

# 탐구수업 지도자료

- 학 년 중학교 2학년
- 단 원 혼합물의 분리는 어떻게 할까요?
- 소 단 원 9장 크로마토그래피
- 제 목 도입
- 대표 저자 강순희(이화여자대학교)
- 공동 저자 김지영(이화여자대학교)  
박은미(이화여자대학교)  
방담이(이화여자대학교)  
채명희(이화여자대학교)  
이은주(이화여자대학교)  
이윤하(이화여자대학교)  
김효진(이화여자대학교)

이 자료는 서울대학교 과학교육연구소가 교육인적자원부의 과학교육 연구기관으로 지정받아 수행하고 있는 「탐구·실험 중심의 과학교육 활성화를 위한 연구개발 사업」의 일환으로 개발되었습니다.



서울대학교 과학교육연구소

Seoul National University Science Education Research Center



# 제 9 장

## 크로마토그래피



서울대학교  
과학교육연구소

### 배경지식 넓히기

#### 1. 크로마토그래피의 역사

크로마토그래피는 그리스어에 Chroma(색)과 graphein(기록한다)에서 유래되었으며, 1906년 구 소련의 식물학자인 미하일 츠베트(Mikhail Tswett)에 의해 발명되었다. 그는 탄산칼슘을 채운 관을 이용해서 식물 잎의 색소성분을 분리하였으며 각 색소들은 관을 따라 이동하는 속도가 다르기 때문에 각 성분으로 나뉘질 수 있었다. 츠베트 이후 얼마간 사용되지 않다가 1930년 이후부터 생물학적으로 중요한 물질을 확인하는데 널리 사용되기 시작했다.



리처드 싱



마틴

영국의 생화학자 싱과 마틴은 종이 크로마토그래피를 개발한 공로로 1952년 노벨화학상을 받기도 했다.

크로마토그래피를 이용하여 노벨상을 탄 과학자들이 1937년에서 1972년 사이에 12명이나 된다고 한다. 이 크로마토그래피의 극소량의 물질을 분리해낼 수 있는 장점이 있으며 현재는 색소분리뿐 아니라 단백질의 성분검출, 금속이온의 검출, 아미노산의 분리 등에 다양하게 이용되고 있다.



서울대학교  
과학교육연구소

#### 2. 크로마토그래피의 종류

##### (1) 이동상에 따른 분류

###### ① 액체상 크로마토그래피

- 종이 크로마토그래피 : 흡착물질로 거름종이를 사용하는 방법이다. 보통 직사각형으로 자른 거름종이의 한쪽 끝에 시료를 놓고 전개제가 되는 용매의 모세관 현상을 이용하여 스며들게 한다. 용매가 스며들며 따라 시료 중의 각 성분 물질도 이동하는데, 이 때 시료 속의 각 성분물질은 그 이동 속도가 다르기 때문에 시간이 지나면서 각각의 성분 물질로 분리된다. 분리된 성분 물질은, 색이 있는 물질이면 그 색깔로부터, 무색인 것은 발색제로 발색시켜 확인하다. 종이 크로마토그래피는 조작이 간단하며 특별한 장치도 필요 없고 분석을 값싸게 할 수 있는 것이 특징이다.
- 얇은 막 크로마토그래피 : 유리나 플라스틱 또는 금속의 얇은 판 위에 고체 흡착제의 얇은 층(250 $\mu$ m 전후)을 만들어 종이 크로마토그래피와 같은 방법으로 분리하는 것이다. 고체 흡착제로는 사용 목적이 따라 실리카겔·산화알루미늄 등이 쓰인다.



서울대학교  
과학교육연구소

이 방법은 종이 크로마토그래피에 비해 전개 시간이 짧고, 분리 능률이 좋으며, 종이 견디지 못하는 강한 용매나 발색 시약에 견딘다는 장점을 가지고 있다.

- 관 크로마토그래피 : 유리관과 같은 원기둥 모양의 관에 산화알루미늄이나 실리카겔 등을 넣어서 채우고 분리하려는 액체 혼합물을 넣은 다음 적당한 용매를 흘려 보내면, 혼합물 속에 포함된 여러 물질이 분리되어 층상으로 관 속에 위치하게 된다. 각 물질은 시간이 지나면서 따로따로 관을 빠져 나오기 때문에 각 성분 물질을 분리할 수 있다.



서울대학교  
과학교육연구소

## ② 기체상 크로마토그래피

이동상으로 활성이 없는 기체를 사용하여 기체나 휘발성 액체 혼합물을 분리하는 방법이다. 즉, 혼합물을 기체로 만든 다음 이동상 기체와 함께 고정상을 통과하게 하면 성분 기체의 성질에 따라 이동 속도가 다르기 때문에 각각의 성분 물질로 분리된다.

## (2) 분리 원리에 따른 분류

- ① 흡착 크로마토그래피 : 분리하고자 하는 물질의 혼합물 용액이 흡착제(고정상)를 지날 때 각 성분마다 흡착제의 표면과 이동하는 용매 사이에서 보내는 상대적인 시간이 다르게 되어 분리가 일어나는 것이다. 이러한 원리가 이용되는 크로마토그래피는 얇은 막 크로마토그래피(TLC)와 관 크로마토그래피가 있다.
- ② 분배 크로마토그래피 : 성분이 두 가지 액체상에 분배되는 원리를 이용한 것으로, 추출에서 두 가지 용매에 물질이 분배되는 원리와 같다. 보통 두 액체상 중 한 액체상은 물인 경우가 대부분이므로 이 방법은 아미노산이나 당류의 분리에 많이 사용된다. 이러한 원리가 이용되는 크로마토그래피는 종이 크로마토그래피가 있다.
- ③ 이온 교환 크로마토그래피 : 이온성 물질의 분리에 사용되는 방법으로, 고정상으로 산성 혹은 염기성의 기능이 붙어 있는 고분자를 사용한다. 고정상의 기능기와 이동상에 녹아 있는 이온성 물질 사이에 이온의 교환이 일어나며, 관을 통과하는 속도의 상대적 차이로 분리가 된다.



서울대학교  
과학교육연구소

## 3. 종이크로마토그래피에서 물질의 확인

크로마토그래피의 기본적인 구성은 고정상(거름종이)과 이동상(용매)이다. 분리 방법을 분석하고자 하는 물질을 이동상과 함께 고정상을 통과하게 하는 것이다. 분석 성분 중에 고정상에 대한 흡착력이 큰 성분일수록 붙잡히는 분자들의 비율이 크고, 흡착력이 약한 성분은 이동상을 따라 계속 이동하게 된다. 따라서 고정상에 대한 성분들의 흡착 정도에 따라 이동 거리가 달라지면서 각 성분들이 분리되는 것이다. 한 성분이 분리되어 올라간 높이와 용매가 올라간 높이의 비율  $R_f$ (이동률)라 하는데,  $R_f$ 는 물질의 종류, 용매의 종류에 따라 일정한 값을 가지므로  $R_f$ 값을 알면 그 물질을 확인할 수 있다.

$$R_f = \frac{b}{a} \quad (a : \text{용매가 올라간 높이}, b : \text{분리된 성분이 올라간 높이})$$

## 4. 크로마토그래피의 장점

분리하고자 하는 혼합물 속에 들어 있는 각 성분 물질의 수, 성질, 상대적인 양 등을 사전에 자세하게 알고 있지 못하더라도 혼합물을 신속하게 분리할 수 있는 유용한 방법이다.



서울대학교  
과학교육연구소