



# 분석기기의 원리

대한산업보건협회 산업보건환경연구원

최호춘

# - 목 차 -

1. 기기분석의 기초
2. 가스크로마토그래피
3. 가스크로마토 질량분석기
4. 고성능액체크로마토그래피
5. 원자흡광광도계
6. 이온크로마토그래피
7. 분광광도계

## ❖ 기기분석의 기초

### 1. 기기 분석

- ⊙ 직업성 질병 치료 진단 예방에 필요한 자료 제공
- ⊙ 작업환경상태 관리 및 목표의 설정
- ⊙ 작업환경 측정 평가 개선
- ⊙ 객관적인 데이터 수집, 바른 평가

### 2. 분석 오차

각 측정에는 실험오차라고 불리는 약간의 불확정도가 있다. 과학적 결론은 신뢰도의 높과 낮음으로 표현할 수 있으나, 완전히 확실하게 나타낼 수는 없다. 실험오차는 계통적(systematic)인 것과 우연적(random)인 것으로 분류된다.

- ⊙ 오차 = 측정값 - 참값
- ⊙ operation error=  $x - x_i$  , 즉 측정치와 조작오차의 차,
- ⊙ 정밀도, precision=  $x_i - x$ ,  $CV = \delta / x \times 100(\%)$
- ⊙ 정확도=평균치-참값, 편차, accuracy= $x - \theta$
- ⊙  $x$  : 수사오차가 없는 측정치
- ⊙  $x$  : 조작오차가 없는 것, 즉 동일한 시료를 반복 측정한 평균치
- ⊙  $\theta$ : 미리 정해진 참값, 정해진 분석 센타의 측정

### 3. 검출한계(Limit of Detection) 및 정량한계(Limit of Quantity)

#### 1) 검출한계(LOD)

LOD는 공시료와 통계적으로 다르게 분석될 수 있는 가장 낮은 양을 말한다. 즉, 분석기기가 검출할 수 있는 가장 작은 양을 말한다. LOD는 두 가지 방법으로 추정할 수 있다.

- 공시료에 대한 분석기기의 반응과 평균과 분산으로부터 구하는 것으로 반응의 평균에 표준편차의 3배를 하여 계산된다.
- 검량선(calibration graph)식으로부터 구하는 방법으로 검량선에서 구한 방정식의 표준오차를 기울기로 나누어 3배를 해준 값이다.

$$\text{LOD} = 3 \times \text{SD} / b$$

(SD : Standard Error , b : slope)

## 2) 정량한계(LOQ)

LOQ는 분석결과가 신뢰성을 가질 수 있는 양을 말한다. 검량선에서 구한 방정식의 표준오차를 기울기로 나누어 3.3배 해준 값이 LOQ이다. 일반적으로 LOQ는 LOD의 3.3배로 정의한다.

$$\text{LOQ} = 3.3 \times \text{LOD}$$

# 가스 크로마토그래피

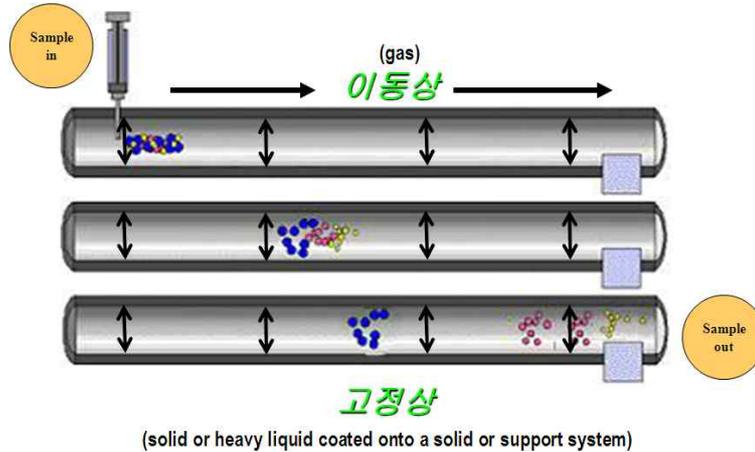
---

(Gas Chromatography, GC)

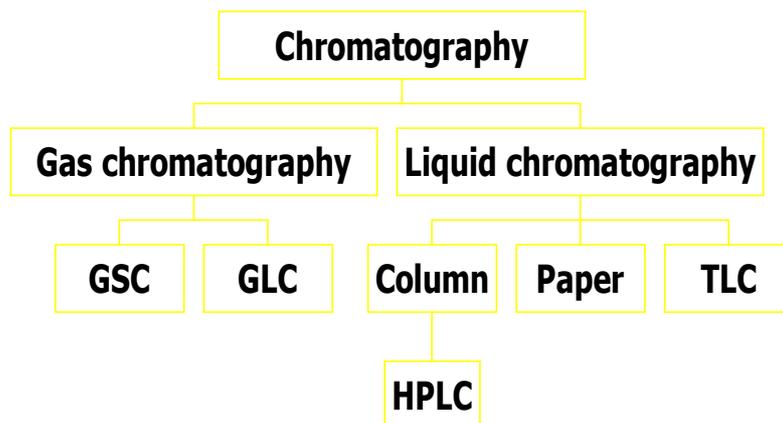


## 1. 크로마토그래피(Chromatography)의 원리

크로마토그래피는 서로 혼합되지 않는 이동상과 고정상의 두 개의 상으로 이루어짐 시료 중의 성분이 고정상과 그 사이를 통과해서 흐르는 이동상의 서로 다른 비율로 분배되면 성분마다 고정상을 이동하는 속도에 차이가 생겨 분리된다.



현재까지 알려진 크로마토그래피에서는 이동상으로 기체 또는 액체, 고정상으로 액체 또는 고체가 사용되고 있고 이동상의 종류에 따라, 즉 이동상으로 기체를 사용하는 기체 크로마토그래피(gas chromatography)와 액체를 사용하는 액체 크로마토그래피(liquid chromatography, LC)로 대별할 수 있다.

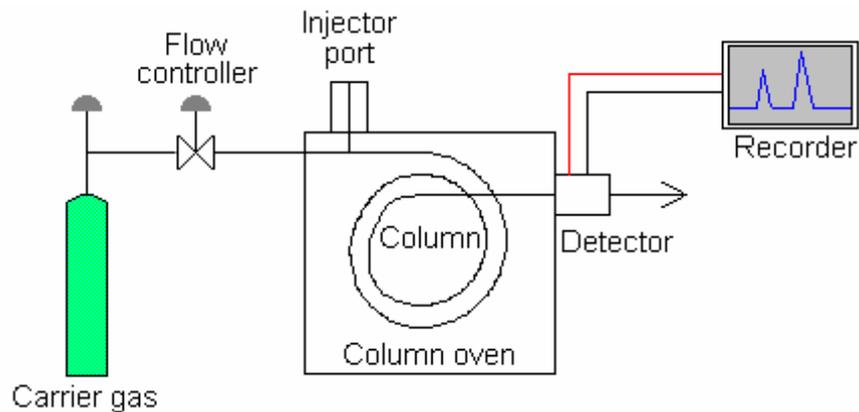


## 2. 가스 크로마토그래피(Gas Chromatography)의 원리

가스 크로마토그래피(GC)는 즉 시료주입구에서 주입된 시료는 가열에 의하여 기화되어 기체상태로 불활성 기체(운반기체, 이동상)와 함께 액체고정상을 충전한 컬럼으로 보내어 지고 운반기체의 힘으로 컬럼을 통과하는 사이에 충전제(고정상)와 접촉하여 흡착과 분해를 반복하면서 출구로 이동한다. 이때 시료 중의 각 성분은 이동상과 고정상에의 분배계수의 차에 의하여 컬럼을 이동하는 속도에 차이가 생긴다. 이동속도에 따라 분리된 각 성분은 검출기에서 감지되어 용출 순서에 따른 크로마토그램을 얻을 수 있다.

## 3. 기기 구조 및 장치

가스크로마토그래피는 운반기체 조절부, 시료주입부, 컬럼 및 검출기 등의 4부분으로 구성되어 진다.



### 1) 운반기체 조절부

- 운반기체는 시료를 컬럼을 거쳐 검출기까지 운반하는 역할
- 화학적으로 비활성가스를 사용(주로 헬륨, 질소, 수소)
- 운반기체 공급계에는 각각 Moisture, Oxygen trap 등을 설치하여 순도 (99.999%)를 높임

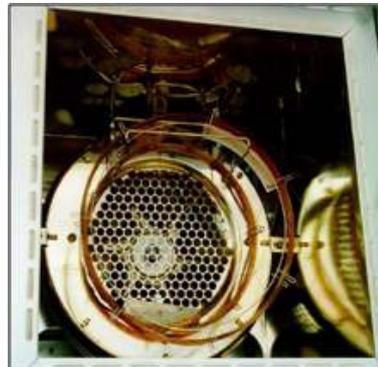


## 2) 시료주입부

- 주입기는 분석하는 시료를 기화시켜 컬럼으로 보내는 부분
- 온도는 분석물질을 기화시킬 정도의 온도(보통 분석물질의 끓는점보다 50°C 이상 설정)
- 분석물이 순간적으로 주입되어야 피크의 폭이 좁아져 분리능 향상됨
- 캐필러리 컬럼을 사용할 때에는 기류분리기(splitter)등의 사용하여 미량의 시료를 주입함

## 3) 컬럼

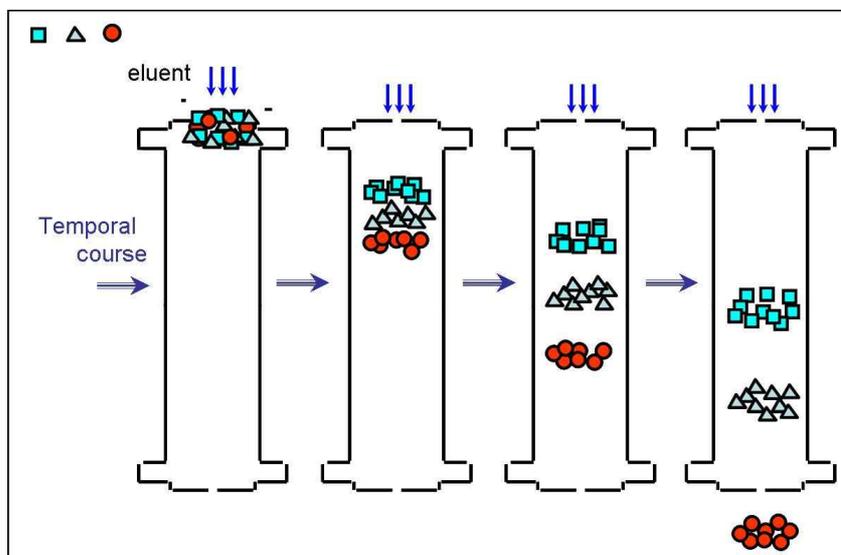
- 컬럼에는 충전형(packed column)과 캐필러리형(capillary column)이 있음
- 충전 컬럼
  - 내경 1~4mm, 길이 1~5m 정도의 스테인레스나 유리로 된 가는 판에 고정상 액체를 표면에 분산시킨 불활성 담체를 채운 것
- 캐필러리 컬럼
  - 충전제를 쓰지 않고 속이 빈 구조로 운반기체의 투과성이 좋음
  - 내경이 0.1~0.5mm이고 길이가 10~100m로 가늘고 길어서 컬럼 효율이 매우 높음
  - 다성분 혼합시료의 분리에 매우 효과적



- 일반적으로 분석시료의 화학적 특성과 유사한 고정상을 가진 column을 선택하며 극성에 따라 가장 일반적으로 사용하는 column은 다음과 같다.

DB-1	비극성 물질
DB-5	비극성과 극성의 중간
DB-WAX	극성 물질

- 컬럼의 선정에는 그 종류와 상품이 매우 다양하므로 분석자는 분석에 적절한 컬럼을 선택하여야 한다. 일반적으로 극성물질에는 극성컬럼을 비극성물질은 비극성컬럼을 선택한다. 또한 내경, 도포물질의 두께, 길이 등도 함께 고려하여 한다. 컬럼의 내경이 작을수록 분리능이 좋아지고 또한 고정상 필름두께가 두꺼울수록, 컬럼 길이가 길수록 분리능이 좋아진다.



#### 4) 검출기

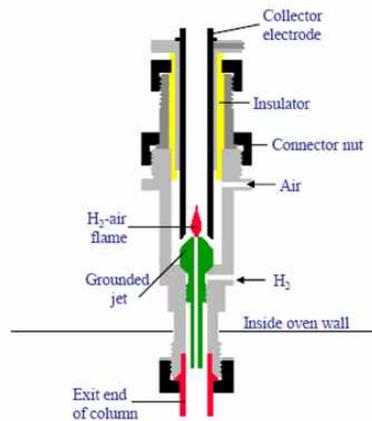
- 컬럼 속에서 분리되어 나온 각 성분을 검출해서 유출량에 대응하는 응답을 나타내는 역할
- 불꽃이온화 검출기(FID), 전자포착형 검출기(ECD), 질소인 검출기(NPD) 등이 존재함

##### a. 불꽃이온화 검출기(flame ionization detector, FID)

FID는 컬럼으로부터의 유출기체에 수소기체를 섞어서 노즐 끝에서 연소시키도록 되어있다. 노즐 상부의 전극사이에 전압을 걸어두면, 운반기체와 수소뿐

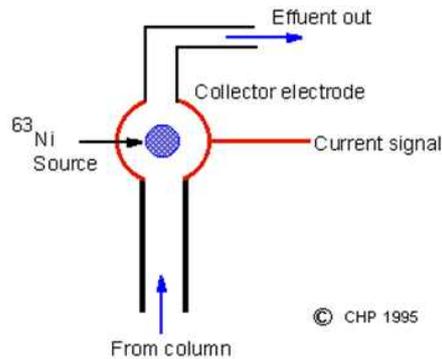
일 때에는 두 전극사이를 흐르는 이온전류는 작고 일정하나, 여기에 불꽃으로 이온화된 유기화합물이 들어오면 그 양에 비례하여 전극 사이에 흐르는 이온 전류가 증가한다.

따라서 이 이온전류를 측정함으로써 이온화합물을 고감도로 검출할 수 있다. FID는 탄소수를 측정한다. FID는 불소(F)를 많이 함유하는 화합물이나 이황화탄소를 제외한 거의 모든 유기화합물을 검출할 수 있다. 또한 FID의 응답은 시료량에 대하여 직선적이어서 정량분석이 용이하고 정밀도가 높다. 2,5-헥사디온, BTEX 외 100여 가지 물질의 정량분석에 사용되며, 이황화탄소(CS<sub>2</sub>)는 불꽃이온화검출기와 반응이 적어 많은 양이 들어가도 피크가 작으므로 활성탄의 탈착용매로 주로 사용된다.



#### b. 전자포착형 검출기(electron capture detector, ECD)

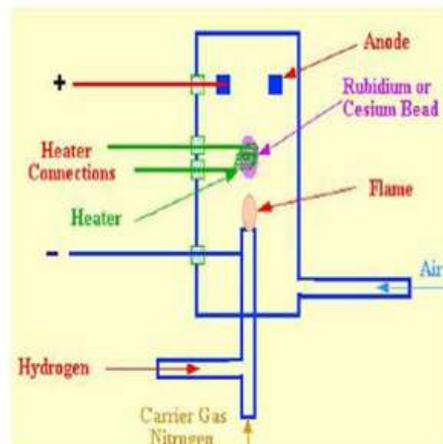
ECD는 질소 또는 아르곤과 메탄의 혼합물을 운반기체로 하여 이온화하고 전극사이에 전압을 걸면 일정한 전류가 흐른다. 여기에 친전자성 물질이 들어오면 전자를 잡아서 음이온이 되어 이동속도가 늦어진다. 또 음이온은 양이온과 결합하기 쉬우므로 전극 사이의 전류가 감소한다. 이 감소분을 측정함으로써 친전자성 물질을 선택적으로 검출할 수 있다. 따라서 ECD에서는 포화탄화수소, 케톤 및 알코올 등에 대해서 거의 응답하지 않으나, 할로겐, 인, 니트로기 및 황산 에스테르 등을 포함한 화합물에 대해서는 고감도로 검출할 수 있다. FID는 거의 모든 유기화합물에 대하여 대체로 예민한 감도를 갖는데 대하여 FID나 ECD는 선택성이 매우 크다. 삼염화초산 및 삼염화에탄올의 정량분석 시 사용된다.



**c. 질소인 검출기(Nitrogen Phosphorous Detector, NPD)**

질소 인 검출기는 불꽃 열이온검출기(Flame Thermionic Detector, FTD) 또는 Alkali flame ionization detector, AFID)라고도 불린다. FID와 거의 유사하게 분사기와 수집기를 가지고 있다. 특히 인화합물이나 질소화합물에 대하여 선택적으로 높은 감도를 나타내는 검출기로서 인 유기 화합물이나 카르빈산 에스테르계 농약의 잔류분석에 자주 이용된다.

FID의 수소 불꽃 중에 알칼리 금속염들을 넣고 가열하면 알칼리 금속의 증기가 불꽃의 온도에서 이온화된다. 만일 불꽃 중에 인화합물 또는 질소화합물이 혼입되면 연소하여 알칼리 금속의 열이온이 증가한다. 이 이온 전류의 증감을 전위계로 증폭하여 기록계에 기록하는 것이다. 디에틸아민, 니코틴, 뇨중 NMF 정량분석 시 사용된다.



**d. 이상적인 검출기의 특성**

- 분석물에 대한 적당한 감도
- 안정성과 재현성이 좋아야 함
- 이동상의 속도와 무관하게 짧은 시간에 감응해야 한다.
- 신뢰도가 높아야한다.

- 모든 분석물에 대한 감응도가 비슷해야 한다.
- 시료를 파괴해선 안됨

#### 4. 탈착용매

활성탄은 흑연성 표면(graphite like surface)과 표면산화물(surface oxide)로 구성되어 있다.

- 지방족 탄화수소: 전자공여체나 전자수용체가 없으므로 흑연성 표면에만 흡착
- 케톤이나 알콜류: 전자교환이 가능한 물질이므로 흑연성 표면과 표면산화물 양쪽에 흡착

흡착된 시료는 CS<sub>2</sub>와 같은 탈착용매에 의해 흡착표면에서 떨어져 나오고, CS<sub>2</sub>는 표면산화물과 반응하지 않기 때문에 표면산화물에 흡착된 유기용제는 그대로 남아 있게 된다. (탈착을 저하) 표면산화물에 흡착된 유기용제를 흡착표면으로 부터 분리 하기 위해서는 극성 유기용제의 탈착이 가능한 용매의 선정이 필수적이다.

	Method	Sampler	Desorption
Hydrocarbons, Aromatic	# 1501	Coconut shell charcoal, 100 mg/50 mg	CS <sub>2</sub>
Alcohols IV	# 1403	Coconut shell charcoal, 100 mg/50 mg	5 % methanol in CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
Methanol	# 2000	Silical gel, 100 mg/50 mg	Water/Isopropanol (95:5)
Dimethylacetamide	#2004	Silical gel, 150 mg/75 mg	Methanol

# 가스크로마토 질량 분석기

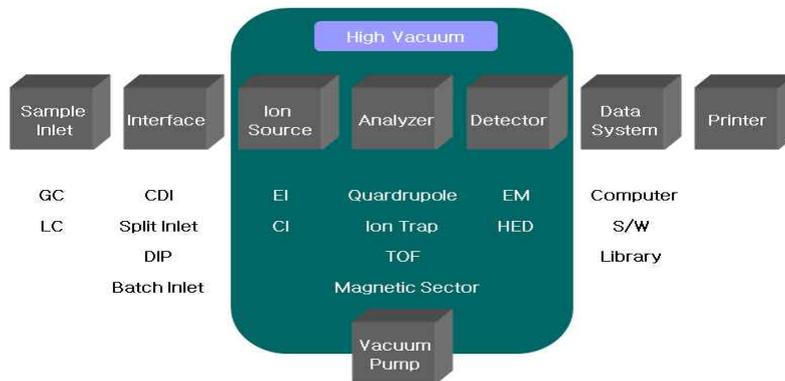
(Gas Chromatography Mass Spectrometer, GC/MS)



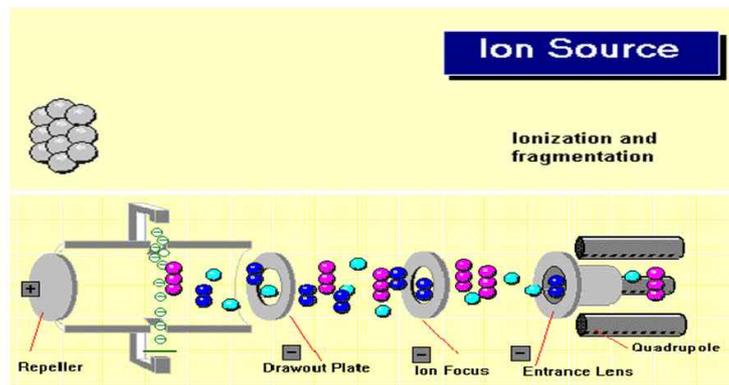
# 1. GC/MS (Gas chromatography / Mass spectrometer)의 원리

GC/MS는 GC에서 분리된 시료를 이온화, 조각화하여 질량스펙트럼을 얻어 정성, 정량분석을 하는 장비이다. 질량스펙트럼은 각 물질의 고유한 특성으로 화학적 구조, 분자량 등을 통해 미지 물질에 대한 정성분석이 가능하다.

## 1) MS System의 구조



- a. Sample Inlet : 시료도입장치로 시료를 MS내로 효율적으로 보내주는 역할을 한다.
- b. Interface : 시료도입부로서 시료를 MS내로 효율적으로 보내기 위해 사용한다. CDI(Capillary Direct Inlet)는 가장 일반적인 Interface로서 Ion Source와 직접적으로 연결된다.
- c. Ion Source : 시료분자를 필라멘트에서 발생 된 전자와의 충돌로 인해 이온화시키고 더 적은 이온들로 쪼갬다. 생성된 이온들을 mass filter쪽으로 이동시킨다.

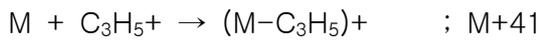
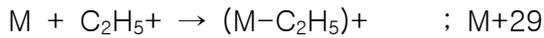
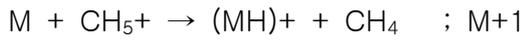


- 이온화 방법

- ① CI (Chemical Ionization)

; Identification of Molecular ion by reagent gas (CH<sub>4</sub>)

PCI (Positive Chemical Ionization)

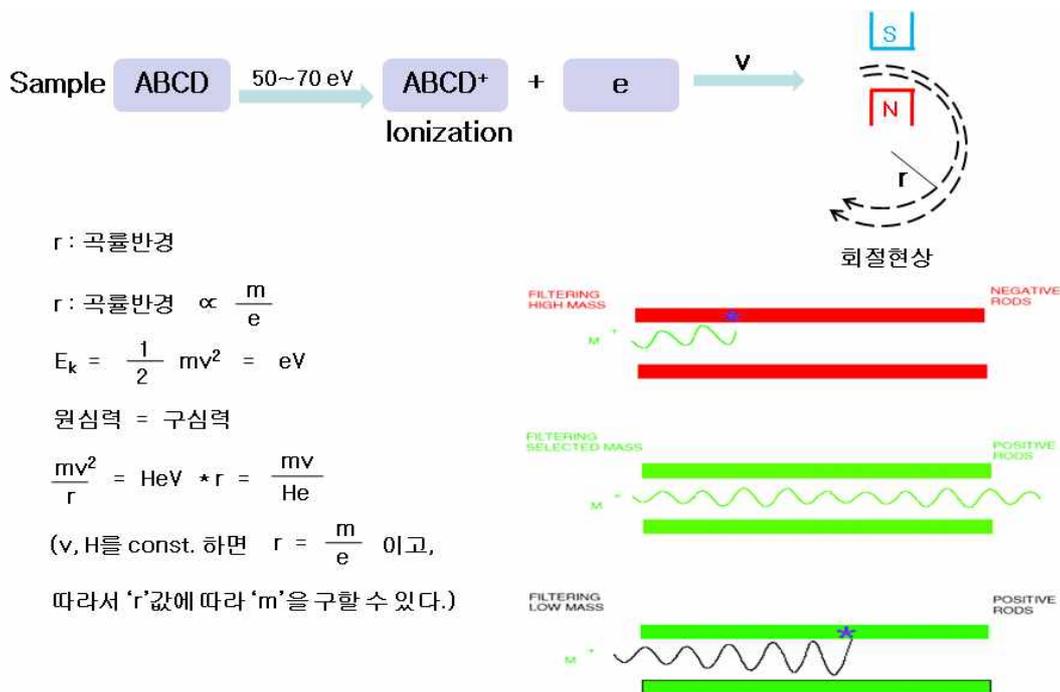


NCI (Negative Chemical Ionization)

Electron Affinities >0.5 eV (Halogen Compounds)



- ② EI(Electron Ionization)



r : 곡률반경

$$r : \text{곡률반경} \propto \frac{m}{e}$$

$$E_k = \frac{1}{2} mv^2 = eV$$

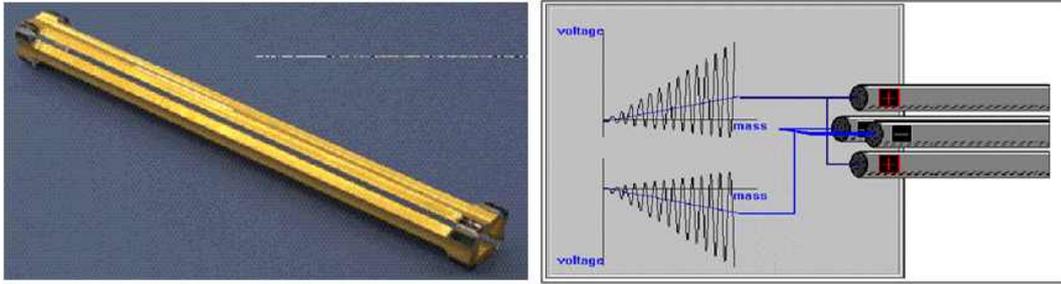
원심력 = 구심력

$$\frac{mv^2}{r} = HeV \cdot r = \frac{mv}{He}$$

(v, H를 const. 하면  $r = \frac{m}{e}$  이고,

따라서 'r'값에 따라 'm'을 구할 수 있다.)



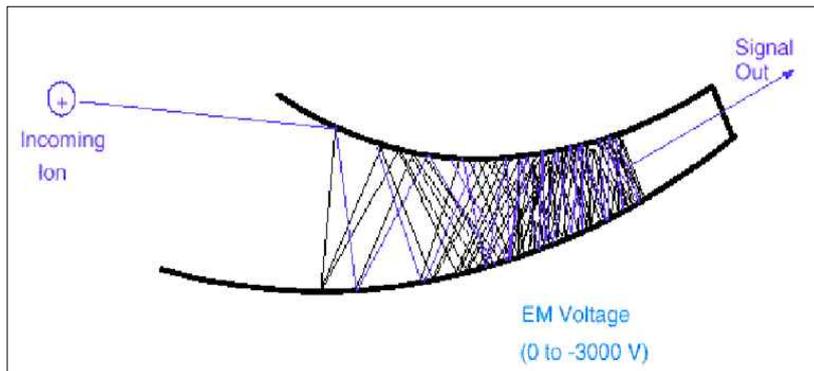


Quadrupole Analyzer

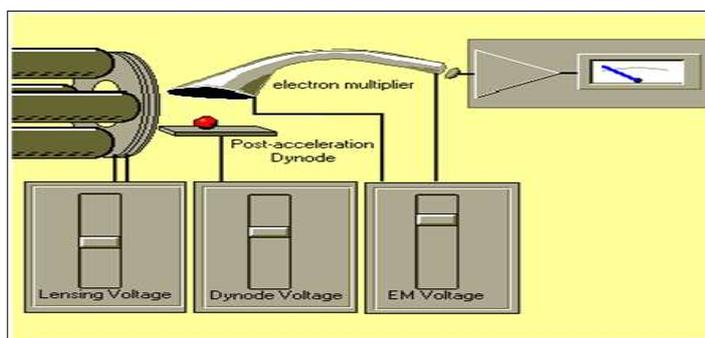
일반적으로 Quadrupole 방식의 Analyzer를 가장 많이 사용하며 4개의 전도체로 이루어진 Quadrupole은 DC와 RF의 조합으로 이온을 선택하여 선택된 하나의 이온만 통과시켜 Detector로 보낸다.

e. Detector : Analyzer에서 각각의 질량별로 분리된 시료 분자는 검출기에 충돌하며, 검출기는 충돌 된 시료 분자를 세는(count) 역할을 한다. Detector부분에는 Electron Multiplier (EM)과 High Energy Dynode (HED)가 있다.

- Electron Multiplier (EM) : 전자를 증폭시킨다.(one electron → 10<sup>6</sup> electron)



- High Energy Dynode (HED) : 이온의 더 큰 충돌 에너지를 가지게하는 post - acceleration dynode(-5,000 ~ -10,000V) EM이 더높은 감도와 적은오염을 가지게 한다.



g. Data system : GC/MS 분석을 통해 얻어진 크로마토그램을 통해 정성, 정량 분석. Library검색을 통한 미지물질의 정성 분석. 이온별 크로마토그램을 통해 겹쳐진 피크에 대해서도 정량분석 가능.

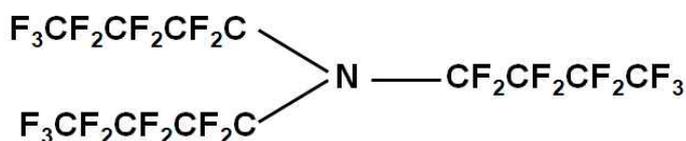
h. Vacuum Pump : MS는 10<sup>-5</sup> torr 이하의 고진공 상태에서 운전된다. 이온화, 조각화된 시료분자가 대기중에 존재하는 질소, 산소 등에 충돌 없이 검출기까지 도달되도록 함. GC이동가스, 이온화되지 않은 시료, 수분에 의한 MS내부의 오염 방지.

⊙ Tune

Tuning이란 MSD에서 Mass spectrum을 얻기 위해서 수행되어야 할 첫 번째 과정이다. 정밀하고 우수한 MS data를 얻기 위해서는 MSD의 여러 가지 기기적인 parameter들을 조절하여 기기를 calibration해 주어야 하는데, 이러한 일련의 calibration 과정이 tuning이다. 또한 이 과정을 통해 전반적인 기기의 상태를 check할 수 있다.

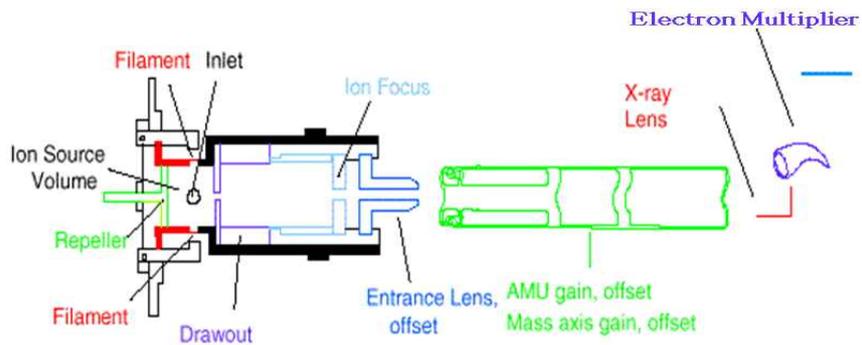
Tuning 물질로는 안정하면서 휘발성을 지니고 넓은 범위의 mass range를 지니는 물질로서 PFTBA가 주로 사용된다.

**PFTBA (PerfluoroTributylAmine)**

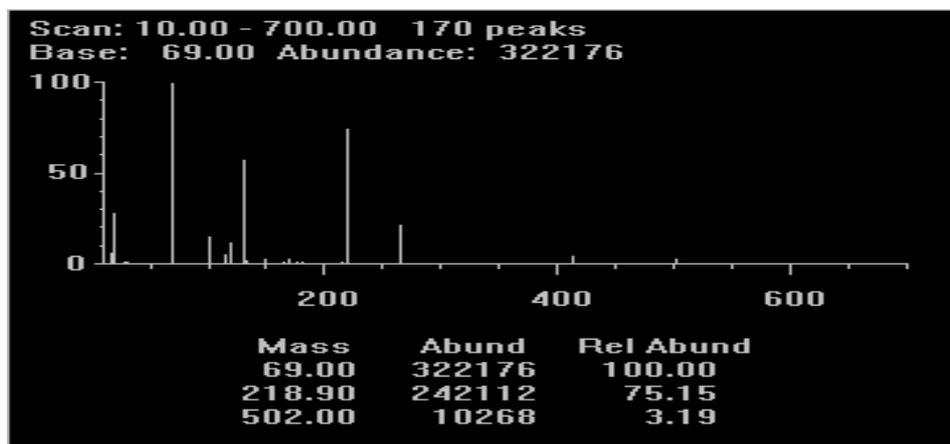
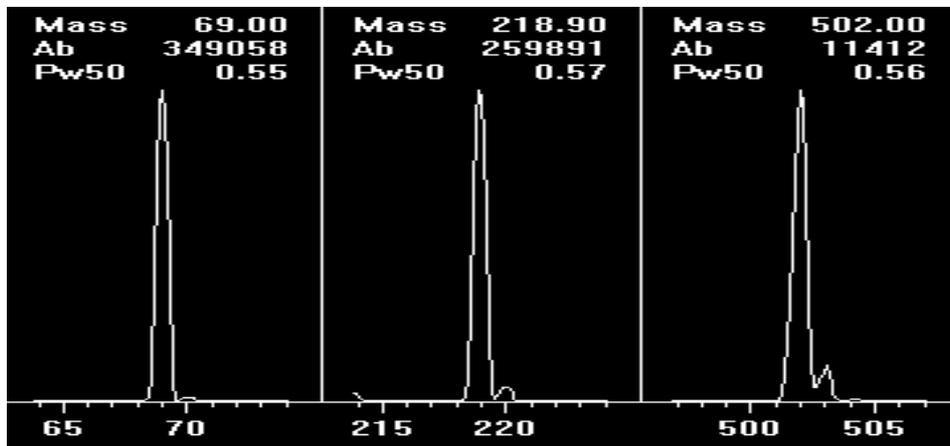


- Tuning 과정에서 조절되는 parameter : Ion Source, Mass Filter, Detector

## Tuning Parameters



Tuning을 마치면 아래와 같은 레포트를 얻을 수 있고 이를 토대로 전반적인 장비의 상태를 알 수 있다.

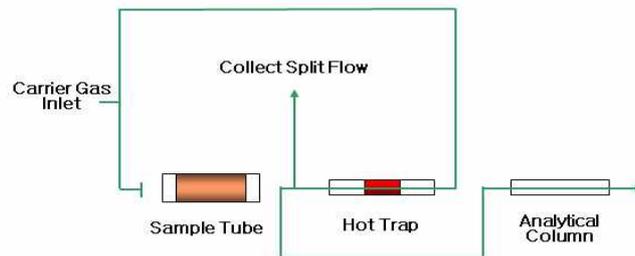


## 2. TD (Thermal Desorption)

TD(Thermal Desorption)란 전통적인 용매 추출법을 대체하는 기술로써, 매우 효과적이면서도 높은 감도를 제공해줄 뿐만 아니라 손쉽게 자동화가 가능한 기체추출 기술이라 할 수 있다. 열 탈착 과정은 흡착제에 흡착된 휘발성 물질 또는 반휘발성 (semi-volatile) 물질을 불활성 기체와 열을 이용하여 추출하는 과정도 포함한다. 이와 같이 추출된 분석 대상 물질은 작고 농축된 형태의 기체상으로써 운반 기체에 의해 분석기(일반적으로 GC 또는 GC-MS)에 전달되어 정성 또는 정량분석이 가능하게 한다.

- 응용분야
  - 실내공기 중 휘발성유기화합물 분석
  - 작업환경 모니터링
  - 약취, 향료 분석

### 1) 기기 구조



### 2) 흡착제의 종류 및 응용

Sample Tube	Maximum Temperature	Approximate Analyte Volatility	Typical Analytes
Carbotrap 202	400 ℃	n-C5 to n-C30	Offgassing polymer
Carbotrap 300	400 ℃	n-C3 to n-C30	EPA TO-1, TO-2, TO-3
Carbotrap 349	400 ℃	n-C3 to n-C16	NIOSH Method 2549
Air Toxics	400 ℃	n-C3 to n-C12	EPA TO-14 compounds
Carbopack B	400 ℃	n-C5 to n-C12	Wide range of VOCs
Carbosieve S-III	400 ℃	n-C2 to n-C6	Very volatile compounds
<b>Tenax TA</b>	350 ℃	n-C7 to n-C26	Aromatic, apolar compounds (BP>100℃) and less volatile compounds
Tenax GR	350 ℃	n-C7 to n-C30	Alkyl benzene, PAH, PCBs
Chromosorb 106	250 ℃	n-C5 to n-C12	Wide range of VOCs including hydrocarbons from n-C5 to n-C12,

### 3) TVOCs(총휘발성유기화합물)의 분석

#### a. 관련 노출기준

#### 다중이용시설 등의 실내공기질관리법 시행규칙(제4조 관련)

[별표 3] 실내공기질 권고기준

다중이용시설	VOC (ug/m <sup>3</sup> )
지하역사, 여객자동차 터미널의 대합실, 장례식장, 목욕장 등	500이하
의료기관, 보육시설, 국공립 노인요양시설 및 노인전문병원, 산후조리원	400이하
실내주차장	1,000이하

#### 다중이용시설 등의 실내공기질관리법 시행규칙(제7조의2 관련)

[별표 3] 신축 공동주택의 실내공기질 권고기준

유해인자	기준농도 (ug/m <sup>3</sup> )
벤젠	30 이하
톨루엔	1,000 이하
에틸벤젠	360 이하
자일렌	700 이하
스티렌	300 이하

b. STD 제조



STD의 제조

- Injector Temp : 80 °C
- Flow : 50ml/min
- GC 주입구에 Tenax-TA Tube 를 연결 후 액상표준시료를 Syringe를 이용해 주입한다.



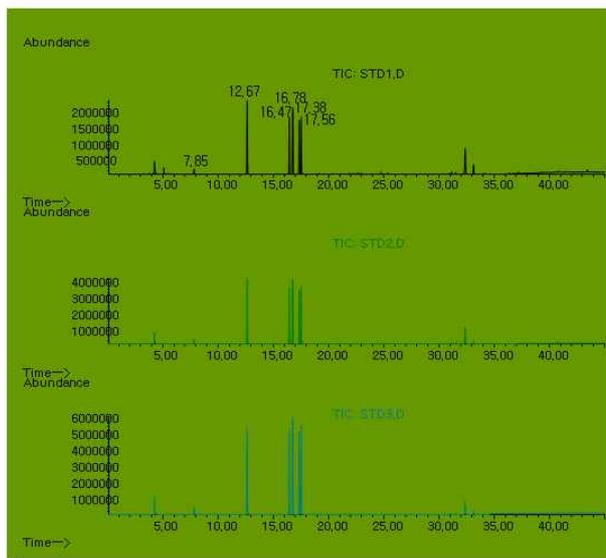
c. TD 분석조건

구 분	조건
고체흡착관탈착온도	280 °C
탈착시간	8 min
저온농축온도	-10 °C
저온농축관탈착유량	25 ml/min
저온농축관탈착온도	300 °C
저온농축관탈착시간	3 min
저온농축관충진제	Tenax-TA
GC로의 이송관온도	120 °C

d. GC/MS 분석조건

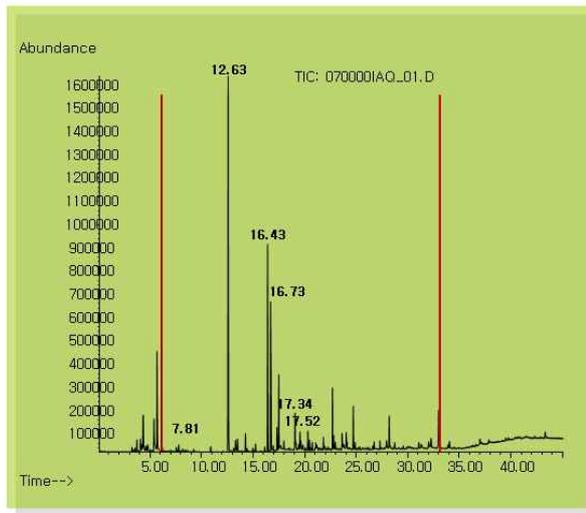
구분	조건
운반기체	He, 1.8 ml/min
컬럼	DB-1 Capillary (60m*0.32mm*1um)
온도 프로그램	60°C(10min)→10°C/min → 210°C(10min) → 20°C/min → 250°C(8min) Total : 45min
Interface Temp.	250 °C
Quadrupole Temp.	150 °C
Ion source Temp.	230 °C
Ionization Method	EI (Electron Ionization)
Mass Range	35(m/z) ~ 280(m/z)

e. 크로마토그램(STD 및 sample) 예시 - STD



Retention time	물질명
7.85	Benzene
12.67	Toluene
16.47	Ethyl benzene
16.78	m+p-xylene
17.38	Styrene
17.56	o-xylene

f. 크로마토그램(STD 및 sample) 예시 - Sample



Retention time	물질명	농도 (ug)
7.85	Benzene	19.9
12.67	Toluene	60.8
16.47	Ethly benzene	73.4
16.78	m+p-xylene	26.6
17.38	Styrene	6.3
17.56	o-xylene	1.5

g. TVOC 농도계산

개별물질의 STD중 Toluene으로부터 얻은 회귀방정식을 이용해 중량(As)를 구한다. (단, TVOC = n-Hexane ~ Hexadecane)

$$A_s = \frac{(\text{휘발성 유기화합물의 Area합}) - \text{톨루엔 검량선의 Y절편}}{\text{톨루엔 검량선의 기울기}}$$

중량(As)에 Blank를 보정하여 농도(CA)를 구한다.

$$C_A = (A_s - A_t) / Q$$

$C_A$  : 공기 시료중 휘발성 유기화합물의 농도 ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )

$A_s$  : 시료 중 휘발성 유기화합물의 중량 ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )

$A_t$  : 배경 시료의 유기화합물 중량 ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )

$Q$  : 총 흡인유량 ( $\text{m}^3$ )

### 3. HS (Headspace Sampler)

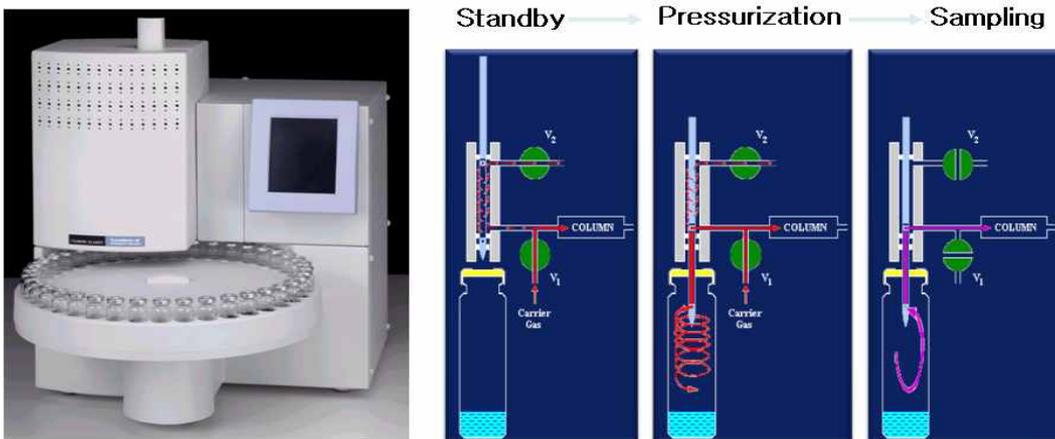
#### 1) 기기 원리

액체 혹은 고체 시료 중에 함유되어 있는 휘발성유기화합물(Volatile Organic Compounds, VOCs)을 GC로 분석할 수 있도록 시료를 전처리하는 시스템을 말한

다.

- 정지상 헤드스페이스(Static Headspace)분석법  
: 밀봉된 바이얼 내에서 VOCs의 휘발되는 성질과 다시 용해되는 성질의 평형시점을 이용하는 방법이다.
- 유동상 헤드스페이스(Dynamic Headspace)분석법  
: 비활성 기체로 폭기시켜 추출한 후 트랩에 흡착시켜 분리 및 검출 하는 방법이다.
- 응용분석
  - 소변 중 MEK, MIBK, Acetone, Methanol 등의 분석
  - 휘발성 Bulk 시료의 성분 분석
  - 혈중 알코올 분석
  - 토양 및 수중 VOCs의 분석

## 2) 기기 구조(Headspace Analyzer)



## 3) 요중 MIBK 분석

- 노출기준(생물학적 노출지표) : 2 mg/g·creatinine
- STD의 제조
  - ① 증류수를 사용하여 MIBK를 1/200로 희석한다.
  - ② '①'의 용액을 다시 1/400로 희석한다.
  - ③ '②'를 아래와 같이 희석하여 조제한다.

	희석비 ( @/증류수 )	농도
Blank	0 mL / 25 mL	0.000 mg/l
STD 1	2 mL / 25 mL	0.796 mg/l
STD 2	5 mL / 25 mL	1.990 mg/l
STD 3	10 mL / 25 mL	3.980 mg/l

a. Sample의 전처리

urine 2mL와 필요한 경우 Internal standard(1,2-Dichloroethane)를 첨가하여 22mL headspace vial에 넣고 vial cap을 밀봉한다.

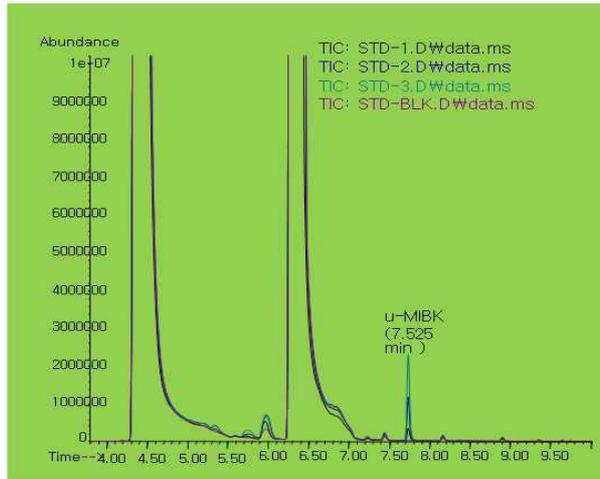
b. Headspace 분석조건

구 분	조 건
Valve oven time	100 °C
Transfer line temp.	120 °C
Platen / Sample temp.	80 °C
Mixer	ON
Mixing time	5.00 min
Pressurize	10 PSIG
Pressurize time	0.5 min
Loop fill pressure	5 PSIG

c. GC/MS 분석조건

구 분	조 건
운반기체	He, 1.0 ml/min
컬럼	DB-1 Capillary (60m*0.32mm*1um)
온도 프로그램	40°C(2min)→10°C/min → 120°C(4min) Total : 14min
Interface Temp.	250 °C
Quadrupole Temp.	150 °C
Ion source Temp.	230 °C
Ionization Method	EI (Electron Ionization)
Mass Range	35(m/z) ~ 280(m/z)

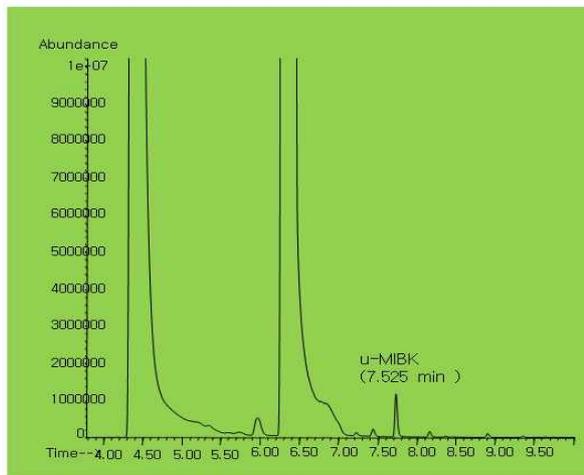
d. 크로마토그램 예시- STD



Retention time (min.)	물질명
7.525	MIBK

	농도 (mg/l)
Std-1	0.796
Std-2	1.990
Std-3	3.980

e. 크로마토그램 예시- Sample



Retention time	물질명	농도 (mg/l)
7.525	MIBK	1.25

f. 결과계산

표준용액 분석을 통해 얻은 sample의 농도를 크레아티닌이나 요비중으로 보정하여 결과를 도출한다.

- 요비중 보정 시 :  $\text{농도} = 0.02 \times \text{측정농도} / (\text{요비중}-1)$
- 크레아티닌 보정 시 :  $\text{농도} = \text{측정농도} / \text{크레아티닌농도}$

# 고성능액체 크로마토그래피

(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

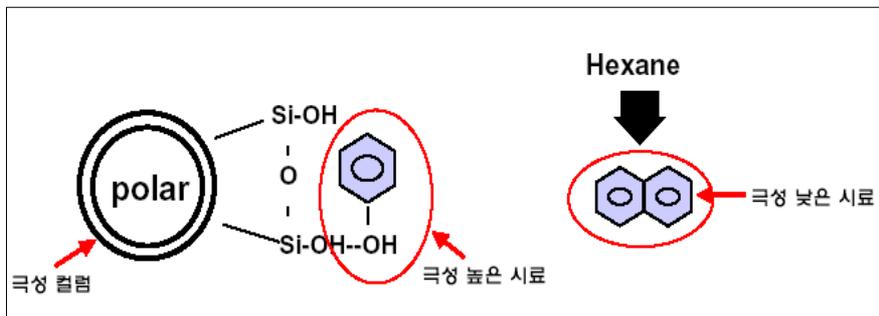


# 1. 고성능액체크로마토그래피 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)의 원리

- ⊙ 흡착, 분배, 이온교환, 분자체 작용에 의한 분리 분석
- ⊙ 높은 감도
- ⊙ 정확한 분석
- ⊙ 비휘발성 성분이나 열적으로 불안정한 물질을 쉽게 분리 분석
- ⊙ 취급 물질의 종류 : 아미노산, 단백질, 핵산, 탄화수소, 탄수화물, 약품, 테르노이드, 살충제, 향상제, 스테로이드, 금속 유기물, 여러 가지 무기물
- ⊙ 종류별 분리 메카니즘
  - 분자량이 작은 이온성 화학종의 경우 : 이온교환 크로마토그래피
  - 비금속 화학종과 구조 이성질체 및 지방족 알코올에서 지방족 탄화수소와 같은 화합물의 분리 : 흡착 크로마토그래피
  - 극성이 작고 비이온성인 화학종 : 분배 크로마토그래피

## 1) 흡착작용(Adsorption)

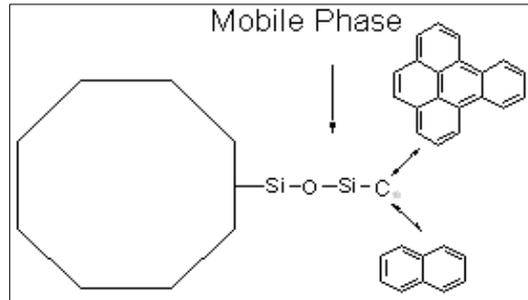
- ① Functional groups의 polarity에 의한 분리 작용
- ② 일반적으로 비수용성, 비극성 용매를 사용하며 극성이 낮은 시료부터 용리
- ③ 고정상으로 사용되는 고체 흡착제의 표면과 이동상으로 사용되는 액체에 대한 친화력의 차이가 분리를 좌우



## 2) 분배작용 (Partition, NP/RP)

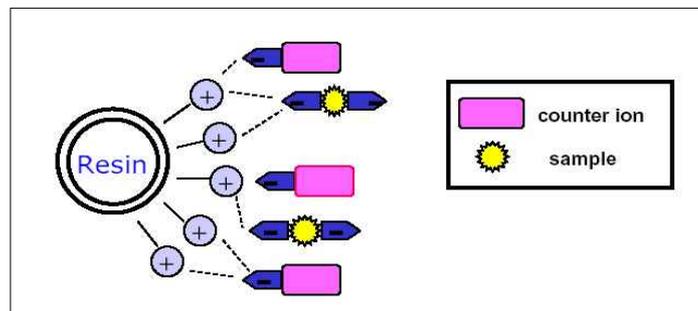
- ① Bonded compound (C18, C8, CN, pH)와 분석 물질간의 상호작용에 의한 분리

- ② 고정상은 다공성 지지체에 화학적으로 결합되어 있음
- ③ 일반적으로 극성용매 사용하며 비극성이 큰 물질이 나중에 용리됨



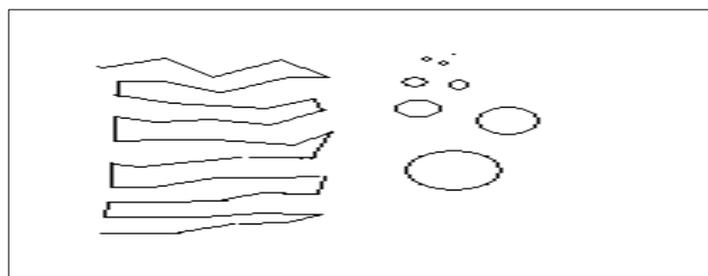
### 3) 이온교환작용 (Ion exchange)

- ① 이온 친화력에 의하여 분리하며 용매의 농도에 따라 분리도가 달라짐



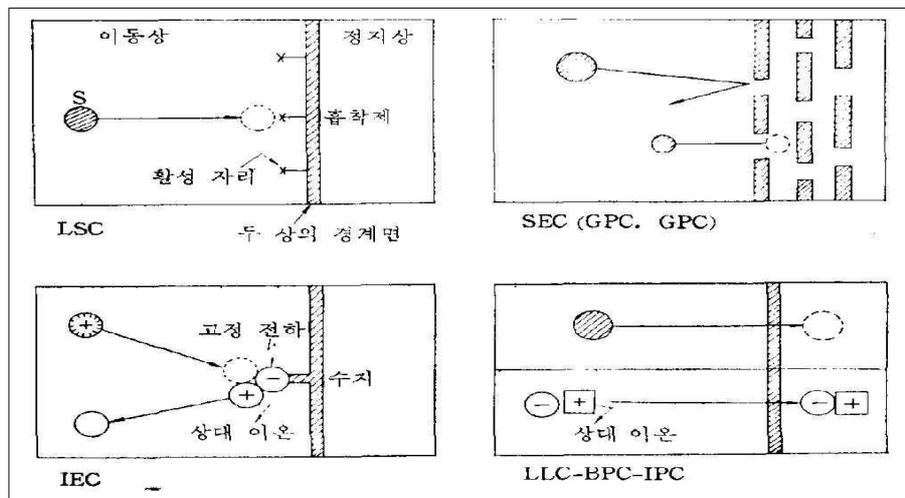
### 4) 분자체 작용 (Size exclusion)

- ① 일정한 크기의 공극을 형성시킨 다공성 polystyrene 이나 silica gel을 충전입자로 사용
- ② 공극의 크기에 따라 분리되는 시료의 분자량대가 다름
- ③ 시료의 물리적 특성(크기)에 따른 분리



## 2. HPLC의 종류 (컬럼, 판)

분리 메카니즘		분리 원리
LSC	주로 흡착	표면에 존재하는 활성 자리(active site)에 선택적으로 흡착 (시료분자의 극성과 분자의 입체구조는 흡착성에 중요한 역할)
IEC	이온 교환	양이온이나 음이온인 시료 이온이 상대 이온과의 경쟁으로 교환이 일어나 정지상에 분포되는 현상을 이용
SEC	배제	겔의 다공성의 크기에 대한 시료 분자의 크기에 따라 투과성에 차이가 생겨, 분자가 큰 것이 먼저, 작은 것이 나중에 용리되는 원리에 의해 분리
LLC	분배	시료 분자들의 두 상에 대한 용해도 차이에 따라 분배 정도가 달라져 시료 분자들이 상호 분리



GFC : 겔이 수용액에 팽윤되고 시료가 수용액인 경우

GPC : 겔이 유기용매에 팽윤되고 시료가 유기용매에 녹는 경우

## 3. LC방법 선택시 고려 조건

- 1) 시료의 성질(즉, 분자량, 수용성 및 지용성, 이온성 및 비이온성)
- 2) 요구하고 있는 분리인자의 형태
- 3) 실험상의 용이점(즉, 시료채취, 실험조건 결정, 컬럼의 안정성, 컬럼의 유효성, 컬

럼 충전, 실험의 용이성)

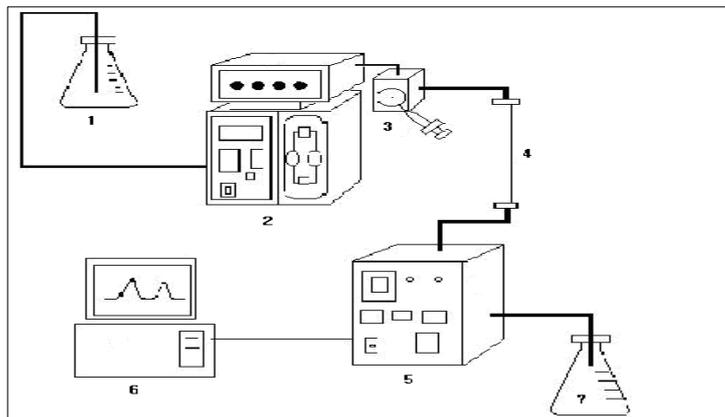
- ▷ 정상상 크로마토그래피 : 극성이 큰 정지상을 사용, 이동상으로 비교적 극성이 없는 용매를 사용하는 것
- ▷ 역 상 크로마토그래피 : 정지상은 비극성이고 가끔 탄화수소를 사용하며, 이동상은 물, 메탄올 또는 아세트니트릴과 같이 비교적 극성인 용매를 사용

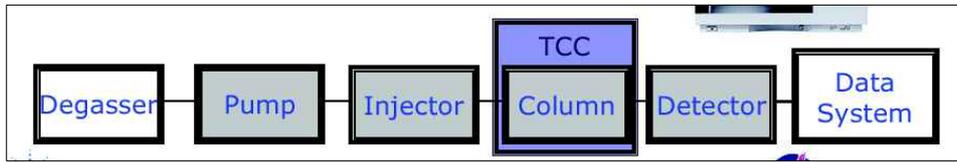
4) 정상 및 역상 용리

- ▷ 액체크로마토그래피의 발전 과정을 보면 정지상은 보통 극성이고, 이동상은 비극성이 일반적이었다. 그러나, HPLC에서는 이와 반대의 시스템을 더 많이 쓰고 있다.
- ▷ 일반적으로, 이동상이 비극성이고 정지상이 극성인 경우를 정상 용리(normal elution)라 하고, 이와 반대의 경우를 역상 용리 (reversed phase elution)라 한다.

항 목	정 상	역 상
정지상 극성	큼	작음
이동상 극성	보통~작음	보통~큼
시료 용리 순서	비극성이 먼저 용리됨	극성이 먼저 용리됨
이동상의 극성을 증가시킬때의 효과	용리 시간이 감소됨	용리 시간이 증가됨

4. 기기 구조 및 장치





1) 직경이 2-4mm이고 길이가 10-50cm인 컬럼

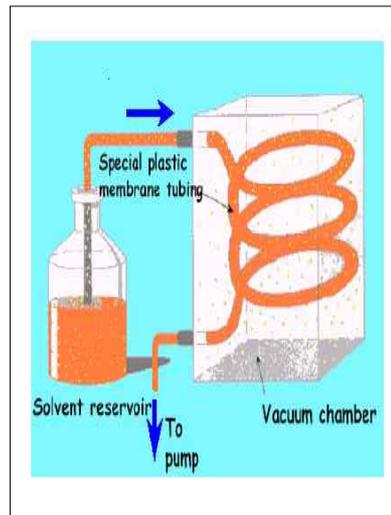
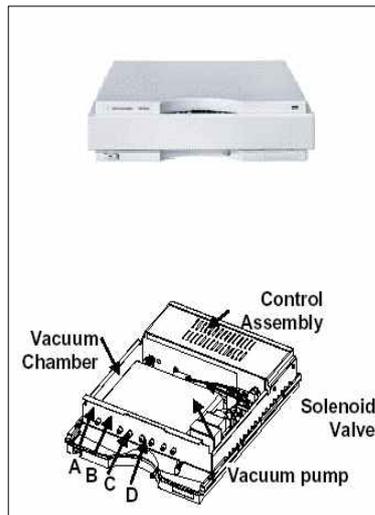
: 1-2mL/min의 유속을 얻기 위해서는 100-3,000psi의 압력이 요구

2) 각각의 장치 설명

- ① Reservoir : 용매를 저장할 수 있는 용기
- ② 용매 펌프 : 일정한 유속과 압력으로 용매를 밀어주는 장치
- ③ 주입기 : 분석하고자하는 시료를 이동상의 흐름에 실어주는 역할
- ④ 컬럼 : 충전제가 채워져 있어 실질적인 분리가 이루어지는 곳
- ⑤ 검출기 : 분리되어진 물질이 검출되어지는 곳
- ⑥ Data system : Detector의 시그날을 크로마토그램으로 변화시켜줌
- ⑦ Waste Vessel

A. 용매

- a. HPLC 용도에 맞는 용매 및 비저항 값이 18MΩ이상인 water를 사용한다.
- b. Viscosity가 낮아야 한다.
- c. 두 용매를 혼합하여 사용하고자 할 때 Miscibility number(혼화성 지수)의 차가 15미만이어야 한다.



- d. 이동상은 고정상을 녹여서는 안 된다.
- e. 분리코자 하는 시료는 반드시 이동상에 녹아야 한다.

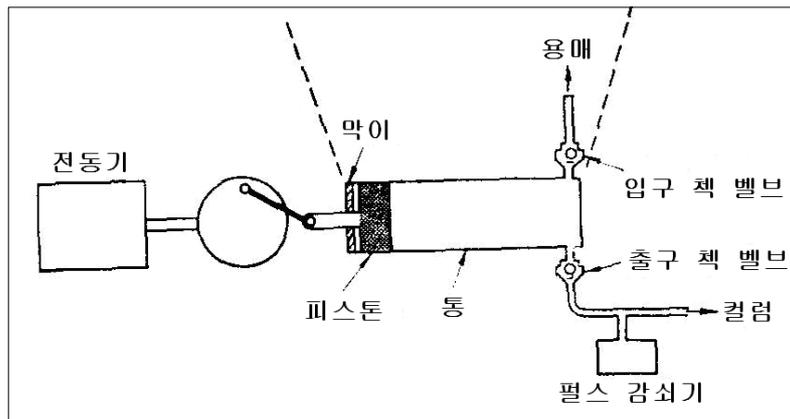
- f. 두 용매를 섞을 땐 V/V으로 섞어준다.
- g. Bubble은 제거한다.

B. 고압펌프

- a. 역할 : 이동상을 이동상 저장용기에서 끌어내어 시료 주입기로 연속적으로 밀어주는 역할
- b. 요건 : 일정한 유속과 압력을 유지할 것  
다양한 용매를 사용할 수 있을 것
- c. 펌프가 갖추어야 할 요건을 간단히 정리하면 다음과 같다.
  - ① 펌프 내부는 용매와의 화학적 상호 반응이 없어야 한다.
  - ② 최소한 5000psi의 고압이 가능해야 한다.
  - ③ 흐름 속도는 0.5~10 ml/min 정도 조절이 가능해야 한다.
  - ④ 펌프에서 나오는 용매의 공급은 펄스가 없어야 한다.
  - ⑤ 용매 유입의 재현성은 1% 이내이어야 한다.
  - ⑥ 기울기 용리가 가능해야 한다.

C. Isocratic 및 Gradient

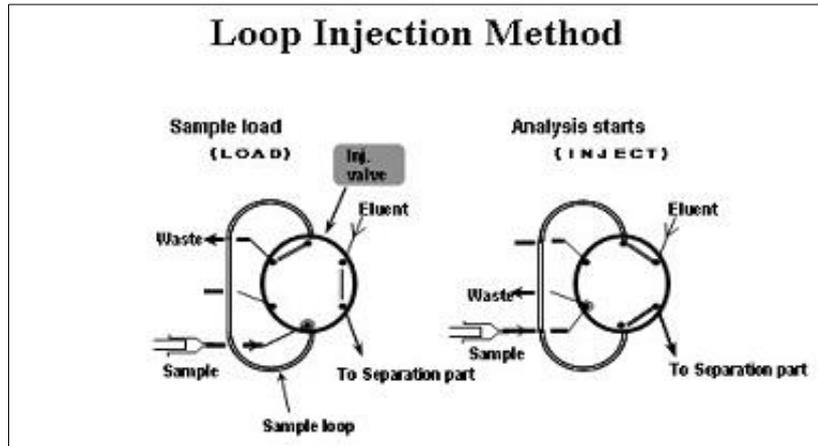
- ▷ Isocratic : 분석시간 동안 이동상 조성의 변화 없음
- ▷ Gradient : 분석시간 동안 이동상 조성이 시간의 흐름에 따라 변함



D. 시료의 주입 방법

- a. 주사기를 사용하는 방법 :
  - ① 컬럼 위에 직접 주입시키는 컬럼 내 주입 방법 - 1500psi 이하에서만 가능
  - ② 용매의 유입을 중단시키고, 시료를 주입시키는 흐름 멈춤 주입 : 1500psi 이상의 압력으로 용리 시킬 때 사용하는 방법.
- b. 미량시료 주입 밸브를 이용하여 시료를 주입시키는 방법 :

- ① 밸브의 용량은 보통 0.5 ml ~ 수  $\mu$ l 정도이고, 압력은 5000psi까지 견딜 수 있다. 시료 주입 밸브의 원리 설명도는 다음 그림과 같다.



- 역할 : 분석하고자 하는 시료를 용매의 흐름에 실어 준다
- 종류 : 수동(Manual Injector)  
자동(Auto Injector)

#### D. 컬럼

- 컬럼은 스테인레스강으로 만든 것이 보통
- 안지름은 분석용 컬럼인 경우 1~4mm이고, 대규모 컬럼인 경우에는 1 inch 정도의 큰 컬럼을 사용한다.
- 길이는 25cm가 가장 많고, 100cm의 길이까지 가능하다. 물론, 5000psi의 압력에 견딜 수 있도록 모든 연결 부분이 완벽해야 한다.

#### E. 검출기

- 역할 : 컬럼에서 분리된 시료가 일정한 간격으로 검출기를 통과할 때 시료의 존재 및 양을 일정한 규칙에 의해 인식하여 전기적인 신호로 바꾸어 준다
- 컬럼을 통해 나오는 성분을 즉시 검출하는 것은 LC에서 가장 중요한 부분이다.
- LC에서 사용되는 검출기로는
  - ① UV검출기
  - ② RI(refractive index)검출기,
  - ③ 전기 화학 검출기
  - ④ 형광 검출기
  - ⑤ IR(infrared) 검출기

- ⑥ 전도도 검출기
- ⑦ 질량 분석 검출기
- ⑧ 원자 흡수 검출기 등

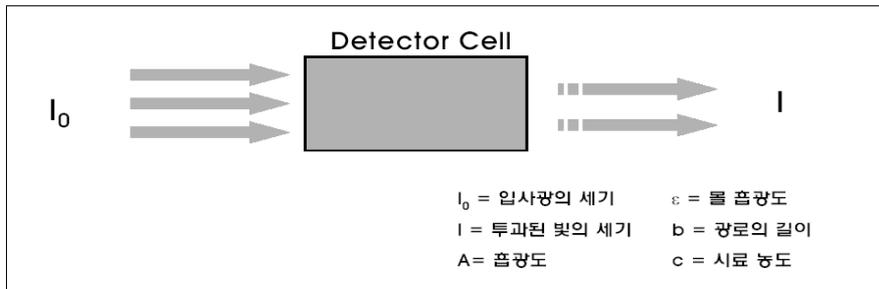
e. Detector의 요건

- ① Signal to noise ratio (S/N ratio)가 높을 것
- ② Noise, Drift가 적을 것
- ③ Detection Limit가 낮을 것
- ④ Flow rate, Temperature, Perssure에 안정할 것
- ⑤ Gradient가 가능할 것
- ⑥ 사용 목적에 따라 선택성이 있을 것

UV 검출기의 특성	RI 검출기의 원리 와 특성
UV 검출기의 종류 : ① 수은 방전관 검출기 : 흡수광이 한 파장, 즉 254nm나 280nm로 고정되어 있음. ② 중수소 방전관의 UV 검출기 : 흡수광을 원하는 파장으로 조정할 수 있음.	① 모든 시료에 대해서 검출이 가능하다. ② 감도는 약 10 <sup>-6</sup> g 정도로서 UV 검출기에 비하여 작다. ③ 기울기 용리에는 사용할 수 없다. ④ 온도에 예민하다. ⑤ 대규모 분리에적합
① 감도가 10 <sup>-6</sup> ~10 <sup>-10</sup> g으로 크다. ② 시료에 따라 선택성이 있다. ③ 기울기 용리에적용이 가능하다.	
UV 검출기의 경우에는 시료에 포함된 각 성분이 검출기에서 방사되는 파장의 빛을 흡수해야만 가능하다.	순수한 용매만의 굴절률과 컬럼을 통해 나오는 용액의 굴절률의 차이가 검출되어 기록되는 것으로 특히 GPC에 적당하다.

#### 4. 검출기의 종류 및 원리

##### 1) UV/VIS Detector(VWD, MWD, DAD) 검출 원리

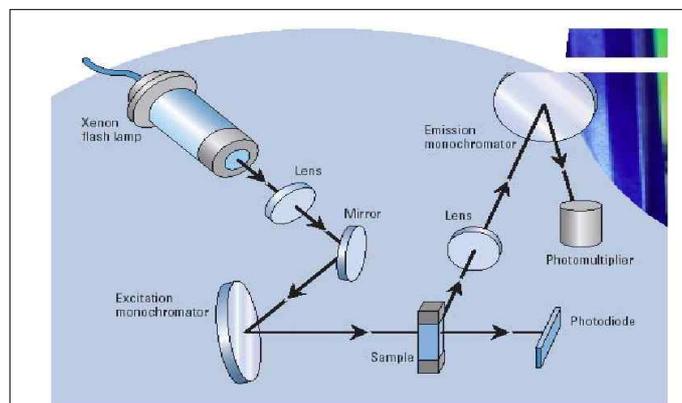


Photodiode에 도달하는 특정파장의 빛의 양과 시료의 농도 사이의 관계를 나타내면,

$$\text{Log } I_0/I = A = \epsilon bc$$

##### 2) Fluorescence Detector 검출 원리

- a. Excitation filter를 통과한 빛은 sample cell에 존재하는 시료 분자를 들뜬 상태로 만들어 주고 바닥상태로 떨어 지면서 흡수한 파장보다 긴 파장의 빛을 방출함
- b. 빛의 발광량 : 시료 농도에 비례
- c. 시료 : 분자 구조가 형광을 띠거나 형광 유도체를 만들었을 때 검출 가능
- d. 형광 물질 : 벤젠 고리 치환물 중 작용기가 -OH, -OCH<sub>3</sub>, -H<sub>2</sub>, -F 등



##### 3) Refractive Index Detector 검출 원리

- a. 시료의 농도 변화에 따른 굴절률을 측정
- b. Cell은 Sample cell과 reference cell로 구성 되며 reference cell은 이동상으로 채워지고 분석시간동안 이동상은 sample cell만을 통과하면서 흐름

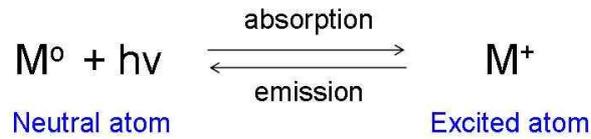
# 원자흡수 분광광도계

(Atomic Absorption Analysis, AA)

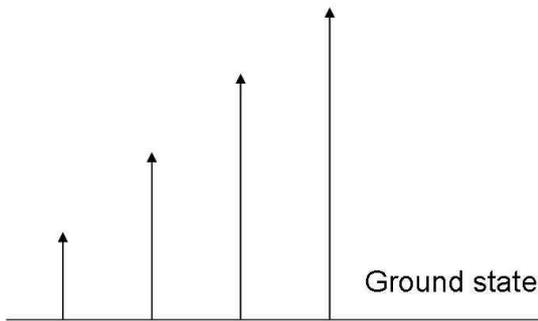


# 1. 원자흡수분광광도계(Atomic absorption)의 원리

시료를 적당한 방법으로 해리시켜 중성원자로 증기화하여 생긴 기저상태의 원자가 이 원자 증기층을 투과하는 특유파장의 빛을 흡수하는 현상을 이용한다. 광전측광과 같은 개개의 특유파장에 대한 흡광도를 측정하여 시료 중의 원소 농도를 정량하는 방법으로 대기 또는 배출 가스 중의 유해 중금속, 기타 원소의 분석에 적용한다. 또한 선택성이 우수하고 ppm부터 ppb까지 높음 감도를 가진다.

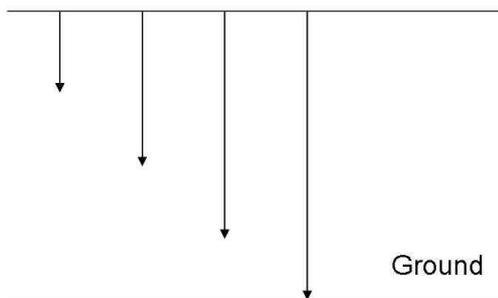


## ⊙ Atomic absorption



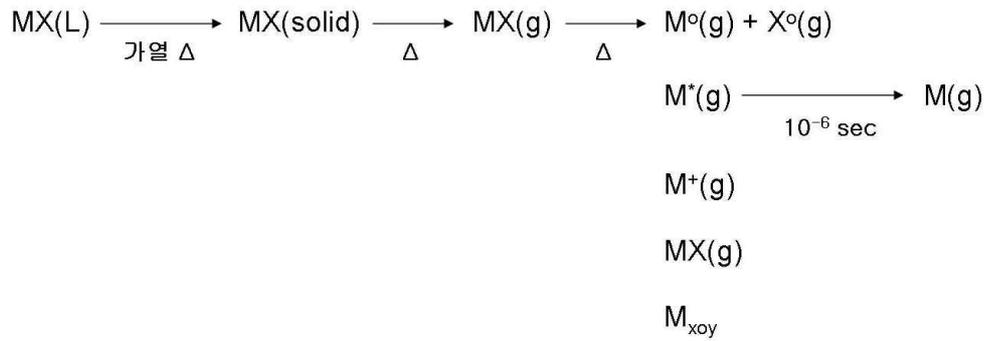
를 흡수하여  
 $M^{+}$  (excited state)가 될 때

## ⊙ Emission

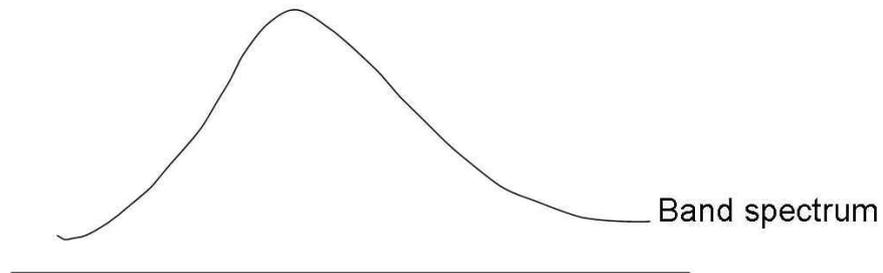


$M^{+}$ 가  $h\nu$ 를 방출하여  $M$ 으로  
 되돌아가는 성질  
 (Fluorescence)

⊙ Atomization process

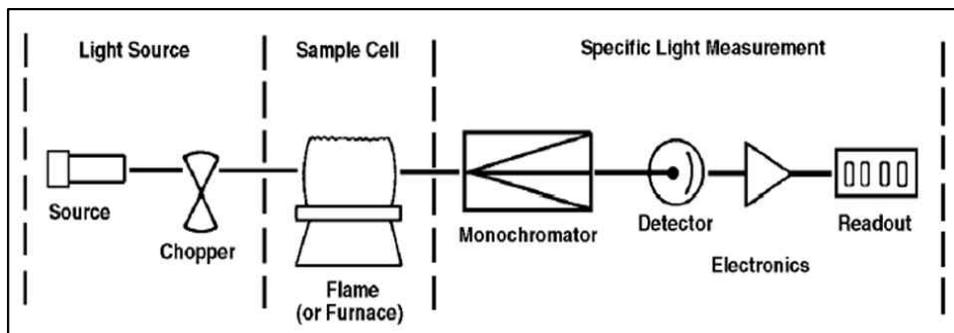


⊙ UV(D2 Lamp) : 200~300nm continuous source



2. 기기 구성

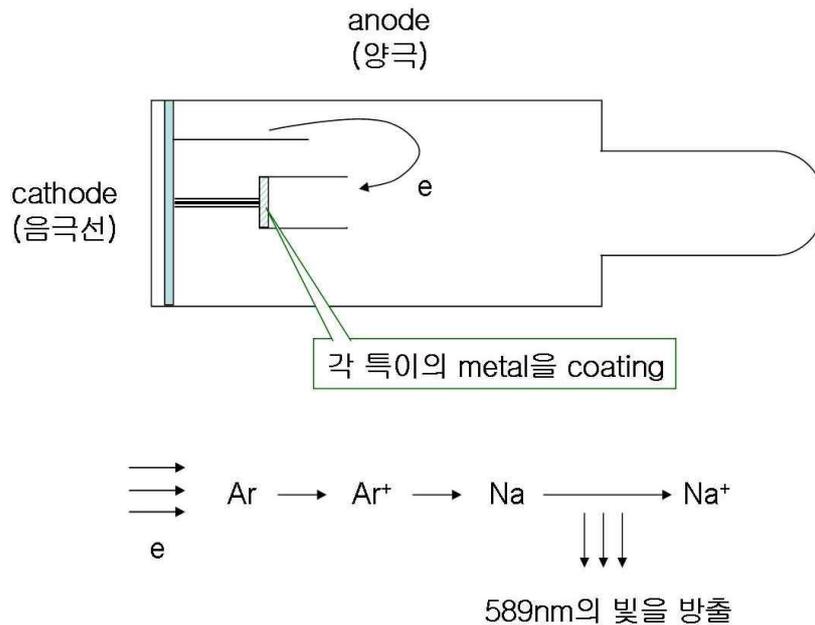
광원부, 시료원자화부, 파장 선택부(분광부) 및 측광부로 구성되어 있고, 단광속형과 복광속형이 있다.



1) 광원부

- AAS : hollow cathode lamp, line spectrum

- 속빈음극등(Hollow Cathode Lamp)
  - 가장 널리 쓰이는 광원으로써 분석하고자 하는 원소가 잘 흡수할 수 있는 특정파장의 빛을 방출하는 역할을 한다.



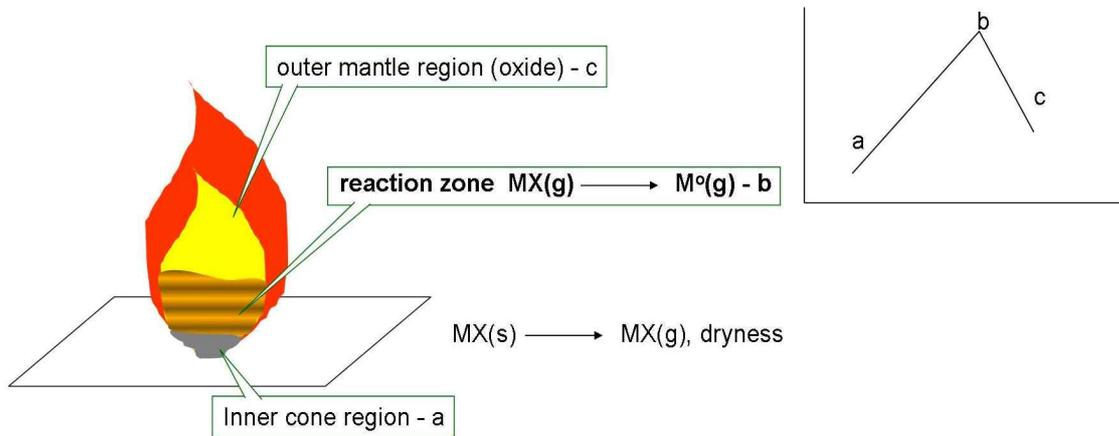
- Lamp 수명 : 50mA, 1000hr 사용하지 않으면 metal coating에 피막형성
- 약 5mA로 20~30분 warming up/1month

## 2) 시료원자화부

- 불꽃 원자 흡수분광기(Flame AAS)
- 비불꽃 원자 흡수분광기(Flameless AAS, Graphite furnace AAS)
- Cold vapor system

### a. 불꽃 원자 흡수분광기(Flame AAS)

- $C_2H_2$ -Air 2300~2400℃ : 대부분 alkali earth metal
- $C_2H_2$ - $N_2O$  3000℃ : refractory element high valence를 갖고 있다  
: W, U, V, Ti, Si, Al
- oxygen과 결합이 강하다  
: 중금속  $Al_2O_3$ ,  $SiO_2$ ,  $TiO_2$

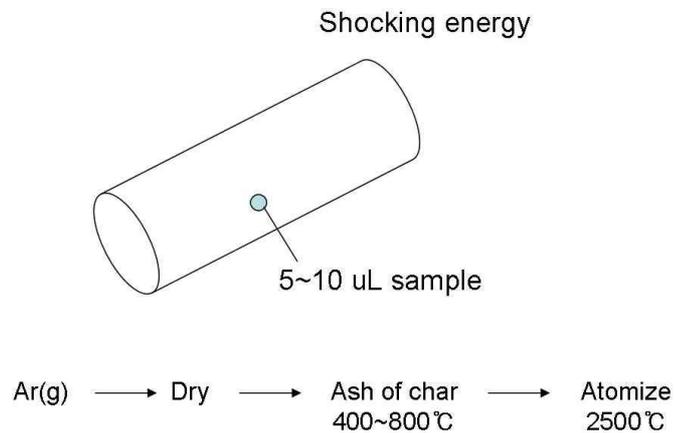


- 그러므로 burner height의 영향으로 높이 조절 한다.
- C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-Air Ration 고려
  - Fuel > oxidant red flame
  - Fuel lean, blue flame
- droplet size & uptake rate by Nukiyama

$$D_o = \frac{585}{V} \left( \frac{\sigma}{p} \right)^{1/2} + 597 \left[ \frac{M}{(\sigma p)^{1/2}} \right]^{0.45} \left( 1000 \frac{Q_L}{Q_a} \right)^{1.5}$$

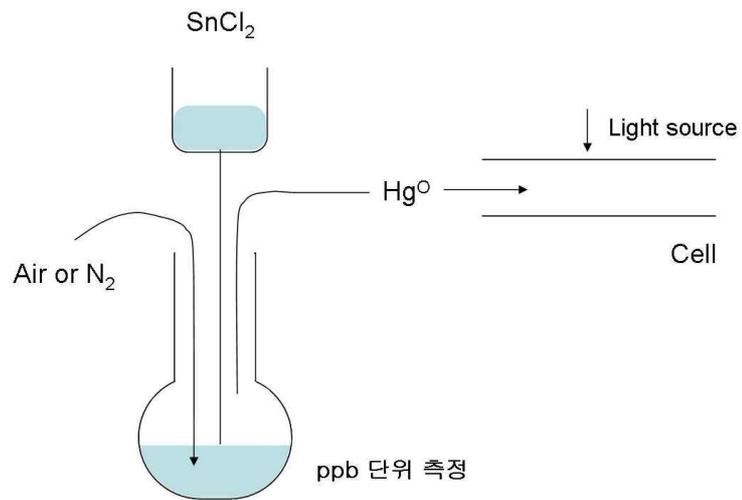
- 작은 시료 방울, density 낮추고 surface tension을 높인다.
- Closing effect : flame light 의 splitting

### b. 비불꽃 원자 흡수분광기(Graphite tube furnace)

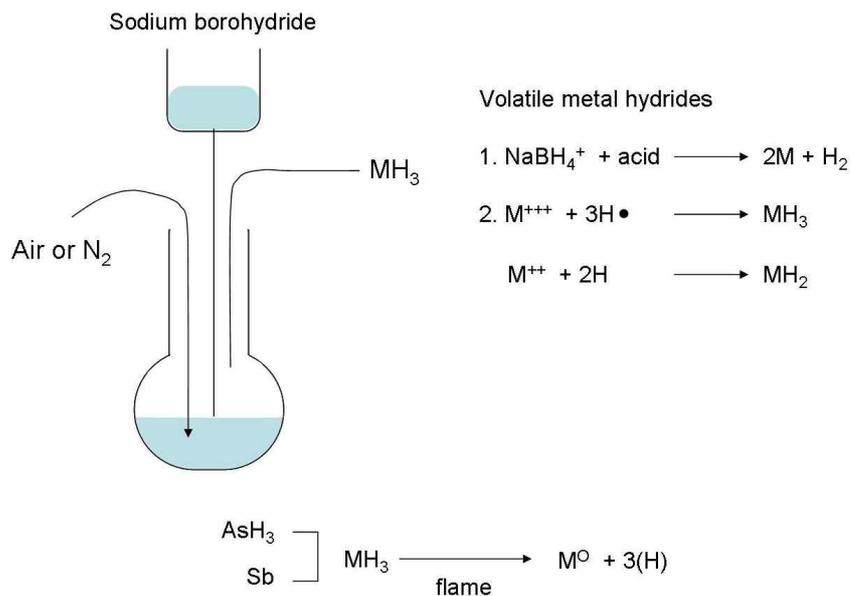


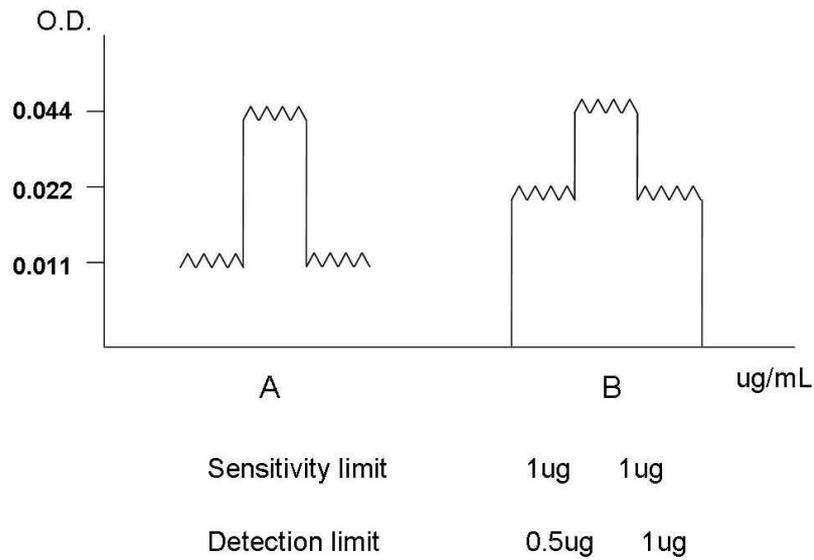
### c. Cold Mercury Vapor Technique

- Hg, As, Se, Ge



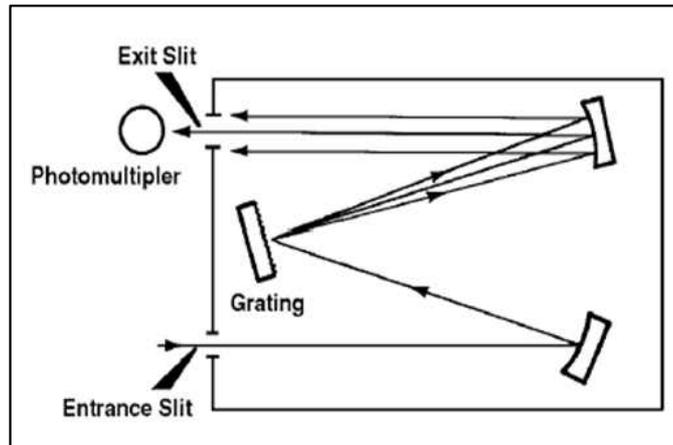
- Volatile metal hydride technique





### 3) 단색화부

광원램프에서 발산되는 휘선스펙트럼 중에서 분석에 필요한 파장 또는 주파수의 스펙트럼 대역만을 선택하여 통과시키는 장치로써 회절격자와 프리즘으로 구성된 분광기가 사용된다.



### 4) 측광부

원자화된 시료에 의하여 흡수된 빛의 흡수강도를 측정하는 것으로서 검출기, 증폭기 및 지시계로 구성된다.

- 검출기

사용하는 분석선의 파장에 따라 적당한 분광감도특성을 갖는 검출기가 사용된다. 광증배관은 원자 외 영역에서부터 근적 외 영역에 걸쳐 널리 사용되며 광전

관, 광전도셀, 광전지 등도 이용된다.

- 증폭기  
증폭기에는 직류방식과 교류방식으로 두 가지가 있다. 직류방식은 검출기에서 나오는 출력신호를 직류 증폭기에서 증폭하고 교류방식일 때는 교류증폭기에서 증폭시킨 후 정류하여 지시계기로 보낸다.
- 지시계  
증폭기에서 나오는 신호를 흡광도로 변환하여 나타냄

### 3. 표준용액 농도 제조

#### 1) 작업환경측정

- 망간(Mn) : 0.4, 0.8, 1.2 ppm
- 카드뮴(Cd) : 1.0, 2.0, 3.0 ppm
- 납(Pb) : 1.0, 3.0, 5.0 ppm
- 크롬(Cr) : 1.0, 3.0, 5.0 ppm
- 아연(Zn) : 0.3, 0.6, 0.9 ppm

#### 2) 특수건강검진

- 혈중 망간(Blood Mn) : 2.0, 4.0, 8.0 ppb
- 혈중 카드뮴(Blood Cd) : 0.4, 0.8, 1.2 ppb
- 혈중 납(Blood Pb) : 20, 40, 80 ppb

### 4. 시료 전처리

#### 1) 작업환경측정 - NIOSH 7300(회화법)

- ① 50ml 비커에 시료 및 공시료를 옮긴다.
- ② Ashing acid(HNO<sub>3</sub>:HCl=1:3)을 5ml 첨가한다.
- ③ Watch Glass를 덮고 30분 정도 실온 방치한다.
- ④ Hot Plate로 덮고 120℃로 설정한 후, 0.5ml가 남을 때까지 가열한다.  
(→ 필터가 녹으면서 갈색연기 발생한다.)
- ⑤ Ashing acid 2ml를 첨가하고 투명화 될 때까지 앞의 ①~④ 과정을 반복한다.

- ⑥ Watch Glass를 제거하고, 비커 내를 증류수로 세척한다.
- ⑦ Hot Plate로 150℃로 설정한 후, 증류수가 0.5ml가 남을 때까지 가열한다.
- ⑧ Dilution acid(HNO<sub>3</sub>:HCl=1:3)를 2~3ml 넣고 용해한다.

**※ 주의사항**

- 회화건조 시 끓어 넘치거나 태우지 않도록 조심한다.
- 유독가스가 발생하므로 반드시 후드 내에서 실시한다.
- 강산 및 전열기(Hot Plate) 취급 시 각별한 주의를 한다.

**2) 특수건강검진**

- ① 혈액시료를 roll mixer에서 충분히 교반한다.
- ② 검량선 작성용 시료  
희석액 1.8ml + 표준용액 100μl + Addition 시료 100μl
- ③ 분석시료  
희석액 1.8ml + 1% HNO<sub>3</sub> 100μl + 시료 100μl

**5. 방해작용**

**1) 스펙트럼 방해**

방해 화학종의 흡수선 또는 방출선이 분석선에 너무 가까이 있거나 겹쳐서 너무 가까이 단색화장치에 의하여 분리가 불가능한 경우에 발생한다.

**a. 두 선 보정법**

두 선 보정법은 광원에서 나오는 방출선 하나를 기준선으로 사용하는데 이 기준선은 분석선에 가능한 한 가까이 있어야 하지만 분석물에 의해 흡수되어서는 안 된다. 이런 조건일 때 검정하는 동안에 관찰되는 기준선의 세기의 감소는 시료의 매트릭스 생성물에 의해 산란 또는 흡수되는 데서 생긴다고 볼 수 있다. 그러므로 이런 세기의 감소를 분석선의 흡광도를 보정하는데 사용할 수 있다.

**b. 연속 광원 보정법**

연속 광원 보정법의 광원으로는 자외선 영역에서 중수소등이 사용된다. 토막틀을 이용하여 연속광원과 속빈 음극등에서 나오는 복사선을 교대로 흑연관 원자화장치를 통과하도록 하고 중수소등에서 나온 복사선의 흡광도를 분석물빛살의 흡광도에서 빼준다. 슬릿나비를 충분히 넓게 하여 시료원자에 의해 흡수되는 연속광원의 분율을 무시한다. 따라서 원자화되는 시료를 통과하는 동안 시

료매트릭스 성분에 의한 넓은 띠 흡수와 빛산란으로 인해 연속광원의 세기가 감소하는 것이다. 이러한 과정으로 바탕보정이 된다.

#### **c. Zeeman 효과에 의한 바탕보정**

원자 증기에 센 자기장을 쏘여주면 원자의 전자에너지 준위가 분리되는데 각 전자전이마다 몇 개의 흡수선이 생긴다. 이 선들은 서로 약 0.01nm 정도의 차이가 있으며 이 선들의 흡광도의 합은 분리 전과 같다. 이러한 현상을 Zeeman 효과라 부른다. Zeeman 효과를 적용하는 기기는 가장 정확한 바탕보정을 한다고 알려져 있다. 이 기기들은 전열 원자화장치에 특히 유용하고 소변이나 혈액같은 시료 중의 원소를 직접 정량할 수 있게 한다. 이 시료들 중에 있는 유기물질이 분해되면 바탕값이 매우 크게 되므로 바탕보정을 크게 해야 하므로 오차가 커지는 경우가 많다.

#### **d. 광원 자체반전에 의한 바탕보정**

Zeeman 효과의 이점을 모두 가진 보정법이라고 할 수 있으며, 큰 전류로 작동할 때 속빈 음극 등에서 방출하는 복사선의 자체반전이나 자체흡수 현상에 바탕을 두고 있다.

### **2) 화학적 방해**

원자화 과정에서 분석물이 여러 가지 화학적 변화를 받아 흡수 특성이 변화하기 때문에 발생한다.

#### **a. 낮은 휘발성 화합물 생성**

가장 일반적인 방해는 음이온에 의한 방해일 확률이 크다. 음이온에 의한 방해는 분석물과 반응하여 휘발성이 작은 화합물을 만들어 분석물이 원자화되는 효율은 감소시키는 것이며 이밖에 양이온에 의한 방해도 있다.

#### **b. 해리평형**

불꽃이나 흑연로같은 고온의 기체환경 속에서 빈번한 해리반응과 회합반응이 일어나 금속성분을 원소상태로 변환시킨다. 이 반응물중 어떤 반응은 가역적으로 일어나므로 열역학 법칙으로 취급할 수도 있다.

#### **c. 이온화 평형**

보통 산화제로서 공기를 사용할 때는 연소혼합물에서 원자나 분자의 이온화는 일어나지 않거나 미미하다. 그러나 산소나 산화이질소를 사용한 높은 불꽃 온도에서는 많은 이온화가 일어나고 이온화 평형의 결과로 자유전자의 농도가 급증한다.

# 이온크로마토그래피

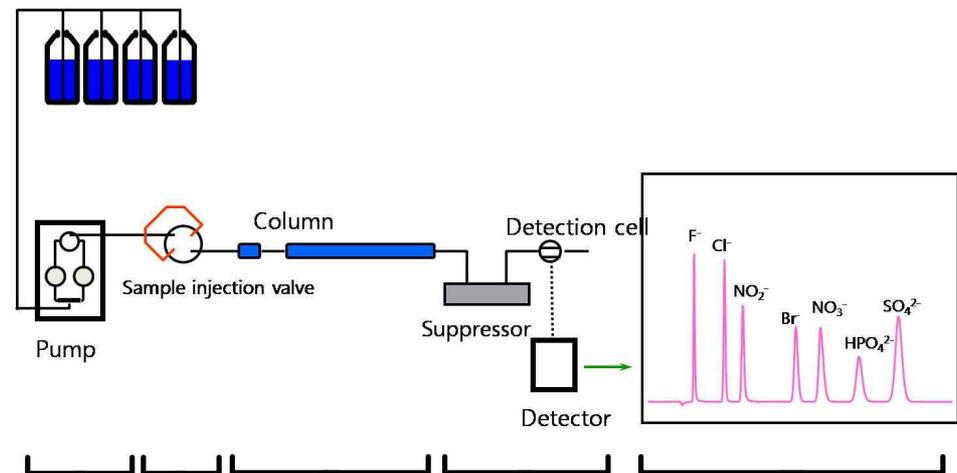
(Ion Chromatography, IC)



## 1. 이온크로마토그래피(Ion Chromatography)의 원리

- ⊙ Ion은 컬럼의 충전물에 대한 친화력 차이에 의해 컬럼 통과 시간을 달리하게 된다. 이동의 차이에 의한 retention time이 이온의 특징이 되고 전기전도도 검출기에 conductivity 증가로 나타나 이를 피크로 인식하게 된다.
- ⊙ 컬럼은 목적성분과 방해 물질 분리를 위해 사용되며 음이온의 경우 전기음성도 순으로 분리된다.
- ⊙ Suppressor를 통과하게 되면 분석성분은 증가된 전기전도도를 나타내는 형태로 전하되고, 반면에 eluent는 낮은 conductivity를 가지는 형태로 전환된다. 따라서 이온강도가 높은 이동상에 미량 농도의 성분을 전도도 검출기로 쉽게 검출할 수 있다.
- ⊙ Ion chromatography is a liquid chromatographic technique, with which ionic and strongly polar species can be separated and detected.

## 2. 기기 구조 및 장치



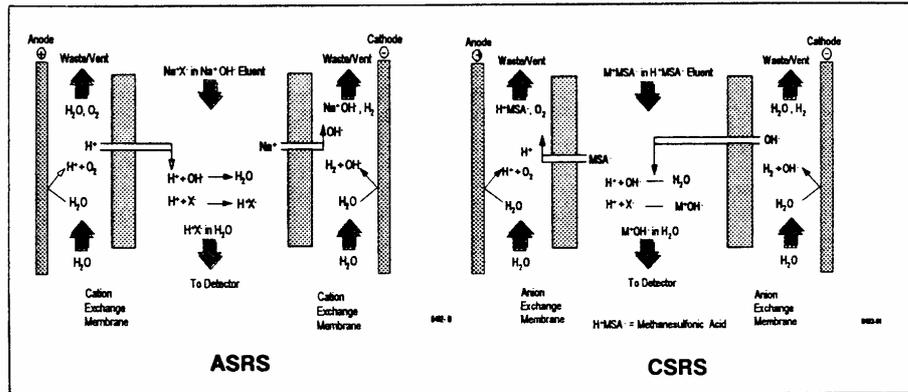
### 1) Suppressor 작동원리

#### a. Auto Suppression Recycle Mode

가장 간단한 작동 모드. 이동상이 suppression를 통해 검출기에 이르면 약 이온 형태로 전환된다. 예를 들어, sodium hydroxide는 물로 suppression된다. 전기 전도도 검출기 셀을 통과한 후 유출되는 것은 SRS-ULTRA의 regenerant inlet으로 recycle된다. 이로서 SRS-ULTRA에는 물 전기분해를 위한 깨끗한 물이 공급된다.

## b. Chemical Suppression Mod

이는 염기성 또는 산성의 regenerant를 사용해야 하기 때문에 가장 사용하기 불편한 모드이다.. 그러나 이는 적당한 S/N비를 얻을 수 있으며, 이동상이 고농도의 유기 용매를 포함할 때 적당하다.



## 2) 검출기

- Electrochemical Detector
  - Conductivity detector
  - Amperometric detector
  - Pulsed amperometric detector
- Spectroscopy Detector
  - UV/Vis
  - Fluorescence
  - PDA

## 3. 분석 예 - 산류의 동시분석

### 1) 노출기준

	HF (ppm)	HCl (ppm)	HNO <sub>3</sub> (ppm)	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (mg/m <sup>3</sup> )	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mg/m <sup>3</sup> )
노동부	C 3	C 5	TWA 2 STEL 4	TWA 1	TWA 1
TLV (ACGIH, 1994)	C 3	C 5	TWA 2 STEL 4	TWA 1, STEL 3	TWA 1, STEL 3
PEL (OSHA, 1988)	TWA 3	C 5	TWA 2 STEL 5	TWA 1	TWA 1
NIOSH	TWA 3 STEL 6	C 5	TWA 2 STEL 6	TWA 1, STEL 3	TWA 1, STEL 3

## 2) IC 분석조건

분석조건	
Eluent	1.2 mM NaHCO <sub>3</sub> /4.5mM Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
Reagent	0.05N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Column	Ionpac AS14 Anion Guard Column - 4mm Ionpac AS14 Anion Separator Column - 4mm
Flow rate	Eluent - 2.0 mL/min. Reagent - 3.0 mL/min
Injection loop vol.	20 uL
Detector	Conductivity detector(30 us full scale)
Gas pressure	Regenerant(supressor막 재생용); N <sub>2</sub>

## 3) 표준 원액 제조

표준 원액 1000ppm에 대한 평취량(1L 기준)		
F <sup>-</sup>	NaF	2.2110 g
Cl <sup>-</sup>	NaCl	1.6489 g
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NaNO <sub>3</sub>	1.3709 g
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.4330 g
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	NaSO <sub>4</sub>	1.4790 g

## 2) 오존분석

- $\text{Na}_2\text{NO}_3$  1.3710g을 DW 1L에 녹여 만든다(1000ppm)
- 1000ppm 용액을 희석하여 0.1, 0.5, 2.5 수준으로 standard를 만든다.

	mg/l	Arera
BL	0.0	0.0
STD1	0.1	654.36
STD2	0.5	3014.89
STD3	2.5	15070.12

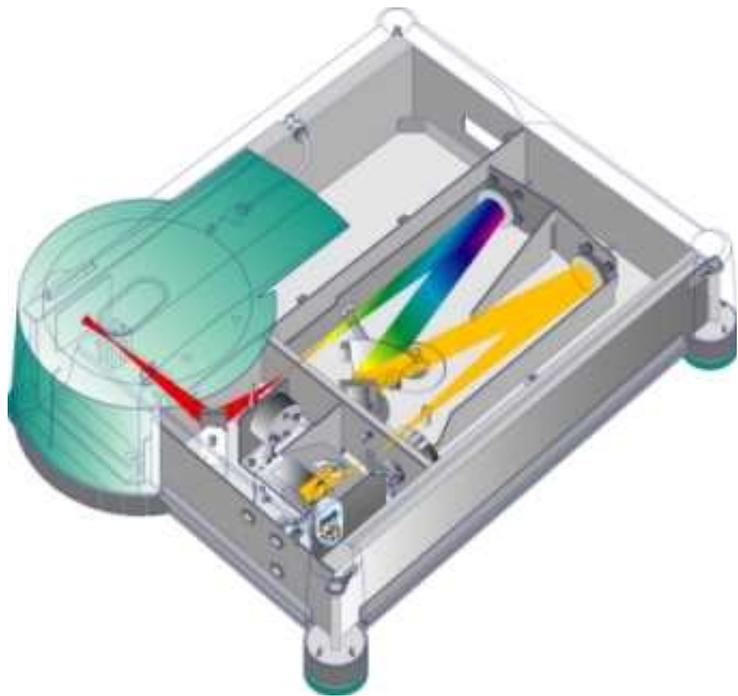
## 3) 6가 크롬

- $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  0.2828g을 DW 1L에 녹여 만든다(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  )
- 100ppm 용액을 희석해서 0.05, 0.1, 1.0 수준으로 standard를 만든다.

	mg/l	Arera
BL	0.0	0.0
STD1	0.05	124.71
STD2	0.1	243.42
STD3	1.0	2362.79

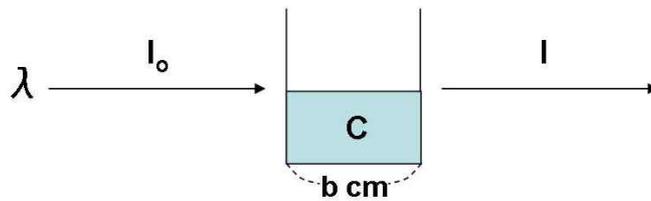
# 분광 광도계

(Ultra violet spectrometer, UV)



## 1. 원리

- ⊙ UV visible ⇒ 최외각전자의 변화 ⇒ Absorption
- ⊙ 즉, high energy → low energy로 변할 때 전자전이(transition)가 일어나며, 이 때 광의 흡수가 일어난다.
- ⊙ UV Visible → molecule의 out orbital transition  
Atomic Absorption Spectrometer → neutral atom의 out orbital transition
- ⊙ UV=200~300nm  
Vis=400~800nm



T : Transmittance ( $I_0 / I$ )

$I_0$  : Intensity of incident ray

I : Intensity of transmitted

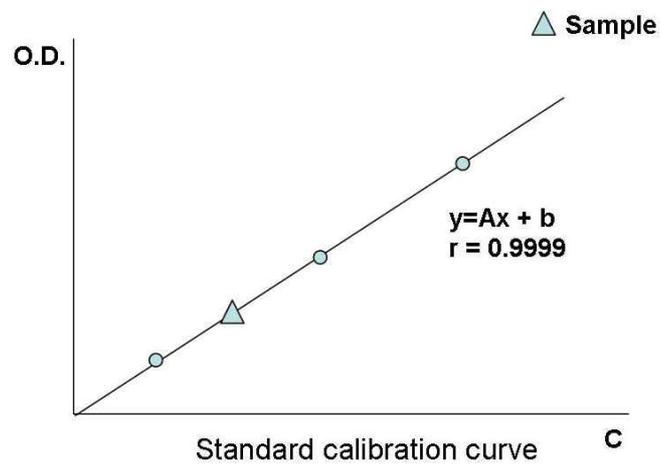
$$I/I_0 = e^{-abc}$$

$\log I_0/I = abc = A$  (Absorbance), Beer Lambert Law

$$A = \log 1/T = \log 100/T\% = 2 - \log T\%$$

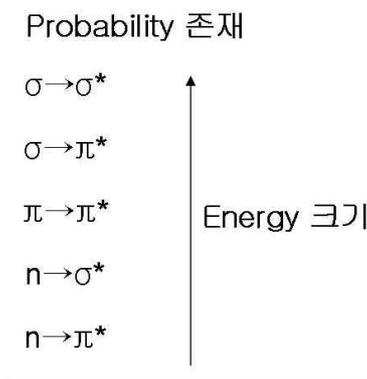
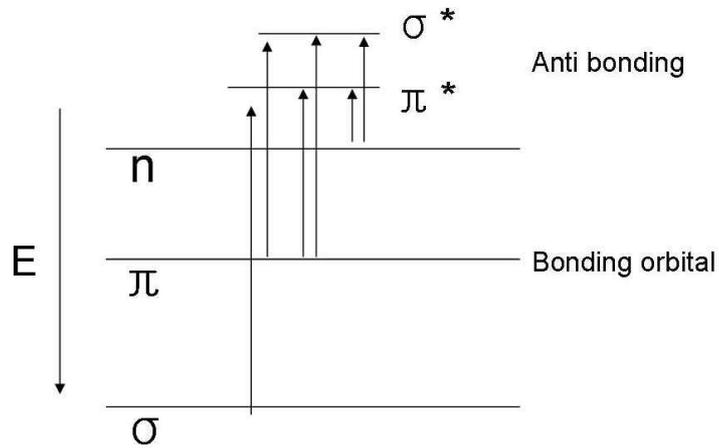
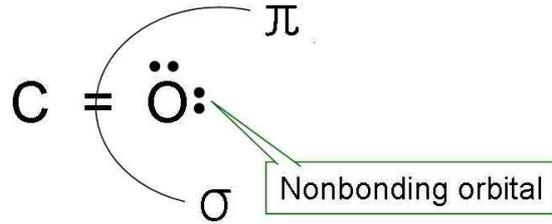
if  $b = \text{constant}$

$$A \propto C \quad (A = kC)$$



1) 정량분석(Quantitatively analysis)

◎ UV-Visible Absorption Spectra

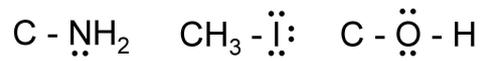


예)  $\sigma \rightarrow \sigma^*$   $\lambda$  : 100nm propane

$\sigma \rightarrow \pi^*$   $\lambda$  : 140nm C=Compounds,  $\pi$  bond

$\pi \rightarrow \pi^*$   $\lambda$  : 170nm ethylene, acetylene 등 double bond인 경우

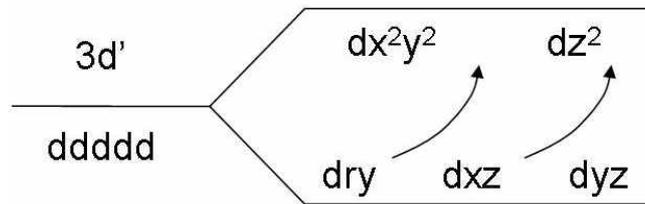
$n \rightarrow \sigma^*$   $\lambda$  : 170~250nm  $\text{NH}_2$ , O, S, Halogen 등



$n \rightarrow \pi^*$   $\lambda$  : 270nm이상,  $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$

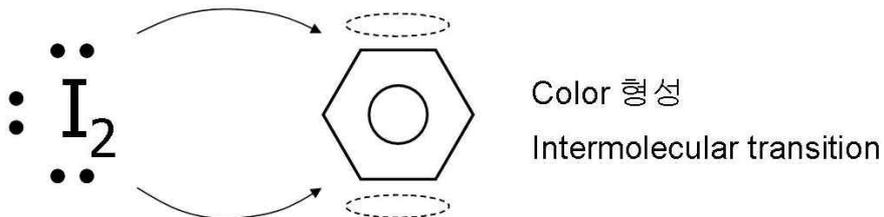
## 2) UV-Visible은 결국

- ⊙ 즉,  $n$ 과  $\pi$  electron을 갖는 compds이든지
- ⊙  $\pi$  electron을 가진 (단, acetylene, ethylene은 170nm여서 안되며, 만약에 conjugated system인 경우는 가능하다. ( $-\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}-$ ))
- ⊙ d electron (Metal complex)에서  $[\text{Ti}^{3+}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$  reddish blown color

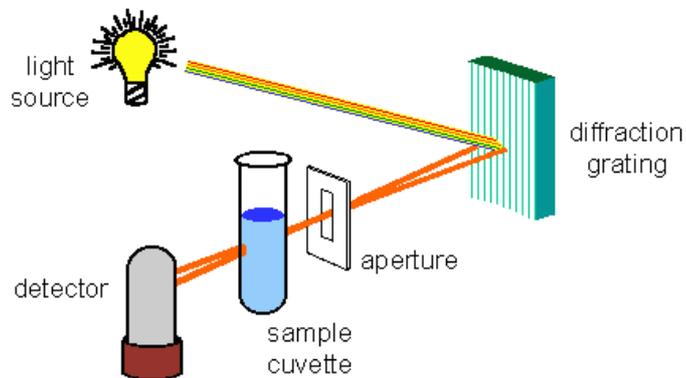


-  $\text{H}_2\text{O}$ 와 complex를 이뤄 2층 energy level를 형성하며 transition이 일어나 complex일 때 color를 띄게 된다.

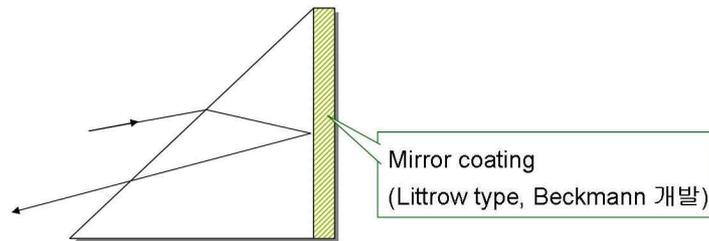
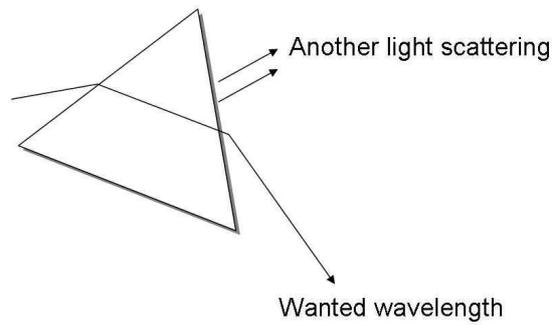
- ⊙ Charge transfer complex



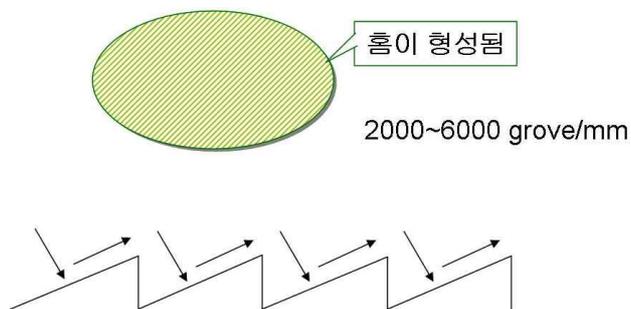
## 2. 기기구조 및 장치

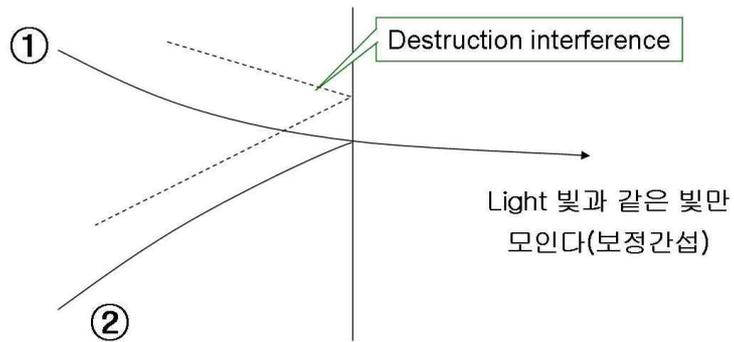


- ⊙ Light source : UV D2 Lamp (200~300nm)  
Visible : W Lamp (400~800nm)  
Near IR (800nm~2.5μm)
- ⊙ Monochromator : Filter type (Visible Colorimeter)  
프리즘 type : glass, quartz



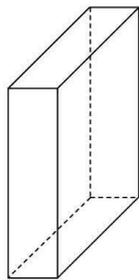
- ⊙ Grating type



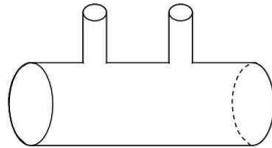


- ⊙ 분해능(Resolving Power)  
프리즘 or Grating 의 재질의 굴절률, 크기에 의해 결정
- ⊙ Cell의 종류  
Quartz : 200~800nm  
Pyrez or glass : 400~800nm(visible)  
UV light 흡수(Intensity가 높게 나온다)

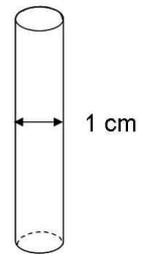
Thickness :



rectangular  
(1, 10, 20 mm)

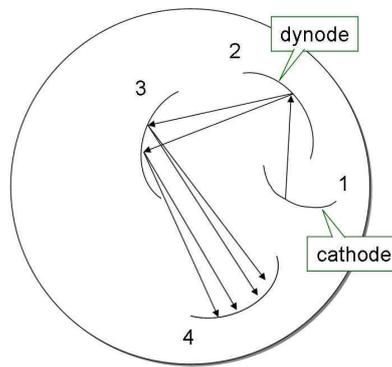
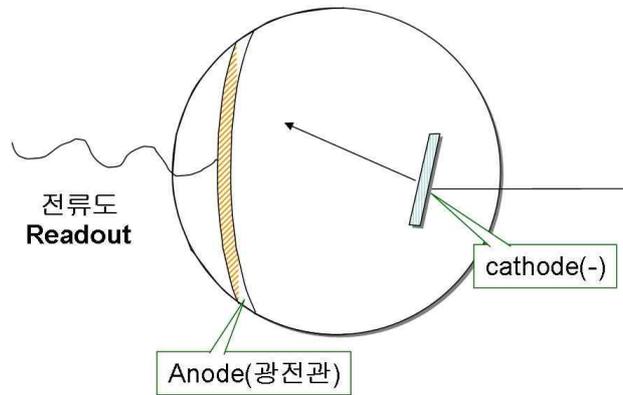


cylindrical  
(5, 10 cm)

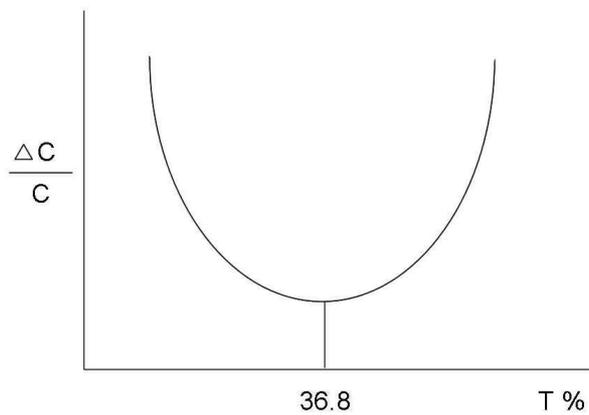


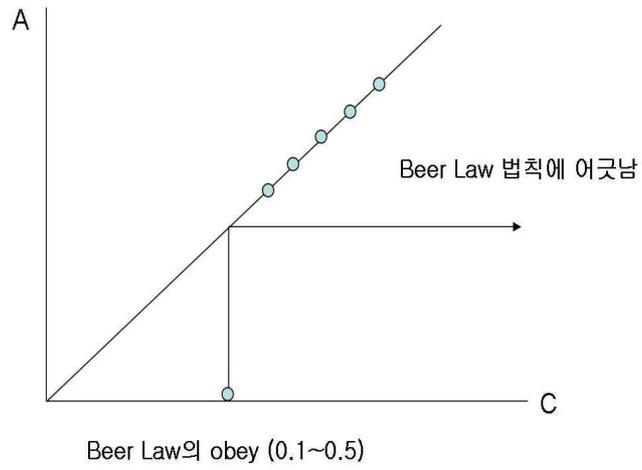
1 cm

- ⊙ 검출기(Detector)
  - Phototube 광전관(600nm이상 일 때 사용)
  - Photomultiplier tube(200~600nm)

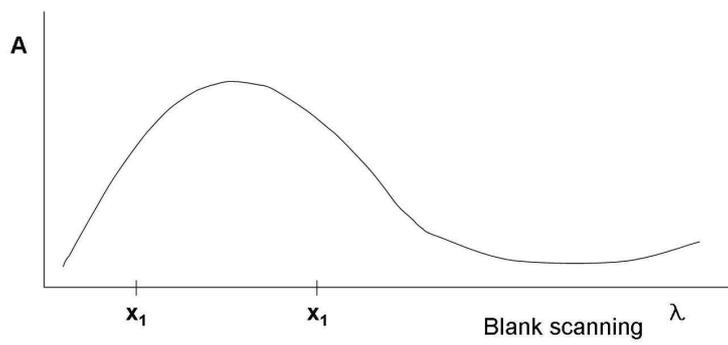
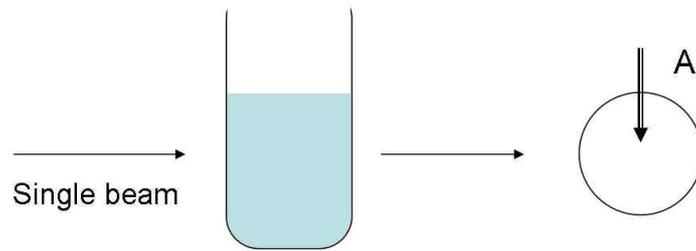


- 광전증독관 : 1개가 60~70 photoelectron으로 증폭된다.
- 주의 : power를 켜 상태에서 phototube나 photomultipliertube를 열지 않는다
- Photometric error  $\Delta P_o$
- relative analysis error  $\Delta C/C$
- $A = 2 - \log T\%$
- Photometric error가 1%라고 할 때, relative analysis error는  $T\% = 36.8$   
 $A = 0.4341$





- Conteneous Absorption Spectrometer  
Solvent  $A+B \rightarrow AB$   
 $A+O \rightarrow \text{Blankreferener}$ )



- 즉, 파장마다 Blank를 0으로 맞추고 Sample를 분석한다.

### 3. 분석 예 (황화수소, 시안)

#### 1) 황화수소 (Hydrogen Sulfide)

자외선-가시광선 분광광도계로 암모니아, 황화수소, 시안, 과산화수소, 페놀 등을 분석한다. 황화수소도 측정하되 표준용액과 전처리 과정이 다르다.

표준용액	제조법
흡수액	(Zinc sulfatd Hetahydrate 2.5g + DW = 250ml) + (Sodium Hydrozide 3g + DW = 150ml)+ (Ammonium sulfate 35g + DW) = 총 500ml
염화제이철용액	Ferric Chloride 0.5g + Sulfuric acid 0.527ml + DW = 50ml
아민황산용액	N,N-Dimethyl-p-pheny-lenediammonium Dichloride 0.05g + Sulfuric acid 13.158ml + DW = 50ml
Standard 제조	Sodium sulfide, 9-Hydrate, Crystal 0.7491g+ DW = 100ml STD1(0.25mg/l), STD(0.5mg/l), STD3(1.0mg/l) 농도로 제조

위의 표와 같이 표준용액을 만든 후, Standard와 시료, Blank를 각각 5ml씩 취한 후 아민황산 1ml, 염화제이철 0.5ml를 첨가하여 실온에서 30분간 방치한다. 분석 파장은 670nm로 조정해준 후 시료용기에 넣어 측정한다.

## 2) 시안 (Cyanides)

시안은 표준용액을 만들 때 산을 이용하기 때문에 주의가 따른다.

표준용액	제조법
흡수액	Sodium Hydroxide 4g + DW = 1L
초산	Acetic acid 100 ml + DW 800ml = 900ml
인산염 완충용액 (PH 6.8)	Potassium dihydrogenphosphate 3.40g + Sodium Phosphate, Dibasic Anhydrous 3.55g + DW = 1L
클로라민-T용액	Sodium p-toluenesulfon-chloramide trihydrate 0.3125g + DW = 25ml
피리딘-피라졸론 용액	① 3-methyl-1-phenyl-5-pyrazolone 0.25g + DW(75°C) = 100ml ② Bis(3-methyl-1-phenyl-5-pyrazolone) 0.002g + Pyridine 20ml ※ 주의 : 사용직전에 혼합해야함
Standard 제조	Potassium cyanide 2.6364g + DW = 1L STD 1(0.2mg/l), STD 2(0.6mg/l), STD 3(1.0mg/l) 농도로 제조

전처리는 Standard와 시료, Blank를 각각 5ml씩 취하고 초산 1ml, 인산염완충용액 1ml, 클로라민-T용액 250 $\mu$ l 첨가 후, 2~3분 방치한다. 피리딘-피라졸론 용액을 혼합하여 5ml씩 넣어주고 25°C에서 25~30분 방치시키고 570nm에서 농도 값을 측정한다. 이 외에도 암모니아, 과산화수소, 페놀등도 측정조건과 표준용액, 전처리만 다를 뿐 분광광도계로 측정이 가능하다.