



KR0000224

KAERI/AR-542/99

이온 크로마토그래피에 의한
무기음이온과 유기음이온의 동시 분석

Simultaneous Determination of Inorganic and Organic
Anions by Ion Chromatography

한국원자력연구소

31/40

**Please be aware that all of the Missing Pages in this document were
originally blank pages**

이온 크로마토그래피에 의한
무기음이온과 유기음이온의 동시 분석

Simultaneous Determination of Inorganic and Organic
Anions by Ion Chromatography

한국원자력연구소

제 출 문

한국원자력연구소장 귀하

본 보고서를 1999년도 “화학특성시험시설운영” 과제의 기술현황분석보고서로 제출합니다.

1999. 6월

과 제 명 : 화학특성시험시설운영

주 저 자 : 박 양 순

공 저 자 : 조 기 수

한 선 호

박 순 달

최 광 순

요 약 문

I. 제 목

이온 크로마토그래피에 의한 무기음이온과 유기음이온의 동시 분석

II. 목적 및 필요성

원자력 발전소의 냉각수 관리 및 방사성 폐기물 처리를 위한 제염공정 또는 도금, 염료업체 등 일반폐수 처리공정에는 Cl^- , SO_4^{2-} 등 무기음이온과 EDTA 등 유기산 성분분석이 필수적이다. 이들 시료 중 무기 및 유기음이온 성분분석을 위한 최적분석 방법을 확립할 필요가 있다.

III. 무기-유기음이온 동시분석 방법 검토

최근에 연구된 방법들을 4가지로 분류하여 검토하였다.

첫 번째는 칼럼 스위칭 방법이다. 두 개의 칼럼을 사용해 적절한 시간에 스위칭하여 성분 피크들이 서로 겹치지 않고 검출되도록 하는 기술이다. 빠른 시간에 무기-유기음이온들을 동시에 분리할 수 있으나 다른 시스템에 비해 2개의 칼럼과 2개의 검출기, 4개의 밸브 등 장비들이 많이 필요하며, 이온배재 크로마토그래피의 유기산 검출 감도가 낮은 단점은 개선되지 않았다.

두 번째는 음이온교환 칼럼을 사용하고 용리액을 기울기 용리하는 방법이다. 칼럼 내에서 고정상과 친화력이 약한 성분들을 분리하기 위해 용리액의 농도를 낮게하여 시작하고, 친화력이 큰 이온들을 용리하기 위해 분석하는 동안 용리액의 농도를 증가시킨다. fluoride와 비슷한 시간에 용리되는 유기산과 머무름시간이 상대적으로 긴 무기음이온들을 동시에

분리할 수 있다. 그러나 바탕선이 증가하는 것과 하나의 시료분석이 끝나고 칼럼이 처음 상태로 되돌아가야 하므로 전체적인 분석시간이 길어지는 단점이 있다.

세 번째는 혼합모드의 고정상을 사용하는 방법이다. 칼럼의 내부에 채워진 고정상이 역상 작용기와 음이온교환 작용기의 1:1 비율로 혼합되어 있다. 칼럼 스위칭이나 기울기 용리의 특별한 조작 없이 무기음이온과 유기산을 하나의 칼럼에서 모두 분리할 수 있다. 그러나 칼럼을 제작하기 까다로우며, 모든 피크들이 검출되므로 피크해석의 어려움이 있다.

네 번째는 이온 억제칼럼 없이 음이온교환 칼럼과 전기전도도가 낮은 용리액을 사용하여 무기음이온과 유기음이온을 동시에 분리하는 방법이다. 가장 간단하여 조작하기가 간편한 방법으로 카르복시기가 1 - 3개인 유기산과 무기음이온의 동시 분리에 유용하다. 특별한 전처리 없이 시료를 칼럼에 직접 주입하여 1,000 ppm의 고농도까지 측정이 가능하다. 그러나 분석시간이 오래 걸리고 검출감도가 상대적으로 떨어지는 단점이 있다.

IV. 활용계획

발전소에서 사용하는 냉각수와 폐수, 공장이나 가정에서 생성되는 폐수, 환경중에 존재하는 침출수 시료는 함유되어 있는 성분들의 종류를 고려해 볼 때 기울기 용리 시스템을 사용하는 것이 가장 적합하다고 생각되며, 원자력 분야에서 방사성 성분의 제염제로 사용되는 oxalate, citrate, EDTA 등의 유기음이온을 분리-측정하고자할 때 음이온교환체와 phthalate 용리액을 사용하고, 이온억제제를 제거한 시스템이 효율적이라고 제안한다.

SUMMARY

I. Title

Simultaneous determination of inorganic and organic anions by ion chromatography.

II. Objective and Importance

The determination of the anions (Cl^- , SO_4^{2-} , EDTA, etc.) is required for the management of the cooling water and the radioactive wastes from a nuclear power plant, as well as for the management of the waste water from an industrial plant.

The objective of this report is the proposal of the suitable method to be applied to the samples from nuclear power industry and environment after several methods were investigated to determine anions in aqueous solutions.

III. Discussion of several methods for simultaneous determination.

Four methods were investigated.

The first is a column coupled system. A special technique switching two columns is needed for this system. The anions are separated in short time. However, the system needs many equipments and still has low sensitivity for organic acids.

The second is a gradient elution system with an anion exchange column. The concentration of an eluant is varied to separate the

anions with a weak and a strong relation to the stationary phase. There is disadvantage of taking a long time for a sample.

The third is the system with a mixed-mode stationary phase. The mixed-mode is consisted of reverse phase and anion exchange functional groups of 1:1 ratio. This system is simple to operate. But the chromatogram is complicated because too many peaks are detected.

The fourth is the system without an ion suppressor, and with an anion exchange column and an eluant of low conductivity. This system is very simple to operate and is useful to separate organic anions with one to three carboxylic groups. The aqueous solution sample is injected directly and anions of high concentration(1,000 ppm) can be determined. However, it takes long time to analyze a sample and the sensitivity is not good.

IV. Proposal for Applications

The gradient elution system is suitable for application to domestic sewage, factory waste water, the cooling water and the waste water from a nuclear power plant.

To determine oxalate, citrate and EDTA used to remove radio active elements in nuclear power plant, the system is proposed that has the anion exchanger and the phthalate eluant and no ion suppressor.

CONTENTS

Chap. 1. Introduction.....	1
Chap. 2. Simultaneous analysis of inorganic and organic anions.....	4
Section 1. Column - column coupled system.....	4
1. Anion exchange column - ion exclusion column.....	5
2. Anion exchange column - anion exchange column.....	19
Section 2. Gradient elution system.....	28
1. Prediction of retention time.....	29
2. Separation by gradient elution.....	31
3. Sample analysis.....	36
Section 3. Mixed-mode stationary phase system.....	55
1. Mixed-mode stationary phase.....	55
2. Factors related to separation.....	56
Section 4. Single column and no suppressor system.....	70
Chap. 3. Conclusion.....	75
Chap. 4. References.....	77

목 차

제 1 장 서론.....	1
제 2 장 무기음이온과 유기음이온 동시분석 방법.....	4
1 절. 칼럼 - 칼럼 결합 시스템	4
1. 음이온교환 칼럼 - 이온배제 칼럼	5
2. 음이온교환 칼럼 - 음이온교환 칼럼	19
2 절. 기울기 용리 시스템	28
1. 머무름시간 예측	29
2. 기울기 용리에 의한 분리	31
3. 시료 분석	36
3 절. 혼합모드 고정상을 이용한 시스템	55
1. 혼합모드 고정상	55
2. 분리에 영향을 미치는 인자	56
4 절. 단일 칼럼 시스템	70
제 3 장 결론	75
제 4 장 참고문헌	77

제 1 장. 서 론

원자력 증장기 사업 및 연구시설 운영관련 제반연구에서 반응 메카니즘을 해석하고, 최적의 반응 조건을 설정하는데 중요한 정보를 얻기 위해, 반응 단계에서 생성되는 무기음이온과 유기음이온의 측정이 요구된다. 또한 방사성 폐기물 처리-처분과 관련하여 지하수, 지표수 및 일반폐수 등의 수질평가에도 무기음이온과 유기산 분석이 필요하며, 핵연료 품질관리를 위해서도 음이온 분석이 요구된다. 화석연료나 핵연료를 이용해 에너지를 얻는 발전소의 가동에 물이 중요한 역할을 담당하는데, 이들 feed water, boiler water, steam condensate water, cooling water에 무기음이온과 유기음이온이 함께 포함되어 있는 경우가 많으며, 이들 무기음이온과 유기음이온들은 steam generator tubing, recirculating piping, turbin을 부식시킨다. 그러므로 무기음이온과 유기음이온을 정기적으로 측정하여 부식을 방지하도록 관리하여야 한다. 또한, 오래된 매립물에서 생성된 침출수 중의 유기산(VFA) 함량을 측정함으로써 침출수의 숙성도(maturity), 메탄 생성의 가능성, 재개발 계획시 고려해야 할 것들에 관한 정보를 얻을 수 있다.

이들 시료 중의 음이온성분을 분석하는 방법으로 이온선택성 전극, 분광분석법, 부피적정법 등을 사용하기도 하지만, 이온크로마토그래피법을 이용하면 여러 성분이온들을 한번에 미량농도까지 분석할 수 있어 매우 효율적이다.

이온크로마토그래피에는 여러가지 방법이 있는데, 일반적으로 무기음이온을 분리하여 정량하기 위해서는 이온교환(ion-exchange) 방법을 이용하고, 유기산을 분리-정량하기 위해서는 이온배제(ion-exclusion) 방법⁽¹⁻⁷⁾을 이용한다. 두 종류의 분리과정은 서로 상반되는 경향이 있다. 강하

계 이온화된 무기음이온은 약하게 이온화된 유기산보다 음이온 교환체에 더 많이 끌리므로 유기산은 한꺼번에 미리 용출되고, 무기음이온은 음이온 교환체와의 상호작용 정도에 따라 분리된다. 반면에 이온배제 칼럼에서는 반대현상이 일어나 무기음이온이 한꺼번에 용출된 뒤에 유기산이 분리된다. 그러므로 시료 중의 무기음이온과 유기산을 분리-측정하기 위해서, 두 가지의 분리모드를 이용해 각각 측정한다.

일반적으로 산업시료나 환경시료 중에는 무기음이온과 유기음이온이 함께 함유되어 있는 경우가 많으므로 동시에 측정하는 것이 시간과 경비와 인력을 절약하는 측면에서 효율적이다. 근래에 무기음이온과 유기산을 동시에 측정하기 위한 몇가지 방법들이 검토되어 왔다. 첫 번째는 칼럼 스위칭 방법이다⁽⁸⁻¹⁰⁾. 이 방법은 무기음이온을 분리하기 위해 사용하는 이온교환 칼럼과 유기산을 분리하기 위해 사용하는 이온배제 칼럼을 모두 사용하고, 적절한 시간에 칼럼을 스위칭하여 성분 피크들이 서로 겹치지 않고 검출되도록 하는 기술로써, 이온교환 크로마토그래피와 이온배제 크로마토그래피의 장점을 모두 살리면서 빠른 시간에 분리할 수 있다. 두 번째 방법은 음이온교환 칼럼을 사용하고 용리액을 기울기 용리하는 방법이다⁽¹¹⁻²⁴⁾. 기울기 용리법은 친화력이 약한 성분들을 분리하기 위해 용리액의 농도를 낮게하여 시작하고, 친화력이 큰 이온들을 용리하기 위해 분석하는 동안 용리액의 농도를 증가시키는 방법으로 fluoride와 비슷한 시간에 용리되는 유기산과 머무름시간이 상대적으로 긴 무기음이온들을 동시에 분리할 수 있다. 세 번째는 혼합모드의 고정상을 사용하는 방법이다^(8, 25-31). 이 방법은 하나의 칼럼을 사용하는 이온크로마토그래피로써, 칼럼의 내부에 채워진 고정상은 역상 작용기와 음이온교환 작용기를 1:1 비율로 섞어 결합시킨 리간드로 되어 있어, 스위칭이나 기울기 용리의 조작 없이 무기음이온과 유기산을 하나의 칼럼에서 모두 분리할 수 있다. 네

번째 방법은 이온 억제칼럼 없이 음이온교환 칼럼과 전기전도도가 낮은 용리액만을 사용하여 무기음이온과 유기음이온을 동시에 분리하는 방법이다⁽³²⁻³⁹⁾. 가장 간단한 방법으로 카르복시기가 1 - 3개의 유기산과 무기음이온의 분리에 유용하다.

본 보고서는 무기음이온과 유기음이온을 동시에 분리-정량하기 위해 위에서 언급한 4가지 방법의 기술현황을 살펴보았다. 이러한 기술현황분석을 토대로 원자력산업 및 환경분야의 시료 중 무기음이온과 유기음이온을 동시에 측정하기 위해 가장 적합한 분석방법을 제안하였다.

제 2 장. 무기-유기음이온 동시분석 방법

1절. 칼럼 - 칼럼 결합 시스템

(Column - column coupled system)

전력발전소와 반도체 생산공장에서 사용하는 물에 불순물로 존재하는 유기산과 무기음이온을 미량농도까지 엄격하게 측정, 관리하고 있다⁽⁴⁰⁾. 만일 허용량을 초과하면 무기음이온과 유기산을 제거해야 한다. 이때 이온크로마토그래피법을 이용해 물 시료에 함유되어 있는 미량의 무기이온을 분석해 왔다⁽⁴¹⁻⁴³⁾. 그러나 유기산과 무기음이온의 오염이 종종 동시에 일어나기 때문에 유기산의 분석 또한 요구된다.

fluoride, chloride, carbonate, bromide 같은 -1 전하의 무기음이온들과 저분자량의 유기산은 용리되는 시간이 비슷하기 때문에 이들 이온 성분들을 동시에 분석하기 어렵다. Giddings이 그 이유를 이론적으로 설명했다⁽⁴⁴⁻⁴⁶⁾. Giddings은 일정시간 안에 분리될 수 있는 최대 피크수(peak capacity, n)와 이론단수(N)로 측정되는 칼럼의 효율 사이의 기본관계식을 유도했다.

$$n = 1 + 1/4 [N^{1/2} \ln(V_x/V_o)]$$

여기서, V_o 와 V_x 는 크로마토그래프의 칼럼에서 처음 용리되는 이온의 부피와 마지막 용리되는 이온의 부피이다. 예를 들어, fluoride, chloride, carbonate, bromide, formate, acetate, propionate의 7가지 음이온을 분리하고자 할 때, N(이론단 수)=3,000이라 가정하고, $V_x/V_o=3$

을 식에 대입하여 계산하면 검출되는 최대 피크수(n)는 16이다. 그러나 이 피크들은 완전히 분리되지 않고 서로 겹쳐있는 상태이다. 이때 완전히 분리되는 피크의 수는 최대 피크 수의 18% 이하이다. 즉, 16의 18%인 3개의 피크만이 그 시간대에서 완전히 분리된다. 다시말하면, 음이온교환 크로마토그래피법을 이용해, 용리되는 시간이 비슷한 유기음이온과 무기음이온들을 동시에 분리하기 어렵다. 그러므로 유기음이온과 무기음이온을 동시에 분석하기 위해, 이온배제 칼럼과 음이온교환 칼럼을 결합하여 사용하는 기술⁽⁸⁾과 용량이 작은 음이온 교환칼럼과 상대적으로 용량이 큰 음이온 교환칼럼을 결합하는 기술⁽¹⁰⁾이 검토되었다.

1. 음이온교환 칼럼 - 이온배제 칼럼 연결

수용액 중에 유기산과 무기음이온이 혼합되어 있을 때, 이들 혼합물을 음이온교환 칼럼을 사용하여 측정할 예가 그림 1에 나타나 있다. 음이온교환 칼럼은 뒷부분에서 용리되는 6개의 음이온들(8-13 피크)을 분리하는데는 효율적이다. 그러나 앞부분에서 용리되는 fluoride, glycolate, formate, acetate, propionate, butyrate, iodate들이 음이온교환 칼럼내의 고정상과 상호작용이 적어 한꺼번에 용출되므로 분리되지 않고 하나의 피크(1-7 피크)로 검출된다. 약산의 음이온인 fluoride, phosphate와 강산의 음이온인 chloride, bromide, nitrate로 구성된 혼합 수용액을 이온배제 칼럼을 통과시킨 후, 측정했을 때의 크로마토그램이 그림 2에 나타나 있다. 그림 2에서 보는바와 같이 이들은 이온배제 칼럼내의 고정상과 상호작용이 약해 분리되지 않고 한꺼번에 용출되어 하나의 피크만을 나타낸다.

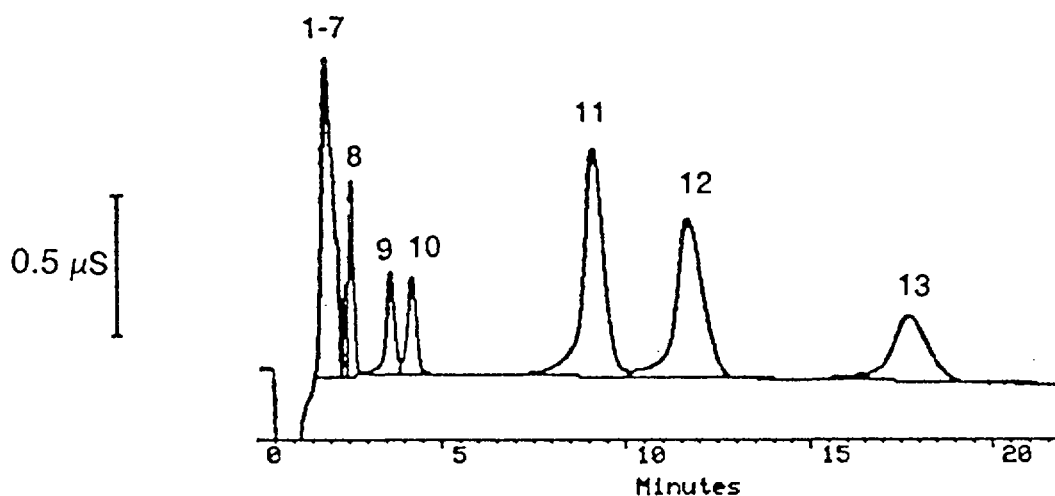


Fig.1. Attempted anion-exchange separation of a mixture of thirteen organic and inorganic anions⁽⁸⁾.

Conditions: column, Waters IC PAK Anion(5×0.46cm I.D.); eluent, 3 mM sodium octanesulfonate; flow-rate, 1 ml/min; sample, 100 μ l of a mixture of thirteen anions; detection, Waters M 430 conductivity detector. Anions: 1=fluoride(0.5ppm); 2=glycolate(2.0ppm); 3=formate 1.0ppm); 4=acetate(10.0ppm); 5=propionate(20.0ppm); 6=butyrate(20.0 ppm); 7=iodate(50.0ppm); 8=chloride(1.0ppm); 9=bromide(2.0ppm); 10= nitrate(2.0ppm); 11=iodide(20.0ppm); 12=sulfate(2.0ppm); 13=thiocyanate(5.0ppm).

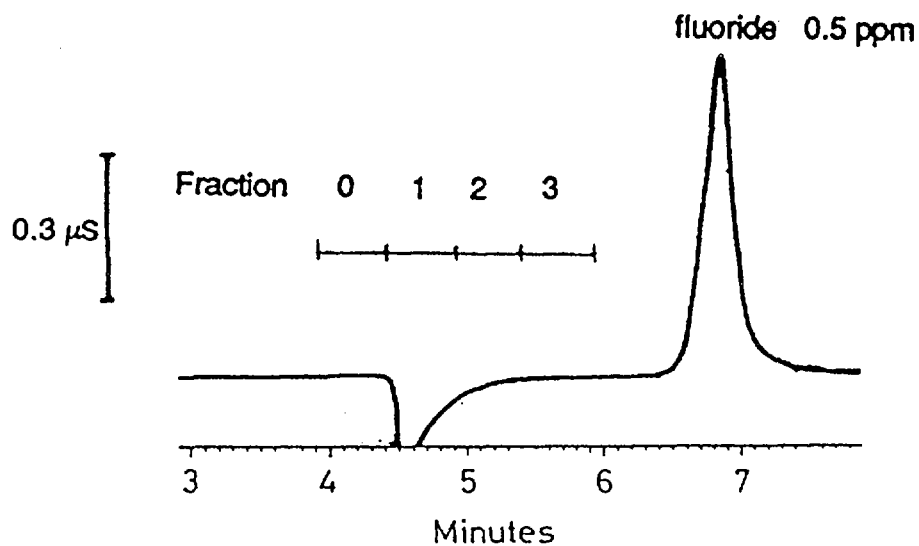


Fig.2. Ion-exclusion chromatogram of six inorganic anions⁽⁸⁾.

The scale indicates the intervals during which the four fractions were collected. Conditions: columns, two Waters Ion Exclusion($15 \times 0.78\text{cm}$ I.D.) in series; eluent, 1 mM octanesulfonic acid; flow-rate, 1.2 ml/min; sample, $100\mu\text{l}$ of 0.5ppm fluoride, 2ppm chloride, 4ppm bromide, 4ppm nitrate, 6ppm phosphate and 4ppm sulfate; detection, Waters M430 conductivity detector.

이온배제 시스템과 음이온교환 시스템의 가장 좋은 결합은 이온배제 칼럼을 통과한 시료의 일부(void volume, 한꺼번에 용리된 무기음이온들이 포함되어 있다.)가 음이온교환 칼럼으로 유입되어 분리되는 시스템이다. 그림 3은 이온배제 시스템과 음이온교환 시스템을 연결한 일반적인 배열을 나타낸다. 펌프 1과 검출기 1(DET 1)은 이온배제(ion-exclusion) 칼럼과 연결되어 있고, 펌프 2와 검출기 2(DET 2)는 음이온교환(anion-exchange) 칼럼과 연결되어 있다. 이 시스템에는 4개의 six-port high-pressure switching valves(TEV, 1TV, 2TV, MIV)가 쓰이고 있으며, 시료의 수동주입과 자동주입이 모두 가능하다. 1 ppm 이상의 농도에서는 수동으로 시료를 주입하고, ppb 단위의 낮은 농도에서는 시료를 자동으로 주입하여 농축단계를 거치도록 되어 있다.

가. 고농도 범위 (ppm range)

그림 4는 유기산과 무기음이온의 농도가 1 ppm 이상일 경우, 이들을 농축하는 cartridge(CON)와 TEP, TEV를 사용하지 않고 진행하는 단계를 나타낸다. 주사기를 사용하여 수동으로 시료를 취하고(step 1), 수동주입 밸브(manual injection valve, MIV)를 통해 시료를 주입한다(step 2). 이때부터 timer가 작동되기 시작하고, 표 1에 나타나있는 프로그램에 의해 진행된다. 표 1에서 event 5는 두 번째 밸브(2TV)에 있는 시료고리 (sample loop)에 시료를 채우는 과정을 나타내고, event 6은 2TV에 채워진 시료를 이동시키는 과정을 나타낸다. event 8은 검출결과를 얻는 과정이다. N은 진행중임을, F는 중단됨을 나타낸다. 시료가 MIV로부터 TEV를 거쳐 이온배제 칼럼을 통과하면서 유기산등의 분리가 이루어지고, 다른 한편으로 이온배제 칼럼에 상호작용을 갖지 않는 무기음이온들을 포함한 시료의 일부(void volume)가 2TV에서 루프(loop)에 채워진다. step 3에서

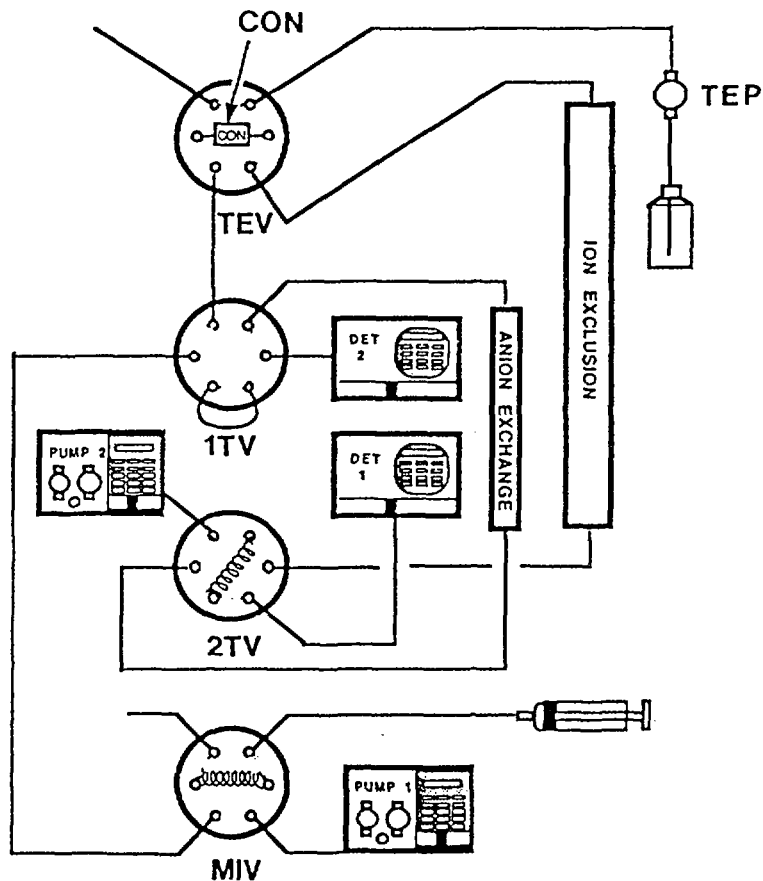


Fig.3. General configuration of the coupled ion exclusion - anion exchange system⁽⁸⁾.

Pump 1 and detector 1 (DET 1) are used in conjunction with the ion exclusion column. Pump 2 and detector 2 are parts of the anion exchange system. TEP= Single piston trace enrichment pump; CON= precolumn used for trace enrichment; TEV= high pressure switching valve utilized for connecting the precolumn into the sample stream for a known period of time; 1TV= first transfer valve connecting both pumps to the precolumn; 2TV= second transfer valve which makes it possible to transfer fractions of the ion exclusion column eluate to the anion exchange column; MIV= manual injection valve used for sample introduction in cases that do not require preconcentration (ppm range).

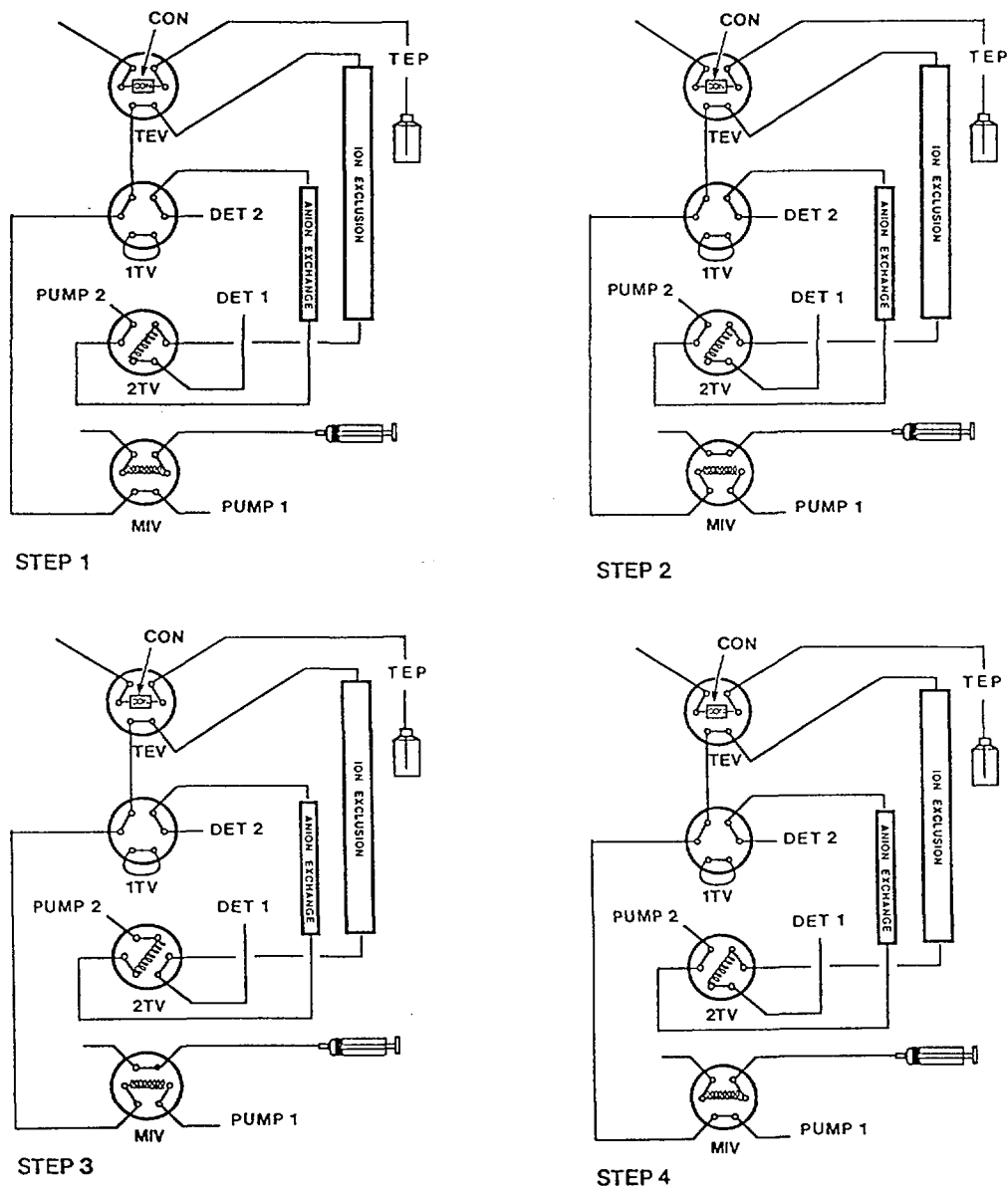


Fig.4. Column coupling at relatively high concentrations (ppm range)⁽⁸⁾.

Refer to the description presented in the Experimental section and to the program given in Table 3. step 1= Manually load sample into loop via syringe; step 2= manual injection into system 1; step 3=transfer void volume from system 1 to system 2; step 4= transfer valve returns to the original position, the two systems are separated again.

Table 1. Program for the fraction transfer between two systems (manual injection)⁽⁸⁾

Refer to Fig. 4 for the positions of the second transfer valve(2TV) controlled by the events 5 and 6. Events 1-4 and 7 have been assigned to various functions of the sample preconcentration procedure explained in Table 2 and in Fig. 6.

Step No.	Time (min.)	Events			Description
		5	6	8	
1	-	N	F	F	Loading the sample into the sample loop of the manual injection valve. N=on, F=off signifying two different levels of voltage on one of the eight pairs of contacts (8 events) in the M590 event box
2	0	N	F	F	Manual injection onto the ion-exclusion column. Data acquisition by system 1 is activated by a direct signal connection between the manual injector and the system interface (SIM)
3	4.5	F	N	P	Transfer of 500 μ l from the ion-exclusion separation to the anion-exchange column. A signal pulse P (event 8) starts the data acquisition on system 2
4	25.0	N	F	F	2TV returns to its original position separating the two systems

밸브(2TV)의 연결이 바뀌고 채워진 void volume은 음이온교환 칼럼으로 유입된다. 검출기 1과 2에서 유기산과 무기음이온을 각각 검출하게 된다. step 4에서 시스템은 처음상태로 되돌아간다. 이러한 과정을 거쳐 얻은 크로마토그램이 그림 5에 나타나 있다. 그림 5에서 위의 크로마토그램은 이온배제칼럼을 통해 분리된 유기산들의 피크를 검출한 결과이고, 아래의 크로마토그램은 음이온교환 칼럼을 통해 분리된 무기음이온을 검출한 결과이다. 이들 약산의 음이온과 강산의 음이온을 모두 측정하는데 20여분의 짧은 시간이 소요된다.

나. 저농도 범위 (ppb range)

유기산과 무기음이온의 농도가 1 ppm 미만일 경우, 이들을 농축하는 단계를 거치게 된다. 이때의 모든 과정은 표 2에 나타나 있는 순서에 의해 자동으로 진행된다. 표 2에서 event 1-4는 농축단계를 진행시키기 위해 필요한 과정으로 event 1과 2는 TEV를 조절하고, event 3과 4는 1TV를 조절하기 위한 과정이다. 표 2와 그림 6에서 보는바와 같이, 시료를 주입하기 이전에 농축칼럼을 평형상태로 유지한다(step 1). 농축칼럼에 시료를 취하고, 취한 시료를 농축칼럼에서 농축한 후(step 2), 농축된 시료가 이온배제 칼럼으로 유입되고(step 3), 이온배제 칼럼에서 분리되지 않고 미리 용리되는 무기음이온이 포함된 일부의 시료(void volume)가 2TV에 연결된 loop에 채워진다(step 4). loop에 채워져있던 시료가 음이온교환 칼럼으로 이동한다(step 6). 시스템은 처음 상태로 되돌아 간다(step 7). 농축과정에 의해 얻은 크로마토그램이 그림 7에 나타나 있다. 5 - 25 ppb의 무기-유기음이온이 동시에 검출된 결과가 나타나 있다. 농축과정을 거쳤을 때 유기산은 87.1 - 95.4 %로 회수율이 높으며, 무기음이온의 경우에는 59.7 - 84.4 %로 회수율이 낮다(표 3). 무기음이온 중에서 chloride

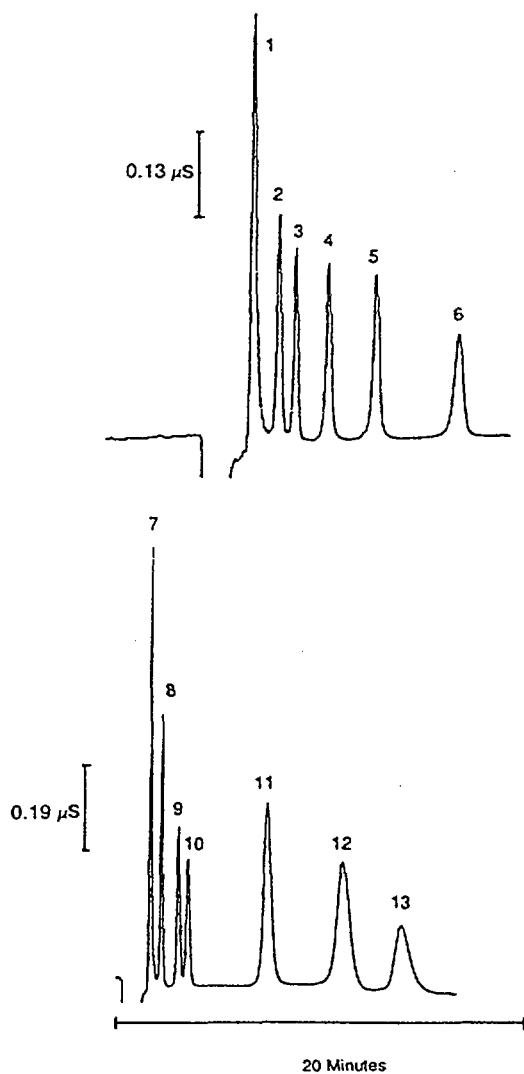


Fig.5. Simultaneous separation of weakly and strongly acidic anions on a coupled system⁽⁸⁾.

Conditions: flow-rate, 1 ml/min for both separation systems; sample, 100 μ l of a mixture of strong and weak acid anions. Other conditions were identical with those in Fig.1 (anion exchange) and in Fig.2 (ion exclusion). Anions: 1=fluoride(0.5ppm); 2=glycolate(2.0ppm); 3=formate(1.0 ppm); 4=acetate(10.0ppm); 5=propionate(20.0ppm); 6=butyrate(20.0ppm); 7=iodate(50.0ppm); 8=chloride(1.0ppm); 9=bromide(2.0ppm); 10=nitrate(2.0 ppm); 11=iodide(20.0ppm); 12=sulfate(2.0ppm); 13=thiocyanate(5.0ppm).

Table 2. Program for the fraction transfer between two systems (with sample preconcentration)⁽⁸⁾

Step No.	Time (min)	Events								Description
		1	2	3	4	5	6	7	8	
1	0.0	F	N	N	F	N	F	F	F	Equilibrate precolumn
2	2.0	N	F	N	F	N	F	N	F	Load sample
3	12.0	F	N	F	N	N	F	N	P	Inject part 1
4	12.0	F	N	N	F	N	F	F	F	Inject part 2
5	13.0	N	F	N	F	N	F	F	F	End injection
6	16.5	N	F	N	F	F	N	F	F	Transfer
7	36.5	N	F	N	F	N	F	F	F	Reset valves

Refer to Fig. 6 for the positions of the valves controlled by the events 1-6. TEV, event 1 and 2; 1TV, events 3 and 4; 2TV, events 5 and 6; TEP, event 7. Data acquisition for both separations, event 8. N=on, F=off.

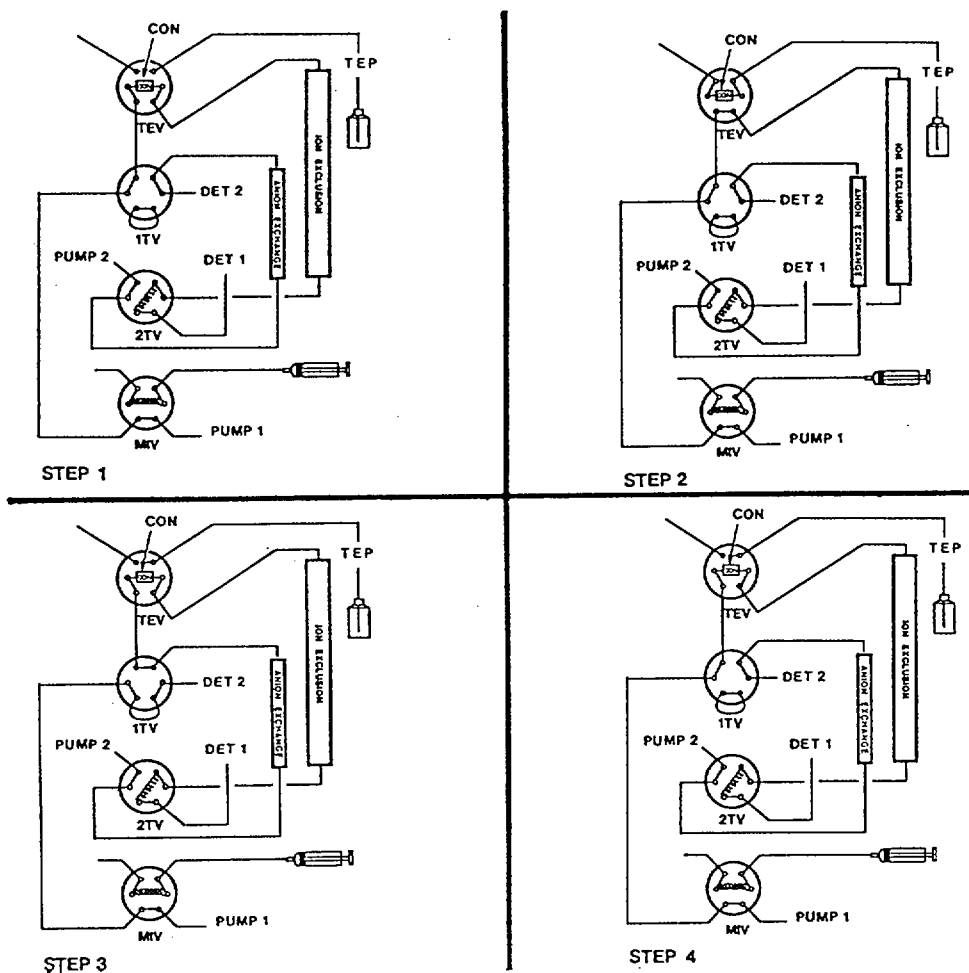


Fig.6. Simultaneous trace enrichment of the weak and strong anions followed by concurrent ion-exclusion and anion-exchange separations⁽⁸⁾.

Table 2 describes the details of the column switching program. Step 1= Purge sample line/equilibrate concentrator/TEP on; step 2=load sample onto concentrator/TEP on; step 3=inject sample with eluent 2/TEP off; step 4=inject sample with eluent 1; step 5=end of injection; step 6=transfer void volume to system 2; step 7=reset valves to the initial position.

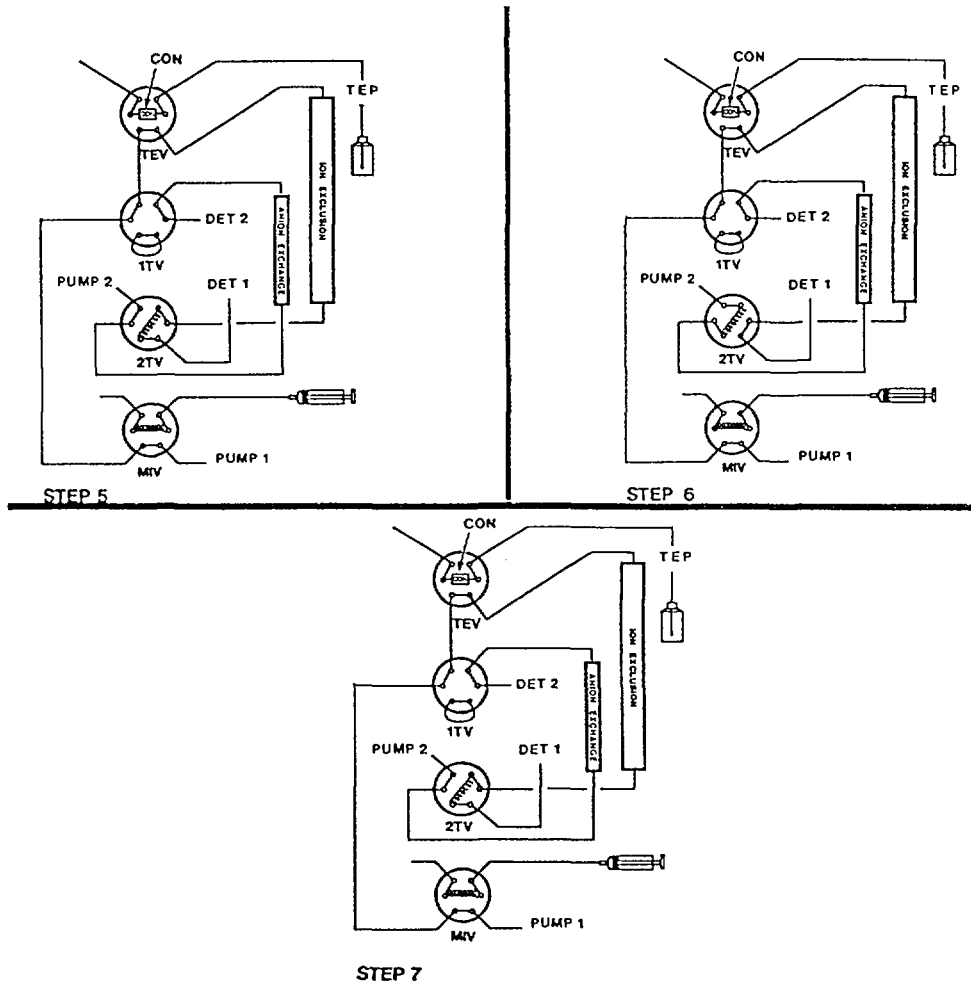


Fig.6. Continued

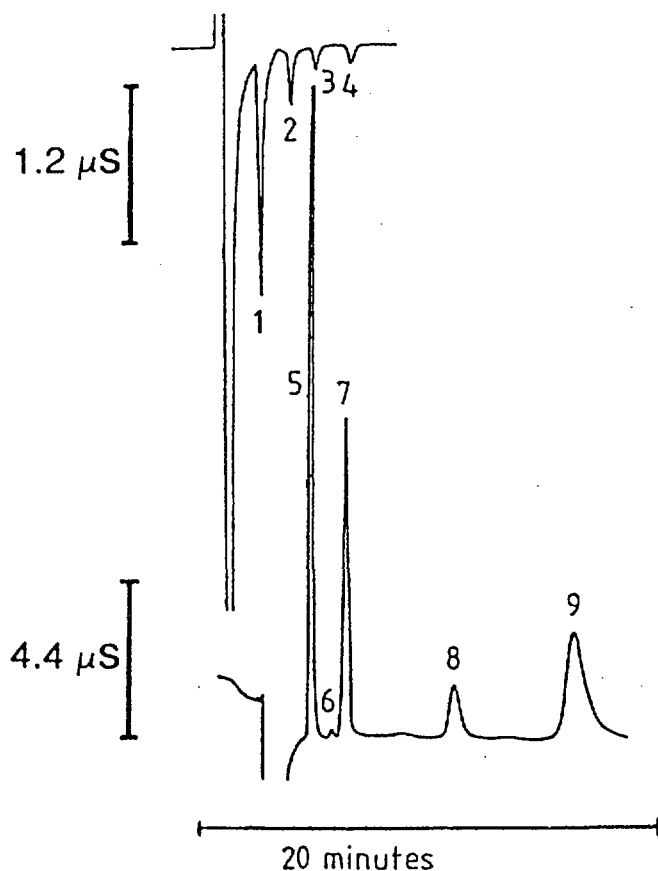


Fig.7. Chromatogram of ppb concentrations of carboxylic acids and inorganic anions⁽⁸⁾.

Conditions: anion-exchange eluent, 2.1 mM sodium octanesulfonate; sample, 33ml of the low-ppb mixture of anions were preconcentrated on a precolumn (CON, Fig. 3). All other conditions were as given in Fig. 5. It should be noted that because of the delayed start of data acquisition for the upper chromatogram (ion exclusion) 2.8 min. should be added to the retention times for peaks 1-4. Anions: 1=fluoride(5ppb); 2=formate(5ppb); 3=acetate (10ppb); 4=propionate(25ppb); 5=chloride(25ppb); 6=bromide; 7=nitrate(25 ppb); 8=iodide(25ppb); 9=sulfate(25ppb).

Table 3. Recoveries at ppm and ppb levels⁽⁸⁾

Anion	Concentration (ppm)	Injection/preconcentration volume (ml)	Recovery (%)
Chloride	2	0.1	74.1
Nitrate	4	0.1	80.3
Fluoride	0.0033	35	84.4
Formate	0.0067	35	91.2
Acetate	0.0167	35	95.4
Propionate	0.0333	35	87.1
Chloride	0.0067	35	59.7
Nitrate	0.0133	35	60.2

For acceptable recoveries of weak acids the pH of the preconcentrated samples has to be sufficiently high to ensure a full dissociation of analytes.

와 nitrate는 농축과정을 거치지 않은 2ppm의 chloride와 4ppm의 nitrate와 비교하여 회수율이 약 15-20 % 떨어진다.

2. 음이온교환 칼럼 - 음이온교환 칼럼 연결

용량이 다른 두 개의 음이온교환 칼럼을 연결하여 하나의 검출기로 측정하는 시스템이다. 표 4는 두 칼럼에서의 packing material의 특성을 나타내고 있다. C₁과 비교해서 C₂칼럼의 이온교환 용량(ion-exchange capacity)이 훨씬 더 크기 때문에, 같은 크로마토그래피 조건하에서 C₁칼럼보다는 C₂칼럼을 통과하는 음이온들이 더 늦게 용리된다. C₁칼럼에서 carbonate와 nitrite가 서로 분리가 안되고, C₂칼럼에서는 carbonate와 chloride가 분리되지 않는다. C₂칼럼을 사용해서 9가지의 음이온이 포함된 표준용액을 분리한 예가 그림 8에 나타나 있다. phosphate 이온까지 모두 용출되는데 35분의 시간이 소요되며 chloride와 carbonate가 분리되지 않고 하나의 피크(4,5 피크)로 검출된다. 그러므로 이온교환 용량이 작은 C₁칼럼과 이온교환 용량이 상대적으로 큰 C₂칼럼을 연결하여 적절한 시간에 칼럼을 스위칭하여 C₁에서 C₂칼럼으로 흘러나온 용리액이 다시 C₁칼럼을 통과하도록 한다.

그림 9은 칼럼의 스위칭 동안 성분들이 분리되는 원리를 보여준다. (a) C₁칼럼으로 시료가 주입된다. (b) C₁칼럼에서 무기음이온들의 분리가 일어나고, fluoride, chloride, carbonate와 유기음이온들은 C₁칼럼의 작용기와 상호작용이 약해 C₁칼럼을 먼저 통과하고 C₂칼럼으로 유입되어 분리가 일어난다. (c) 이때 column switching을 작동한다. C₁에서 C₂를 통과한 용리액이 다시 C₁칼럼으로 유입된다. (d) 최종적으로 C₁칼럼을 통과하면서 유기-무기음이온들이 모두 분리된다. 이와 같은 과정을 통해 검출한

Table 4. Comparison of the properties of the packing materials in columns C₁ and C₂⁽¹⁰⁾

Property	AS4A(C ₁)	AS10(C ₂)
Support	Pellicular Poly(styrene- divinybenzene)	Macroporous Ethylvinylbenzene- divinybenzene
Diameter	15 μ m	8.5 μ m
Cross-Link	4%	55%
Pore Size	< 1 Å	2,000 Å
Layer	Latex	Latex
Diameter	200nm	65nm
Cross-Link	0.5%	5%
Functional group	Alkanol Quaternary amine	Alkanol Quaternary amine
Ion-exchange capacity	20 μ equiv.	170 μ equiv.
Column dimensions	250mm \times 4.6mm I.D.	250mm \times 4.6mm I.D.

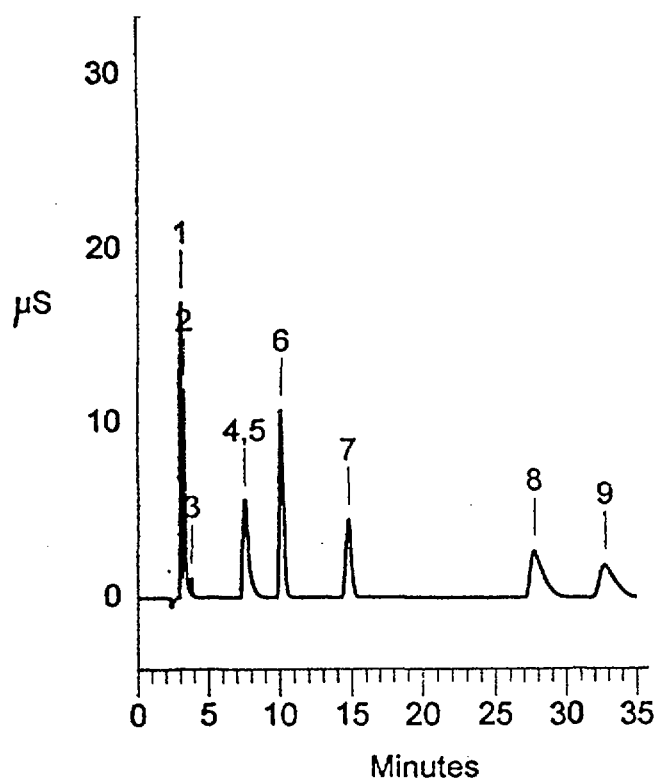


Fig.8. Chromatogram of a nine-anion standard solution on column C₂⁽¹⁰⁾.

Peaks: 1=2ppm fluoride; 2=10ppm acetate; 3=10ppm formate; 4=3ppm chloride; 5=100ppm carbonate; 6=10ppm nitrite; 7=5ppm sulphate; 8=10ppm nitrate; 9=15ppm phosphate.

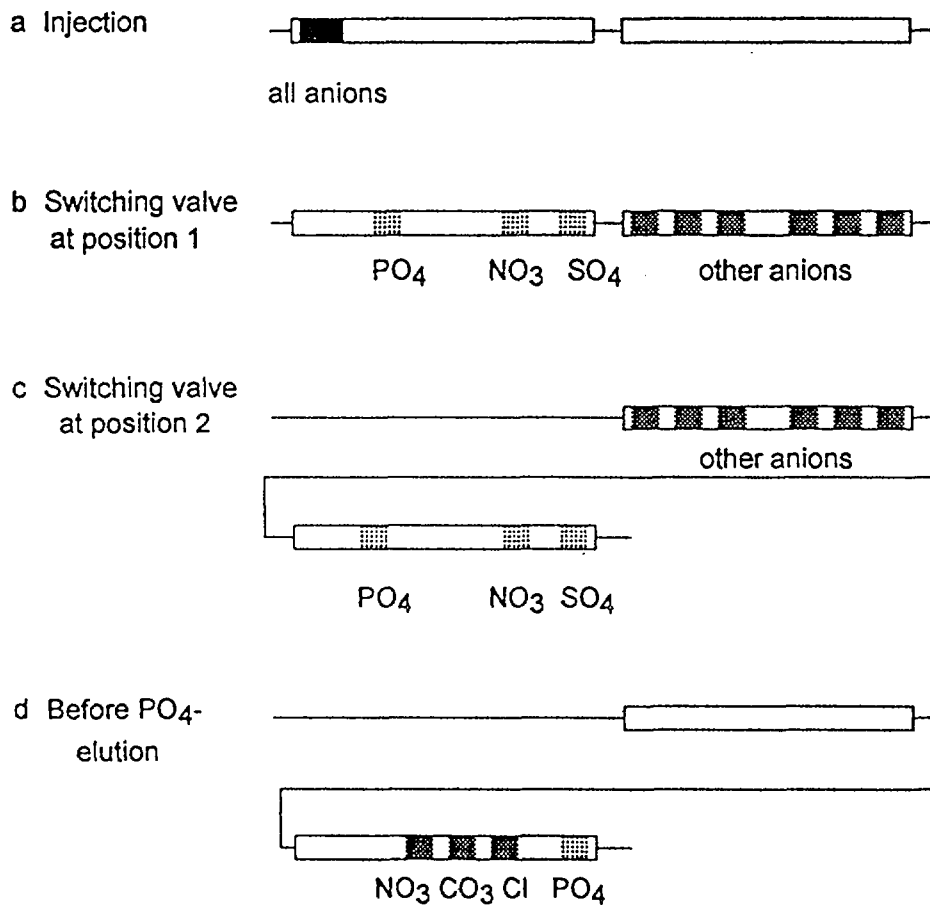


Fig.9. Elution sequence during column switching⁽¹⁰⁾

음이온들의 크로마토그램이 그림 10에 나타나 있다. 더 상호작용이 큰 음이온들인 sulphate, nitrate가 C₂ 칼럼을 통과하지 않고 C₁ 칼럼으로부터 먼저 용리되어 검출기에 나타나고(그림 10에 보이는 7, 8의 피크), phosphate(9의 피크)는 C₂ 칼럼을 통과하지 않지만 고정상과의 상호작용이 가장 커서 C₁, C₂를 거쳐 다시 C₁을 통과하여 용리되는 fluoride와 분자량이 작은 유기산(1-3 피크)보다 늦게 용리되며 C₁-C₂-C₁를 통과하는 chloride, carbonate, nitrite가 차례로 용리된다.

시료가 주입되어 C₁칼럼으로부터 fluoride, 유기음이온, chloride, nitrite가 먼저 용리되므로 nitrite가 완전히 용리된 시점이 switching point의 시작이고, sulphate, nitrate, phosphate가 나중에 용리되므로 sulphate의 용리가 시작될 때가 switching point가 끝나는 시점이다. 스위칭 시간을 다르게 하여 얻은 크로마토그램이 각각 그림 11의 a에서 e까지 나타나 있다. 그림에서 보면 시료 주입 후 3분이 최적의 switching point이다. 칼럼을 스위칭하여 측정한 결과(그림 10)를 C₂ 칼럼만을 사용해서 분리한 결과(그림 8)와 비교해 볼 때 거의 50%의 시간을 절약할 수 있으며 chloride와 carbonate가 분리된다. 이 시스템을 이용한 음용수 시료 분석 결과가 그림 12에 나타나 있다. chloride(피크 4)와 carbonate(피크 5)가 분리된다. spiked water의 크로마토그램이 그림 13에 나타나 있다. fluoride와 acetate, formate, butyrate 유기산이 분리되며 phosphate와 nitrite를 20분 내에 측정할 수 있다.

이 방법은 넓은 범위의 시간대에서 switching이 가능하므로 머무름 시간 차이가 큰 성분들도 시간을 조절하여 빠른 시간 내에 용리할 수 있으며 칼럼들의 특성을 사용해 하나의 칼럼에서는 분리되지 않는 성분들도 분리할 수 있는 장점을 갖는다.

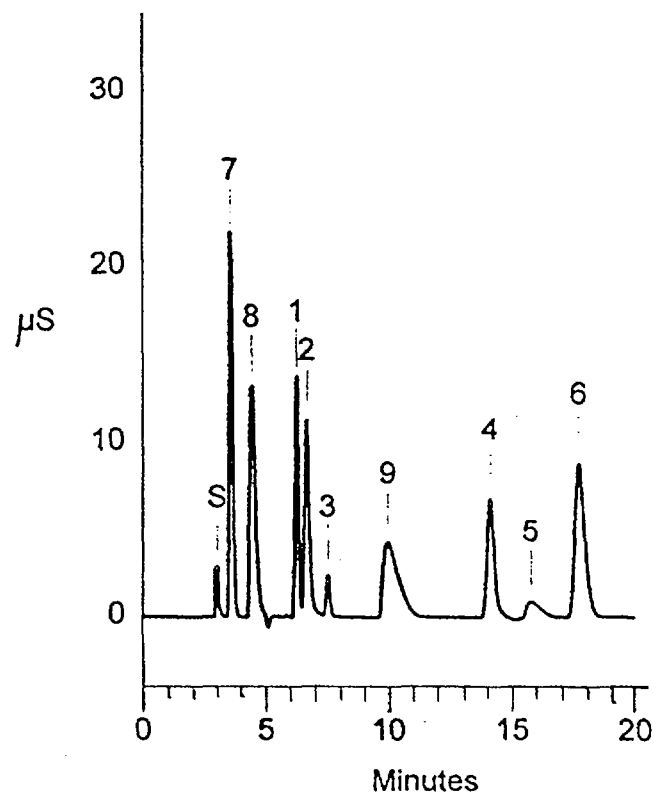


Fig.10. Chromatogram of a nine-anion standard solution using column switching⁽¹⁰⁾.

Peaks: 1=2ppm fluoride; 2=10ppm acetate; 3=10ppm formate; 4=3 ppm chloride; 5=100ppm carbonate; 6=10ppm nitrite; 7=5ppm sulphate; 8=10 ppm nitrate; 9=15ppm phosphate.

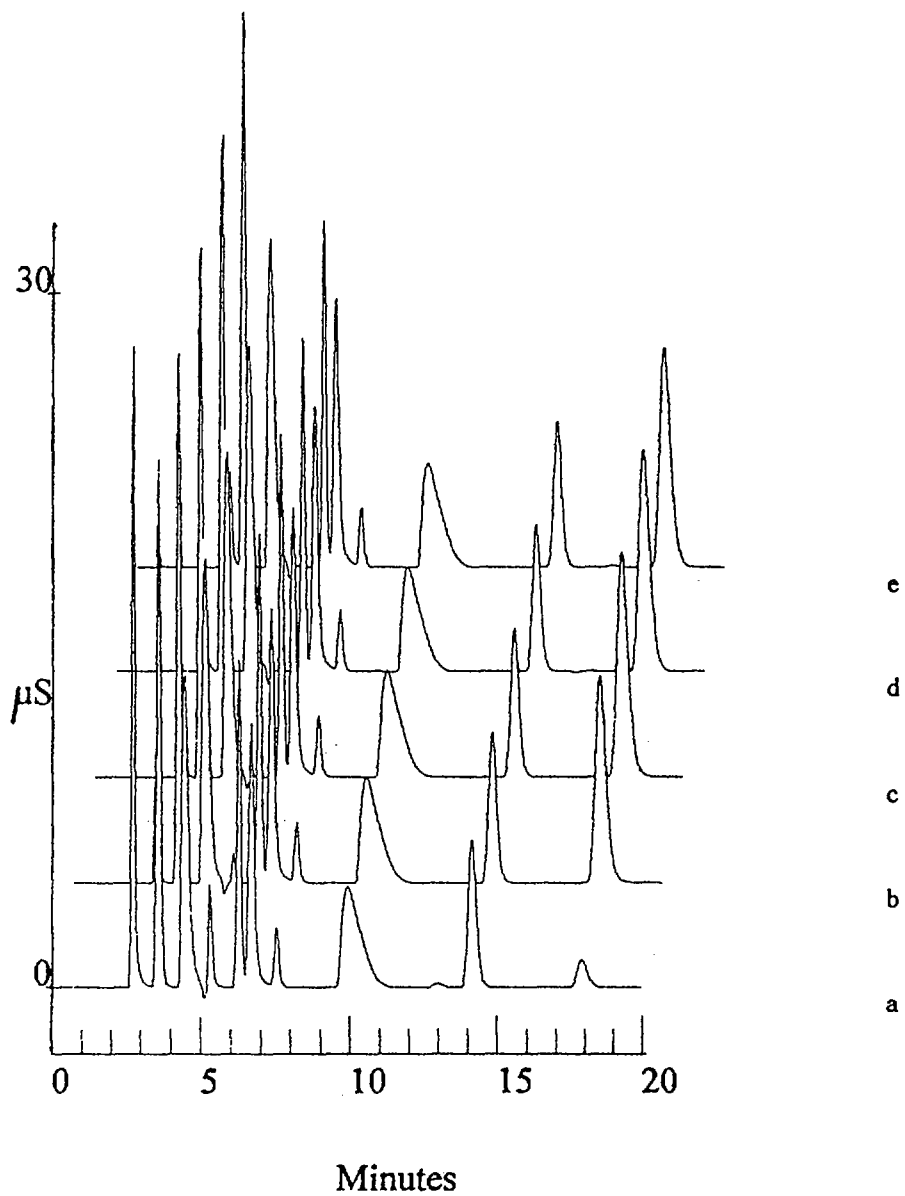


Fig.11. Chromatograms of a nine-anion standard solution using column switching at different times⁽¹⁰⁾. Switching point after (a) 2.7, (b) 2.8, (c) 2.9, (d) 3.0 and (e) 3.1 min.

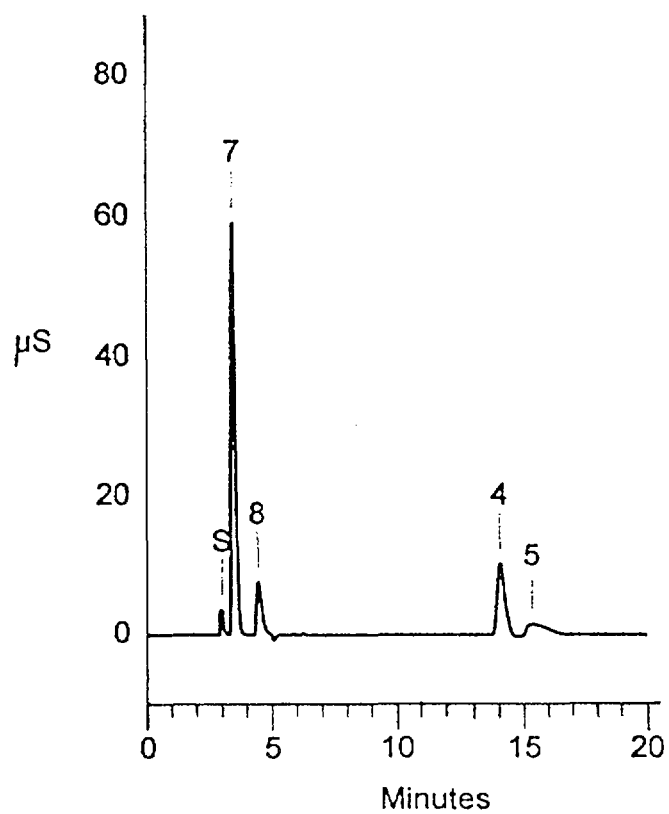


Fig.12. Chromatogram of a drinking water sample using column switching⁽¹⁰⁾. Peaks: 7=sulphate; 8=nitrate; 4=chloride; 5=carbonate; S=switching peak.

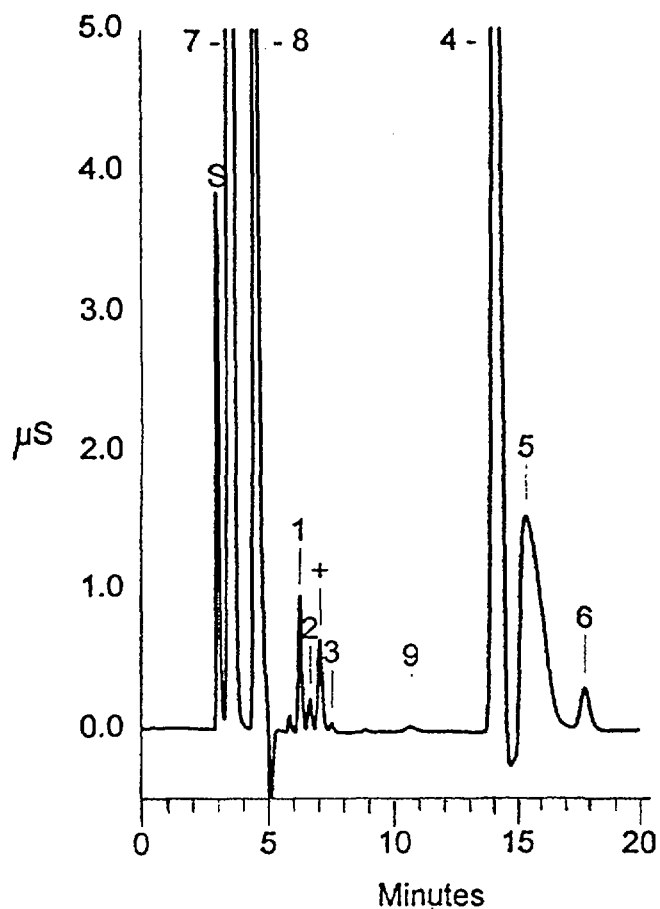


Fig.13. Chromatogram of a spiked drinking water sample using column switching⁽¹⁰⁾. Peaks: 7= sulphate; 8= nitrate; 4= chloride; 5= carbonate; S=switching peak. Spikes: 1= 0.1ppm fluoride; 2= 0.1ppm acetate; += 0.1ppm butyrate; 3= 0.1ppm formate; 6= 0.3ppm nitrite; 9= 0.1ppm phosphate.

$$\log k' = \frac{-A}{E} \log[EI] + \log Const_i \quad (3)$$

식 3에 의하면 $\log[EI]$ 에 대한 $\log k'$ 값의 표현이 분석성분들 각각에 대해 직선을 나타내고, 그 기울기는 분석성분의 전하(A)를 용리이온의 전하(E)로 나눈 음의 값을 나타낸다. 용리액의 농도가 1 mM 일 때 $Const_i = k'$ 이다.

기울기 용리에서, k' 는 용리액의 농도에 따라 변한다. 그러므로 기울기 용리에서는 머무름을 k' 대신 $(V_R - V_m)/V_m$ 으로 표현한다. 식 4는 기울기용리에서 용리액 농도가 증가하는 기울기에 따른 분석성분의 머무름을 나타낸다.

$$\frac{V_R - V_m}{V_m} = Const_g R^{\frac{-A}{(A+E)}} \quad (4)$$

여기서, V_R 은 분석성분의 머무름 부피(retention volume)이고, V_m 은 이동상의 부피(이 값은 void volume과 같다.)이고, $Const_g$ 는 기울기 상수이며, R 은 용리액이 증가하는 기울기(slope, mM/ml)이고, A, E 는 분석성분과 용리이온 전하의 절대값이다. 양변에 \log 를 취하면 식 5가 얻어진다.

$$\log \frac{V_R - V_m}{V_m} = \frac{-A}{A+E} \log R + \log Const_g \quad (5)$$

R 이 mM/ml로 측정되면, R 이 1일 때 $Const_g$ 는 $(V_R - V_m)/V_m$ 와 같다. 기울기 용리에 대한 식 5은 등용매 용리에 대한 식 3과 유사하다. 즉, $\log R$

에 대한 $\log(V_R - V_m)/V_m$ 의 값이 직선으로 표현된다. -1 전하의 용리온을 사용할 때, -1, -2, -3 전하의 분석성분에 대한 기울기는 각각 -1/2, -2/3, -3/4 로 예상된다.

2. 기울기 용리에 의한 분리

등용매 용리에서 $\log[EI]$ 에 대한 $\log k'$ 를 측정한 결과를 그림 14에 나타냈다. 용리액의 농도가 증가함에 따라 머무름시간이 줄어드는 정도를 알 수 있다. 기울기 용리에서 $\log R$ 에 대한 $\log(V_R - V_m)/V_m$ 의 측정값을 그림 15에 나타냈다. 기울기 용리에서 용리액을 기울기용리하는 정도가 클수록 분석성분들의 머무름시간이 짧아지는 정도를 알 수 있다. 각 직선들의 기울기(slope) 값은 이론적인 식에서 계산하여 예측한 값과 잘 맞는다 (표 5).

그림 14와 그림 15에 나타나 있는 값들을 이용해 기울기 용리의 최적 조건을 얻을 수 있다. 실제로 가장 좋은 분리조건을 적용하기 위해 하나가 아닌 여러개의 다른 기울기를 사용하기도 하고, 단계적인(stepwise) 기울기를 사용하기도 한다. 복잡한 기울기용리 프로그램에서는 computer simulation을 사용하여 더 간단히 수행한다.

식 5는 분석성분들의 분리경향을 예측하는데 간단히 사용된다. 예를 들어, 전하가 다른 두 이온들이 함께 용리될 때, 기울기 용리의 경사를 급하게 하면 전하가 큰 이온이 먼저 용리된다. 그 예가 그림 16에 나타나 있다. (a)에서 2 - 9분 동안 용리액의 농도를 2.5 - 18.5 mM 까지 증가시키면 sulfate와 nitrate가 분리되지 않고 하나의 피크로 나타난다. (b)에서 2 - 9분 동안 용리액의 농도를 2.5 - 22.5 mM 까지 증가시키면, sulfate와 nitrate가 분리되며 -2 전하의 sulfate가 먼저 용리된다. 그러나 피크

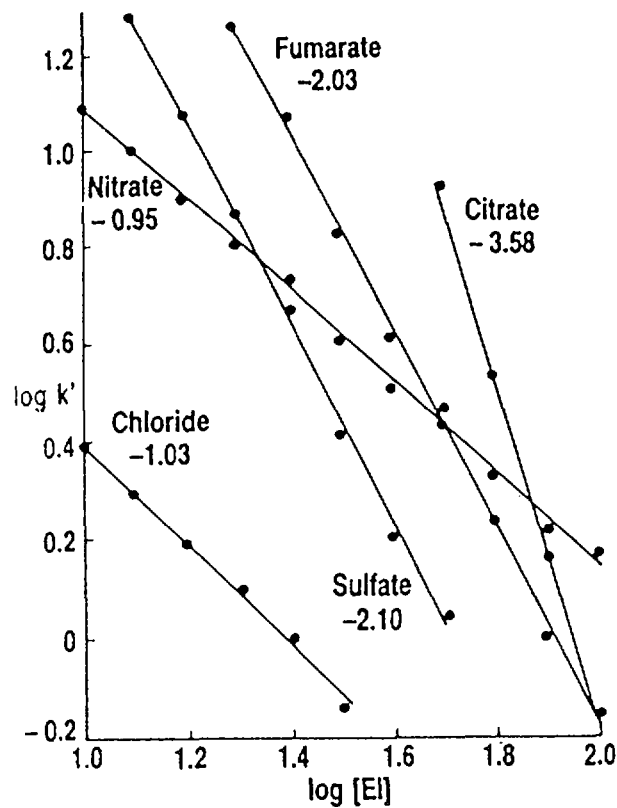


Fig.14. Log k' vs. log eluent concentration for HPIC-AS5A with isocratic elution⁽¹¹⁾.

Eluent is diluted from 100mM sodium hydroxide. X axis is in units of log (mM). Each point is the average of two measurements. Concentrations of anions used: chloride, 3ppm; nitrate, 5ppm; sulfate, 10ppm; fumarate, 5ppm; citrate, 50ppm.

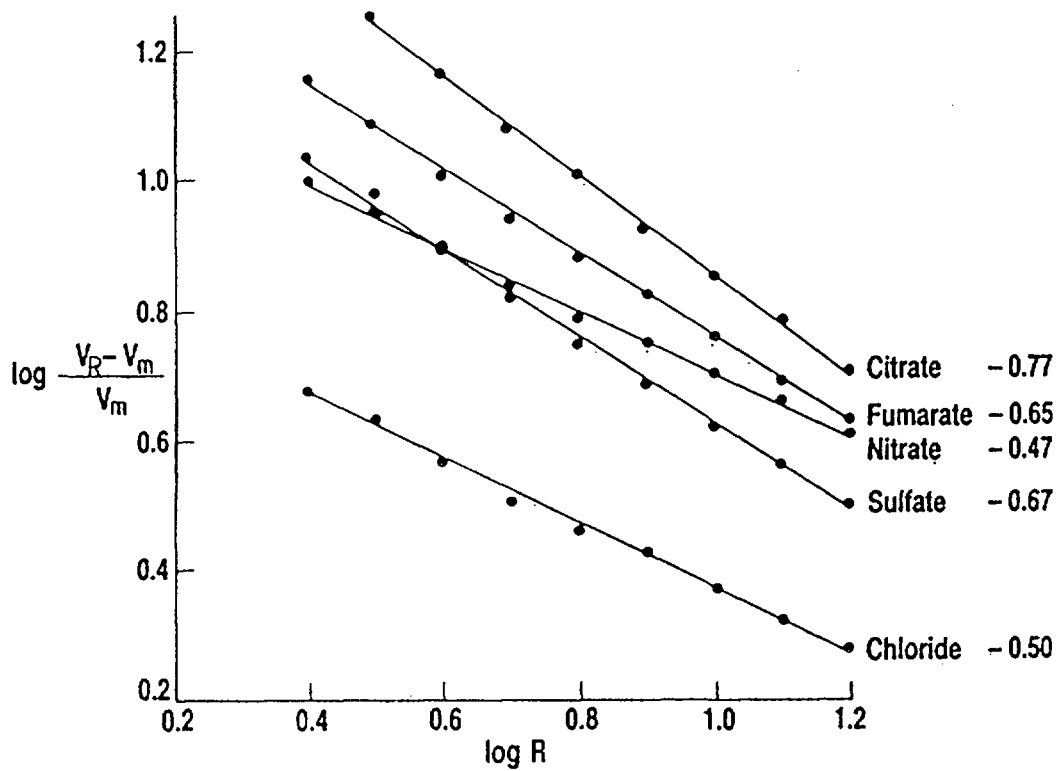


Fig.15. $\log(V_R - V_m)/V_m$ vs. $\log R$ for HPIC-AS5A with gradient elution⁽¹¹⁾.

Eluent is diluted from 100mM sodium hydroxide. X axis is in units of \log (mM/ml). Each point is the average of two measurements. Concentrations of anions used: chloride, 3ppm; nitrate, 5ppm; sulfate, 10 ppm; fumarate, 5ppm; citrate, 50ppm.

Table 5. Parameters from isocratic and gradient log-log plots⁽¹¹⁾

	Chloride	Nitrate	Sulfate	Fumarate	Citrate
Isocratic					
Slope	-1.03	-0.95	-2.10	-2.03	-3.58
-A/E	-1	-1	-2	-2	-3
Const _i *	27	110	3,900	7,800	9,800,000
Gradient					
Slope	-0.50	-0.47	-0.67	-0.65	-0.77
-A/(A+E)	-0.5	-0.5	-0.67	-0.67	-0.75
Const _g **	7.4	15	20	26	42
Const _g (calc)***	7.0	14	19	24	65

Data is from Figs. 14 and 15.

* Inverse log of y intercept from Fig. 14. Represents k' for a 1 mM sodium hydroxide eluent.

** Inverse log of y intercept from Fig. 15. Represents $(V_R - V_m)/V_m$ for gradient elution with a ramp slope of 1mM/ml.

*** Calculated from Const_i using eqn.

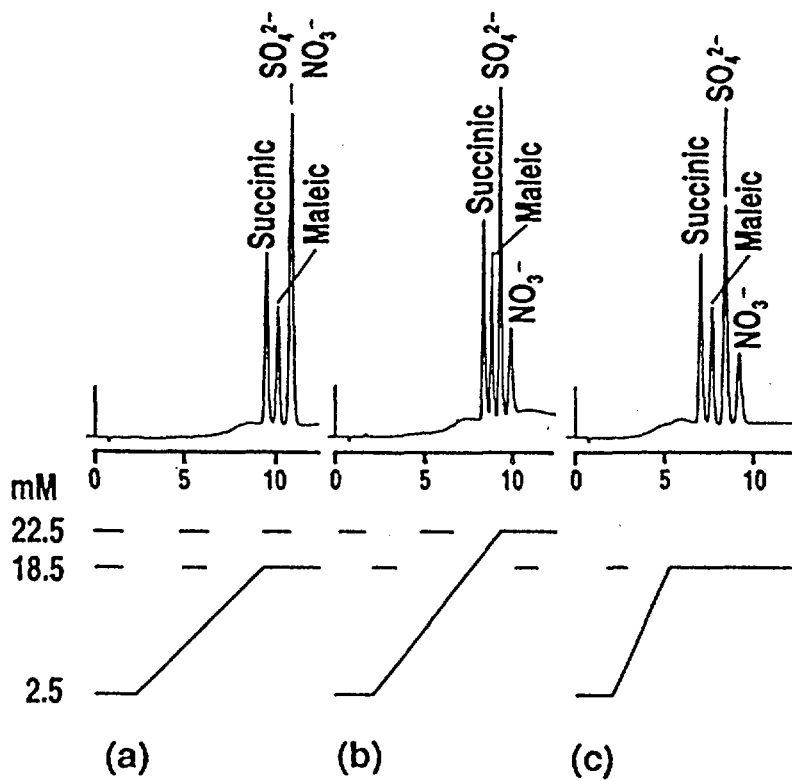


Fig.16. Effect of gradient ramp on elution for HPIC-AS6 with *p*-cyanophenate eluent⁽¹¹⁾.

The gradient program is shown below each chromatogram. Increasing either the gradient ramp slope or the final isocratic eluent concentration separates nitrate and sulfate.

들이 밀집되어 있다. (c)에서는 2 - 5분으로 시간을 단축시키고 용리액의 농도를 2.5 - 18.5 mM 까지 경사 정도를 크게하여 기울기 용리할 때, sulfate와 nitrate가 분리되며 분리도(resolution)가 좋은 결과를 보인다. 음이온교환 크로마토그래피에서 기울기 용리의 주요 응용분야는 유기 음이온과 무기음이온이 혼합되어 있는 시료들이다.

초기에는 Dionex IonPac AS11 칼럼을 사용하여 기울기 용리를 적용했다. 이 칼럼은 유기산과 무기음이온을 분리하는데 효과적이며 일반 유기 용매의 사용이 가능하다. 그러나 formate 와 butyrate가 분리가 안되는 단점이 있다. 이를 보완하기 위해 개발된 Dionex OmniPac PAX-500 이온교환 칼럼이 효율성과 선택성(selectivity) 면에서 유용한 것으로 알려져 있다. 여러 성분이 혼합되어 있는 복잡한 시료를 분석하는 것이 어렵지만 기울기 용리에 따른 성분들의 머무름 시간을 예측하여 시간과 농도에 대한 기울기 용리 프로그램을 설정하고 분석을 수행하면 보다 간단히 성분들을 분리할 수 있다. 환경과 식품분야의 시료에 유기산의 이온교환 분리를 적용하는 논문들이 많이 발표되어 오고 있다⁽¹¹⁻²³⁾.

3. 시료 분석

산업폐수와 생활폐수등 성분들이 다양하고 복잡하게 함유되어 있는 시료들을 분석하기 위해서는 기울기 용리하는 단계도 약간 복잡하다(표 6). 3가지 농도(1 mM, 5 mM, 200 mM)의 NaOH와 증류수를 사용해 분자량이 낮은 유기산을 분리하기 위해 15분 까지 0.5 mM의 낮은 농도를 유지하다가 무기음이온과 기타 유기산을 분리하기 위해 18분 동안 0.5 mM에서 44 mM 까지 용리액의 농도를 증가 시킨다. 이와같은 단계를 이용해 13종류의 유기산과 8종류의 무기음이온을 분리한 크로마토그램이 그림 17에 나타나

Table 6. NaOH step gradient for the simultaneous separation of organic and inorganic anions on a Dionex PAX-500 column⁽¹²⁾

Time (min.)	%Eluent 1 (DI water)	%Eluent 2 (1mM NaOH)	%Eluent 3 (5mM NaOH)	%Eluent 4 (200mM NaOH)	Eluent concentration NaOH (mM)
0	65	35	0	0	0.35
9.5	65	35	0	0	0.35
12.0	90	0	10	0	0.5
15.0	0	0	100	0	5.0
25.0	0	0	94	6	16.7
30.0	78	0	0	22	44
33.0 ^a	78	0	0	22	44

^a Late-eluted acids, such as citric and sebacic acid, require the last gradient step to be held for an additional 5 min.

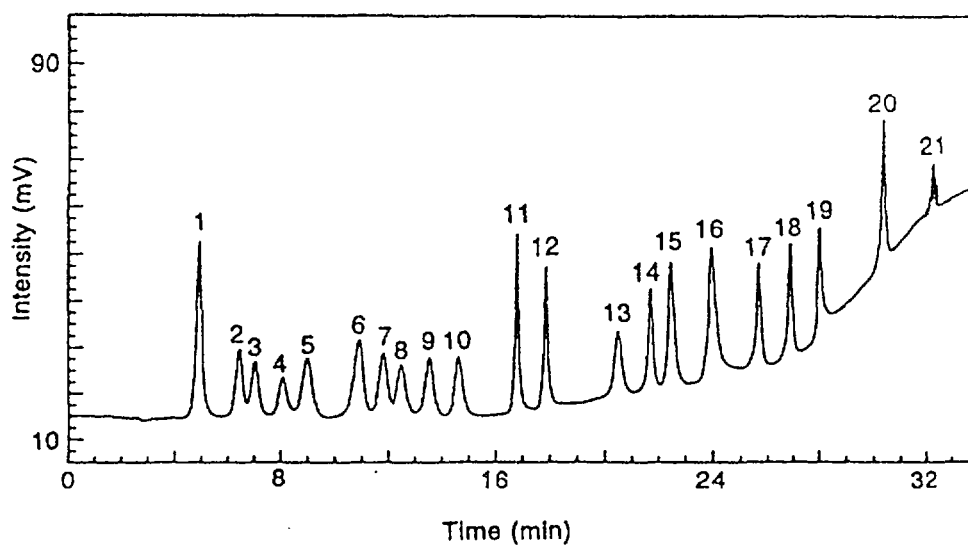


Fig.17. Separation of thirteen organic acids and eight inorganic anions on a Dionex OmniPac PAX-500 column, $250 \times 4\text{mm}^{(12)}$.

Injection volume was $10\mu\text{l}$. gradient pump. conductivity detector. self-regenerating suppressor (ASRS, 4mm). gradient condition in Table 6. Peaks: 1=fluoride(5ppm), 2=acetate(10ppm), 3=propionate, 4=butyrate(10ppm), 5=iso-valerate(10ppm), 6=formate(10ppm), 7=valerate(20ppm), 8=iso-caproate(20ppm), 9=pyruvate(20ppm), 10=sec-caproate(20ppm), 11=chloride(5ppm), 12=nitrite(10ppm), 13=benzoate(20ppm), 14=bromide(10ppm), 15=nitrate(10ppm), 16=carbonate(10ppm), 17=malonate(10ppm), 18=sulfate(5ppm), 19=oxalate(10ppm), 20=phthalate(20ppm), 21=phosphate(10ppm).

있다. propionate와 butyrate의 용리를 늦추어 acetate, propionate, butyrate의 분리가 가능하다. -1 전하의 유기음이온이 앞부분에서 용리되고, 이어서 -1 전하의 무기음이온이 용리된 후, -2 전하의 유기음이온과 무기음이온이 용리된다. -2 전하의 음이온들을 용리하기 위해 용리액의 농도가 급격히 진해진 것을 바탕선의 증가로 알수 있다.

가. sample matrices 제거

무기음이온과 유기산을 동시에 측정할 때 발생하는 문제점들 중의 하나는 시료 matrices에 의한 간섭이다. 특히, 산업시료는 조성이 복잡해 분석이 더욱 어렵다. 이들 sample matrices는 칼럼에 흡착되어 분석에 영향을 미치고, 칼럼의 수명을 단축시킨다. 또한 유기 화합물들이 함께 용리되어 유기산의 측정을 어렵게 하기도 한다. 그러므로 이온 크로마토그래피로 분석하기 전에 이들 유기 matrices를 제거할 필요가 있다. 즉, polymeric reversed-phase cartridge를 사용하여 유기 시료의 matrices를 제거한 후에 무기음이온과 유기음이온을 동시에 분석하는 것이 효과적이다.

p-toluenesulfonic acid (PTSA)를 검출할 때, 그림 18a는 matrix 피크가 있는 크로마토그램이고, 그림 18b는 SPE cartridge를 사용해 matrices를 제거한 후에 같은 시료를 측정한 크로마토그램이다. p-toluenesulfonic acid 피크가 분명하게 나타난다. 다른 주요 영향은 ester인데, 유기산을 함유하는 유기반응 혼합물에서 자주 ester가 발견된다. NaOH 용리액을 사용할 때, 시료 중의 ester가 쉽게 유기산으로 바뀌어 유기산 분석결과를 부정확하게 한다. 그러므로 유기산 분리실험을 하기 전에 ester를 제거해야 한다. 그림 19a는 2-propanol acetate가 칼럼을 통과하면서 가수분해되어 acetate 피크로 검출된 결과를 보여주고 있다. 그림 19b는

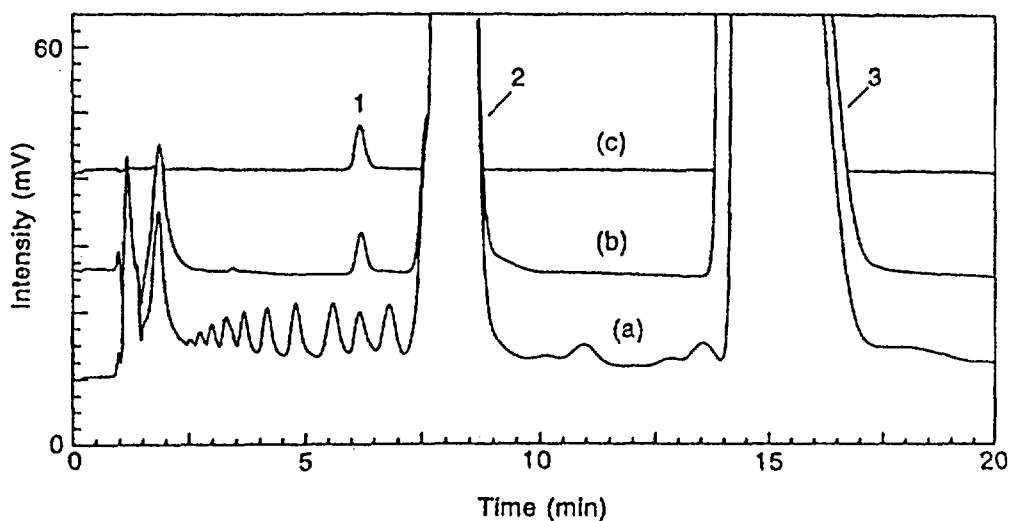


Fig.18. Removal of sample matrices by solid-phase extraction⁽¹²⁾

Dionex OnGuard-RP cartridge and a 5mM NaHCO₃ buffer at pH 8.5. column, Dionex IonPac AS4A, 250×4mm; Eluent, 1.7 mM NaHCO₃ - 1.8 mM Na₂CO₃. Flow-rate, 1.0 ml/min; Detection, suppressed conductivity using ASRS in recycle mode. a= Sample before SPE; b= sample after SPE; c= p-touenesulfonic acid standard. Peaks: 1= p-toluenesulfonic acid, 2= maleic acid and 3= fumaric acid.

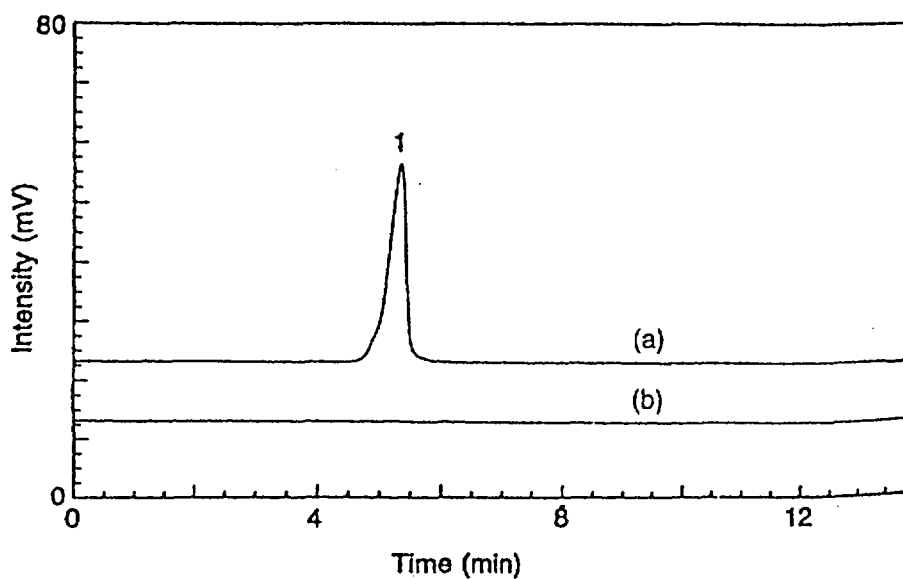


Fig. 19. Removal of esters by SPE⁽¹²⁾.

Dionex OnGuard-RP cartridge and a 5 mM NaHCO₃ buffer at pH 8.5. a= Before SPE, acetate was detected as a result of hydrolysis of 2-propanol acetate on-column. b= after SPE, no acetate was detected, indicating total removal of 2-propanol acetate. Dionex OmniPac PAX-500 column, 250×4mm. Injection volume was 10 μ l. gradient pump. conductivity detector. self-regenerating suppressor (ASRS, 4mm). gradient condition in Table 6. Peak: 1= acetate.

2-propanol acetate를 SPE cartridge에 통과시킨 후에 검출한 결과이며 acetate 피크가 검출되지 않는다. polymeric RP와 4종류의 C18 cartridges의 유기 matrix 제거능력이 표 7에 나타나 있다. Dionex OnGuard-RP cartridge가 표 7에 나타나 있는 대부분의 유기 matrix를 제거하는데 효과적이다. 표 8은 Dionex OnGuard-RP cartridge를 사용하여 유기 matrix를 제거한 후, 유기산의 회수율을 나타내고 있다. 5 mM NaHCO₃ 완충용액(pH 8.5)과 5 mM NaOH 용액(pH 11.7)을 용리액으로 사용했을 때, 10 ppm 농도에서 탄소 수가 1-4인 유기산의 회수율은 100%에 가깝지만, 유기산의 탄소수가 5 이상이 되면 5 mM NaHCO₃에서 회수율이 떨어진다. 그러므로 NaOH 용리액을 사용하는 것이 더 효과적이다. 그러나 ester가 포함되어 있는 시료 중의 유기산을 분석하고자 할 때는 5 mM NaHCO₃ 완충용액이 5 mM NaOH 보다 장점을 갖는다. 왜냐하면 ester는 5 mM NaHCO₃ 완충용액에서 서서히 가수분해되어 acetate로 변화되기 이전에 SPE cartridge에 의해 제거되고, 5 mM NaOH에서는 빨리 가수분해되어 acetate로 변화되므로 ester를 완전히 제거하지 못하기 때문이다. 그러므로 ester가 포함되어 있는 시료를 분석하는데, 오히려 5 mM NaHCO₃ 용리액이 더 유용하다. 그림 20a는 5 mM NaHCO₃ 용리액과 SPE cartridge를 사용해 ester를 제거한 후에 유기산을 측정된 결과이고, 그림 20b는 5 mM NaOH 용리액을 사용해 ester가 가수분해되어 실제값보다 훨씬 높은 값으로 측정되는 결과를 가져온다. 표 9에서 보는바와 같이, 무기음이온과 유기산의 감도(sensitivity)와 검출한계(limit of detection)는 이온교환 크로마토그래피를 이용하여 측정된 값이 이온배제 크로마토그래피를 이용한 값보다 10 - 100배 더 좋다.

환경과 관련된 많은 시료들은 조성이 매우 복잡하다. 한 예로써, 쓰레기 매립지에서 생성되는 침출수의 일반적인 조성이 표 10에 나타나 있

Table 7. Removal of organic compounds by various SPE cartridges⁽¹²⁾

Type of SPE cartridge	% Removal ^a (n=3)					
	ethyl acetate ^b	MBA ^{c,d}	MBA formate ^d	Aceto-phenone ^d	Ethyl benzene ^d	TBHP ^{b,e}
Dionex OnGuard-RP	100	100	100	100	100	85
Waters Sep-Pak Plus	19	80	75	100	100	10
Rainin Spice C18	65	85	100	100	100	35
Alltech Maxi-Clean C18	88	90	100	100	100	40
Alltech Maxi-Clean IC-RP	7	11	17	20	90	5

^a Organic compounds (0.1g) were added individually to 10ml of deionized water, shaken to mix, and allowed to equilibrate. The water layers were then passed through different SPE cartridges and analyzed by GC or HPLC for remaining organic compounds. the percentage removal was then calculated based on the organic content in the water layer before and after SPE.

^b Determined by GC.

^c *o*-Methylbenzyl alcohol.

^d Determined by HPLC-UV.

^e *tert.*-Butyl hydroperoxide.

Table 8. Recoveries of organic acids after SPE using Dionex OnGuard-RP cartridges⁽¹²⁾

Organic acid	Recovery (% , n=5) ^a	
	5 mM NaHCO ₃	5 mM NaOH
Formic acid	99	99
Acetic acid	101	102
Propionic acid	100	100
Butyric acid	96	100
Valeric acid	92	99
Isocaproic acid	85	96
Oxalic acid	102	102
Malonic acid	95	101
Benzoic acid	94	97
Phthalic acid	98	100

^a Solution containing 10 ppm of each organic acid was used.

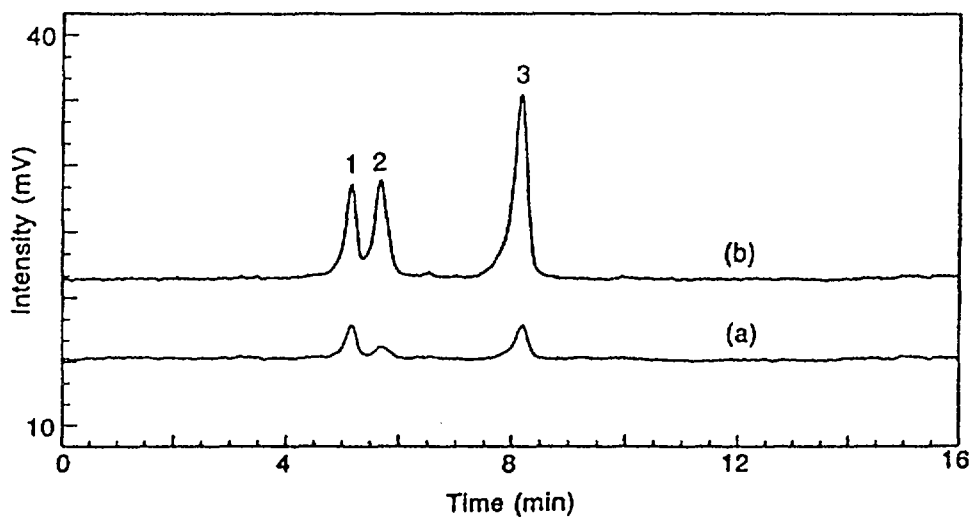


Fig.20. Determination of esters by ion chromatography⁽¹²⁾.

a=Sample with esters removed by SPE using a Dionex On-guard RP C18 cartridge and a 5 mM NaHCO₃ buffer at pH 8.5. b=Sample with esters hydrolyzed using 10 mM NaOH. Dionex OmniPac PAX-500 column, 250×4mm. Injection volume was 10 μ l. gradient pump. conductivity detector. self-regenerating suppressor (ASRS, 4mm). gradient condition in Table 6. Peaks: 1=acetate, 2=propionate and 3=formate.

Table 9. Sensitivity and limit of detection by ion-exchange and ion-exclusion methods⁽¹²⁾

Analyte	Limit of detection ^a (ng)		Sensitivity (area count/ng)	
	Ion-exchange	Ion-exclusion	Ion-exchange	Ion-exclusion
Fluoride	0.1	- ^b		
Chloride	0.2	-		
Bromide	1	-		
Nitrite	0.5	-		
Nitrate	1	-		
Sulfate	0.5	-		
Phosphate	1	-		
Formate	0.5	50	12×10^3	1.8×10^3
Acetate	1	100	7.4×10^3	0.63×10^3
Propionate	1	100	6.7×10^3	0.56×10^3
Butyrate	2	100	5.2×10^3	0.44×10^3
Valerate	2	-		
Isocaproate	2	-		
Pyruvate	2	-		
Oxalate	1	-		
Malonate	1	-		
Benzoate	2	-		
Phthalate	2	-		

^a Based on S/N=3.

^b Could not be determined by the method used.

다. VFA 중에서 대다수는 acetate와 propionate이고 더 큰 원자량을 가진 유기산도 함유되어 있다. 때때로 acetate 함량이 10,000 mg/l, propionate 함량이 3,000 mg/l에 이르기도 하며, chloride(<10,000 mg/l), sulphate(<2,000 mg/l)와 bicarbonate(<9,000 mg/l) 등의 음이온들도 다량 포함되어 있다. 양이온은 Na, K, Mg와 Ca 등이 대부분이며, 이들의 비율은 광물의 해리-침전 반응에 의해 조절된다. 침출수 중의 다른 중요한 성분들은 humic acids, colloidal, suspended matter 등이다. 오래된 매립물에서 생성된 침출수 중의 VFA 함량을 측정함으로써 침출수의 숙성도(maturity), 메탄 생성의 가능성과 재개발 계획시 고려해야할 점등에 관한 정보를 얻을 수 있다. 또한 침출수 조성은 광물들과 폐기물 사이에서 일어나는 반응상태를 나타낸다⁽⁴⁷⁾.

이온크로마토그래프로 분석하기에 앞서, 시료 중의 aromatic carboxylic acids, humic acids와 그외 칼륨을 오염시킬 가능성이 있는 성분들을 제거하기 위해 시료를 Dionex OnGuard-P cartridge에 통과 시킨다음, 음이온교환 시스템과 표 11에 나타나 있는 일반적인 프로그램을 사용하여 10분 이내에 분리가 완료되도록 기울기 용리한다. 먼저 시료 중에 존재하는 다량의 chloride를 측정하기 위해 시료를 2,000배 희석해서 측정한다(그림 21). 높은 농도의 유기음이온과 chloride가 측정된다. 그런 다음 Dionex OnGuard-Ag 와 OnGuard-H cartridge를 사용하여 다량의 chloride와 금속이온들을 제거한 후, sulphate와 다른 무기음이온들을 분석한다(그림 22). cartridge를 사용해 다량의 chloride를 제거하여도 미량의 valerate, hexanoate, heptanoate 등의 피크를 분리할 수 있다. 숙성된 침출수에서 유기산 음이온의 함량이 매우 낮은 것을 알수 있다(그림 23). 침출수 중의 음이온을 OnGuard-P cartridges와 이온 크로마토그래피로 분석한 전형적인 결과가 표 12에 나타나 있다. 숙성된 침출수에 비해

Table 11. Typical gradient programme used for inorganic anions (Dionex 4000i with AS11 ion-exchange column)⁽²⁴⁾

Time (min)	Injection valve	E1 (%)	E2 (%)	E3 (%)
0.0	off	50	0	50
0.1	off	50	0	50
0.2	off	50	0	50
2.0	off	50	0	50
7.0	off	85	15	0
7.1	off	50	0	50

Eluent E1: 18 M Ω water.

Eluent E2: 200 mM NaOH.

Eluent E3: 0.75 mM NaOH.

Eluent flow-rate: 2 ml/min; sample loop: 50 μ l

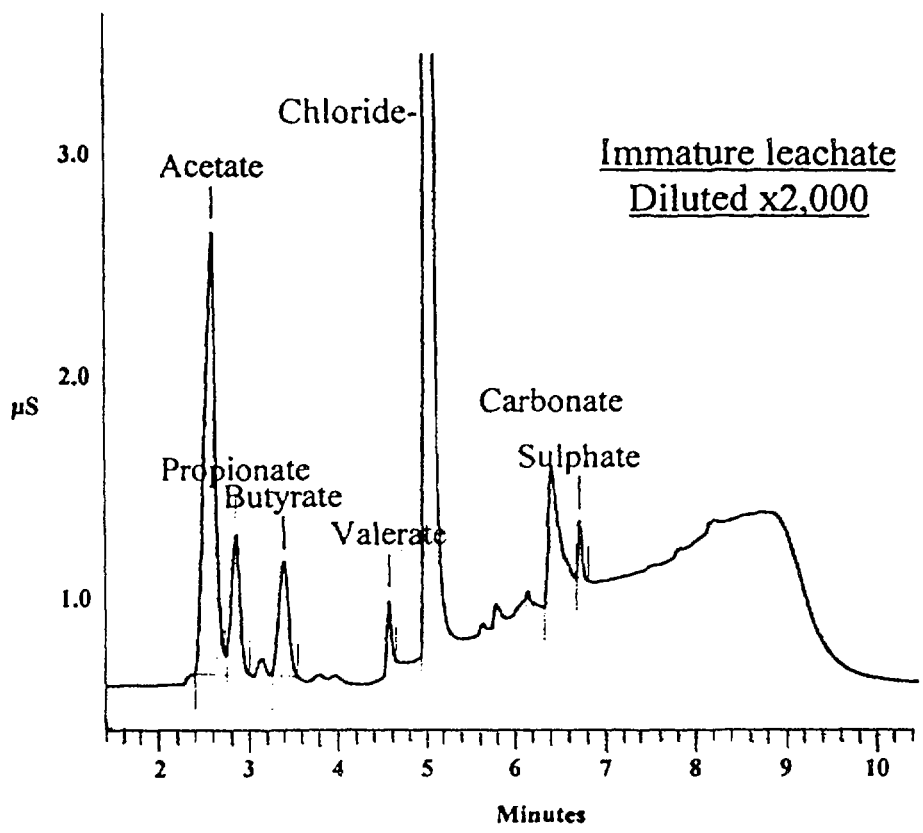


Fig.21. Ion chromatogram (4000i/AS11 gradient) for immature leachate ($\times 2000$ dilution)⁽²⁴⁾

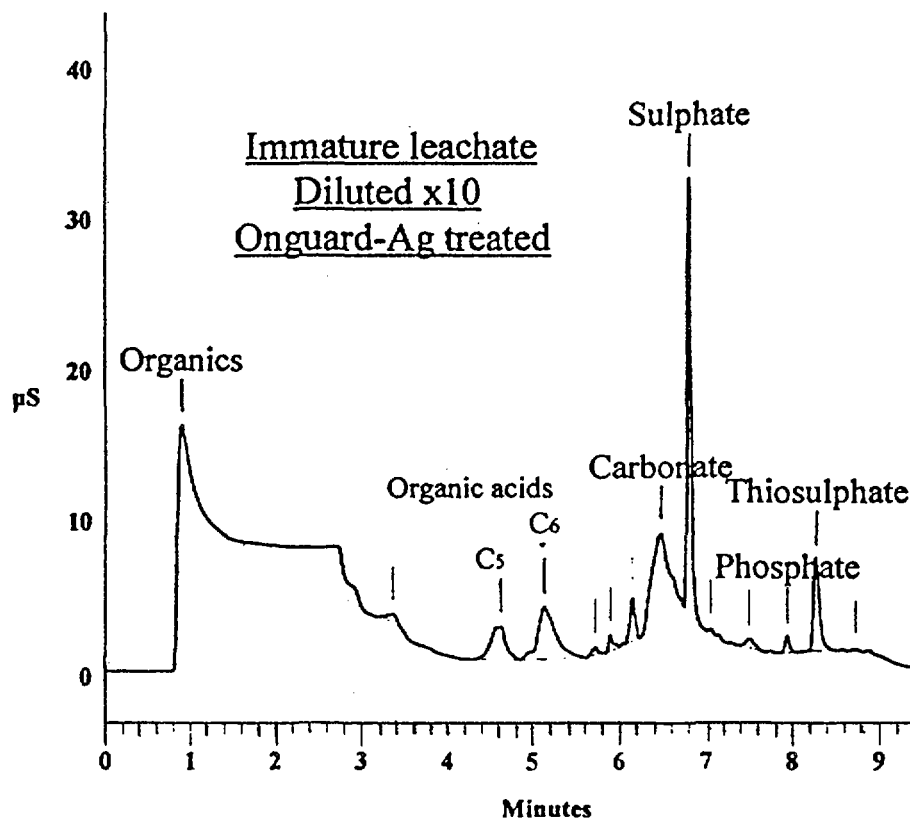


Fig.22. Ion chromatogram (4000i/AS11 gradient) for immature leachate ($\times 10$ dilution)⁽²⁴⁾

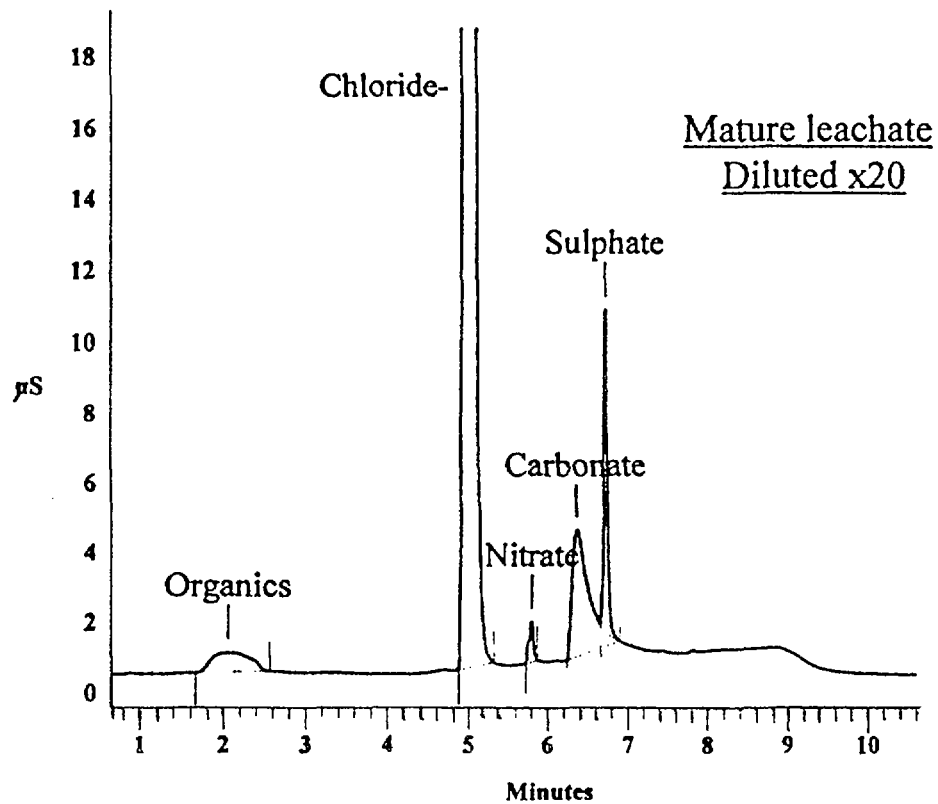


Fig. 23. Ion chromatogram (4000i/AS11 gradient) for mature leachate ($\times 20$ dilution)⁽²⁴⁾

Table 12. Examples of anion compositions (mg/l) of leachates determined by ion chromatography⁽⁴⁷⁾

	Immature	Intermediate	Mature
Chloride	8,830	2,060	650
Sulphate	1,720	5	10
Acetate	6,940	670	0
Propionate	2,810	200	0
Isobutyrate	320	0	0
n-Butyrate	3,380	5	0
Isovalerate	280	5	0
n-Valerate	1,460	5	0

미속성된 침출수에는 음이온들이 다량 포함되어 있다. 그러므로 침출수와 같은 복잡한 시료 분석시 cartridges를 사용해 유기 matrices를 제거하고, 적당한 농도범위로 희석해 기울기용리를 적용하면 함유된 많은 성분들을 동시에 분석할 수 있다.

3절. 혼합모드 (Mixed-Mode) 고정상을 이용한 시스템

혼합모드의 고정상(mixed-mode stationary phase)은 생물학적인 시료를 분리하기 위해 액체크로마토그래피에 광범위하게 사용되고 있다. Pinkerton과 Hagestam은 친수성과 소수성을 모두 가지고 있는 packing material을 묘사했는데⁽²⁶⁾, 이 packing material은 단백질에 의해 간섭 받는 약품을 분석하기 위해 고안된 것으로서, 단백질을 포함하는 시료를 전처리 과정 없이 액체크로마토그래프에 직접 주입할 수 있도록 하였다. Hartwick과 공동 연구자들은 이온교환 능력과 소수성을 모두 갖는 혼합모드 고정상을 묘사했다⁽²⁷⁻²⁹⁾. 이 고정상은 oligonucleotides, oligodeoxyribonucleotides, 그 외의 nucleic acid constituents와 같은 다양한 생물 분자들의 분리에 적용되었다. 혼합모드 고정상을 사용하여 피크모양을 개선하였으며⁽³⁰⁾, 이온쌍 분리에 쓰이는 ion-pairing reagent를 사용할 필요가 없으므로 분석이 간편해졌다고 보고하였다⁽³⁶⁾.

이 방법을 이온크로마토그래피에 적용하여 무기음이온과 유기산들을 분리하는데 혼합모드 고정상이 사용되었는데⁽²⁵⁾, 이 독특한 고정상은 역상 작용기와 음이온교환 작용기가 1:1 비율로 결합되어 있는 하나의 리간드로 되어 있어서 무기음이온과 카르복시산을 하나의 칼럼에서 모두 분리할 수 있도록 되어있다.

1. 혼합모드 고정상

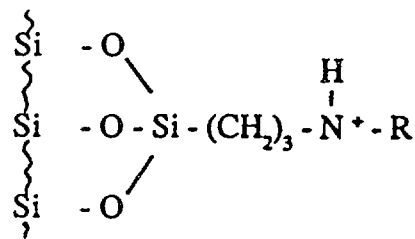
이 보고서에서 소개되는 고정상은 실리카 지지체(silica-based support)에 리간드가 공유결합되어 있는 형태로, 이 리간드는 역상 작용기(R)와 음이온교환 작용기(dialkylamine)가 1:1 비율로 혼합되어 있다.

이 고정상의 구조가 그림 24에 나타나 있다. 역상 작용기(R)는 탄소의 수가 18, 8, 4 등의 길이를 갖는다. 이 고정상은 유기용매에 안정하지만 실리카 물질 때문에 용리액의 pH가 2 - 8의 범위로 제한된다. 혼합모드 (mixed mode) 고정상에 있는 역상과 음이온교환기의 특성에 의해 무기음 이온과 유기산이 분리된다.

2. 분리에 영향을 미치는 인자

가. Alkyl group의 영향

혼합모드 칼럼과 phthalic acid 용리액⁽³⁸⁾을 사용할 때 alkyl group (R)의 사슬 길이와 음이온들의 크기인자(capacity factor, k')로 표현되는 머무름 시간 사이의 관계가 그림 25에 나타나 있다. alkyl group에 있는 탄소의 수가 증가하면 음이온들의 머무름 시간이 감소한다. chloride의 머무름 시간이 acetic acid나 propionic acid의 머무름 시간보다 더



R = C4, C8 or C18

Fig.24. Structure of mixed-mode reversed-phase and anion-exchange stationary phase⁽²⁵⁾.

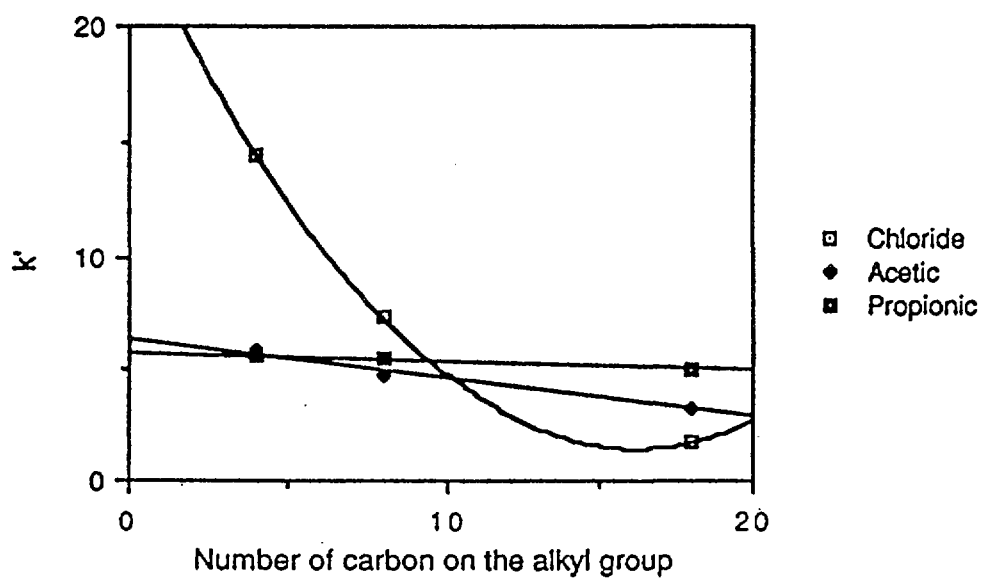


Fig.25. Relationship between anion retention time and the carbon numbers on the alkyl group⁽²⁵⁾.

심하게 감소하는데, 그 이유는 탄소사슬의 길이가 증가하면 고정상의 소수성이 증가하기 때문이다. 그림 24에서 2차 아민 이온교환체가 소수성인 alkyl group에 직접 연결되어 있어 친수성인 chloride 음이온이 접근하는 것을 제한한다. 즉, alkyl group의 소수성이 증가할수록(사슬이 길어질수록) 가려막기 효과(shielding effect)가 커지므로 이온교환체에 무기음이온의 접근이 더 어려워져 머무름이 감소하는 정도가 더 크다. 그러나 무기음이온과는 다르게 유기산은 이온교환 작용기와 역상 작용기 모두에 의해 머무름이 일어난다⁽⁴⁹⁾. 즉, 고정상의 사슬길이가 증가하면 음이온교환체의 가려막기 효과가 증가하여 유기음이온이 음이온교환체에 접근하는 것을 방해하므로 유기산의 머무름이 줄어드는 반면에, 고정상의 사슬길이가 증가하면 alkyl group의 소수성도 증가하므로 유기산과의 상호작용이 증가하여 유기산의 머무름이 증가한다. 역상 지지체에 의한 유기산의 머무름 증가는 이온교환체에 의한 머무름 감소를 약간 상쇄시켜 무기음이온에 비해 탄소수 증가에 따른 머무름시간의 감소하는 정도가 완만하다(그림 25). propionic acid는 acetic acid보다 소수성이 더 크기 때문에 역상에 의한 영향을 더 받으므로 acetic acid보다 머무름 시간의 변화가 더 작다.

나. 용리액

용리액의 pH는 무기산과 유기산의 해리도에 영향을 미치며, 칼럼의 음이온 교환용량에도 영향을 미친다. 음이온 교환체인 2차 아민기($pK_a \approx 10$)는 pH가 감소함에 따라 양이온성이 증가되는데, pH 9 이하에서 지지체가 완전히 이온화된다. 그러므로 지지체가 항상 100% 이온화되어 pH의 영향을 무시할 수 있게 되려면 pH 6.5 이하를 유지해야 한다. 무기음이온들은 pH 6.5 이하에서 같은 전하를 갖음에도 불구하고 pH가 감소함에 따라

머무름 시간이 증가한다(그림 26). 그 이유는 pH가 phthalate 용리액의 이온강도(ionic strength)에 대해 영향을 미치기 때문이다. phthalic acid의 pK_1 과 pK_2 값은 각각 2.95, 5.41이다. 즉, pH가 감소함에 따라 phthalic acid의 전하는 -2에서 -1, 중성으로 변화되어 용리액의 이온강도가 감소한다. 용리액의 이온강도가 감소하게 되면, 용리이온의 농도가 감소하므로 무기음이온을 밀어내는 힘이 약해지고, 결과적으로 무기음이온의 머무름이 증가된다. pH 4 이하에서 phthalate 용리액은 -1의 전하를 갖게 되어 -2의 전하를 갖는 sulfate를 적절한 시간 내에 분리할 수 없다.

앞서 말한바와 같이 유기음이온은 이온교환 과정과 역상과정을 함께 거친다. 유기산의 해리도가 pH 3 - 6.5에서 변하므로, 용리액의 pH는 유기산과 지지체와의 상호작용에 영향을 미친다. 용리액의 pH가 유기산의 pK_a 값 이하가 되면 유기산은 중성이 된다. 그러면 이온교환에 의한 상호작용이 약해지고, 반면에 역상에 의한 상호작용은 더 강해진다. 그러므로 용리액의 pH가 감소함에 따라 유기산의 머무름이 무기음이온의 결과와는 매우 다른 현상을 보인다(그림 27). 유기산의 머무름은 용리액의 pH가 변화해도 상대적으로 일정한 값을 나타내는데, 그 이유는 낮은 pH에서 유기산은 중성을 나타내므로 이온교환 작용이 감소하여 머무름이 감소되는 반면에, 역상 상호작용이 증가하여 머무름이 증가되고, 높은 pH에서 유기산은 음이온성을 나타내므로 이온교환 상호작용이 증가하여 머무름이 증가되는 반면에, 역상 상호작용이 감소되어 머무름이 감소되므로 상쇄효과가 생기기 때문이다. 예외로 formic acid는 pH가 감소함에 따라 머무름이 증가하는데, formic acid는 소수성이 매우 적어 무기음이온처럼 행동하기 때문이다. pH에 대한 formic acid의 머무름은 -1의 전하를 띤 무기음이온과 유사하다.

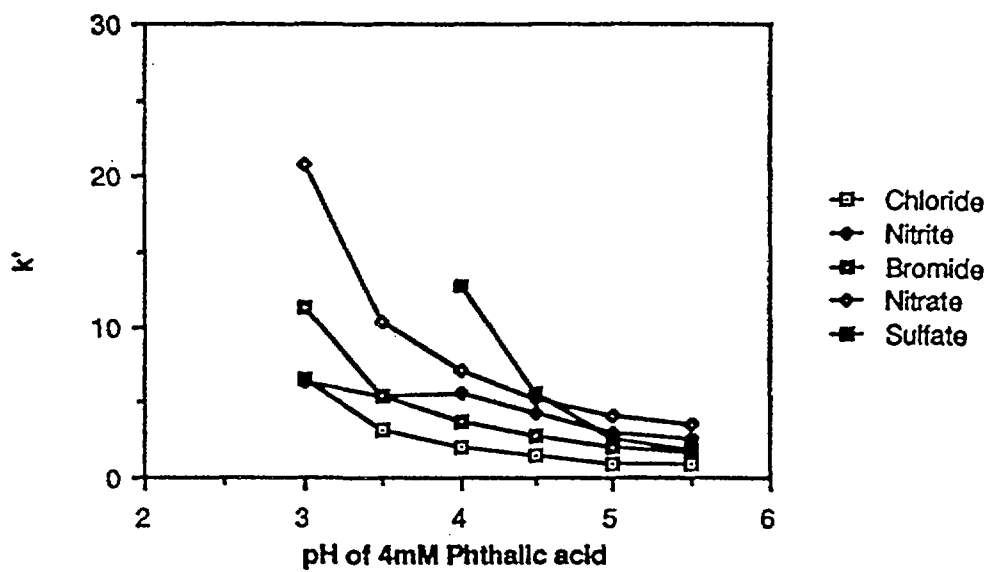


Fig.26. Effect of pH on the retention time of inorganic anions.

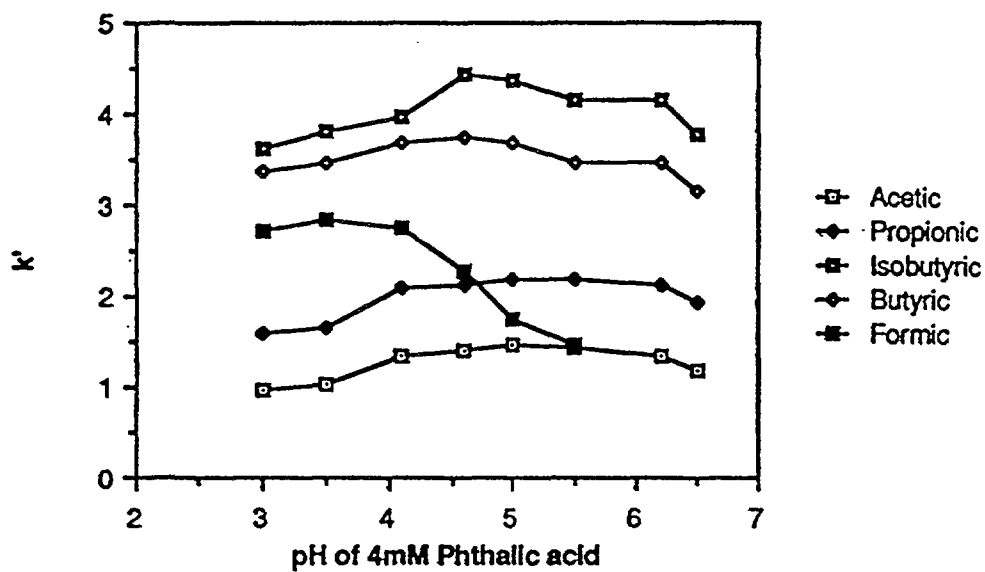


Fig.27. Effect of pH on the retention time of carboxylic acids⁽²⁵⁾.

용리액의 이온강도(ionic strength)가 증가하면 분석성분의 머무름이 감소한다. 그 이유는 음이온 교환체에 대한 용리이온의 경쟁성이 증가하여 분석성분 이온의 머무름을 방해하기 때문이다. 무기음이온과 formic acid의 분리에 있어서 용리액의 이온강도 효과가 그림 28에 나타나 있다. 1 - 4 mM의 phthalic acid 수용액을 용리액으로 사용할 때(pH 5.4), 용리액의 농도가 증가하면 이온들의 머무름 시간이 감소한다. 다른 유기산에 대해서도 같은 결과를 보인다.

표 13은 음이온의 머무름에 organic modifier가 미치는 영향을 나타내고 있다. 4 mM phthalic acid 용리액에 organic modifier인 acetonitrile이 첨가되면 용리액에 포함되어 있는 phthalic acid와 시료 속의 유기산의 이온화 정도가 줄어든다⁽⁵⁰⁾. acetonitrile의 첨가로 phthalic acid의 이온화가 감소하면 용리액의 이온강도가 감소하게 되어 무기음이온의 머무름이 증가한다. 다른 한편으로, acetonitrile의 첨가로 인해 유기산의 이온화가 감소하면 이온교환 메카니즘에 의한 유기산의 머무름이 감소하고, acetonitrile이 역상에서 용리액이 용리되는 힘을 증가시키므로 유기산은 acetonitrile 농도가 증가함에 따라 머무름이 감소된다. 결과적으로, acetonitrile의 첨가는 무기음이온의 머무름시간은 증가시키고, 유기산의 머무름시간은 감소시킨다. acetonitrile등의 유기성분을 phthalic acid 용리액에 첨가하면 유기산의 당량 전도도(conductance)가 phthalate 용리액의 값과 거의 비슷해 유기산의 감도가 나빠진다. 즉, 검출감도를 높이기 위해 용리액에 유기성분을 첨가하지 않는 것이 효과적이다.

4개의 혼합모드 칼럼에서의 머무름 시간들이 표 14에 나타나 있다. 이미 6개월 동안 사용된 serial number 03271UA 칼럼과 새로 만든 serial number 111510P와 112011P 칼럼에 대해 머무름 시간이 매우 재현

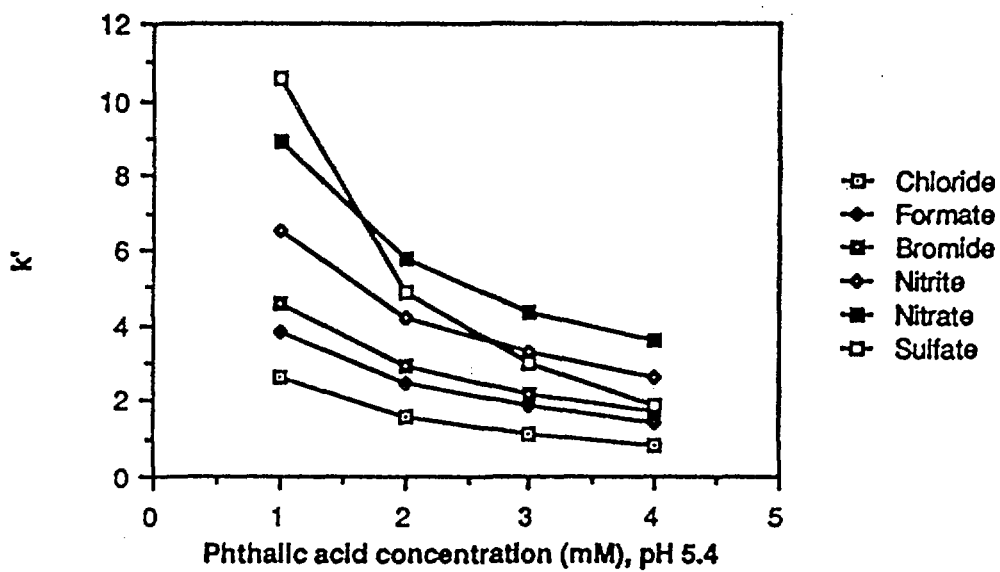


Fig.28. Effect of ionic strength on the retention time of inorganic anions⁽²⁵⁾.

Table 13. Effect of acetonitrile as eluant modifier on the capacity factors, k' , of anions and carboxylic acids⁽²⁵⁾

CH ₃ CN in eluant (%)	k'							
	chloride	bromide	nitrite	nitrate	acetic	propionic	butyric	isobutyric
0	1.52	2.86	4.20	5.68	2.58	3.72	6.13	7.31
25	3.61	5.72	8.07	9.38	3.18	3.46	4.37	5.38
50	8.09	10.68	15.32	15.32	- ^a	- ^a	2.98	3.72

^a Peaks are not detected due to poor sensitivity.

Table 14. Nitrate and Propionic Acid Retention Reproducibility
on the Mixed-Mode Column^{a(25)}

column serial number	retention time ^b (min)	
	nitrate	propionic acid
0327UA	5.86	6.80
05281CA	6.37	7.22
111510P	6.95	7.88
11201IP	7.69	8.49

^a Eluant: 4 mM phthalic acid, pH 4.5.

^b Calculated mean of three injections.

성이 있다.

혼합모드를 사용해 무기음이온과 유기산을 분리한 예가 그림 29에 나타나 있다. 전도도 검출기를 사용할 때, 검출값은 용리음이온과 분석성분 음이온의 당량전도도 차이로 나타나는데, 무기음이온의 당량전도도는 phthalate 용리액의 당량전도도 보다 항상 더 높으므로 양의 피크 값을 나타낸다. 반면에, 시료 중의 유기음이온과 용리액 중의 phthalate 음이온은 용리액의 pH에 따라 이온화와 당량전도도가 달라진다. 즉, 유기산의 pKa보다 용리액의 pH가 훨씬 더 낮으면 유기산은 분자 상태(중성)로 존재하므로 당량 전도도는 낮은 값을 갖고, 용리액의 pH가 높으면 유기산의 이온화와 당량 전도도가 올라간다. 피크 크기는 분석하려고 하는 유기산과 phthalate 용리음이온의 당량 전도도 차이에 비례한다. 용리액의 pH와 유기산의 감도 사이의 관련성을 표 15에 나타냈다. 용리액의 pH가 낮으면 측정하려고 하는 유기산이 양의 피크를 나타내지만 감도가 낮고, 용리액의 pH가 높으면 유기산이 음의 피크를 나타내지만 감도가 더 좋다. pH 4.5의 용리액에서 무기음이온과 유기산의 동시 분리가 그림 30에 나타나 있다. pH 4.5에서 무기음이온은 양의 피크를 나타내고 반면에, 유기산은 음의 피크를 나타낸다.

이 방법은 칼럼을 제외하고 칼럼 스위칭이나 기울기 용리의 특별한 조작 없이 무기음이온과 유기산을 동시에 분석할 수 있지만 칼럼을 제작하기 까다로우며, 모든 피크들이 검출되므로 피크해석의 어려움이 있다.

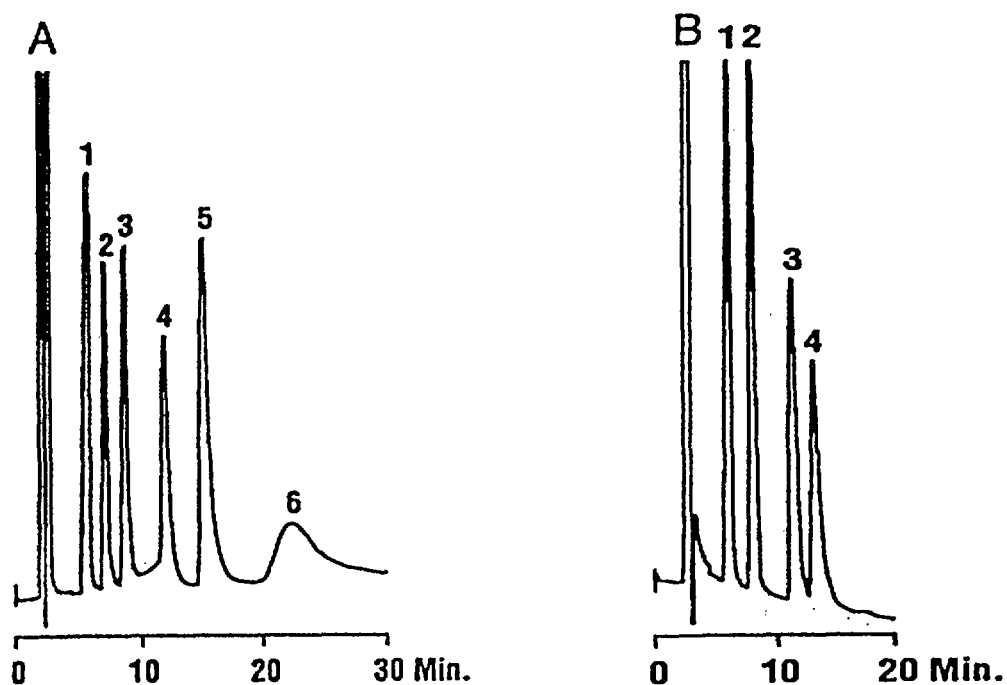


Fig.29. Separation of inorganic anions and carboxylic acids on the mixed-mode RP C18/Anion column using 4 mM phthalic acid eluant at (A) pH 4.1 and (B) pH 5.5⁽²⁵⁾.

(A) Peak identification: (1) Chloride(20ppm), (2) formate(50ppm), (3) bromide(40ppm), (4) nitrite(50ppm), (5) nitrate(50ppm), (6) sulfate (70 ppm). Peak identification : (1) acetic acid(100ppm), (2) propionic acid (100ppm), (3) butyric acid(100ppm), (4) isobutyric acid(100ppm); flow rate: 1.0 mL/min. Detector: conductivity, 0.1 μ s full scale. Detector polarity is set at "positive" for A and "negative" for B. Injection volume: 100 μ l.

Table 15. Effect of Eluant pH on Peak Area of Acetic and Propionic Acids⁽²⁵⁾

pH of 4 mM phthalic acid	peak area ^a	
	acetic (200 ppm)	propionic (200 ppm)
3.0	+74,870	+61,547
3.5	+59,355	+42,919
4.0	+21,803	+11,989
4.5	-19,257	-28,991
5.0	-86,789	-88,431
5.5	-147,118	-146,828
6.0	-183,496	-181,166
6.5	-187,289	-184,822

^a Peak area reported as positive (+) or negative (-) peaks.

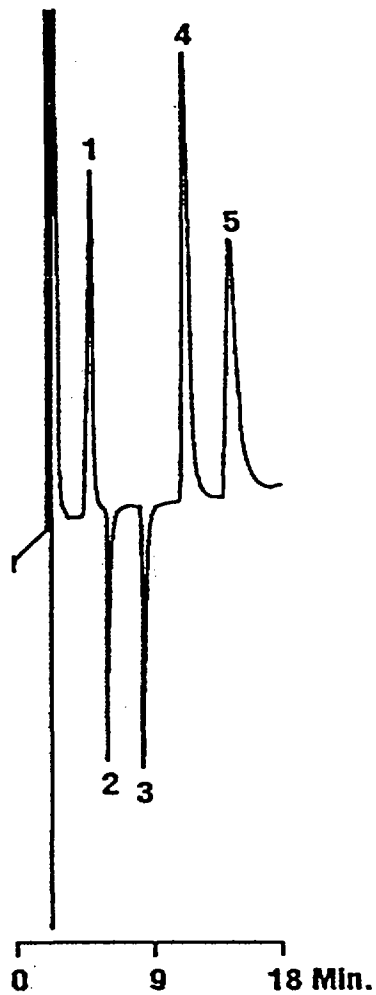


Fig.30. Simultaneous separation of inorganic anions and carboxylic acids using 4 mM phthalic acid, pH 4.5⁽²⁵⁾.

Peak identification: (1)chloride(20ppm), (2)acetate(200ppm), (3) propionic acid(200ppm), (4)nitrite(50ppm), (5)nitrate(50ppm). Flow rate: 1.0 mL/min. Detector: conductivity (positive polarity), 0.1 μ S full scale. Injection volume: 0.1 μ l.

4절. 단일칼럼 (No Suppressor) 시스템

음이온교환 크로마토그래피는 무기음이온들을 분리하는데 광범위하게 사용되며, 사슬길이가 짧은 카르복시산(유기산) 역시 용리액의 pH를 조절하면 수용액에서 음이온의 형태로 해리되어 있어 음이온교환 크로마토그래피로 분리가 가능하다. 일반적으로 음이온교환 크로마토그래피는 억제칼럼을 장착하여 전도도검출기로 검출한다. 이온 억제칼럼이 장착되어 있는 음이온교환 크로마토그래피는 1개의 카르복시기를 갖는 유기산과 fluoride 혹은 2개의 카르복시기를 갖는 유기산과 무기음이온들의 분리에 사용된다^(32,33). 그러나 1, 2, 3개의 카르복시기를 갖는 유기산과 무기음이온들이 함유되어 있는 음식물이나 기타 시료를 분석하는 데에는 이온 억제장치가 부착된 이온교환 크로마토그래피가 적합하지 않다. 그러므로 이들 음이온들을 분리하기 위해, 억제칼럼을 장착하지 않고 음이온교환 칼럼만을 사용하는 방법이 보고 되었다⁽³²⁻³⁷⁾. 이온 억제칼럼 없이 음이온교환 칼럼을 사용해 전도도 검출기로 검출하기 위해서는 전기전도도가 낮은 용리액을 사용해야 한다. 이 방법을 사용하여 포도주와 주스 그리고 음용차(tea)속에 있는 유기산과 무기음이온을 동시에 분석한 논문이 발표되었다^(35,39).

Potassium phthalate(KHPh) 용리액은 전기전도도가 매우 낮아 억제칼럼 없이 이온교환 크로마토그래피에 사용될 수 있다. 그러나 acetic acids와 lactic acids, ascorbic acid를 측정할 때는 피크가 음의 값을 나타내며 $H_2PO_4^-$ 와 ascorbic acid는 서로 분리가 안된다. 이런 단점을 보완하기 위해 0.75 mmol/l KHPh와 0.25 mmol/l H_2Ph 의 혼합용리액(pH 3.5)을 사용한다. 유기산과 무기음이온들의 표준혼합액의 크로마토그램이 그림 31에 나타나 있다. 0.75 mmol/l KHPh와 0.25 mmol/l H_2Ph 의 혼합

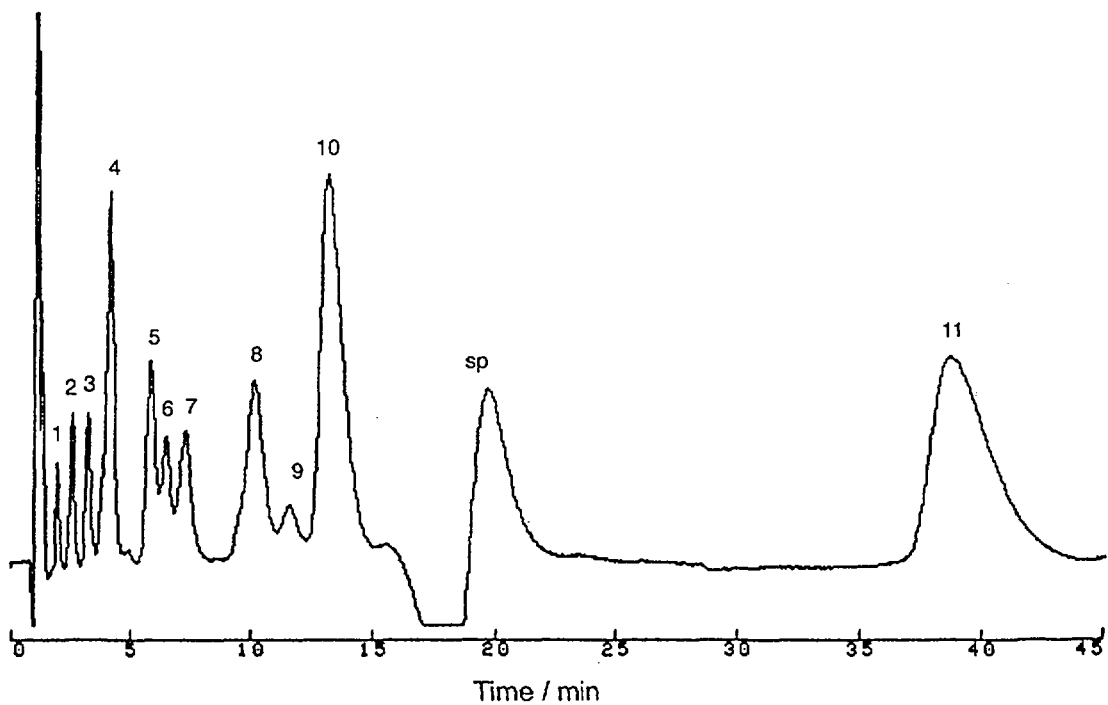


Fig.31. Chromatogram of standard mixture of organic acids and inorganic anions⁽³⁹⁾.

Column, Shim-pack IC A1; temperature, 40°C; eluent, mixture of 0.75 mmol/l potassium hydrogenphthalate and 0.25 mmol/l phthalic acid (pH 3.5); flow-rate, 1.0 ml/min.; detector, conductance ($1\mu\text{s}/\text{cm}$). Peaks: 1=acetic; 2=ascorbic; 3=succinic; 4= H_2PO_4^- ; 5=malic; 6= Cl^- ; 7=malonic and NO_2^- ; 8=citric; 9= NO_3^- ; 10=tartaric; 11= SO_4^{2-} ; sp=system peak.

용리액을 사용하면 모든 피크가 양의 값을 나타내며 H_2PO_4^- 와 ascorbic acid가 분리된다. 차 시료 중의 음이온 성분들의 크로마토그램이 그림 32에 나타나 있다. 그림에 나타난 바와같이 차 시료 중의 주요 유기산과 무기음이온 성분들이 간섭피크 없이 분리된다.

음이온 성분에 대한 검출한계(S/N=3)와 검출곡선의 직선 범위가 표 16에 나타나 있다. 0.75 mmol/l KHPH와 0.25 mmol/l H_2Ph 를 혼합해 pH 3.5인 혼합용리액을 사용해서 측정한 검출한계는 1.0 mmol/l KHPH(pH 4.0)의 단일용리액을 사용해서 얻은 값보다 2 - 6배 더 낮은 농도까지 음이온을 검출할 수 있다. 0.75 mmol/l KHPH와 0.25 mmol/l H_2Ph 의 혼합용리액의 바탕전도도는 162 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 인 반면에 1.0 mmol/l KHPH의 바탕전도도는 197 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 이므로 혼합용리액을 사용할 때 감도가 더 좋은 것을 알 수 있다. 다른 한편으로, 용리액의 pH가 감소하면 유기산의 해리가 억제되어 전기전도도가 감소하므로 유기산의 검출한계를 높이는 결과를 초래한다. 그러나 이 효과는 바탕전도도를 낮추어 감도를 높이는 효과 보다 작다. 표 16에 나타나 있는 바와같이 모든 분석 성분들에 대한 피크면적의 검정곡선은 regression coefficient(r^2)가 0.996 - 1.000로 직선성이 매우 좋으며 1,000ppm의 고농도까지 측정이 가능하다.

이 방법은 -1 에서 -3의 전하를 가진 유기산과 무기음이온을 동시에 분석하는데 매우 효과적이며, 1,000ppm 까지 분석이 가능하다. 그러나 분석 시간이 오래 걸리고 용리액의 바탕 전기전도도가 높아 검출 감도가 떨어지는 단점이 있다.

oxalic acid, citric acid 등의 검출이 가능하며 전하가 높은 EDTA 검출에도 적용될 수 있을 것으로 예상되므로 방사성 원소의 제염제로 쓰이는 이들 유기산을 분리-측정할 수 있을 것이라 예측한다.

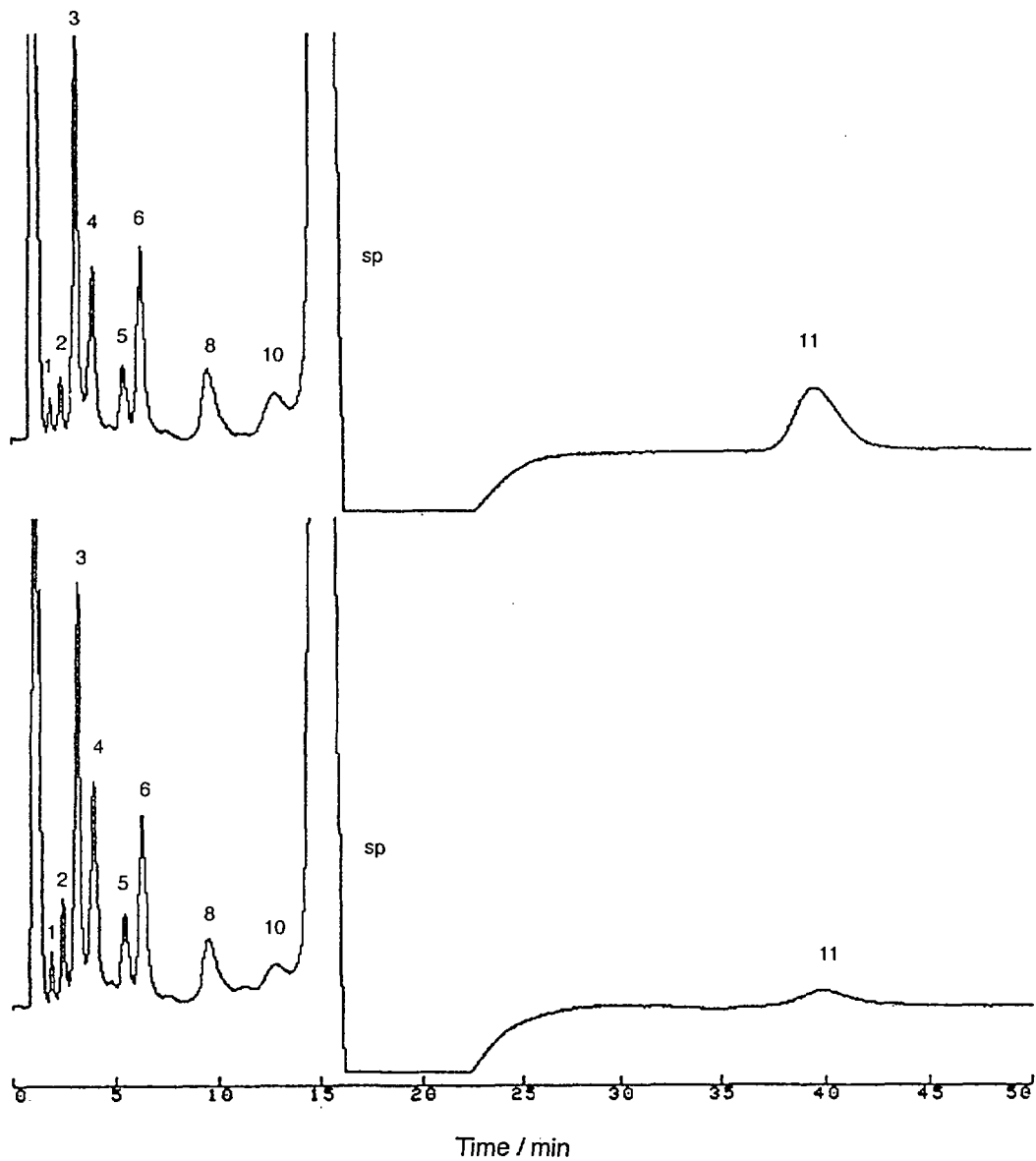


Fig.32. Chromatograms of green tea (top) and Japanese tea (bottom)⁽³⁹⁾.

Column, Shim-pack IC A1; temperature, 40°C; eluent, mixture of 0.75 mmol/l potassium hydrogenphthalate and 0.25 mmol/l phthalic acid (pH 3.5); flow-rate, 1.0 ml/min; detector, conductance ($1\mu\text{s}/\text{cm}$). Peaks: 1=acetic; 2=ascorbic; 3=succinic; 4= H_2PO_4^- ; 5=malic; 6= Cl^- ; 7=malonic and NO_2^- ; 8= citric; 9= NO_3^- ; 10=tartaric; 11= SO_4^{2-} ; sp=system peak.

Table 16. Detection limit (S/N=3) and linear range of organic acids and inorganic anions⁽³⁹⁾

Compound	Detection limit (mg/l)		Linearity range (mg/l)	r^2
	KHPh/H ₂ Ph	KHPh		
Acetic acid	0.58	1.04	4-1000	0.999
Ascorbic acid	0.96	2.90	4-1000	0.998
Succinic acid	1.04	2.08	4-1000	0.996
Formic acid	0.50	1.32	5-1000	1.000
Malic acid	0.58	2.18	5-1000	0.999
Citric acid	1.34	7.80	5-2000	0.997
Tartaric acid	0.48	3.38	5-1500	0.999
H ₂ PO ₄ ⁻	0.12	0.71	2-1000	1.000
Cl ⁻	0.044	0.063	1-1000	1.000
NO ₂ ⁻	0.13	0.22	1-1000	1.000
Br ⁻	0.14	0.19	2-1000	0.999
NO ₃ ⁻	0.11	0.18	2-1000	0.998
SO ₄ ²⁻	0.19	0.37	4-1000	0.998

제 3 장. 결 론

이온크로마토그래피로 무기음이온과 유기산을 동시에 측정하기 위하여 최근에 많이 연구되어온 방법들을 4가지로 분류하여 검토해 보았다. 첫 번째는 칼럼 스위칭 방법으로 이온교환 크로마토그래피와 이온배제 크로마토그래피의 장점을 모두 살리면서 빠른 시간에 분리할 수 있다. 그러나 다른 시스템에 비해 2개의 칼럼과 2개의 검출기, 4개의 밸브등 장비들이 많이 필요하며, 이온배제 크로마토그래피의 유기산 검출 감도가 낮은 단점은 개선되지 않았다. 두 번째는 음이온교환 칼럼을 사용하고 용리액을 기울기 용리하는 방법으로 fluoride와 비슷한 시간에 용리되는 유기산과 머무름시간이 상대적으로 긴 무기음이온들을 동시에 분리할 수 있다. 기울기용리의 단점은 바탕선이 증가하는 것과 하나의 시료분석이 끝나고 칼럼이 처음 상태로 되돌아가야 하므로 전체적인 분석시간이 길어지는 것이다. 세 번째는 역상 작용기와 음이온교환 작용기를 1:1 비율로 섞어 결합시킨 혼합모드의 고정상을 사용하는 방법이다. 이 방법은 칼럼을 제외하고 칼럼 스위칭이나 기울기 용리의 특별한 조작 없이 무기음이온과 유기산을 동시에 분석할 수 있지만 칼럼을 제작하기 까다로우며, 모든 피크들이 검출되므로 피크해석의 어려움이 있을수 있다. 네 번째는 음이온교환 칼럼과 전기전도도가 낮은 용리액을 사용하고 이온 억제칼럼을 장착하지 않는 방법으로써, 시스템이 가장 간단하여 조작하기가 간편하며 비용면에서도 매우 경제적이다. 카르복시기를 1 - 3개 가진 유기산과 무기음이온들이 함유되어 있는 음식물 등의 시료분석에 적합하다. 차시료 등은 특별한 시료처리 없이 칼럼에 직접 주입하여 1,000 ppm의 고농도까지 측정이 가능하다. 분석시간이 오래 걸리고 검출감도가 상대적으로 떨어지는 단점이 있다.

발전소에서 사용하는 냉각수와 폐수, 공장이나 가정에서 생성되는 폐수, 환경 중에 존재하는 침출수에 함유되어 있는 무기음이온과 유기음이온을 동시에 측정하는 것이 경제적이고 효율적이라고 인식되고 있으며, 이들 시료에 함유되어 있는 성분들의 종류를 고려해 볼 때 기올기 용리 시스템을 사용하는 것이 가장 적합하다고 제안하는 바이다. 기올기용리를 사용하는 이온크로마토그래피는 용리액의 조성을 변화시키고 새로운 용리액을 개발하고 성분 분리의 최적 조건을 찾기 위해 계속 연구되고 있는 방법이다.

산업폐수, 환경시료 그리고 식품 등의 여러 시료들에 대한 무기-유기 음이온의 동시분석 방법을 살펴 보았다. 이들 분석 방법들 중에서 원자력 분야에의 적용성을 살펴볼 때, 원자력 발전 후, 생성 가능한 방사성 성분을 제거하기 위해 제염제로 oxalate, citrate, EDTA 등의 유기음이온이 사용된다. 제염 후, 이들 유기음이온의 거동을 살펴보는 것이 필요하므로 분리-측정하고자할 때 이온크로마토그래피법을 사용하는 것이 가장 합리적인 방법이라 생각된다. oxalate, citrate와 EDTA 음이온은 산화수가 높으므로 이들 유기음이온과 무기음이온을 함께 분리-정량하기 위해 음이온 교환체와 phthalate 용리액을 사용하고, 이온억제재를 제거한 시스템이 효율적이라고 생각된다. 앞으로, 유기음이온들의 성분분리에 적합한 음이온교환체를 선정하고 phthalate의 용리액의 농도를 조절하고 전기전도도가 낮은 다른 용리액을 조사하여 가장 효과적인 분리 조건을 검토하고자 한다.

제 4 장. 참고문헌

1. P.R.Haddad, P.E.Jackson, Ion Chromatography Principles and Applications, Elsevier, Amsterdam, 1990, Ch.7, p.195 and Ch.18, p.593
2. D.T.Gjerde, J.S.Fritz, Ion Chromatography, Huthig, Heidelberg, 2nd ed., 1987, Ch.10, p.235
3. J.S.Fritz, J.Chromatogr., 546 (1991) 111
4. B.K.Glod, W.J.Kemula, J.Chromatogr., 366 (1986) 39
5. D.T.Gjerde, H.Mehra, Advances in Ion Chromatography, Vol.1, Century International, Medfield, MA, 1989, p.139
6. D.P.Lee, A.D.Lord, LC-GC, 4 (1987) 261
7. J.B.Morris, J.S.Fritz, LC-GC, 11 (1993) 513
8. W.R.Jones, P.Jandik, M.T.Swartz, J.Chromatogr., 473 (1989) 171
9. M.H.Dunn, LC-GC, 7 (1989) 138
10. C.Umile, J.F.K.Huber, J.Chromatogr., 640 (1993) 27
11. R.D.Rocklin, C.A.Pohl, J.A.Schibler, J.Chromatogr., 411 (1987) 107
12. Jian Chen, J.chromatogr.A, 739 (1996) 273
13. A.A.Ammann, T.B.Ruttimann, J.Chromatogr.A, 706 (1995) 259
14. C.Scheuer, B.Wimmer, H.Bischof, L.Nguyen, J.Maguhn, P.Spitzauer, A. Kettrup, D.Waoner, J.Chromatogr.A, 706 (1995) 253
15. M.Y.Ding, H.K.Koizumi, Y.Suzuki, Anal.Sci., 11 (1995) 239
16. M.P.Cano, E.Torija, M.A.Marin, M.Camara, Z.Lebensm Unters Forsch, 199 (1994) 214
17. S.Rabin, J.Stillian, V.Barreto, K.Friedman, M.Toofan J.Chromatogr., 640 (1993) 97

18. M.Legrand, M.D.Angelis, F.Maupetit, J.Chromatogr., 640 (1993) 251
19. E.D.Zlotorzynska, J.F.Dlouhy, J.Chromatogr., 640 (1993) 217
20. D.M.Davies, J.P.Ivey, Anal.Chim.Acta, 194 (1987) 275
21. J.P.Ivey, D.M.Davies, Anal.Chim.Acta, 194 (1987) 281
22. D.Brocco, R.Tappa, J.Chromatogr., 367 (1986) 240
23. C.Saigne, S.Kirchner, M.Legrand, Anal.Chim.Acta, 203 (1987) 11
24. D.A.C.Manning, A.Bewsher J.Chromatogr.A, 770 (1997) 203
25. R.Saari-Nordhaus, J.M.Anderson Jr., Anal.Chem., 64 (1992) 2283
26. T.C.Pinkerton, H.Hagestam, Anal.Chem., 57 (1985) 508
27. J.Crowther, S.Fasio, R.Hartwick, J.Chromatogr., 282 (1983) 619
28. T.Floyd, L.Yu, R.Hatwick, Chromatographia, 21 (1986) 402
29. T.Floyd, J.Crother, R.Hartwick, LC Mag., 3 (1985) 508
30. H.Issaq, J.Gutierrez, J.Liq.Chromatogr., 11 (1988) 2851
31. Alltech associates Product data sheet, Bulletin no. 168, 1989
32. H.Yu, Q.L.Liu, L.Z.Guan, Sepu(Chromatography, China), 11 (1993) 109
33. V.Cheam, Analyst, 117 (1992) 1137
34. M.Y.Ding, Y.Suzuki, H.Koizumi, Anal.Sci., 11 (1995) 239
35. M.Y.Ding, Y.Suzuki, H.Koizumi, Bunseki Kagaku, 42 (1993) T129
36. T.A.Walker, T.V.Ho, N.Akbari, J.Liq.Chromatogr., 14 (1991) 1351
37. C.R.Ludwig, J.Chromatogr., 592 (1992) 101
38. D.T.Gjerde, J.S.Fritz, Ion Chromatography, Huthig, NewYork, 1987,
Chapter 7, p.133
39. M.Y.Ding, P.R.Chen, G.A.Luo, J.Chromatogr.A, 764 (1997) 341
40. Guidelines for Pure Water, Technical Document I-85, Semiconductor
Equipment and Materials Institute, Mt.View, CA, 1985

41. J.P.Denoncourt, Y.Egozy, *Ultrapure Water*, 3 (1986) 40
42. M.M.Plechaty, LC-GC, *Mag.Liq.GasChromatogr.*, 2 (1984) 684
43. G.D.Burns, R.C.Nolan, J.E.Crutchfield, T.O.Passel, *Proceedings 47th International Water Conference, Pittsburgh, October 27-29, 1986, Engineer's society of Western Pennsylvania, Pittsburgh, PA, Paper No.12, p.105-119*
44. J.C.Giddings, *Anal.Chem.*, 56 (1984) 1259 A
45. J.C.Giddings, *J.High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.*, 10 (1987) 319
46. J.C.Giddings, in H.J.Cortes (Editor), *Multidimensional Chromatography: Techniques and Applications*, Marcel Dekker, New York, in press
47. J.A.Owen, D.A.C.Manning, *App.Geochem.*, in press
48. H.D.Robinson, *A Review of the Composition of Leachates from Domestic Wastes in Landfill Sites. Project Report DE0918A/FR1, Department of the Environment, London, Anal.Chem.*, 19 (1985) 175
49. T.A.Walker, T.V.Ho, N.Akbari, In *Advances in Ion Chromatography*, P. Jandik, R.M.Cassidy, Century International, Inc., MA, 1990, Vol. 2, p 271
50. P.R.Haddad, M.Y.Croft, *Chromatographia*, 21 (1986) 648

서 지 정 보 양 식

수행기관보고서번호	위탁기관보고서번호	표준보고서번호	INIS 주제코드		
KAERI/AR-542/99					
제목 / 부제	이온크로마토그래피에 의한 무기음이온과 유기음이온의 동시 분석				
주저자 및 부서명	박양순, 원자력화학연구팀				
연구자 및 부서명	조기수, 한선호, 박순달, 최광순, 원자력화학연구팀				
출판지	발행기관	한국원자력연구소	발행년	1999	
페이지	88 p.	도표	있음(0), 없음()	크기	30 Cm.
참고사항					
비밀여부	공개(0), 대외비(), - 급비밀	보고서종류	기술현황분석보고서		
연구위탁기관		계약 번호			
초록 (15-20줄내외)	<p>이온크로마토그래피로 시료 중의 무기음이온과 유기산을 동시에 측정하는 4가지 방법을 검토하였다. 두 개의 칼럼을 스위칭하는 방법, 음이온교환 칼럼을 사용하고 용리액을 기울기 용리하는 방법, 역상 작용기와 음이온교환 작용기를 1:1 비율로 섞어 결합시킨 혼합모드의 고정상을 사용하는 방법, 음이온교환 칼럼과 전기전도도가 낮은 용리액을 사용하고 이온 억제칼럼을 장착하지 않는 방법을 살펴 보았고, 각각의 장점과 단점을 검토하였다. 원자력 산업시료와 환경시료를 분석하기 위한 적합한 방법을 제안 하였다.</p>				
주제명키워드 (10단어내외)	이온크로마토그래피, 유기음이온, 무기음이온, 동시분석				

BIBLIOGRAPHIC INFORMATION SHEET

Performing Org. Report No.	Sponsoring Org. Report No.	Standard Report No.	INIS Subject Code
KAERI/AR-542/99			
Title / Subtitle	Simultaneous Determination of Inorganic and Organic Anions by Ion Chromatography		
Main Author and Department	Park, Yang-soon; Nuclear Chemistry Research Team		
Researcher and Department	Joe, Ki-soo; Han, Sun-ho; Park, Soon-dal; Choi, Kwang-soon; Nuclear Chemistry Research Team		
Publication Place	Publisher	KAERI	Publication Date
			1999
Page	88 p.	Ill. & Tab.	Yes(0), No()
			Size
			30 Cm.
Note			
Classified	Open(0), Restricted(), _ Class Document	Report Type	State of Art Report
Sponsoring Org.		Contract No.	
Abstract (15-20 Lines)			
<p>Four methods were investigated for the simultaneous determination of several inorganic and organic anions in aqueous solution by ion chromatography. The first is two columns coupled system. The second is the gradient elution system with an anion exchange column. The third is the system with a mixed-mode stationary phase. The fourth is the system with an anion exchange column and the eluant of low conductivity without ion suppressor. The advantages and disadvantages of individual systems were discussed. The suitable methods were proposed for the application to the samples of the nuclear power industry and the environment.</p>			
Subject Keywords (About 10 words)	Ion Chromatography, organic anion, inorganic anion, simultaneous analysis		