

4. HPLC에서 시료의 전처리

HPLC분석전 시료 전처리는 시료의 오염을 막고 또한 저 농도의 시료를 요구하기 때문입니다. 이것은 HPLC칼럼을 보호하고 재현성과 감도를 향상시킵니다. 시료전처리 방법은 시료에 따라 다릅니다. 다음은 시료의 종류에 따른 전처리방법의 예입니다.

1) 필터(Filter)

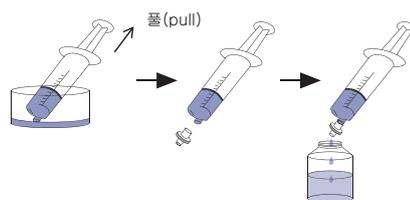
필터는 액체로부터 작은 입자의 고체성분을 제거하는 공통된 방법입니다. 콜로이드 물질, 침전물, 미세입자 등과 같은 오염물질로부터 칼럼의 손상을 막을 수 있어 수명을 연장시킬 수 있습니다. 아울러 분석데이터의 재현성을 개선할 수 있습니다. 시료 전처리 시 필터장치는 실린지 타입과 스피너 타입 등 두 가지 있습니다.

	실린지 필터 (Syringe Filter)	원심분리 필터 (Centrifugal Filter)
제품 이름	Cosmonice Filter	Cosmospin Filter
구성		
이용방법	실린지 끝에 필터를 쉽게 장착	사용하기 쉬운 원심분리 필터
타입	W (수용성) · S (지용성)	· 필터 세공 직경: 0.2 μm · 필터 세공 직경: 0.45 μm
필요한 장치	실린지 · 원심분리용	시료용기
페이지	80 페이지를 참조하세요	80 페이지를 참조하세요

Cosmonice Filter

사용법:

1. 원하는 필터와 실린지를 준비.
2. Cosmonice Filter를 실린지에 장착한다.
3. 필터에 시료를 채우고 실린지 플런저를 밀어 시료를 받는다.
4. 필터한 시료를 HPLC로 분석한다.

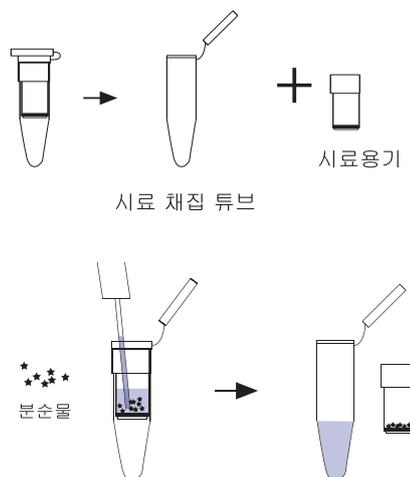


Cosmospin Filter

구성 : 시료 용기
시료 채집 튜브

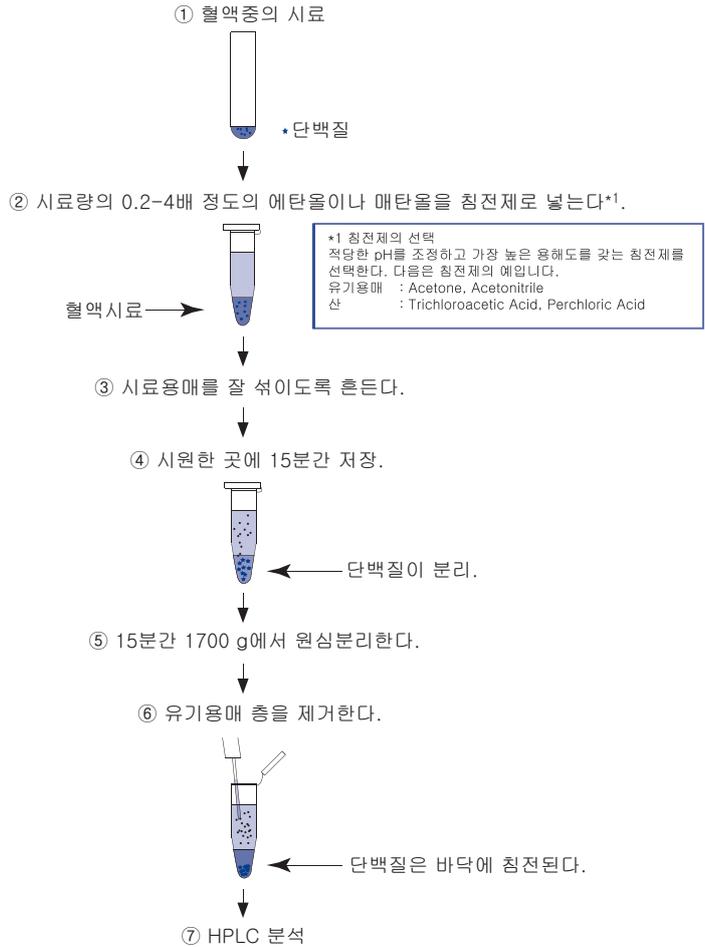
사용법:

1. Cosmospin시료 채집튜브 안에 Cosmospin시료용기를 끼워 넣는다.
2. Cosmospin시료용기 안에 시료를 넣는다
3. 시료채집 튜브의 뚜껑을 닫고 원심분리기에 장착한다.
4. 원심분리를 정지하고 시료용기를 제거한 다음 시료채집튜브 안에 있는 필터된 시료를 수거한다.
5. 필터된 시료를 HPLC로 분석한다.



2) 단백질 침전법

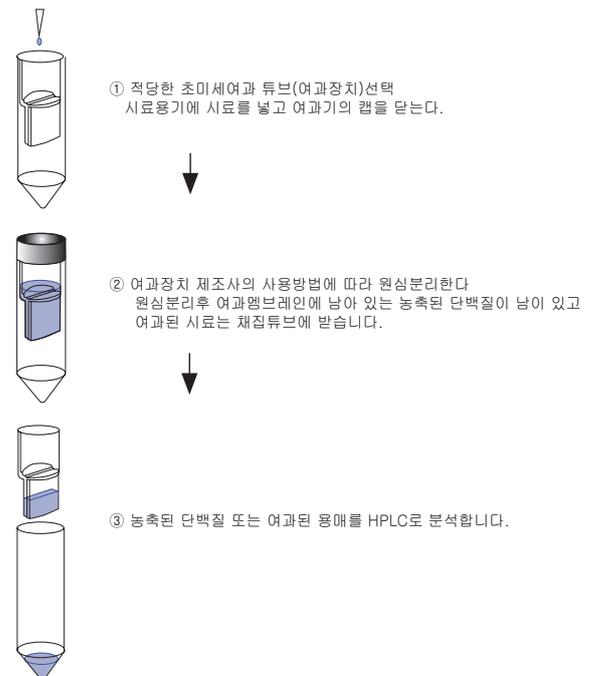
단백질 침전법은 시료를 분석하기 전 단계의 절차로서 단백질을 제거하는 공통적 방법입니다. 예를 들어 혈액 시료중의 약물농도를 분석할 때 첫 번째로 단백질을 제거해야 합니다. 한편 단백질은 분석에 방해됨은 물론 칼람에 흡착하여 칼람을 못쓰게 합니다. 그래서 유기용매로 침전시키는 방법, 등전점을 이용하여 침전시키는 방법, 염석법을 이용하여 단백질을 침전시키는 방법등 공통적으로 많이 사용하는 단백질 침전법입니다. 다음 그림은 유기용매를 이용하여 단백질을 침전시키는 것을 보여줍니다.



단백질 침전 절차:

3) 초미세여과(Ultrafiltration)

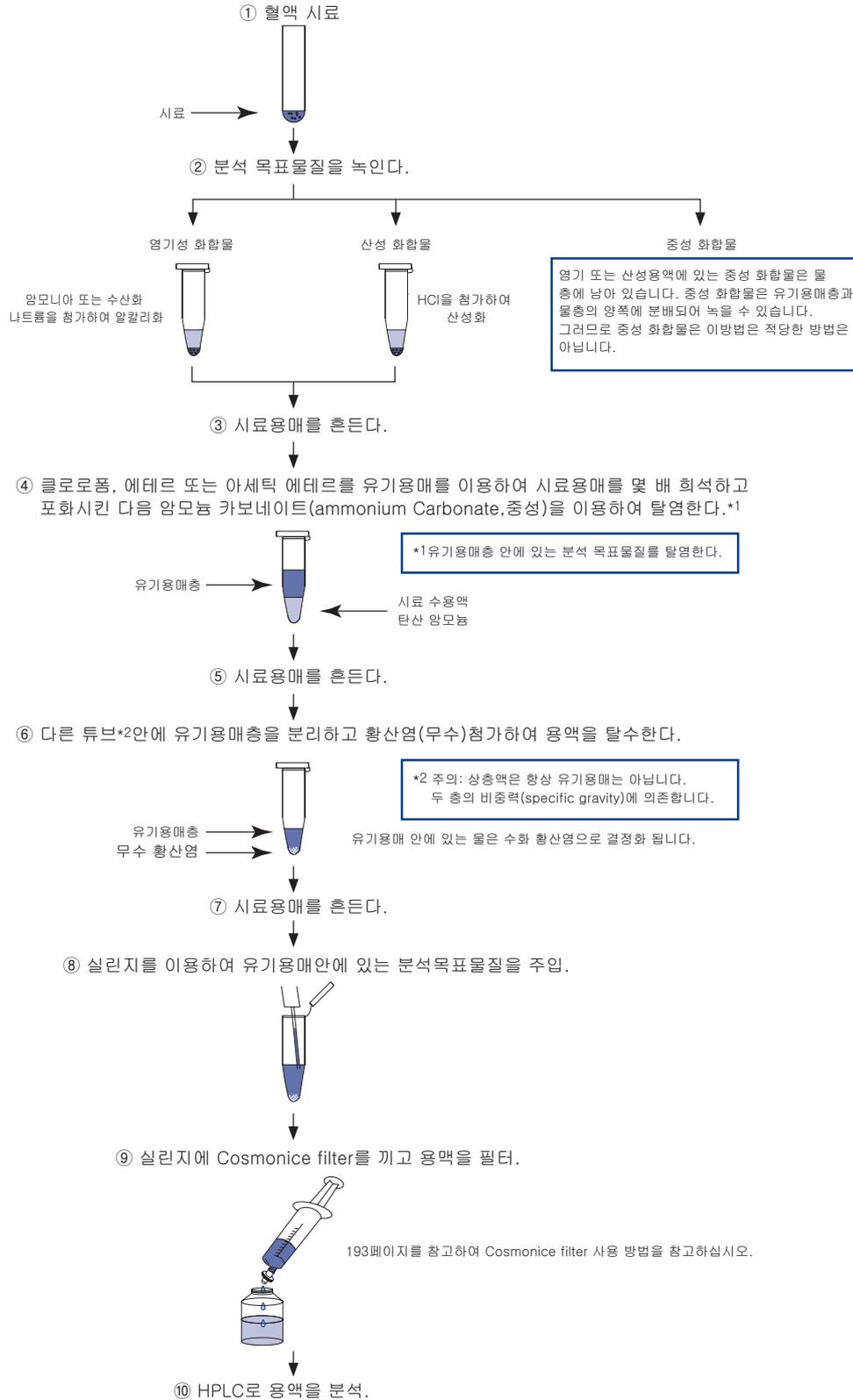
초미세여과는 정해진 미세공을 갖는 반투과막을 통하여 여러 거대분자 또는 단백질을 농축하는 방법입니다. 초미세여과는 혈액중의 혈청이나 프라즈마와 같은 고농도 단백질을 저농도화 또는 제거하며 소변 시료중의 단백질 제거, 탈염 등, 시료전처리를 위한 응용 방법입니다. 다음 그림은 초미세여과 절차를 보여줍니다.



초미세여과 절차:

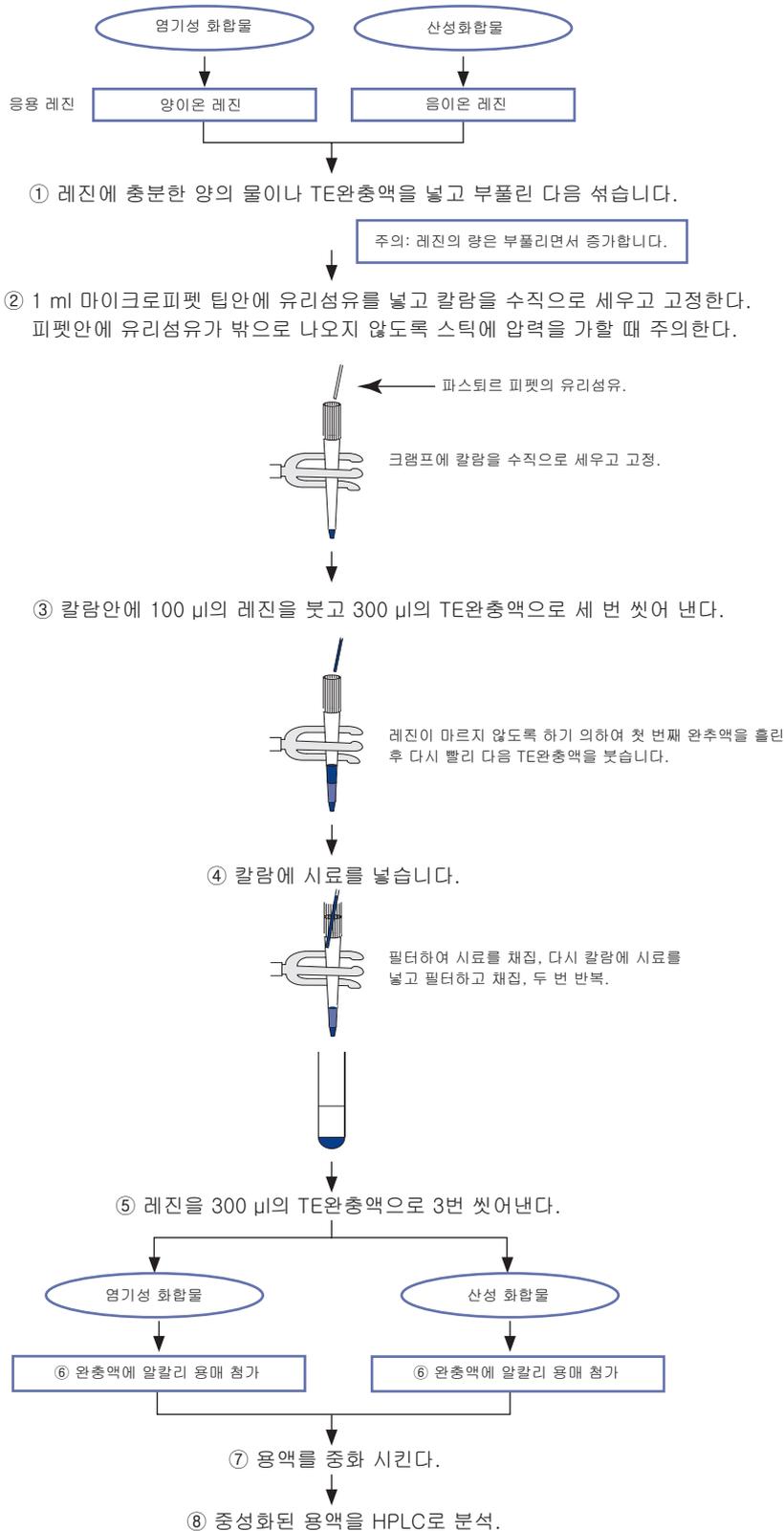
4) 용매추출방법

용매추출은 보통 물과 유기용매, 잘 안섞이는 두 가지 용매로서 용해도가 똑같이 않은 화합물의 분리에 사용하는 방법입니다. 이 방법은 분석감도를 높일 때 또는 높은 친유성 화합물의 시료의 농도를 높일 때 사용하는 방법입니다. 완충액은 적당한 pH를 맞추어 시료에 첨가하며 분석 목표 물질은 에테르나 클로로폼과 같은 유기용매를 이용하여 추출합니다. 그러나 분석목표물질에 단백질이 있을 때 이 용매추출 방법은 사용할 수 없습니다.



5) 이온교환법

용매추출법으로 하면 유상액화하기 어렵기 때문에 이온교환 레진을 이용하여 시료 전처리 하는 방법이 효과적입니다. 예비 실험은 정확한 실험 조건을 구하고 이온교환 레진을 선택하기 의해서 필요합니다. 예를 들면 음이온을 띤 화합물은 DEAE 셀로로오즈 레진과 같이 양이온 교환 레진에 시료가 흡착합니다. 그러므로 분석목표물질 안에 있는 불순물로서 레진에 약하게 흡착하는 목표로 하지 않은 불순물들을 세척하여 제거 후에 완충액의 pH를 조정하거나 완충액의 염농도를 증가시켜 시료를 재집합니다.



I HPLC 칼럼

II 초고속 크로마토그래피

III 분취용 충전물

IV 관연제품

V 용기자료

VI 기술노트

VII 목록

6) 고체상 추출법(Solid Phase Extraction)

