발될 수 있으며 이는 결과 해석에 악영향을 미친다.

본 실험실에서는 *S. cerevisiae* 외에 *S. degradans*, *C. acetobutylicum* 대사체 분석을 위한 sample preparation 최적화에 관한 연구도 진행한 바 있다. 이와 같은 sample preparation에 관한 연구를 통해 데이터 손실을 최소화하고, 실제 세포 내의 대사체 정보를 반영할 수 있으며 이는 실험을 통해 얻을 수 있는 데이터의 질적 향상으로 연결된다. 

[참고문헌]

1. Min Hye Shin, Do Yup Lee, Kwang-Hyeon Liu, Oliver Fiehn, Kyoung Heon Kim. Evaluation of sampling and extraction methodologies for the global metabolic profiling of *Saccharophagus degradans*. *Analytical Chemistry* 82(15):6660-6666 (2010)
2. Sooah Kim, Do Yup Lee, Gert Wohlgemuth, Hyong Seok Park, Oliver Fiehn, Kyoung Heon Kim. Evaluation and optimization of metabolome sample preparation methods for *Saccharomyces cerevisiae*. *Analytical Chemistry* 85(4):2169-2176 (2013)
3. Sang-Hyun Lee, Sooah Kim, Min-A Kwon, Young Hoon Jung, Yong-An Shin, Kyoung Heon Kim. Atmospheric vs. anaerobic processing of metabolome samples for the metabolite profiling of a strict anaerobic bacterium, *Clostridium acetobutylicum*. *Biotechnology and Bioengineering* 111(12):2528-2536 (2014)

수질오염공정시험기준 일부개정 고시



2015년 12월 28일, 환경부고시 제2015-238호에 따라 수질오염 공정시험기준 일부가 개정되었다. 본 일부개정 고시는 앞서 11월 25일 발표된 수질오염물질의 추가 지정·관리의 후속조치로 판단된다. 따라서, 본 자료에서는 수질오염물질의 추가 지정·관리와 수질오염공정시험기준 일부개정에 대해 정리해 보고자 한다.

수질오염물질의 추가 지정·관리

“스티렌, 비스(2-에틸헥실)아디페이트, 안티몬 등 3종”

2015년 11월 25일 입법예고된 ‘수질 및 수생태계 보전에 관한 법률’ 시행규칙 일부 개정안의 주요 내용은 신규 수질오염물질 지정·관리에 대한 것이다. 스티렌, 비스(2-에틸헥실)아디페이트, 안티몬 등 3종이 신규지정되었다. 수질오염물질⁽¹⁾로 신규지정됨에 따라 수질오염물질 대상이 현행 53종에서 56종으로 확대된다. 특히 이 3종의 물질은 특정수질유해물질⁽²⁾로도 지정되어 특정수질유해물질 대상이 현행 28종에서 31종으로 늘어난다.

⁽¹⁾ 수질오염물질 : 수질오염의 요인이 되는 물질

⁽²⁾ 특정수질유해물질 : 수질오염물질 중에 사람의 건강이나, 동·식물의 생육에 직접 또는 간접으로 심각한 위해를 줄 수 있어 별도의 관리가 필요한 물질

스티렌은 화학물질 제조시설 등에서 생성되는 물질로 과다 섭취할 경우 인체에 중추신경과 각막 손상 등의 부작용이 나타난다.

다. 비스(2-에틸헥실)아디페이트는 화학물질 제조시설, 안티몬은 금속제품 제조시설에서 주로 발생하며 인체에 위장 염증, 복통 등을 유발한다.

배출허용기준 및 특정수질유해물질 배출시설 적용기준 설정

스티렌, 비스(2-에틸헥실)아디페이트, 안티몬 등 3종의 물질에 대한 배출허용기준이 <표 1>과 같이 마련되었다. 또한 기존 수질오염물질 중 배출허용기준이 없었던 퍼클로레이트와 아크릴아미드 등 2종의 물질에 대해서도 함께 마련되었다. 특정수질유해물질 배출여부를 판단하는 적용기준이 미설정된 7개 물질의 수질환경기준, 먹는물 기준, 배출허용기준(청정)을 고려하여 적용기준을 마련하였다. 퍼클로레이트의 경우 일반수질오염물질로 분류되어 특정수질유해물질 배출여부를 판단하는 적용기준에 포함되지 않는다.



배출허용기준은 시행규칙이 개정·공포되면 즉시 적용되지만 신규 지정된 물질(스티렌, 비스(2-에틸헥실)아디페이트, 안티몬)의 경우에는 산업계의 충분한 적응기간 부여를 위해 2019년 1월 1일부터 적용된다.

〈표 1〉 배출허용기준 및 적용기준 설정(안)

물질명	구분	배출허용기준(mg/L)		적용기준 (mg/L)	비고 (적용기준 근거)
		청정	가/나/특례		
스티렌	신규(특정)	0.02	0.2	0.02	청정
비스(2-에틸헥실) 아디페이트	신규(특정)	0.2	2	0.2	청정
안티몬	신규(특정)	0.02	0.2	0.02	수질환경기준
퍼클로레이트	기존(일반)	0.03	0.3		일반물질
아크릴아미드	기존(특정)	0.015	0.04	0.015	청정
나프탈렌	기존(특정)	0.05	0.5	0.05	청정
폼알데하이드	기존(특정)	0.5	5	0.5	먹는물 기준
에피클로로하이드린	기존(특정)	0.03	0.3	0.03	청정

* 신규제정된 항목은 음영으로 표기

수질오염공정시험기준 일부개정

“다이에틸헥실아디페이트, 아크릴아미드, 스타이렌 등 3종 시험기준 추가”

수질오염물질의 추가 지정·관리에 따라 수질오염공정시험기준에 다이에틸헥실아디페이트, 아크릴아미드, 스타이렌 등 3종의 물질에 대한 수질오염공정시험기준이 신규로 추가되었다. 다이에틸헥실아디페이트(비스(2-에틸헥실)아디페이트와 동일 성분), 스타이렌(스티렌과 동일 성분) 등 2종은 앞서 설명한 수질오염물질의 추가 지정·관리에 따른 것이다. 안티몬의 경우 수질오염공정시험기준이 이미 설정되어 있었다.

〈표 2〉 물질별 시험기준 및 정도관리 목표값

분류	시험기준 번호	물질명	전처리법	분석기기	정량 한계
휘발성 유기화합물	04505.1	다이에틸헥실 아디페이트	용매추출	기체크로마토그래피- 질량분석법(GC/MS)	0.0025 mg/L
	04609.1	아크릴아미드	브롬화 유도체화 후 용매추출	기체크로마토그래피- 질량분석법(GC/MS)	0.005 mg/L
	04609.2	아크릴아미드	여과	액체크로마토그래피- 텐덤질량분석법(LC/ MS/MS)	0.006 mg/L
	04610.1	스타이렌	헤드스페이스	기체크로마토그래피- 질량분석법(GC/MS)	0.006 mg/L
	04610.2	스타이렌	퍼지·트랩	기체크로마토그래피- 질량분석법(GC/MS)	0.006 mg/L

추가된 1종은 아크릴아미드로 기존에 수질오염물질과 특정수질 유해물질로는 지정되어 있었으나, 수질오염공정시험기준이 없었던 것이 금번에 추가된 것이다. 추가된 3종 시험기준은 고시한 날부터 시행한다. 추가된 3종의 물질별 시험기준 및 정도관리 목표 값은 〈표 2〉와 같다.

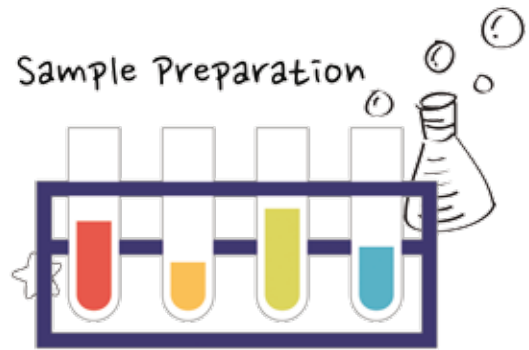
다이에틸헥실아디페이트의 경우, 분석기기로 기체 크로마토그래피-질량분석법을 사용하는 1가지 시험기준으로 추가되었고, 아크릴아미드와 스타이렌은 분석기기 및 전처리법에 따라 각각 2가지 시험기준으로 추가되었다. 아크릴아미드의 경우, 분석기기에 따라 기체 크로마토그래피-질량분석법과 액체 크로마토그래피-질량분석법 등 2가지로 추가되었다. 스타이렌의 경우, 분석기기는 기체 크로마토그래피-질량분석법으로 동일하나 전처리법에 따라 헤드스페이스, 퍼지·트랩 2가지로 추가되었다.

정도관리 항목 중 정량한계에 대해서는 각 분석법별로 〈표 2〉에 나타내었다. 검정곡선은 결정계수(R^2)값이 0.98보다 크거나 감응계수(RF)의 상대표준편차가 25% 이내이어야 한다. 정밀도는 상대(표준)편차가 25% 이내로 하며, 정확도는 75%~125% 이내이다. 각 분석법별 상세한 분석절차와 정도관리 목표값은 수질오염공정시험기준에 나타나 있다. 

※ 참고자료

- 환경부 홈페이지(www.me.go.kr)내 알림/홍보-뉴스·공지-보도·해명자료 “물환경 보전 위해 수질오염물질 추가 지정·관리한다”
게시물(2015.11.25) 및 보도자료
- 환경부고시 제2015-238호 “수질오염공정시험기준 일부개정 고시”
(2015.12.28)

무기 시료전처리 솔루션



원자흡수분광법(Atomic Absorbption Spectrophotometry, AAS), 유도결합 플라즈마 분광법(Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry, ICP-AES) 및 ICP-MS에 의해 시료 중의 금속 원소들을 정량하기 위해서는 대부분의 경우, 어떠한 방법으로든지 시료를 분해시켜 투명용액으로 만들어야만 한다.

AA는 시료 중의 금속원소에 에너지를 가하여 여기시키는 과정에서 흡광도를 측정하며, ICP는 여기된 원소가 안정화되면서 방출하는 스펙트럼을 분석하게 된다. 이때 가장 중요한 단계는 원자화 과정으로서 시료 중의 수분이나 휘발성 용매를 제거하는 건조과정, 유기물을 산화시키는 회화과정 그리고 원소를 원자화시키는 과정 등 3단계로 이루어진다.

AA 및 ICP에서 원자화 장치에 시료가 머무르는 시간은 대개 0.05~0.5초 정도이며 순간적으로 3가지 작업이 이루어져야 하는데 시료에 유기물이 다량 함유되어 있거나 금속원소가 불용성 물질 또는 착화합물을 형성하고 있을 경우 시료의 회수율이 좋지 않기 때문에 시료전처리는 불가피한 것이다.

이상적인 AA/ICP 시료

- 주입이 용이한 수용액 상태
- 입자가 완전히 제거된 상태(튜브 오염 또는 분무 노즐이 막힐 수 있음.)
- 유기물의 완전 제거(Flame에 의한 연소 방해 또는 Background noise로 작용할 수 있음.)
- 낮은 점도 유지

시료전처리의 중요성

분석 원소의 손실이나 오염 없이 시료를 전처리 하는 기술은 분석기기를 작동시키는 기술보다 훨씬 중요한 일로서 풍부한 경험에 있어야만 하며 고도의 기술을 요구하는 과정이다. 아무리 성능이 우수한 기기를 이용하더라도 시료의 전처리가 잘못되면 정확한 분석결과를 얻을 수 없음은 물론 정밀성 조차 기대할 수 없다.

미국에서 조사한 “분석 과정에서 발생할 수 있는 오차”에 관한 연구에 의하면, 시료전처리 과정에서 전체 오차의 30%에 달하

Sample Preparation Solution

시료전처리 솔루션 연재 시리즈

1. 시료전처리 선택 가이드
2. VOCs 시료전처리 솔루션
3. SVOCs 시료전처리 솔루션
4. 열탈착시스템을 이용한 시료전처리 솔루션
5. 고분자 시료전처리 솔루션
6. 무기 시료전처리 솔루션

는 오차가 발생할 수 있다고 한다. 또한, 시료전처리 과정 이외의 오차는 쉽게 컨트롤 할 수 없는 오차이기 때문에 정밀하고 정확한 분석을 위해서는 반드시 시료전처리에 의한 오차를 줄여야 한다.

마이크로웨이브 산분해법의 장점은?

- 가열 및 냉각속도가 빠릅니다. 마이크로웨이브는 시료를 직접적으로 가열시키므로, 기존의 방법에 비해 최고 100배 빠르게 산분해 할 수 있습니다.
- 에너지를 컨트롤 할 수 있어 언제라도 재현성있는 결과를 산출할 수 있습니다.
- 흔히 사용되는 시약(질산)만으로 대부분의 시료를 산분해 할 수 있습니다. 다루기 힘든 과염소산, 황산과 같은 위험한 산을 사용하지 않아도 됩니다.
- 비용절감의 효과가 큼니다. 산 사용량, 전기료 등 부가적인 비용절감 효과가 큼니다.
- 휘발성 원소의 손실을 막을 수 있습니다.
- 외부의 오염을 완벽히 차단시킵니다.
- 고온, 고압의 조건으로 난분해성의 시료도 더욱 정밀하게 분해할 수 있습니다.

원리

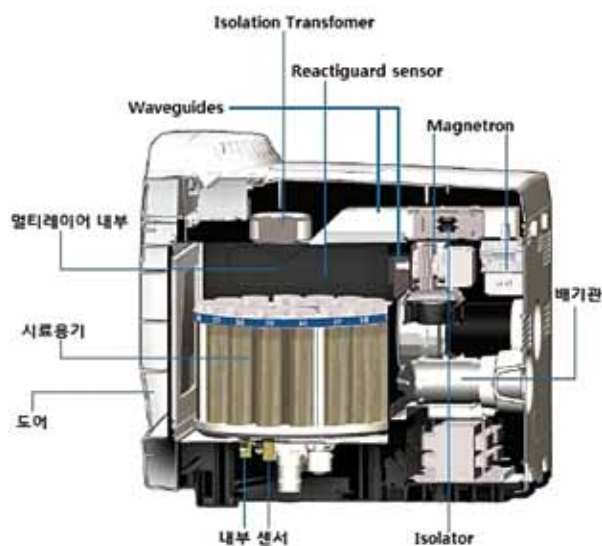
마이크로웨이브는 극성물질(Solvent, Sample)의 쌍극자 회전(Dipole rotation)과 이온 전도도(Ionic conduction)를 유발한다. 2,455 MHz의 마이크로웨이브는 시료 및 용매의 고유 성질인 극성 또는 이온 전도성을 이용하여 물질의 회전, 진동운동을 초당 40억 회 유발하며 이때 발생하는 물질 간의 마찰열에 의해 신속한 온도 상승이 이루어진다. 즉, 마이크로웨이브 그 자체가 물질에 어떠한 화학적 조작을 가하는 것이 아니라, 시료 용기 내부 시료 용액 자체의 고유 성질에 의한 마찰열에 의해 시료가 가열되는 것이다.

그러므로 용매 선택에 있어 일차적으로 추출 및 분해하고자 하는 시료의 목적성분에 선택적이고 친화력이 큰 용매를 선택하는 것이 중요하다. 극성 또는 이온화율이 큰 용매일수록 보다 높은 추출 및 분해효율을 얻을 수 있다. 일반적으로 대부분의 산은 극성이 크므로 마이크로웨이브에 의해 신속하게 가열된다.

마이크로웨이브를 이용한 산분해 전처리는 시료를 신속히 가열하므로 전처리 시간을 획기적으로 단축하는 것은 물론 시료 오염과 실험자가 위험한 산에 노출되는 것을 막아주며, 마이크로웨이브의 신속한 가열 특성과 진보된 반응 control 방식으로 보다 빠르고 안전하며 효율적으로 시료를 전처리 할 수 있다.

CEM사의 MARS 6는 밀폐형 전처리 시스템으로 시료와 산을 용기에 담고 sealing 후 고온, 고압에서 시료를 분해하는 장치이다. 최고 1,800 psi까지 견딜 수 있는 고압용 vessel을 사용하여 전처리하므로 분해가 어려운 시료도 쉽게 처리할 수 있으며, 고압으로 인하여 vessel이 파손되는 등의 위험성을 배제할 수 있다.

구성



응용

- 보건환경분야 : 혈액, 뇨, 수질, 분진 등의 유해물질 분석
- 식품 분야 : 농·수·임산물 및 제 가공식품 중의 유해 중금속 및 필수 금속 분석
- 제약 분야 : 각종 의약품 중의 유해 중금속, 필수금속 분석
- 공업 분야 : 각종 제품의 원료 및 첨가제 중의 불순물 분석
- 아미노산 분석을 위한 단백질과 펩타이드 가수분해

- 시료 건조
- 전질소 및 인의 총량 분석(단, 켈달분석 불가)
- Metal oxide nanopowders
- Composite materials
- Photocatalysts, Zeolites
- Nanoporous materials
- Molecular sieves
- Gold nanorods

전처리 과정

- ① 분석용 검체 일정량을 가지고 가루로 만들어 약 0.1~0.5 g을 마이크로웨이브 시료전처리장치 전용용기에 넣고 시료에 따라 알맞은 산 일정량을 넣는다.
- ② 분해가 잘 되지 않는 경우 혼합산 또는 30% 과산화수소 1~2 mL를 첨가한다(시료에 알맞은 산을 선택하기 위한 method development가 중요함).
- ③ 용기를 후드 안에 정치시켜 발생 가스를 제거하고 마이크로웨이브 시료전처리장치를 사용하여 분해한다.
- ④ 분해가 끝난 다음 분해액을 여과지로 여과하여 용량플라스크에 넣고 물을 넣어 적절하게 표준액의 농도범위로 희석하여 검액으로 한다.
- ⑤ 따로 시료와 동일한 산 일정량을 마이크로웨이브 시료전처리장치 전용 용기에 넣어 검액조제와 같은 방법으로 조작하여 공시험액으로 한다.

결과 DATA

각 시료(유청 단백질, Ensure, Nature valley, Power bar, Rice flour, Typical diet)를 주어진 분석법에 따라 분해한 후 ICP로 분석한 데이터이다. 이때 As, Hg, Pb, Sb, Se, Sn 원소를 스파이킹 하였다. 그 결과를 <SPIKED RECOVERIES> 표에서 확인할 수 있다.

또한 Rice flour, Typical diet, Infant formula 형태의 SRM에서 Fe 성분의 회수율 결과를 <IRON RECOVERIES FOR SRMs> 표에서 볼 수 있다. 

METHOD PARAMETERS

Ramp 20 min / Hold 15 min / Temperature 210 ℃

PROCEDURE

Weighed out 0.5~2.0 grams of sample.
10 mL water / 9 mL HNO₃ / 0.5 mL HCl / 0.5 mL 50 ppm spike

RESULTS



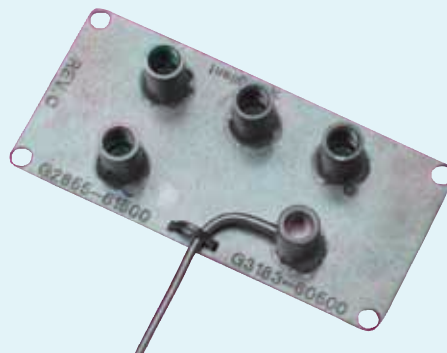
SPIKED RECOVERIES

		As	Hg	Pb	Sb	Se	Sn
Whey Protein 1 g	Average	26.85	23.98	28.69	24.39	30.18	24.29
	% RSD	1.61	1.26	2.61	1.77	3.19	1.02
	% Recovery	107.40	95.91	114.77	97.58	120.70	97.15
Whey Protein 2 g	Average	26.64	22.90	25.38	23.98	27.11	24.17
	% RSD	2.64	2.19	3.76	3.72	2.08	2.84
	% Recovery	98.56	91.59	101.50	95.93	106.44	96.68
Ensure 0.5 g	Average (ppm)	25.85	23.30	26.95	24.25	28.34	24.41
	% RSD	1.60	0.70	5.54	0.35	5.41	1.01
	% Recovery	103.40	93.21	107.81	97.01	113.34	97.63
Ensure 1.0 g	Average (ppm)	25.18	22.28	27.13	22.52	27.60	22.97
	% RSD	2.26	3.77	2.63	5.97	3.46	6.99
	% Recovery	100.74	89.13	108.54	90.08	110.41	91.88
Ensure 1.5 g	Average (ppm)	24.86	22.72	26.10	23.59	27.82	23.60
	% RSD	0.28	2.37	2.52	3.43	0.27	3.83
	% Recovery	99.46	90.89	104.39	94.35	111.27	94.38
Nature Valley 1 g	Average (ppm)	26.15	24.83	27.31	24.33	28.94	24.70
	% RSD	2.28	3.23	3.30	3.66	2.32	2.63
	% Recovery	104.13	96.52	87.39	94.46	110.31	93.98
Power Bar 1 g	Average (ppm)	25.47	23.72	27.35	23.96	26.52	24.41
	% RSD	2.20	2.72	2.88	4.03	2.34	4.62
	% Recovery	101.12	92.40	88.21	93.02	108.09	93.26
Rice Flour 1 g	Average (ppm)	27.25	25.44	27.66	25.11	29.77	25.74
	% RSD	9.45	9.09	7.69	9.59	8.64	9.40
	% Recovery	108.07	99.49	99.12	98.48	113.27	100.07
Typical Diet 1g	Average (ppm)	28.20	25.78	30.06	26.44	32.19	38.54
	% RSD	17.30	16.74	13.98	17.03	18.65	12.39
	% Recovery	112.56	100.91	98.22	102.33	124.28	103.40

IRON RECOVERIES FOR SRMs (Standard Reference Material)

Rice Flour 1 g	Average	7.61
	% RSD	2.73
	% Recovery	102.5
Typical Diet 1 g	Average	29.78
	% RSD	1.27
	% Recovery	95.16
Infant Formula 1 g	Average	163.2
	% RSD	3.26
	% Recovery	92.95

Agilent GC, GC/MS Capillary Flow Technology : Splitters



한 번 주입으로 여러 종류의 GC 검출기를 사용한 결과를 얻을 수 있는 방법

복잡한 시료를 분석할 때에는 분석법에서 요구하는

- (1) 검출 한계를 맞추기 위해
- (2) 매질의 방해요소를 제거하기 위해
- (3) 미지의 성분을 확인하기 위해

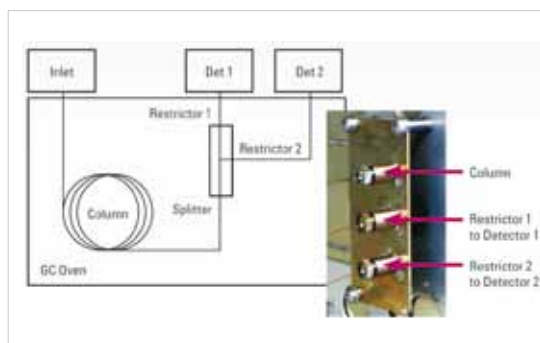
서로 다른 선택적인 GC 검출기가 필요한 경우가 많다. 또한, 반박할 여지가 없는 데이터를 얻기 위해서 질량분석기가 필요한 경우도 있다. 이런 경우, 서로 다른 선택적인 검출기의 결과를 얻기 위해서 동일한 시료를 서로 다른 검출기를 가지고 있는 여러 대의 GC에 여러 번 주입해야 한다.

이런 경우, Capillary Flow Technology Splitter를 이용하면 한 개의 컬럼에서 서로 다른 2개 또는 3개의 검출기로 시료를 이동시킬 수 있어 한 번 주입으로 여러 검출기의 결과를 동시에 얻을 수 있다. 즉, 분석 시간을 획기적으로 줄일 수 있다. Splitter는 예전부터 사용되어 왔지만, Agilent의 inert Capillary Flow Technology Splitter는 하드웨어에서 많은 기술적인 진보가 있었다.

비활성 표면은 피크 tailing과 성분의 손실을 예방하고, 낮은 열용량을 가지고 있어 오븐 온도에 아주 근접하게 따라갈 수 있으며, 적은 dead volume으로 피크 broadening을 최소화하며, metal ferrule과 fitting은 반복적인 분석에서도 leak가 발생하지 않도록 설계되었다. Agilent에서 제공하는 splitter는 다음의 3종류가 있다.

1. Two-way splitter without makeup gas

이 장치는 하나의 컬럼에서 나오는 유량을 두 개의 서로 다른 검출기로 나눠준다. 이것은 컬럼이나 분석 조건을 자주 변경하지 않는 장비에 적합하다. 또한, 컬럼 유량을 2 mL/min 이상

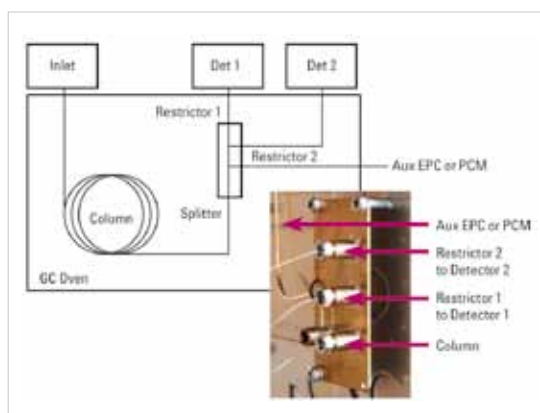


〈그림 1〉 Two-way splitter without makeup gas의 연결 유로

으로 사용하고, 진공이 걸리지 않는 검출기에 적합하다. MSD 에도 사용할 수도 있으나, 설치 시에 주의가 필요하며, MSD 에는 two-way 또는 three-way splitter with makeup gas 를 추천한다.

2. Two-way splitter with makeup gas

이 장치는 EPC에 의해 makeup gas를 공급한다. Aux EPC를 사용하여, splitter를 알고 있는 일정한 압력으로 유지시키며, 그로 인해 MSD와 같은 진공 검출기에도 쉽게 적용할 수 있다. Makeup gas가 일정한 압력으로 공급되기 때문에

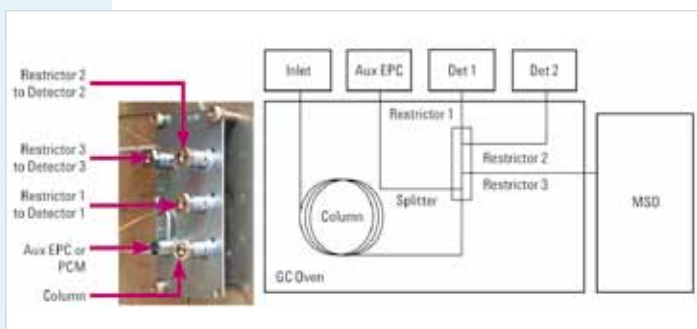


〈그림 2〉 Two-way splitter with makeup gas의 연결 유로

constant flow 모드로 사용할 수 있다. 동시에 서로 다른 압력에서 운영되는 두 개의 다른 검출기(예, FPD와 MSD) 사이에서도 일정한 split ratio를 유지할 수 있다. EPC 압력은 시간에 따라 변화시킬 수도 있기 때문에 분석에 필요없는 용출 성분들을 컬럼에서 backflush하거나, MSD사용 시 vent없이 컬럼을 교체하는 것도 가능하다.

3. Three-way splitter with makeup gas

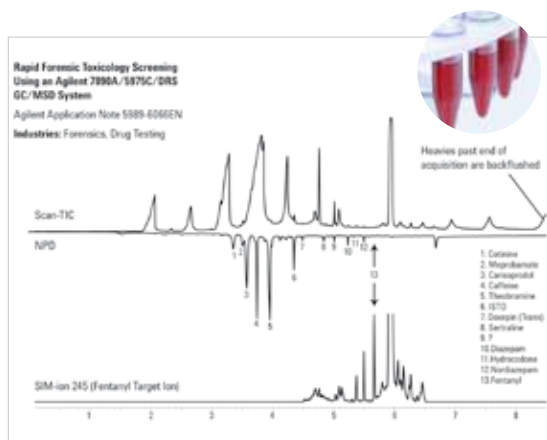
이 장치는 two-way splitter with makeup gas와 비슷하며, 컬럼에서 나온 유량을 3개의 서로 다른 검출기로 이동시킬 수 있다.



〈그림 3〉 Three-way splitter with makeup gas의 연결 유로

여러 개의 검출기에서 동시에 데이터를 수집

법의학 시료에서 독성 물질을 스크리닝할 때, 복잡한 매질을 포함하고 있는 시료를 대량 분석해야 하기 때문에 어려움이 따른다. Agilent Splitter를 이용하면 Scan, SIM, NPD 결과를 동시에 얻을 수 있고, 늦게 용출되는 매질 성분이 검출기

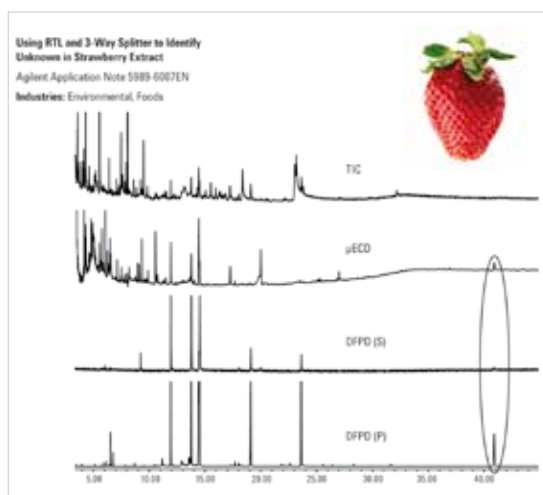


〈그림 4〉 혈액 시료의 스크리닝 결과

를 오염시키는 것을 방지하기 위해 backflush를 할 수도 있다. 결과적으로 분석 시간을 최대 85% 이상 절약할 수 있다.

Full scan 분석 없이 미지의 미량 잔류 농약 성분의 검출

과일이나 채소의 추출물은 복잡한 매질로 인해 분석하기 매우 어렵다. 추출물 중에서 미량의 잔류 농약 성분을 찾기 위해서 일반적으로 NPD, ECD, FPD와 같은 선택적인 GC 검출기를 사용한다. 또한, GC 검출기로부터 얻은 성분을 확인하기 위해 질량분석기가 가장 일반적으로 사용된다.



〈그림 5〉 딸기 추출물 분석 결과. TIC에서는 검출되지 않았으나 GC 시그널에 의해 검출한 미지의 성분

〈그림 5〉는 컬럼에서 나오는 유량이 어떻게 2개의 GC 검출기와 MSD로, 총 3개의 검출기로 분할되는지 보여준다. Splitter 시스템을 활용하면 한 번 주입으로 2개의 GC 검출기의 결과와 MSD의 SIM, SCAN 결과까지 총 4벌의 파일을 얻을 수 있다. RTL, element selective detector chromatograms, RTL pesticide database를 같이 활용하면 full scan mass spectrum이 없어 도 미량의 잔류 농약 성분들을 검출, 확인할 수 있다.

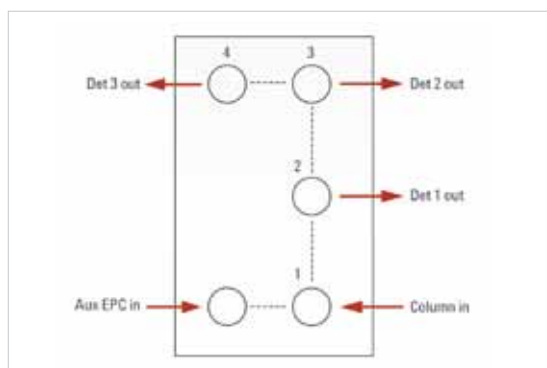
Backflush는 분석 시간을 줄일 수 있다.

본 자료에서는 headspace-GC 시스템을 이용하여 잔류 용제 분석 시, two-way splitter with makeup gas를 이용하여 늦게 용출되는 불순물과 고비점 용매/희석액을 backflush하는 것을 보여준다. Backflush를 이용하면 컬럼에 도입된 시료 중 분석 대상 성분이 모두 용출된 후에는 컬럼에 잔류된 성분들을 모두 flow의 역방향으로 제거할 수 있다.

즉, 컬럼에서 flow를 반대로 흘려주어 잔류 성분들을 inlet을 통해 제거한다. 그러므로 전체 분석 시간을 획기적으로 줄일 수 있으며, 컬럼을 bakeout 하기 위해 추가적으로 시간을 투자할 필요도 없다. Splitter와 같은 Purged capillary flow 장치는 시료의 흐름에 추가적인 flow를 공급하여, 낮은 유량에서 운영되는 MSD, TCD와 같은 검출기에서는 감도가 저하될 수도 있다.

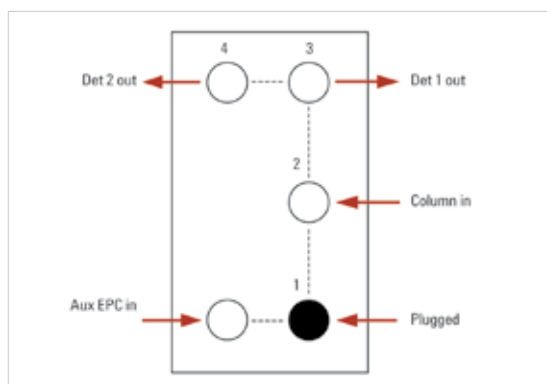
Three-way splitter의 다양한 활용

Three-way splitter는 다양한 목적에 맞춰 유로를 변경할 수 있다. Three-way splitter는 하나의 port를 막고 two-way splitter처럼 활용할 수 있다. 일반적인 three-way splitter의 구성은 <그림 6>에 나타내었다.



<그림 6> Three-way splitter의 유로 연결 구성

<그림 7>은 어떻게 three-way splitter가 two-way splitter로 활용되는지 보여준다. Port 1을 막고(splitter kit에 들어있는 짧은 스테인리스 스틸 와이어와 너트, 패를 이용하여 막

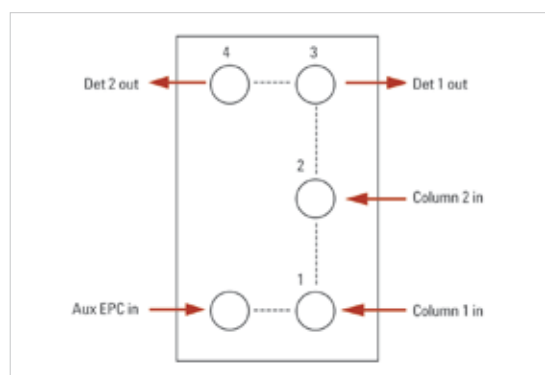


<그림 7> Three-way splitter를 two-way splitter로 구성한 모습

을 수 있다) 컬럼은 port 2에 연결한다. 두 개의 검출기로는 port 3, 4와 restrictor를 이용하여 연결한다.

2개의 컬럼, 2개의 검출기를 연결

<그림 8>에서처럼 현재 분석 조건은 column 2는 사용하지 않고, inlet 1과 column 1을 이용한다. Inlet 2의 압력은 column 2에 소량의 flow(최소 0.5 mL/min)를 공급하도록 설정되어 있다. 두 번째 분석 조건은 inlet 2와 column 2를 이용해 분석하는 동안 column 1을 conditioning 할 수 있다.



<그림 8> Column 2를 사용하지 않을 때의 유로

이 조건은 서로 다른 컬럼을 자주 사용해야 되는 실험실에 유용하다. 구성은 two-way splitter와 유사하며, 계산상의 컬럼 flow는 column 1, 2로부터의 flow의 합과 동일하다. 하지만, 두 개의 컬럼으로부터의 bleed가 동시에 검출기로도 입력되기 때문에 low-bleed stationary 컬럼을 사용하는 것이 좋다. 



내 몸 속의 잔류성유기오염물질로 질병을 알아낸다?

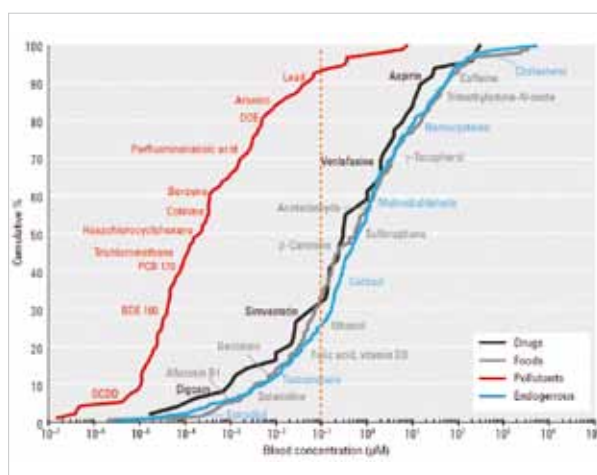
분석화학 및 생화학 분야의 기술적 발전으로 말미암아 만성적 질병과 관련된 것으로 예상되는 광범위한 화학성분에 대한 노출에 대하여 정의할 수 있게 되었다. 그리고 이들에 대한 새로운 접근법으로 질량분석법을 이용하여 인간의 샘플 중 수천 가지 화학물질들을 측정하고 있다.¹ 엑스포솜(exposome)이란 사람이 살아가는 동안 노출되는 주변환경이 건강에 미치는 영향을 측정하는 것으로 정의되며, 결국 인간의 내부 환경의 화학성분에 대한 노출에 대하여 종합적인 조사 및 정의를 수행하는 것이 바로 엑스포솜의 주요 목표라고 할 수 있다.

여기서 인간의 내부 환경이라 함은 체내를 순환하면서 생체에 영향을 주는 모든 화학물질을 일컬으며 이들이 유전적으로 유래되는 노출을 통해 유입되는 그 기원과는 상관이 없다.² 예를 들면 식이성 화학물질, 약물, 환경오염물질, 생체 내 변화산물(대사체), 외래성 DNA, 그 외 외/내인성 화학물질, 또는 노출 원천 등을 말한다.³ 또한 만성적 질병의 위험 인자를 결정하기 위한 집단 연구에서 적은 양의 생체 시료를 사용하여 이들 화학물질들을 밝혀내기 위해 질량분석법을 활용할 수 있다.

이들 엑스포솜을 정의하고 측정하기 위해 NMR, 질량분석기, 생물 정보학 등의 수단을 적용하는 것을 엑스포소믹스(exposomics)라 하고, 이는 한 집단의 질병위험을 단일노출 또는 유전형질만으로 설명할 수 없는 복잡한 만성질병에 특히 초점을 맞춘다. 예를 들면 엑스포소믹스를 통하여 건강한 집단과 병에 걸린 집단 간의 노출 프로파일이 다르다는 것을 알아낼 수 있다. 그리고 이들 결과를 다른 환자에게 적용함으로써 특정 화학성분과 환자의 샘플에서 나타난 결과 간의 원인적 연관성을 입증할 수 있다.

이를 위해서는 인체 시료 중에 존재하는 화학물질을 최대한 많이 분석할 수 있어야 한다. 즉 질병과 관련이 있을 것으로 예상되는 목적 성분 및 예측할 수 없지만 중요한 역할을 할지도 모르는 비목적 성분 등 최대한 많은 성분을 대상으로 또 이들 성분들을 저농도에서 고농도까지 모든 농도수준에 대해서 분석할 수 있는 분석법을 마련하는 것이 매우 중요하다.

인체 내에 존재하는 많은 외부 환경오염물질들은 식품/약물/대사물질과 관련된 화학물질의 농도 수준보다 약 1,000배 가량 낮게 나타난다(그림 1). 이는 일반적인 실험실에서 시행되는 목적 및 비목적 성분에 대한 스크리닝 분석법의 검출한계 미만의 농도 수준이다.⁴



〈그림 1〉 일반적인 체내 검출 화학물의 혈중 농도

그래프 중앙의 점선을 기준으로 오른쪽에 있는 성분들은 LC-TOF 스크리닝 분석법을 통하여 검출된 비목적 성분이고, 왼쪽에 있는 성분들 중 많은 부분이 LC-TOF 스크리닝 분석법을 통해 검출되지 않아 MS/MS 분석법을 적용해야만 하는 성분들이다. 이 그래프는 미국 국립환경보건과학연구소(NIEHS)가 발행하는 월간 저널의 환경보건 전망(EHP)의 자료를 재구성한 것이다.

이렇게 극미량으로 존재하는 성분을 분석하기 위해서 MS/MS 분석법을 사용하는 것이 도움이 된다. 또한 중금속이나 복잡한 유기중금속 성분들은 ICP-MS를 이용하여 분석할 수 있다. 대부분 혈액을 분석하는 것에 치중되어 있지만, 그렇다고 해서 림프, 타액, 뇨, 또는 모유와 같은 기타 시료에 대한 분석을 생략해도 된다고 무시해도 되는 것이 아니라는 점을 필히 유념해야 한다.

엑스포소믹스 타겟 분석의 예

소량의 혈장 중 잔류성 유기 오염물질(POPs)을 분석하는 것은 전형적인 타겟 엑스포소믹스 연구이다. <그림 1>과 같이 DDE, PCBs, PBDEs, 다이옥신과 같은 POPs의 농도는 일반적인 스크리닝 분석의 검출한계(0.1 μM) 미만으로 나타난다. 사실, LC-TOF(비행시간) 또는 $-FT$ (푸리에 변환) 질량분석기를 이용한 스크리닝 분석에서는 엑스포소믹스의 약 70%를 검출하지 못하는 상황이 발생한다.

그러나 QQQ 등과 같이 높은 감도 및 질량 선택성을 수반하는 MS/MS 기법을 도입하게 되면 인간 엑스포소믹스를 거의 대부분 검출하고 정의할 수 있게 된다. 코호트 연구를 통해 얻을 수 있는 생물표본은 그 양이 대단히 적기 때문에 연구자들이 분석에 사용할 수 있는 생물학적 유체 샘플은 매우 제한적이다.

그러나 혈액 중의 POPs를 측정하기 위한 대부분의 분석법에서는 많은 양의 샘플이 필요하다. 예를 들면 미국정부에서 성인 수만 명을 대상으로 실시한 국립보건영양조사에서 혈장 중의 POPs를 분석하기 위하여 10 mL나 사용하였다. 혈장은 혈구를 제외한 액체를 말하며, 혈장 10 mL를 시료로 사용하기 위해서는 약 20 mL의 혈액이 필요하다. 그러므로 극소량(100~200 μL 또는 그 이하)의 샘플에서 엑스포소믹스를 정확히 검출하고 분석하기 위해서 정밀한 전처리 및 고감도/고정밀도 질량분석법을 확립하고 적용하는 것이 굉장히 중요하다고 할 수 있다.

분석법

49개의 혈장 샘플과 3개의 표준 샘플을 다음과 같이 전처리 하였다.

1. 200 μL 혈장을 준비
2. 10 M 요소 1 mL를 첨가
3. 10% 프로판올/물 1 mL, 메탄올 1 mL, 석유 에테르 6 mL 첨가
4. 원심분리 후, 유기층을 분취
5. 1 g 플로리실로 필터
6. MTBE/석유 에테르를 이용하여 용출
7. 수분을 날리기 위해 증발
8. 기기 분석을 위해 시료를 복원



Agilent사 7890B GC와 7010A GC Triple Quadrupole Mass Spectrometer를 이용하여 EI MRM 모드로 분석하였다.

1. 컬럼 : Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert(30 m $\times$ 250 μm , 0.25 μm)
2. 트랜스퍼 라인 : 300 $^{\circ}\text{C}$
3. 이온화원 : 350 $^{\circ}\text{C}$
4. 충돌가스 : 질소 1.5 mL/min

12가지 POPs 성분 군 중 6가지에 해당하는 67 성분에 대하여 각각 정량 MRM, 정성 MRM 분석조건을 모두 설정하여 분석하였다. 시스템 성능 및 정확도에 대한 모니터링을 위해 세 가지 농도로 조제된 표준물질들을 이용하였다. 또한 머무름 시간 정확도 및 면적 값에 대한 기술적 반복성에 대한 모니터링을 위해 각 샘플의 마지막 추출 단계에서 $^{13}\text{C}_{12}$ -DDT를 첨가하였다. 샘플은 모두 2 μL 씩 주입하여 3회 반복분석을 실시하였다.

결과

혈장 중 PAHs(Polyaromatic Hydrocarbons) 16종, DL-PCBs(Dioxin-like Polychlorinated Biphenyls) 12종, PBDE(Polybrominated Diphenylethers) 12종, OCPs(Organochlorine Pesticides) 17종, 다이옥신(Dioxins) 5종, 퓨란(Furans) 5종에 대하여 GC/MS/MS EI MRM 모드 분석법을 이용하여 타겟 분석을 실시하였다.

이들 POPs 성분들은 EPA 수질 오염물질 리스트를 참고하여 설정하였다. 내부표준물질인 $^{13}\text{C}_{12}$ -DDT의 기술적 반복성 실험에 대한 면적값의 정밀도는 평균 3% RSD 수준이었다(최저: 0.38%, 최대: 6.79%, n=153).

〈표 1〉 분석 대상 POPs 리스트

분석 물질	
4,4'-Dibromodiphenyl ether	1,2,3,7,8-Pentachlorodibenzofuran
2,4,4'-Tribromodiphenyl ether	1,2,3,4,7,8-Hexachlorodibenzofuran
2',3,4-Tribromodiphenyl ether	1,2,3,4,6,7,8-Heptachlorodibenzofuran
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether	Octachlorodibenzofuran
2,2',4,5'-Tetrabromodiphenyl ether	3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl
2,3',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether	3,4,4,5-Tetrachlorobiphenyl
2,4,4',6-Tetrabromodiphenyl ether	2,3,3',4,4'-Pentachlorobiphenyl
2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether	2,3,4,4',5-Pentachlorobiphenyl
2,2',4,4',6-Pentabromodiphenyl ether	2,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl
2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether	2',3,4,4',5-Pentachlorobiphenyl
2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenyl ether	3,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl
2,2',4,4',6,6'-Hexabromodiphenyl ether	2,3,3',4,4',5-Hexachlorobiphenyl
Acenaphthene	2,3,3',4,4',5'-Hexachlorobiphenyl
Acenaphthylene	2,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl
Anthracene	3,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl
Benzo(a)anthracene	2,3,3',4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl
Benzo(b)fluoranthene	a-BHC
Benzo(k)fluoranthene	b-BHC
Benzo(g,h,i)perylene	g-BHC
Benzo(a)pyrene	d-BHC
Chrysene	Heptachlor
Dibenz(a,h)anthracene	Aldrin
Fluoranthene	Heptachlor Epoxide(isomer B)
Fluorene	Endosulfane I
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	DDE
Naphthalene	Dieldrin
Phenanthrene	Endrin
Pyrene	DDD (mitotane)
2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin	Endosulfane II
1,2,3,7,8-Pentachlorodibenzo-p-dioxin	Endrin Aldehyde
1,2,3,4,7,8-Hexachlorodibenzo-p-dioxin	DDT
1,2,3,4,6,7,8-Heptachlorodibenzo-p-dioxin	Endosulfane sulphate
Octachlorodibenzo-p-dioxin	Methoxychlor
2,3,7,8-Tetrachlorodibenzofuran	

머무름 시간 정밀도는 ± 0.122 분이였다($^{13}\text{C}_{12}$ -DDT 평균 머무름 시간: 9.608분). GC/MS/MS를 이용한 이 분석법은 200 μL 샘플을 이용하여 5.0 pg/mL 수준까지도 분석할 수 있는 충분

한 감도를 나타내었다. 그리고 이들 집단 샘플을 통하여 총 27 가지 타겟 성분에 대하여 검출할 수 있었다.

각 성분그룹별 LOD는 다음과 같다. DL-PCBs(0.005~0.02 ng/mL), OCPs(0.05~0.15 ng/mL), PBDEs(0.0075~0.075 ng/mL) (Smith, et al. 2015). 출간되지 않았지만 최근 한 연구에서 DL-PCBs 0.004~0.009 ng/mL, a-/b-/g-HCH 0.005 ng/mL, o,p'-/p,p'-DDT 0.001~0.006 ng/mL 등의 MDL(Minimum Detection Limits)을 나타내었다.

결론

혈장 샘플 200 μL 를 이용하여 POPs 성분을 4 pg/mL 수준 까지 분석할 수 있었다. 해당 농도는 혈중 지질농도를 고려하지 않은 습윤 시료의 부피로 계산하였다. 이렇게 인간의 극소량 생물학적 유체 샘플 중 극미량 수준의 POPs 분석이 가능한 엑스포솜의 노출평가의 수준을 상당히 향상시킬 수 있을 것이다. 또한 이 연구에서 수행한 타겟 MS/MS 분석법을 통해 다양한 집단에서 노출 프로파일의 정성적/정량적 차이를 확인할 수 있다. 

[참고문헌]

1. J. Ivanisevic, et al. "Toward 'Omic Scale Metabolite Profiling: A Dual Separation-Mass Spectrometry Approach for Coverage of Lipid and Central Carbon Metabolism" Anal. Chem. 85(14), 6876-6884 (2013).
2. M. T. Smith, R. de la Rosa, S. I. Daniels. "Using exposomics to assess cumulative risks and promote health" Environ. Mol. Mutagen. 56(9), 715-723 (2015).
3. S. M. Rappaport, M. T. Smith. "Environment and disease risks" Science 330, 460-461 (2010).
4. S. M. Rappaport, et al. "The Blood Exposome and Its Role in Discovering Causes of Disease" Environ. Health Perspect. 122(8), 769-774 (2014).



포괄적 이차원 액체 크로마토그래피 기법을 이용한 분석법 개발

요약

포괄적 이차원 액체 크로마토그래피(이하 Comprehensive 2D-LC)는 LC x LC로 종종 표현되며 1D-LC 대비 훨씬 증가된 분리능을 제공할 수 있기 때문에 복잡한 샘플분석일수록 활용 가능성이 더 높다. 1차원과 2차원 분리에 다양한 액체 크로마토그래피의 분리메커니즘을 적용할 수 있는데, RP x RP(역상 x 역상)의 조합이 대표적으로 사용된다. 1D-LC를 뛰어넘으면서 2D-LC를 통해 획득할 수 있는 분리능 향상을 극대화하기 위해서는 두 개의 분리가 서로에 대해 영향을 미치지 않는 '분리의 직교(orthogonality)'가 이루어지는 것이 중요하다(이것은 컬럼 2개를 직렬로 연결하는 것과는 엄연히 구분되는 하드웨어 및 분리조건임을 기억해야 한다).

본 자료에서는 RP x RP 분리 조합을 통해 복잡한 샘플 분석에 대한 Comprehensive 2D-LC 분석법을 최적화하는 과정

을 검토해 보고자 한다. 최종 개발이 완료된 Comprehensive 2D-LC 분석법은 이차원 분리공간에서의 분획범위(fractional coverage)를 극대화함으로써 분리능을 극한으로 향상시킬 수 있어야 한다.

도입

복잡한 샘플 중의 방대한 목적성분들에 대한 성공적인 크로마토그래피를 위해서는 크로마토그래피 분석법이 높은 분리능 혹은 피크용량(피크 capacity)을 제공해야 한다. 피크용량이라는 용어는 '특정 분리능과 함께 주어진 분리시간 안에서 최대로 분리될 수 있는 피크의 개수'로 정의되며, 피크용량의 이론적 개념은 크로마토그래피 분리능을 규정짓는 하나의 기준으로 사용되고 있다.¹

Comprehensive 2D-LC(또는 LC x LC)는 1D-LC 대비 훨씬 증가된 분리능을 제공할 수 있기 때문에 복잡한 샘플분석일수록 더 높은 활용 가능성을 갖는다.² Agilent사 2D-LC 관련 최근의 응용자료들을 통해 이 기술을 활용한 1290 Infinity 2D-LC 시스템이 1차원의 HPLC 또는 UHPLC 분석 대비 분석 시간은 유지하면서 3~4배 증가된 실제 피크용량을 제공할 수 있는 것을 알 수 있다. 1D-LC 대비 Comprehensive 2D-LC의 분리능이 훨씬 높아지는 이유는 피크용량의 곱셈법칙으로부터 찾을 수 있다. 이론적으로, Comprehensive 2D-LC 분석의 피크용량은(n_{2D}) 1차원의 피크용량 1_n 과 이차원 분리에서의 피크용량 2_n 의 곱으로 계산되기 때문이다(수식 1).

$$n_{2D} = 1_n \times 2_n \quad (\text{수식 1})$$

이 방정식은 1차원과 2차원의 분리가 서로 완벽하게 독립적인 경우(완벽하게 직교의 분리가 이루어지는 경우, orthogonal separation)이거나, 1차원에서 이루어진 분리가 유지된 상태로 그대로 2차원으로 전달되는 경우에 한하여 적용 가능하기 때문에 현실적인 분석상황에서 Comprehensive 2D-LC의 피크용량을 구하는 공식은 다음과 같이 정의된다(수식 2).^{1,2}

$$n_{2D} = \frac{1_n \times 2_n}{\beta} \times f \quad (\text{수식 2})$$

위의 식에서 β 는 1차원에서 분리된 성분들이 2차원 컬럼으로 넘어가는 과정에서 재혼합이 될 가능성 즉, undersampling의 영향을 반영하는 요소이다. Undersampling의 영향이 커질수록 LC x LC에 의한 최종 분리능이 저하되는 현상이 발생할 수 있으나, 주어진 1차원 분리에서 2차원으로 도입하는 1차원 분획의 양을 최소화하면(즉, 샘플링 시간인 'modulation time'을 감소시켜) undersampling에 의한 최종 분리능 감소영향은 미미해지게 된다.

f 는 1차원 및 2차원 분리의 제한된 직교성 혹은 2차원 분리공간에서의 완전하지 못한 분획 범위를 보정하기 위한 상수로, 2차원 분리공간 중 분리된 피크들이 차지하고 있는 범위로 계산되는 분획범위(fractional coverage, f_{cov})의 개념이 이론적으로 사용된다.² Comprehensive 2D-LC에서의 피크용량에 대한 보다 상세한 설명은 Agilent사 2D-LC 입문서인 "Two-Dimensional Liquid Chromatography: Principles, Practical Implementation and Applications" 자료를 통해 확인할 수 있다.⁵

Comprehensive 2D-LC 분석법을 개발함에 있어 첫 번째 해야 할 일은 1차원과 2차원의 분리모드를 선택하는 것이다. 분리능의 향상을 위하여 다양한 액체 크로마토그래피의 분리모드를 조합한 Comprehensive 2D-LC의 시도가 가능하며, 대표적인 조합을 정리하면 <표 1>과 같다.⁵

<표 1> LC x LC에 대한 분리메커니즘 조합별 비교

약어 : IEC-ion-exchange; RP-reversed-phase; SEC-size-exclusion;
NP-normal phase; HILIC-hydrophilic interaction; AC-argentation;
LCCC-liquid chromatography under critical conditions

Mode	IEC x RP	SEC x RP	NP x RP	RP x RP	HILIC x RP	HILIC x HILIC	AC x RP	SEC x NP	SEC x IEC	LCCC x RP
Orthogonality	++	++	++	+	+	-	++	+	+	++
피크 capacity	+	+	+	++	+	+	-	-	--	+
피크 capacity/time	-	--	+	++	+	+	-	--	--	+
Solvent compatibility	+	+	--	++	+	++	+	+	+	-
Applicability	+	+	-	++	+	-	+	-	-	-
Score	4	3	1	9	5	2	2	-2	-3	2

<수식 2>로부터 1차원과 2차원 분리의 직교성이 중요함을 알고 있다. 그러나, 분리의 직교성(Orthogonality), 피크용량(피크 capacity), 시간당 피크용량(피크 capacity/time), 1, 2차

원 간의 용매 호환성(Solvent compatibility) 및 응용 적용성(Applicability) 등을 모두 고려하였을 때 본래의 목적인 '궁극의 분리능 향상'을 기준으로 가장 매력적인 조합은 RP x RP(역상 x 역상)의 조합이라는 것을 최종 Score를 통해 알 수 있다(어쩌면 현실적으로 성공가능성이 가장 높은 조합이라고 할 수 있겠다). 뿐만 아니라 질량분석법과의 연결이 용이한 점과 선택성이 다양한 다수의 고정상을 활용할 수 있다는 장점은 RP x RP 분리모드의 조합이 Comprehensive 2D-LC 분석법 개발의 가장 우선적인 선택이 될 수 있음에 힘을 싣는다.^{2,5}

RP x RP 조합을 사용하는 Comprehensive 2D-LC 분석법을 개발할 때에는 1차원과 2차원에서 사용되는 각각의 역상분리용 컬럼이 서로 다른 선택성을 갖도록 선택되어야만 한다. 역상분리 컬럼을 그 선택성에 따라 분류하는 한 가지 방법으로 Hydrophobic Subtraction Model(HSM)을 들 수 있다. HSM은 역상분리 컬럼과 다양한 분석물질들 사이의 상호작용을 비극성도, 입체적 반발, 산도, 염기성도 및 이온교환능력에 따라 설명한다. HSM을 이용하면 두 개의 역상분리 컬럼 사이의 선택성 차이를 수치화함으로써 컬럼의 선택성을 계산할 수 있다.^{1,2,5-8}

이 방법을 통해 Comprehensive 2D-LC에서 높은 분획범위를 제공할 가능성이 있는 두 개의 역상분리 컬럼을 선택할 수 있다.⁵ 그러나 액체 크로마토그래피에서의 머무름 시간과 선택성은 단순히 컬럼에만 의존하는 것이 아니라 이동상(유기용매의 종류, 비율, pH 등) 및 온도에 의해서도 영향을 받음을 항상 기억해야 한다.^{2,6} 또한 분리시스템 자체의 특성(이동상, 고정상 등)과 함께 시료의 특성도 최종 Comprehensive 2D-LC의 분획범위 결과에 영향을 미칠 수 있다. 선택된 특정 Comprehensive 2D-LC 분리조합이 하나의 시료에 대해서는 높은 분획범위를 제공할 수도 있지만, 다른 시료에 대해서는 상대적으로 낮은 분획범위를 제공할 수도 있다는 것이다.^{2,5}

예를 들어, 주어진 시료에 대하여 두 개의 역상분리 컬럼 혹은 분리시스템에 대한 상대적인 선택성은 두 컬럼 상에서의 머무름 시간의 상관관계를 통해 추정할 수 있다.^{1,7} 본 자료는 역상분리 조건을 1차원, 2차원 양쪽에 모두 적용하여, 복잡한 시료의 Comprehensive 2D-LC 분석법 개발에 대한 접근을 짚어 보고자 한다.

최적의 분석법 탐색에 대한 효율성을 높이기 위해 Agilent사 1290 Infinity II 2D-LC 솔루션 구성에 용매 및 컬럼 선택 밸브를 추가로 장착 구성함으로써, 분석법 스크리닝 시에는 별도의 하드웨어 변경(이동상 및 컬럼의 분리, 연결 등)이 필요하지 않도록 셋업하였다. HSM에 따라 선택성이 다른 총 6개의 역상 분리 컬럼을 선택한 다음, Comprehensive 2D-LC 분석법 개발의 첫 단계로 1차원 분리에 대한 컬럼 및 이동상 용매의 탐색을 위해 선정된 역상분리 컬럼과 유기용매(Acetonitrile 및 Methanol) 및 이동상 pH 조건(산성조건과 완충용액을 사용하여 조절한 pH 5 및 pH 8)을 조합하여 스크리닝하였다.

Comprehensive 2D-LC 분석법의 최적의 분리 조합(1차원과 2차원 분리의 이동상 및 고정상 조건)을 선정하기 위해서 모든 가능한 조합에 대한 화합물별 머무름 인자들의 연관성을 계산하였다. 가장 연관성이 낮은 조합들을 선택하여 2차원 분리에 전체 기술기용리를 적용한 다음, 획득한 2D-LC 크로마토그램 별 분획 범위(f_{cov})를 계산하고 비교하였다. 가장 높은 분획 범위를 갖는 조건에 대해서는 분획 범위의 향상 결과를 얻기 위해 2차원 분리조건에 이동 기술기 용리(shifted gradient) 조건을 적용한 추가적 분석을 실시하였다.

실험

기기

Agilent사 1290 Infinity II 2D-LC 솔루션은 컬럼/용매 스크리닝을 동반한 2D-LC 분석을 위하여 다음의 모듈로 셋업하였다.

- Agilent 1290 Infinity II High-Speed Pumps(2×G7120A)
- Agilent 1290 II Multisampler(G7167B) with cooler(option #100)
- Agilent 1290 Infinity II Multicolumn Thermostats(2×G7116B) with 8-column selection valve(G4239C) and capillary kit(option #005)
- Agilent 1290 Infinity II Diode Array Detectors(2×G7117B) with Max-Light Cartridge Cell 10-mm(G4212-60008)
- Agilent 1290 Infinity valve drives(4×G1170A) with solution selection valve(G4235A)
- Agilent 1290 Infinity valve drive(G1170A) with 2-position/4-port duo-valve(2D-LC valve head, 1,200 bar(p/n 5067-4214)) equipped with two 80 µL loops

전체 분석 중 별도의 하드웨어 변경 없이 컬럼과 용매 스크리닝을 진행할 수 있도록 두 개의 Agilent사 1290 Infinity II High-Speed Pump마다 각각 두 개의 용매선택 밸브를 장착하였다. 펌프 내부의 빌트-인 용매선택 밸브를 포함하여 펌프의 각 채널당 13개의 용매 선택이 가능하도록 구성되었다. 1차원 및 2차원 크로마토그래피 컬럼 스크리닝 시 최대 8개의 컬럼 선택이 가능한 밸브를 Agilent사 1290 Infinity II Multicolumn Thermostat 내부에 장착하여 6개의 컬럼 선택을 자동화하고, 나머지 두 개 채널은 추가적인 bypass 및 waste 용도로 활용하였다.

질량분석기를 결합한 분석은 듀얼 Agilent Jet Stream ESI 이온화원이 장착된(G1958-65268) Agilent사 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS 시스템을 이용하여 1차원 컬럼 및 용매 스크리닝에 추가 수행하였다(질량분석기는 1차원 분리 시스템의 DAD 검출기 뒤에 연결되었다). 본 자료에서는 Q-TOF LC/MS 시스템을 'MS mode'로 사용하였기 때문에, TOF LC/MS 또한 동일한 분석에 활용 가능하다.

소프트웨어

- Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition software, rev. C.01.07 [27] with Agilent 1290 Infinity 2D-LC acquisition software product version A.01.02 SP1
- Agilent MassHunter Workstation software, LC/MS data acquisition for Agilent 6200 series TOF and Agilent 6500 series Q-TOF, version B.05.01, qualitative analysis version B.06.00
- GC Image LCxLC-HRMS Edition software version 2.5b0 for 2D-LC data analysis from GC Image LLC., Lincoln, NE, USA

컬럼

1차원 분리 스크리닝 및 최종 2D-LC의 1차원 분리 사용 컬럼 :

- Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1×100 mm, 1.8 µm (p/n 959758-902)
- Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8, 2.1×100 mm, 1.8 µm (p/n 959758-906)
- Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus Phenyl-Hexyl, 2.1×100 mm, 1.8 µm(p/n 959758-912)
- Agilent ZOBAX RRHD Bonus-RP, 2.1×100 mm, 1.8 µm (p/n 858768-901)
- Agilent ZORBAX RRHD SB-CN, 2.1×100 mm, 1.8 µm (p/n 858700-905)
- Agilent ZORBAX RRHT Eclipse PAH, 2.1×100 mm, 1.8 µm (p/n 959764-918)

2차원 분리 사용 컬럼 :

- Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 3.0×50 mm, 1.8 μ m (p/n 959757-302)
- Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8, 3.0×50 mm, 1.8 μ m (p/n 959757-306)
- Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus Phenyl-Hexyl, 3.0×50 mm, 1.8 μ m (p/n 959757-312)
- Agilent ZORBAX RRHD Eclipse PAH, 3.0×50 mm, 1.8 μ m (p/n 959757-318)
- Agilent ZORBAX RRHD SB-CN, 3.0×50 mm, 1.8 μ m (p/n 857700-305)
- Agilent ZOBAX RRHD Bonus-RP, 3.0×50 mm, 1.8 μ m(custom)

시약

모든 용매는 액체 크로마토그래피 등급을 사용하였다. Acetonitrile 및 Methanol은 Merck사(Darmstadt, Germany)에서 구입하였고, 새로운 고순도 3차 증류수는 0.22- μ m membrane point-of-use cartridge가 장착된 Mili-Q Integral 시스템을 사용하여 제조하였다(Millipak, EMD Millipore, Billerica, MA, USA). Ammonia acetate, ammonium bicarbonate, formic acid, acetic acid, 및 ammonia solution은 Sigma-Aldrich에서 구입하였다(Steinheim, Germany).

샘플

본 실험에 사용된 샘플은 크게 Polycyclic aromatic hydrocarbon, Phthalate ester, Phenone 및 Pesticide류의 4개 사전 혼합물과 갈검부피 측정용 마커인 Uracil로 이루어진 총 70개의 화합물로 구성되었다.

Polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs)

Mix 25, US EPA 16(YA20950025AB, Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Germany), 16 compounds, 2,000 μ g/mL in acetone/benzene; Acenaphthene, Acenaphthylene, Anthracene, Benzo[a]anthracene, Benzo[a]pyrene, Benzo[b]fluoranthene, Benzo[k]fluoranthene, Benzo[ghi]perylene, Chrysene, Dibenzo[ah]anthracene, Fluoranthene, Fluorene, Indeno[1,2,3-cd]pyrene, Naphthalene, Phenanthrene, Pyrene

Phthalate esters

Anlaytes mix 3(YA08060300HE, Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Germany), 17 compounds, 1,000 μ g/mL in hexane: Benzyl benzoate, Bis(2-n-butoxyethyl)phthalate, Bis(2-ethoxyethyl)phthalate, Bis(2-ethylhexyl)phthalate, Bis(2-methoxyethyl)phthalate, Bis(4-methyl-2-pentyl)phthalate, Butylbenzylphthalate, Diamyl phthalate, Di-n-butyl phthalate, Dicyclohexyl phthalate, Diethyl phthalate, Dihexyl phthalate, Diisobutyl phthalate, Dimethylphthalate, Dinonyl phthalate, Di-n-octyl phthalate, Hexyl-2-ethylhexyl phthalate

Phenones

RRLC checkout sample(Agilent Technologies, Waldbronn, Germany), nine compounds, 100 μ g/mL in water/acetonitrile: Acetanilide, Acetophenone, Benzophenone, Butyrophenone, Heptanophenone, Hexanophenone, Octanophenone, Propiophenone, Valerophenone

Pesticides

Mix 34(L18000034AL, Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Germany), 27 compounds, 10 μ g/mL in acetonitrile: Atrazine, Atrazine-desethyl, Atrazine-desethyl desisopropyl, Chloroxuron, Chlorpropham, Chlortoluron, Crimidine, Cyanazine, Diuron, Fenuron, Isoproturon, Linuron, Metamitron, Metazachlor, Methabenzthiazuron, Metobromuron, Metolachlor, Metoxuron, Metribuzin, Monolinuron, Prometryn, Propazine, Propham, Sebutylazine, Simazine, Terbutylazine, Terbutryne

Uracil

(Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany), 1,000 μ g/mL in water

샘플은 다음의 부피와 같이 사전혼합물을 함하여 최종 각 화합물들이 최종 혼합물에 약 9 μ g/mL의 농도로 존재하도록 조제하였다: 5 μ L PAH mix, 10 μ L phthalate mix, 1,000 μ L pesticide mix 및 10 μ L uracil 솔루션. 질량분석기와 결합한 1차원 분리의 컬럼 및 용매 스크리닝에서는 Acetonitrile에 의한 1:10 배율의 희석 샘플을 사용하였다.

Method

One-dimensional column and solvent screening

Columns	- Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 - Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8 - Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus Phenyl-Hexyl - Agilent ZORBAX RRHD Bonus-RP - Agilent ZORBAX RRHD SB-CN - Agilent ZORBAX RRHD Eclipse PAH (each 2.1×100 mm, 1.8 μm)
Solvents	A) H ₂ O+0.1 % formic acid; B) Acetonitrile+0.1 % formic acid A) H ₂ O+0.1 % formic acid; B) Methanol+0.1 % formic acid A) 10 mM Ammonium acetate pH 5; B) Acetonitrile A) 10 mM Ammonium acetate pH 5; B) Methanol A) 10 mM Ammonium bicarbonate pH 8; B) Acetonitrile A) 10 mM Ammonium bicarbonate pH 8; B) Methanol
Gradient	0 minutes–20 %B / 10 minutes–95 %B
Stop time	15 minutes
Post time	5 minutes
Flow rate	0.500 mL/min
Temperature	40 °C
Injection volume	1 μ L; injection with 2 μ L water plugs
DAD detection	220 nm/4 nm, reference 400/100 nm and 254/4 nm, reference 400/100 nm; data rate 40 Hz

MS detection	The Agilent 6530 Accurate–Mass Q–TOF LC/MS system was operated in positive ionization mode with an acquisition rate of 5 spectra/second and the following Agilent Jet Stream ESI source conditions: – Gas temperature 300 °C – Gas flow 8 L/min – Nebulizer 50 psi – Sheath gas temperature 300 °C – Sheath gas flow 9 L/min – Capillary 3,000 V – Nozzle 500 V
--------------	--

Two-dimensional screening	
First dimension	
Columns	– Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 – Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8 – Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus Phenyl–Hexyl – Agilent ZORBAX RRHD Bonus–RP – Agilent ZORBAX RRHT Eclipse PAH (each 2.1×100 mm, 1.8 µm)
Solvents	A) H ₂ O+ 0.1 % formic acid; B) Methanol+0.1 % formic acid A) 10 mM Ammonium acetate pH 5; B) Acetonitrile A) 10 mM Ammonium acetate pH 5; B) Methanol
Gradient	0 minutes–20 %B at 0.100 mL/min 50 minutes–100 %B at 0.100 mL/min 60 minutes–100 %B at 0.100 mL/min 61 minutes–20 %B at 0.400 mL/min
Stop time	70 minutes
Temperature	40 °C
Injection volume	5 µL; injection with 5 µL water plugs
DAD detection	220 nm/4 nm, reference 400/100 nm and 254/4 nm, reference 400/100 nm; data rate 20 Hz, stop time 60 minutes
Second dimension	
Columns	– Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 – Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8 – Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus Phenyl–Hexyl – Agilent ZORBAX RRHD Bonus–RP – Agilent ZORBAX RRHD Eclipse PAH (each 3.0×50 mm, 1.8 µm)
Solvents	A) H ₂ O+ 0.1 % formic acid; B) Methanol+0.1 % formic acid A) 10 mM Ammonium acetate pH 5; B) Acetonitrile A) 10 mM Ammonium acetate pH 5; B) Methanol
Flow rate	2.500 mL/min
Gradient	0.00 minutes–20 %B / 0.27 minutes–100 %B
¹ D Gradient stop time	0.40 minutes
Modulation time	0.50 minutes

Modulation	80 µL loops; cocurrent configuration; 0.50 minutes modulation time; modulation on: 0–60 minutes
Temperature	60 °C
DAD detection	220 nm/4 nm, reference 400/100 nm and 254/4 nm, reference 400/100 nm; data rate 80 Hz; stop time 60 minutes

Final 2D-LC method	
First dimension	
Columns	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8, 2.1×100 mm, 1.8 µm
Solvents	A) 10 mM Ammonium acetate pH 5; B) Acetonitrile
Gradient	0 minutes–20 %B at 0.100 mL/min 50 minutes–100 %B at 0.100 mL/min 60 minutes–100 %B at 0.100 mL/min 61 minutes–20 %B at 0.400 mL/min
Stop time	70 minutes
Temperature	40 °C
Injection volume	5 µL; injection with 5 µL water plugs
DAD detection	220 nm/4 nm, reference 400/100 nm and 254/4 nm, reference 400/100 nm; data rate 20 Hz; stop time 60 minutes
Second dimension	
Columns	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse PAH, 3.0×50 mm, 1.8 µm
Solvents	A) 10 mM Ammonium acetate pH 5; B) Methanol
Flow rate	2.500 mL/min
Gradient	0.00 minutes–30 %B / 0.27 minutes–35 %B
¹ D Gradient stop time	0.40 minutes
Modulation time	0.50 minutes
Gradient modulation	30 %B at 0.00 minutes to 100 %B at 60 minutes 35 %B at 0.27 minutes to 70 %B at 30 minutes to 100 %B at 40 minutes
Modulation	80 µL loops; cocurrent configuration; 0.50 minutes modulation time; modulation on: 0–60 minutes
Temperature	60 °C
DAD detection	220 nm/4 nm, reference 400/100 nm and 254/4 nm, reference 400/100 nm; data rate 80 Hz; stop time 60 minutes

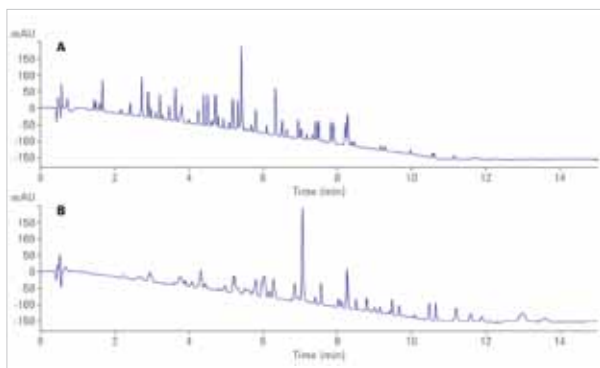
결과 및 고찰

Comprehensive 2D-LC의 분석법 개발에 대한 접근을 살펴보기 위해 Polycyclic aromatic hydrocarbons, Phthalate esters, Phenones 및 Pesticides의 혼합샘플을 사용하여 분석해 보았다. Uracil은 불감부피의 마커로 추가하였다.

첫 번째 단계로 목적 화합물들의 선택성 있는 역상 분리 조건을 발굴하기 위해 1차원 분리의 컬럼 및 이동상의 스크리닝을 수행하였다. 이를 위해 HSM을 기준으로 서로 다른 선택성을 갖는 6개의 Agilent 역상분리용 컬럼이 선택되었다. 그 외의 컬럼들에 대한 선택성 비교 정보에 대해서는 www.hplccolumns.org 사이트를 통해 600여종 이상의 역상분리 컬럼 특성을 확인할 수 있다.

본 자료에서 사용된 컬럼들 또한 해당 사이트를 통해 살펴보면, Bonus-RP와 Eclipse PAH 컬럼은 Eclipse Plus C18 또는 Eclipse Plus C8 컬럼과 비교하여 상당히 다른 선택성을 가지고 있음을 확인할 수 있다. 이동상 스크리닝의 조건으로는 서로 다른 유기용매(acetonitrile, methanol)와 서로 다른 pH 조건(산성, 완충용액을 사용한 pH 5 및 pH 8)을 선정하였다. 1차원 조건의 스크리닝 분석에서는 질량분석 데이터도 함께 얻음으로써, 서로 다른 (머무름 시간을 갖는) 크로마토그램들 사이에서 타겟 화합물을 정성적으로 추적할 수 있도록 하였다.

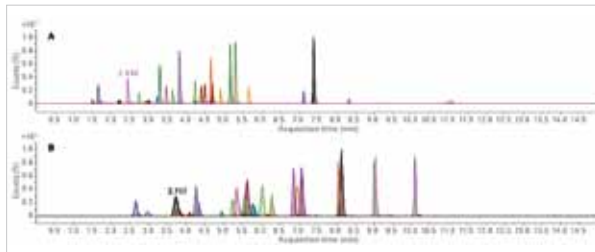
〈그림 1〉은 1차원 분리 조건의 컬럼 및 용매 스크리닝 결과 중 2 개의 크로마토그램을 나타내고 있다.



〈그림 1〉 1차원 분리 조건의 컬럼 및 용매 스크리닝 대표 결과 2종류(9 μ g/mL의 시료, 220 nm에서의 UV 검출결과): (A) Eclipse Plus C8 컬럼과 10 mM ammonium acetate pH 5/ acetonitrile 조합, (B) Eclipse PAH 컬럼과 10 mM ammonium acetate pH 5/ methanol 조합

예상했던 것과 같이, Polycyclic aromatic hydrocarbon류와 Phenone류들은 선택된 조건에서 이온화되지 못하였다. 게다가 이성질체를 포함하고 있는 특정 화합물들(예를 들어 prometryn과 terbutryne) 또한 TOF 질량분석 검출에서 구분되지 못하였다. 전반적으로 30 종의 Pesticide 및 Phthalate ester류들은 대부분의 크로마토그램에서 매우 명확하게 검출되고 정성되었다.

〈그림 2〉에서는 Eclipse Plus C8 컬럼과 10 mM ammonium acetate pH 5 / acetonitrile 조건(A)과 Eclipse PAH 컬럼과 10 mM ammonium acetate pH 5 / methanol 조건(B)을 통해 질량분석기에서 정성 확인된 화합물들의 크로마토그램을 나타내고 있다.



〈그림 2〉 0.9 μ g/mL 시료에 대한 1차원 분리의 Q-TOF 질량분석결과(TOF-mode): 확인된 화합물들의 EIC들을 나타냄: (A) Eclipse Plus C8 컬럼과 10 mM ammonium acetate pH 5/ acetonitrile 조건; (B) Eclipse PAH 컬럼과 10 mM ammonium acetate pH 5/ methanol 조건

모든 컬럼-용매 조합 결과에 대해서는 엑셀을 활용하여, 확인된 성분들에 대한 화합물 정보는 MassHunter 소프트웨어로부터 추출하고, 각각의 머무름 시간과 uracil의 머무름 시간으로부터 계산된 불감시간으로 각 화합물별 머무름 인자 (k)를 계산, 정리하였다. 어떤 컬럼-용매 조합이 가장 극명한 선택성의 차이를 제공할 수 있는지에 대해서는 모든 분리 조합에 대하여 머무름 인자의 연관성을 계산하여 평가하였다.

일반적으로 서로 다른 유기용매를 각 차원의 분리에서 사용하는 경우가 서로 같은 유기용매를 각 차원의 분리에 사용하는 경우보다는 연관성이 낮은(다시 말해 보다 직교성이 높은) 분리결과를 나타내기 때문에, RP x RP 조합의 Comprehensive 2D-LC 분석에서 한 차원에서는 acetonitrile을, 나머지 한 차원에서는 methanol을 사용하는 것이 일반적이다.² 선택된 화합물

들의 분석결과에 대해서 이동상 용매의 pH 값은 선택성에 큰 영향을 미치지 않음을 확인할 수 있었다. 하지만, 분석목적 성분 중 넓은 산-염기성 범위를 가지고 있는 화합물이 있는 경우, 매우 선택성이 유사한 컬럼을 사용하더라도 pH 값의 변화에 따라 물질의 선택성이 크게 달라질 수 있음에 주의해야 할 것이다. 머무름 인자 사이의 가장 낮은 연관성을 나타낸 분리조건은 아래와 같이 조사되었다: 상대적인 비교를 위해, 상대적으로 높은 연관성을 나타낸 분리조건 또한 함께 정리하였다.

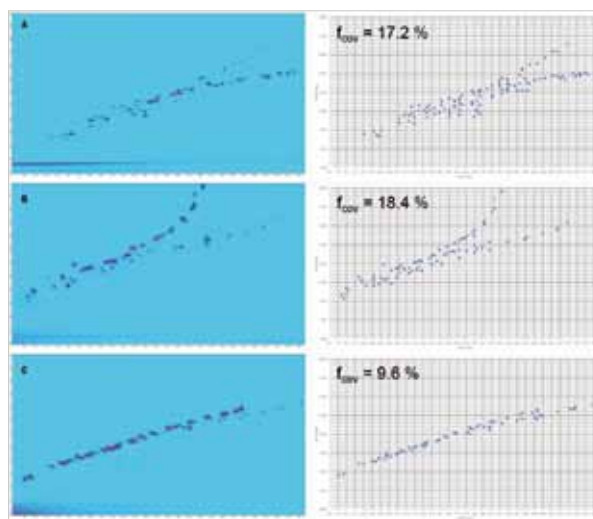
- Eclipse PAH with 10 mM ammonium acetate pH 5 / methanol과 Eclipse Plus C8 with 10 mM ammonium acetate pH 5 / acetonitrile($R^2 = 0.957$)
- Eclipse PAH with 10 mM ammonium acetate pH 5 / acetonitrile and Bonus RP with H₂O + 0.1 % formic acid / methanol + 0.1 % formic acid($R^2 = 0.957$)
- Eclipse PAH with 10 mM ammonium acetate pH 5 / acetonitrile and Eclipse Plus Phenyl-Hexyl with H₂O + 0.1 % formic acid / methanol + 0.1 % formic acid($R^2 = 0.960$)
- Eclipse Plus C18 with 10 mM ammonium acetate pH 5 / acetonitrile and Eclipse Plus Phenyl-Hexyl with 10 mM ammonium acetate pH 5 / acetonitrile($R^2 = 0.998$)

위에 열거한 분리조건 조합들을 Comprehensive 2D-LC 분석법 셋업에 적용하여 테스트하였다. 2차원 분리는 모든 분획의 기울기용리 조건이 동일한 full gradient 조건을 사용하여 각 조합의 분리 중 가장 넓은 2차원 분획범위를 제공하는 분리 조합을 확인해 보았다. 2D 크로마토그램의 분획범위를 계산하는 방법으로 'Gilar-Stoll 접근법'을 사용하였다. Gilar 등은 2차원 분리 시스템의 직교성에 대하여 2D 분리 공간을 각 차원 별 피크 너비의 크기를 갖는 "구간(bins)"으로 나눈 격자에 정규화된 머무름 시간을 분포시킴으로써 기하학적으로 서술하고자 하였다. 최종적인 직교성은 피크들로 채워진 구간의 백분율을 통해 결정되게 된다.⁹

Gilar의 접근법은 Stoll에 의해 일부 수정 제안되었는데, 구간의 크기를 사용자가 선택할 수 있고, 피크가 존재하는 곳 주위에 속해있는 비어있는 구간 또한 포함할 수 있게 되었다. 이것은 주어진 분리조건이 실제 샘플 분석인 경우가 아니더라도 화합물이 피크로 채워진 구간 주변에 속해있는 빈 공간 내로 용출될 수 있도록 하기 위한 아이디어에 근거한다.^{1,10} Comprehensive

2D-LC 셋업에서 평가된 각 분리 조합별 분획범위를 결정하기 위해서 2차원 분리 이후에 검출한 피크들의 머무름 시간을 각 차원의 5 σ 위치에서의 피크 너비에 따른 구간 size만큼의 격자 위에 도표로 표시하였다(평균 피크너비: 1차원-0.34 분, 2차원-0.6초). 피크들로 채워져 있는 영역 주변 구간의 개수를 센 다음, 유효 분리영역 내에 있는 전체 구간의 개수 대비 백분율로 분획 범위를 계산한다. 유효한 분리영역은 6분($k = 2$)에서부터 1차원 분리의 기울기 용리가 끝나는 지점과 2차원 분리의 시작에서 24초까지로 선택되었다.

〈그림 3〉은 Eclipse PAH column with 10 mM ammonium acetate pH 5 / methanol 조건과 Eclipse Plus C8 column with 10 mM ammonium acetate pH 5 / acetonitrile 조건의 조합의 Comprehensive 2D-LC 결과에 대한 분획범위를 결정하기 위해 사용된 크로마토그램과 머무름 시간표를 나타낸다. 결과의 비교를 위하여, Eclipse Plus C18 column with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile 조건과 Eclipse Plus Phenyl-Hexyl column with 10 mM ammonium ac-



〈그림 3〉 Comprehensive 2D-LC 셋업을 위한 220 nm UV 검출에 의한 2D-LC 크로마토그램 결과 및 특정 분리 조합 결과의 머무름 시간 (A) 1D: Agilent ZORBAX RRHT Eclipse PAH with 10 mM ammonium acetate pH 5/methanol, 2D: Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8 with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile; (B) 1D: Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8 with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile, 2D: Agilent ZORBAX RRHD Eclipse PAH with 10 mM ammonium acetate pH 5/methanol; (C) 1D: Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile, 2D: Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus Phenyl-Hexyl with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile.

〈표 2〉 Comprehensive 2D-LC 셋업에 시험된 각 분리 조합별 유효 분리 공간의 분획범위결과

1D column and mobile phase	2D column and mobile phase	Fractional coverage (%)
Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus with 10 mM ammonium acetate pH 5/methanol	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8 with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile	17.2
Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8 with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus with 10 mM ammonium acetate pH 5/methanol	16.4
Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile	Agilent ZORBAX RRHD Bonus RP with H ₂ O + 0.1 % formic acid/methanol + 0.1 % formic acid	13.8
Agilent ZORBAX RRHD Bonus RP with H ₂ O + 0.1 % formic acid/methanol + 0.1 % formic acid	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile	14.6
Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus Phenyl-Hexyl with H ₂ O + 0.1 % formic acid/methanol + 0.1 % formic acid	16.2
Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus Phenyl-Hexyl with H ₂ O + 0.1 % formic acid/methanol + 0.1 % formic acid	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile	14.9
Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus Phenyl-Hexyl with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile	9.8
Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus Phenyl-Hexyl with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile	8.8

etate pH 5 / acetonitrile 조건의 조합 결과를 함께 나타내었다. 〈표 2〉를 통해 Comprehensive 2D-LC 분석에 사용된 모든 분리조건의 조합별 분획 범위 결과를 확인할 수 있다.

〈표 2〉에서 보여지듯, 가장 높은 분획 범위는 ZORBAX Eclipse PAH column with 10 mM ammonium acetate pH 5/methanol과 Eclipse Plus C8 column with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile 조합인 것으로 나타났다. 예상했던 것과 같이 분획 범위 값의 결과는 1차원 분리의 컬럼 및 용매조건의 스크리닝으로부터 계산되었던 상관계수와 일정부분 연관성이 있다는 것을 알 수 있었다. 그러나 이 연관성은 샘플 중 특정 성분들(Pesticide류 및 Phthalate ester류)에 대해서만 설명이 가능하였다.

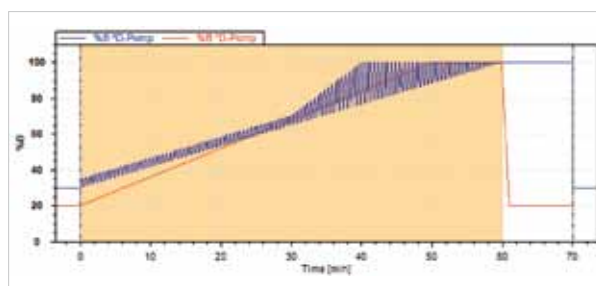
각각의 분리 조합에 대한 2차원 분석을 진행할 때, 초기에는 2차원 분리구간에 대하여 20~100% B의 기울기 용리가 적용되었다. 이것은 2차원 컬럼으로 도입된 각각의 모든 분획이 20~100% B라는 동일한 기울기용리를 겪는다는 것을 의미한다. 이를 의미하는 'full gradient' 조건은 1차원에서 2차원으로 분획이 도입될 때 밴드너비를 억제하는 효과가 뛰어나기 때문에 2차원 분리에서 매우 좁은 피크너비를 제공할 수 있는 장점이 있다. 반대로 분획범위는 감소하게 되고, 1차원 역상분리 컬럼에서 머무름이 약했던 화합물들이 2차원 역상 컬럼에서도 약한 머무름을 보이기때문에 화합물들은 대각선 주변에 분포하는 경향을 보이게 된다.

이렇게 얻어진 결과에서 분획범위는 2차원 분리 조건에 '이동 기울기용리 조건(shifted gradient)'을 적용함으로써 개선할 수 있다. Shifted gradient는 1차원 분리의 머무름 시간이 증가함

에 따라 2차원 기울기 용리를 점진적으로 변화시키는 조건을 의미한다. 따라서 2차원 분리로 주입되는 각각의 분획들은 매우 얇으면서 미묘하게 다른 기울기 용리조건을 겪게 된다.

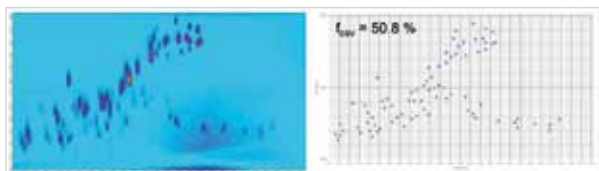
이동 기울기 용리조건을 Eclipse PAH column with 10 mM ammoniumacetate pH 5/methanol(1차원)과 Eclipse Plus C8 column with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile(2차원) 조합에 대하여 최적화 한 결과, 분획 범위가 향상됨을 알 수 있었다. 그러나, 2차원 분리의 기울기 용리 시작시점에서 증가한 유기용매의 비율로 인하여 상대적으로 밴드너비 억제효과가 감소하여, 1차원 Eclipse PAH 컬럼에서 머무름이 강한 Polycyclic aromatic hydrocarbon 류들은 2차원 분리에서 밴드너비가 넓어진 것을 확인할 수 있었다(테이터는 본 자료에 나타나 있지 않음). 더 나은 밴드너비 억제효과를 누리기 위해서는 결과적으로 2차원 분리에 사용되는 컬럼보다 더 비극성도가 높은 컬럼을 1차원 분리에 사용하는 것이 더 유리하다 판단된다.²

분획 구간을 향상시키기 위해 적용한 Eclipse Plus C8 column with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile(1차원)과 Eclipse PAH column with 10 mM ammonium acetate pH 5/methanol(2차원) 조합의 이동 기울기용리 조건을 〈그림 4〉에 나타내었다.



〈그림 4〉 특정 Comprehensive 2D-LC 분석법의 2차원 분리 조건에 적용된 '이동 기울기용리' 조건: 1D-Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8 column with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile, 2D- Agilent ZORBAX RRHD Eclipse PAH column with 10 mM ammonium acetate pH 5/methanol(이 조건은 최종 Comprehensive 2D-LC 분석조건이 됨).

〈그림 5〉에서, 최종 개발된 Comprehensive 2D-LC 분석법을 이용한 결과를 확인할 수 있다. 분석 조건은 1차원 분리에 Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8 컬럼과 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile 용매조건, 2차



(그림 5) 최종 개발된 Comprehensive 2D-LC 분석법을 적용한 결과: 1D-Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8 column with 10 mM ammonium acetate pH 5/acetonitrile, 2D-Agilent ZORBAX RRHD Eclipse PAH column with 10 mM ammonium acetate pH 5/methanol and shifted gradient.

원은 Agilent ZORBAX RRHD Eclipse PAH 컬럼과 10 mM ammonium acetate pH 5/methanol 용매조건 및 이동 기울기 용리 조건이다.

분획범위는 5σ 구간에서의 평균 피크너비로서 1차원의 경우 0.41분, 2차원의 경우 2.5초의 간격을 갖는 구간 크기에 의해 계산되었다. 증가된 2차원 분리의 피크너비는 이동 기울기 용리 조건에 의하여 각각의 분획들이 얇은 기울기 용리조건을 겪었기 때문에 설명될 수 있다. 2차원 분리에서 이동 기울기 용리조건을 사용함으로써 최종 분획 범위가 full gradient 사용 대비 50% 이상 크게 향상되었음을 확인할 수 있었고, full gradient 조건에서 완전히 분리되지 못하거나 coeluting 되었던 화합물들이 이동 기울기용리를 적용한 최종 Comprehensive 2D-LC 크로마토그램에서 완벽하게 분리된 것을 알 수 있었다.

결론

Comprehensive 2D-LC는 1D-LC 대비 훨씬 증가된 분리능을 제공할 수 있어 복잡한 샘플분석에의 높은 활용 가능성을 제공한다. 가장 일반적으로 사용되는 분리 조건의 조합은 두 개의 서로 다른 역상 분리 조건이다(RP x RP). 1D-LC 대비 얻을 수 있는 분리능의 향상을 극대화 하기 위해서는 1차원과 2차원 분리조건이 서로 다른 선택성을 갖는 즉, 직교성이 확보되는 것이 중요하다. HSM은 그 선택성에 따라 컬럼을 분류하므로 Comprehensive 2D-LC 분리의 직교성을 유지하기 위한 다양한 컬럼 선택에 중요한 참고가 된다.

1차원 분리 컬럼 및 용매 스크리닝에서, 두 개의 분리조건 사이의 상대적인 선택성을 주어진 화합물에 대한 머무름 인자의 상관관계로부터 평가할 수 있었다. Comprehensive 2D-LC 분석법 최

적화에서 다양한 분리조합 결과를 비교하기 위해 각 2D-LC 크로마토그램 결과의 분획범위를 측정하였다. 선정된 하나의 분리조합에서 2차원 분리 조건에 '이동 기울기 용리' 조건을 도입함으로써, 최종 분획범위는 크게 향상될 수 있었다.

참고문헌

1. Rutan, et al. Fractional coverage metrics based on ecological home range for calculation of the effective peak capacity in comprehensive two-dimensional separations, *J. Chromatogr. A* 2012, 1255, 267–276.
2. Li, et al. Practical considerations in comprehensive two-dimensional liquid chromatography systems (LCxLC) with reversed-phases in both dimensions, *Anal. Bioanal. Chem.* 2015, 407, 153–167.
3. Vanhoenacker, et al. Increasing Peak Capacity with the Agilent 1290 Infinity 2D-LC Solution, Agilent Technologies Technical Overview, publication number 5991-6123EN, 2015.
4. Giddings. Two-dimensional separations: concept and promise, *Anal. Chem.* 1984, 56, 1258A–1260A, 1262A, 1264A passim.
5. Carr, Stoll. Two-Dimensional Liquid Chromatography; Principles, Practical Implementation and Applications, Agilent Technologies Primer, publication number 5991-2359EN, 2015.
6. Graessboll, et al. Using the hydrophobic subtraction model to choose orthogonal columns for online comprehensive two-dimensional liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 2014, 1326, 39–46.
7. Allen, et al. Impact of reversed phase column pairs in comprehensive two-dimensional liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 2014, 1361, 169–177.
8. Bassanese, et al. Protocols for finding the most orthogonal dimensions for two-dimensional high performance liquid chromatography, *Talanta* 2015, 134, 402–408.
9. Gilar, et al. Orthogonality of separation in two-dimensional liquid chromatography, *Anal. Chem.* 2005, 77, 6426–6434.
10. Davis, et al. Dependence of effective peak capacity in comprehensive two-dimensional separations on the distribution of peak capacity between the two dimensions, *Anal. Chem.* 2008, 80, 8122–8134.
11. Li, Schmitz. Use of shift gradient in the second dimension to improve the separation space in comprehensive two-dimensional liquid chromatography, *Anal. Bioanal. Chem.* 2013, 405, 6511–6517.



휴대용 가스분석기를 이용한 메탄가스 중 NH₃ 분석

서론

Lonestar는 Owlstone사만의 초소형 이온이동도 분석(Field Asymmetric Ion Mobility Spectrometry, FAIMS)* 기술을 기반으로 목적하는 성분을 신속하게 모니터링할 수 있는 가스 분석기이다.

목적성분을 이온화하기 위해서 Lonestar는 이온화원으로 Ni⁶³ 또는 UV를 사용한다. 각 이온화원별로 이온화 원리가 달라지게 된다. 이온화원 Ni⁶³은 이동상가스로 사용하는 Air 중 H₂O 보다 전자친화도(proton affinity: 전자를 얻는 능력)가 높은 성분을 이온화시킨다. 이온화원 UV의 경우, UV의 이온화에너지 10.6eV를 기준으로 낮은 이온화에너지를 가진 성분을 이온화시킨다.

본 응용자료는 메탄가스 중 불순물인 암모니아(Ammonia, NH₃)를 분석하기 위해 Ni⁶³-Lonestar와 UV-Lonestar의 분석방법을 개발하는 과정에서부터 실제 시료를 분석한 결과데이터를 포함하고 있다.

*이온 이동도 분석(FAIMS) : 대기압상에서 전기장에 변화를 주어 각 이온들의 이동도 차이에 따라 화합물질을 분리 검출하는 기술

방법

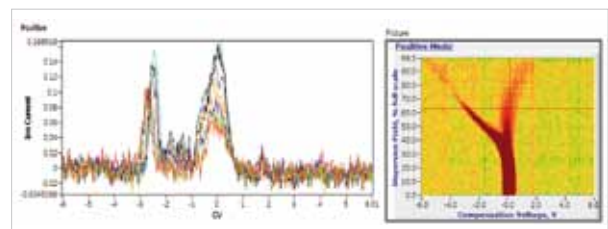
NH₃ 분석조건 개발

메탄가스 중 NH₃ 분석을 위한 method development 과정에서 Ni⁶³-Lonestar와 UV-Lonestar 두 모델의 Lonestar를 사용하였다.

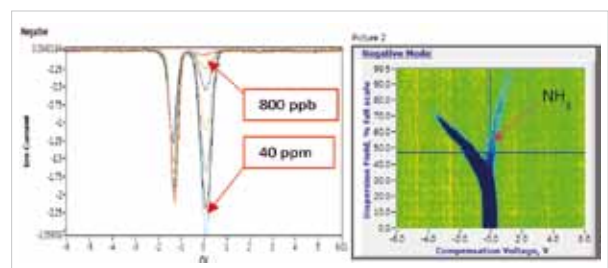
① Ni⁶³-Lonestar를 이용한 NH₃ 표준가스 분석

- 분석조건
 - 이온화원 : Ni⁶³
 - NH₃ 표준가스 농도 : 200 ppm in N₂ gas
 - NH₃ 회석농도범위 : 800 ppb~40 ppm
 - 총 유속 : 3.5 L/min

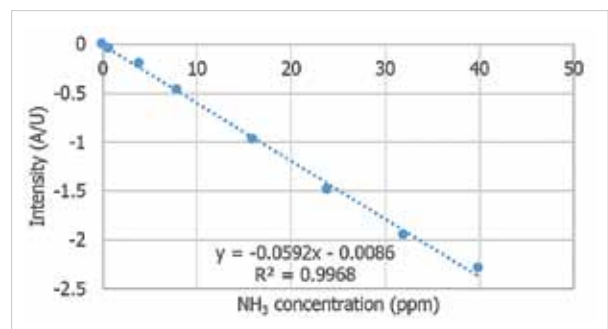
• 분석결과



〈그림 1〉 Positive mode에서 분석한 농도별 NH₃ 결과 데이터



〈그림 2〉 Negative mode에서 분석한 농도별 NH₃ 결과 데이터



〈그림 3〉 NH₃ 농도별 직선성(negative mode)

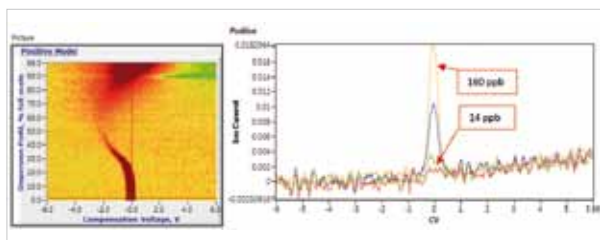


〈그림 1〉에서 보는 것과 같이 positive mode에서는 NH₃가 농도별로 peak 크기에 차이가 없어 NH₃의 검출확인이 어렵다고 판단했다. Negative mode에서는 positive mode보다 NH₃의 감도가 높았다(그림 2).

〈그림 3〉과 같이 NH₃를 800 ppb~40 ppm까지 상관관계(R²)가 0.997로 직선성있는 결과데이터를 얻을 수 있음을 확인했다. 하지만 Owlstone사가 Lonestar로 분석가능한 NH₃의 최소검출한계(Limit of detection, LOD)가 6.4 ppb인 것을 고려하면 상대적으로 높은 농도로, Ni⁶³-Lonestar로는 NH₃를 단위 ppb까지 분석하기에는 한계가 있음을 결론지었다.

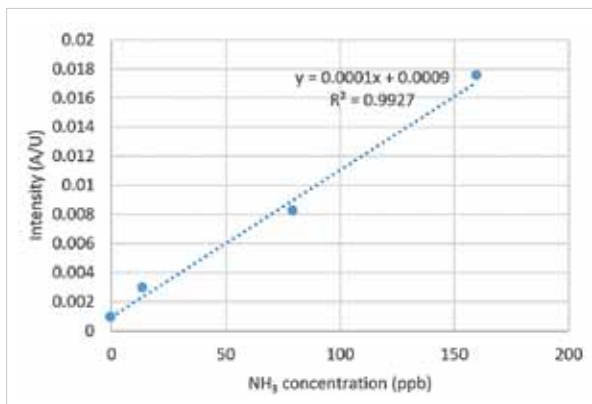
② UV-Lonestar를 이용한 NH₃ 표준가스 분석

- 분석조건
 - 이온화원 : UV
 - NH₃ 표준가스 농도 : 200 ppm in N₂ gas
 - NH₃ 희석농도범위 : 14 ppb~160 ppb
 - 총 유속 : 3 L/min
- 분석결과



〈그림 4〉 UV-Lonestar에서 분석한 농도별 NH₃ 결과 데이터

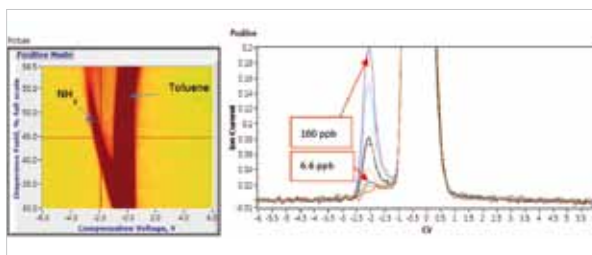
NH₃는 UV보다 이온화에너지(UV: 10.6 eV, NH₃: 10.0 eV)가 낮기 때문에 UV를 통해 이온화가 될 수 있다. 〈그림 4〉에서 보는 것과 같이 NH₃를 최소 14 ppb의 농도까지 분석할 수 있다. 하지만 전기장(Dispersion Field, DF)이 0%일 때 14 ppb 농도를 분석할 수 있는데 이 전기장에서는 물질 분리가 전혀 이루어지지 않는 구간으로 NH₃가 다른 성분과 혼합하여 존재할 경우 NH₃만의 정량이 어렵다는 것을 의미한다.



〈그림 5〉 NH₃ 농도별 직선성(positive mode)

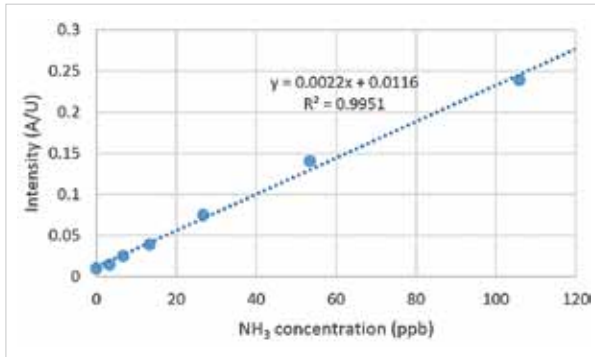
③ Dopant gas(Toluene)를 이용한 NH₃ 표준가스 분석

- 분석조건
 - 이온화원 : UV
 - Dopant gas : Toluene gas(농도: 600 ppb)
 - NH₃ 표준가스 농도 : 200 ppm in N₂ gas
 - NH₃ 희석농도범위 : 3.0 ppb~120 ppb
 - 총 유속 : 3 L/min
- 분석결과

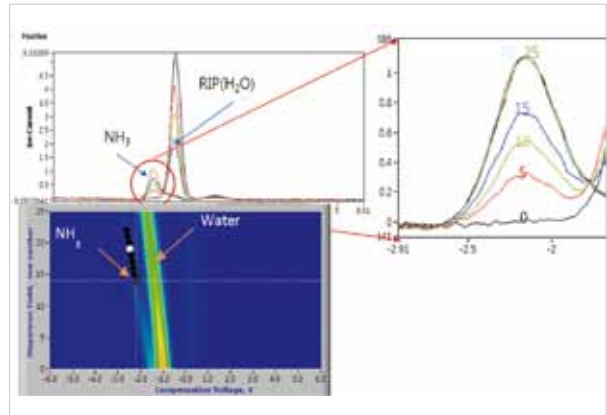


〈그림 6〉 Toluene gas를 dopant로 이용해 UV-Lonestar로 분석한 농도별 NH₃ 결과 데이터

Dopant gas로 toluene을 사용했을 때 극미량의 NH₃까지 분석할 수 있었다(〈그림 6〉, 〈그림 7〉). 이는 toluene gas가 NH₃의 감도를 높여주는 역할을 했기 때문이다. 따라서 공급해 주는 toluene gas의 농도가 높을수록 검출가능한 NH₃의 농도 범위는 더 넓어질 수 있다. 하지만 toluene gas는 유독성이 강한 가스 성분이기 때문에 반드시 배기시설이 갖추어져야 한다.



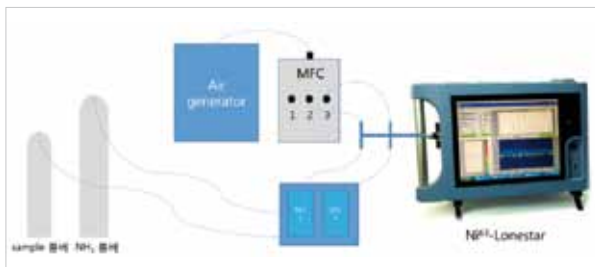
〈그림 7〉 NH₃ 농도별 직선성(positive mode)



〈그림 9〉 유속별 NH₃ 표준가스를 분석한 결과 데이터
(NH₃의 유속 : 5, 10, 15, 20, 25 mL/min)

NH₃ 표준가스 분석

- Lonestar 구성
 - Owlstone사 Ni⁶³-Lonestar
 - Owlstone사 MFC
 - Air generator
 - MFC
 - NH₃ standard bomb, sample bomb



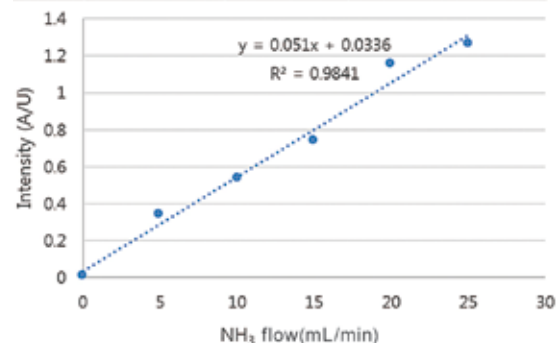
〈그림 8〉 Ni⁶³-Lonestar 구성도

- 분석조건
 - 이온화원 : Ni⁶³
 - NH₃ 표준가스 농도 : 9.4 ppm in N₂ gas
 - NH₃ 표준가스 유속범위 : 5~25 mL/min
 - 이동상가스(Air) 유속 : 3 L/min

분석결과

본 실험은 영인과학에서 보유하고 있는 Ni⁶³-Lonestar를 사용하여 분석하였다. 실제 N₂ 가스 중 NH₃ 표준가스의 유속을 5,

	Flow(mL/min)	Intensity	Concentration(ppm)
NH ₃ standard	0	0.006	0
	5	0.336	0.47
	10	0.536	0.94
	15	0.737	1.41
	20	1.151	1.88
	25	1.263	2.35



〈그림 10〉 NH₃ 유속별 직선성(R² = 0.9841)

10, 15, 20, 25(mL/min)에 차이를 주었을 때 어느 peak 위치에 NH₃가 검출되고 재현성있는 결과데이터를 얻을 수 있는지를 확인하였다.

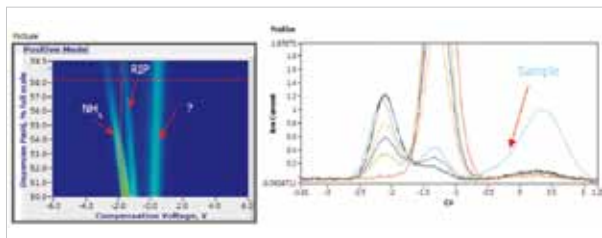
NH₃의 유속이 20 mL/min일 때 Lonestar의 core 부분인 FAIMS filter 내에 H₂O가 포화되기 때문에 25 mL/min으로 NH₃의 유속을 높였을 때 결과데이터에 큰 변화가 없었다.

Sample #1,2,3 분석

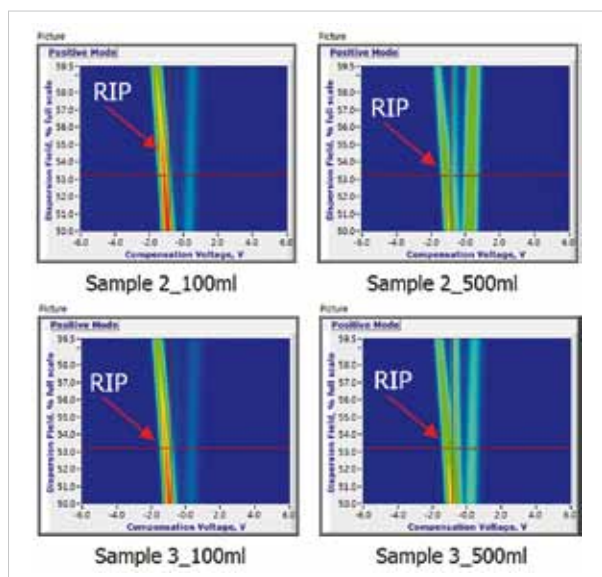
- Sample #1,2,3은 메탄가스 중에 NH₃가 혼합된 시료로 본 실험의 목적은 어느 정도의 NH₃가 혼합되어 있는지를 확인하는 것이었다.
- Sample #1은 유속을 100 mL/min로 흘려주었을 때 얻은 intensity 결과데이터를 가지고 NH₃ 표준가스의 직선식 ($y=0.051x + 0.0336$)에 대입했을 때 2.17 ppm의 NH₃가 혼합되어 있음을 확인했다.
- Sample #2,3은 NH₃ 피크가 Ni⁶³-Lonestar에서 검출되지 않았다.

(표 1) Sample #1,2,3의 결과 데이터(ND: Not detected)

	Flow(mL/min)	Intensity	Concentration(ppm)
Sample #1	100	1.213	2.17
Sample #2	100	-0.013	ND
	500	-0.012	ND
Sample #3	100	-0.017	ND
	500	-0.010	ND



(그림 11) Sample #1의 분석결과



(그림 11) Sample #2, 3의 분석결과

실험결과

본 실험을 통해 Ni⁶³-Lonestar 구성으로 메탄가스 중 NH₃를 최소 470 ppb까지 분석할 수 있음을 확인하였고, 단단위 ppb 농도의 NH₃를 분석하고자 한다면 dopant gas로 toluene을 사용하여 UV-Lonestar로 분석이 가능함을 확인할 수 있었다. 



HbA1c(Hemoglobin A1c) 분석적, 임상적 양상

당뇨병은 고혈당증(chronic hyperglycemia)이라고도 불리며 망막증, 신경장애, 신장에 같은 장기적인 합병증을 야기한다. 현재까지 전세계적으로 대략 3억4천6백만명의 사람들이 당뇨병으로 진단되었고, 미국에서 당뇨병 관련 질환들에 대한 보건복지 예산이 전체의 1/7을 차지한다.

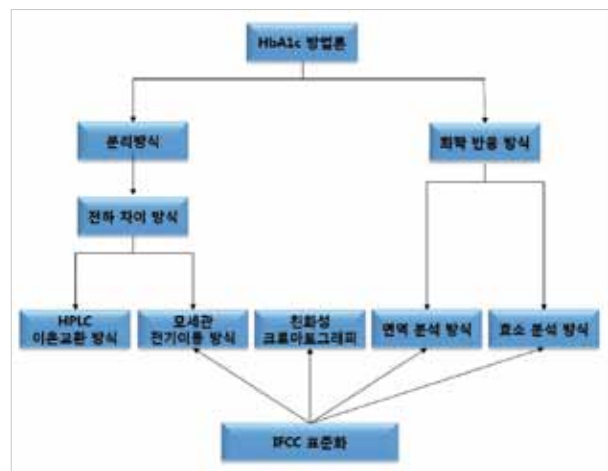
학계와 산업계는 이러한 당뇨병을 다루기 위한 효율적, 효과적인 관리 방안에 대한 요구를 충족하기 위하여 노력하여 왔다. 그 결과의 하나인 휴대용 혈당분석기는 당뇨병의 단기 관리를 용이하

게 해준다. 또한, 장기간에 걸친 전향적 연구에 따르면, 당뇨 합병증은 평균 혈당 수치와 직접적으로 관련이 있었다. 임상적, 기계적 HbA1c 평균화 이후, 특정 치료 목표와 결정 한계를 정의하는 것 뿐만 아니라 장기간 혈당 조절을 관측하기 위한 효과적인 진단 도구로 HbA1c 농도가 사용되고 있다.

분석적 양상

혈당 관리에서 HbA1c 농도의 상관성은 진단 산업 분야에서 잘 인식하여 왔고, 아래와 같은 다양한 시험방법이 개발되었다.

HbA1C 측정 방법

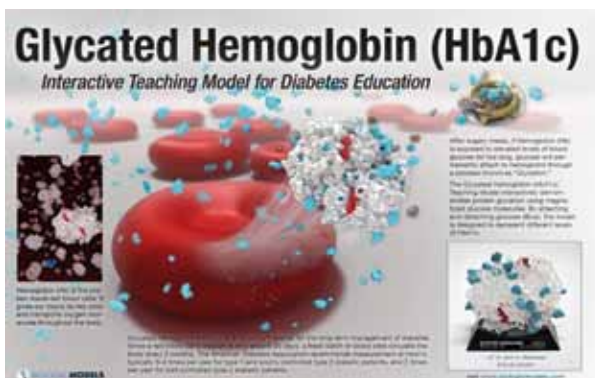


〈그림 2〉 HbA1C 측정 방법

분리 방식

HbA1C와 비당화 Hb이 갖는 다른 화학적 특성을 사용하여 HbA1c 정량 및 분리를 한다.

- **이온교환 크로마토그래피** : HbA1c와 Hb의 등전점은 0.02 units만큼 차이가 난다. 이 차이는 HPLC를 통한 HbA1c와 비당화 HbA1c의 분리를 가능하게 해준다. 유전적 변이체(겸상적혈구 헤모글로빈 등) 뿐만 아니라, HbCarb, HbA1a/B, HbF를 확인할 수 있다.
- **모세관 전기이동방법** : HbA1c와 다른 Hb 사이의 전하 차이를 이용한다. 분리는 고전압 전기장 혹은 전기삼투흐름을 통하여 수행된다.
- **친화성 크로마토그래피** : 비당화 Hb이 붕산 코팅된 입자로 덮인 컬럼을 통하여 흐르는 동안 당화된 Hb 분자는 붕산에 대한 친화력을



〈그림 1〉 당화혈색소(HbA1c) 묘사 (출처: Biological model)

가진다. 포도당은 HbA1c의 N말단 뿐만 아니라 15개의 라이신 잔기에 결합하고, 이들의 양은 HbA1c에 대하여 일정비율을 형성하기에 보정을 통하여 HbA1c의 결과를 얻을 수 있다.

화학적 방법

HbA1c 농도는 베타사슬의 당화된 N말단 말린에 대하여 특정 화학반응에 의해 측정된다. 총 Hb 농도는 광도측정과 함께 측정되는데, 두 독립적 시험결과를 통해 HbA1c 농도를 계산할 수 있다.

- **면역 분석 방법** : HbA1c 항체를 용혈된 검체에 첨가하여, 반응전 광도측정으로 전체 Hb의 양을 재고, 항원 항체 반응 후 혼탁도 광도 측정을 통해 HbA1c 농도를 측정한다.
- **효소 분석 방법** : 단백질 분해효소가 베타사슬을 잘라내는데, 그 펩타이드는 프록토실 펩타이드 산화효소와 반응한다. 하이드록시 퍼옥시다제 발광측정을 통해 HbA1c 농도를 측정한다.

저해물질

가장 흔한 저해물질은 Hb 변이체들, HbF, 그 밖의 부산물들이다. 900개의 변이체가 확인되었고, 그 중 99%는 다음과 같은 4개의 범주에 들어간다.: S(아프리카계 흑인, 미국인, 인도인), C(아프리카계 흑인, 미국인), E(동남 아시아인), D(전 세계적), S, C, D와 E의 이질접합형태는 용혈성 질환을 야기하지는 않는다.

이러한 Hb의 분석적 저해는 다양하고 분석 방법에 특이적이어서 일반화하기 어렵다. 각 방법들에 대한 최근 평가 정보는 NGSP 사이트에서 확인 가능하다. 예를 들어, HbA1c의 농도는 HbF 1%당 면역 분석방법에서는 1% 감소하고, 친화성 크로마토그래피에서는 0.7% 감소한다. 이온교환 크로마토그래피와 모세관 전기이동방법은 HbF는 잘 분리하지만, HbCarb, pre-HbA1c의 등전점이 HbA1c와 거의 같아서 분리하기 어렵다.

평균화

분석 방법의 각기 다른 특이성 및 선택성은 넓은 편차를 야기한다. 임상적 사용을 위하여 사용된 분석 방법 혹은 장비에 상관없이 결과의 등가성이 필요하다. 이를 위해 IFCC는 도량형 추적 방식을 통해 순수한 Hb를 포함하는 적혈구 용해물

을 endoproteinase에 의해 자르고 생성되는 hexapeptides를 HPLC-CE 혹은 HPLC-전기분무질량분석기로 측정한 표준 물질 기준을 제공한다.

임상적 양상

임상적 사용

HbA1c 농도는 당뇨병 1형, 2형 환자 모두에서 장기간 혈당 상태의 모니터링에 사용된다. HbA1c는 치료에 대한 반응, 당뇨병 합병증의 진행 및 악화의 위험을 진단하기 위한 평균 혈당의 표지자이다. 또한, HbA1c는 당뇨병을 진단하는데 사용되고 있고 국제 참조 값으로 평균화되었다. 당뇨병을 가진 임산부의 HbA1c의 측정은 분만기 위험을 최소화하고 선천성 기형, 유아의 과체중 등 태아의 건강을 최대화하기 위해 필요하다.

Trinity Biotech사 Premier Hb9210™



〈그림 3〉 Trinity Biotech사 Premier Hb9210™

Trinity Biotech사의 Premier Hb9210™ HbA1c 분석기는 친화성 크로마토그래피 방법을 이용한 HPLC 장비로 이온 크로마토그래피의 단점을 줄이고, HPLC의 속도를 갖는 새로운 당화혈색소 분석기이다. 

대기 모니터링, 휘발성/중간휘발성 물질 분석의 세계적 리더



Entech사는 전세계 환경, 산업보건, 식품 및 음료, 제품 QC, 법의학, 임상 분석 산업의 연구를 지원하는 분석 기기 제조 업체이다. Entech사는 비활성 재질의 시료 샘플링 장비의 개발 뿐만 아니라 GC와 GC/MSD의 시료 전처리 및 주입 시스템을 전문적으로 공급하고 있다.

Entech사는 고유한 세라믹 코팅 기술인 Silonite™을 이용하여 GC 컬럼만큼 비활성 처리를 한 Stainless steel 튜빙, 캐니스터 그리고 다른 샘플링 장치들을 제작하고 있다. Entech사는 기체 크로마토그래피 시스템으로 분석 가능한 화합물을 샘플링하고 저장할 수 있는 헤드스페이스-GC/MS 주입 시스템과 공기질 모니터링 시스템에 대한 완벽한 분석 솔루션을 제공하고 있다.

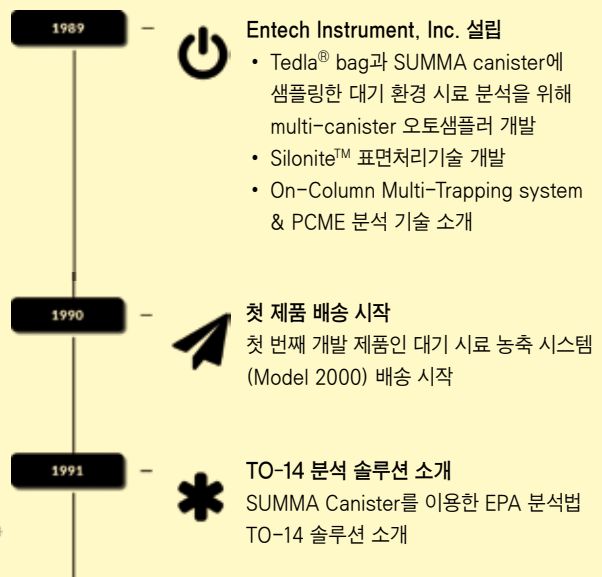
과거 20년 동안 Entech사는 그 어떠한 회사보다 시료 농축 관련 분야에 많은 공헌을 했다. 또한 아래 사항을 포함하는 GC/MS 분석을 위한 시료전처리 기술을 개발하였다.

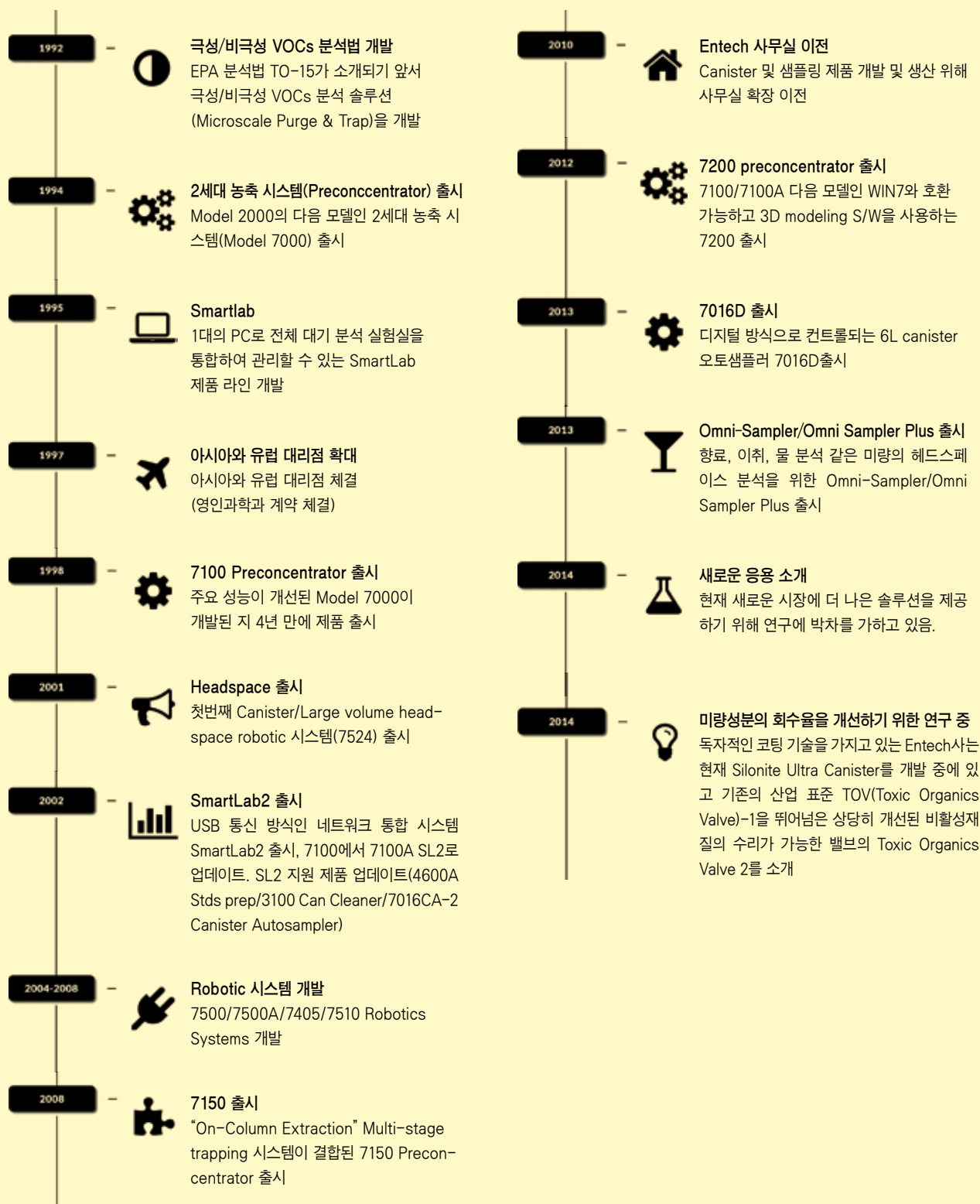
- Microsacle Purge & Trap
- Extended Cold Trap Dehydration
- Large Volume Headspace
- Pulsed Vacuum Extraction



헤드스페이스-GC/MS 주입 시스템

History of Entech





자료번호 71-05

GC/MS/MS, Agilent라는 이름 하나로 충분합니다. [Agilent] 7200 Q-TOF for GC/MS

질량분석법을 이용한 성분분석은 크게 분석해야 할 성분이 정해져 있는 타겟 분석과 분석 성분이 정해져 있지 않고 분석한 데이터를 모두 해석해야 하는 년타겟 분석으로 나뉩니다. 타겟 분석에서는 그 성분의 정량적 해석이 중요하며, 결국 얼마나 낮은 수준의 농도까지 분석할 수 있느냐가 중요하게 작용할 수 있습니다. 일반적으로는 단일질량분석기인 GC/MSD를 활용하여 분석할 수 있지만, 시료의 매트릭스 수준, 성분의 농도수준에 따라 GC-QQQ를 이용해야만 하는 경우도 있습니다.

년타겟 분석에서는 얼마나 많은 성분을 찾아내느냐가 중요하게 작용하는데, 특히 최근 들어 연구가 점점 활발해지고 있는 메타볼로믹스, 엑스포소믹스 등 기존에 알고 있는 주요 성분 외에 중요한 역할을 하고 있는 기타 성분들을 찾아내기 위해서는 이러한 년타겟 분석이 필수적입니다. 이들 년타겟 분석에서는 라이브러리 매칭이 되지 않는 피크들에 대한 정의를 내리는 것이 가장 어렵습니다.

이들 미지 피크들에 대한 성분확인보다 빠르고 정확하게 할 수 있는 방법으로는 정확한 질량 측정값을 통해 접근할 수 있으며, 따라서 고분해능 질량분석기를 활용할 수 있습니다. 뿐만 아니라 QQQ와 비슷하게 고분해능 질량분석기에 MS/MS의 개념을 도입한 Q-TOF 시스템을 활용하여 보다 정확한 정성분석 데이터를 산출할 수 있게 됨으로써 FT-IR, NMR, SEM, TEM 등의 기타 분석방법을 도입하지 않고도 그에 준하는 특정물질의 구조해석을 가능하게 합니다.

- Agilent 5977 Series GC/MSD

Single Quadrupole MS 시스템

일상적 농도수준 성분의 일상적인 정량/정성 분석

- Agilent 7000 Series QQQ GC/MS/MS

Triple Quadrupole MS/MS 시스템

극미량 수준 성분의 고감도 정량 분석

- Agilent 7200 Q-TOF GC/MS/MS

Quadrupole & TOF MS/MS 시스템

극미량 수준 성분의

고감도 정량 & 정확한 정성 분석



자료번호 71-06

황화학발광검출기

[Agilent] 8355 SULFUR CHEMILUMINESCENCE 검출기

새로운 구성의 Agilent 8355 SCD는 신뢰성과 사용자 편의성을 강조한 25년 역사를 지닌 황화학발광검출기의 보다 진보된 기술입니다. 고감도와 높은 정확도의 8355 SCD는 기존 355 SCD의 크고 작은 구성부품을 40% 이상 간소화함으로써 기존 1시간이 소요되었던 세라믹튜브(Inner ceramic tube)의 교체시간을 단 10분으로 단축하는 등 검출기 유지보수를 매우 간단하고 손쉽게 수행할 수 있습니다.

고온연소반응으로 황화합물을 일산화황(Sulfur monoxide, SO)의 형태로 바꾸는 데에 이중 플라즈마연소장치(Dual Plasma Burner)를 채택하였으며, 일산화황과 오존(Ozone, O₃)에 의해 황화학발광으로 생성되는 파장을 광전자 증배관을 통해 검출합니다. 시료 매트릭스에 따른 검출의 방해 없이 직선성 있는 등몰화합물(Equimolar)의 검출도 가능하며 신속하게 정확한 결과를 도출해야 하는 황(Sulfur) 분석에 높은 선택성과 감도를 동시에 제공합니다.

특징

- 기체크로마토그래프 황분석 전용 검출기
- 기체크로마토그래프 설치형(기본)과 Standalone 형(키패드 포함) 제공
- Pico-gram 농도의 검출한계
- 탄화수소(Hydrocarbon)에 의한 검출 방해(Quenching) 없음
- 직선성있는 등몰화합물 검출
- 구성부품을 40% 이상 간소화한 연소장치의 간단한 구성으로 누출점(Leak point) 감소
- 단 10분만에 가능한 세라믹 튜브(Inner ceramic tube)교체



〈그림 1〉 Standalone
8355 SCD



〈그림 2〉 Agilent 7890B GC에 설치된
8355 SCD(기본형)

자료번호 71-07

자료번호 71-08

농도별 표준가스를 만들어 주는 시스템 [Owlstone] OVG Calibration Gas Generator

OVG Calibration Gas Generator는 ppb에서 ppm 수준까지 농도별로 표준가스를 만들어 주는 시스템입니다. Tube 내 표준물질을 vapor 화시켜 저농도의 표준가스를 제조하는 기술을 이용합니다. 도입할 수 있는 tube의 종류는 2가지로 permeation tube와 diffusion tube가 있습니다. 이 시스템을 통해 정확하고 장시간(over month, year)에 연속 사용 시에도 재현성있는 표준가스를 만들 수 있습니다.

* Permeation tube : 투과할 수 있는 재질(PTFE)의 tube에 목적성분을 액상 형태로 주입하고 밀봉한 형태

* Diffusion tube : 투과가 가능한 PDMS membrane을 상단에 장착시키고 목적성분을 액상형태로 stainless steel 용기에 담은 형태

현재 출시되고 있는 OVG 모델은 2가지로 OVG-4와 V-OVG가 있으며 각 모델별로 도입할 수 있는 tube종류와 만들 수 있는 표준가스의 농도범위가 다릅니다.

특징

- 표준가스로 만들 수 있는 성분 수가 많음(약 500개까지 가능)
- 표준가스 혼합물 제작 가능
(OVG-4 : 2~3개, V-OVG : 최대 6개까지 혼합물 제작 가능)
- Tube를 OVG 오븐에 단지 장착/분리하면 되기 때문에 교체가 신속하고 용이
- ppb 농도에서도 정확하고 재현성있는 표준가스 제조 가능
- 가격 경쟁력(tube 하나당 약 \$200~\$400)을 가지고 있어 값비싼 가스실린더 대체 가능

응용

- 센서/기기 테스트
- Calibration(부식성이 강한 성분도 표준가스로 만들 수 있음.)



당화혈색소 분석기 [Trinity Biotech] Premier Hb9210™

Trinity Biotech사의 Premier Hb9210은 boronate affinity separation의 정밀도와 자동 고성능 액체 크로마토그래피의 편리함이라는 장점을 결합한 당화혈색소 전용 측정 장비입니다. 최대 210 검체를 한번에 장착할 수 있는 Premier Hb9210은 높은 정확도로 인해 전세계적으로 꾸준히 점유율을 늘려 가고 있으며, 각 부속이 모듈화 되어 있어 하드웨어 문제에 즉각적인 대처가 가능한 장점이 있습니다.

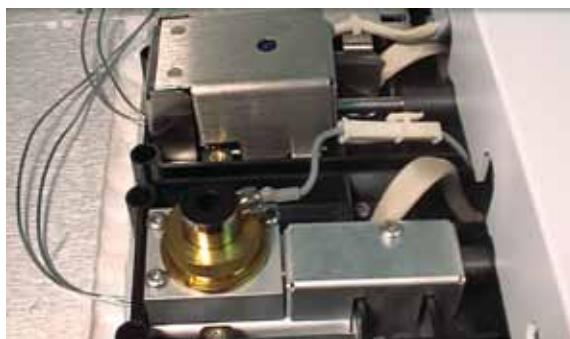
규격

- 분석 : 당화혈색소 정량분석
- 분석 원리 : HPLC(Boronate 친화성 크로마토그래피)
- 검사 시간 : 74초(48 검체/시간)
- 작동 환경 : Microsoft Windows XP / 터치스크린 모니터
- 검체 장착 수 : 210 검체 + STAT(1 검체)
- 검체 종류 : 전혈 / 용혈물, EDTA / 헤파린 / 플루오르화나트륨
- 추적성 : IFCC / NGSP
- 보고 단위 : % HbA1c(NGSP), mmol A1c/mol Hb(IFCC)
- % CV(변동계수비율) : < 2.0 %



Agilent GC Ignitor 교체방법

- **증상** Flame on 시 자동점화가 되지 않으며, "Flame off message"가 나타남.
- **원인** 장시간 사용에 따른 ignitor 부식, FID 결합이 잘못되었을 경우 Gas 순도 불량, 컬럼 충전물 또는 외부 이물질, 분석시료의 응축에 의한 막힘
- **조치** Ignitor Castle을 좀 더 조여주거나, 교체한다.



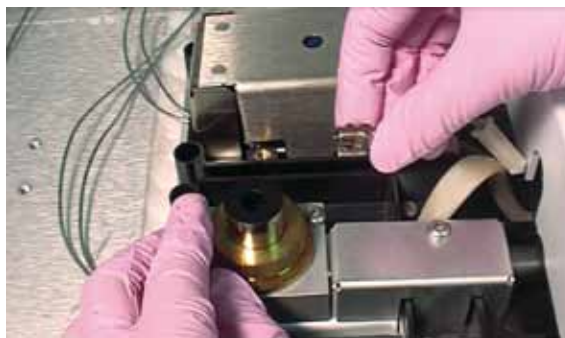
장시간 사용으로 인한 ignitor 코일의 부식 등으로 점화가 되지 않을 때 교체합니다.



검출기의 온도를 충분히 내린 후 장비의 전원을 끈 다음 ignitor 케이블의 연결 단자를 분리합니다.



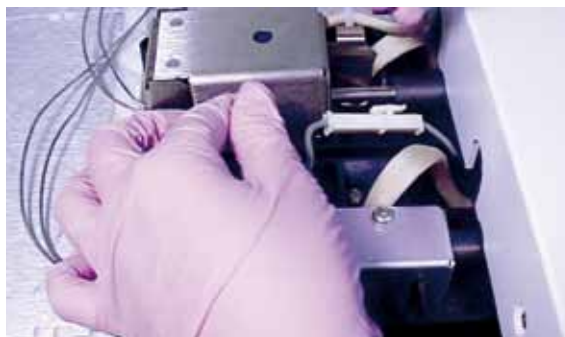
FID body에서 스패너를 이용하여 ignitor를 분리합니다.



Ignitor를 준비합니다(PN: 19231-60680).

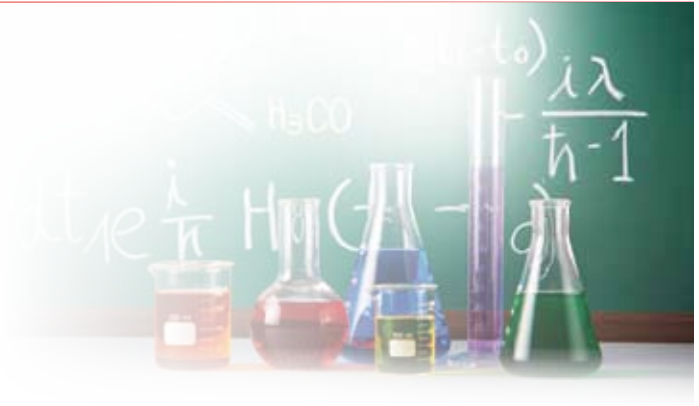


분해 역순으로 조립합니다.



* 유튜브(YouTube)에서 "영인과학"을 검색하시면 동영상으로 자세한 내용을 확인하실 수 있습니다.

실험실의 기본, 실험실 가구



‘실험실’하면 대부분의 사람들은 검정상관의 실험대에 유리 초자가 올려진 모습을 떠올릴 것이다. 이와 같이 실험실의 첫 이미지는 실험실 가구가 결정한다고 해도 과언이 아니다.

이를 반영하듯 실험실 가구 브랜드에서는 다양한 디자인을 선보이고 있으며, 단순히 디자인에 초점을 맞춘 것이 아닌 사용자의 안전을 위한 디자인 가구들이 출시되고 있다.

신규 실험실 설계의 경우, 실험목적에 맞는 가구를 신중하게 선택해야 하며, 기존 실험실은 기존의 가구와 이질감이 없는 가구를 선택해야 한다. 또한 사용자의 안전성과 효율성을 높일 수 있는 배치가 더욱 중요하다.

실험대 선정 기준

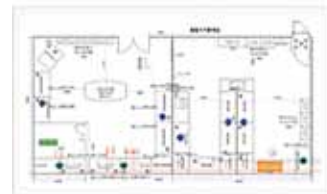
- 규격에 맞는 안전성이 확보된 실험대 및 유틸리티
- 실험목적 및 장비에 맞는 디자인
- 변경 또는 확장 등에 유연한 유틸리티

실험대 배치

- 실험순서에 따른 동선 파악
- 안전규정에 맞춘 배치

와이에스엔에서는 다양한 브랜드의 실험실 가구를 취급하고 있다. 또한 연구 목적에 맞춰 제작 가구도 공급하고 있어 보다 완벽한 실험실 컨설팅을 제공하고 있다.

실험실 도면 제공



다양한 실험가구 시공 사례



Pharmaceutical Secondary Standards

표준물질의 새 바람~

의약품 이차 표준물질



현재 대부분의 제약사에서는 비싼 일차 표준물질을 대신해 상용표준물질(Working Standard)¹을 만들어 원료의 수출, 안전성 유효성 검사, 원료감사 시에 이용하고 있다. 상용 표준물질을 준비하고 확인하는 데는 오랜 시간이 걸리게 된다. 이러한 시간과 노력을 줄일 수 있으면서 가격이 저렴하다는 장점을 지닌 씨그마알드리치의 의약품 이차 표준물질을 소개한다.

¹상용표준물질(Working Standard) : 표준물과 비교하여 품질과 순도가 확보된 원료 의약품이나 제제 분석에 이용되는 물질

의약품 이차 표준물질(Pharmaceutical Secondary Standard)

- 미국 식품의약품, 미국약전 및 유럽약전 모두 일차 표준물질에 상응하는 참조를 가진 이차 표준 물질 및 상용 표준물질의 사용을 인정하고 있다.
- QC에 적합하도록 인증된 씨그마알드리치의 이차 표준물질은 일차 표준물질에 대해 약품 연구 및 생산을 위한 보다 편리하고 비용 효율적인 대안을 제시한다.
- 기존의 상용 표준물질(Working Standard)을 준비하고 확인하는 시간과 노력을 절약할 수 있으며, 일차 표준물질에 비해 저렴한 가격 등의 이점이 있다.

주요 특징과 장점

- 미국 약전(USP), 유럽 약전(EP) 및 영국 약전(BP)에 대한 소급성
- 약전 단일 시험법을 이용하여 GMP 규정에 따라 적합한 장비를 활용하여 분석
- 질량 균형 접근법을 이용하여 ISO 34 및 17025에 따른 보증된 값 산출
- ISO 31에 따른 포괄적인 증명

씨그마알드리치 이차 표준물질의 인증서 값은 항상 현재의 약전 배치에 소급된다. 만약 EP나 USP 제품의 LOT가 변경되면, 상용하는 이차 표준물질은 새로운 LOT에 대한 소급성을 재인증 받게 되며 새로운 인증서가 온라인에 등재된다. 때문에 사용자는 사용 전에 항상 확인하고 웹사이트에서 인증서를 다운로드 받아야 한다.

인증서 필수 포함 사항(1개 물질에 8장의 분석 결과 첨부)



〈그림 1〉 인증서 예시
(IBUPROFEN
이차 표준물질 COA)

- 일차 의약품 표준물질²(USP, EP, BP)에 대한 소급성 분석결과
- 질량 균형 분석법에 의한 수치(ISO 17025)

²일차 의약품 표준물질(Primary Pharmaceutical Reference Standard) : 조성성분과 함량이 정확하게 알려져 있는 물질로서 사용 목적에 따라 규격화되어 별도 제조되었거나 이미 제조된 원료물질을 정제하여 얻어진 높은 순도의 표준물질. 의약품 설정 시, 유럽 의약품 및 의료 평가국(EDQM), 미국 약전국(US Pharmacopoeia) 같은 기구에 의해 생산, 제조 됨.

일차 표준물질(USP)에 대한 소급성 분석 결과

- 취급 및 저장에 대한 지침
- 분석결과



- ① 제품 사양(Analytical specification)
- ② 증명을 위해 사용된 약전의 논문에 대한 참조(Reference to Pharmacopoeial monograph used for the certification)
- ③ 사용된 시험법의 분석 조건(Analytical conditions of the method used)
- ④ 일차 표준물질의 약전 배치에 대한 참조(Reference to the Pharmacopoeial LOT of the primary standard)
- ⑤ 주어진 약전 LOT에 대한 소급되는 분석값(Assay value traceable to the given Pharmacopoeial LOT)

이차 표준물질의 적합성

- (1) Human Drug CGMP Notes, Vol 9, number 3, 2001 (Internal FDA Publication)
 - USP 이외의 회사에서 제조한 표준물질이 필수적인 특정 요소들을 포함하여 본래의 목적에 맞게 사용했을 때 사용 가능하다.



- 제조사의 시험 성적서는 품질특성을 충분히 포괄하는 요소들에 대한 충분한 시험결과가 포함되어 있어야 한다.

- (2) FDA : Guidance for Industry ; Analytical Procedures and Methods Validation, August 2000

- 표준물질(예, 일차표준물질)은 USP/NF 또는 다른 공식적인 공급원(CBER, 21 CFR 610)으로부터 구할 수 있다.
- 상용 표준물질(예, 내부표준물질 또는 이차 표준물)은 일차 표준물질에 대응해 부합하여 사용되는 표준물질이다.

- (3) United States Pharmacopoeia, General Chapter<1010>

- 표준물질의 사용 : USP 일차 표준물질의 사용이 명시된 경우, USP 일차 표준물질 또는 USP 일차 표준물질에 소급할 수 있는 이차 표준물질이 사용된다.

- (4) European Pharmacopoeia, Chapter 5.12

- 이차 표준물질 : 일차 표준물질과의 비교에 의해 구축된 표준물질로 일차 표준물질에 대한 참조를 가지고 위에 기술한 여러 사용목적을 위해 정기적인 품질검사에 활용될 수 있다.

- (5) 식품의약품 안전처 문의

- 공인된 기관 이외의 상용표준품을 사용할 경우, 그 적합성에 대한 평가가 이루어져야 한다. 예를 들어, 정량시험용 표준품인 경우, 유연물질을 확인/관리해야 하며, 순도를 정량적 방법으로 측정해야 한다. 표준품에 관한 자료 제출 범위는 동 규정에 따라 제출하되, 심사 시 추가적인 자료가 요청될 수 있다.

현재 의약품 이차 표준물질은 씨그마알드리치에서만 공급되고 있다. 약 600여 종의 제품을 보유하고 있으며 지속적으로 추가 업데이트 되고 있다.

제품문의 및 카탈로그 신청은 영화과학 크로마토그래피팀(02-2140-5490)으로 연락주시기 바랍니다.

유세포 분석의 새로운 활용분야, 해양생명과학

BD Accuri™ C6



유세포 분석이란?

유세포 분석(Flow cytometry)은 하나의 세포가 가지는 다양한 특징(세포 크기, 내부 복잡도, 특정 분자의 발현 정도 등)을 빠른 속도로 분석할 수 있는 분석법이다. 이러한 분석법을 통해 많은 연구자들은 특정 세포가 가지는 다양한 특징들을 분석함으로써 면역학을 비롯한 생물학의 다양한 연구분야에서 학문을 발전시켜 왔다.

유세포 분석 장비는 레이저를 기반으로 레이저와 세포(입자)가 만나 산란되는 빛을 검출함으로써 세포의 다양한 특징을 분석하게 된다. 이러한 원리를 통해 특정 세포를 분석(Cell analyzer)할 수 있을 뿐 아니라 특정 세포를 분류(Cell sorter)할 수도 있다.

1974년, BD(Becton Dickinson)사에서 FACS(Fluorescence activated cell sorting)라는 이름으로 세포 분류기를 상품화시켰으며, 이후 유세포 분석은 FACS라는 이름으로 알려지게 되었다. 하지만 정확한 용어는 Flow cytometry(유세포 분석법) 혹은 Flow cytometer(유세포 분석기)이다.

BD Biosciences사는 FACS를 시작으로 다양한 유세포 분석

기와 유세포 분류기를 생산하고 있다. 현재 BD Biosciences사의 유세포 분석기로는 BD Accuri™ C6, BD Canto™II, BD FACSVerse™, BD LSR Family가 있으며, 유세포 분류기는 BD FACSJazz™, BD FACSria™III, BD FACSria™ Fusion, BD FACS InFlux™이 있다.

사용하기 쉬운 유세포 분석기, BD Accuri C6

BD Accuri C6는 BD Biosciences사에서 생산하고 있는 유세포 분석 장비들 중에서 가장 작은 장비이다. 대부분의 유세포 분석기가 큰 크기와 사용 및 관리의 어려움으로 인해 공동 기기실과 전용 관리자를 필요로 하는 장비인데 비해, BD Accuri C6는 누구나 쉽게 사용 가능하며 관리도 어렵지 않아 개인 실험실에서 사용하기에 적합한 장비이다.

BD Accuri C6 장비를 만든 Collin Rich 박사의 인터뷰에 따르면, 실험적으로 굉장히 효율적이고 강력한 유세포 분석기라는 장비를 교육 받은 오퍼레이터만 사용할 수 있다는 점에 굉장히 아쉬움을 느꼈다고 한다. 이러한 생각에서 출발하여 PC(Personal computer)처럼 유세포 분석 장비 역시 누구나 쉽게 사용할 수 있도록 만든 장비가 BD Accuri C6이다.

그리고 장비 내의 레이저와 검출기를 고정시켜 장비를 가지고 다니면서 현장에서 샘플을 채취하여 바로 분석할 수 있는 새로운 패러다임을 접목시켰다. 이러한 패러다임으로 인해 BD Accuri C6는 유세포 분석의 응용분야를 확대시켰으며, 그 중 하나가 바로 해양 생명과학 분야이다.

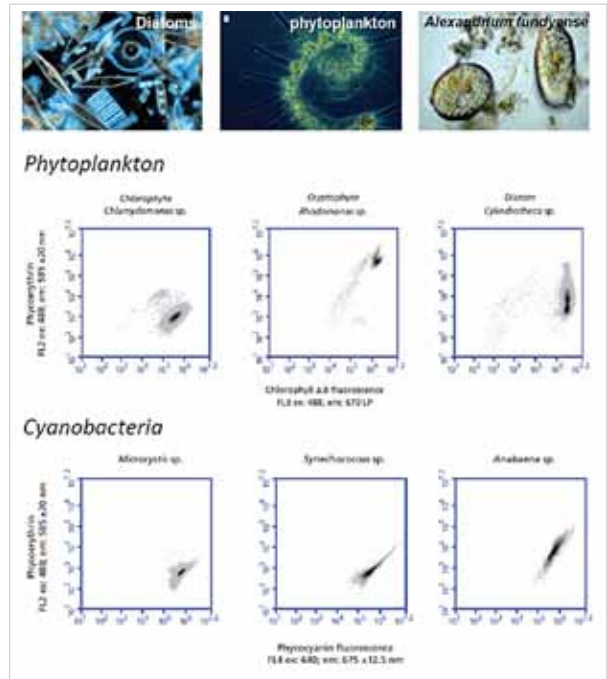
해양 생명과학분야에서의 BD Accuri C6 활용

BD Accuri C6 장비는 2 시간 교육이면 누구나 쉽게 사용할 수 있는 장비로서 유세포 분석기를 처음 접하는 연구자들도 쉽게 접근할 수 있다. 뿐만 아니라, 장비 내부의 레이저 및 검출기를 고정시켜 장비를 가지고 다니면서 사용할 수 있도록 만들어졌다. 이러한 쉬운 사용 및 이동성 덕분에, 해양학자들은 배에 BD Accuri C6 장비를 싣고 현장에서 샘플을 채취하여 바로 분석할 수 있다.

해양 생명과학 분야에서의 BD Accuri C6의 연구 분야는 다양하다. 다양한 크기의 미세조류나 해양 미생물의 분포를 분석함으로써 계절이나 기후 변화에 따른 해양 미생물이나 미세 조류의 분포 변화를 모니터링하여 해양 생태계 연구에 활용할 수 있다. 미세 조류는 다양한 자가 형광을 가지고 있어 이러한 형광 정보 및 각각의 크기에 따라 군집으로 나누어지게 되며, 해양 미생물은 SYBR® Green과 같은 DNA 염색 시약을 통해 분석될 수 있다

뿐만 아니라 BD Accuri C6는 연동펌프 시스템으로 구동되는 장비로서 정확한 세포 수 측정이 가능한 장비이다. 이를 이용하여 해양생물학자들은 특정 미생물이나 미세조류의 정확한 수를 측정하여 더 정확한 분석을 하고 있다. 실제로 해양과학기술원, 극지연구소 등에서 BD Accuri C6 장비를 이용하여 미세조류 및 해양 미생물연구를 하고 있으며, 최근에는 배에 BD Accuri C6 장비를 싣고 먼 바다로 나가기도 한다.

그리고 수산학에서도 BD Accuri C6 장비는 활용된다. 양식 환경에 따른 어류의 면역학을 연구함으로써 생산량을 늘릴 수 있는 방법을 연구하는데 기여한다. 넙치, 돌돔, 굴 등의 혈액에 분



〈그림 1〉 BD Accuri C6를 활용한 분석 예

포하는 면역세포를 항체를 이용하여 염색 후 면역 세포의 발현 양을 분석하는 방법으로 응용될 수 있다. 뿐만 아니라, DNA 염색을 통해 세포 증식이 어떻게 이루어지는지 어떠한 환경에서 증식이 활발한 지에 대해 비교 가능하며 이를 통해 양식 산업에 도움을 주고 있다.

BD Accuri C6 장비는 기존 유세포 분석 장비에서 '이동성'이라고 하는 새로운 패러다임을 추가함으로써 해양 생물학연구 분야에서도 유세포 분석이 가능하도록 했다. 이를 통해 더 많은 새로운 연구분야에 BD Accuri를 소개하여 유세포 분석을 활용할 수 있도록 하고자 한다.

비타민 분석 토탈 솔루션!

영린기기 비타민 전용분석시스템



비타민이란?

비타민은 식품에 극히 소량으로 존재하면서 고등동물의 성장과 대사에 관여하여 생명의 유지에 필수적인 물질이다. 일반적으로 비타민은 K와 D군을 제외하고는 고등 동물의 체내에서 전혀 합성되지 않거나 합성되더라도 그 양이 생체 필요량에 미치지 못한다.

이러한 비타민의 부족한 현상이 지속될 경우, 신체는 그것과 관계되는 작용이 원활하게 이루어지지 않아 “비타민 결핍증”을 유발할 수 있다. 따라서 비타민이 함유된 식품 또는 영양제 등을 섭취하여 부족한 양을 지속적으로 공급해야 하므로, 비타민의 정량과 정성 분석은 여러 분석시장에서 매우 중요한 물질이다.



비타민은 그 특성에 따라 수용성과 지용성 비타민으로 나뉜다.

수용성	비타민C(Ascorbic acid), 비타민B ₁ (Thiamine), 비타민B ₂ (Riboflavin), 비타민B ₃ (Niacin), 비타민B ₆ (Pyridoxine, Pyridoxal, Pyridoxamine), 비타민B ₇ (Biotin), 비타민B ₁₂ (Cyanocobalamin), 비타민B ₉ (Folic Acid), 비타민B ₅ (Pantothenic acid)
지용성	비타민A(Retinol, Retinal, Retinoic acid), 비타민D(D ₂ -ergocalciferol, D ₃ -Cholecalciferol), 비타민E 8종(Tocopherol 4종, Tocotrienol 4종), 비타민K(K ₁ , K ₂ , K ₃)

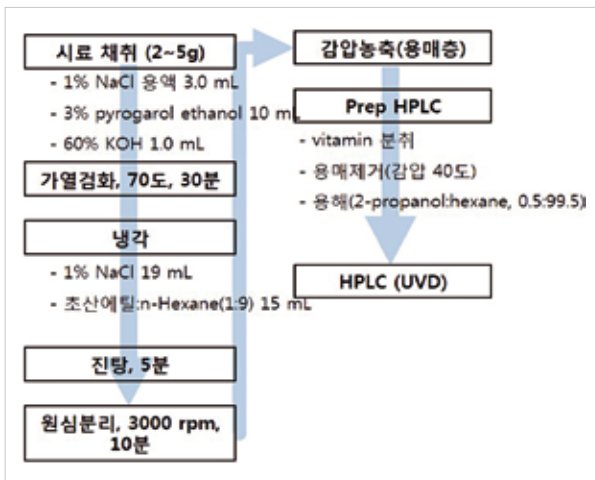
미량 비타민 분석

비타민 B₇(Biotin), D₃-Cholecalciferol, 비타민 B₁₂(Cyanocobalamin)의 경우 체내에 필요한 농도가 극미량으로, 건강기능식품 등에 함량 또한 극미량으로 포함되어 있다. 이러한 미량 비타민의 분석은 기존의 일반분석으로 접근할 경우, UV 흡수 파장대에서의 감응이 매우 미약하여 검출과 분석이 상대적으로 쉽지 않았다.

또한, 해당 분석에 적합한 감응을 위하여 분석자는 추출과 농축의 수 많은 전처리 과정을 거쳐야 했고, 이러한 과정 중 손실되는 양에 따라 함량분석의 재현성에 어려움을 겪었다.

성분명	함량	%당량	비율
비타민 D3	0.2mg	20%	비율
비타민 E	1.50mg	19%	비율
비타민 B12	7.5mg	0.2%	비율
비타민 C	75mg	75%	비율

〈그림 1〉 시판 종합비타민의 함량



〈그림 2〉 음식실험을 통한 기존 전처리 과정

영린기기 비타민 전용분석시스템



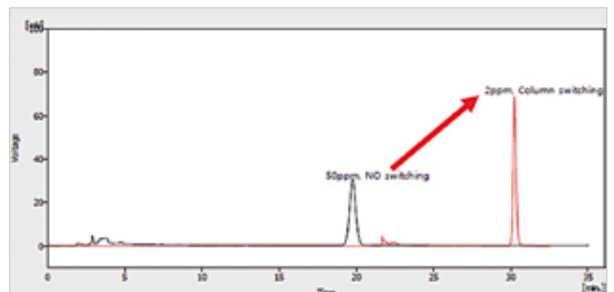
효과를 통해 기존 대비 약 50배 이상의 감도상승을 이끌어 내 ppb 레벨의 분석에 대한 효과적인 솔루션을 제안하게 되었다.

스위칭 밸브 시스템이란?

비타민 전용분석시스템의 핵심은 바로 스위칭밸브 시스템을 통한 효과적인 전처리 및 농축이라 할 수 있다. 스위칭 밸브 시스템은

- 총 3개의 컬럼 사용(전처리, 농축, 분석용 컬럼)
- 복잡한 전처리 과정 생략
⇒ 컬럼에 주입할 수 있는 상태의 시료는 모두 가능
- 복잡한 Matrix에서 목적성분만 장비 내에서 추출하여 분석
- 분석 시간의 절약 ⇒ 복잡한 추출 없이 간단한 전처리 방법
- ppb level까지 안정적으로 분석 ⇒ UV/Vis 검출기로 저농도까지!
- 식품 및 약물에 포함되어 있는 극미량 비타민의 함량 분석 가능!!

등의 장점으로 요약하여 설명할 수 있다. 이러한 컬럼 스위칭 기능을 이용할 경우 분석자는 〈그림 3〉과 같이 약 50배 가량 향상된 감응의 데이터를 얻을 수 있게 된다.



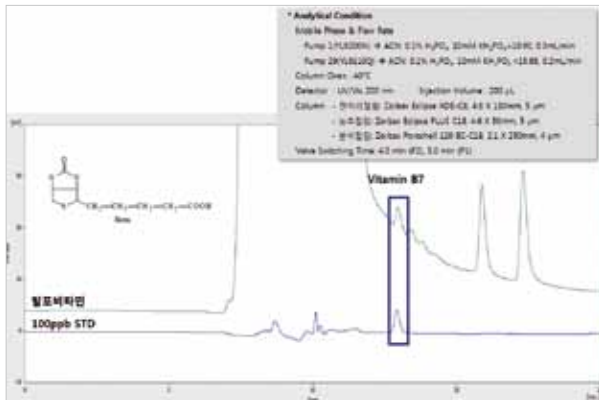
〈그림 3〉 비타민 D3 표준품의 분석(일반/스위칭)

기존 비타민 분석시스템과의 차이점

	기존 일반분석시스템	Column Switching 시스템
전처리	복잡한 전처리 과정 (가열, 농축, 여과, 추출)	간단한 시료 전처리 과정
시료 주입량	100 µL 이하	Sample loop 용량에 따라 최대 5 mL까지 가능
이동상 사용량	1 mL/min 내외	0.1~0.5 mL/min 유속으로 이동상의 사용량 저감
검출 감도	ppm	ppb

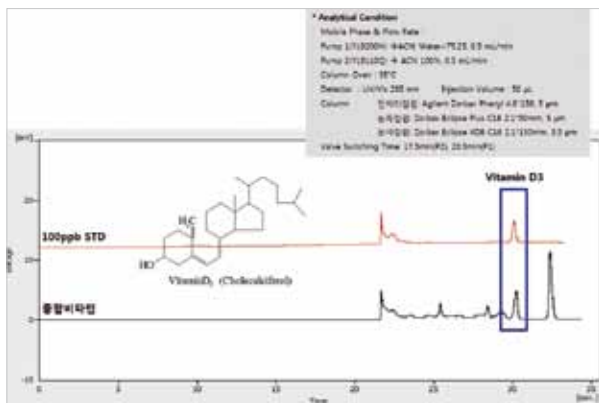
실제 시료의 분석

- **비타민B₇(Biotin)** : 일반적으로 성장인자로서 작용하며, 미생물에 서는 증식인자로 작용



〈그림 4〉 발포비타민 내 Vit B7

- **비타민D₃(Cholecalciferol)** 분석 : 여러 D군 중 생물학적 활성이 높아 실제적으로 중요성을 가지는 비타민



〈그림 5〉 종합비타민 내 Vit D3

해당 의 실제 시료분석을 통해 극미량 비타민 분석 시 영린기기의 비타민 전용분석시스템이 효과적으로 분석 가능함을 확인하였다. 이러한 분석자료들은 시스템과 함께 제공되는 CDS(AT-II, YL-Clarity) 내에 분석방법과 기술자료가 함께 삽입되어 있어 쉽게 분석에 접근이 가능하다.



휴대용 FT-IR을 이용한 프탈레이트 분석



소개

Agilent사 휴대용 FT-IR 시스템은 실험실은 물론 실험실용 FT-IR 성능 그대로 현장에서 빠르게 측정 가능한 비파괴 분석 시스템이다. 시료의 위치나 물리적인 크기와 상관없이 분석이 필요한 어느 곳이든 바로 측정가능하며 다양한 산업의 재료분석(코팅, 페인트, 균질도, 프탈레이트 분석)은 물론 열이나 빛으로 손상된 정도를 파악하는 피해 평가, 식품, 농산물의 산도분석 등 여러 응용분야에서 시료 채취 없이 확인 및 정성, 정량분석을 빠르게 스캔할 수 있도록 최적화 설계되었다.

서론

삶의 질이 올라가면서 많은 사람들이 인체에 유해한 물질들에 관심을 갖기 시작하였고, 그에 따라 생활에 주로 쓰이는 제품이나 환경 오염에 규제도 강화되어 가고 있다. 이러한 물질들 중 생활에 밀접하게 관련된 플라스틱을 제조할 때 사용되는 물질 중 프탈레이트가 인체에 유해하다고 밝혀지면서 규제 대상이 되었다. 프탈레이트는 플라스틱을 유연하게 만들기 위한 가소제로 사용되고 있으며, 어린이 용품은 물론 화장품, 음료수 패트병, 가정용품, 의료용품, 전기, 세제, 음식 포장재 등 다양한 산업 제품에서 광범위하게 사용된다.

종류는 다이에틸헥실프탈레이트(DEHP), 다이부틸프탈레이트(DBP), 뷰틸벤질프탈레이트(BBP), 폴리에틸렌테레프탈레이트

(PET) 등 여러 가지가 있으며, 2005년 유럽연합(EU) 독성·생태독성 및 환경과학위원회는 프탈레이트 6종의 위해성 평가를 통하여 DEHP·DBP·BBP 등 3종의 프탈레이트계 가소제가 발암성과 변이독성, 재생독성이 있는 물질임을 확인하였다. 또한 프탈레이트는 동물이나 사람의 몸 속에 들어가서 호르몬의 작용을 방해하거나 혼란시키는 '내분비계 교란물질(endocrine disrupter)'의 일종으로 영·유아에게 특히나 위협적이다. 그렇기 때문에 한국 및 미국, EU에서는 영·유아용 제품의 경우, 카드뮴과 같은 독성물질로 분류하여 0.1%까지 규제하고 있다.

기존에 프탈레이트 분석은 GC(Gas Chromatograph)를 이용하였으나 GC는 시료를 전처리해야 하는 번거로움과 분석하는데 많은 시간이 소요되어, 수출·입 시나 제품 검사처럼 분석 시료가 많고 빨리 대응해야 하는 경우에는 어려움이 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 screening 용도로 FT-IR이 각광을 받고 있으며, 본 실험에서는 휴대용 FT-IR을 이용하여 현장에서 바로 프탈레이트를 분석할 수 있는 실험을 디자인하였다.

FT-IR 분석의 경우, 오래 전부터 유기물질을 정성 분석하는데 널리 사용되고 있으며, 수초 이내에 분석이 가능하다는 장점을 가지고 있다. 그러나 분광학 장비들이 진동에 민감하여 실험실에서 놓고 사용하다 보니 시료를 실험실까지 가져와야 하는 불편함과 시료의 크기에 제한이 있었다. 이러한 문제점을 해결하고자 Agilent사에서는 진동의 영향을 줄인 초소형 FT-IR을 개발하

였으며, 정성소프트웨어를 이용하여 현장에서 직접 물질을 분석하고 해당 물질의 농도가 얼마나 들어있는지 분석할 수 있는 휴대용 FT-IR도 개발하였다. 결과적으로 휴대용 FT-IR을 이용하여 PVC 내에 Total Phthalate를 정성 분석하였으며, Calibration curve를 그려 LOD 0.1%까지 측정할 수 있음을 확인하였다. 또한 분자구조가 유사한 비프탈레이트(Non-phthalate: DINCH, DOTP, ATBC, DOA, TOTM) 가소제 내에서 유해 프탈레이트인 DEHP를 검출할 수 있는지 확인하였다.

실험

Step 1. Calibration curve를 그리기 위한 표준시료 제작

- 1) THF(Tetrahydrofuran)을 이용하여 100% PVC(Polyvinyl chloride)를 용해시킨다.
- 2) 용해시킨 PVC 내에 비프탈레이트와 프탈레이트 가소제를 넣고 섞어준다. 이때 비프탈레이트와 프탈레이트의 합이 PVC 내에 30% 정도 차지할 수 있도록 해주며, 프탈레이트의 농도가 0%, 0.5%, 1.5%, 3%, 6%, 9%, 13.6%, 20%, 30%로 변화되도록 시편을 만들어 준다.(총 45개의 시편)
- 3) 만들어진 시편은 상온에서 하루 정도 굳힌 후, Vacuum oven을 이용하여 THF가 남지 않도록 60 ℃에서 4시간 동안 구워준다.

Step 2. 표준시료 측정

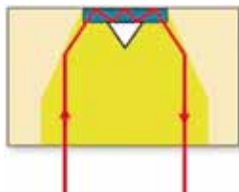
Instrument

- Potable FT-IR 4500Model
- 15 lbs; 8"×11.5"×7.5"
- Integrated PDA computer
- Internal battery
- Dedicated sample interface (3B ATR)
- Designed for field use



Accessory

- 3Bounce ATR(attenuated total reflection)
- No sample preparation required
- Uses diamond sensor that cannot be scratched
- Phthalate LOQ to 0.1% (matrix dependent)



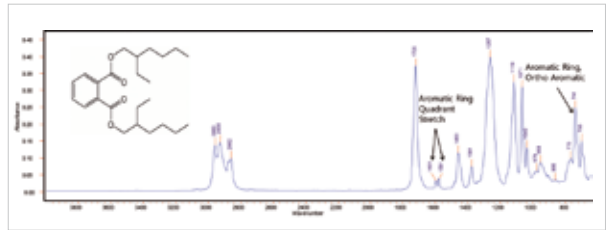
Analysis



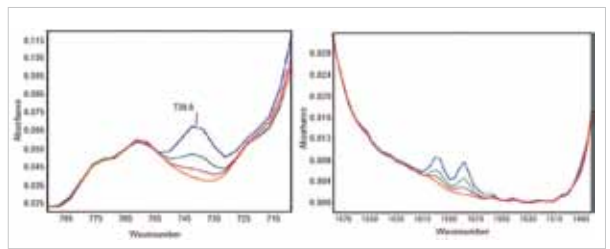
Step 3. MicroLab software를 이용한 Calibration curve 작성

Step 4. 실제 Sample을 이용하여 Calibration curve 확인

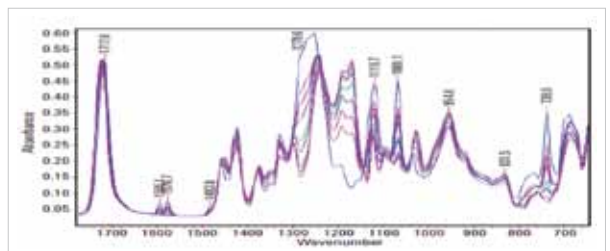
결과 및 토의



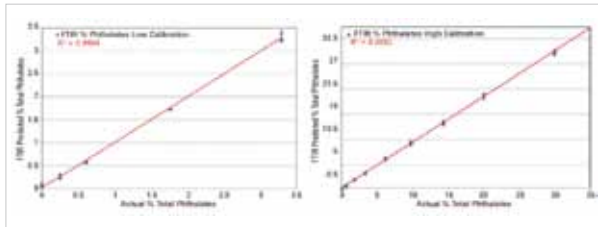
〈그림 1〉 프탈레이트 구조 및 IR Spectrum



〈그림 2〉 2 PVC와 DINCH 내에 프탈레이트 농도 변화에 따른 특정 위치의 스펙트럼 변화
프탈레이트 농도 0.00%(orange), 0.60%(pink), 1.76%(green) and 3.29% total phthalates(blue)



〈그림 3〉 프탈레이트 농도변화에 따른 Full range spectrum(프탈레이트 농도 0~30%)



〈그림 4〉 DEHP농도 변화에 따른 Calibration Curve
DINCH와 PVC가 있을때, 좌측은 저농도용 0~3%, 우측은 고농도용 0~30%

〈표 1〉 〈그림 4〉와 같은 방법으로 비프탈레이트의 종류만 바꾸어 Calibration 작성 시
직선성과 LOD, LOQ

Calibration	R ²	LOD	LOQ
DEHP in DINCH	0.9992	0.020	0.06
DEHP in DOTP	0.9972	0.050	0.15
DEHP in ATBC	0.9998	0.024	0.07
DEHP in DOA	0.9992	0.02*	0.06*
DEHP in TOTM	0.9995	0.05*	0.015*

결론

위 결과에서 보여지듯이 Potable FT-IR을 이용하여 Total Phthalate를 0.1%까지 검출 가능함을 증명하였으며, 이는 한국, 미국 EU에서 규제하는 규제치까지 측정 가능함을 의미한다. 그러므로 원료나 완제품에서 프탈레이트의 존재여부를 Screening 하는 용도에 매우 적합하다고 판단되며, 4500 모델 외에 Handheld FT-IR(4300)을 이용할 경우, 보다 시료의 제한없이 분석할 수 있을 것으로 예상된다.

또한 휴대용 FT-IR을 이용하여 현장에서 프탈레이트 분석이 가능해짐으로써 프탈레이트 검출 시간의 단축과 번거로움을 해소하였으며, 불량제품의 빠른 발견으로 인해 손해를 최소화할 수 있다.

시스템 구성

Agilent 4100 ExoScan 핸드헬드 FT-IR

단일 모듈로 구성된 핸드헬드 시스템으로서 견고하면서도 용도가 다양하다. 교환 가능한 샘플링 액세서리는 다시 얼라인먼트할 필요 없이 수초 이내에 교체할 수 있다. 표면, 코팅, 필름 분석 뿐만 아니라, 분말, 과립을 포함하는 벌크 물질 분석에도 이상적이다.



Agilent 4300 핸드헬드 FT-IR

Agilent 4300 핸드헬드 FT-IR은 초경량 사이즈 (2.2 kg)와 인체 공학적 디자인으로 사용자가 사용하기 편한 제품이다. 또한 거친 지표면은 물론 시료를 가장 빠르게 스캔할 수 있어 현장분석에 맞춰진 가장 이상적인 차세대 FT-IR로 불린다.



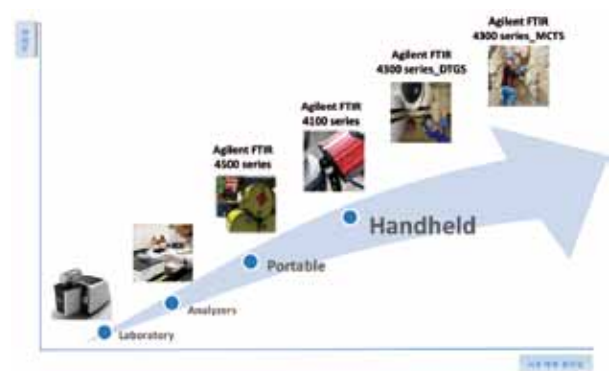
Agilent 4500 휴대용 FT-IR

견고하고 사용이 간편한 Agilent 4500 휴대용 FT-IR은 화학, 석유 화학, 식품, 폴리머 산업에서 반입 물질과 반출 완제품에 대한 현장분석을 지원한다. 이 시리즈는 고가의 장비 및 기계의 예방 유지 보수 프로그램에 이상적이다.

- 액체시료/파우더 시료 분석 가능
- 법의학/제약
- 현장분석용으로 디자인 설계
- 특성화된 샘플인터페이스



제품선택



안전한 작업공간을 위한 탁월한 선택

Mystaire사 Aura Elite Ductless Fume Hood



Ductless Fume Hood는 실험실에서 발생될 수 있는 유해한 물질에 대한 안전하고 효율적인 대안이다. 덕트(Duct)를 설치할 필요 없이, 내장되어 있는 Carbon 또는 HEPA 필터가 유해한 가스, 증기, 입자들을 제거해 준다.

Mystaire사 Aura Elite, 성능과 안전 모두 잡았다!

- 초정밀 공기흐름 제어 및 공기흐름센서 자동 보정
- 엄격하게 관리하는 안전 시스템
국제 및 미국 규제 OSHA, ANSI, NFPA, SEFA 9, ASHRAE 기준에 적합
* OSHA(미국 직업안전 위생관리국), ANSI(미국규격협회), NFPA(국제 화재방지협회), SEFA 9(국제과학 실험장비 기구), ASHRAE(미국공조냉동공학회)
- 정전하 입자 Pre-filter / 2차 안전필터
- 분체 도장(Powder-coated)된 metal 구조
→ 내구성 및 내식성 강화
- 증기밀봉(Vapor Sealed)된 하우징 → 전기부품의 안정성 제공
- EverSafe™ III를 통한 모니터링 시스템

Ductless Fume Hood

〈표 1〉 Mystaire사 Aura Elite Ductless Fume Hood 종류

SPECIFICATIONS	MY-AU30, MY-AU30S	MY-AU42, MY-AU42S	MY-AU54, MY-AU54S
Airflow: ASHRAE Certified	145CFM / 90LFPM	205CFM / 90LFPM	265CFM / 90LFPM
Sash Openings 8 inches high	29.25" W	41.25" W	53.25" W
Internal Dimensions (H x W x D)	30"×29.25" ×25.25"	30"×41.25" ×25.25"	30"×53.25" ×25.25"
External Dimensions (H x W x D)	50"×30"×28"	50"×42"×28"	50"×54"×28"



〈그림 1〉 Mystaire사 Aura Elite 작동원리

Mystaire사 Aura Elite 작동 원리

- ① 'A'를 통해 외부 공기 흡입
- ② 'C'의 프리-필터를 통과하면서 미세 먼지 1차 여과 후, 메인 필터(카본)를 거쳐 유해 증기 여과
- ③ 'D'에 내장된 Multiple gas detector에서 여과 효과 실시간 모니터링
- ④ 'E'의 안전 필터(카본 또는HEPA)를 통과하면서 3차 여과 후, 실험실 내로 정제된 공기 환원

EverSafe™ III Touch Screen Controller

Mystaire사 Aura Elite의 모든 기능과 상태를 한번의 터치로 컨트롤할 수 있으며, 큰 아이콘은 사용자가 더욱 쉽게 사용할 수 있도록 설계되었다.



컨트롤 기능

- Blower : 두가지(자동/수동) Blower 모드 선택
- Light : Aura Elite 내의 형광등 온/오프 설정
- Alarms : Airflow, 온도, 습도, 필터 상태 등의 알람설정 가능

- Timer : 스톱워치 또는 카운트다운 모드로 제공
- Energy Consumption meter : Hood의 에너지 소비량 제공
- System Date : 시스템 정보 및 모든 사용량 요약
- Temp and Humidity : 후드 내 습도 및 온도 제공

특징

- Duct가 없다.
- Duct 설치 공사비가 없다.
- Duct 연결 위해 벽을 뚫을 필요가 없다.
- Duct 설치를 위한 벽면 공간제약이 없다.

광범위한 국제기준 만족

- ⁽¹⁾ASHRAE 110
- ⁽²⁾ANSI Z9.5
- ⁽³⁾OSHA 1910.1450
- ⁽⁴⁾UL
- ⁽⁵⁾CSAand ⁽⁶⁾CE

- ⁽¹⁾ American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers, Inc.
- ⁽²⁾ American National Standards Institute
- ⁽³⁾ Federal Occupational Safety and Health Administration
- ⁽⁴⁾ Underwriters Laboratories Inc
- ⁽⁵⁾ Canadian Standards Association
- ⁽⁶⁾ Conformance Européenne(European Conformity)

미국 FDA에서 사용 중인 STARLIMS를 소개합니다.



실험실정보관리시스템 정의

(Laboratory Information Management System, LIMS)

- 실험실을 최적의 상태로 운영하기 위해 실험실 내 모든 정보를 관리하는 시스템
- 시험과정에서 생산되는 모든 데이터와 정보를 수집, 저장, 처리, 분석, 배포, 보관하는 기능을 제공
- 실험실 내의 모든 시스템을 통합 관리하고, 시험결과를 전자 문서 형태로 배포하고, 시험인력의 교육, 훈련 내역을 관리하며, 전자문서관리 등의 기능을 제공하는 지원시스템
(출처 : ASTM 1578-13)

재고관리	재료/표준품/시약/소모품/기기부품 등을 관리
	Barcode 시스템 사용, 재료의 주문, 입고, 사용기록, 보관장소, 유효기한, 최소재고량, 폐기 등 관리
인원교육훈련	교육훈련 과정 생성, 직급별 이수 교육 과정 관리, 인원별 자격 관리
전자문서관리	전자문서/파일 보관 및 백업 (워드, 엑셀, pdf, 기기 측정 raw data 등)
	SDMS 모듈을 이용한 전자 문서의 생성, 검토, 승인, 배포 기능

LIMS 주요 기능

시험업무관리	시험의뢰, 시험계획, 시료 인수, 전처리, 기기측정, 결과 입력, 검토, 승인, 보고서 생성, 결과 배포
	안정성 시험, 환경모니터링, 제제연구, 미생물시험 업무의 관리
시스템연동	ERP, MES, EDMS, WMS 등 Enterprise 시스템과의 연동
분석장비 인터페이스	RS232, TCP/IP, SDMS, ELN 모듈을 이용하여 기기에서 생성된 레포트로부터 데이터를 자동으로 추출하여 DB에 반영
	단방향 또는 양방향 인터페이스
기기관리	기기등록, 기기 정보 입력, 기기 사용 내역, 고장수리 이력 관리
	기기 정기 점검 일정 계획 및 실시

애보트 인포메틱스(Abbott Informatics, AI)사 소개

STARLIMS는 애보트 인포메틱스사에서 개발한 실험실 정보 관리 시스템(LIMS, Laboratory Information Management System)이다. 1986년에 회사가 설립되었으며, 1987년 PC 기반의 LIMS를 시장에 출시하였다. 2010년 Abbott에 합병되었으며, 현재 29년 동안 LIMS를 개발하여 전세계의 고객에게 공급하고 있다.

주요 고객

전세계적으로 800여 고객이 STARLIMS를 사용하고 있으며, 특히 미국 내 주요 공공립 기관인 FDA, CDC, USGC 등에서 사용 중인 시스템이다.



STARLIMS 제품 및 서비스

STARLIMS 제품은 LIMS의 기본적인 기능 외에 최근 들어 많은 관심을 받고 있는 전자문서관리(SDMS), 연구노트관리(ELN), 모바일 및 클라우드 서비스에 이르기까지 최선의 기술들을 시험업무에 접목시킴으로써 효율적인 시험업무를 가능하게 할 뿐만 아니라 신뢰성 높은 데이터를 제공할 수 있도록 한다.

실험실정보관리 시스템(LIMS)	식음료, 제약, 석유화학, 환경, 법과학, 병원, 공공의료, 기타 제조업 등 각 분야에 특화된 LIMS 개발 및 공급
SDMS(Scientific Data Management System)	기기분석데이터의 전자문서관리 기능 분석 장비 인터페이스 기능
전자연구노트	ELN, Electronic Laboratory Notebook 시험노트의 기록 및 관리를 전산으로 관리
클라우드(Cloud)	LIMS 하드웨어와 소프트웨어를 임대하여 사용 사용자는 월 이용료만으로 즉시 LIMS를 운영 가능
모바일 솔루션 (Mobility)	스마트폰, 태블릿, 패드 등의 모바일 장비를 이용 LIMS 시스템에 접속하여 조회, 결재, 자료 입력을 기능 개발
어드밴스드 애널리틱스(Advanced Analytics)	시각화 툴, LIMS에 저장된 데이터를 이용하여 동적인 자료 분석 기능 제공
프로페셔널서비스 (Professional Service)	LIMS 구축에 필요한 컨설팅, 개발, 테스트, 기술지원 서비스
시험업무관리	SDMS 모듈을 이용한 전자 문서의 생성, 검토, 승인, 배포 기능

STARLIMS 도입 시 기대효과

기대효과	내용
규정 준수	21 CFR part 11 규정 준수 - GMP, GLP 규정에 따른 전자 데이터 및 전자서명 요구사항 충족 - 실시간 시험결과 확인 및 과정 추적
보안 강화	프로젝트별, 사용자별, 직무별, 부서별, 시험항목별 시스템 접근 권한 부여로 데이터 보안 강화
데이터의 신뢰성 확보	- SOP 또는 시험계획서에서 규정한 절차와 방법, 재료, 기기를 사용하여 시험이 진행될 수 있도록 사용자가 시료정보, 시료인수, 시료등록, 시험항목, 기준, 결과입력, 검토, 승인, 보고서 생성들을 설정 - 시험기기에서 생성된 Raw data의 백업 및 복구 기능 - 시험기기의 측정 값을 자동으로 추출하여 LIMS DB에 저장하여 생산성 향상 및 수동입력으로 인한 오류 감소
생산성 향상	- Enterprise 시스템(ERP, MES, QMS, EDMS 등)과의 연동으로 생산성 향상 - 페이퍼리스 업무 환경 구현으로 기존에 작성하던 시험노트, 보고서, SOP, 규정, 결재 양식 등이 문서전자결재 시스템에서 운영되어 문서 저장공간, 문서관리 비용 절감 - 자료 검색시간 단축으로 생산성 향상 - 시험 데이터의 프로젝트별 관리를 통해 사용자, 일자, 키워드, 시험종류, 물품재고 등 사용자 필요에 의한 검색어로 자료 검색 - Barcode 시스템을 이용하여 각종 라벨생성, 실험실 물품 재고 관리 및 유효기한 관리 - LIMS 데이터를 이용한 각종 통계자료 작성 및 이를 통한 핵심 성과지표를 확인함으로써 업무프로세스 개선 또는 의사결정자료로 사용 - 실시간 실험실 업무 현황 모니터링으로 생산성 향상 - 모바일 장비를 이용하여 때와 장소에 제한 없이 실험실 현황 확인 및 업무수행 가능 - 리포트 자동 생성 및 전자결재 기능

랩프런티어 소개

랩프런티어는 1990년대부터 지금까지 20년 이상 다양한 분야의 실험실을 대상으로 LIMS를 구축한 경험을 보유하고 있다. 현재 자사의 모든 시험관련 업무에도 LIMS를 도입 및 운영 중에 있으며 분석업무에 대한 높은 이해를 바탕으로 고객이 원하는 needs를 반영함으로써 성공적인 시스템 구축 및 운용이 가능하다.

STARLIMS 관련 문의는 랩프런티어 LTS팀(031-460-9192, mswang@labfrontier.com)으로 연락주시기 바랍니다.

● 독자카드

영인 Lab. Highlight는 모든 연구, 실험에 종사하는 분들에게 도움을 드릴 수 있는 소식지가 되기 위해 독자 여러분의 의견을 듣고자 합니다.

보내주시는 의견은 영인 Lab. Highlight의 발전을 위한 소중한 자료로 활용하겠습니다.

이 름	회사/부서명
전화번호	e-mail
주 소	

① 이번 호에 가장 유익했던 기사는 어떤 것입니까 ?

--

② 다음 호에 다루었으면 하는 내용이나 영인 Lab. Highlight에 바라는 점이 있다면 적어 주십시오.

--

③ 필요하신 제품 정보 및 응용자료가 있으시면 적어주십시오. 신속하게 보내드리겠습니다.

--

④ 영인 Lab. Highlight 71호 내용 중 필요하신 자료가 있으시면 체크해 주십시오.

우편이나 e-mail로 신속하게 자료를 보내드리겠습니다.

- ☐ 자료번호 71-01 내 몸 속의 잔류성 유기오염물질로 질병을 알아낸다?
- ☐ 자료번호 71-02 포괄적 이차원 액체 크로마토그래피 기법을 이용한 분석법 개발
- ☐ 자료번호 71-03 휴대용 가스분석기를 이용한 메탄가스 중 NH₃ 분석
- ☐ 자료번호 71-04 HbA1c(Hemoglobin A1c) 분석적, 임상적 양상
- ☐ 자료번호 71-05 GC/MS/MS, Agilent라는 이름으로 충분합니다. Agilent사 7200 Q-TOF for GC/MS
- ☐ 자료번호 71-06 황화학발광검출기, Agilent사 8355 Sulfur Chemiluminescence 검출기
- ☐ 자료번호 71-07 농도별 표준가스를 만들어주는 시스템, Owlstone사 OVG Calibration Gas Generator
- ☐ 자료번호 71-08 당화혈색소 분석기, Trinity Biotech사 Premier Hb9210™
- ☐ 자료번호 71-09 실험실의 기본, 실험실 가구
- ☐ 자료번호 71-10 표준물질의 새 바람~ 의약품 이차 표준물질, Pharmaceutical Secondary Standards
- ☐ 자료번호 71-11 유세포 분석의 새로운 활용 분야, 해양생명과학 BD Accuri™ C6
- ☐ 자료번호 71-12 비타민 분석 토털 솔루션, 영린기기 비타민 전용분석시스템
- ☐ 자료번호 71-13 휴대용 FT-IR을 이용한 프탈레이트 분석
- ☐ 자료번호 71-14 안전한 작업공간을 위한 탁월한 선택, Mystaire사 Aura Elite Ductless Fume Hood
- ☐ 자료번호 71-15 미국 FDA에서 사용 중인 STARLIMS를 소개합니다.

※ 독자카드를 보내주시는 분들 중 의견이 채택된 분께는 소정의 기념품을 보내드립니다.

인생의 기쁨을 찾을 수 있는 버킷리스트를 적어보세요.

2016년도 1/4이 지나갔습니다.
새해에 세운 계획들은 잘 지켜지고 있으세요?

죽기 전에 해 보고 싶은 일들을 적은 목록을
의미하는 "버킷리스트"
영화를 통해 기억하는 분들도 많으실텐데
잠시 시간을 내어 버킷리스트를
적어보면 어떨까요?

생각만 하고 있는 것과
적어서 자꾸 보는 것과는
실천함에 있어서 큰 차이가 있습니다.

인생에서 기쁨을 찾을 수 있는
나만의 버킷리스트를 꼭 적어보세요.
하나씩 이를 때마다
선을 주욱 그어보는 것도
삶의 즐거움이 아닐까요?

편집자

bucket list



