



# 불꽃 이온화 검출기를 사용하는 가스 크로마토그래피를 통해 바이오 디젤의 Glycerol 및 Glycerides를 결정하기 위해 온도 프로그래밍 가능한 Split/Splitless 및 Cool On-column 주입구 비교\*

## 응용 자료

### 저자

Matthew Giardina and  
James D. McCurry  
Agilent Technologies, Inc.  
2850 Centerville Rd  
Wilmington, DE 19808

### 개요

유럽 표준 EN 14105:2011-07은 가스 크로마토그래피를 사용하여 바이오 디젤의 free glycerol 및 잔존 mono-, di-, tri-acylglycerides 불순물을 정량화하기 위한 분석법입니다. 이 분석법에서는 "시료 주입의 수단으로 On-column injector 또는 그에 준하는 장치" 장치를 명시하고 있습니다. Cool On-column(COC)의 정량 정확성 및 정밀도가 뛰어나고 질량 차이(mass discrimination)가 최소화되기 때문에 특히, triacylglycerides 정량화에 있어서는 COC가 이상적인 선택안인 것으로 보입니다. 하지만, 이 응용 분야에 COC를 사용하는 경우 몇 가지 단점이 있습니다. 전처리한 시료의 바이오 디젤 농도가 상대적으로 높기 때문에 glycerol과 같은 조기 용리 화합물의 solvent focusing이 방해받게 되고, 외부 검량 표준물질과 비교했을 때 밴드가 넓어지고 머무름 시간이 변화합니다. 더 큰 문제는 금속 유지 간격을 사용할 때 분석법의 견고성입니다. 유지 간격에 대한 반복적인 주입으로 인해 분석법 제어 사양이 적은 수의 주입에 해당하는 요건도 충족하지 못하게 됩니다. 대안으로 온도 프로그래밍 가능한 split/splitless(TPSS) 주입구를 동등 성능인지를 조사했습니다. TPSS가 COC 주입구와 거의 동등한 농도 측정을 제공한다는 점이 결과를 통해 입증되었습니다. 또한, TPSS는 성능 제어 오작동을 제거하고 조기 용리 피크에 대한 solvent focusing을 제공하기 때문에 견고성이 COC 주입구의 견고성보다 훨씬 더 뛰어납니다.

\*As originally published in the Journal of Chromatographic Science: Giardina, M., McCurry, J.D. Comparison of Temperature Programmable Split/Splitless and Cool On-Column Inlets for the Determination of Glycerol and Glycerides in Biodiesel by Gas Chromatography with Flame Ionization Detection. *J. Chromatogr. Sci.*, (2016), 54(5): 683-688. (<http://chromsci.oxfordjournals.org/content/early/2016/02/26/chromsci.bmw015.abstract>)



**Agilent Technologies**

## 서론

바이오 디젤은 다양한 재생 가능한 식물 및 동물 지질에서 생산되는 연료입니다. 바이오 디젤은 주로 triacylglycerides를 에스테르 교환해 전처리한 지방산의 monoalkyl esters로 구성되어 있습니다. 유리 지방산을 alkyl esters로 전환한 다음 주요 반응 부산물인 free glycerol과 함께 fatty acid methyl esters(FAME) 형태로 monoalkyl esters를 생성하는 methanol로 염기 촉매 에스테르 교환하는 2단계 산 촉매 전처리 프로세스를 사용해 반응을 일으킵니다<sup>2</sup>. glycerol 및 잔존 methanol을 제거하기 위한 정화가 매우 중요합니다. 이러한 불순물이 부식 및 엔진 용착에 영향을 주어 연료 품질을 크게 떨어뜨리기 때문입니다. 다른 불순물에는 소량의 무반응 및 부분 반응 acylglycerides가 포함되는데, 이는 낮은 온도에서의 조작 능력을 낮춰 연료 품질에 영향을 미치기도 합니다<sup>3</sup>.

유럽 표준 EN 14105:2011-07은 EN 14213 및 EN 14214 품질 표준을 준수하는지 확인하기 위해 free glycerol 및 잔존 mono-, di-, tri-acylglycerides의 농도를 결정하기 위한 분석법입니다<sup>3</sup>. 이 분석법에서는 불꽃 이온화 검출기를 사용하는 가스 크로마토그래피를 사용할 것이 명시되어 있습니다. free hydroxyls(glycerol, monoglycerides 및 diglycerides)이 함유된 용질은 trimethylsilyl(TMS) 아날로그에 유리체 합성되어 휘발도는 높이고, 극성은 낮추고, 크로마토그래피 안정성은 개선합니다. 실릴화의 경우에도 휘발도가 다양한 분석물질을 포괄적으로

분리할 수 있습니다. 첫 번째 용리 화합물인 glycerol의 비점은 240°C<sup>4</sup>이며, 마지막 용리 화합물인 glycerol trionadecanoate의 예측 비점은 839°C입니다<sup>5</sup>. 약 30분 내에 triglycerides를 용리기 위해 분석법에서는 최대 400°C까지 프로그래밍 가능한 고온 컬럼을 사용할 것을 명시하고 있습니다. 실용성을 고려할 때 금속 또는 고온 polyimide 코팅 용융 실리카 컬럼을 사용해야 합니다. 분석법에서는 Cool On-Column(COC) 또는 이에 준하는 컬럼을 사용하여 질량 차이(mass discrimination)를 최소화하고 특히, 고비점물의 경우 정량 정확성을 최적화할 것을 권장합니다. COC 주입구가 이러한 분석에 매우 적합하지만, 비휘발성 오염물 축적으로 인한 막힘 현상이나, 머무름 차이나 컬럼 활동성으로 인한 시료의 변성을 포함해 내재적인 한계가 존재합니다<sup>6</sup>. 멀티모드 주입구(MMI)와 같은 온도 프로그래밍 가능한 split/splitless(TPSS) 주입구는 보다 다재다능하고 다양한 시료 주입 모드에서 사용할 수 있습니다. 저온 Splitless 모드의 경우 TPSS 주입구는 고온 split/splitless 주입구와 비교해 질량 차이(mass discrimination) 및 열 분해에 대한 민감성이 더 적다는 점에서 COC와 비슷한 결과를 생성할 수 있으며<sup>7,8</sup>, 유지하기가 더 쉽고 오염 임계값에 도달했을 때 컬럼 클리핑 대신에 주입구를 교체해야 합니다<sup>9</sup>.

이 연구에서는 바이오 디젤에서 free glycerol 및 acylglycerides를 결정하기 위해 COC에 준하는 대안으로서 MMI 사용을 조사했습니다. 두 가지 세트의

데이터를 수집했는데, 동일한 고온 금속 컬럼을 사용하여 하나는 COC 주입구에서 나머지 하나는 MMI에서 수집했습니다. 주입구 성능을 EN 14105:2011-07의 가이드라인에 따라 B100 바이오 디젤 표준 레퍼런스 물질 정성 및 정량 분석을 기준으로 비교했습니다.

## 실험

### 기기

불꽃 이온화 검출기를 사용하는 Agilent 7890 시리즈 GC에서 모든 실험을 수행했습니다. Agilent MMI 및 COC 주입구를 각각 전면 및 후면 위치에 설치했습니다. COC 데이터와 MMI 데이터를 비교할 때 결과의 차이를 없애기 위해 애질런트의 동일한 Select Biodiesel UltiMetal 컬럼을 각 시료 세트 분석을 위해 사용했습니다. 컬럼의 치수는 길이 15m, 지름 0.32mm, 필름 두께 0.10µm입니다. COC 실험에서 길이가 2m이고 지름이 0.53mm인 UltiMetal 유지 간격을 설치해 자동 시료 주입기(autosampler)가 변경되지 않고 컬럼내 주입이 이루어지도록 했습니다. 유지 간격을 Agilent Capillary Flow Technology Ultimate union을 사용하여 분석컬럼에 연결했습니다. MMI 실험의 경우 컬럼을 유지 간격을 설치하지 않고 주입구에 바로 연결했습니다. COC 및 MMI 실험 모두 동일한 5µL 시린지 바늘을 시료 주입에 사용했습니다. (기기 소모품에 관한 자세한 내용은 표 1을 참조하십시오)

표 1. 기기 소모품

성분	소모품
컬럼	Glycerides용 Select Biodiesel, 15m × 0.32mm, 0.10µm
COC	UltiMetal tubing, 2 m × 0.53 mm COC insert for UltiMetal columns Ultimate Union Kit Septa, BTO, 5 mm
MMI	Dimpled liner, 2 mm id, 200 µL Septa, BTO, 11 mm
시린지	5 µL, 23-26s tapered needle
툴	UltiMetal tubing cutter End straightener for UltiMetal tubing Reamer

## 시약

표준 및 중복 시료를 표 2에 나열된 시약을 사용하여 EN 14105:2011-07에 기재된 절차에 따라 전처리했습니다. NIST(Gaithersburg, MD)의 공 기반 B100 표준 레퍼런스 물질(SRM 2772)을 바이오 디젤 시료로 선택했습니다. COC 및 MMI 주입구 모두에 대한 평가에서 동일한 표준 및 동일한 시료를 사용하여 시료 전처리에서 가변성으로 인해 발생할 수 있는 편향을 제거했습니다.

## 기기 분석법

표 3에는 기기 조건이 나열되어 있습니다. 주입구 조건을 제외하고 COC 및 MMI 주입구를 사용하여 수집한 데이터에 대해 모든 설정을 동일하게 유지했습니다. COC의 경우 컬럼 및 유지 간격을 분석법 설정에서 복합 컬럼으로 구성했고, 유지 간격 및 컬럼을 오븐 온도 구간 내에서 가열했습니다.

## 결과 및 토의

### 크로마토그래피 비교

그림 1은 B100 SRM 분석을 위해 COC 주입구 및 MMI를 사용하여 생성한 크로마토그램을 비교해 보여줍니다. 크로마토그램에 표시된 것은 *n*-heptane 용매 피크, FAME 용리 범위, glycerol, 1,2,4-butanetriol, Mono C19 내부 표준물질(IS), Di C38 IS 및 Tri C57 IS입니다. 이 크로마토그램은 머무름 및 반응 측면에서 FAME 전의 분석물질 용리 예외와 비슷합니다. 이는 COC 주입구에 대한 FAME 영역 전의 표적 성분 피크, glycerol 및 내부 표준물질(1,2,4-butanetriol) 용리의 축을 확장한 크로마토그램을 나타내는 그림 2에서 자세하게 확인할 수 있습니다. 오버레이는 많은 부분을 차지하는 FAME와 함께 *n*-heptane이 함유된 B100 주입과 비교해 순수 *n*-heptane에 표적 성분 및 내부 표준물질이 함유된 표준물질 주입할 때의 머무름 및 피크 모양의 차이를 입증하는 것입니다. 비교를 위해 그림 3은 순수 *n*-heptane과 MMI를 사용하는 B100의 표적 성분 및 분석물질 피크에 대한 오버레이를 보여줍니다.

표 2. 시약

시약	키트
실리화 시약 N-methyl-N-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide(MSTFA)	바이오 디젤 MSTFA 키트
4가지 레벨의 Glycerol 표준물질 및 pyridine의 1,2,4-butanetriol 내부 표준물질	Glycerol 검량 표준물질 키트
THF의 Glycerol mononadecanoic(Mono C19), 1,3-glycerol dinonadecanoic(Di C38) 및 glycerol trinonadecanoate(Tri C57)	THF의 표준 Glycerides 원액
pyridine의 Monopalmitin, monostearin, monoolein	바이오 디젤 Monoglyceride 키트
B100 바이오 디젤(공 기반)	표준 레퍼런스 물질(NIST, 2772)

표 3. 기기 분석법

성분	파라미터 설정
운반 가스	헬륨, 5.6mL/분 유속 일정
오븐	1분 동안 50°C 0분 동안 15°C/분~180°C 0분 동안 7°C/분~230°C 4분 동안 10°C/분~370°C
MMI	모드: Splitless 온도 프로그램: 0.1분 동안 88°C 250°C/분~370°C split 배출구 퍼지 유속: 2.5분에서 9.6mL/분 Septum 퍼지 유속: 3mL/분
COC	모드: Track 오븐 Septum 퍼지 유속: 1mL/분
주입량	1µL
FID	히터 380°C H <sub>2</sub> 유속: 30mL/분 공기 유속: 400mL/분 Makeup 유속: 25mL/분

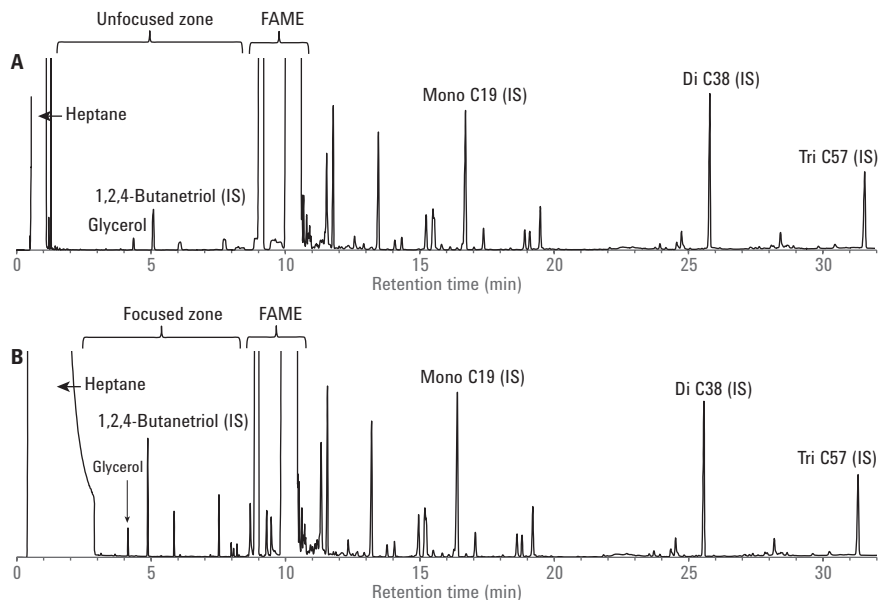


그림 1. COC(A) 및 MMI(B)를 사용하는 B100 SRM의 크로마토그래피 비교

## 정량 비교

그림 4는 COC 및 MMI로 얻은 glycerol에 대한 검량선의 오버레이를 보여줍니다. EN 14105에 명시된 것처럼, 검량선은 *n*-heptane의 1,2,4-butanetriol과 관련하여 glycerol의 상대 반응 및 상대 농도를 사용하여 생성했습니다. 이 검량선을 사용해 바이오 디젤 시료의 free glycerol 양을 정량화합니다. 표 4에는 회귀 파라미터가 나열되어 있습니다. 남은 mono-, di- 및 tri-glycerides의 정량화는 바이오 디젤 시료에 스파이크한 단일 수준 표준물질의 상대 반응을 기반으로 합니다. 총 glycerol 함량은 mono-, di- 및 tri-glyceride 농도의 합을 기초로 결정합니다. 표 5는 COC 및 MMI를 사용하는 B100 SRM의 정량화 결과를 비교해서 보여줍니다.

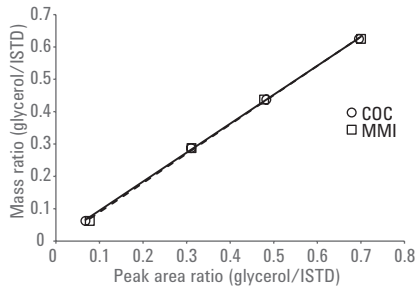


그림 4. COC 주입구(실선) 및 MMI(점선)를 사용하여 TMS 파생 glycerol 검량선 비교

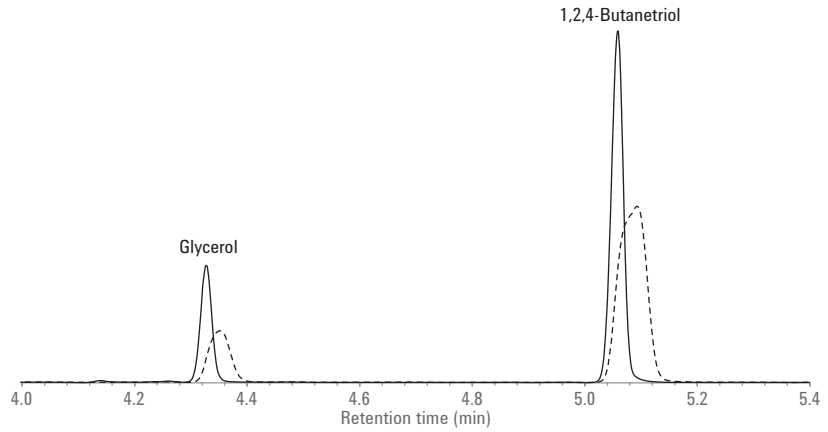


그림 2. COC 주입구를 사용하여 순수 heptane(실선) 및 B100 바이오 디젤(점선)의 파생 glycerol 및 1,2,4-butanetriol 비교

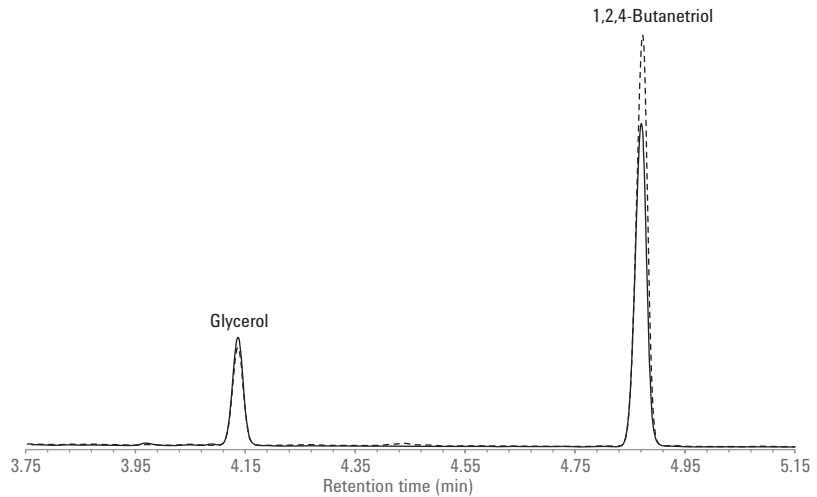


그림 3. MMI를 사용하여 순수 heptane(실선) 및 B100 바이오 디젤(점선)의 파생 glycerol 및 1,2,4-butanetriol 비교

표 4. Glycerol 검량 파라미터

주입구	기울기 (± 95% C.I.)	절편 (± 95% C.I.)	표준 회귀 오류	상관 계수
COC	0.89 ± 0.04	0.01 ± 0.02	0.0045	0.99988
MMI	0.90 ± 0.09	0.00 ± 0.04	0.0097	0.99944

표 5. B100 SRM에서 COC 및 MMI glycerol과 glyceride 구성 비교

분석물질 그룹	COC(wt%) ±95% C.I.	MMI(wt%) ±95% C.I.	차이	EN 14105 반복 한도
Glycerol	0.015 ± 0.006	0.015 ± 0.006	0.000	0.003
Monoglycerides	0.24 ± 0.08	0.24 ± 0.08	0.00	0.03
Diglycerides	0.10 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.00*	0.01
Triglycerides	0.05 ± 0.05	0.05 ± 0.05	0.00	0.01
총 glycerol	0.096 ± 0.020	0.097 ± 0.020	0.001	0.007

\* 반올림 전 빼기

### 견고성 비교

각 분석에 대해 EN 14105에서는 triglycerides가 충분히 감지되는지를 확인하기 위해 컬럼 성능 제어 측정을 요구합니다. 이 분석법에서는 diglyceride(Di C38)와 비교하여 triglyceride 내부 표준물질(Tri C57)에 대해 최대 상대 반응 계수(RRF)로 1.8을 사용할 것을 명시하고 있습니다. RRF가 1.8보다 큰 경우 해당 기기는 분석에 적합하지 않은 것입니다. 그림 5는 B100 SRM에서 전처리한 시료의 멀티 주입 과정에서 COC 및 MMI 주입구 모두에 대한 RRF를 보여줍니다. COC 주입구의 경우 RRF는 임계값이 8회 주입에 도달할 때까지 주입 횟수의 함수로 증가합니다. 시스템 성능은 9회 주입에서 5cm의 유지 간격을 제거하자 회복되었습니다. 비교하면 MMI에서의 주입은 RRF가 보다 안정적인 것으로 나타나고, 16회 주입 과정에서 임계값 한계에 도달하지 않습니다. 사실, 그림 6은 MMI에서 연속으로 이루어진 50회 주입을 보여주는데, RRF의 변화가 거의 나타나지 않습니다. 이는 멀티 주입 과정에서 시스템의 안정성이 높다는 점을 보여줍니다.

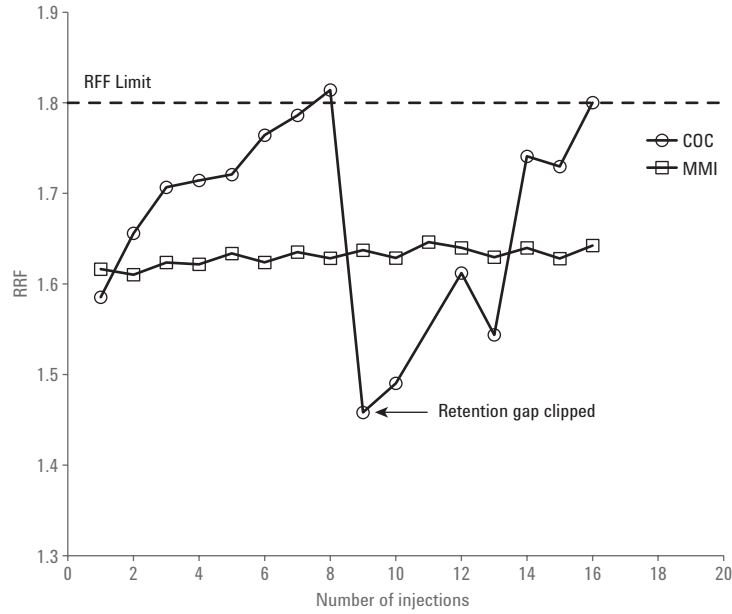


그림 5. COC 및 MMI에 대한 주입 횟수의 함수로 RRF

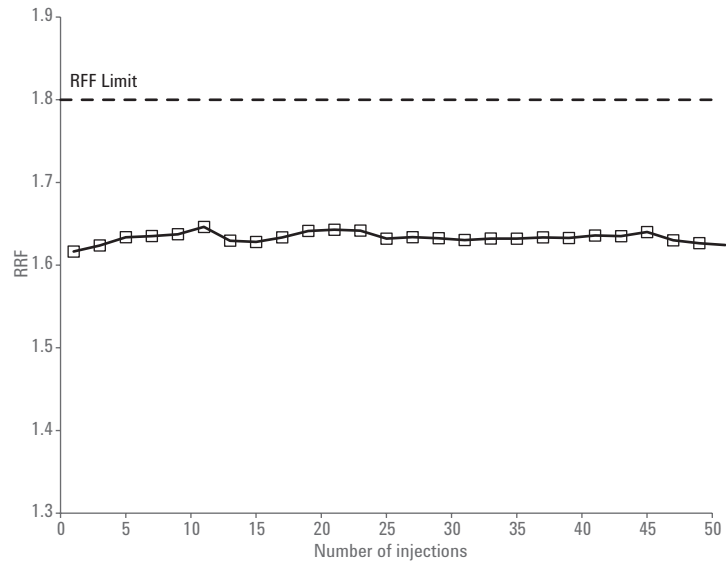


그림 6. MMI에 대한 주입 횟수의 함수로 RRF

## TPSS 주입구 최적화

실험실에서의 이전 경험을 바탕으로 내부직경이 2mm인 덤플 라이너를 선택했습니다. 일반적으로 이 덤플 라이너는 시료 매트릭스에 소량이 비휘발성 오염물이 함유된 저온 splitless 주입에서 선호됩니다. 오프셋 덤플이 니들 팁에서 컬럼까지의 직접 경로를 예방하고, 비휘발성 물질을 트래핑할 수 있는 표면적이 더 넓습니다.

표 3에 나열된 온도 프로그램에 대한 설정은 첫 번째 원칙을 기반으로 하며, 실험적으로 최적화되지 않았습니다. 주입구 온도는 88°C로 설정되었는데, 시료가 응결된 액체 상태로 들어가도록 heptane 용매의 비점보다 10°C가 낮은 것입니다. 시료가 라이너로 전달되고 주입구가 가열되기 전에 시린지에서 빠져나오도록 하기 위해 시작 온도 유지 시간으로 0.1분을 선택했습니다. 용매 재응결을 위해 오븐 온도가 heptane의 비점에 도달하기 전에 주입구의 온도가 최종 컬럼 온도인 370°C와 일치하도록 가열하기 위해 주입구 프로그래밍 비율을 선택했습니다.

최적의 주입구 퍼지 시간은 실험을 통해 확인했습니다. 다음과 같은 4가지 퍼지 시간을 평가했습니다. 1, 1.2, 2, 2.5분. 퍼지 시간으로 2.5분을 선택했는데, heptane 용매 피크와 첫 번째 용리 glycerol 피크 사이의 베이스라인 분리를 유지하는 동시에 Di C38 대 Tri C57의 상대 반응 계수에 의해 결정되는 최소한의 차이를 제공하기 때문입니다.

## 크로마토그래피 비교

초기 용리 화합물의 경우 그림 1~3에서 예로 제시된 MMI 및 COC 주입구를 사용하는 바이오 디젤 시료의 분리를 위한 크로마토그래피 성능에서의 차이는 대개 시료 주입의 메커니즘으로 나타납니다. 유지 간격을 사용하는 COC 주입구를 활용하는 초기 eluters에 대한 용질 focusing의 주요 메커니즘은 solvent focusing(즉, 머무름이 낮은

영역에서 높은 영역으로 용질이 이동)을 기준으로 합니다. 최적의 solvent focusing의 경우 응결된 용매가 시료 주입 후 온도 프로그래밍 전에 유지 간격의 벽을 고르게 코팅해 본질적으로 가상 고정상을 구성해야 합니다. 응축된 상에서는 분할 계수가 높지만, 휘발도는 약간 낮은 시료의 화합물은 온도 프로그래밍 동안 분석 컬럼의 헤드에서 방향이 바뀝니다. 컬럼 온도가 증가함에 따라 용매가 점진적으로 기화되고, 혼입된 휘발도가 낮은 용질과 함께 이동합니다. 이를 통해 용질의 농도가 좁은 밴드에 포함되게 됩니다<sup>8,9,10</sup>. 바이오 디젤의 경우 *n*-heptane과 함께 높은 농도의 FAME가 바이너리 용매 혼합물을 구성해 유지 간격의 벽을 코팅합니다. 초기 eluters는 부분적으로 *n*-heptane에 의해 용매화되고, 부분적으로 FAME에 의해 용매화됩니다. 이 사례에서 컬럼이 가열됨에 따라 초기 용리 용질 밴드가 휘발성이 낮은 FAME에 의해 유지됩니다. 이로 인해 FAME 피크 전에 피크 용리에 대해 용질 밴드 확산이 이루어집니다. 바이오 디젤 혼합물의 glycerol과 1,2,4-butanetriol을 COC 주입구에 대한 검량 표준물질과 비교해 가설을 뒷받침합니다(그림 2). 검량 표준물질을 *n*-heptane에서 희석해 glycerol 및 1,2,4-butanetriol 모두를 focusing하기 위한 이상적인 용매를 제공하고, FAME가 존재하는 B100 바이오 디젤에서 동일한 화합물과 비교했을 때 샤프한 크로마토그래피 피크를 생성합니다.

COC에 대해 관찰된 solvent focusing 증단은 시료 주입의 메커니즘이 다르기 때문에 MMI를 사용했을 때는 관찰되지 않았습니다. MMI의 경우 시료를 저온 주입구 라이너에 주입한 다음에 고속 주입구 온도 프로그램을 사용하여 휘발도를 기준으로 컬럼에 대한 시료 주입에서 작지만, 유의미한 차이가 나타나도록 했습니다. FAME 비점이 높을수록 주입구 라이너에 더 오랫동안 남아 있을 가능성이 높으며, *n*-heptane,

glycerol, 1,2,4-butanetriol 및 다른 초기 eluters는 공간적으로 근접한 컬럼으로 이전됩니다. 이러한 영향은 초기 eluters의 focusing을 보존하기에 충분하며, 바이오 디젤 glycerol 및 1,2,4-butanetriol의 피크 모양과 MMI를 사용하는 검량 표준물질을 비교하는 그림 3을 통해 확인할 수 있습니다.

## 정량 비교

EN 14105에서는 반응 곡선을 사용하여 바이오 디젤의 시료에서 free glycerol을 계산할 것을 요구합니다. 반응 곡선은 glycerol 대 내부 표준물질의 농도 비율과 4가지 농도 수준에 대한 glycerol 대 내부 표준물질의 피크 영역 비율을 비교하여 구성합니다. 기울기 및 절편 파라미터를 결정하려면 일반적인 선형 최소 제곱법 회귀 모델을 사용하여 데이터를 피팅합니다. 분석법에 따라 상관 계수(R)가 0.9보다 크거나 같으면 곡선의 직선성이 확립됩니다. 그림 4는 COC 주입구 및 MMI 모두에 대한 검량선을 보여주며, 표 4에는 피팅된 모델 파라미터, 기울기, 절편 및 상관 계수가 나열되어 있습니다. 분석법에 명시되어 있지는 않지만, 표 4에는 기울기에 대해 계산된 신뢰 구간, 절편 및 각 데이터 세트에 대한 표준 회귀 오류도 포함되어 있습니다. 시각적으로 볼 때 데이터 세트 모두에 대해 그림 4에 표시된 반응 곡선은 실질적으로 구분이 불가능하며, 표 4의 모델 파라미터에 대한 신뢰 구간은 상당히 오버랩됩니다. 상관 계수에 대한 최소 요건인 0.9를 초과하는 경우에 데이터 세트 모두에 대한 직선성이 확립되었습니다. 하지만, 모델 파라미터의 신뢰 구간 및 표준물질 회귀 오류로 확인된 정밀도는 COC 주입구가 MMI보다 더 정밀하다는 것을 나타냅니다. 가장 정확하고 정밀한 주입 테크닉으로 간주되는 COC 주입구의 시료 주입 메커니즘을 고려할 때 이는 놀랄만한 일이 아닙니다<sup>6</sup>.



EN 14105에는 glycerol과 함께 mono-, di-, tri-glyceride 및 glycerol 농도를 결정할 것이 명시되어 있습니다. 반응 곡선과는 반대로 각 glyceride 유형의 내부 표준물질에 대한 단일 RRF를 기준으로 계산합니다. 총 glycerol은 각 성분(공식 1의 free glycerol (G), mono- (M), di- (D) 및 tri-glycerides (T))의 가중합에서 도출한 퍼센트 농도로 보고합니다.

$$GT = G + 0.255M + 0.146D + 0.103T$$

등식 1.

분석법에는 EN ISO 425911에 기술된 통계 분석법에 따라 95% 신뢰성 한계에서의 측정 정밀도 평가치도 포함됩니다. 2가지 정밀도 지표가 할당되어 있습니다.

- **반복성에 대한 지표:** 한 명의 작업자, 하나의 실험실 및 한 번의 기기 측정
- **재현성에 대한 지표:** 여러 명의 작업자, 여러 개의 실험실 및 여러 번의 기기 측정

2가지 지표 모두 정밀 한도는 반복성 및 재현성의 변화를 결정하는 16번의 실험실 연구 결과를 기반으로 예상 정밀도를 계산해 구합니다. 계산된 반복성 및 재현성 한계는 2가지 측정 결과에서 나타난 차이와 비교합니다. 체계적인 오류가 없는 경우 결과 차가 정밀 한도보다 낮을 것으로 예상됩니다. 반복성 지표는 보다 엄격한 비교가 가능하고 달성할 수 있는 정밀 임계값이 더 높기 때문에 COC와 MMI의 결과를 비교하기 위해 선택되었습니다. 표 5는 95% 신뢰 수준에서 관련 불확도와 함께 결과를 보여줍니다. 불확도는 EN ISO 4259의 섹션 7.2.3에 명시된 분석법을 사용하여 계산했습니다<sup>12</sup>. 흥미롭게도 신뢰 구간은 재현성 정밀 구간보다 더 큼니다. EN ISO 4259에 명시된 대로 신뢰 구간을 계산하면 반복성 및 재현성이 모두 포함되기 때문으로 여기서 재현성이 주도적인 역할을 합니다. 각 분석물질 그룹에 대한 COC 및 MMI 결과 차는 정밀 한도보다 작으며, 이는 주입구 성능에서 식별 가능한 차이가 없음을 나타냅니다. 분석한 데이터를 기반으로 MMI에서 생성된 결과는 이 연구에서 COC와 구분할 수 없는 것처럼 보입니다.

## 견고성 비교

그림 5에서 확인할 수 있는 것처럼, diglyceride(Di C38)와 비교해 triglyceride 내부 표준물질(Tri C57)의 RRF를 기준으로 COC에 대한 컬럼 성능 제어 지표는 8회 주입에서 1.8 한도를 초과하며, 성능은 유지 간격을 클리핑해 9회 주입에서 회복됩니다. 금속 유지 간격에 대한 삽입 중에 시린지 바늘의 마모를 통해 표면 불활성이 제거된 것으로 가정했습니다. 이는 성능을 회복하기 위해 간격에 대한 대략적인 바늘 삽입 깊이(약 5cm)에 해당하는 작은 부분의 유지 간격만 제거하면 된다는 사실에 의해 뒷받침됩니다. 유지 간격을 조심스럽게 바로 잡아도 이러한 영향은 사라지지 않습니다. 이러한 영향은 MMI(그림 6)에서는 관찰되지 않았으며, 컬럼 성능의 하락이 매질 오손 때문이 아니라 COC를 사용한 시료 주입에 따른 물리적인 메커니즘 때문이라는 가설을 뒷받침합니다.

## 결론

EN 14105에는 바이오 디젤의 glycerol 및 glycerides 분석을 위한 시료 주입 수단으로 COC 주입구 또는 그에 준하는 장치를 사용할 것이 명시되어 있습니다. MMI와 COC를 비교한 이 응용 자료에 기술된 결과는 MMI를 사용했을 때 등가성 임계값에 도달한다는 강력한 증거를 제공합니다. 또한, MMI는 COC와 비교했을 때 초기 용리 화합물의 분리능 및 견고성이 더 뛰어납니다.

## 참고 문헌

1. Fat and Oil Derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) – Determination of Free and Total Glycerol and Mono-, Di-, and Triglyceride Contents; DIN EN 14105:2011-07; European Committee for Standardization/ Technical Committee 307; Brussels, **2011**.
2. Van Gerpen, J. H.; He, B. B. Biodiesel and Renewable Diesel Production Methods. In *Advances in Biorefineries: Biomass and Waste Supply Chain Exploitation*; Waldron, K., Ed.; Woodhead Publishing Series in Energy 53; Woodhead Publishing, Sawston, Cambridge, (2014), pp 441-475.
3. Carrero, A.; Pérez, Á. Advances in biodiesel quality control, characterization and standard development. In *Advances in Biodiesel Production: Process and Technologies*; Luque, R., Melero, A., Eds.; Woodhead Publishing Series in Energy 39; Woodhead Publishing, Sawston, Cambridge, (2012), pp 91-130.
4. Zenkevich, I. G. Physicochemical Constants as a Factor Determining the Need for the Derivatization of Organic Substances in Analysis by Gas Chromatography. *J. Anal. Chem.* **2010**, *65*(3), 267-275.
5. ChemSpider. <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.134770.html> (accessed August 10, 2015).
6. Klee, M. Cool On-Column Inlets. In *GC Inlets: An Introduction*, 2nd Edition, Chapter 8. Agilent Technologies: Wilmington, (**2005**), pp 87-98.
7. Hinshaw, Jr, J. V.; Seferovic, W. Programmed-Temperature Split-Splitless Injection of Triglycerides: Comparison to Cold On-Column Injection; *J. High Resolut. Chrom Chrom. Comm.* **1986**, *9*, 69-72.
8. Knauss, K.; Fullermann, J.; Turner, M. P. On-Column Injection with Open Tubular Columns. *J. High Resolut. Chrom Chrom Comm.* **1981**, *4*, 641-643.
9. Tipler, A. Sample Introduction Methods. In *Gas Chromatography*, Chapter 8. Poole, C.F., Ed.; Elsevier Inc., Kidlington, Oxford, (**2012**); pp 187-219.
10. Grob, K.; Split and Splitless Injection for Quantitative Gas Chromatography: Concepts, Processes, Practical Guidelines, Sources of Error, 4th Edition, Part D, Chapter 7, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, (**2001**); pp 339-379.
11. Petroleum Products – Determination and Application of Precision Data in Relation to Methods of Test; BS EN ISO 4259:2006; International Standards Organization/ Technical Committee 28; Brussels, **2006**.

[www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc., 2017  
2017년 5월 12일 한국에서 인쇄  
5991-7595KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418  
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부  
고객지원센터 080-004-5090 [www.agilent.co.kr](http://www.agilent.co.kr)



**Agilent Technologies**