

Sykam S 150 Plus Ion Chromatography

이온 크로마토그래피 사용 설명서

GUIDE TO SYKAM ION CHROMATOGRAPHY S 150 PLUS

Ver 1.6

APPLICATION NOTE ANI-01

서문

본 매뉴얼은 (주)아주과학에서 공급한 Sykam 사의 이온 크로마토그래피, Ion Chromatography S 150 및 S150 Plus 모델의 사용 방법 매뉴얼입니다.

사용자는 본 문서에서 지시하는 방법으로 장비를 조작해야 하며 언급된 안전 경고문을 반드시 숙지해야 합니다. 제조사 및 공급사는 지시하는 작동법이 아닌 다른 방법으로 작동하여 발생하는 결과에 대해 그 어떠한 책임도 지지 않습니다. 만일 장비 작동에 문제가 생긴다면 그 즉시 제조사 및 판매처에 문의해야 하며 사용자의 임의 수리 시도 및 장비 외관을 뜯는 행위에 대해 제조사 및 판매처는 그 어떠한 책임도 지지 않으며 해당 행위로 인해 발생한 장비에 대해 서비스 거부가 가능합니다.

장비의 사용 전 본 매뉴얼을 숙지하신 뒤 사용하시는 것을 강력하게 권장 드립니다. 본 매뉴얼은 예고 없이 변경될 수 있으며 본 문서는 발행 시점에 완전하고 정확한 것으로 가정합니다.

장비 사용 중 문제가 발생한 경우 반드시 하기 연락처로 연락해 문제를 해결해야 합니다.

이미 언급된 바, 장비에 발생한 문제에 대해 사용자가 임의로 해결을 시도하며 그 결과로 치명적 문제가 발생한 경우 (주)아주과학은 해당 문제에 대한 서비스를 거부할 수 있습니다.

Tel: +82 31 8086 0688

Mail.1: Info@ajoo.or.kr

Mail.2: Support@ajoo.or.kr

본 문서의 최신 버전은 우측 QR 코드에서 확인 가능합니다.



IC Manual

인사말

안녕하세요 아주과학입니다. 저희 (주)아주과학의 제품을 구매 및 이용해 주셔서 감사드립니다.

저희 (주)아주과학은 여러분에게 주기적인 세미나를 통해 교육을 진행하지만, 막상 교육을 듣고 시간이 지나면 해당 내용을 일부 잊어버릴 수도, 잘못 이해할 수도 있습니다.

이러한 상태에서 장비를 가동해야 한다면 사용자가 느낄 막연함은 기기분석을 해본 사람이라면 누구나 이해할 수 있는 상황과 감정입니다.

이러한 감정에서 최대한 여러분을 돕기 위해 본 문서는 최대한 여러분에게 쉽고 정확한 내용을 전달하기 위해 작성되었습니다.

또한 이온 크로마토그래피의 이론적 원리와 그에 따른 분석 원리 더 나아가 장비의 구조와 작동 원리는 부록 항목에 자세히 설명해 여러분의 이해를 돕고자 하였습니다.

부디 이 문서를 읽을 여러분에게 조금이나마 도움이 되고자 노력했습니다.

본 문서 내용과 장비에 대한 궁금하신 점이 있다는 것은 언제나 환영할 주제입니다. 단순히 분석 장비를 사용하는 것 보단 장비의 원리와 작동법 더 나아가 본 문서의 내용에 궁금점이 생기는 것은 그만큼 관심이 있다는 것을 의미하기 때문입니다.

궁금하신 점이 있다면 언제든지 저희 (주)아주과학에 문의 주시면 감사하겠습니다.

본 문서에서 사용되는 **안전 기호 및 안전 경고의 종류와 의미**는 다음과 같습니다.

해당 부분은 장비 혹은 사용자에게 치명적이며 복구 불가능한 손상을 입힐 수 있는 정보를 담고 있습니다.



해당 부분은 장비의 적합한 작동을 위한 내용을 담고 있습니다. 본 내용을 따르지 않을 경우 장비의 잘못된 작동 및 결과를 일으킬 수 있습니다.



해당 부분은 장비의 최적화를 통한 성능 향상 및 몇 가지 세부적 기술 및 작동 원리 이해를 돕는 내용을 담고 있습니다.



일반 안전 정보

장기적인 장비의 사용 및 화학 제품의 사용에 따른 장비 및 분석 결과에 대한 신뢰도와 사용자에게 존재할 수 있는 위험을 반드시 이해해야 합니다. 신체적 부상 및 손상을 방지하기 위해 사용자 및 관리자는 본 문서에서 언급할 모든 안전 정보를 준수할 책임이 있습니다. 이러한 안전 절차를 따르지 않아 발생할 수 있는 모든 잠재적 피해는 사용자에게 귀책 됩니다.

제조업체인 Sykam GmbH 및 공급업체 (주)아주과학은 잘못된 작동 및 유지보수, 매뉴얼 지침 미 준수, 설치 중 부주의로 인한 결함이나 손상에 대해 보증하지 않습니다.

1. 장비를 작동하기 전에, 반드시 매뉴얼을 숙지하십시오.
2. 주기적으로 장비 내외관 및 설치된 라인에서 새는 곳이 있는지 확인하십시오.
3. 장비의 작동은 항상 매뉴얼 혹은 엔지니어에 의한 지시 등 지정된 방법으로만 작동시키십시오.

사용 환경 안전 정보

1. 주변 환기가 잘 되는 곳에서 작동하십시오. 특히 휘발성, 인화성이 있는 용액을 사용할 경우 폐기물에 대한 대책이 필요합니다.
2. 가연성 및 독성 물질을 사용한 경우 그에 적합한 폐기물 규제를 반드시 따르십시오.
3. 장비에서 용액 유출 및 새는 곳이 발견되면 적절한 대응책을 통해 즉시 문제를 해결하십시오.

전기 안전 정보

1. 사용할 콘센트가 장비 사용에 적합한 전력을 공급할 수 있는지 확인하십시오.
2. 반드시 접지가 잘 된 환경에서 사용하십시오.
3. 퓨즈, 전선, 케이블 등 전기적 부품을 교체할 경우 반드시 전원차단기를 작동시키고 교체하십시오.

작동 환경 정보

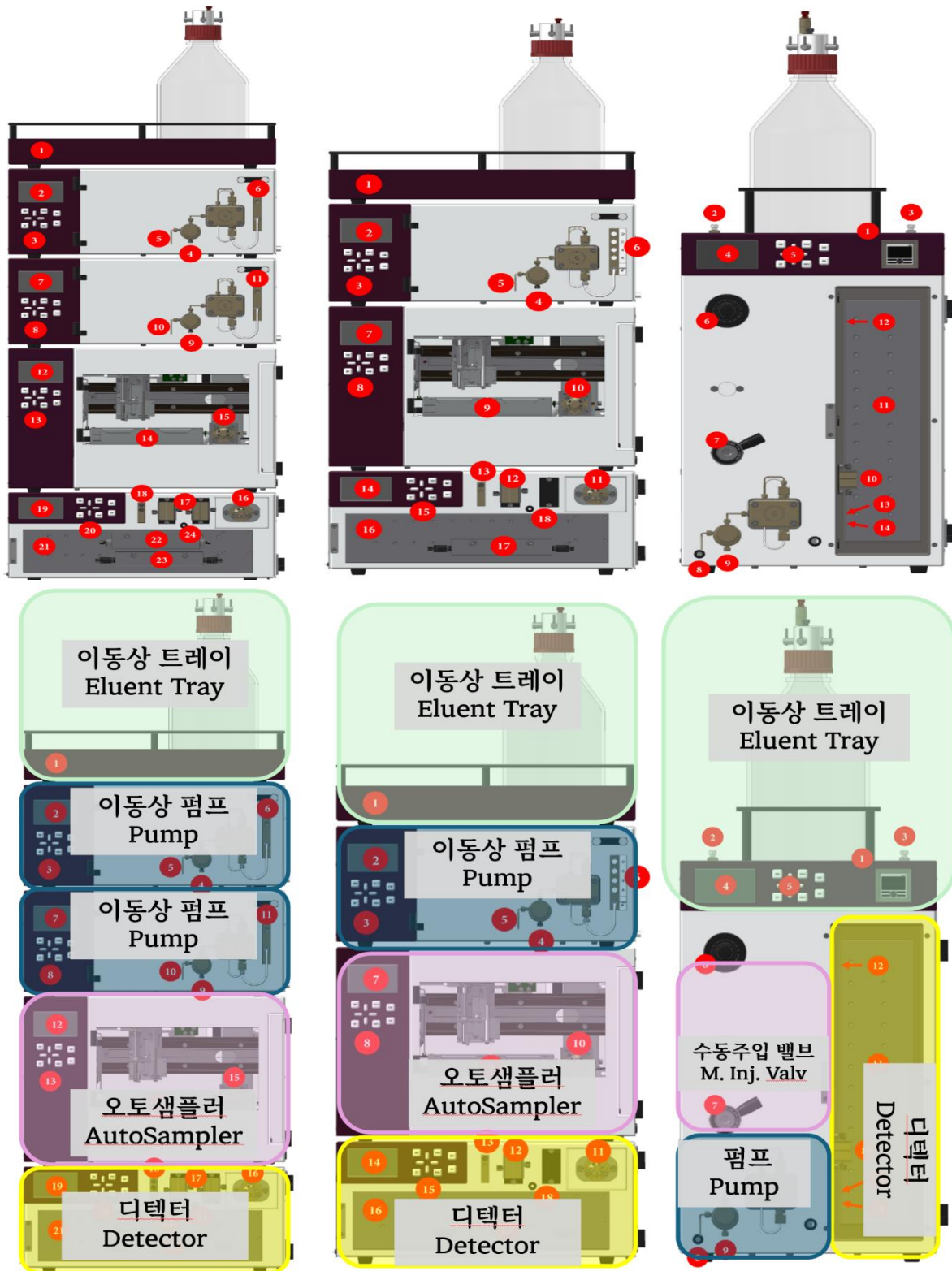
1. 장비는 항상 실내에 존재해야 하며 실내 온도는 섭씨 10 ~ 35도씨 이내여야 합니다.
2. 장기적인 사용과 적합한 환경을 위해 사용되는 모든 액체는 적합한 재질의 필터로 여과해야 합니다.
3. 사용되는 모든 화학 제품은 ACS Reagent 및 HPLC Grade 이상의 등급만을 사용해야 합니다.
4. 염(salt)을 포함하는 이동상을 사용한 경우 사용 후 장비를 증류수로 세척해야 합니다.
5. 장비에 사용되는 모든 물(증류수, 초순수, 3차 증류수 등)의 저항은 18.2 MOhm 이상이어야 합니다.
6. 가스 누출, 높은 습도, 강한 진동 및 급격한 온도 변화가 있는 경우 장비를 가동하지 마십시오.
7. 장비를 일주일 이상 사용하지 않는 경우, 반드시 물 혹은 장비 세척 용액(Cat. No.: 60 02 200) 을 사용하여 장비를 세척하십시오.
장비 세척의 경우, 우선 컬럼을 제거한 뒤 장비 전체를 물 혹은 장비 세척 용액으로 최소 30분 세척하십시오.

장비 세척에 그 어떠한 유기 용매도 사용하지 마십시오.
서프레스가 유기 용매에 장기적으로 노출될 경우 심각한 손상을 야기합니다.



1. 소개

Sykam IC S 150 시리즈의 모식도는 아래와 같습니다.



<그림 1. 좌측부터 S 153, S 151-A, S155-M>

Sykam IC는 모듈형 IC로써 사용자의 목적과 상황에 맞게 시스템 구성이 가능합니다.

장비의 구성은 크게 세단계로 나뉘며 오토샘플러 유무 및 음, 양이온 동시 분석 유무로 나뉩니다.

S 150과 S150 Plus의 차이점은 S150의 경우 화학 서프레서(Chemical Suppressor)가 사용되며

S 150 Plus(+)는 전기화학 서프레서(Electrochemical Suppressor)가 장착됩니다.

화학 서프레서의 경우 이온 교환 용매를 통한 서프레션이 이뤄지며 전기화학 서프레서의 경우 물의 전기분해를 통해 서프레션이 이뤄집니다. 보다 자세한 작동 원리 및 구조는 부록을 참고하세요.

S 151, S 152, S 153은 같은 펌프, 오토샘플러, 디텍터 모듈을 공유합니다.

S 155의 경우 콤팩트 IC 형태로 제조됐으며 작동 원리는 동일합니다.

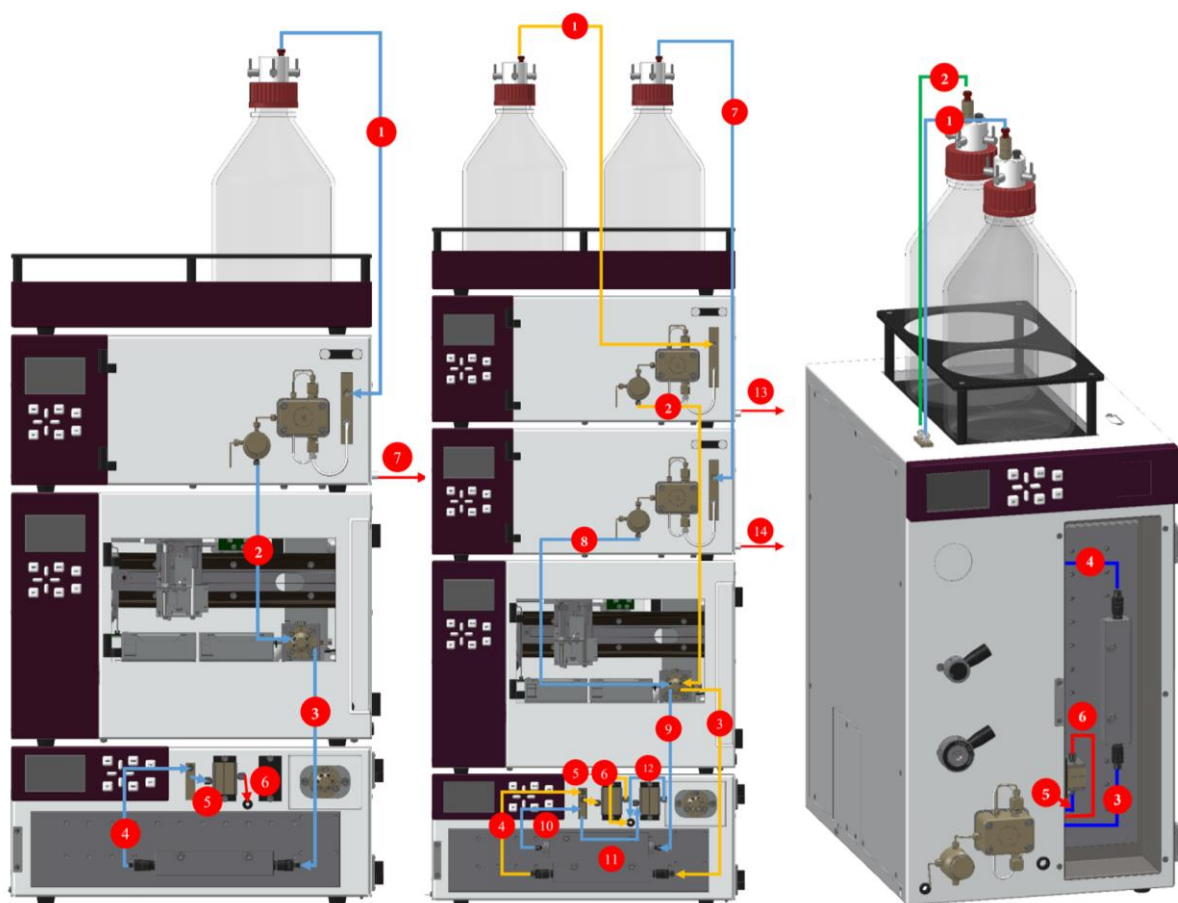
S 151 과 S 152는 같은 구조를 가집니다. 단, 검출하는 이온의 종류가 S 151의 경우 음이온, S 152의 경우 양이온이며 서프레서의 유무 혹은 종류에 따라 결정됩니다.

S 153의 경우 음이온 및 양이온 동시 분석을 위한 장비입니다.

S 153의 경우 음이온 서프레서만 장착되며 S13 Plus의 경우 양이온 서프레서 장착을 선택할 수 있습니다. 양이온 서프레서는 보다 뛰어난 감도를 제공합니다.

이러한 골자를 기반으로, 장비 명에 붙는 알파벳 기호는 다음과 같은 의미를 가집니다.

기호	뜻	예시
M	수동 주입(Manual Injection)	S 151-M, S 152 M
A	자동 주입(Auto sampling)	S 152-A, S151-A Plus
G	그래디언트 펌프(Gradient)	S 151-AG, S152- G plus
Plus(+)	전기 화학 서프레서 유무	S 151-AG Plus



#	Description
1	From bottle A to gradient pump Port A Capillary: FEP 1.58 mm ID Fitting: 1/8 TFM + Ferrule
2	From purge valve of gradient pump outlet to port 3 of autosampler injection valve Capillary: PEEK 0.25 mm Fitting: 1/8 PEEK + Ferrule
3	From port 2 of autosampler injection valve to column (inside conductivity detector S150+) Capillary: FEP 0.2 mm ID Fitting: 1/8 PEEK + Ferrule
4	From column to suppressor inlet Capillary: PEEK 0.25 mm Fitting: 1/8 PEEK + Ferrule
5	From suppressor outlet to conductivity flow cell
6	From conductivity flow cell to drain guideway
7	Drain of pump

#	Description
1	From bottle A to anion gradient pump port Capillary: FEP 1.58 mm ID Fitting: 1/8 TFM + Ferrule
2	From purge valve of anion gradient pump outlet to port 3 of autosampler injection valve Capillary: PEEK 0.25 mm Fitting: 1/8 PEEK + Ferrule
3	From port 2 of autosampler injection valve to anion column Capillary: FEP 0.2 mm ID Fitting: 1/8 PEEK+ Ferrule
4	From anion column to suppressor inlet 1 Capillary: FEP 0.2 mm ID Fitting: 1/8 PEEK fingertight
5	From suppressor outlet 1 to anion conductivity flow cell
6	From anion conductivity flow cell to drain guideway
7	From bottle B to cation isocratic pump port Capillary: FEP 1.58 mm ID Fitting: 1/8 TFM + Ferrule
8	From purge valve of cation isocratic pump outlet to port 7 of autosampler injection valve Capillary: PEEK 0.25 mm Fitting: 1/8 PEEK+ Ferrule
9	From port 8 of autosampler injection valve to cation column Capillary: FEP 0.2 mm ID Fitting: 1/8 PEEK+ Ferrule
10	From cation column to suppressor inlet 2 Capillary: FEP 0.2 mm ID Fitting: 1/8 PEEK fingertight
11	From suppressor outlet 2 to cation conductivity flow cell
12	From cation conductivity flow cell to drain guideway
13	Drain of (anion) gradient pump
14	Drain of (cation) isocratic pump

#	Description
1	From bottle 1 to buffer 1 inlet Capillary: FEP 1.58 mm ID Fitting: 1/8 TFM + Ferrule
2	From bottle 2 to buffer 2 inlet Capillary: FEP 1.58 mm ID Fitting: 1/8 TFM + Ferrule
3	From manual injection valve to column
4	From column to suppressor Capillary: FEP 0.2 mm ID Fitting: 1/8 PEEK fingertight
5	From suppressor to conductivity flow cell
6	From conductivity flow cell to suppressor/drain

장비의 설치 및 라인 연결(Capillary connections, Tubing)은 Sykam GmbH에서 공인한 서비스 엔지니어에 의해 수행되어야 합니다. 부득이하게 라인의 단락 혹은 막힘 등에 의해 라인을 교체해야 하는 경우 그 교체 범위를 최소한으로 줄이며 동일한 내경 및 재질을 사용해야 합니다.

각 연결 라인별 적합한 재질과 내경 및 외경은 표를 참고하여 연결합니다.

이동상이 지나가는 모든 라인의 재질은 플라스틱으로 구성되어야 합니다. 이동상으로 산을 사용하기에 스테인리스강(SUS)은 장기적인 전이금속 누출과 그에 따른 오염을 야기할 수 있습니다.



컬럼 이후의 모든 라인은 반드시 내경이 0.2 mm 이하여야 합니다. 너무 작은 내경(e.g. 0.16 mm)은 높은 배압을 유발하며 너무 큰 내경은 피크 퍼짐을 유발합니다.



만약 UV/Vis, LED 등의 추가 디텍터가 장착되는 경우 반드시 디텍터는 서프레스를 지나기 전에 연결되어야 합니다. 서프레스를 지난 후 라인에서는 항상 3 bar 이하의 압력이 걸려야 하며 이 이상의 압력은 서프레스에 비 가역적인 손상을 줄 수 있습니다.

2. 초순수 및 이동상 준비

분석 준비에서 가장 중요한 것은 적합하게 제조된 이동상입니다.

분석에 사용될 이동상은 항상 적합한 종류와 농도로 제조된 이동상을 사용해야 합니다.

제조에 사용되는 물은 반드시 탈 이온수 혹은 3차 증류수(> 18.2 MΩ 또는 1 <uS/cm)를 사용해야 하며 모든 화학제품은 HPLC grade 혹은 ACS Reagent 등급 이상이어야 합니다.

분석하기 전에 이동상을 제조하는 것을 원칙으로 하며 제조된 이동상은 사용 전에 0.45 um의 PES 혹은 RC(Regenerated Cellulose) 재질의 멤브레인 필터로 여과돼야 합니다.

만일 이러한 제조 환경 혹은 여건이 되지 않는다면 이동상 농축액 혹은 이동상 원액을 구매하여 사용하는 것을 권장합니다.

품질이 보장되지 않는 화학제품의 사용은 잠재적인 분석 신뢰도의 하락 및 오작동의 원인이 됩니다.



여과되지 않은 용액을 사용할 경우 미립자들의 점진적으로 컬럼 입구에 쌓여 높은 압력을 유발할 수 있습니다.



세척 용매는 오토샘플러의 주입 라인을 세척하는 역할을 하며 오토샘플러 뒷면의 “Wash” 포트와 연결돼 있습니다. 일반적으로 장비 우측에 위치한 “Washing Solution”으로 표기된 유리병입니다.

세척 용매는 최소 주1회 주기적으로 신선한 증류수로 교체돼야 합니다.

동시에 오토샘플러 드레인(Drain) 혹은 웨이스트(Waste)의 용액을 비워줍니다.

세척 용매와 드레인을 장시간 교체하지 않을 경우 박테리아 등의 미생물 번식이 발생할 수 있으며 이는 라인 교체의 원인이 됩니다.



3. 펌프 퍼징

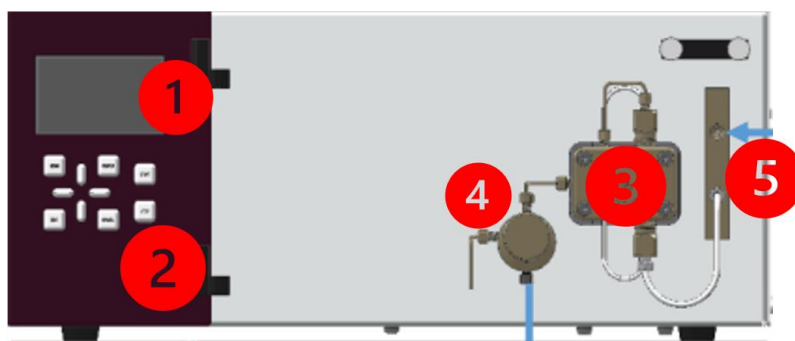
초순수, 이동상 그리고 오토샘플러 세척 용매(Autosampler Washing Solution)을 준비했다면 이제 장비의 안정화가 필요합니다. 장비의 안정화는 크게 다음과 같은 순서를 거칩니다.

- ① 펌프 퍼징(Purging; Priming)
 - 이동상 라인 내의 기포 제거 작업
- ② 오토샘플러 워시(Autosampler Wash)
 - 오토샘플러 라인 세척
- ③ 컬럼, 컬럼 오븐 및 서프레서 안정화
 - 컬럼, 장비, 이동상을 평형 상태로 맞추는 안정화 작업

펌프 퍼징은 이동상이 지나는 라인 내에 모든 기포를 제거하는 과정입니다.

일반적인 HPLC 펌프에 사용되는 피스톤 펌프의 경우 펌프 내에 기포가 존재한다면 기포에 의해 피스톤이 헛돌게 됩니다. 따라서 반드시 펌프 라인 및 이동상 전체 라인에 기포를 제거하는 퍼징 작업은 반드시 진행돼야 합니다.

펌프의 구조 및 명칭은 다음과 같습니다.



번호	이름
1	디스플레이
2	키보드
3	펌프 헤드
4	드레인 밸브
5	이동상 라인

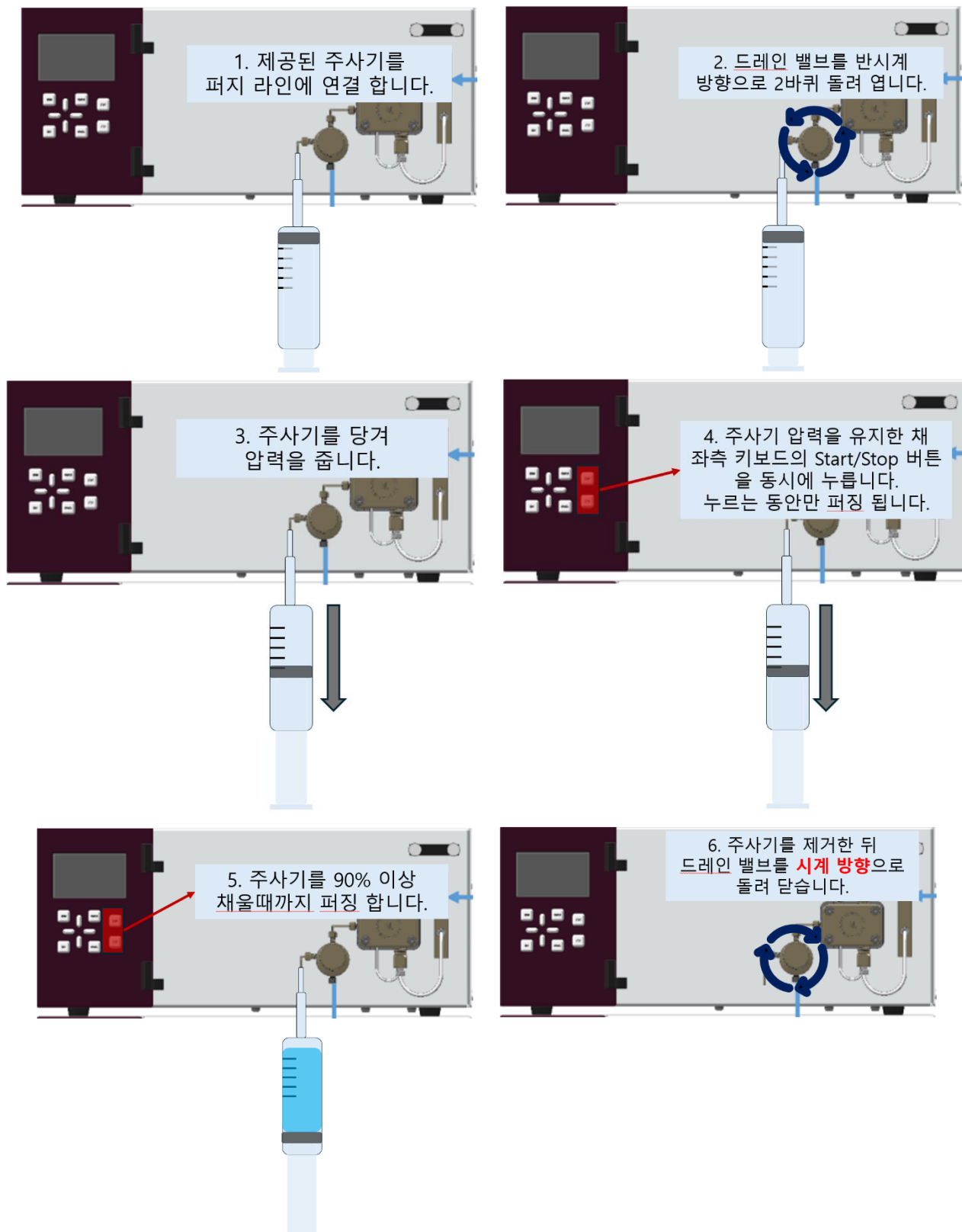
퍼징 방법은 크게 두가지로 나뉩니다. 장비 자체 키보드와 모니터를 이용한 방법과 소프트웨어 상의 컨트롤을 이용하는 방법이 존재합니다.

먼저 펌프 퍼징과 이후 안정화를 위해 세척된 유리병에 초순수를 400 ml 정도 채운 뒤 라인에 연결합니다.

펌프 퍼징은 다음과 같이 가능합니다.

3.1. 장비 키보드를 이용한 퍼징

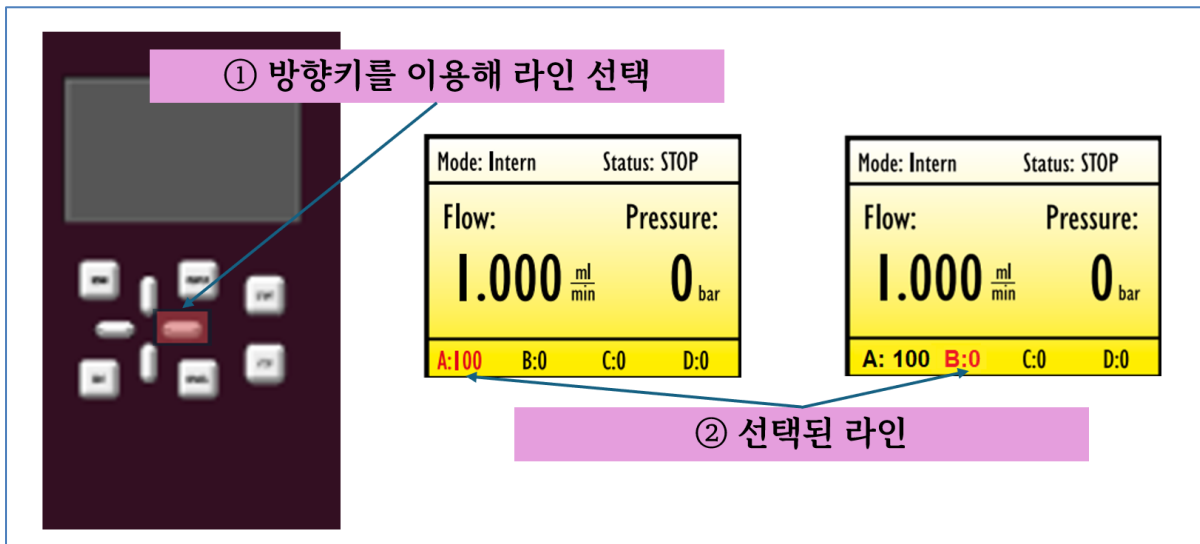
장비의 키보드를 이용한 퍼징 방법은 다음과 같습니다.



만약 그래디언트를 위해 두 개 이상의 라인을 사용하는 경우 반드시 사용할 모든 라인을 퍼징해야 합니다. 장비의 디스플레이 상에서 선택된 라인은 빨간색으로 표시됩니다.

기본적으로 선택된 라인은 A 라인이며 이상태에서 스타트/스탑 버튼을 동시에 눌러 퍼징이 끝났다면 장비의 오른쪽 방향키를 눌러 선택된 라인을 B로 교체합니다.

B 라인이 선택돼 빨간색 표시가 된다면 이후 다시 스타트/스탑 버튼을 동시에 눌러 퍼징을 진행합니다.



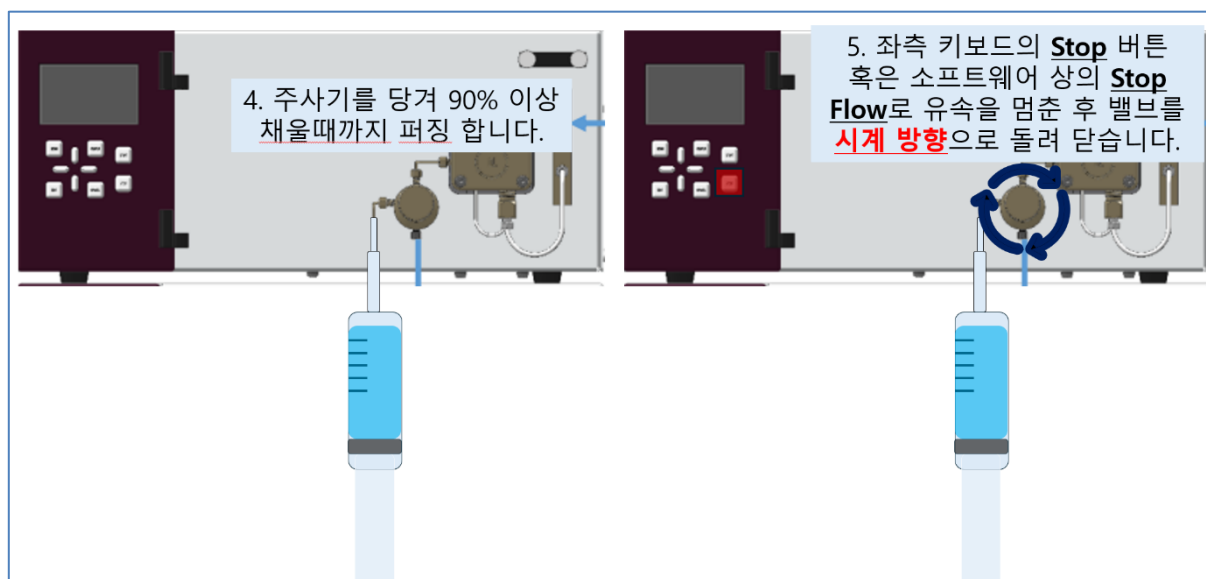
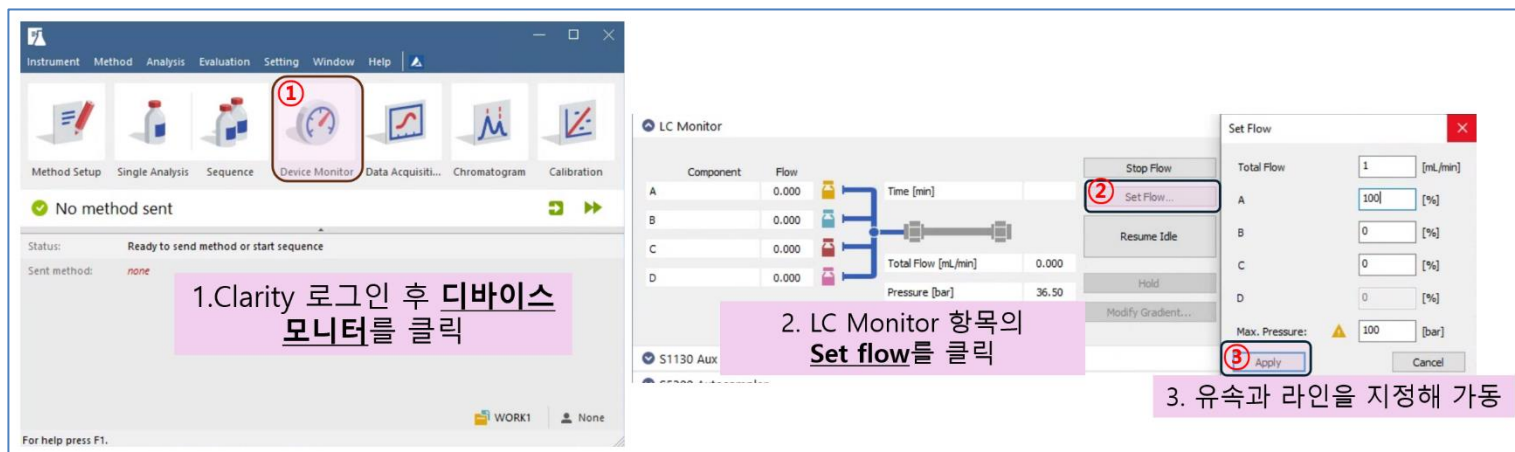
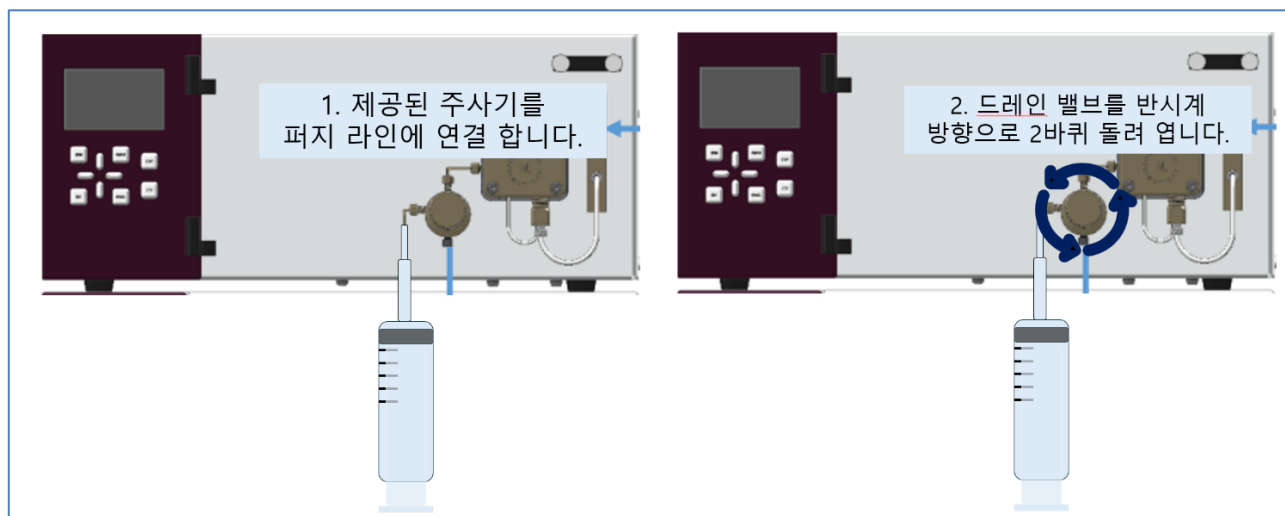
드레인 밸브를 열지 않고 퍼징을 할 경우 그 즉시 컬럼과 서프레서에 비 가역적인 손상을 줍니다.
반드시 밸브를 연 뒤 퍼징을 진행합니다.



3.2. 소프트웨어를 이용한 퍼징

Clarity 소프트웨어의 Device Monitor에서 동일하게 퍼징을 진행할 수 있습니다.

이 경우 퍼징 유속을 정할 수 있어 비교적 안전한 방법입니다.



10 ml 이상의 충분한 퍼징이 됐다면 이제 라인 내의 기포는 대부분 제거가 된 상태입니다.

남아있을 수 있는 소량의 기포는 장비 내의 진공 탈기 장치(Vacuum Degasser)에 의해 제거됩니다.

만약 S 153 Dual 장비를 사용하는 경우 나머지 펌프도 동일한 방법으로 퍼징합니다.

이때 소프트웨어 상에선 보조 펌프(Auxiliary Pump)로 등록돼 있으며 컨트롤은 아래와 같습니다.

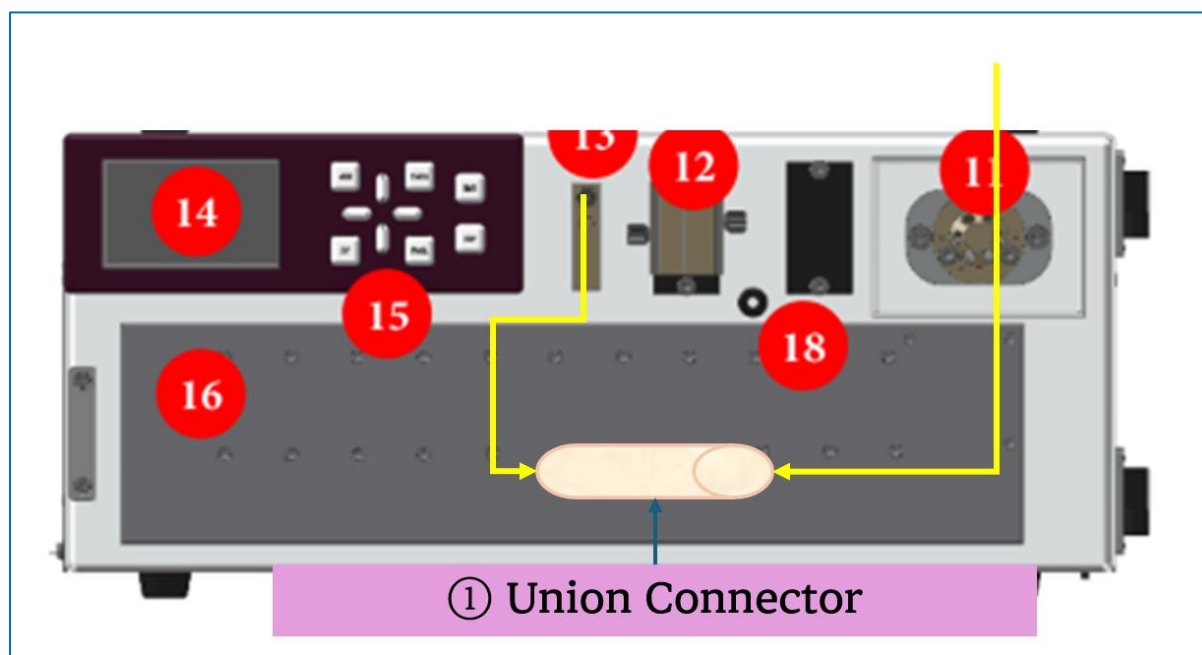


4. 전기 화학 서프레서 안정화

Chemical Suppressor를 사용하는 S150 장비를 사용 중이거나 장비를 일주일 이내 간격으로 지속적으로 사용했다면 본 항목은 진행하지 않고 [5. 컬럼 및 시스템 안정화](#)로 넘어갑니다.

서프레서가 일주일 이상 가동되지 않았다면 서프레서는 수화(hydration)를 통한 안정화가 필요합니다. 만약 적합한 안정화 과정 없이 사용된다면 이는 서프레서의 수명 단축과 오작동을 야기할 수 있습니다.

먼저 연결된 컬럼을 유니온 커넥터(S003063)로 교체합니다.



유니온으로 교체했다면 서프레서 안정화 과정은 다음과 같습니다.

안정화 과정 중 반드시 서프레서 전류는 0으로 고정돼야 합니다.

1. 유속을 0.3 ml/min으로 설정한 뒤 15분간 흘려줍니다.
*이때 압력은 6 bar 이하로 걸려야 합니다.
2. 펌프를 중단하고 30분간 서프레서를 방치합니다.
*이때 6시간 이상 방치했다면 처음부터 다시 진행합니다.
3. 이동상으로 교체 후 유속을 0.5 ml/min으로 다시 펌프를 가동합니다.
4. 5분 간격으로 0.2 ml/min씩 유속을 올려 1 ml/min까지 유속을 올립니다.
*이때 최종 압력은 12 bar 이하여야 합니다.

5. 컬럼 및 시스템 안정화

서프레스 안정화 작업이 끝났다면 사용한 유니온 커넥터를 다시 분석에 사용할 컬럼으로 교체합니다. 컬럼으로 교체한 뒤 분석에 사용되는 유속의 20%, 예를 들어 분석시 1 ml/min의 유속을 사용하는 경우 0.2 ml/min의 유속으로 펌프를 가동합니다. 이후 컬럼 오븐의 온도를 적합한 온도로 설정합니다.

The screenshot shows the 'LC Monitor' window. On the left, a table lists components A, B, C, and D with their respective flow rates (1.000, 0.000, 0.000, 0.000). In the center, a diagram shows four colored bottles (yellow, blue, red, purple) connected to a single line that leads to a valve. To the right of the valve, a box displays 'Total Flow [mL/min]' as 1.000 and 'Pressure [bar]' as 36.30. Further right, there are buttons for 'Stop Flow', 'Set Flow...', 'Resume Idle', 'Hold', and 'Modify Gradient...'. Two pink callout boxes with arrows point to the flow rate and pressure values, containing the text: '1. 유속과 압력을 확인' and '1. 정상 범위의 압력인지 2. 압력이 일정하게 유지되는지'.

The screenshot shows the 'S150 Thermostat 1 (SN 030523)' window. At the top, it shows 'Temperature: 60.03 / - °C' and buttons for 'Start Oven' and 'Stop Oven'. Below this, a 'Set Temp' dialog box is open, showing 'Temperature: 60 °C' and buttons for 'OK' and 'Cancel'. To the right of the dialog, another box shows 'Temperature: 59.29 / 60.0 °C'. Three pink callout boxes with arrows indicate the steps: '①. “Start Oven” 클릭' (pointing to the Start Oven button), '②. 적합한 온도값을 설정' (pointing to the Set Temp dialog), and '③. 오븐이 가열되는지 확인' (pointing to the temperature display on the right).

펌프의 유속을 설정한 뒤 반드시 압력이 정상 범위로 걸리는지 또한 압력이 일정하게 걸리는지 확인해야 합니다. 30 ~ 70 bar 사이의 압력구간은 보통 1bar 이내의 흔들림이, 100 bar 이상의 경우 2bar 이내의 흔들림이 허용 범위입니다. 만약 충분한 펌프 퍼징 이후에도 압력이 큰 폭으로 흔들리는 경우 “9. 트러블 슈팅” 항목을 참고해 체크 밸브를 세척합니다. 컬럼 오븐이 작동하지 않거나 작동 초반에는 온도가 충분히 상승하지 않아 비교적 높은 압력이 걸릴 수 있습니다. 이는 오븐 온도가 점차 안정화됨에 따라 자연스럽게 정상 범위로 압력이 떨어집니다.

정상 범위의 압력의 경우 사용하는 컬럼과 시스템 설정에 따라 달라집니다.

대략적인 정상 범위의 압력은 아래 표와 같습니다.

※ 가드 컬럼을 사용하는 경우 압력은 10~15 % 정도 증가할 수 있습니다.

컬럼	유속(ml/min)	온도(°C)	압력 범위(bar)	허용 온도(°C)
Sykam A01	1.000	60	30 ~ 40	30 ~ 60
Sykam A07	1.000	60	30 ~ 40	30 ~ 60
Sykam A07	1.000	35	40 ~ 50	30 ~ 60
Sykam A04	0.800	45	100 ~ 110	30 ~ 55
Sykam A05	0.700	45	90 ~ 110	30 ~ 55
Sykam C01	1.000	35	45 ~ 60	30 ~ 50
Sykam C02	1.000	35	70 ~ 110	30 ~ 50
Sykam C06	1.000	35	30 ~ 45	30 ~ 60
Sykam C07	1.000	35	70 ~ 80	30 ~ 60

이 외의 다른 컬럼을 사용하는 경우 해당 컬럼 구매시 제공된 컬럼 보증서를 통해 확인합니다.

압력이 정상적이지 않는 경우 다음과 같은 원인이 조치가 가능합니다.

1. 압력이 낮은 경우

원인: 기계 및 연결된 라인에서 새는 곳(leakage)이 있거나 퍼징이 덜 됨

조치: 퍼징을 다시한 후 새는 곳이 있는지 점검

2. 압력이 일정하지 않은 경우(흔들림 폭이 큰 경우)

원인: 기계 및 연결된 라인에서 새는 곳이 있거나 퍼징이 덜 됨

원인: 체크밸브 상태 이상

조치: 부록 확인 후 체크밸브 세척

3. 압력이 높은 경우

원인: 가드컬럼 및 분리컬럼의 손상

조치: 가드컬럼 제거 후 압력이 정상적인지 확인

조치: 분리컬럼의 연결을 반대로 한 후 기존 유속의 절반으로 10분간 세척

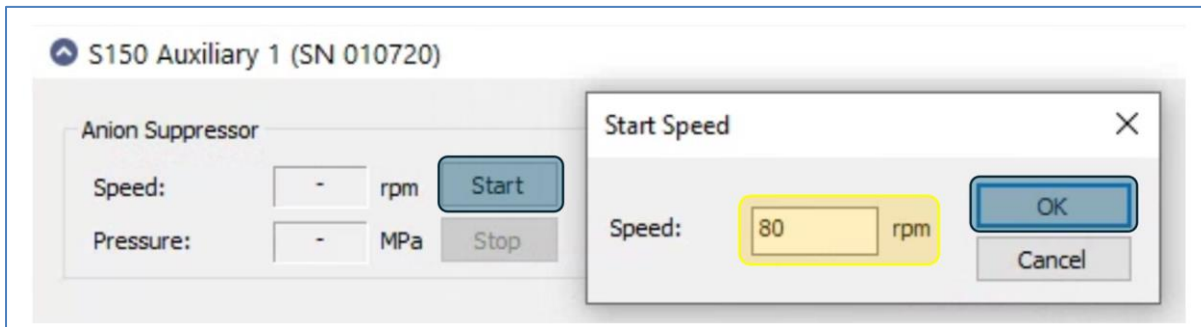
보다 자세한 문제해결(트러블슈팅)의 경우 부록을 참고하여 대처합니다.

펌프 퍼징과 압력이 정상적으로 걸리는 것을 확인했다면 이제 검출기 뒷면의 폐액 라인에서 정상적으로 폐액이 배출되는지 확인합니다. 일정한 폐액 배출을 확인했다면 Device Monitor에서 서프레스를 가동합니다.

서프레스는 장비 종류에 따라 크게 두가지 타입으로 나뉘는데, 화학 서프레스와 전기화학 서프레스로 나뉩니다. 각 서프레스의 가동은 모두 Clarity의 Device Monitor에서 가능합니다.

“Device Monitor”에서 하단의 S150 혹은 S3120 Auxiliary탭을 확인합니다.

화학 서프레스는 아래와 같은 창이 나옵니다.



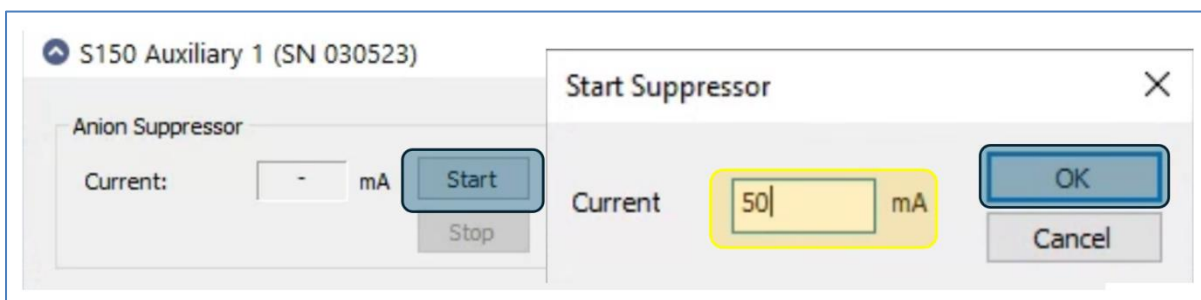
기존에 사용하던 rpm 값을 입력한 뒤 “OK” 버튼을 누릅니다. 일반적으로 80(4000)을 사용합니다.

서프레스를 가동하면 즉시 서프레스 펌프가 가동하는 소리가 나며 압력이 표시됩니다.

이때 압력은 반드시 750 mbar(0.075 MPa) 이하여야 합니다.

전기화학 서프레스는 아래와 같은 창이 나옵니다.

Speed와 압력이 나오는 화학 서프레스와는 달리 전류값을 설정할 수 있습니다.



적절한 전류값은 이동상 종류와 유속에 의해 결정됩니다.

세부적인 전류값 계산 및 공식은 부록을 참조하여 진행하며 일반적으로 사용되는 전류 값은 다음 표를 참고합니다. 만약 장비를 1주일 이상 장기간 사용하지 않았다면 안정화 전류를 50~100% 정도 높혀 안정화 속도를 빠르게 할 수 있습니다. 다음은 일반적으로 적용되는 전류값 공식 입니다.

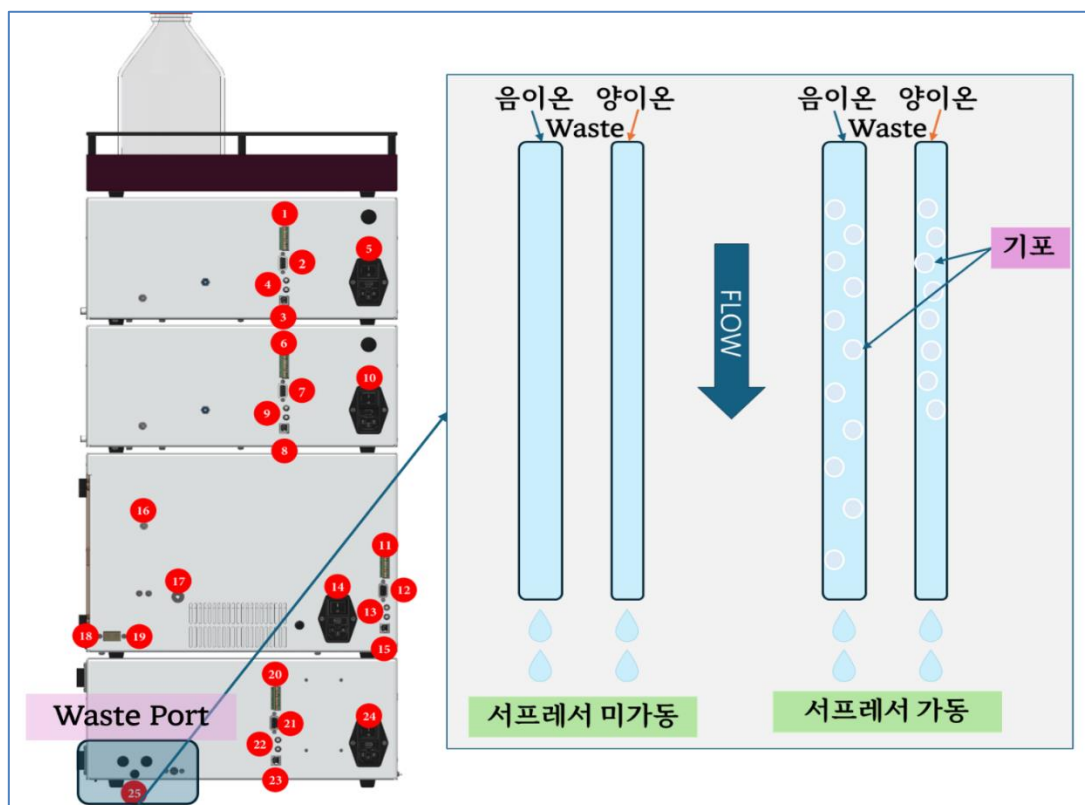
이동상 종류	서프레서 전류값(mA)
Carbonate	[이동상 농도] x [유속] x 6 + 15
Hydroixde	[이동상 농도] x [유속] x 4 + 10
MSA	[이동상 농도] x [유속] x 3 + 10

다음은 일반적인 상황에서의 적정 전류값입니다.

컬럼	이동상 종류	이동상농 (mM)	유속(ml/min)	전류값(mA)
Sykam A07	탄산염	4	1.000	40
Sykam A05	탄산염	3.6	0.700	25
Sykam C06	메탄술폰산	5	1.000	20

서프레서의 빠른 안정화 혹은 상황에 맞게 적정 전류값에서 20% 정도 전류를 높게 설정할 수 있습니다.

다만 과도하게 높은 전류는 서프레서 및 시스템의 비정상적인 작동과 피해를 줄 수 있습니다.



사용하는 이동상과 유속에 적합한 전류값을 설정한 뒤 “OK” 버튼을 눌러 서프레서를 가동합니다.

전류를 설정하면 3분 이내로 폐액 라인에서 기포가 보여야 합니다.

만약 3분 이내로 기포가 보이지 않는 경우 즉시 서프레서 가동을 중단하고 문제 원인을 찾습니다.

서프레서 가동 후 정상적으로 검출기의 전도도 값이 떨어지는지 확인합니다.

서프레스를 가동한 뒤 폐액 라인(Waste Line)에서 일정하게 기포가 나오는 것을 확인했다면 최소 1시간 이상 충분히 놔둬 안정화를 진행합니다.
안정화가 어느정도 진행됐는지는 다음과 같은 방법으로 판단합니다.

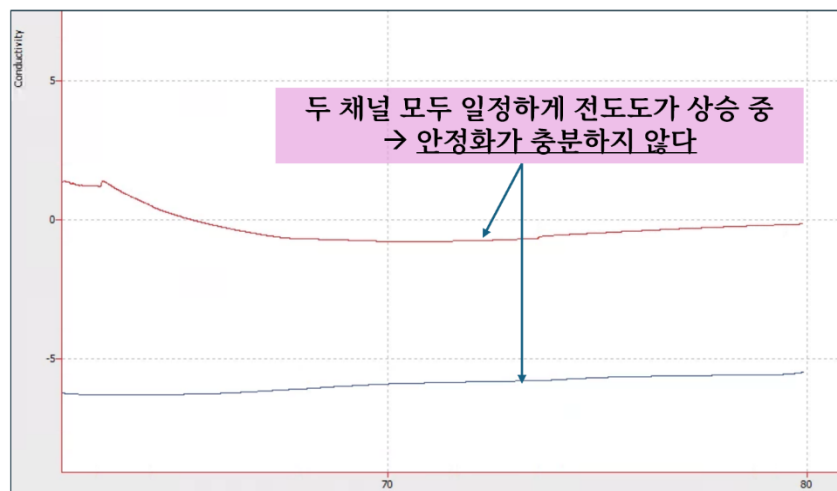
1. 전도도 값이 허용 범위인지
2. 전도도 베이스라인이 일정하게 유지되는지

전도도 허용 범위는 다음 표를 참고하여 결정합니다.

컬럼	이동상 종류	이동상농 (mM)	서프레스 유무	허용 범위
Sykam A07	탄산염	4	YES	20 ~ 30 uS/cm
Sykam A04	탄산염	3.6	YES	13 ~ 20 uS/cm
Sykam A05	탄산염	3.2	YES	13 ~ 20 uS/cm
Sykam C01	MSA+Oxalate	1.5 Mixed	No	700 ~ 880 uS/cm
Sykam C06	메탄술폰산	5	YES	< 1.00 uS/cm
Sykam C07	메탄술폰산	5	YES	< 1.00 uS/cm
Sykam C07	메탄술폰산	5	No	1.4~ 1.8 mS/cm

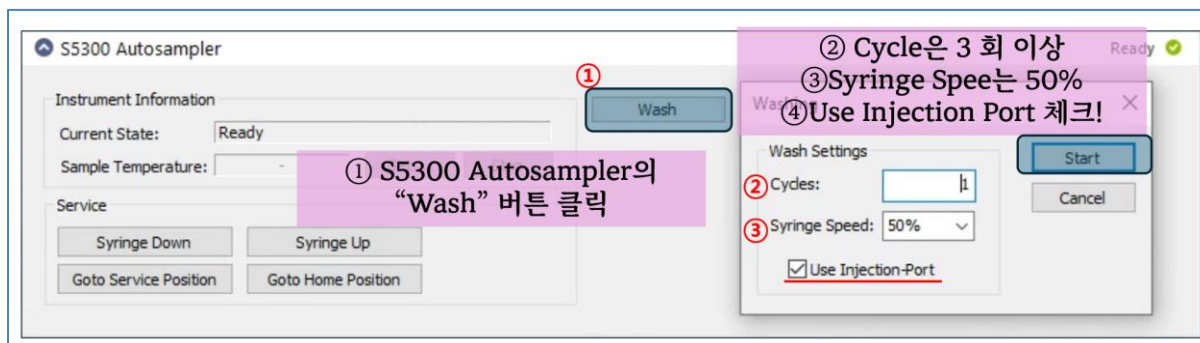
**단위: 전도도(Conductivity; uS/cm)*

전도도 범위는 고정된 값이 아니며 사용하는 초순수의 품질 및 화학제품의 순도 그리고 유속과 서프레스 유무에 따라 크게 변합니다. 만약 평소의 범위 혹은 허용된 범위 이상의 전도도 값이 유지된다면 주로 잘못된 이동상 제조가 원인일 확률이 높습니다. 적합한 전도도 허용 범위에서 아래와 같이 일정하게 상승 혹은 하락한다면 아직 안정화가 덜 됐다는 것을 의미합니다. 안정화시간은 장비의 사용 주기에 따라 다르며 장비를 자주 사용할 경우 보다 빠르게 안정화됩니다. 안정화 시간은 30분부터 6시간, 24시간 등 사용 주기에 크게 의존합니다.



펌프와 서프레스를 가동했다면 안정화를 기다리면서 오토샘플러 워싱을 진행합니다.

오토샘플러 후면 wash 포트에 연결된 “Autosampler Washing Solution” 병에는 증류수를 담으며 이 증류수의 사용 기간은 최대 1주일입니다.



오토샘플러 세척 용액을 교체했다면 이제 Device Monitor에서 Wash를 진행합니다.

오토샘플러 워시에서 반드시 오토샘플러 드레인에서 일정하게 물이 나오는지를 확인합니다.

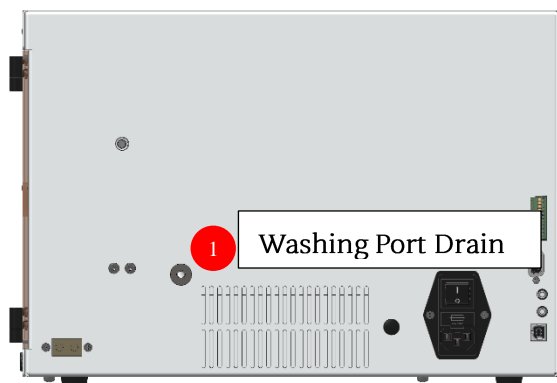
오토샘플러 워시는 Injection port wash와 Washing Port Wash 두가지가 존재합니다.

오토샘플러 인젝션 니들 표면의 염 부식 등 눈에 보이는 오염이 있다면 Washing port Wash를 진행합니다.

Washing Port Wash의 경우 “Use Injection-Port”를 체크해제 한 뒤 워시를 진행합니다.

단, Washing Port를 통한 워시는 반드시 오토샘플러 후면의 Washing Port Drain이 연결돼 있어야 합니다.

만약 Washing Port Drain이 연결되지 않았을 경우 세척 후 용액이 흘러나와 떨어질 수 있습니다.



6. 시퀀스 작성 및 분석 시작

펌프, 컬럼 오븐, 서프레스 등 우리가 분석에 필요한 조건에 맞게 모든 항목을 안정화했다면 이제 시퀀스를 작성할 차례입니다. 시퀀스(Sequence)란 분석을 어떻게 어떤 순서로 진행할지를 설정하는 테이블입니다. Sequence 창은 메인 장비 창(Main Instrument Window)의 “Sequence”를 클릭해 열 수 있습니다.

① 메인 장비 창의 “Sequence” 클릭

② run 체크 박스를 체크해 활성화

③ 필요한 정보를 작성

- SV: Start vial, 몇번 바이얼을 분석할지 결정
- I/V: 해당 바이얼을 몇번 반복 분석할지 결정
- Sample(ID): 제목 및 부제목
- Inj. Vol.: 시료 주입량
- File Name: 분석 데이터의 저장 이름
- Sample Type: 주입 방식 및 샘플 종류 결정
- Method Name: 분석에 사용할 메소드 종류

먼저 “Run” 항목의 체크 박스를 체크하면 해당 줄이 활성화되며 알맞은 정보를 입력합니다. 사용자가 반드시 확인해야 하는 항목은 다음과 같습니다.

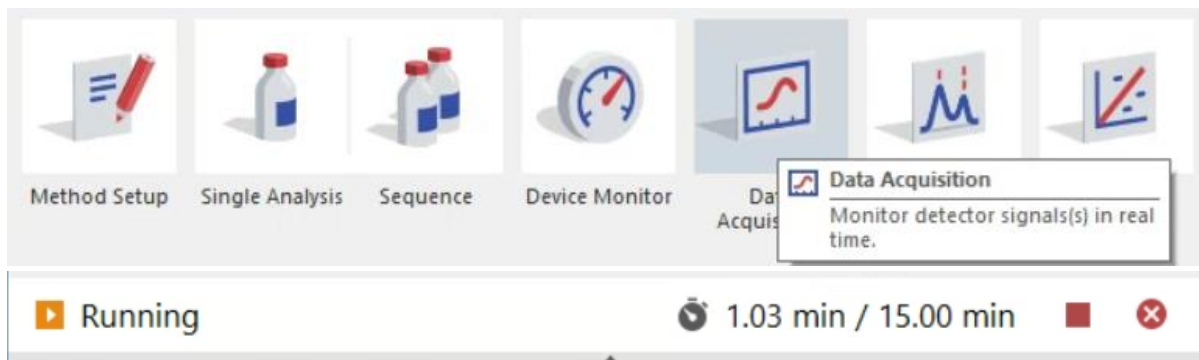
종류	기능	참조	
Status	해당 분석의 현재 상태를 의미		분석 대기
			분석 안함
			분석 완료
			분석중
Run	해당 분석을 시행할지 말지 결정		
SV	몇번 바이얼을 분석할지 결정	1 ~ 120	
IV	해당 바이얼을 몇번 반복 분석할지 결정		
Sample (ID)	바이얼의 제목 및 부제목	%Q (%q)	
Inj. Vol.	해당 바이얼의 주입량	S153의 경우 450ul	
Sample Type	해당 분석의 종류와 저장 경로 지정	bypass	Sample injection X
		Unknown	Sample inj O, Data 폴더 저장
		Sample	Sample Inj O, Calib 폴더 저장
		Blank	Sample Inj O, Calib 폴더 저장
Method Name	해당 분석에 사용할 메소드	세척의 경우 따로 지정	

Sample Type에서 bypass는 오토샘플러가 샘플 주입을 하지 않고 분석이 시작되며 이는 일반적으로 베이스라인 확인을 위해 사용되며 시퀀스 맨 처음에 한두번을 추가합니다. Standard, Blank, Unknown은 저장 경로의 차이입니다.

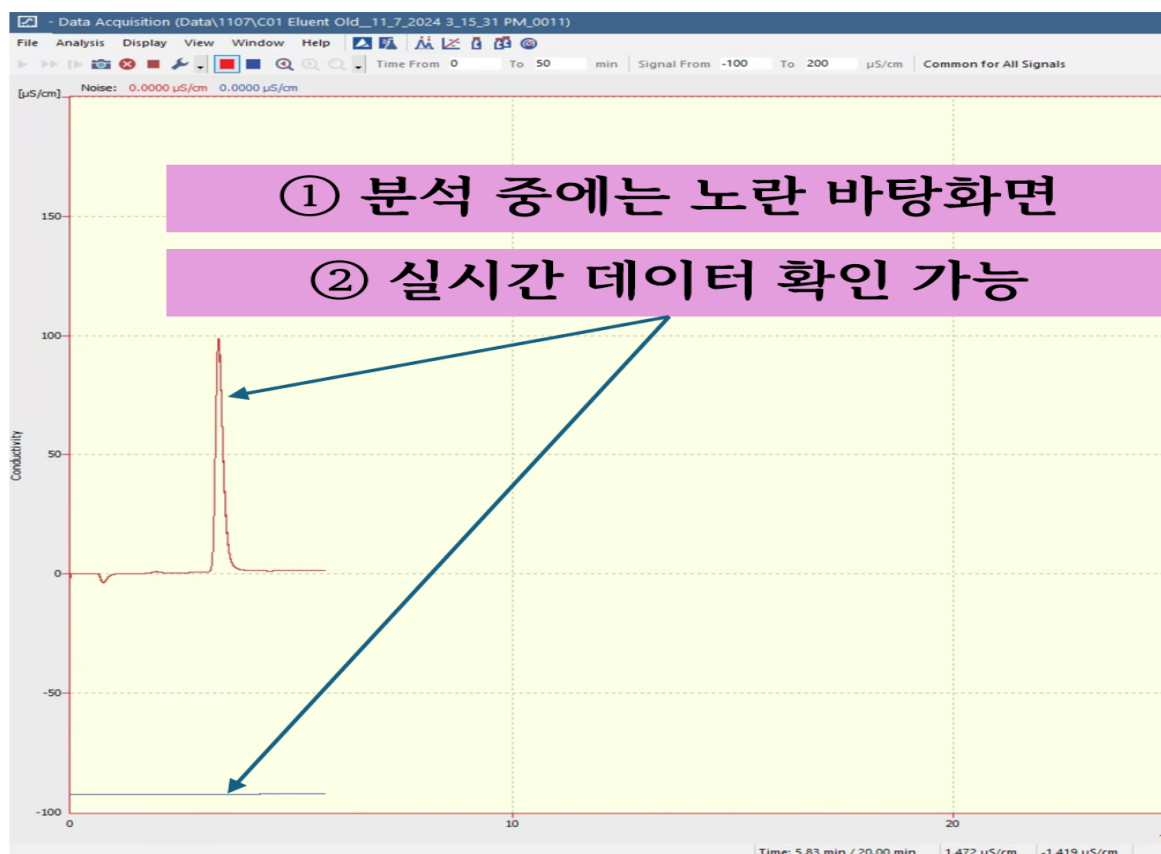
7. 분석 시작 및 실시간 데이터

시퀀스 작성을 완료한 뒤 초록색 혹은 파란색 시작 버튼을 누르면 분석이 시작됩니다.

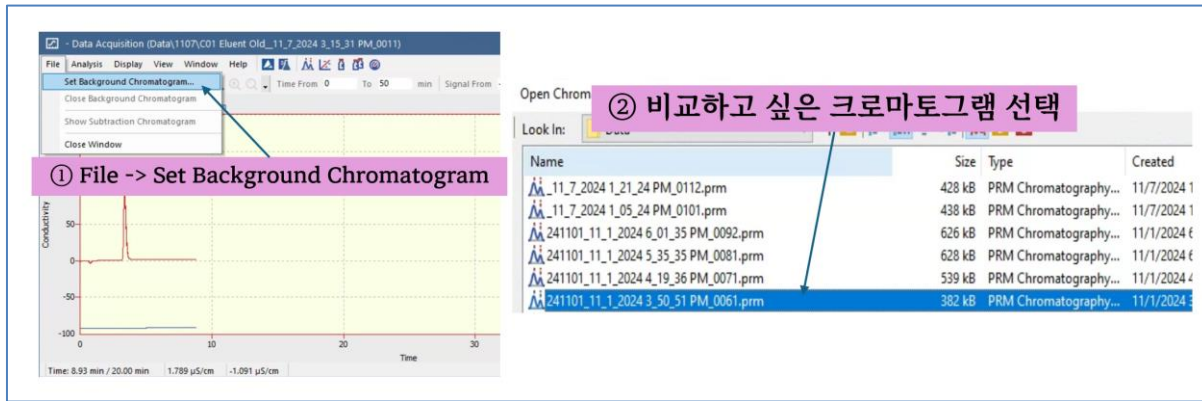
우리는 분석이 끝날 때까지 기다릴 수 있지만 분석 도중 분석이 잘 되고 있는지 확인이 필요합니다. 장비와 시스템이 실시간으로 주고받는 데이터는 “Data Acquisition”에서 확인 가능합니다.



분석 중이면 주 장비 창의 상태가 “Running”으로 변경돼 있습니다.



실시간으로 데이터를 확인하는 Data Acquisition에는 여러가지 기능이 있는데



위와 같이 Background Chromatogram 기능을 이용해 기존 데이터와 비교할 수 있습니다.

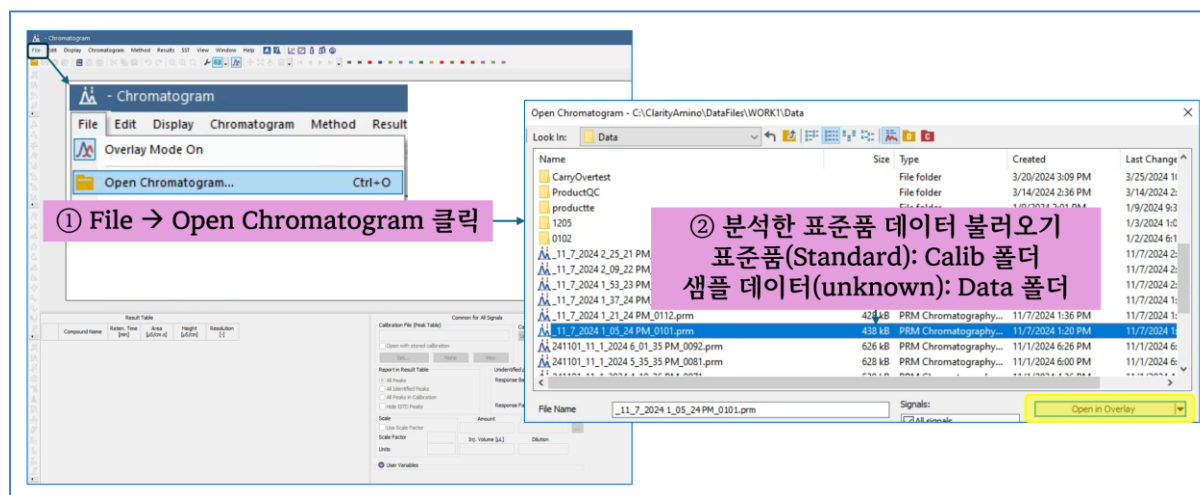
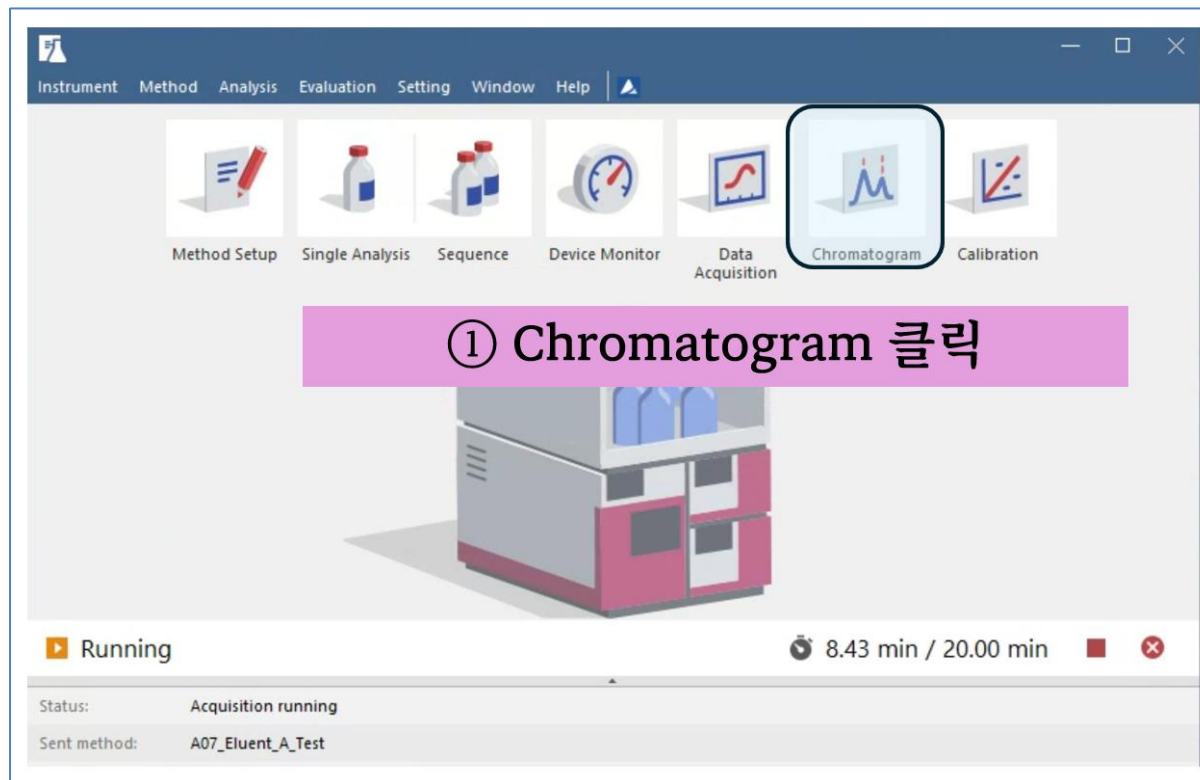


또한 좌상단의 카메라 아이콘을 클릭하면 현재까지 분석한 데이터를 스냅샷으로 확인 가능합니다.

8. 데이터 처리

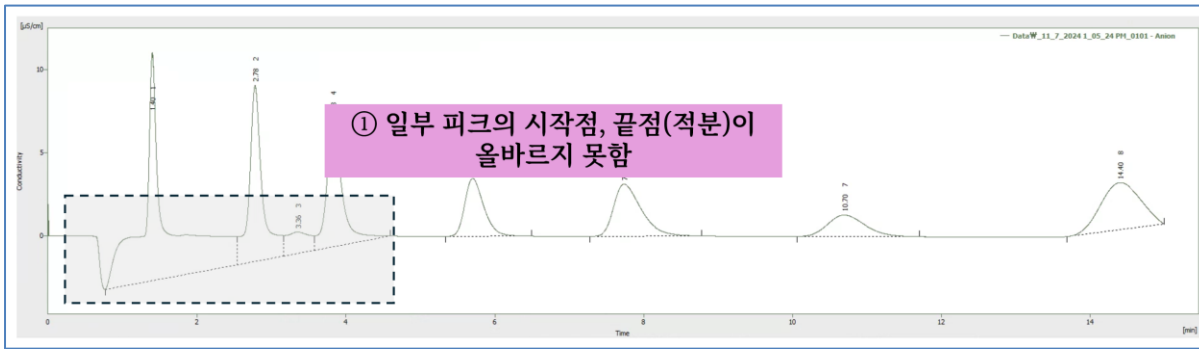
이제 분석이 끝났다면, 분석 결과 크로마토그램 데이터를 가공해야 합니다.

먼저 Instrument Window에서 “Chromatogram”을 클릭합니다.



크로마토그램 창의 좌 상단 File → Open Chromatogram으로 원하는 표준품 데이터를 불러옵니다.

Sample Type이 Standard(Blank)일 경우 Calib 폴더에 unknown(bypass)는 Data 폴더에 저장됩니다.



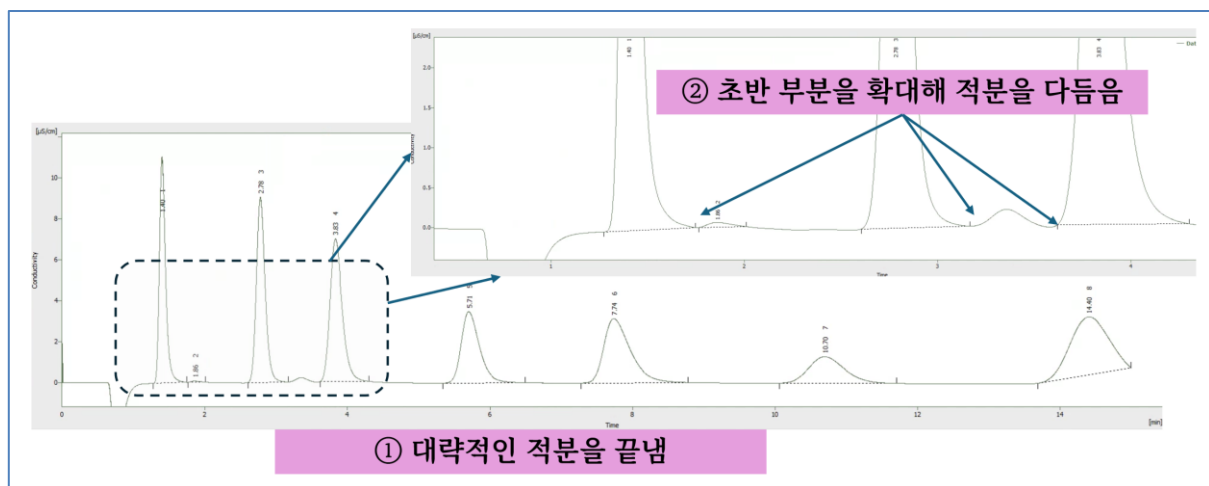
위 사진과 같이, 초반 영역 피크들의 시작점, 끝점(적분)이 잘못된 것을 확인할 수 있습니다.

이 경우 직접 수동으로 적분을 해야 하는데, 왼쪽의 도구를 통해 진행합니다.

왼쪽의 적분 도구 중 주로 사용되는 도구들은 다음과 같습니다.

아이콘	이름	기능
	Start/End Point	피크의 시작점(끝점)을 지정
	Add Peak	피크 추가
	Delete Peak	피크 제거
	Together	동일한 베이스라인을 사용함

위 기능을 통해 적분을 다시하면 아래와 같이 적분할 수 있습니다.



정확히 어떤 포인트를 시작점으로 하고 어떤 피크를 제거 및 추가할지는 기존 따르던 공정서를 참고하여 적분합니다. 정해진 기준이 없다면 모든 결과에 동일하게 적용할 수 있는 기준이 필요합니다.

이러한 대표적인 기준은 “Global Threshold” 기능인데, Global Threshold 기능은 모든 피크의 시작 및 끝점의 최소 기준점을 의미합니다. 설정된 값 이상부터 피크의 시작점 및 끝점으로 간주합니다.

Integration Algorithm (Con

Integr

DataW_11_7_2024 1_05_24PM_0101 -

Chromatogram Operation	Time A [min]	Time B [min]	Value
Global Peak Width			0.100 min
Global Threshold			3.0000 $\mu\text{S/cm}$
Global Filter - Bunching			1
Baseline - Lock	0.683	4.857	
Peak - Add positive	1.273	1.746	
Peak - Add positive	2.606	3.112	
Peak - Add positive	3.618	4.301	
Peak - Add positive	1.788	1.982	
Peak - Start	1.860	-0.097	
Peak - End	1.860	0.150	
Peak - End	2.782	0.385	

② Global Threshold 값 변경
ex) 1 ~ 3 $\mu\text{S/cm}$

① 하단의 Integration Tab으로 이동

Results
All Signals Results
Summary
Performance

Integration

Measurement Conditions
SST Results

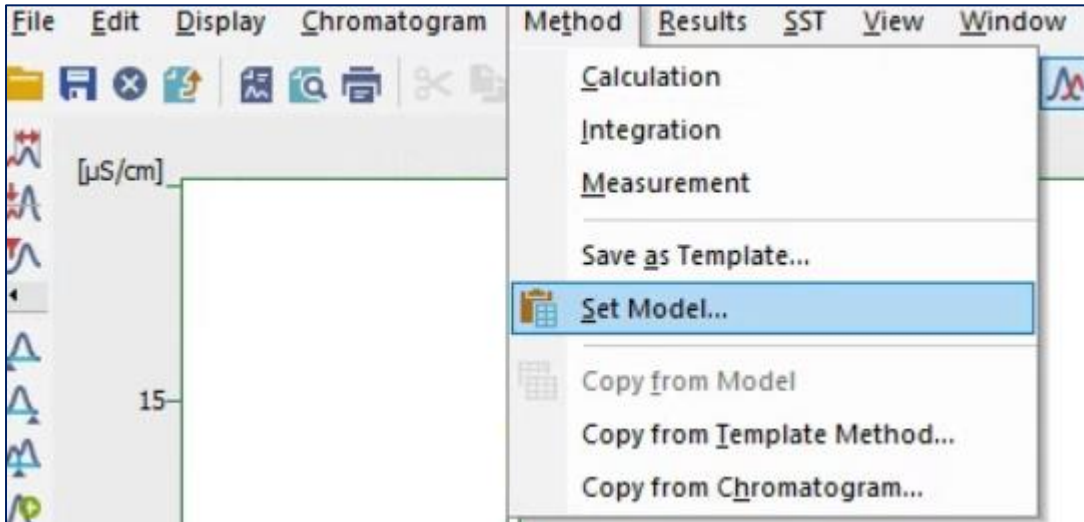
다만 이 값 역시 분석될 샘플 및 표준품의 농도에 따라 변경돼야 합니다. 따라서 적절한 기준을 잡고 모든 데이터에 동일한 적분을 적용하는 것이 중요합니다.

적분이 끝났다면 같은 적분 과정을 나머지 데이터에도 동일하게 적용해야 합니다.

하지만 이를 일일이 하기에는 번거로우므로 다음과 같은 방식을 통해 일괄적인 적용이 가능합니다.

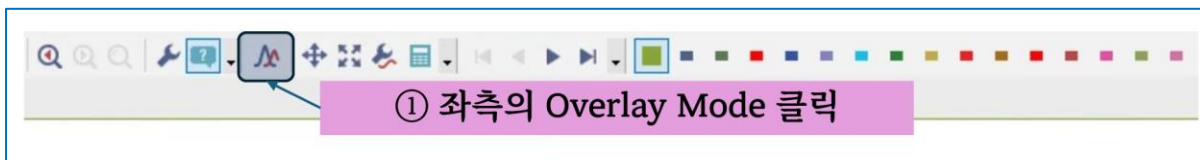
1. 크로마토그램의 Model 기능을 이용

Clarity는 한 크로마토그램의 모든 설정을 모델로 설정해 다른 크로마토그램에 붙여넣기가 가능합니다. 적분, 교정, 노이즈, 교정 단위 등 사용자가 설정할 수 있는 모든 값을 복사 및 붙여넣기 합니다.

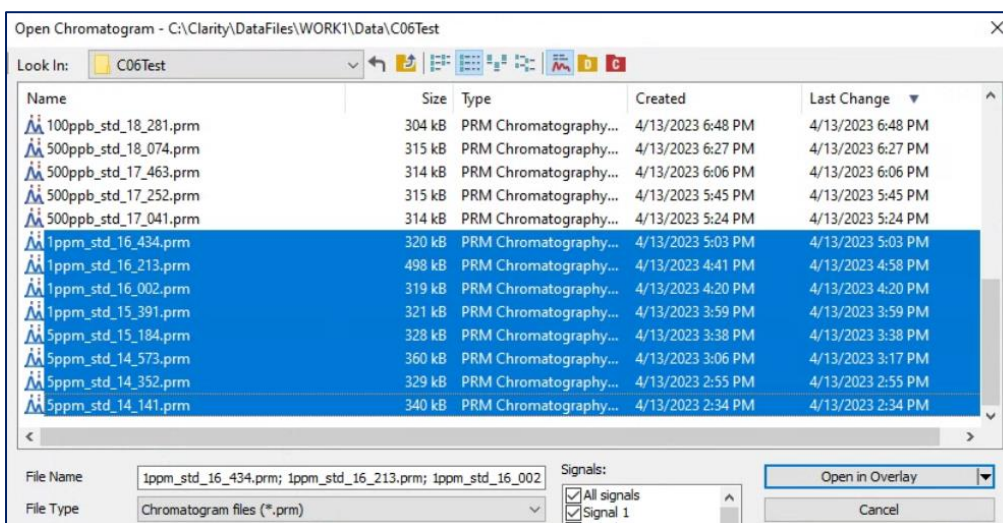


먼저 적분 혹은 적분과 교정이 끝난 크로마토그램을 연 뒤 상단 메뉴바에서 Method -> Set Model을 클릭합니다. 이후 오버레이 모드(Overlay Mode)를 켜줍니다.

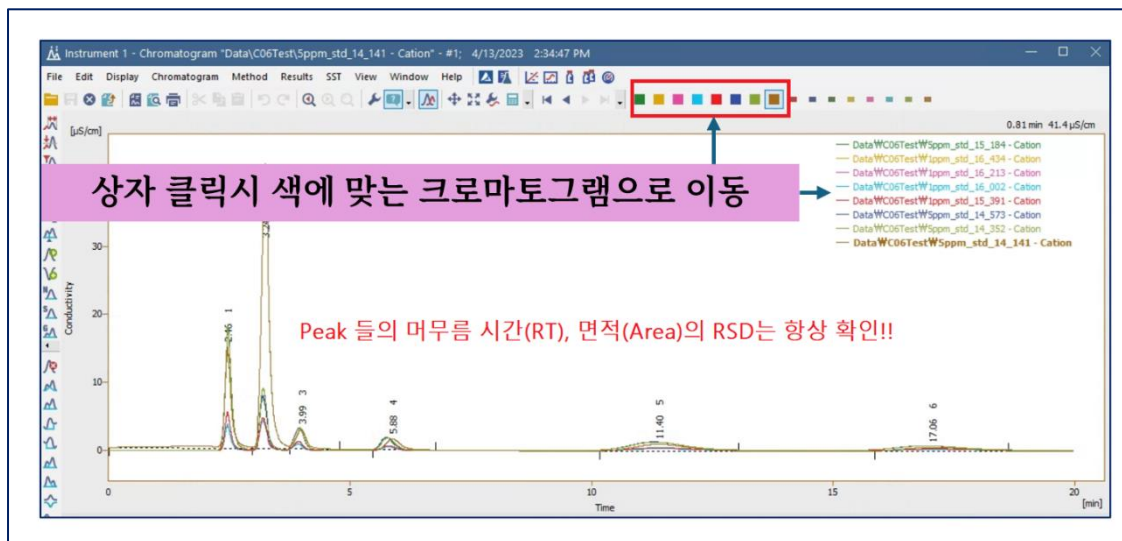
이는 여러 개의 크로마토그램을 겹쳐서 볼 수 있게 해주는 기능입니다.



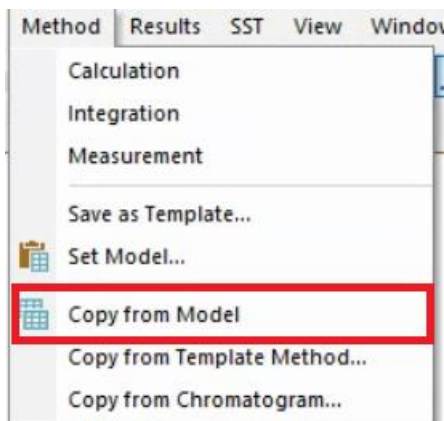
이제 분석된 표준품 크로마토그램을 불러옵니다.



이때 여러 개를 클릭하면 자동으로 오버레이 모드가 켜집니다.



여러 개의 표준품 크로마토그램을 불러온 뒤 항상 각 피크의 머무름 시간(RT; Retention Time) 확인을 했으면 이제 상단의 의 색칠된 네모박스를 클릭합니다.
클릭할 경우 해당 색에 맞는 크로마토그램이 열립니다.



이후 상단 메뉴에서 Method -> Copy From Model을 누릅니다. 이것을 누르면 방금 적분을 끝냈던 크로마토그램의 적분 정보가 복사 -> 붙여넣기가 됩니다.

같은 방법으로 분석된 샘플, 표준품 크로마토그램을 모두 적분해줍니다.

모델로 불러와 적분을 한 뒤에도 항상 적분선이 일정하고 적합하게 됐는지 확인해야 합니다.

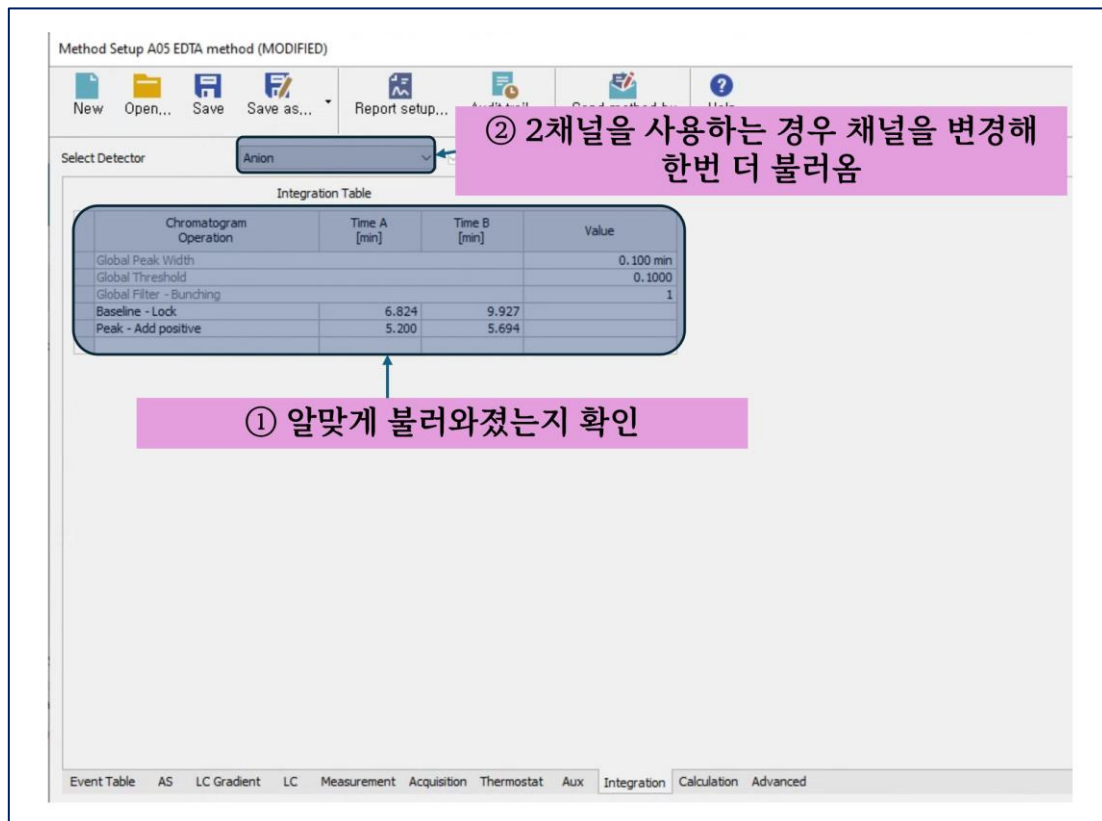
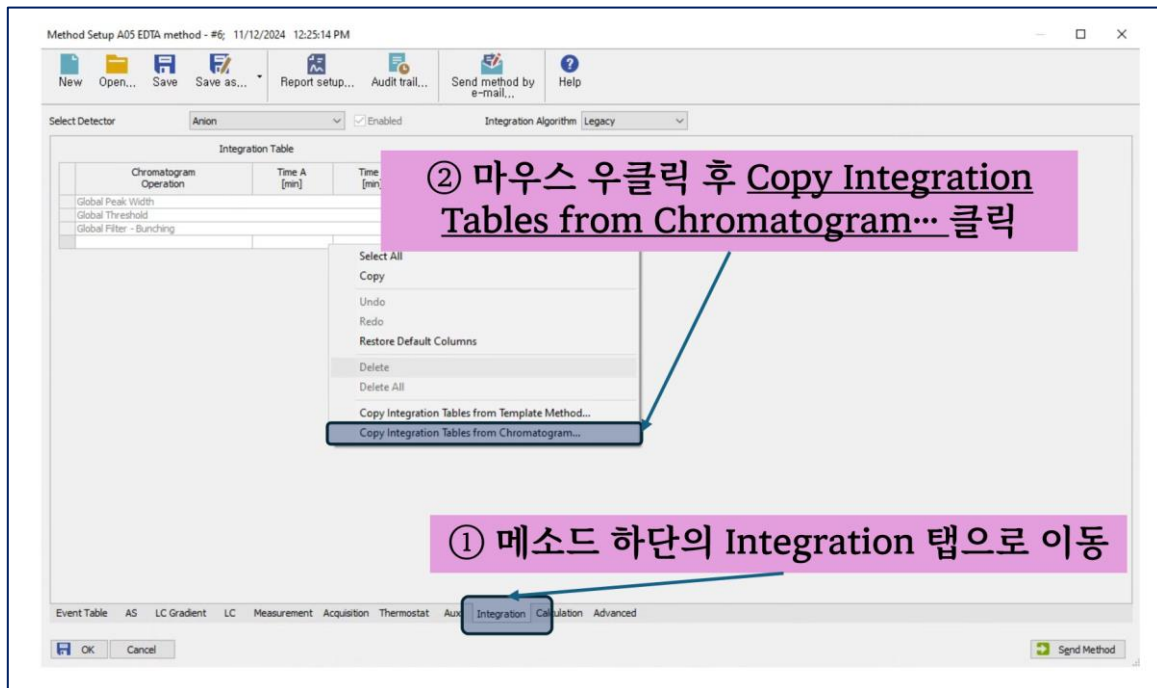
해당 피크의 농도에 따라 피크의 시작점이 다르게 지정될 수 있기에 특히 농도차가 큰 경우 반드시 개별 크로마토그램을 한 번 더 확인하는 것이 좋습니다.

이 방법은 지정된 Model 뿐만 아니라 특정 크로마토그램 및 메소드에 저장된 정보까지 불러올 수 있습니다. 대표적으로 메소드에 저장된 방법을 사용할 수 있는데, 이를 사용하기 위해선 프로세싱 메소드를 생성하거나 혹은 사용할 메소드에 적분 및 교정 정보를 넣어야 합니다.

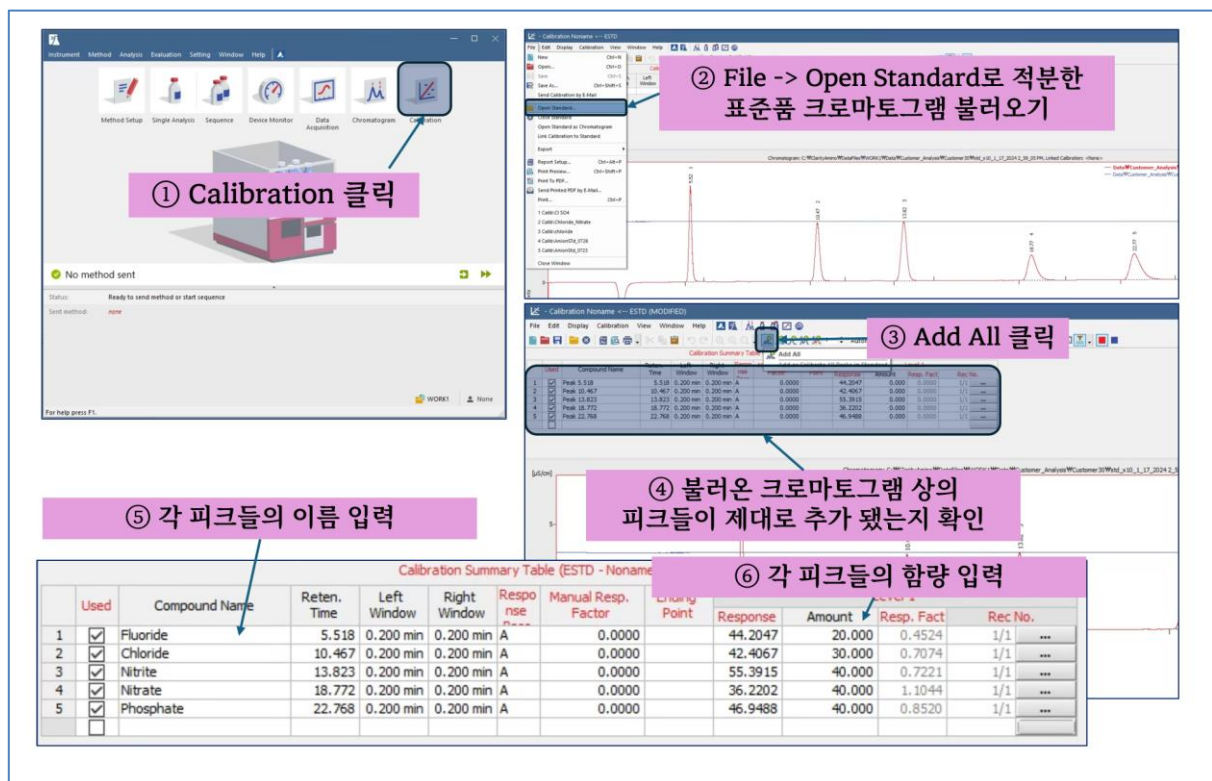
메소드에 적분 및 교정 데이터를 저장하기 위해선 우선 정상적으로 분석된 크로마토그램과 적분이 필요합니다.

따라서 먼저 한개의 표준품을 분석한 뒤 해당 크로마토그램을 적분합니다.

이후 분석 메소드를 불러와 아래와 같이 적분 테이블을 불러옵니다.



표준품 크로마토그램의 적분이 끝났다면 이제 적분이 끝난 크로마토그램들을 이용해 교정을 할 차례입니다. 교정 혹은 캘리브레이션이라고 하는 것은 성분과 함량을 알고 있는 표준품 물질을 이용해 해당 물질에 대한 기준선과 눈금을 정하는 작업입니다.



위 사진에 나열된 절차대로 크로마토그램을 불러옵니다. 이후 크로마토그램 내의 피크들을 교정 테이블에 추가한 뒤 이름과 함량을 입력합니다. 이때 항목들은 다음과 같은 의미를 가집니다.

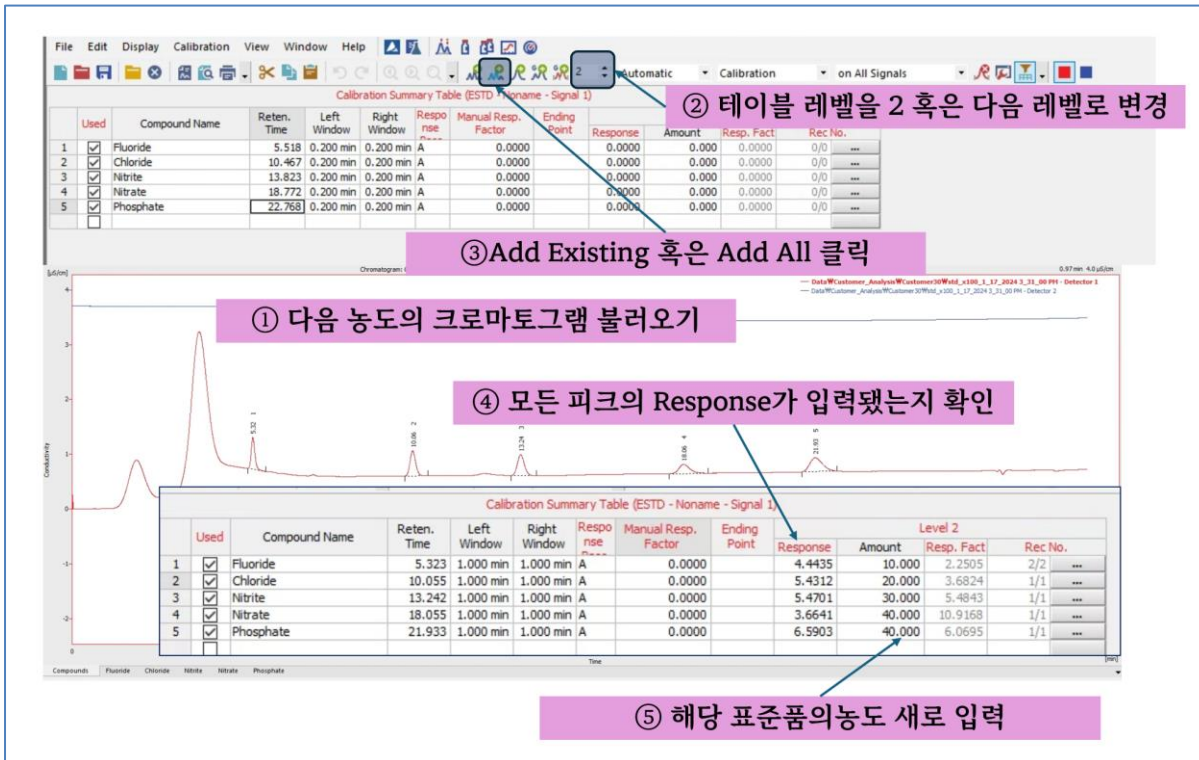
종류	기능	참조
Compound Name	해당 피크의 분석물 명을 지정	중복 허용 안 됨
Reten. Time	해당 피크의 머무름 시간	임의 변경시 GxP 규정 위반
Left(right) Window	좌우로 몇분까지 동일한 피크인지	일반적으로 0.2 분 Sulfate, Phosphate, Ca, Mg는 0.5분
Response Base	정량 기준 설정, 넓이 혹은 높이	일반적으로 넓이
Response	해당 피크의 넓이값 (혹은 높이)	
Amount	해당 피크의 함량값	

각 물질의 머무름 시간은 사용중인 컬럼의 성적서를 참고하며 농도의 경우 사용 중인 표준품의 성적서를 참고합니다.

각 피크들의 이름(Compound Name)과 함량(Amount)값을 입력했다면 이제 한개의 테이블을 완성했습니다. 직선을 얻기 위해선 최소 두개 이상의 점이 필요하듯 최소 두개 이상의 농도가 필요합니다. 몇 개의 농도를 분석할지는 따르는 공정서 혹은 사내 규정에 맞게 준비합니다.

일반적으로 최소 최대 농도 차이가 50배를 넘지 않는 범위에서 5개의 점을 사용합니다.

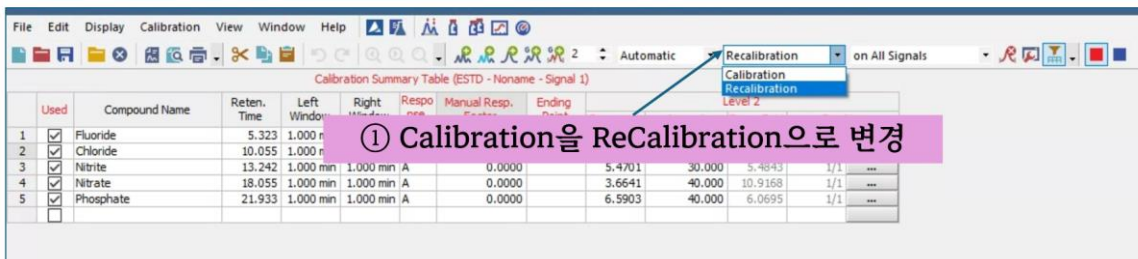
처음 농도 테이블을 작성했다면, 이제 다음 테이블을 작성할 차례입니다.



먼저 새롭게 적분 테이블에 작성할 표준품 크로마토그램을 불러온 뒤 테이블 레벨을 변경합니다.

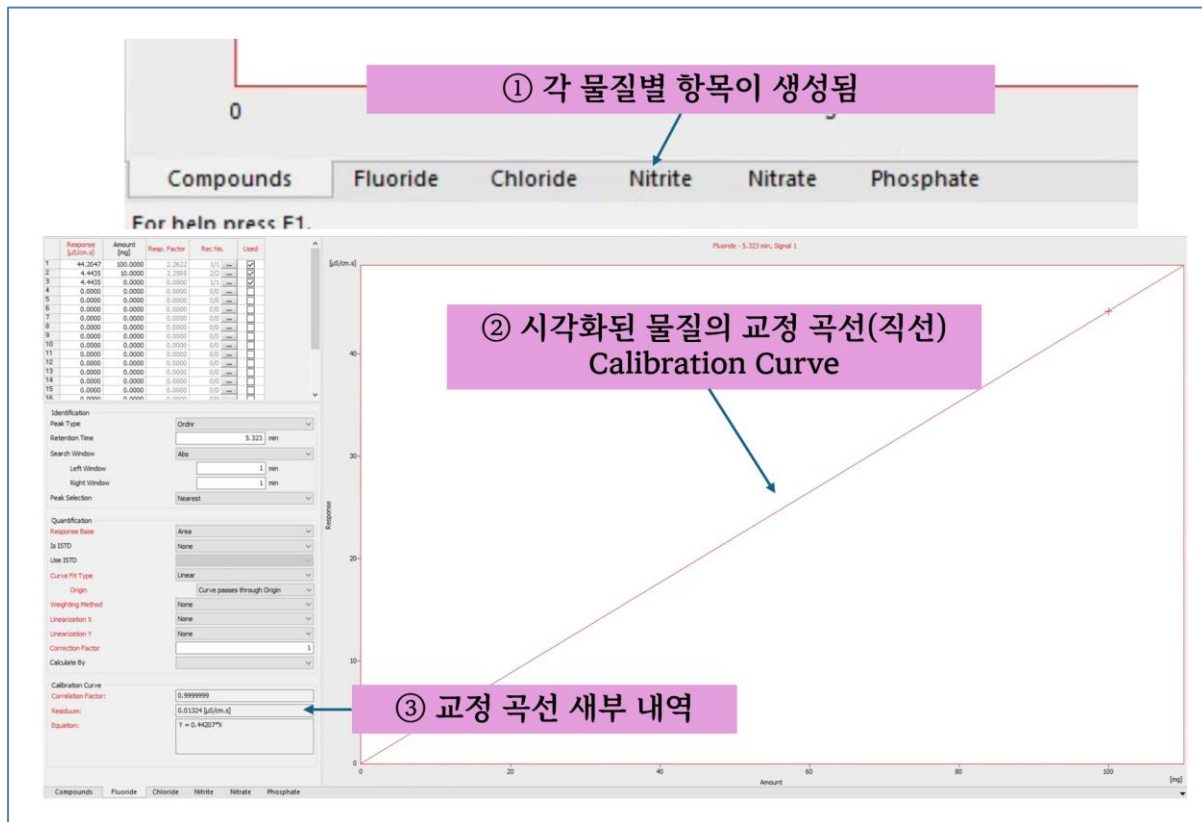
이후 “Add All” 혹은 “Add Exist”를 이용해 피크 정보를 입력합니다. 이후 이전과 동일하게 함량을 입력합니다.

만약 동일한 농도를 한 테이블에 여러 번 넣고 싶다면 방법은 다음과 같습니다.



메뉴의 Calibration을 Recalibration으로 변경합니다. Recalibration은 해당 테이블에 새로운 데이터가 사용되면 다음 테이블이 아닌 현 테이블에 입력할 수 있게 됩니다.

이제 분석한 모든 표준품을 통해 교정 테이블 작성이 완료됐다면 하단에 각 물질별 탭이 생성됩니다.



여기서 몇 가지 중요한 부분들은 아래와 같습니다.

Quantification

Response Base: Area

Is ISTD: None

Use ISTD: None

Curve Fit Type: Linear

Origin: Curve passes through Origin

Weighting Method: None

Linearization X: None

Linearization Y: None

Correction Factor: 1

Calculate By: None

Calibration Curve

Correlation Factor: 0.9999876

Residuum: 0.4683 [µS/cm.s]

Equation: $Y = 34.32647 * X$

Correlation Factor(상관계수):

일반적으로 이 값은 모든 분석물이 0.99 이상이어야 합니다. 만약 그렇지 못하다면 이는 표준품 제조가 잘못됐거나 혹은 오토샘플러에 문제가 있음을 의미합니다.

Origin: 검량선이 원점을 지나는지 안 지나는지를 결정합니다.

만약 샘플을 희석하는데 사용된 증류수에 Chloride, Sodium 함량이 높다면

“ignore Origin,, 을 선택해 Correlation Factor의 값을 올릴 수 있습니다.

Curve Type: 커브 타입은 대부분 Linear를 사용합니다. 서프레스를 사용하는 암모니아 및 메틸아민 류는 Quadratic을 사용합니다.

이제 교정 파일 작성이 완료됐으면 저장한 뒤 다시 크로마토그램 창으로 옵니다.

① 캘리브레이션을 적용할 샘플 분석 크로마토그램을 불러옴

② 우측하단의 Set 버튼으로 캘리브레이션 파일을 불러옴

③ Scale Factor를 이용해 단위 설정

작성한 교정 데이터(캘리브레이션)를 적용할 샘플 분석 크로마토그램을 불러온 뒤 적분이 끝났다면 Set 버튼을 이용해 캘리브레이션 파일을 불러옵니다.

이후 농도 단위가 맞지 않다면 우측 하단의 “Use Scale Factor”를 이용해 단위와 배수를 조절합니다.

만약 캘리브레이션 파일에 단위를 지정하고 싶다면 아래와 같이 지정합니다.

① Calibration → Options 클릭

② Compound Units를 원하는 단위로 변경

이제 작성된 캘리브레이션 파일을 저장한 뒤, 해당 캘리브레이션 파일을 적용할 샘플 크로마토그램을 불러옵니다.

이후 우측 하단 “Set”버튼을 이용해 저장된 캘리브레이션 파일을 불러와 적용합니다.

Result Table (ESTD - C:\ClarityAmino\WDataFiles\WORK1\WData\WCustomer_Analysis\WCustomer30\Wstd_x100_1_17_2024_3_31_00 PM - Detector 1) Noise (25.35-25.67 min): 0.0015 [μS/cm]						
	Compound Name	Reten. Time [min]	Area [μS/cm.s]	Amount [ppm]	Efficiency [th.pl]	Resolution [-]
1	Fluoride	5.323	4.44351	10.05160	11534	
2	Chloride	10.055	5.43121	25.54384	16664	18.61122
3	Nitrite	13.242	5.47015	29.62995	19188	9.20882
4	Nitrate	18.055	3.66409	40.45998	15320	9.99367
5	Phosphate	21.933	6.59032	55.92543	15984	6.08838
	Total		25.59927	161.61081		
						1195.489

이제 결과를 출력하고 싶다면 좌측 상단 메뉴에서 File -> report Setup을 클릭합니다.

Report Setup cation

Page Setup

Lab. Header

Report Header

Chromatogram

Method

Calibration

Results

Sequence

SST

Audit & Signatures

Lab. Footer

Black and White Print

Print Background Color of Graphs

Header Font...

Form Font...

Value Font...

Margins [mm]

Left: 5

Top: 5

Between: 2

Right: 5

Bottom: 5

Orientation

Use Printer Setting

Override Printer Setting

Portrait

Landscape

OK

Cancel

Help

New

Open...

Save As...

Printer...

Preview...

Print...

Print To PDF...

Send PDF

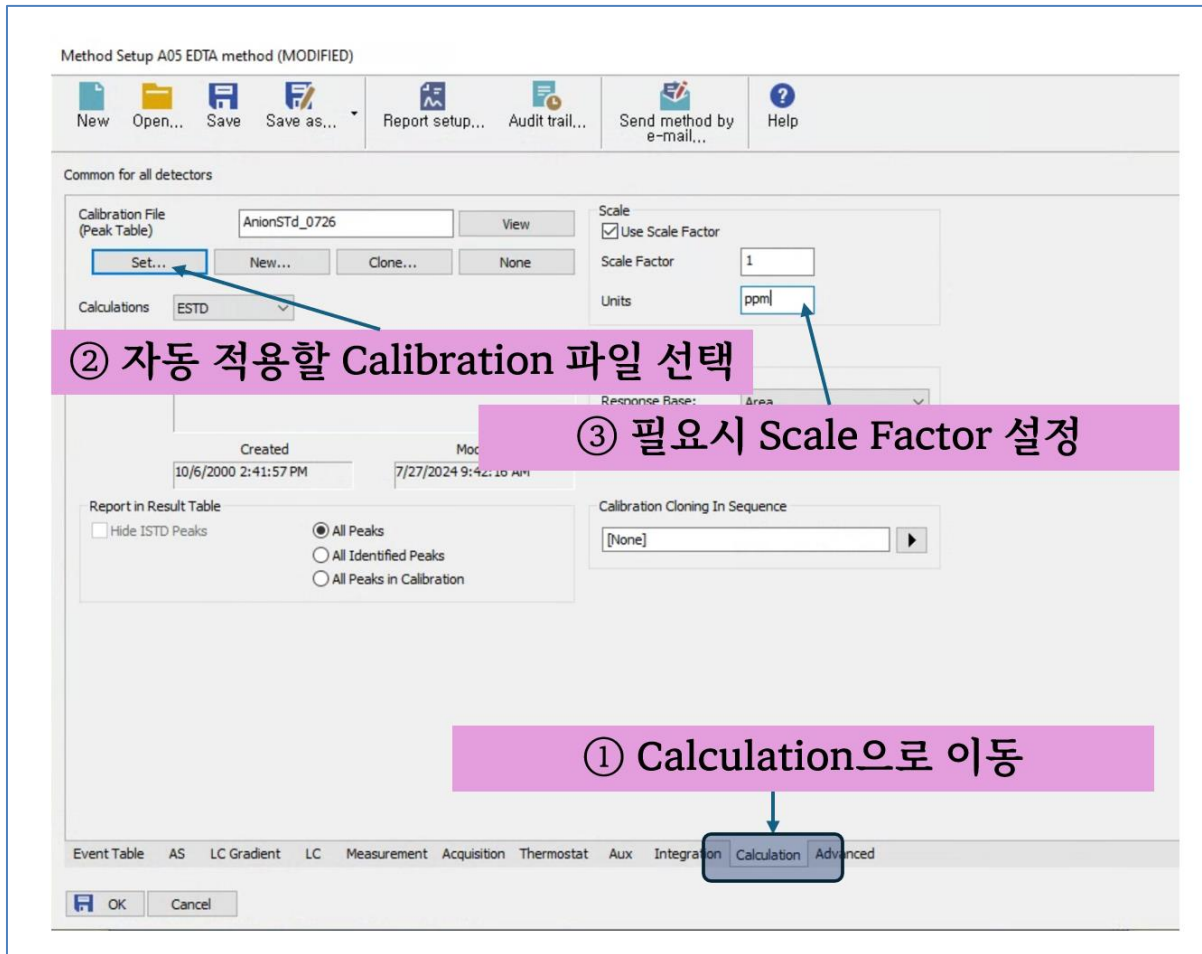
좌측의 메인 메뉴를 더블 클릭하여 해당 항목을 빼거나 포함할 수 있습니다.

GUIDE TO SYKAM ION CHROMATOGRAPHY

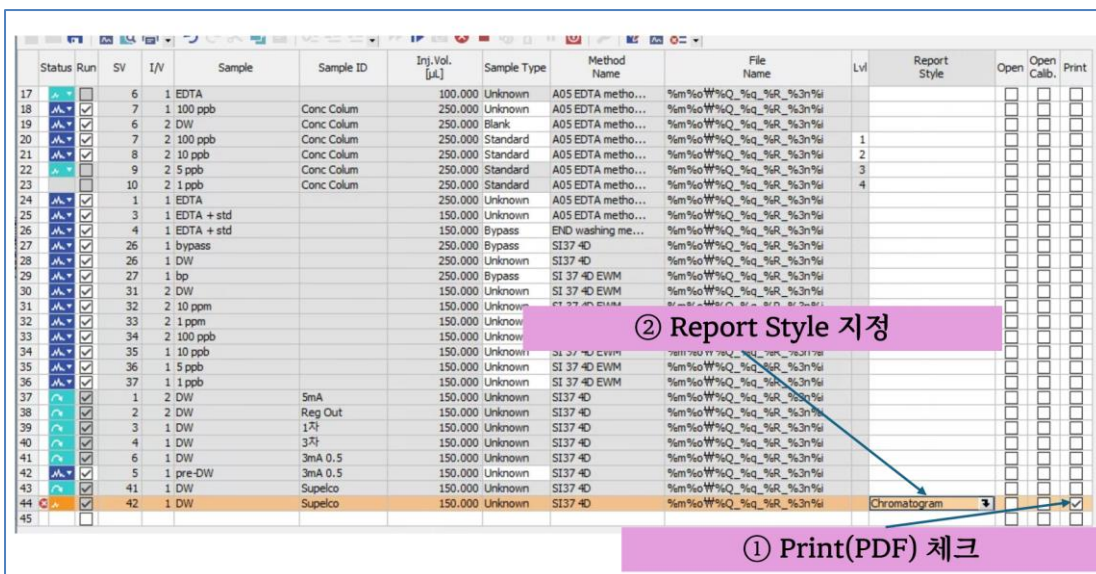
페이지 37 / 53

만약 교정 및 리포트 출력까지 자동화하고 싶다면 다음과 같이 할 수 있습니다.

먼저 Method를 열어 하단의 Calculation 탭으로 이동합니다.



메소드 상에서 Calibration 파일을 지정했다면 이후 해당 메소드를 사용할 분석의 시퀀스를 작성할때 아래와 같이 Print 혹은 Print to PDF 항목을 체크합니다.



7. 분석 후 장비 세척

만약 주당 2회 이상 분석을 주기적으로 하는 경우 추가적인 장비 세척은 필요 없습니다.

하지만 장비 사용 주기가 7일 이상인 경우 장비의 손상과 감도 하락을 방지하기 위해 다음과 같이 장비를 세척하는 과정이 필요합니다.

먼저 장비 미사용 시간이 30일 이내일 경우 다음과 같이 세척합니다.

1. 제공된 유니온 커넥터로 컬럼을 교체
2. 사용한 이동상 라인을 모두 신선한 초순수로 교체
3. 유속 0.3 ml/min으로 30분간 세척
4. 장비 종료

장비의 미사용 시간이 30일 이상인 경우 미생물 번식 방지를 위해 다음과 같은 과정이 필요합니다.

1. 컬럼은 하기 표에 적합한 이동상으로 세척
2. 사용한 이동상 라인을 모두 초순수로 교체
3. 유속 0.5 ml/min으로 20분간 세척
4. 초순수를 모두 0.02 % NaN₃ 용액으로 교체
5. 유속 0.5 ml/min으로 30분간 세척
6. 장비 종료

단기간 컬럼 보관의 경우 사용되는 일반적인 이동상을 흘려 놔도 무방합니다.

하지만 30일 이상 장기간 컬럼을 사용하지 않을 경우 컬럼에 맞는 보관 용액을 흘려 놓는 것이 권장합니다.

이때 반드시 **컬럼의 outlet은 서프레스가 아닌 폐액통 혹은 비커에 흘립니다.**

컬럼 종류	세척 및 보관 용액	참고사항
A01, A02, A03, A07, A08, A09	30% MeOH / 70% DW	
A04, A05, A06, A10	기존 이동상	3.2 mM Carbonate 3.6 mM Carbonate + 1.8 mM bicarbonate
C01, C02, C05	기존 이동상	
C06, C07, C08	54mM MSA	

8. 양이온 분석 전환

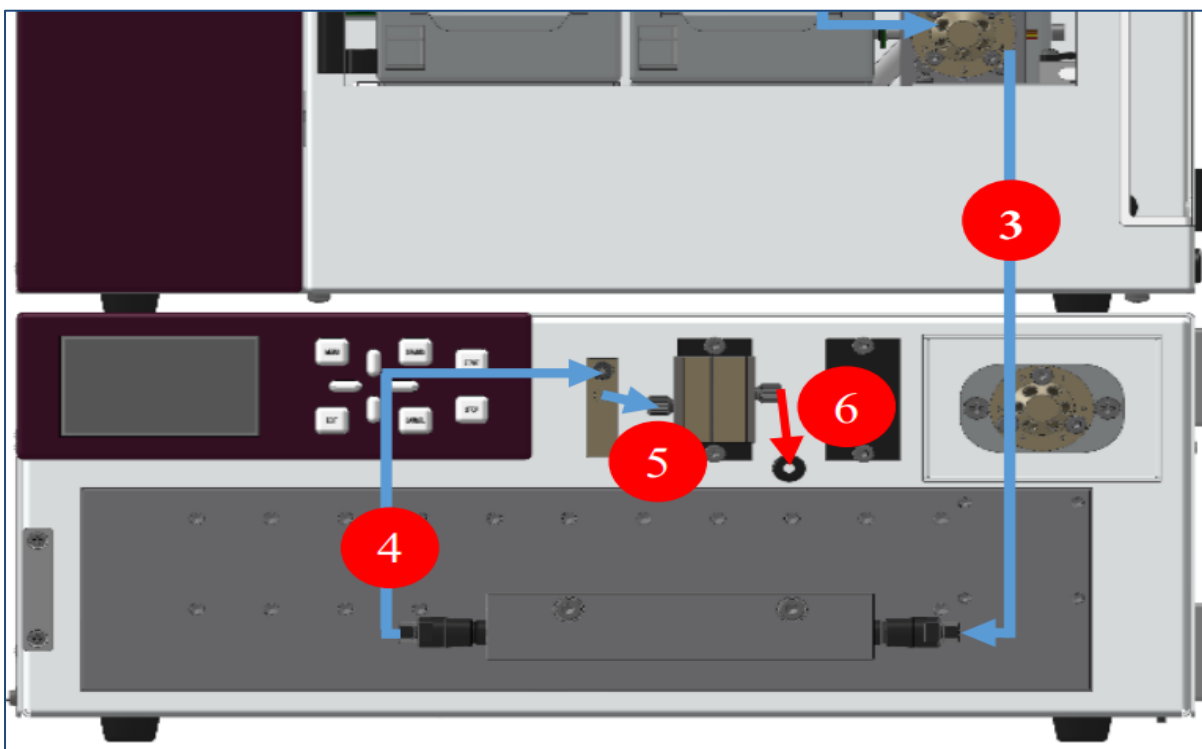
음이온 서프레스를 사용하여 음이온 분석을 하는 Sykam S 151의 경우 선택에 따라 양이온 분석으로 시스템을 전환할 수 있습니다.

만약 Dual Channel 혹은 양이온 서프레스가 장착되지 않았다면 양이온 분석은 서프레스를 사용하지 않는 직접 전도도 검출방식(Direct Conductivity Detection)을 사용해야 합니다.

그러기 위해선 먼저 [“7. 장비 사용 후 세척”](#) 절차에 맞게 장비를 세척합니다.

이는 라인 내에 남아 있을 수 있는 이동상이 유입되는 것을 방지합니다.

장비 세척 후 컬럼과 이동상을 준비한 뒤 아래와 같이 컬럼의 연결을 변경해야 합니다.

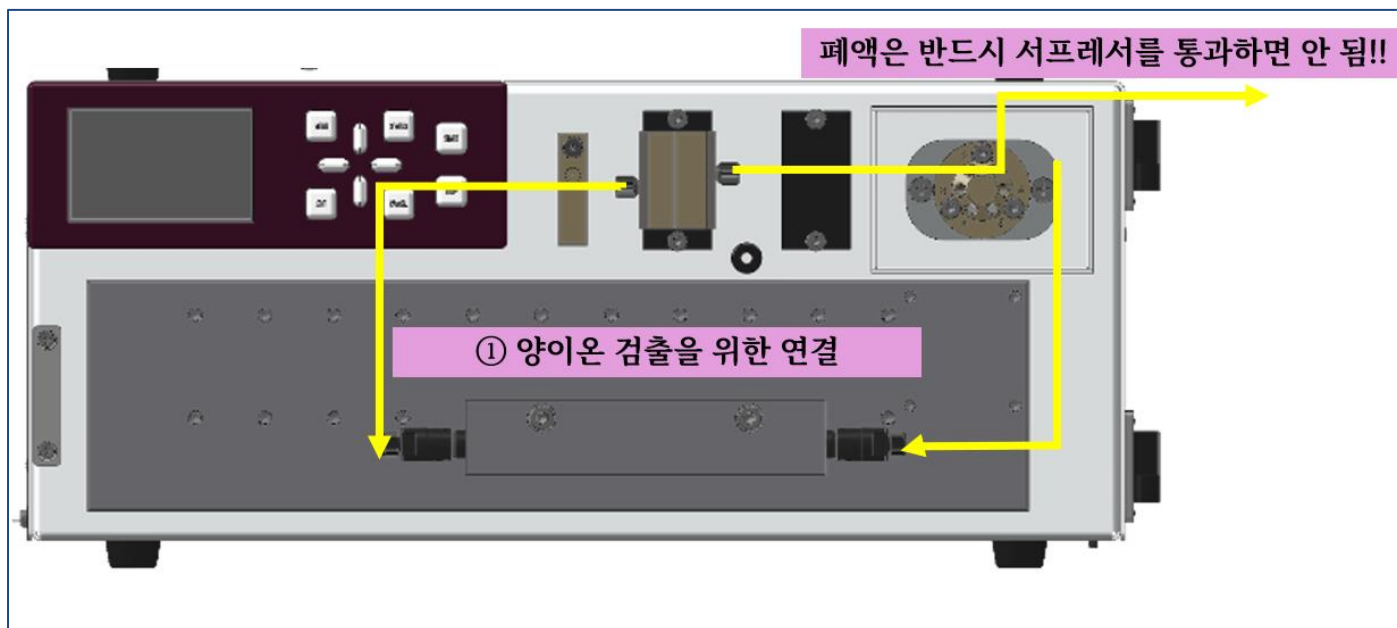


기본적인 음이온 분석을 위한 컬럼 연결은 위 사진과 같습니다.

펌프 → 컬럼 in → 컬럼 out → 서프레스 in → 서프레스 out

→ 전도도 셀 in → 전도도 셀 out → 서프레스 재생 채널 in → Waste

만약 양이온 서프레스가 없는 경우, 서프레스를 통과하지 않고 셀에 연결돼야 합니다.



펌프 -> Column in -> Column out -> Cell in -> Cell out -> Waste 순서대로 연결합니다.

이때 반드시 서프레스에 어떠한 연결과 전류도 흐르면 안 됩니다.

서프레스 연결을 우회(bypass)했다면, 서프레스가 마르지 않도록 플러그를 이용해 막습니다.

연결을 변경했다면 양이온 분석에는 지정된 메소드를 사용합니다.

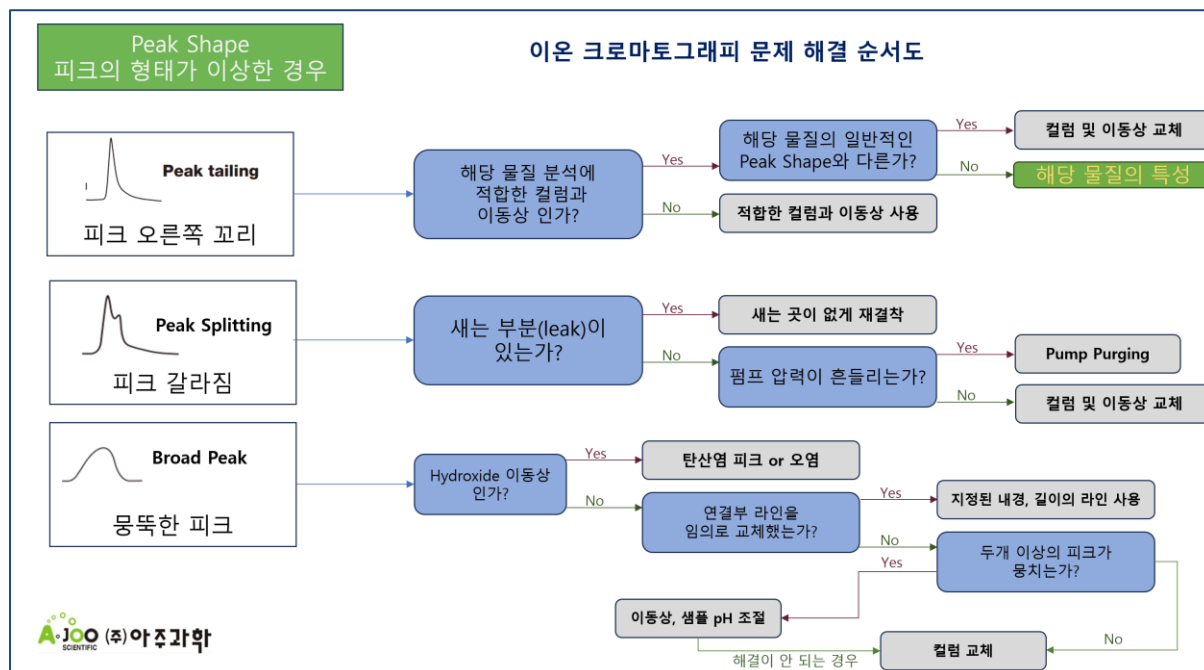
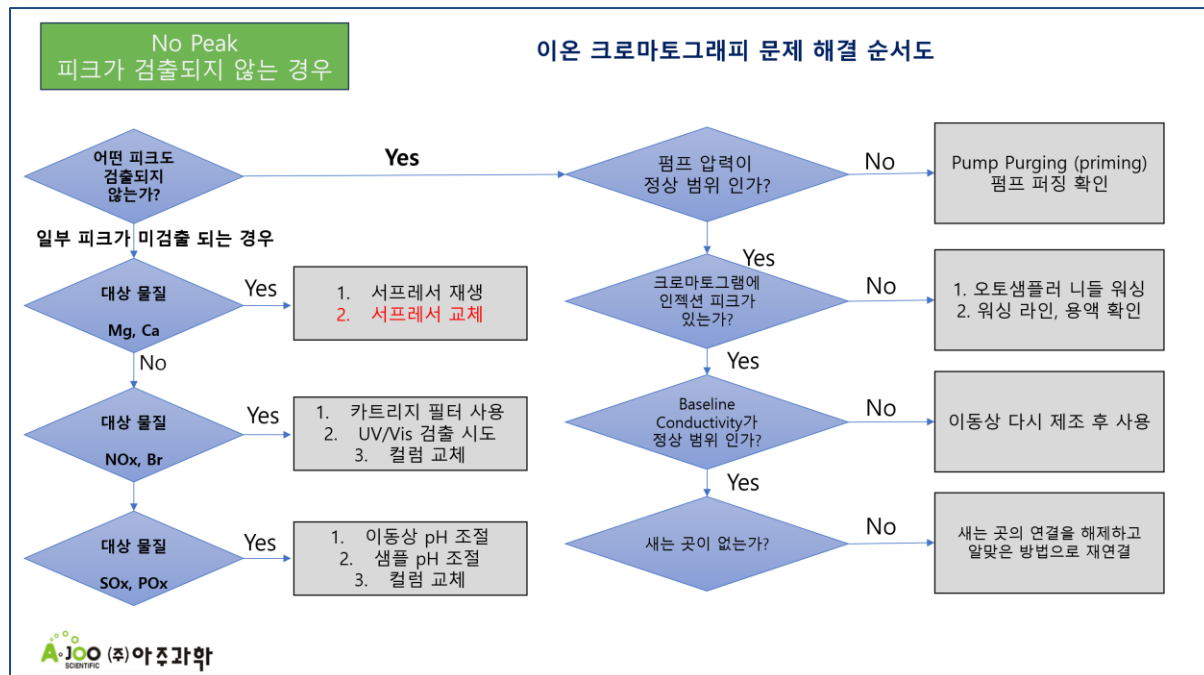
메소드가 없는 경우 반드시 전문가 혹은 담당 서비스 엔지니어에게 도움을 요청합니다.

9. TROUBLE SHOOTING

하기 항목은 분석 중 대표적으로 발생하는 문제에 대한 대처 방법입니다.

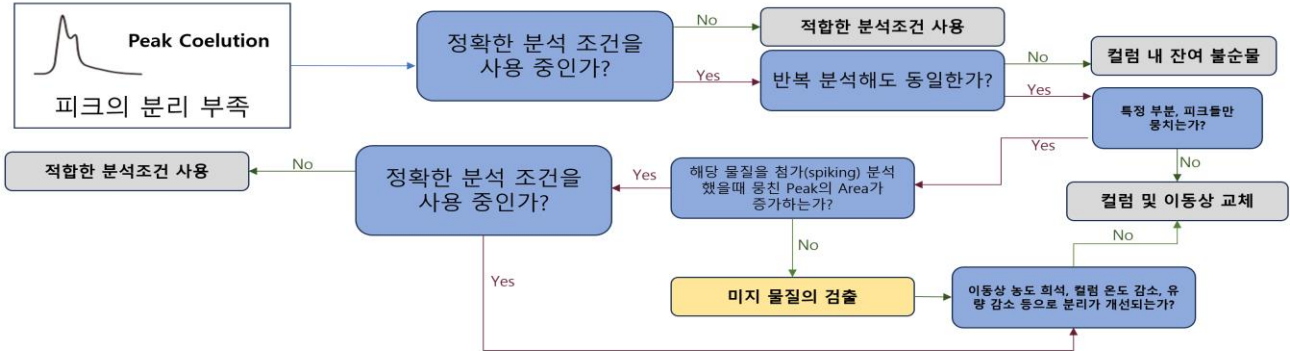
자세한 내용은 [저희 \(주\)아주 과학 홈페이지 게시판](#) 혹은 [ANI-02 Trouble Shooting](#)을 참고해주세요.

하기 항목 확인 후 조치를 해도 증상 호전이 없거나 문의사항이 있는 경우 전문적인 엔지니어에게 진단 및 수리를 받아야 합니다



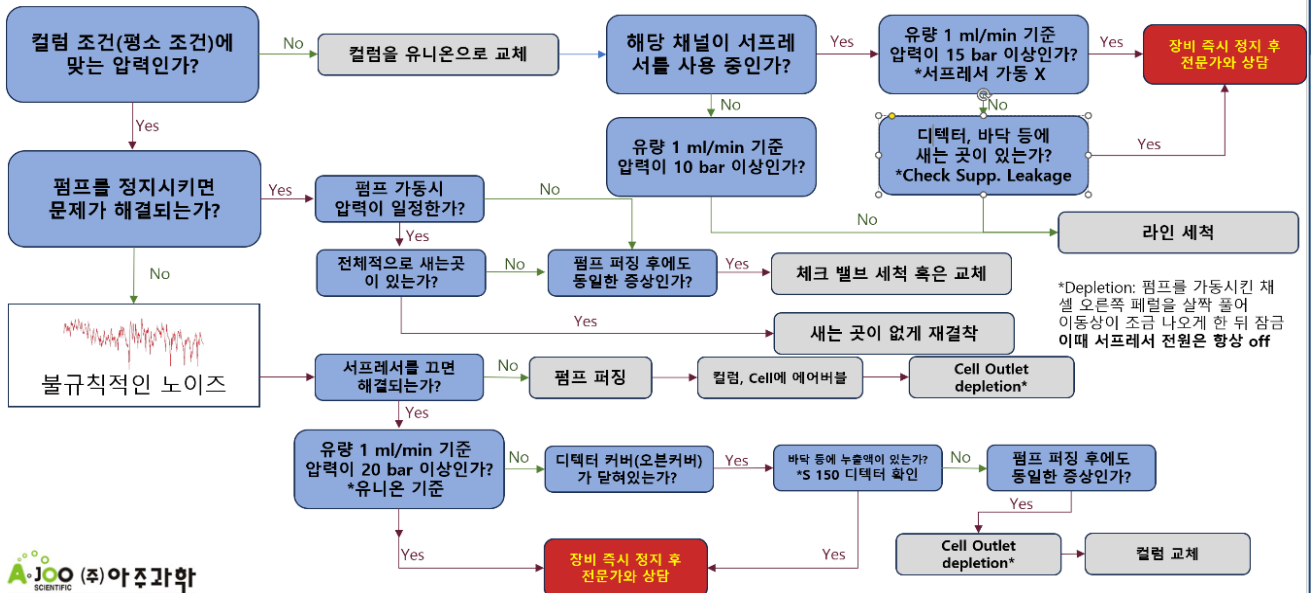
Peak Shape
피크의 형태가 이상한 경우

이온 크로마토그래피 문제 해결 순서도



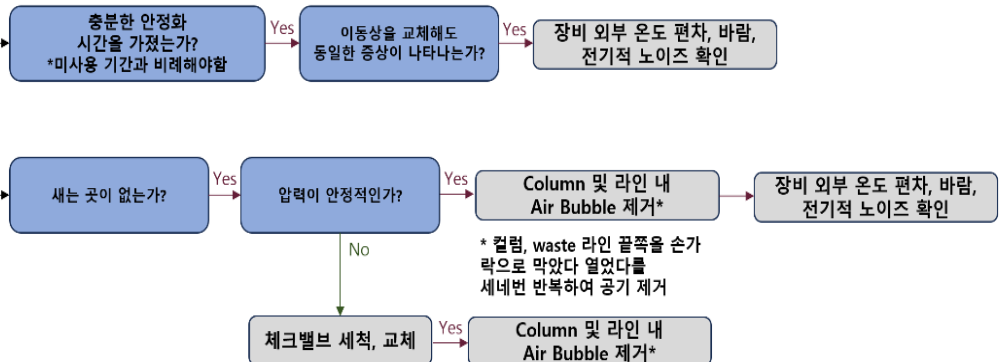
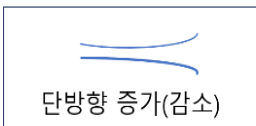
Baseline Problem
베이스라인 문제의 경우

이온 크로마토그래피 문제 해결 순서도
!!! 모든 처리 중 Suppressor Off 필수 !!!



Baseline Problem
규칙적인 베이스라인 노이즈

공통 확인 사항
1. 디텍터 커버가 완전히 닫혀 있는지
2. 새는 곳이 없는지

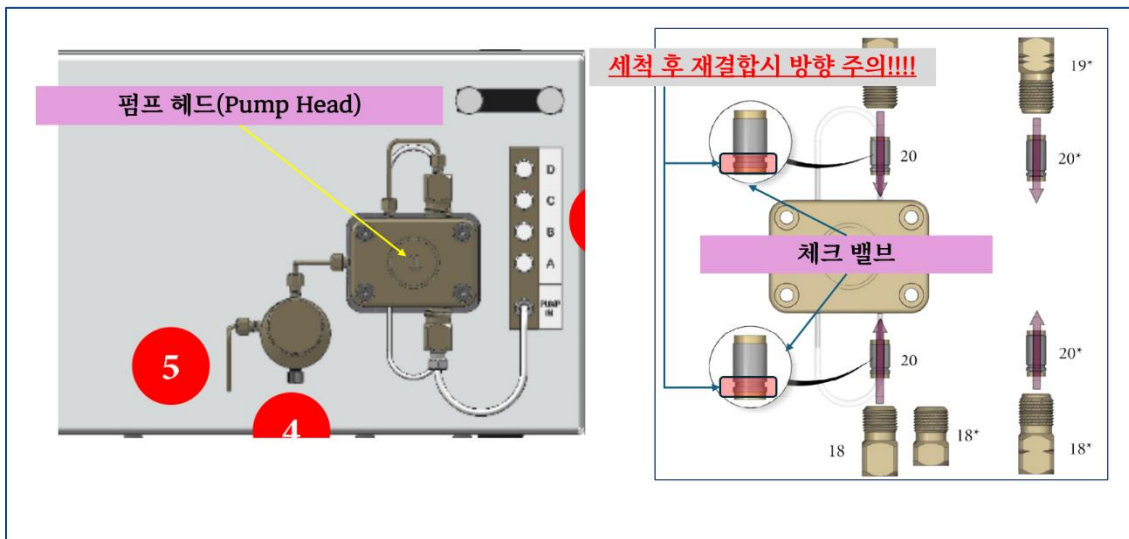


9.1. 체크밸브 분해 및 세척

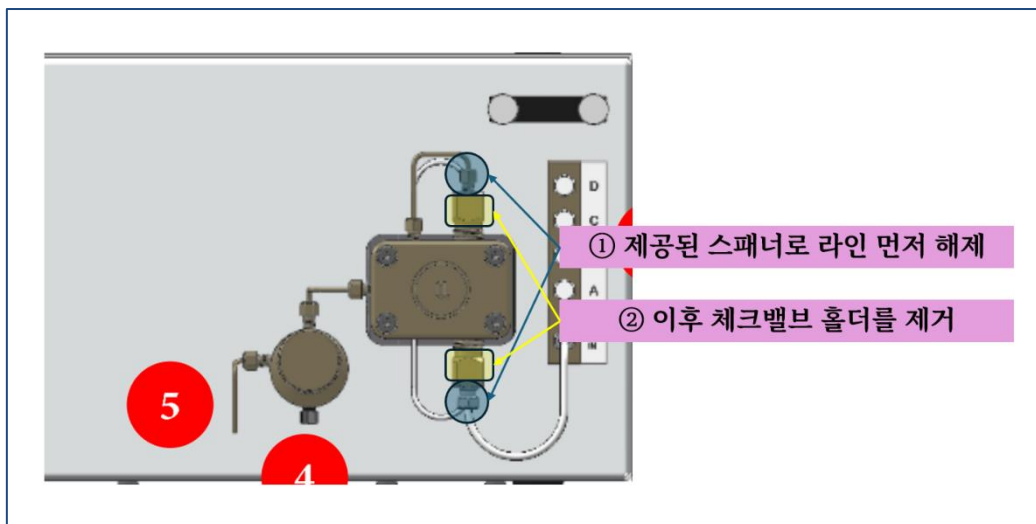
오랜 기간 펌프를 사용하는 경우, 특히 사용 후 물로 장비 세척을 제대로 하지 않는 경우 높은 확률로 체크밸브 및 펌프 소모품에 염이 쌓여 있을 수 있습니다. 체크밸브가 정상적으로 작동하지 않는 경우 대표적으로 나타나는 증상은 펌프의 압력이 허용치를 넘어 흔들리는 것입니다.

일반적으로 펌프의 압력은 1 bar 이내로 흔들리며 압력이 100 bar 이상일 경우 약 2.5 ~ 3 bar 정도의 흔들림이 허용됩니다. 하지만 위 값을 넘어 압력이 흔들린다면 높은 확률로 새는 곳이 있거나 체크밸브가 제대로 작동하고 있지 않음을 의미합니다. 이 경우 체크밸브를 세척해 문제 해결을 시도해볼 수 있습니다.

압력이 정상적으로 잡히지 않는 펌프의 펌프 헤드에는 아래와 같이 위 아래 총 두개의 체크 밸브가 존재합니다.



제공된 스패너 공구로 라인 연결부를 먼저 해제한 뒤 체크밸브 하우징(홀더)를 제거합니다.



분해한 체크밸브는 물에서 초음파 세척을 30분 진행한 뒤 다시 결합합니다. 체크밸브를 결합할 때 두개의 체크 밸브 모두 홈이 아래 방향을 향하게 한 뒤 결합해야 합니다. 만약 체크밸브 세척 후에도 압력 흔들림이 해결되지 않는다면 체크밸브 또는 펌프 소모품을 교체해야 합니다.

9.2. 컬럼 재생

컬럼은 대표적인 크로마토그래프 장비의 소모품으로써 교체가 필요한 부품입니다. 지속적인 사용 역시 컬럼 노화 및 성능 저하의 원인이 되지만 주된 원인은 허용되지 않은 물질의 주입 등에 의한 오염입니다. 이온 교환 원리를 이용하는 이온 교환 컬럼은 대표적으로 소수성 물질에 의한 오염과 단백질 그리고 전이 금속에 의한 오염이 대표적인 오염원입니다.

이러한 오염에 의한 증상은 주로 다음과 같습니다.

1. 컬럼에 걸리는 압력 상승
2. 컬럼 분리능(Resolution) 저하
3. 피크 갈라짐 현상 발생

이러한 문제에 직면했을 때 컬럼을 교체하기 보단 컬럼의 재생을 시도해볼 수 있습니다.

각 컬럼 재생에 필요한 용액은 다음과 같습니다.

컬럼	용액 1	용액 2	용액 3
Sykam A01, A07	x10 농도의 이동상	1% Nitric Acid / Methanol	
Sykam A04, A05	x10 농도의 이동상	5% Acetonitrile	50% Acetonitrile
Sykam C01	x10 농도의 이동상	Acetone	
Sykam C06, C07	x10 농도의 이동상	10% Acetone	50%, 100% Acetone
Shodex YS-50	x5 농도의 이동상	이동상 / 아세톤 = 70: 30	

재생 과정은 다음과 같습니다.

1. 컬럼을 역방향(반대방향)으로 연결, outline은 폐액 혹은 비커
2. 유속은 컬럼의 기본 유속의 절반으로 설정
3. 신선한 초순수로 20분 세척
4. 용액1로 20분 세척
5. 신선한 초순수로 20분 세척
6. 용액2로 100분 세척
7. 용액 3으로 100분간 세척, 이때 용액2, 3이 같은 조성일 경우 천천히 조성을 증가시킴
8. 신선한 초순수로 20분 세척 후 이동상으로 30분간 세척

위 재생 과정을 시도한 뒤 표준품 분석을 시도합니다.

이때 컬럼의 성능이 향상되지 않는다면 컬럼을 폐기합니다.

10. 부록

본 부록을 통해 여러분에게 이온 크로마토그래피의 이론적 이해 및 장비에 대한 세부적인 이해를 기반으로 분석에 있어 몇 가지 도움을 드리고자 합니다.

10.1. 분리 원리

이온 크로마토그래피에 사용되는 컬럼은 크게 두가지 방식이 존재합니다.

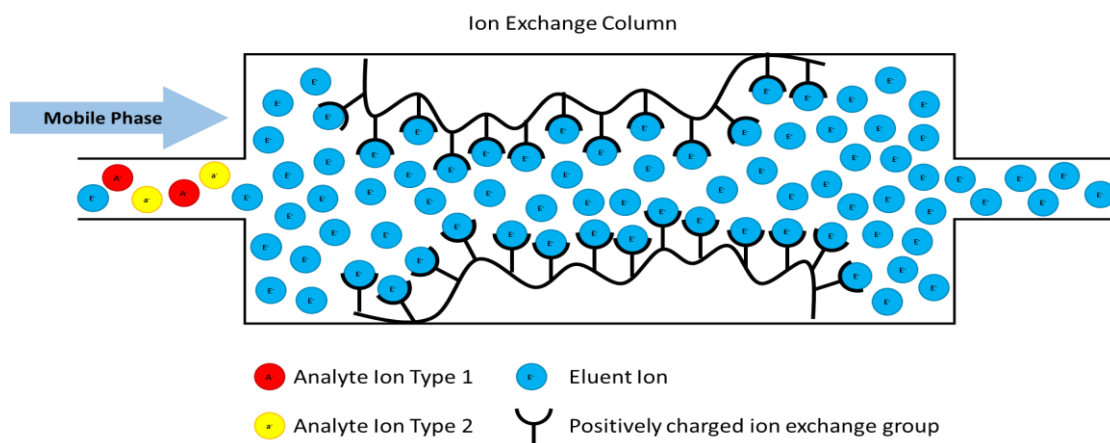
1. 이온 교환 컬럼
2. 이온 배제 컬럼

두 컬럼 모두 동일한 고정상을 사용하지만 각기 다른 교환 작용기와 교환 원리를 가집니다.

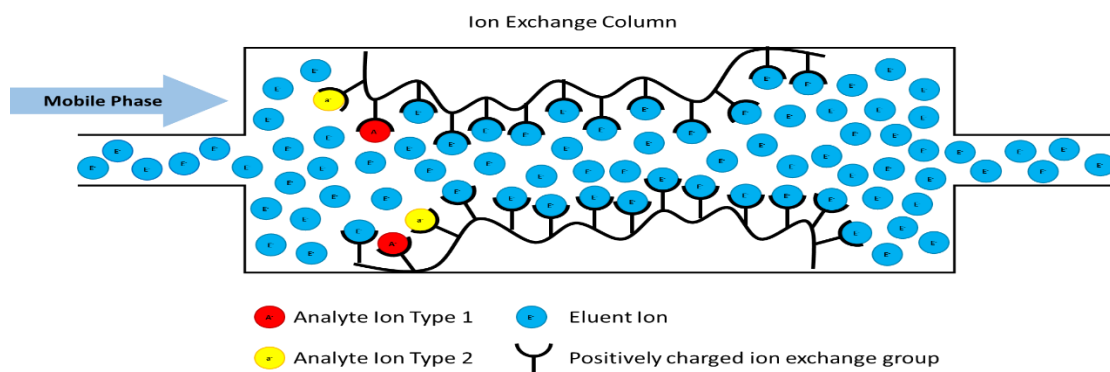
이온 교환 컬럼의 경우 일반적으로 샘플 내 존재하는 이온을 분리 및 검출하기 위해 보편적으로 사용되며

이온 배제 컬럼의 경우 유기산 등의 특수한 분석물을 분리하기 위해 사용됩니다.

보편적으로 사용되는 Sykam A07 컬럼이 이러한 이온 교환 방식을 사용하는 컬럼이며 분리 원리는 다음과 같습니다.



먼저 음이온 분리 컬럼의 경우 고정상이 양이온으로 대전돼 있으며 반대로 양이온 분리 컬럼의 경우 고정상이 음이온으로 대전된 상태입니다. 이때 오토샘플러가 샘플을 컬럼에 주입하면 양이온 혹은 음이온을 띄지 않는 물질은 그대로 컬럼을 통과하며 고정상의 극성과 반대되는 극성을 가지는 이온은 컬럼 고정상에 이온 결합하게 됩니다.



고정상에 결합된 분석물 음이온들은 지속적으로 흐르는 이동상 내의 음이온(탄산 이온 혹은 수산화 이온)과 고정상

10.2. 분석법 조정과 그에 따른 변화

이동상 종류, 농도, 유속 그리고 컬럼 오븐 온도는 기본적으로 제조사에서 해당 컬럼의 표준 이온 분리를 위해 설계해 최적화한 분리 조건입니다. 하지만 표준 이온을 제외한 특이 이온 혹은 과량 및 극 미량 이온 분석이 필요할 때 컬럼 교체에 앞서 이동상 조성 변경을 시도해볼 수 있습니다.

우리가 흔히 분석법(Method)라고 하는 것은 광범위한 변수를 아우르는 것이지만 이들 중 분석 결과에 유의미한 영향을 주는 인자들은 다음과 같으며 순서대로 분석에 큰 영향을 줍니다.

1. 이동상 종류
2. 이동상 농도
3. 이동상 첨가제
4. 유속 및 온도

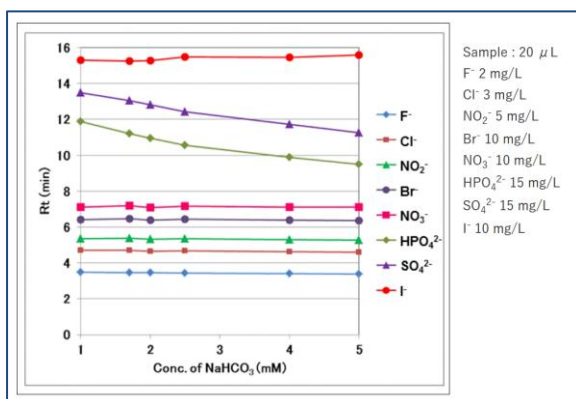
10.2.1. 이동상 종류

서프레스 기술의 등장 이전의 음이온 크로마토그래피 분석에는 다양한 이동상이 사용됐습니다.

이온 서프레이션 기술의 등장으로 최근에는 탄산염(Carbonate)과 수산화 이온(Hydroxide Ion)을 주된 용리 이온으로 사용하기 시작했습니다. 일반적으로, 대부분의 컬럼은 설계 단계부터 어떤 이동상에 최적화할지 결정됩니다. 따라서 이동상간 호환이 자유로운 양이온과는 다르게 음이온의 경우 이동상 종류를 변경하는 것은 매우 어려운 일입니다. 하지만, 탄산염을 기반으로 하는 이동상과 컬럼은 이러한 이동상 종류에 대해서 수산화 용액을 사용하는 컬럼보다는 자유로운 편입니다.

탄산염 이동상의 가장 기본은 탄산염을 통한 분리인데, 이때 이동상의 pH에 강하게 영향을 받는 물질들의 분리 향상을 위해서 중탄산염(HCO_3^-)을 첨가할 수 있습니다. 대표적으로 인산(Phosphate)은 이동상과 샘플 pH에 강하게 영향을 받는 이온인데, 중탄산염의 농도가 증가해 전체적인 이동상의 pH가 낮아지면 인산의 머무름 시간은 비교적 짧아지게 됩니다.

다음 그래프는 동일 농도의 탄산염 이동상에 첨가된 중탄산염 농도에 따른 용리 시간을 나타냅니다.

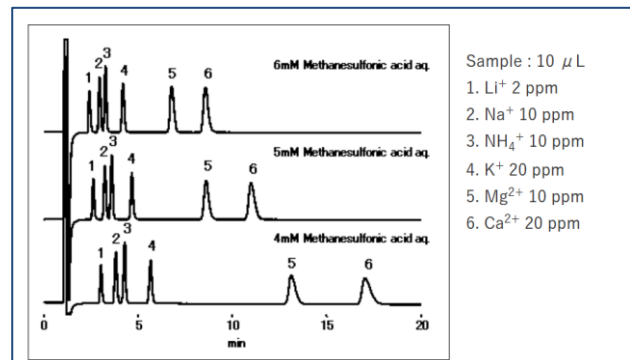
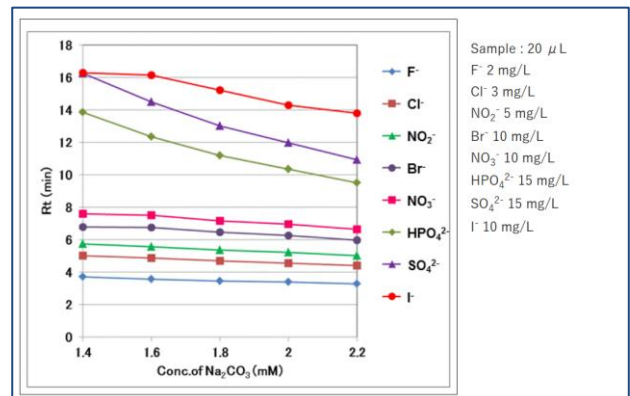


인산과 황산이 이동상의 pH(중탄산염 농도)에 크게 반응하는 것을 알 수 있습니다.

10.2.2. 이동상 농도

이동상 농도의 증가는 용리 이온 농도의 증가를 의미하며 이에 따라 모든 분석물 이온들의 용리 시간이 앞당겨지는 효과를 얻을 수 있습니다.

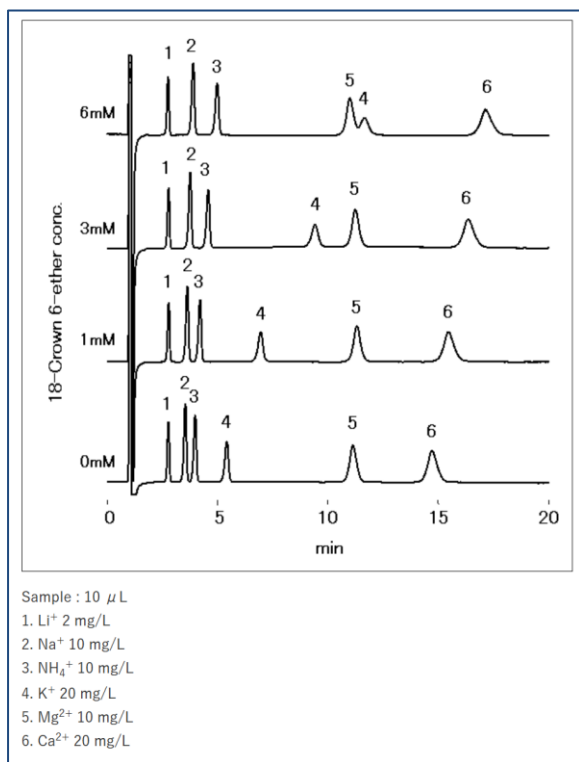
이때 각 이온이 컬럼 내의 고정상과 상호작용하는 정도에 따라 머무름 시간이 감소하는 정도가 달라지게 됩니다.



고정상과 약하게 결합하는 않는 불소와 염소 혹은 리튬과 소듐은 거의 변화가 없지만 고정상과 강하게 결합하는 황산이나 마그네슘 및 칼슘은 크게 변하는 것을 알 수 있습니다.

10.2.3. 첨가제

때때로 이동상에 극 미량의 첨가제를 첨가하는 것은 분리 향상에 큰 도움을 줍니다. 대표적으로 음이온 이동상에서는 티오시안 이온(Thiocyanate)과 p-hydroxy benzonitrile이 사용되며 양이온 이동상에는 18-크라운-6 에테르(18-Crown-6 Ether)와 옥살산(oxalate)이 사용됩니다. 이들의 작용 구조는 일반적으로 특정 분석물질의 이온 특성을 이용하는데, 티오시안 이온의 경우 극성 이온인 아질산(Nitrite), 질산(Nitrate), 브로민화 이온(Bromide)들의 피크 분리 시간과 피크 대칭성 향상에 큰 도움을 줍니다. 또한 크라운 에테르는 1가 양이온의 머무름 시간을 증가시키며 옥살산은 2가 양이온들의 머무름 시간을 단축시킵니다. 특히 크라운 에테르는 암모니아와 포타슘의 용리 시간에 큰 영향을 주는데, 크라운 에테르 농도가 증가할수록 포타슘의 용리 시간은 길어지며 마그네슘 및 칼슘의 용리 시간은 소폭 감소합니다. 또한 크라운 농도의 증가는 $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ 분리도를 증가시킬 수 있습니다.



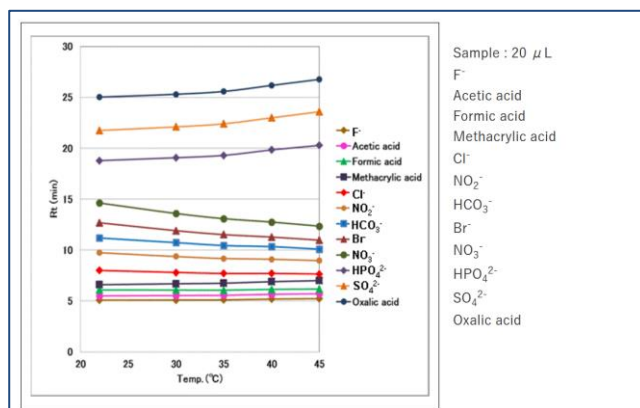
10.2.4. 유속 및 온도

유속(Flow)와 온도는 분석 결과에 큰 영향을 줄 수 있습니다. 일반적으로 유속을 증가시키면 분리도가 향상되며 전체적으로 빠른 분리가 가능합니다. 하지만 유속의 증가는 곧 컬럼 압력의 증가로 이어져 컬럼의 수명을 극단적으로 단축시키는 부작용이 있습니다. 따라서 일반적으로 유속을 정해진 값에서 증가시키는 것은 일반적으로 권고되지 않습니다.

하지만 일부 분석 조건에서는 유속을 낮춰 보다 나은 분리를 얻을 수 있습니다.

대표적으로 과량의 Na^+ 와 극 미량의 NH_4^+ 가 동시에 존재할 때, 예를 들어 5000:1 혹은 10000:1의 비율로 존재할 때 표준 분석 조건으로는 암모니아의 피크를 얻을 수 없습니다. 이 경우 유속과 이동상 농도를 낮춰 NH_4^+ 의 피크를 Na^+ 로부터 떨어뜨릴 수 있습니다.

컬럼 온도의 경우 다양한 변화가 관측되는데, 음이온 분석에서 일반적으로 황산, 인산, 아이오딘화 이온은 온도가 높아질 때 용리 시간이 늦어지며 반대로 불화 이온, 염소 이온, 질산 이온은 용리 시간이 빨라집니다.



NOTE

