

글로우방전을 이용한 액체크로마토그래피 검출기 개발을 위한 기초특성연구

이현주 · 김효진*

동덕여자대학교 약학과

(Received June 28, 1995)

Fundamental Studies of the Electrical Characteristics of the Glow Discharge for the Development of HPLC Detector

Hyun Joo Lee and Hyo Jin Kim*

College of Pharmacy, DongDuck Women's University, Seoul 136-714, Korea

Abstract—The plasma oscillation has been observed in an argon pressure between a tungsten anode and cathode consisting of an aqueous conducting solution. The effects of experimental parameters on the electrical characteristics of the glow discharge have been studied. The experimental parameters include the anode-cathode distance, pressure, methanol flow rate, and cathode materials. The glow discharge with liquid cathode and solid anode showed the potential sensitive detector for HPLC

Keywords □ HPLC detector, glow discharge, electrical characteristic

각종 환경 및 생체시료분석에 많이 사용되는 각종 기기의 성능은 시료들을 정확하고 미량으로 감지할 수 있는 핵심부분인 센서의 개발과 이를 통하여 얻어진 신호를 최종적으로 전기적으로 처리할 수 있는 전자 및 기계분야의 공동연구가 필수적이다. 현재 환경 및 생체시료의 분석은 가장 큰 미지의 연구분야로 남아있고 이를 이상적으로 분석할 수 있는 방법에 관한 연구가 많이 진행되고 있다. 즉 pg이하의 농도를 정량 및 정성분석할 수 있는 저렴하고 간편한 기기의 개발이다. 이를 위하여는 가장 핵심부분은 역시 그 시료들을 감지하는 센서부분이며 그 다음은 이것을 어떠한 신호로 변환하여 최종적으로 전기적인 신호로 처리하여 간단히 디지털이나 컴퓨터로 읽는 기술분야이다. 이러한 센서들은 실제 혼합시료중에서 원하는 물질을 다른 분리기술이 결합되지 않고 분석하는 방법과 각종 크로마토그래피의 기술과 결합하여 최종적으로 분리된 물질을 감지하는 일종의

검출기로 구분할 수 있다.

현재 환경 및 생체시료의 분석에 가장 많이 사용되고 있는 크로마토그래피기술은 시료가 용액상태인 관계로 HPLC가 많이 사용되고 있다. 이러한 HPLC는 시료주입방법, 분리컬럼, 검출기 및 신호처리기술등의 종합적인 기술의 개발로 가장 널리 사용되고있는 분석기기로 알려져 있다. 이중에서 최근의 연구경향은 보다 미량성분을 정확하게 그리고 성분을 확인할 수 있는 저렴하고 간편한 검출기의 개발이다. 이러한 검출기의 개발은 특히 용액중에서 극미량성분을 분석하여야하는 환경이나 생리활성물질 분야에서 필수적이다. 현재 HPLC검출기로 많이 사용되고 있는 refractive index 검출기는 감도가 좋지 않거나 온도에 따른 변화가 매우 심하며, UV나 fluorescence 검출기등은 감도는 좋지만 이러한 빛을 흡수하거나 방출하는 특수한 물질의 분석에 사용된다. 매우 감도가 좋은 pulsed amperometric detector는 환경분야에서 분석이 많이 요구되는 carbohydrate인 경우 용액이 염기성이어야하며 이 경우 시료의 변형을 가져올

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

수 있다. 최근 질량분석기가 LC의 검출기로 많이 사용되고 있으나 가격이 비싸며 감도가 좋지 않거나 크로마토그램에서 각 피이크를 구분하기 위하여 수많은 데이터를 저장하거나 분석하여야 한다. 때로는 한 질량을 monitoring 하다보면 실제 분석에 필요한 전체적인 화합물의 구조에 관한 정보를 얻지 못한다.

최근 이러한 단점을 보완할 수 있는 방법으로 글로우 방전에서 측정되는 고주파 플라즈마진동을 이용하여 각종 크로마토그래피 검출기 개발에 관한 연구가 활발하다. Mikio¹⁾ 등은 처음으로 글로우방전에서 측정되는 플라즈마진동을 이용하여 GC에서 분리되는 유기화합물들을 분석하는 시스템에 관한 연구를 수행하였고, Cook²⁾ 은 본 시스템에 영향을 미치는 방전거리, 압력, 전극의 모양 등에 관한 관계를 연구하였다. Smith^{3,4)} 등은 이러한 시스템이 각종 유기물의 정성분석에 이용될 수 있는 가능성에 관하여 연구하였다. Zhu⁵⁾ 등은 플라즈마진동의 발생원인과 이에 관한 생성원리를 SPAN이론을 이용하여 설명하였다. 본 연구실에서도⁶⁻⁸⁾ 기체크로마토그래피의 검출기로서 생체시료중의 약물 분석에 응용하기 위한 기초 연구와 혈액중의 tyropramid 분석을 연구하였다. 그러나 이러한 연구들은 저기압 가스상태에서 플라즈마진동을 이용하였으며 용액시료의 분석에 사용된 바 없으므로 본 연구에서는 HPLC검출기의 개발을 위하여 용액이 글로우방전 cell에 유입되었을 때 일어나는 전기적인 변화와 이에 영향을 주는 방전전극의 종류, 방전거리, 압력에 관한 상관관계를 연구하였고 용액시료의 유입시 플라즈마진동을 측정할 바 이를 보고하고자한다.

discharge에서 검출기로 사용하기 위한 기초실험으로 HPLC를 이용하여 이 검출기에 액체시료를 주입되도록 하였다(Fig. 1). 실험에 사용한 HPLC는 PERKIN-ELMER Series 100 Pump(Norwalk, CT, USA) 이며 이동상은 HPLC용 메탄올을 사용하였다. 방전가스로는 고순도헬륨(99.995%, 한국가스, 서울, 한국)을 사용하였으며 가스용량의 조절은 마이크로미터를 가스탱크와 검출기의 중간에 설치하여 조절하였다. 검출기의 배출구에 해당되는 아랫부분은 L자형의 1/4 inch I.D. 관을 사용하여 진공펌프와 연결하였으며 압력을 측정하기 위하여 Gransville phillips Model 275 convectron (Colorado, USA) 압력계지를 사용하였다. 진공을 유지하기 위하여 우성진공의 300 l/min 용량의 진공펌프를 사용하였다. 검출기의 방전을 위하여 IMACE(서울, 한국, 최대 2000 V, 150 mA) power supply를 사용하였다.

검출기의 제작 - Fig. 2는 액체크로마토그래피에 적용할 검출기의 개략도이다. 검출기는 테프론으로 제작하였으며 전체적인 크기는 8 × 5 × 5 cm³(가로×세로×높이)이며 6 × 5 × 5 cm와 2 × 5 × 5 cm의 두 부분으로 제작하였고 두 부분은 나사를 이용하여 결합이 가능하게 하였다. 왼쪽 부분에는 지름 1cm의 구멍을 내어 음극을 설치하였고 필요에 따라서는 음극의 교체가 가능하게 하였다. 검출기 안쪽에 위치한 음극 끝부분에는 HPLC로부터 시료가 유입될 수 있도록 1/16" 구멍을 내고 방진 고무를 사용 진공을 유지할 수 있도록 하였다. 검출기의 아랫부분에는 시료나 가스가 배출될 수 있도록 1/4" 구멍을 내고 설치하였다. 검출기의 오른쪽부분에는 양극과

실험방법

전체 system의 구성 - 플라즈마 진동을 liquid

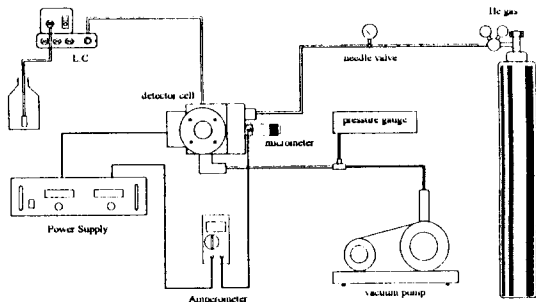


Fig. 1 - Schematic diagram of HPLC-GDL Detector

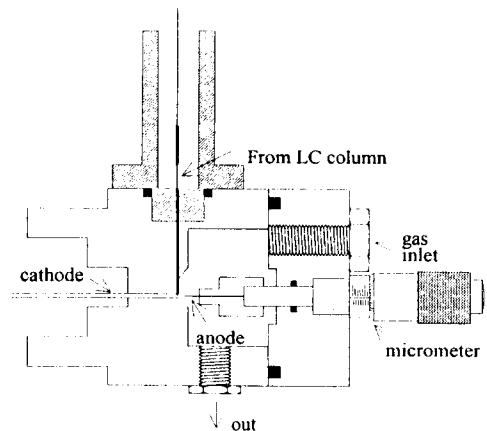


Fig. 2 - Detector cell for HPLC

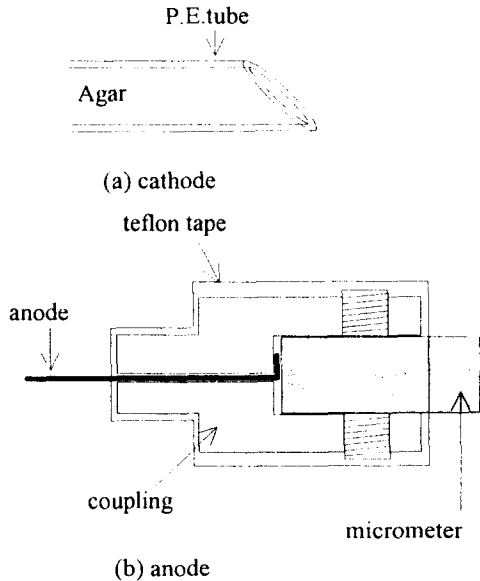


Fig. 3 - Detailed coupling method for the anode and cathode

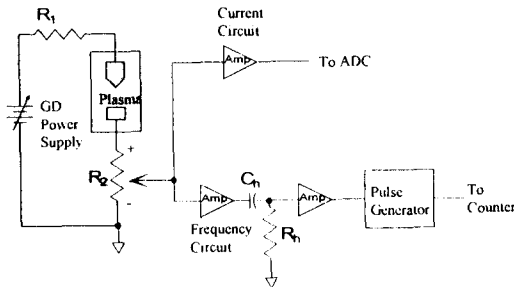


Fig. 4 - Circuit diagram of the current and plasma oscillation measurement

음극과의 거리를 외부에서 변화시킬 수 있도록 마이크로미터 (Mitutoyo corporation, Japan)를 양극에 부착하였다.

Fig. 3은 음극과 양극의 실제 결합모형도이다. 음극은 일반적으로 고체인 구리나 백금을 사용지만 본 연구에서는 agar를 사용하여 용액상태의 음극을 제조하여 사용하였다. 음극은 마이크로미터와 백금 음극을 연결한 후 나사로 체결하여 전기적인 접촉이 이루어지도록하였다.

전류 및 Oscillation 측정 circuit의 제작 - 플라즈마 내에서 일어나는 전류의 변화 및 진동현상을 전기적 신호로 바꾸어 주기 위하여 Fig. 4과 같은 회로를 제작하였다. 본 회로는 기본적으로 본 연구실에서 기체크로마토그래피의 검출기 회로와 동일하나 진동의 안정도를 증가시키기 위하여 광신호 감응 회로를 사용하였다. 음극과

전원 사이에 10 K Ω 의 가변저항을 연결하여 플라즈마 내의 진동에 의한 전류 변화를 전압으로 바꿔주었다. 이때 진동 파형을 기록하기 위하여 이곳에서의 전압 변화를 디지털 저장 파형기(오실로스코프 : HITACHI, Japan, VC-6045, 100 MHz storage)에 저장하였다. 또한 진동 주파수를 측정하기 위해서는, 다시 high pass filter에 통과시켜서 직류 성분을 제거하고, 연산 증폭 IC를 이용하여 신호를 증폭하였다. TTL logic IC로써 이들 진동 신호에 해당하는 주파수의 펄스 형태로 바꾸어 개인용 컴퓨터에 신호를 보내 컴퓨터 내부에 장착시킨 counter로 플라즈마 진동 주파수를 측정하였다. 또한 프로그램으로 작성하여 컴퓨터에서 읽은 값들을 화면에 보여주고 기록할 수 있게 하였다.

결과 및 고찰

방전 압력 및 방전거리에 대한 영향 - 현재까지의 연구에 의하면 방전에 영향을 끼치는 인자들은 방전전압, 압력, 전극 간의 거리, 전극의 재질 및 모양 등이다. 방전에 영향을 미치는 방전압력과 거리를 변화시키면서 글로우방전의 전류와 전압관계에 대하여 측정하였다. 일반적으로 기체크로마토그래피의 검출기에 적용한 글로우방전은 1에서 10 torr정도의 저기압에서 외부시료의 변화에 대한 전기적인 변화를 측정하였지만 액체크로마토그래피에 적용시키기 위하여는 압력을 올려 대기압에서 실험을 하여야 한다. 따라서 방전압력을 저기압에서 대기압까지 변화시키면서 이에 대한 방전효과를 살펴보았다. Fig. 5(A)는 비교적 낮은 압력인 10에서 200 mbar압력에서 방전 전압을 420 V에서 650 V까지 증가시킬 때 측정되는 방전 전류의 변화이다. 일정 전압에서 방전 압력이 증가할수록 방전전류는 증가하였는데 이러한 현상은 방전관의 압력이 증가할수록 가스밀도가 높아지게 되고 따라서 이온화 현상이 증가하게 되어 전류가 증가하게 된다. 그러나 방전 압력이 10 mbar와 50 mbar로 증가시 500 V 방전 전압에서 방전 전류는 각각 0.40 mA와 0.70 mA인데 반하여 방전 압력이 100 mbar에서 200 mbar로 증가시에는 방전전류의 증가가 거의 없었다. 이러한 이유로 방전 가스의 밀도 변화에 대한 방전 전류의 증가가 10-50 mbar일 때가 상대적으로 높은 압력인 100 mbar에서 200 mbar일 때보다 큰 것을 보여준다.

Fig. 5(B)는 방전 압력이 대기압에 가까운 400

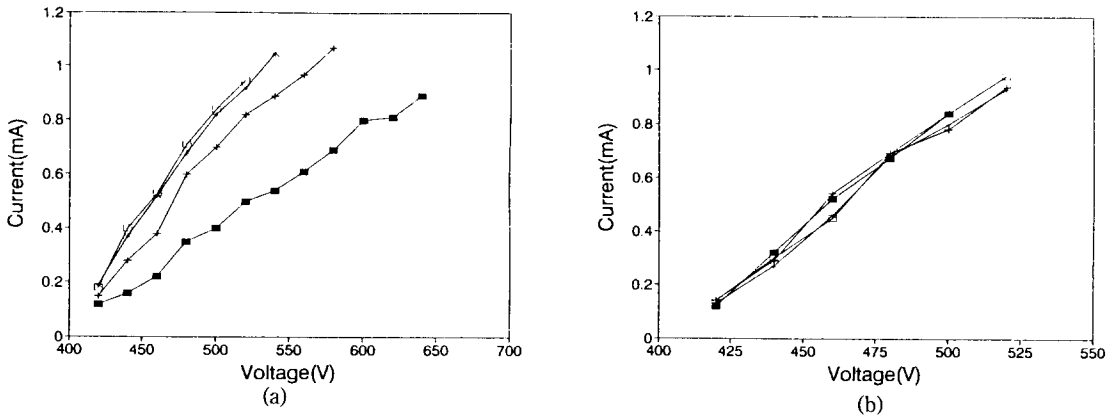


Fig. 5— Effect of pressure on the current -voltage characteristic curve (A) (■) 10 mbar (+) 50 mbar (*) 100 mbar (□) 200 mbar (B) (■) 400 mbar (+) 600 mbar (*) 800 mbar (□) 1000 mbar

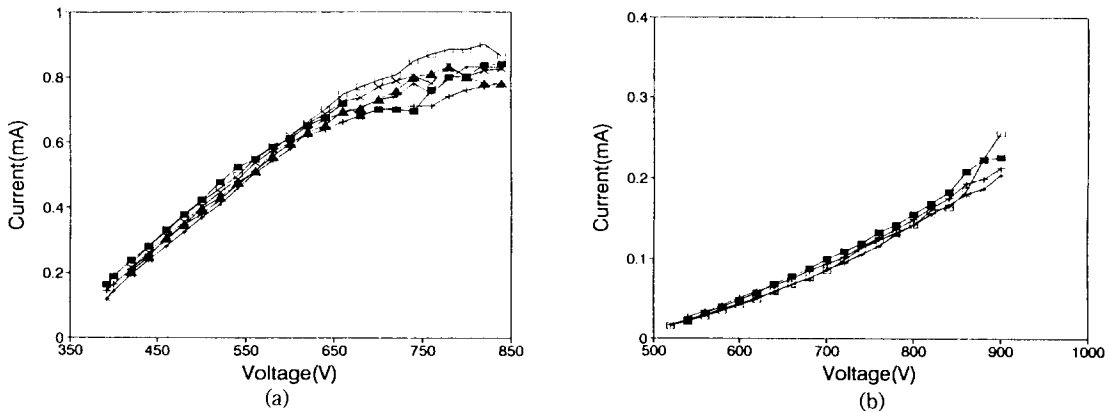


Fig. 6— Effect of discharge distance on the current - voltage characteristic curve (A) at 50 mbar (■) 2 mm (+) 3 mm (*) 4 mm (□) 5 mm (×) 6 mm (▲) 7 mm (B) at 1000 mbar (■) 2 mm (+) 3 mm (*) 4 mm (□) 5 mm

mbar에서 1000 mbar까지의 방전 전압에 대한 전류의 흐름을 측정한 그림이다. 방전전압은 420 V에서 520 V까지 변화시켰을 때 방전압력에는 거의 상관없이 방전 전류는 0.1 mA에서 1.0 mA까지 증가하였다. 따라서 대기압에 가까이 갈수록 전압의 증가로 인한 전류의 증가는 차이가 없다.

Fig. 6(A)과 Fig. 6(B)는 방전 거리의 변화에 따른 전류와 전압의 상관관계를 낮은 압력인 50 mbar와 대기압에 가까운 압력인 1000 mbar에서 측정한 그림이다. 일정 방전 전압에서 방전 거리에 대한 전류의 변화는 크게 나타나지 않았으며 일반적으로 방전 전압이 증가하면 전류의 변화폭은 컸다.

용매주입의 영향 - Fig. 7는 HPLC를 통하여 용매인 메탄올을 흘렸을 때 전류-전압관계로서 Fig. 7(A)는 50 mbar 정도의 낮은 압력에서, Fig. 7(B)는 대기

압에 가까운 1000 mbar에서 실험하였으며 방전거리는 4 mm이다. 이렇게 방전관으로 메탄올이 유입되었을 때 일정 전압에 대하여 전류가 감소하는 것은 방전관내에 용액상태의 물질이 유입됨으로서 방전가스의 이온화에 영향을 주기 때문이라 생각된다. 그리고 낮은 압력인 경우 유입되는 메탄올의 양에 따라 방전 전류가 변화를 하지만 1000 mbar인 경우에는 거의 변화하지 않았다.

액체음극에 의한 방전 - GC인 경우 시료가 가스이지만 HPLC인 경우는 액체이기 때문에 용액으로부터 방전시 발생하는 수소등을 제거할 목적으로 금속전극대신 Agar를 사용하였다. 방전 거리는 Agar가 구리에 비해서 상당히 전도도가 떨어지기 때문에 가능한 두 전극 사이를 가깝게 놓고 하였다. 방전의 색은 노란색이었으며 표면이 금속 전극의 경우보다 균일하지 않아서인지

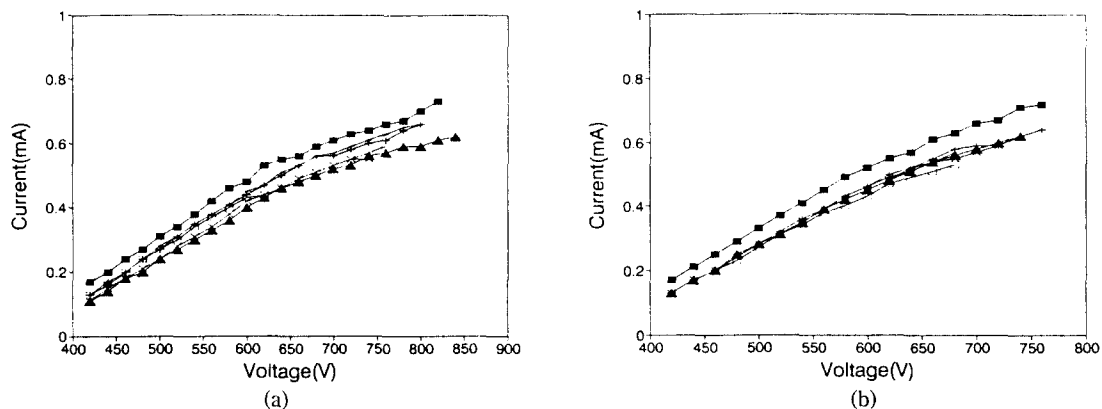


Fig. 7— Effect of methanol flow rate on the current -voltage characteristic curve (A) at 50 mbar, 4 mm gap (■) 0 ml/min (+) 0.05 ml/min (*) 0.10 ml/min (□) 0.15 ml/min (×) 0.20 ml/min (▲) 0.25 ml/min (B) at 1000 mbar, 4 mm gap (■) 0 ml/min (+) 0.05 ml/min (*) 0.10 ml/min (□) 0.15 ml/min (×) 0.20 ml/min (▲) 0.25 ml/min

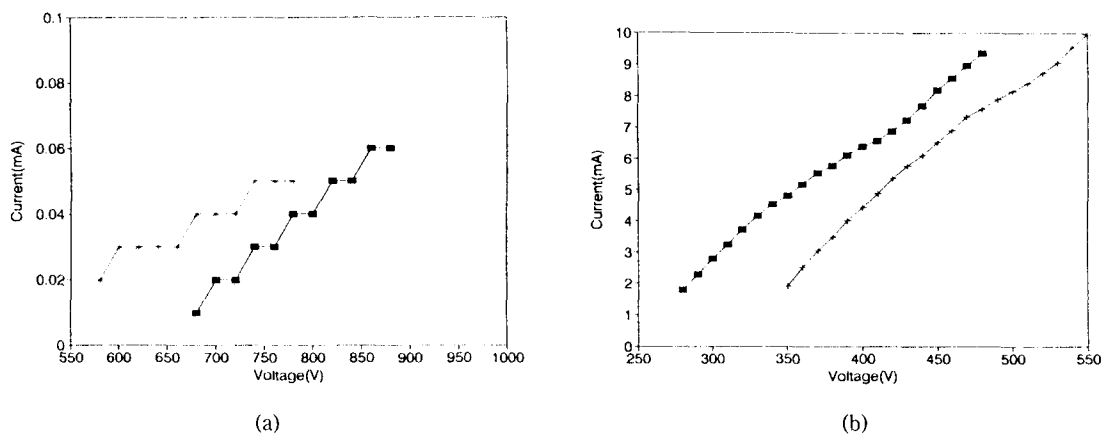


Fig. 8— Effect of cathode material on the current -voltage characteristic curve at two different electrode gap (A) Agar cathode (■) 1 mm (+) 2 mm (B) Copper cathode (■) 1 mm (+) 2 mm

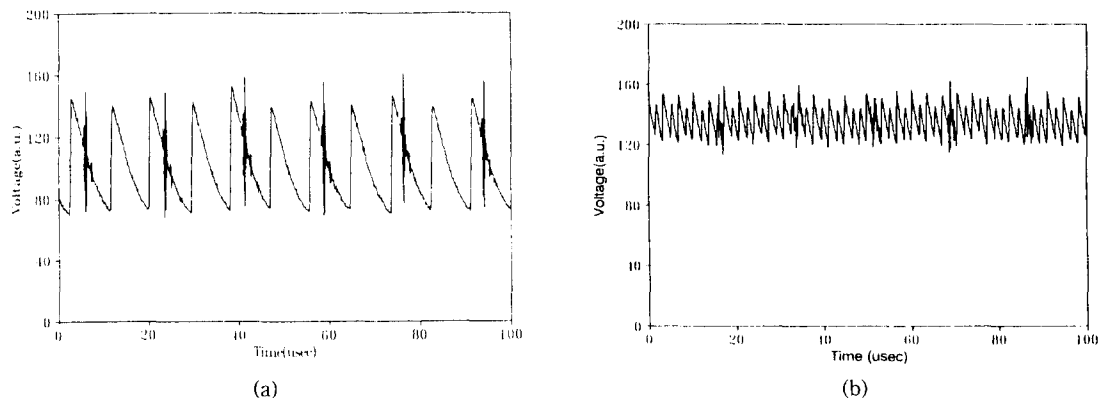


Fig. 9— Plasma oscillation measured at atmosphere pressure (A) agar: voltage 1150V, current 0.03 mA (B) buffer: voltage 1000V, current 0.06 mA

불안정한 방전을 보이기도 하였다. Fig. 8은 동일실험 조건에서 음극을 구리와 Agar로 하였을때의 전류-전압 곡선으로 구리인 경우 상대적으로 낮은 방전전압에서 높은 전류가 측정되었다.

플라즈마 진동의 관찰 - Fig. 9(A)는 방전 검출기에서 측정된 플라즈마 진동을 파형저장 오실로스코프로 측정 한 그림이다. 이때 방전 조건은 전압 1150 V, 전류 0.03 mA이다. 처음으로 대기압에서 He 가스를 이용하여 측정된 플라즈마 진동의 진동수도 수백 KHz 정도이며 Ar 가스와 저기압인 0.5 torr에서 측정된 oscillation과 비슷하였다. 특징적인 것은 이 진동수의 2배 정도되는 일종의 잡음이 함께 측정되었으며 이것은 power supply에서 오는 잡음이라 생각한다. 플라즈마 진동이 안정하게 측정되는 방전 조건은 전류는 약 0.01-0.06 mA, 전압은 800-1000 V이며 때로는 1300 V의 높은 압력에서 측정되기도 한다.

Fig. 9(B)는 컬럼을 통하여 용매를 유입하였을 때 플라즈마 진동의 변화를 오실로스코프로 측정 한 그림이다. 전압은 1000 V, 전류는 0.06 mA이며 가스 상태의 방전에 비하여 매우 높은 진동수인 1 MHz 정도가 측정되었고 진폭도 감소하였다. 따라서 이러한 변화를 크로마토그램으로 나타낼 경우 용액 시료를 분석할 수 있으나, 측정되는 주파수가 GC의 수백 KHz에서 MHz 로 높아짐에 따라 이러한 진동수의 변화를 측정할 수 있는 circuit의 제작이 요구된다.

결 론

본 실험은 글로우방전을 이용한 HPLC 검출기 개발 연구로서, 이를 위하여 방전 Cell을 설계 주문 제작하였으며 HPLC와의 interface를 통하여 전체적인 시스템을 제작하였다. 방전시 측정되는 전류나 oscillation의 측정을 위하여 회로를 제작하였고 플라즈마진동을 측정하기 위하여 오실로스코프를 사용하여 측정하였고 필요한 경우 RS-232를 사용하여 컴퓨터로 저장할 수 있도록 하였다. 기초실험을 위하여 먼저 양극과 음극 재질을 고체인 구리와 Agar로 나누어 방전거리, 배탄율 용매의 영향등에 관한 비교실험을 하였으며 용액을 주입시 플라즈마진동의 변화를 측정하였다. 따라서 HPLC등을 이용하여 실제시료를 주입하여 검출한계, 검량선, 재현성등에 관한 연구를 계속 수행할 예정이다.

감사의 말씀

본 연구는 1994년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 자유공모과제의 지원 (01F0283)으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Kuzuya, M. and Piepmeier, E. H.: Oscillating-plasma glow discharge as a detector for gas chromatography, *Anal. Chem.* **63**, 1763 (1991).
- 2) Cook, B. and Piepmeier, E. H.: Frequency, current and amplitude maps of oscillating-plasma glow discharge GC detector, *Anal. Chem.* **66**, 1249 (1994)
- 3) Smith, D. L. and Piepmeier, E. H.: Fingerprint identification of organic compounds using an oscillating plasma glow discharge detector for gas chromatography, *Anal. Chem.* **66**, 1323 (1994).
- 4) Smith, D. L. and Piepmeier, E. H.: Multivariate approach to fingerprint identification of organic compounds using an oscillating plasma glow discharge detector for gas chromatography, *Anal. Chem.* **67**, 1084 (1995).
- 5) Zhu Z. and Piepmeier E. H.: Studies of mechanisms in glow discharge oscillations, *Spectrochim Acta*, **49B**, 1787 (1994).
- 6) Kim, H. J., Mang, D. Y. and Kang, J. S.: Study on the plasma oscillation for gas chromatographic detector, *Analytical Science & Technology* **6**, No 4, 369 (1993)
- 7) Mang, D. Y., You, S. Y., Cha, B. C., Kim H. S. and Kim, H. J.: Fundamental study and development of oscillating-plasma glow discharge GC detector, submitted in *Microchemical Journal* (1995).
- 8) Mang, D. Y., You, S. Y., Cha, B. C., Kim H. S., Lee, G. H. and Kim, H. J.: Analytical characteristics of organic compounds using an oscillating plasma glow discharge detector for GC, submitted in *Microchemical Journal* (1995).