

## Ion Chromatography의 법화학적 응용에 관하여

박성우 · 김은호 · 유재훈 · 손성건 · 진광호

국립과학수사연구소 화학분석과

### 1. 서론

Ion chromatography(IC)는 1972년 Hamish Swall, Timothy S, Stevens 및 A. Blaine Bauman에 의해 발명되어 1975년 Analytical Chemistry에 발표된 chemical suppressor-conductivity detector를 사용한 system인 새로운 Ion exchange chromatography(IEC)<sup>1</sup>가 사용되기 시작하였으며, 1978년 Fritz 등이 무기음이온을 분석하기 위하여 chemical suppressor를 사용하지 않는 non-suppressed, electronic suppression, 또는 single column ion chromatography라고 부르는 IC를 소개하였다.<sup>2</sup> 1981년 비금속 재질의 system과 membrane-based post column reactor가 개발되었고, 1983년 pulsed amperometric detector와 fiber suppressor의 개발<sup>3</sup>과 1985년 micromembrane suppressor 개발로 IC는 획기적인 발전을 하였다. 또한 1986년 비금속 재질로 된 고압펌프 등의 개발로 gradient IC가 소개되어 분리할 수 있는 영역을 크게 확장하였고, IC는 chromatography의 한 영역을 차지하게 되었다.

Chromatography는 1906년 M. S. Tswett<sup>4</sup>에 의해 inulin으로 충전한 column을 사용하여 엽록소를 분리하기 위해 최초로 연구가 시작된 이래로 mobile phase를 기체상태로 하는 gas chromatography(GC)와 liquid 상태로 하는 liquid chromatography(LC)로 크게 분류되며, 고정상에 의하여 liquid phase 및 solid phase로, mechanism에 따라 GC는 adsorption에 의한 gas-solid chromatography(GSC)와 partition에 의한 gas-liquid chromatography(GLC)로 나누어진다. 또한 LC는 column method와 plane method로 나누어지고, column method는 liquid-solid chromatography(LSC)와 liquid-liquid chromatography(LLC)로 분

류되며, 특히 LSC는 liquid-solid chromatography(LSC), ion exchange chromatography(IEC) 및 size-exclusion chromatography(SEC)로 나누어진다. LSC에서 고정상이 ion exchange resin으로 이루어진 IEC 중 특히 음이온 및 양이온 분리에 널리 사용되고 있는 것이 IC이다.

오늘날 널리 사용되고 있는 IC는 anions인  $Cl^-$ ,  $F^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $PO_4^{2-}$ ,  $SO_4^{2-}$  및 cation인  $Na^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  등을 이온교환 반응에 의해 분리검출하는 Ion Exchange Chromatography(High Performance Ion Chromatography : HPIC)<sup>6,7</sup>, weak organic acid<sup>8</sup>, alcohols, amines 및 phenol 등을 이온배제에 의해서 분리하는 Ion Exclusion Chromatography(High Performance Ion Chromatography Exclusion : HPICE)<sup>9,10</sup> 및 transition metal인  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  및  $Pb^{2+}$  등을 분리할 수 있는 Ion Pair Chromatography(Mobile Phase Ion Chromatography : MPIC)<sup>11-16</sup> 등으로 나눌 수 있다.

IC의 응용은 1991년 8월 미국에서 환경시료 중  $Br^-$ ,  $Cl^-$ ,  $F^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $PO_4^{2-}$  및  $S^{2-}$  등의 분석법에 공인되어 있고<sup>17</sup>, 우리나라에서는 환경분야 수질 중에서 음이온인  $Cl^-$ ,  $F^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $PO_4^{2-}$  및  $SO_4^{2-}$ 의 정성 및 정량분석 시험법으로 환경처 고시 제 91-85호로 고시된 바 있다. 또한 대기시료 중에서 미량 음이온 분석 및 해수 중에서 음이온 정량 등 환경분야<sup>18,19</sup>에서의 이용과 physiological fluids 중에서 유기산들의 정량<sup>20,21</sup>, 무기음이온 정량<sup>22,23</sup> 및 양이온 정량<sup>24,25</sup> 등 생체시료의 분석에 활용되고 있을 뿐만 아니라 의학, 약학, 식품, 펄프, 자동차, 반도체, 도금, 엔지니어링, 플라스틱, 계면활성제류 및 화학 등에 널리 응용되고 있다.

법화학분야에서는 1985년부터 분석시료로 생체시료

인 혈액, 위내용물, 요 및 각 장기조직 중에서 암모니아, 청산, 유화수소 등 휘발성 물질류와 황산, 염산, 질산, 불산, 인산 등 산류 및 수산화칼륨, 나트륨 등 알칼리류를 감정하는데 이용되고 있을 뿐만 아니라, 화공약품류, 폭약류 및 화약류, 음료수 및 환경폐기물 등을 분석하여 범죄사건 및 중독 여부에 대한 과학적인 해결에 많이 활용하고 있으며, 저자들은 시료 분석시 정확성 및 정밀성을 높이기 위하여 이용한 각종 시료의 전처리 방법, 분리관 및 용리액의 선택 등 응용된 내용을 중심으로 서술하였다.

2. 분리 메카니즘(Separation mechanism)

2. 1. Ion chromatography system

IC의 구성을 살펴보면 eluent reservoir 부분, 용리액을 column에 일정한 유속으로 주입하는 pump(high pressure) 부분, 시료를 loop에 주입하고 이를 공기의 압력으로 slider를 움직여 injection하는 injector 부분, 시료가 용리액과 함께 분리 column으로 이동하면 이온들을 불연속적인 띠로 분리하는 separator column 부분, 분리된 이온의 전기전도도값을 높게 변화시키는 suppressor 부분, 분리된 이온의 전기전도도값을 측정하는 conductivity cell(detector) 및 recorder 부분으로 크게 나눌 수 있으며, 최근에는 Fig. 1과 같이 HPICE와 HPIC를 결합하여 여러 시료를 동시에 분리검출하는 방법이 응용되고 있다.<sup>21,26</sup>

2. 2. Separator

2. 2. 1. Ion exchange chromatography(IEC)

(1) 음이온 교환법(Anion exchange method)

음이온 교환수지는 표면이 sulphonated되어 있으며

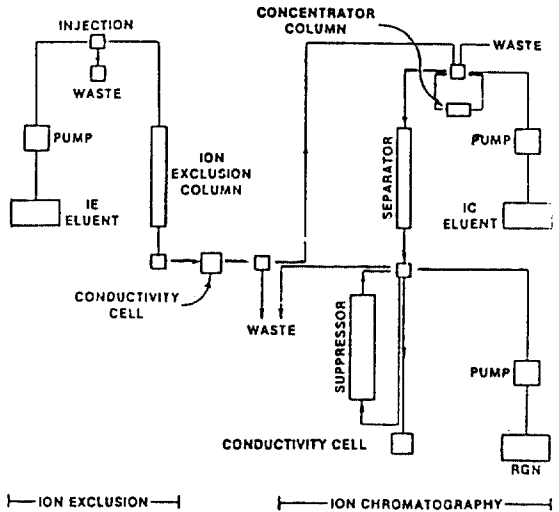


Fig. 1. Coupled chromatography instrument schematic.

비활성인 polystyrene/divinylbenzene(PS/DVB)으로 입자 크기가 10~25µm인 중심부분과 완전히 aminated된 0.1µm 크기를 갖는 다공성 latex 입자의 외부층으로 되어 있으며 실제 이온교환 기능을 갖는 -R<sub>3</sub>N<sup>+</sup> 특성기에서 이온교환이 이루어진다. Latex 입자는 electrostatic과 van der waals 상호작용에 의한 힘으로 결합되어 있으며 Fig. 2에 대표적인 음이온 교환수지를 나타내었고 분리 mechanism은 다음과 같다.<sup>27</sup>



$$K = \frac{[R_3N^+ X^-] [HCO_3^-]}{[R_3N^+ HCO_3^-] [X^-]} \quad (K = \text{Distribution coefficient})$$

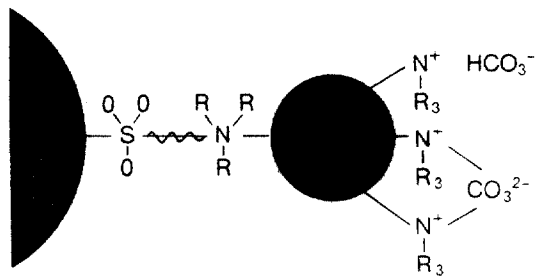
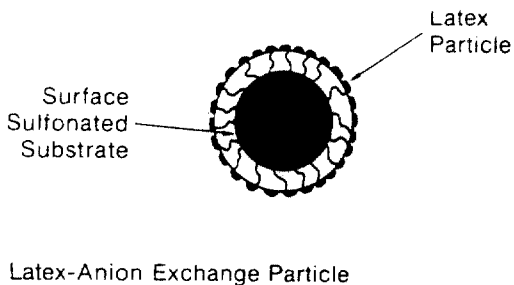


Fig. 2. The structure of an anion exchange resin.

Distribution coefficient(K)는 이온의 전하, 이온의 크기, 용리액의 이온강도, pH 및 수지의 형태에 따라 좌우되는데, 일반적으로 시료이온의 전하가 크면 클수록 이온교환 수지에 대한 친화력이 더 커진다. 즉 3가 이온은 2가 이온보다도 더 큰 친화력을 가지므로 일반적인 용리 순서는 1가, 2가, 3가의 순이지만 몇몇 예외가 있다. 예외를 보면 1가의 SCN<sup>-</sup>이 2가의 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>보다 뒤에 용출되며, 같은 전하를 같은 4개의 다른 음이온에 대해 이온의 크기가 큰 것일수록 더 강한 친화력을 가지므로 halide의 용리 순서는 F<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, I<sup>-</sup> 순이다. 또한 흡착력이 큰 이온일수록 고정상과 결합력이 크므로 retention time이 길어지고 용리액의 pH는 다가나 여러 개의 관능기가 있는 이온의 평형분배에 영향을 준다. 예를 들어 phosphate는 1가의 상태에서 용리액의 pH를 증가시켜 주면 2가의 형태로 변화되므로 시료 분석시에는 시료 특성에 따라 적절한 수지의 선택 및 용리액을 선정해야 한다.

1992년 Raaidah Saari-Nardhaus와 James M. Anderson, Jr은 chemical suppressor IC에서 음이온 교환 수지로 functional group이 quaternary amine인 hydromethyl methacrylate(HEMA)를 합성 고정상

으로 이용 inorganic anion들을 분리하였다<sup>28</sup>. Fig. 3은 기존에 사용하였던 pellicular-based column과 HEMA-based column을 이용하여 inorganic anion들을 분리한 chromatogram이다. HEMA가 더 큰 pore를 가지고 있기 때문에 retention time이 길어 시간이 더 많이 소요되지만 좋은 분리를 보여 주고 있다.

(2) 양이온 교환법(Cation exchange method)

양이온 교환 column의 고정상에 사용되는 수지는 PS/DVB이고 구조는 음이온 교환수지의 구조와 유사

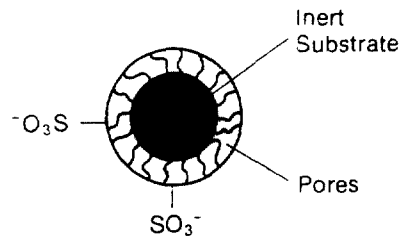
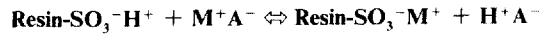


Fig. 4. The structure of a cation exchange resin.

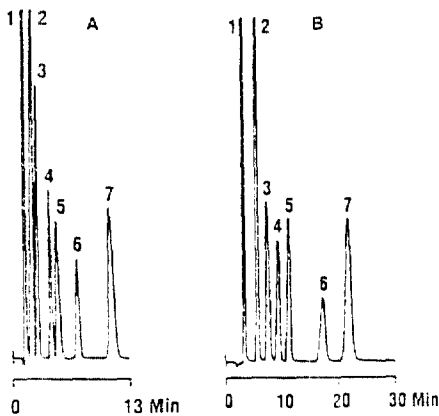


Fig. 3. Separation of the seven common inorganic anions on (A) pellicular-based column(250mm × 4.9mm I.D.) and (B) HEMA-based column(150mm × 4.6mm I.D.) using 1.7mM NaHCO<sub>3</sub>-1.8mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> eluent. Flow rate : 1.0ml/min. Detector : suppressed conductivity. 10μS fullscale. Injection volume : 100μl. Peaks : 1 = F<sup>-</sup> : 10ppm, 2 = Cl<sup>-</sup> : 20ppm, 3 = NO<sub>2</sub><sup>-</sup> : 20ppm, 4 = Br<sup>-</sup> : 20ppm, 5 = NO<sub>3</sub><sup>-</sup> : 20ppm, 6 = PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> : 30ppm, 7 = SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> : 30ppm.

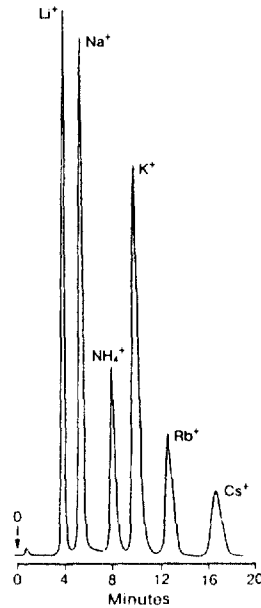


Fig. 5A. The separation of alkali metals on a surface sulfonated cation exchange resin. Cloum : HPIC - CS1. Eluent : 5mM HCl. Sample : 5ppm Li<sup>+</sup> and Na<sup>+</sup>, 10ppm NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and K<sup>+</sup>, 20ppm Rb<sup>+</sup> and Cs<sup>+</sup>.

Table 1. Anion-exchange capacity factor ( $k'$ ) of anions on the pellicular and HEMA-based columns.

Anion	Pellicular-based column	HEMA-based column	$k'_{\text{HEMA}} / k'_{\text{pellicular}}$
Fluoride	0.31	1.08	3.48
Chloride	1.23	2.46	1.95
Nitrite	1.72	3.48	2.02
Bromide	3.08	4.58	1.49
Nitrate	3.75	5.67	1.51
Phosphate	6.03	9.05	1.50
Sulfate	9.54	11.64	1.22

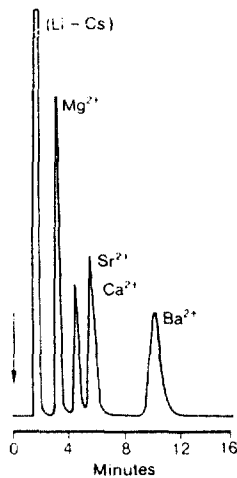


Fig. 5B. The separation of alkali earth metals on a surface sulphonated cation exchange resin. Column : HPIC-CSI. Eluent : 2mM HCl/2 mM m-phenylenediamine dihydrochloride. Sample : 3ppm  $\text{Mg}^{2+}$  and  $\text{Ca}^{2+}$ , 10ppm  $\text{Sr}^{2+}$  and 25ppm  $\text{Ba}^{2+}$ .

하며 단지 이온교환 기능을 하는 latex 입자 특성기가  $\text{SO}_3^-$ 이다. 대표적인 양이온 교환수지의 구조는 Fig. 4에 나타내었고 cation  $\text{M}^+$ 에 대한 이온교환 진행 mechanism은 다음과 같으며, 이를 이용하여 양이온들을 분리한 chromatogram을 Fig. 5A와 Fig. 5B에 나타내었다.

이온의 신속정확한 분리방법을 위한 연구는 계속되고 있으며 John Morris와 James S. Fritz는 PS/DVB의 functional group을 succinic anhydride, tetrachloroethane 및 anhydrous aluminum chloride

를 이용  $\text{R-COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$  유도체 (resin I)를 만들고 또한 phenylchloroformate, tetrachloroethane 및 anhydrous aluminum chloride를 이용  $\text{R-CO}_2\text{H}$  유도체 (resin II)를 만들어 metal ion 분리<sup>29</sup>에 이용하였다. Table 2는 eluent인 ethylenediammonium, oxalate를 Resin I column에서 사용했을 때 시료의 pH 효과를 조사한 것이며, 이 결과는  $t'_R$  대 pH의 logarithm으로 계산되었고 metal ion들은 두 개의 뚜렷한 group으로 나누어지며 한 group은 slope가 0.5 정도인 것과 또한 group은 1.0 정도인 것이다. Slope값 차이점에 대하여 명확한 해석은 할 수 없으나 metal ion이 eluent와 한 group은 metal hydrogen oxalate complex를, 또한 group은 metal oxalate complex를 형성하기 때문인 것

Table 2. Linear regression data for plots of  $\log t'_R$  (Adjusted retention time)  $t'_R$ , pH using an ethylenediammonium oxalate eluent.

Metal ion	pH range	Slope	Correlation coef.
$\text{Ni}^{2+}$	5.4-6.8	1.03	0.9994
$\text{Co}^{2+}$	5.0-6.8	0.50	0.9822
$\text{Zn}^{2+}$	5.0-6.4	1.07	0.9944
$\text{Fe}^{2+}$	5.4-6.8	0.53	0.9802
$\text{Pb}^{2+}$	4.0-5.4	0.98	0.9948
$\text{Cu}^{2+}$	4.2-5.8	0.97	0.9952
$\text{Cd}^{2+}$	4.0-5.6	0.87	0.9976
$\text{Mn}^{2+}$	4.2-7.2	0.52	0.9986
$\text{Mg}^{2+}$	4.0-7.2	0.50	0.9991
$\text{Ca}^{2+}$	4.0-7.2	0.50	0.9962
$\text{Sr}^{2+}$	4.0-7.2	0.51	0.9977
$\text{Ba}^{2+}$	4.0-7.2	0.51	0.9980

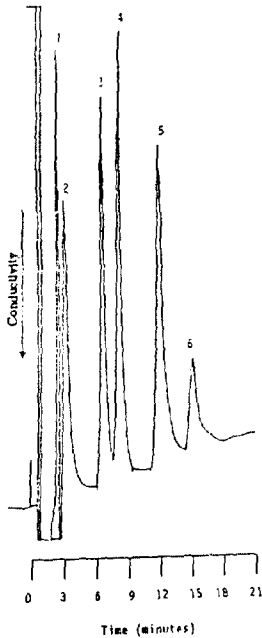


Fig. 6A. Chromatographic separation on resin I column(100×4.6 mm I. D.). Eluent condition : 10mM ethylenediammonium, 1.00 mM oxalate (pH 5.3) Peaks : 1 =  $Co^{2+}$ , 2 =  $Zn^{2+}$ , 3 =  $Mn^{2+}$ , 4 =  $Mg^{2+}$ , 5 =  $Ca^{2+}$ , 6 =  $Ba^{2+}$ .

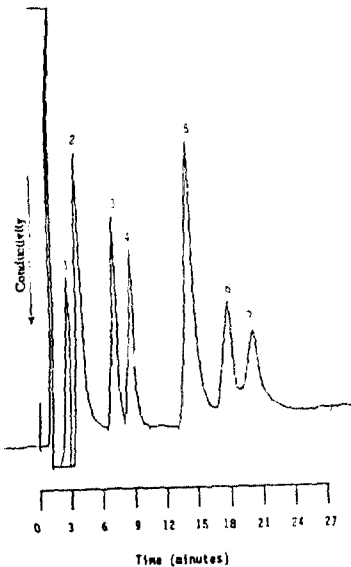


Fig. 6B. Chromatographic separation on resin I column (100×4.6mm I. D.). Eluent condition : 10mM ethylenediammonium, 0.05 mM PAD (pH 5.4) aks : 1= $Zn^{2+}$ , 2= $Na^{2+}$ , 3= $Ca^{2+}$ , 4= $Sr^{2+}$ , 5= $Ba^{2+}$ , 6= $Mg^{2+}$ .

으로 사료된다. 또한 Pyridine-2, 6-dicarboxylate (PAD)는 metal ion과 매우 강한 complex를 형성하기 때문에 metal ion이 빠르게 용출되며 PAD의 농도를 증가시키면 용출시간은 짧아진다. 이 연구로 eluent의 조건을 확인한 후 Fig. 6A는 eluent를 10mM ethylenediamine, 1.0mM oxalate(pH 5,3)으로, Fig. 6B는 eluent를 10mM ethylenediamine, 0.05 mM PAD(pH 5,4)로 Resin I cloumn을 사용 metal cation을 분리 비교한 것이다.

2. 2. 2 High Performance Ion Chromatography Exclusion(HPICE)

HPICE는 용질과 고정상간의 극성과 van der waals의 상호작용을 이용한 분리방법으로 유기산이나 알코올류의 분리에 사용되며 원리는 Fig. 7과 같이 광산류들은 고정상에 머물지 않고 용리되는 반면에 해리가 되지 않는 성분은 resin pores에 침투하는 것으로 분리에 사용되는 column은 이온교환 용량이 큰 양이온 교환 수지로 고정상의 표면이 sulphate되어 있으며 분리과정은 수지입자 표면에서 Donnan exclusion, Steric exclusion, Adsorption의 3가지 원리에 의해 이루어진다.

Column에서의 retention time은 용질의 pKa, 온도, 용질의 농도, 용리액의 pH, 수지의 가교도, 수지의 특성 및 용리액의 유속 등에 따라 영향을 받는다. 92년 R. Widiastuti와 P. R. Haddad의 연구에서 10mM me-

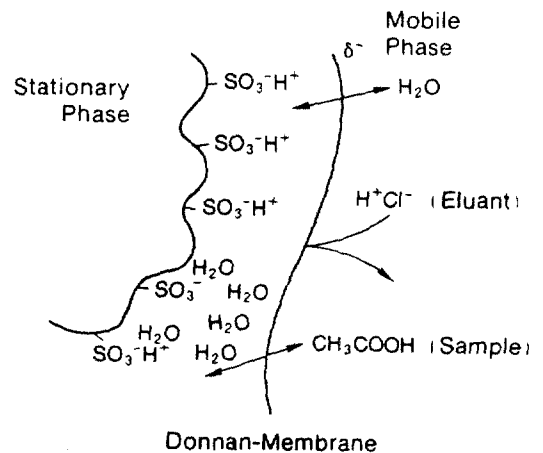


Fig. 7. Schematic representation of the separation processes on an HPICE column.

Table 3. Retention time of carboxylic acid for different eluents.

(min)

Solute acid	Eluents (concn. 1mM)					
	Water	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (pH 3.02)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (pH 3.63)	Benzoic acid (pH 3.62)	p-Toluenesulfonic acid (pH 3.00)	Methanesulfonic acid (pH 2.74)
Citric	4.0	5.7	6.3	4.5	5.7	5.3
Tartaric	4.0	5.7	6.8	4.5	5.7	5.5
Malonic	4.0	6.0	N.A.	4.5	6.3	5.5
Malic	4.0	6.6	7.6	5.3	6.7	6.3
Succinic	N.A.	9.2	N.A.	7.0	9.2	8.6
Formic	6.3	9.7	10.9	7.0	10.0	9.5
Acetic	8.7	11.7	12.1	9.5	11.3	10.9
Isobutyric	N.A.	15.6	N.A.	12.8	15.8	14.7

N.A. = Data not available

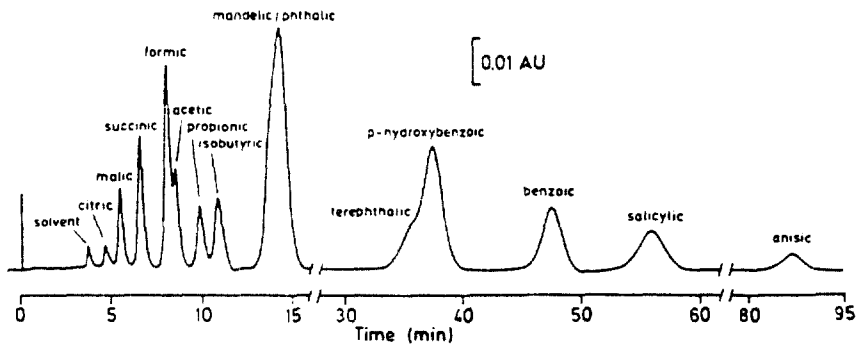


Fig. 8. Isocratic separation of aliphatic (20~500 ppm) and aromatic (5~50 ppm) carboxylic acids. The eluent was 10mM methanesulfonic acids containing 1%(v/v) acetonitrile. Spectrophotometric detection at 210 nm was used.

thanesulfonic acid (pH 2.74) / 1%(v/v) acetonitrile 을 용리액으로 사용하여 HPICE에서 유기산들을 분리한 chromatogram을 Fig. 8에 나타내었고 Table 3은 각각의 용리액에 따른 유기산들의 retention time 을 나타낸 것이다.<sup>30</sup> 또한 분리 system에 따른 mechanism 및 작용기, 용리액 및 적용 시료를 Table 4에 나타내었다.

### 2. 2. 3. Ion Pair Chromatography (Mobile Phase Ion Chromatography : MPIC)

MPIC는 IEC와 더불어 양이온과 음이온의 분리 및 정량에 많이 적용되고 있기 때문에 중요성이 점점 더

증대되고 있는 실정이다. Haney 등은 이동상에 alkyl sulphonic acid나 quaternary aliphatic acid 같은 lipophilic ion들을 이용하여 반대전하를 띤 시료들을 일반적인 reversed phase ion silica column-UV/Vis. detector를 사용하여 분리할 수 있었다.<sup>12,13</sup> 이 기술은 reversed phased ion pair chromatography (RPIPC) 로 정의되었고 그 후에 silica 대신 pH에 영향을 받지 않는 PS/DVB로 바꾸어 주고 chemical suppressor-conductivity detection을 채택함으로써 획기적인 발전을 하고 있다.

현재까지 MPIC의 column에서 발생하는 mechanism에 대한 정확한 규명은 이루어지지 않았으나 가장

Table 4. A summary of ion chromatographic separation systems.

Separation System	Mechanism	Functionality of the Resin	Recommended Eluent	Species to be Analyzed
HPIC Anions	Ion exchange	$-N^+R_3$	$Na_2CO_3/NaHCO_3$	$F^-$ , $Cl^-$ , $Br^-$ , $I^-$ , $SCN^-$ , $CN^-$ , $PO_2^{3-}$ , $PO_3^{3-}$ , $PO_4^{3-}$ , $NO_2^-$ , $NO_3^-$ , $S^{2-}$ , $SO_3^{2-}$ , $SO_4^{2-}$ , $ClO^-$ , $ClO_2^-$ , $ClO_3^-$ , $ClO_4^-$ , carbohydrates, etc.
Cations	Ion exchange	$-SO_3^-$	HCl: m-Phenylene-diamine (2 HCl/HCl)	$Li^+$ , $Na^+$ , $NH_4^+$ , $K^+$ , $Mg^{2+}$ , $Ca^{2+}$ , $Ba^{2+}$ , small aliphatic amines.
HPICE	Ion exclusion	$-SO_3^-$	HCl Octane sulphonic acid	Aliphatic carboxylic acids, carbonate, borate, citrate, malonate, succinate, lactate, alcohols.
MPIC Anions	Ion pair formation and adsorption	Neutral	$NH_4OH$ , TMAOH, TPAOH, TBAOH	In addition to those anions listed under HPIC : metal cyano complexes, $BF_4^-$ and anion surfactants.
Cations	Ion pair formation and adsorption	Neutral	HCl, hexane-sulphonic acid, octane sulphonic acid	In addition to those cations listed under HPIC : alkyl amines, alkanol amines, quaternary ammonium compounds, choline cation surfactants.

근접된 가설은 1979년 Bidlingmeyer 등에 의해 제안된 ion interaction model이다.<sup>31,32</sup> 고정상의 비극성 성질과 이동상의 극성 성질 때문에 phase 사이의 경계에는 높은 표면장력이 존재하며 이것은 고정상이 표면장력을 줄일 수 있는 이동상에 있는 어떤 성분과 친화력을 갖게 해준다. 이런 성분들로는 유기용매류, 계면활성제류, quaternary ammonium base류 등이다. 이 model에 의하면 고정상의 표면에는 electrical double layer가 형성되며 Fig. 9는 surface active amine들을 분리하는 동안 형성되는 electrical double layer를 나타낸 것이다.

이 system의 선택성은 double layer의 outer region에서 반대쪽 이온의 hydration 정도에 의존하며, hydration이 가장 작은 enthalphy를 갖는 이온들이 가장 긴 retention time을 갖는다. 예를 들면 carbon chain이 길수록 retention time이 길어진다. Fig. 10은 MPIC에 의한 hydrotropic compound의 분리를 나타

낸 것이다.

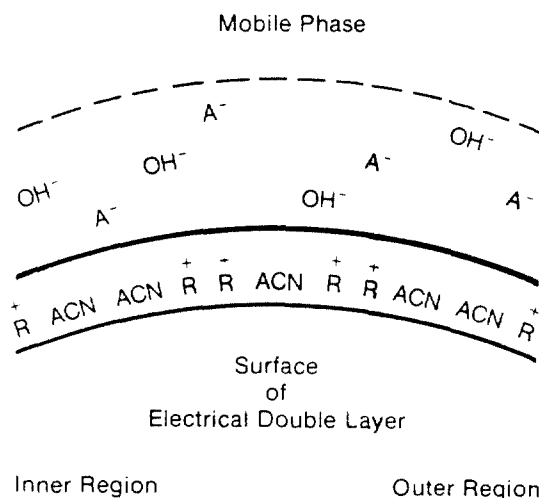


Fig. 9. Scheme showing the electrical double layer formed during the separation of surface active anions.

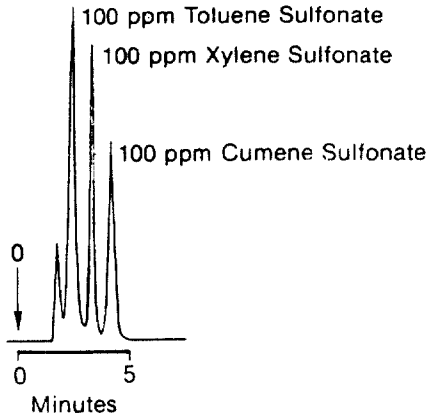


Fig. 10. The separation of hydrotropic compounds. Column : MPIC-NSI. Eluent : 10 mM NH<sub>4</sub>OH + 12 vol. acetonitrile. Flow rate : 1 ml/min. Detection : Suppressed conductivity.

2. 3. Suppressor

시료 이온의 전기전도도값을 높이기 위한 chemical suppressor 중 음이온용 suppressor의 원리를 살펴보면 Fig. 11에서 보듯이 분석용 column에서 나오는 용리액은 저밀도의 sulphonated된 fiber를 거쳐 나가게 되는데, fiber 외부로 재생액인 묽은 황산을 흘리면 Donnan 배제 원리에 의해 용리액의 음이온과 시료의 음이온은 fiber 벽을 통과하지 못하나 양이온은 통과하

여 용리액과 시료의 전도도차가 상대적으로 훨씬 커지게 하여 검출하는 것이다.<sup>33</sup> 예를 들면 NaHCO<sub>3</sub> 용리액을 사용하여 NaCl을 검출할 경우 용리액의 NaHCO<sub>3</sub>는 전도도가 낮은 H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>로 변화시켜 용리액의 전도도값을 낮게 하여 주고 시료인 NaCl을 HCl로 전환시켜 높은 전도도값을 갖게 함으로써 보다 높은 감도로 검출할 수 있게 하였다. 최근 microsuppressor의 개발로 더 높은 감도로 시료를 측정할 수 있으며 전도도값은 Table 5에 나타내었다.

Table 5. Conductivity of an acid and its sodium salt.

Solution	Concentration (milimolar)	Conductivity (μmhos)
NaCl	0.1	12.3
HCl	0.1	40.5
NaHCO <sub>3</sub>	0.1	8.6
H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.1	3.1

1992년 Sochendra Lalcsana와 Paul R. Haddad<sup>34</sup>는 suppressor를 응용하여, pH 3 이하 또는 pH 11 이상의 시료 분석시 column에 시료를 injection하기 전 membrane based device를 이용 전체 또는 부분적으로 시료를 중화시킨 다음 IC를 이용하여 분석하였다. 이들은 0.01% NaOH에 포함된 anions 시료를 분석하기 위하여 Fig. 12에 나타난 것처럼 cation exchange membrane fiber를 이용하여 device를 만들었으며 시료를 fiber 속으로 통과시키면서 시료를 중화시키는 surrounding medium을 fiber 주위로 흐르게 하였다. 시료 속에 있는 sodium은 fiber membrane을 통하여 밖으로 나오며 surrounding medium에 있는 hydrogen ion들은 fiber 속으로 침투하여 중화반응을 한다.

또한 이들은 가장 좋은 neutralization efficient를 갖고 membrane 침투 능력이 좋은 0.1M octanesulfonic acid(OSA)를 surrounding medium으로 이용하였으며, Fig. 13은 0.01% NaOH solution에 포함된 음이온 분석시 membrane based device를 이용하기 전과 후를 비교한 chromatogram이다.

2. 4. Detector

IC에 사용되는 검출기는 크게 electrochemical 방식

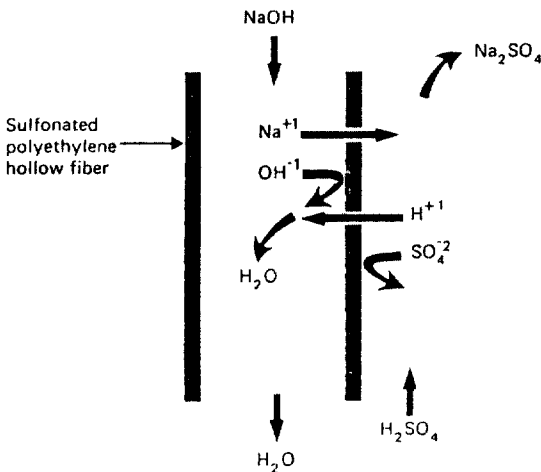


Fig. 11. The way anion membrane suppressor work.



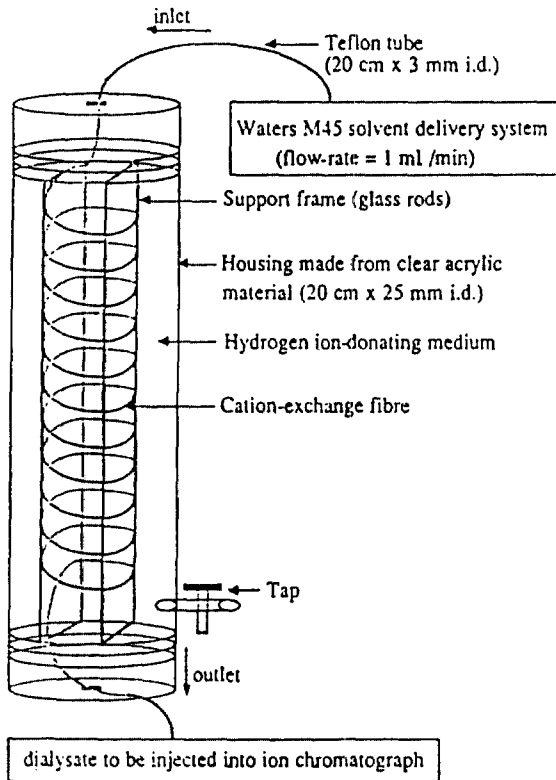


Fig. 12A. Dialysis device used for comparison of hydrogen ion donating media.

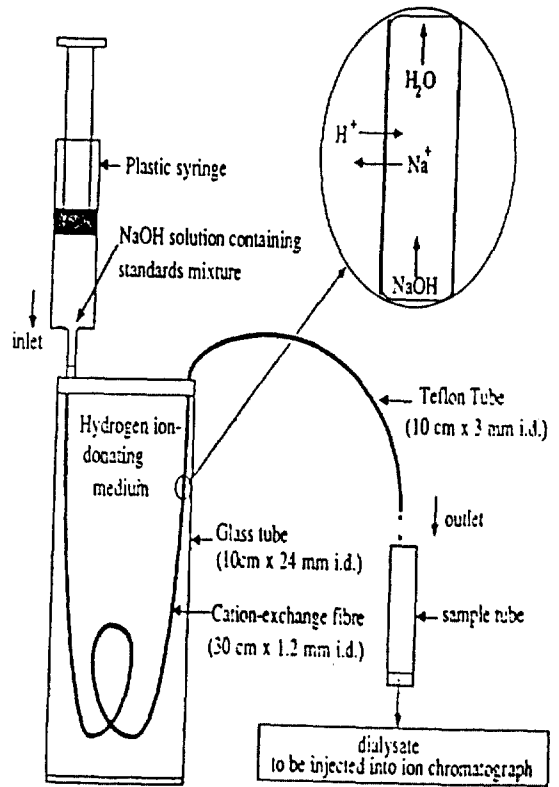


Fig. 12B. Dialysis device used membrane fiber.

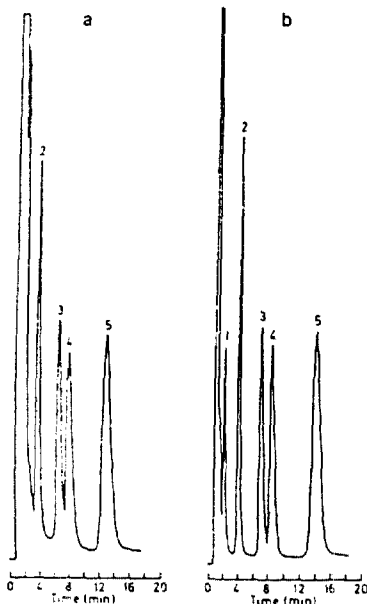


Fig. 13. Chromatogram obtain before (a) and after (b) Donnan dialysis of 0.01% NaOH solution containing anions. Injection volumn : 50 $\mu$ l. Eluent : gluconate-borate(pH 8.5). Column : Waters IC Pak A. 50  $\times$  4.6 mm I. D. Peaks : 1 = F<sup>-</sup>, 2 = Cl<sup>-</sup>, 3 = Br<sup>-</sup>, 4 = NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, and 5 = SO<sub>4</sub><sup>-</sup>.

과 optical 방식으로 나누며 electrochemical 검출방법으로는 conductivity amperometric 및 pulsed amperometric 등이 있고 optical 검출방법으로는 UV/Vis. 및 fluorescence 등이 있으며 detector별 원리 및 적용되는 물질을 Table 6에 나타내었다.

Conductivity detector는 두 개의 반대되는 전극에 흐르는 이온성 용액이 두 개의 전극 사이에 전기전류를 흐르게 하여 회로를 형성하므로 이 용액의 전기전도도를 측정하는 것이며 Amperometric, pulsed amperometric detector 검출 원리는 작용전극(working electrode)의 표면에 측정시료가 산화, 환원 또는 착화

Table 6. A summary of ion chromatographic detection systems.

Detection	Principle	Application
Conductivity	Electrical conductivity	Anions and cations with pKa or pKb < 7.
Amperometry	Oxidation and reduction at a Ag/Pt working electrode	Anions and cations with pKa or pKb < 7. (S <sup>2-</sup> , CN <sup>-</sup> , OCl <sup>-</sup> , etc.)
Pulsed amperometry	Oxidation and reduction at a Ag/Pt/Au and glassy carbon electrode	Alcohols, carbohydrates, phenols, nitro aromatics, etc.
UN/Vis. detection in connection with postcolumn reaction	UV/Vis. light absorption	UV active anions and cations, heavy metals after reaction with PAR and Tiron, polyvalent anions after reaction with iron-nitrate, silicate after reaction with molybdate, Ca <sup>2+</sup> /Mg <sup>2+</sup> in NaCl after reaction with Arseneazo I.
Fluorescence in connection with postcolumn reaction	Excitation and emission	Amino acids and polyamines after reaction with o-phthalaldehyde.

Table 7. Variation of elution time and sensitivity with eluent concentration

Histidine	25 mM HCl constant				2 mM Histidine constant				
	Mg <sup>2+</sup>		Ca <sup>2+</sup>		HCl	Mg <sup>2+</sup>		Ca <sup>2+</sup>	
	Concn. (mM)	Elution Time	Peak Area	Elution Time		Peak Area	Concn. (mM)	Elution Time	Peak Area
2	10.1	5.7	19.5	4.5	15	13.9	6.6	27.8	4.9
4	6.0	5.0	11.0	4.4	25	10.1	5.7	19.5	4.5
6	4.6	4.1	8.0	4.3	35	8.7	5.5	16.4	4.4
8	3.8	3.9	6.4	4.1	40	7.5	5.3	14.0	4.1

합물이 형성되는 동안 변화하는 전류를 측정하는 것이다. UV/Vis detector는 보통 200~570nm 사이에서 사용되며 nitrogen을 포함하는 이온류, 황, 할로젠 및 대부분의 유기물은 이 범위에서 흡수대를 갖는다. 또한 UV 흡수가 없는 이온은 유도체화하여 검출한다. Fluorescence detector는 아미노산 및 polyamine을 검출하는 데 쓰인다.

### 3. 양이온 분석

1가 양이온인 Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, K<sup>+</sup> 및 2가 양이온인

Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup> 이온들은 염류, 화공약품류, 토양, 해수 및 폭약류 등에 광범위하게 분포되어 있으므로 각종 사건·사고에 관련되어 분석을 필요로 하며, 이들 이온의 분석법으로는 UV/Vis., AAS, Calorimetry 및 EDTA법 등이 사용되고 있으나 IC를 이용 분석하기 위하여 eluent의 변화, 시료전처리법 및 pH 변화에 따른 영향을 검토하였다.

#### 3. 1. 용리액의 농도 변화

Mg<sup>2+</sup> 및 Ca<sup>2+</sup> 이온을 각각 20μg/ml를 사용하여 용리액의 농도 변화에 따른 elution time과 sensitivity,

를 검토하기 위하여 25mM-HCl 일정 농도에 histidine의 농도를 2, 4, 6, 8(mM)로, 2mM histidine 일정 농도에 HCl 농도를 변화시키면서 실험한 결과를 Table 7에 나타내었다.

3. 2. 전처리방법 비교

전처리방법으로 5% trichloroacetic acid 9ml와 혈장 1ml를 충분히 혼합시킨 후 10분간 정지한 다음 5,000rpm에서 원심분리하는 trichloroacetic acid법, 0.3N Ba(OH)<sub>2</sub> 용액 2ml를 첨가 후 혼합하고 이 용액에 5% ZnSO<sub>4</sub> 2ml를 넣고 원심분리하는 Somogyi-Nelson법, acetonitrile을 첨가 후 원심분리하는 Acetonitrile법, membrane filter로 여과하는 방법 등을 비교시험한 결과 Table 8에서 보듯이 membrane filter법이 가장 양호하였다.

Table 8. The comparison of pretreatment methods in plasma.

Ions	Trichloroacetic Acid		
	Somogyi-Nelson	Membrane Filter	
Na <sup>+</sup>	103	65	101
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	86	79	102
K <sup>+</sup>	63	56	101

3. 3. pH 변화

혈액을 pH 7.4, 5.5, 4.5, 3.5 및 2.5로 조절하면서 membrane filter법으로 전처리하여 측정된 결과 Table 9에 나타낸 바와 같이 pH 3.5~5.5에서 양호한 결과를 얻었다.

Table 10. Ion chromatography conditions.

Condition	Monovalent cations	Divalent cations
System	HPIC	HPIC
Detector	Conductivity	Conductivity
Separator Column	CS1	CS1
Suppressor Column	CMMS	CMMS
Eluent Concn.	5mM-HCl	25mM-HCl/2mM Histidine
Regenerant Concn.	20mM-Ba(OH) <sub>2</sub>	40mM-Ba(OH) <sub>2</sub>
Injection volume (μl)	50	50

Table 9: pH-dependent variation of cations concentration plasma.

Ions	pH				
	7.4	5.5	4.5	3.5	2.5
Na <sup>+</sup>	2830	3090	3090	3150	3080
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	61	64	71	63	56
K <sup>+</sup>	210	220	220	230	220

3. 4. 분석 사례

※ 혈장 중에서 양이온 분석

분석조건 검토 결과를 토대로 하여 Table 10의 분석 조건에서 실험한 결과 1가 양이온은 Fig. 14 및 2가 양이온은 Fig. 15에서 보는 바와 같이 분리가 양호하였으며 혈장 중에서 1가 양이온 3종을 동시에 정량한 결과 Na<sup>+</sup> : 3147μg/ml, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> : 63μg/ml, K<sup>+</sup> : 228μg/ml였고, 2가 양이온인 Mg<sup>2+</sup> : 20μg/ml, Ca<sup>2+</sup> : 102μg/ml였다. 또한 新谷英晴의 보고<sup>35</sup>에는 Na<sup>+</sup> : 3156μg/ml 및 K<sup>+</sup> : 152μg/ml이고 Anderson의 보고<sup>36</sup>에는 Na : 3450μg/ml, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> : 288μg/ml, K<sup>+</sup> : 625.6μg/ml, 한국생화학회 편저 실험생화학에서는 Na<sup>+</sup> : 3000~3500μg/ml, K<sup>+</sup> : 140~220μg/ml로서 IC 분석에 의한 분석결과와 거의 유사하였다.

※ 염화칼륨 주사액에 의한 중독

1992년 4월 ○○경찰서에서 의뢰한 사건으로 변사자는 간호원으로 생리식염 주사액에 염화칼륨 주사액을 투입 주사하여 자살한 사건으로 혈액에서 K<sup>+</sup> 이온 2523μg/ml, Cl<sup>-</sup> 이온 2474μg/ml를 검출하였으나 혈액이 용혈될 경우 적혈구내의 K<sup>+</sup> 이온이 혈장보다 약 30배의 많은 양이 존재하므로 중독 여부를 판정할 수 없었다.

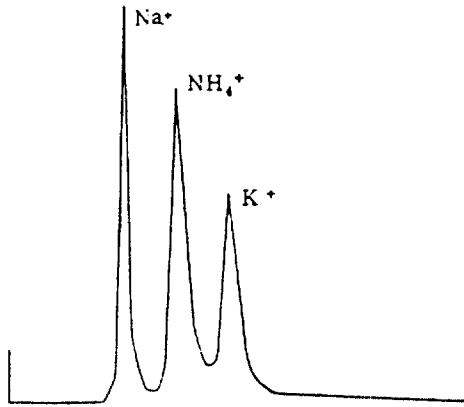


Fig. 14. Ion Chromatogram of monovalent cations. Na<sup>+</sup> : 20ppm, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> : 30 ppm and K<sup>+</sup> : 30ppm.

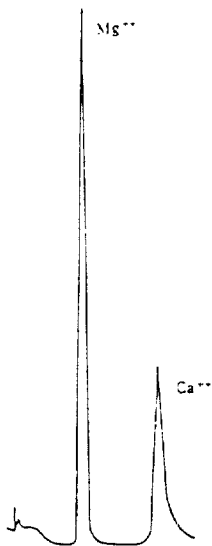


Fig. 15. Ion Chromatogram of divalent cations. Mg<sup>2+</sup> : 20 ppm and Ca<sup>2+</sup> : 30ppm.

※ NaOH + Al 드럼통 폭발

1992년 8월 ○○경찰서에서 의뢰한 사건으로 외국인 취업자가 드럼통을 세척하다가 드럼통이 폭발 사망한 사건으로 채취된 시료에서 NaOH 1.8%, Aluminium 31.9% 및 magnesium이 검출되었고 IR에 의한 시험 결과 polyethylene 수지류가 확인되어 aluminium 도

료가 잔류된 드럼통을 NaOH로 세척하다 화학반응으로 인한 수소발생으로 압력이 증가하여 드럼통이 폭발된 것으로 확인되었다.

4. 음이온 분석

광산류인 염산, 질산, 황산 등 산류는 진한 용액일 때 유독성을 나타내며 묽은 용액은 의약품으로 사용되기도 한다. 따라서 산류는 법률 제4261호 유해 화학물질 관리법(제1990. 8. 1.)에 10% 이상 함유한 제제를 유독물로 규정하고 있으며, 이들을 음독할 시 구강, 식도, 위점막에 심한 부식작용을 일으켜 구토 및 위장염과 같은 증상이 나타나고 맥박이 고르지 못하며 경련과 허탈증에 빠진 다음 심장마비로 사망하게 된다.

산류의 분석법으로는 습식법, 자외선 비색법, polarography 및 GC법 등이 보고되었으며, 이들 분석법으로는 많은 종류의 이온이 혼합된 생체시료에서는 추출, 침전 등 분리 조작의 복잡 등으로 많은 시간이 요구되었으나 선택성, 분리도 및 감도가 예민한 IC에 의한 분석으로 무기음이온의 동시 정량이 가능하였다.

4. 1. 시료분석

※ 광산류 분석

92년 3월 ○○경찰서에서 의뢰된 사건으로 부부싸움 후 화장실 세척용 염산을 음독한 위내용물에서 염소이온 1.89%, 혈액에서 0.34%를 검출하였다. 92년 11월 ○○경찰서에서 의뢰된 사건으로 자동차 배터리액을 음독 사망한 위내용물에서 황산이온 1.78%, 혈액에서 0.14%를 검출하였다. 87년 10월 ○○경찰서에서 의뢰된 사건으로 초자기구를 만드는 회사의 공원으로 불산을 음독한 위내용물에서 불산이온 4.7%, 혈액에서 2.4 $\mu$ g/ml를 검출하였다.

※ Bromide 분석

인천 ○○경찰서에서 의뢰된 사건으로 선박의 곡물 창고에 사용된 methylbromide에 의하여 중독 사망한 혈액에서 bromide 이온을 74.2 $\mu$ g/ml 및 정상 혈액에서 5.3 $\mu$ g/ml를 검출하였고, Peter de Jong 등의 보고<sup>21)</sup>에 의하면 혈액 중 bromide의 함량이 남자 5.3 $\pm$ 1.0 $\mu$ g/ml, 여자 5.2 $\pm$ 1.4 $\mu$ g/ml였다. 그외 분석사례를 Table 11 및 12에 나타내었고 IC 분석조건 및 chromatogram을 Fig. 16에 나타내었다.

Table 11. The concentration of chloride ion in gastric juice and blood.

Normal group		Poisoning group	
Gastric juice	Blood	Gastric juice	Blood
0.24	0.27	0.73	0.28
0.24	0.30	1.11	0.29
0.29	0.29	0.67	0.32
0.25	0.30	1.83	0.33
0.28	0.23	0.94	0.56
0.30	0.35	1.89	0.35
0.50	0.28	0.78	0.30
0.13	0.33	0.91	0.26
0.29	0.32	1.74	0.31
0.33	0.31	2.55	0.27
<b>Range 0.24~0.50</b>	<b>0.23~0.35</b>	<b>0.73~2.55</b>	<b>0.26~0.56</b>

Table 12. The concentration of sulfate ion in gastric juice and blood.

(w/v %)		
Normal group	Poisoning group	
Blood	Gastric juice	Blood
0.04 × 3	2.03	0.09
0.06	1.78	0.14
0.03 × 3	0.67	0.33
0.05 × 3	4.67	0.17
<b>Range 0.03~0.06</b>	<b>0.67~4.67</b>	<b>0.09~0.33</b>

5. Hippuric acid와 benzoic acid 분석<sup>20</sup>

요즘 청소년들이 유기용매류 흡입에 의한 환각작용으로 인한 사건·사고가 사회적 문제로 대두되고 있기 때문 hippuric acid와 benzoic acid의 분석은 toluene 흡입 후 인체내에서 산화되어 benzoic acid와 hippuric acid로 대사되므로 본드류의 흡입 여부를 판단하는데 법화학적으로 중요한 의미가 있다. 생체시료 중에서 hippuric acid와 benzoic acid의 검출방법에 대한 연구는 오래 전부터 적정법, GC<sup>38,39</sup>, UV/Vis,<sup>40</sup> HPLC<sup>41</sup> 및 비색법 등이 사용되어 왔으나 IC를 이용하여 hippuric acid와 benzoic acid를 동시에 분리할 수 있는 용리조건, 전처리 방법 및 다른 이온의 영향을 검토하였다.

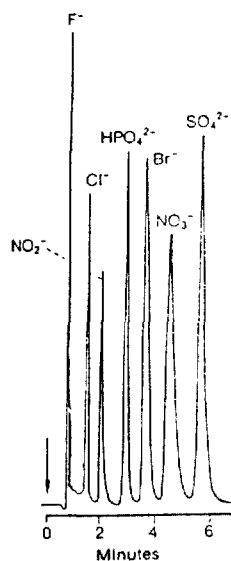


Fig. 16. A Chromatogram of some inorganic acids by suppressed conductivity. Eluent : 2.8 mM NaHCO<sub>3</sub> 2.2 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

5. 1. 이온의 영향

F<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 등의 무기음이온과 gluconic acid, succinic acid, pyruvic acid, gluconic acid 등의 유기음이온이 hippuric acid와 benzoic acid 분리에 미치는 영향을 검토하기 위하여 2~20μg/ml의

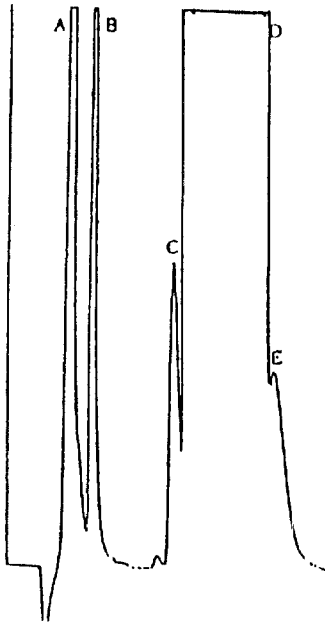


Fig. 17. Ion chromatogram of before pretreatment of rat's urine. A, B : Unknown, C : Hippuric acid, D : Chlorobenzoic acid, E : Benzoic acid.

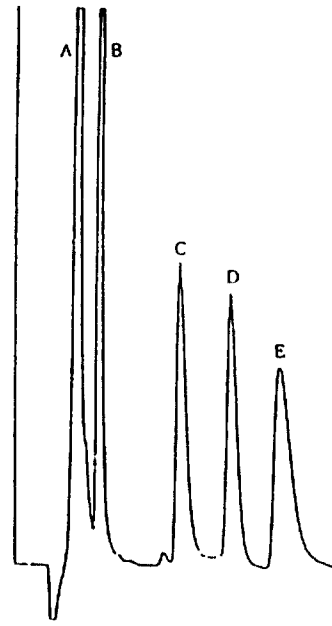


Fig. 18. Ion chromatogram of after pretreatment of rat's urine. A, B : Unknown, C : Hippuric acid, D : Benzoic acid.

농도를 첨가하여 hippuric acid 및 benzoic acid의 분리를 검토한 결과  $\text{Cl}^-$  이온이 다량 존재할 경우 Fig. 17에 나타난 것과 같이 benzoic acid와 중복되므로 ethylacetate 추출법 및 On Guard-Ag cartridge를 사용하여  $\text{Cl}^-$  이온을 제거할 경우 Fig. 18과 같이 분리가 양호하였으며 detection limit는 hippuric acid  $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$ , benzoic acid  $0.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 였다.

## 5. 2. pH 변화 및 전처리법의 비교

원주에서 채취한 요 1ml를 탈이온수로 50배 희석하여 benzoic acid와 hippuric acid 일정량을 첨가한 후 pH를 2~5로 변화시키면서 회수율을 측정된 결과 Table 13에서 보는 바와 같이 pH 2~3이 가장 양호하였으며 시료를 pH 3으로 조절한 후 ethylacetate로 3회 추출하여  $40^\circ\text{C}$  이하에서 감압농축한 후 탈이온수로 용해하는 추출법과 On Guard-Ag를 통과시켜  $\text{Cl}^-$  이온 제거방법을 이용하여 분석한 결과는 Table 14에서 보듯이 모두 양호하였다.

Table 13. pH-dependent recovery of benzoic acid and hippuric acid in rat's urine.

pH value	Hippuric acid		Benzoic acid	
	Found ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Recovery (%)	Found ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Recovery (%)
Urine	3.9	—	4.1	—
2	14.2	$103 \pm 2.0$	14.1	$100 \pm 1.7$
3	13.7	$98 \pm 1.0$	13.8	$97 \pm 2.8$
4	10.8	$69 \pm 2.4$	13.4	$93 \pm 2.7$
5	9.2	$53 \pm 1.0$	12.0	$79 \pm 3.0$

Table 14. Recovery of benzoic acid and hippuric acid according to On Guard-Ag cartridge and extraction method in rat's urine.

Amount added ( $\mu\text{g/ml}$ )	Hippuric acid				Benzoic acid			
	Pretreatment method							
	On Gurd-Ag		Extraction		On Gurd-Ag		Extraction	
Found ( $\mu\text{g/ml}$ )	Recovery (%)	Found ( $\mu\text{g/ml}$ )	Recovery (%)	Found ( $\mu\text{g/ml}$ )	Recovery (%)	Found ( $\mu\text{g/ml}$ )	Recovery (%)	
Urine	2.2	—	2.2	—	9.4	—	9.5	—
4	6.1	98±2.1	6.2	100±1.5	13.4	100±3.0	13.4	100±1.5
8	10.2	100±1.5	10.0	98±1.0	17.3	99±2.5	17.3	98±1.3
12	14.7	104±3.0	14.1	99±0.5	22.1	105±4.2	21.1	97±1.7
16	18.7	103±2.4	18.4	101±1.1	26.7	108±4.1	25.7	101±1.5
Ave.		101±2.3		99.5±1		103±3.5		99±1.5

Table 15. Concentration of hippuric acid and benzoic acid in rat's urine.

Days	Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	Normal urine		Poisoning urine	
	Benzoic acid	Hippuric acid	Benzoic acid	Hippuric acid
1	230-271	145-397	708-2016	105-287
2	413-620	190-234	828-2871	62-250
3	246-582	185-229	1032-3621	71-250
4	241-490	112-129	1236-3842	73-128
5	251-497	110-207	1528-4114	61-262

### 5. 3. 시료분석

Toluene 증기 발생장치를 이용 toluene 농도가 1%로 유지된 폭로실에 흰쥐를 24시간 간격으로 10분씩 5일 동안 노출시킨 중독군과 비교군의 요를 24시간별로 채취하여 분석한 결과 Table 15에서 보듯이 hippuric acid는 큰 차이가 없었으나 benzoic acid는 중독군에서 3~7배 높게 나타났다.

## 6. Sodium monofluoroacetic acid 분석<sup>42</sup>

Monofluoroacetic acid는 독성이 매우 강하여 살서제로서 각광을 받았으나 2차 독성이 강하여 제조 금지된 것으로 비공식적으로 제조 시판되어 가끔 자·타살 및 협박사건으로 사용되어 사회적 문제가 되는 경우가 발생하고 있으며, 이에 대한 독성은 오래 전부터 연구되어 TCA cycle에서 fluorocitrate로 변화되는 효소독

으로 인체에 대한 치사량은 매우 강하여 0.3~0.5g이다.

Monofluoroacetic acid의 분석법으로 Thioindigo 반응, aluminium-hematoxylin 반응, GC 및 GC/MS 등이 있으며 IC에 의해 monofluoroacetic acid 합성에 관여하는 이온인  $\text{FCH}_2\text{COO}^-$ ,  $\text{ClCH}_2\text{COO}^-$ ,  $\text{CH}_2\text{COO}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$  5종에 대한 정성 및 정량법을 검토하였다.

### 6. 1. 회수율

각각의 표준용액을 HPIC-AS4 column을 사용하여 0.75 mM- $\text{NaHCO}_3$  용리액으로 분리한 결과 retention time은  $\text{F}^-$  5.9,  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  7.0,  $\text{FCH}_2\text{COO}^-$  9.4,  $\text{ClCH}_2\text{COO}^-$  13.6 및  $\text{Cl}^-$  26.6분으로 양호하게 분리되었으며, 회수율 측정은 시판되는 균질화시킨 라면에 각각 일정한 표준용액을 첨가 흡착시켜 탈이온수로 용해

한 다음 membrane filter로 여과한 후 Ion종을 분리하여 측정된 결과 회수율은 95%~99.8%로 모두 양호하였다.

6. 2. 시료분석

○○제과회사에 관련된 협박사건으로 연황색 액체와 라면을 분석한 결과  $FCH_2COO^-$ ,  $ClCH_2COO^-$ ,  $CH_3COO^-$ ,  $F^-$  및  $Cl^-$ 이 모두 검출되었으며 이 중  $FCH_2COO^-$  0.43%~2.85%,  $ClCH_2COO^-$  0.68%~3.15%였다.

7. Acetic acid 분석<sup>43</sup>

초산은 식용 및 공업용으로 자·타살, 오용 및 살포 등에 사용되므로 분석해야 할 경우가 종종 발생한다. IC에 의한 분석조건으로 이온배제 column(HPICE-AS1)을 사용하였고, 용리액은 1mM HCl 및 regenerant 용액으로는 TBAOH를 사용하여 생체시료 중에서 분석법을 검토하였다.

7. 1. 회수율

시료는 당 연구소에서 채취한 위내용물과 항응고 처리가 되지 않은 일정량의 혈액에  $CH_3COO^-$  이온 10, 20, 30, 40 $\mu$ g/ml 농도를 첨가한 다음 membrane filter한 후 회수율을 측정된 결과 Table 16에서 보듯이 혈액 97%, 위내용물 96.5%로 양호하였다.

7. 2. 시료분석

91년 2월 서울 ○○경찰서에서 의뢰된 사건으로 야산에서 중독된 사건의 10여 종의 위내용물 중에서 초산이온을 분석한 결과 정상군에서 0.04%~0.38%, 중독

군에서 1.38%~4.57%로 비교군에 비하여 약 5~100배 높게 나타났다.

8. Formic acid 분석<sup>23,44</sup>

소련항공기 승무원의 메틸알코올 오용사건으로 이의 대사체인 formaldehyde와 formic acid는 시신경계에 장애를 일으키며 ethylalcohol보다 배설이 느리므로 유독작용이 오래 지속된다. 분석시료로는 혈액, 요 및 위내용물과 간 및 뇌조직을 사용하였으며, 혈액 및 요는 탈이온수로 회석 membrane filter하여 측정하였으며, 장기조직은 homogenated한 다음 여과 후 0.75mM  $NaHCO_3$ 와 2mM  $Na_2B_4O_7$ 의 2가지 용리액에서 IC로 측정된 결과 formic acid의 retention time은 0.75mM  $NaHCO_3$ 에서는 4.9분으로, 2 mM  $Na_2B_4O_7$ 에서는 5.2분으로 나타났으며, 함량은 Table 17과 같이 용리액을

Table 17. The concentration of formic acid in biological samples.

Case	Sample	Eluent	
		0.75mM $NaHCO_3$	2mM $Na_2B_4O_7$
A	Urine	0.163	0.167
	Blood	0.041	0.041
	(after death)		
	Blood	0.038	0.041
	(before death)		
	Liver	0.011	0.012
B	Brain	0.016	0.018
C	Blood	0.045	0.049
D	Blood	0.025	0.027
	Blood	nega	nega

Table 16. Recovery of acetic acid ion in post-mortem blood and gastric juice.

Added	Blood		Gastric juice	
	Found( $\mu$ g/ml)	Recovery(%)	Found( $\mu$ g/ml)	Recovery(%)
Blank	10.5	-	4.2	-
10	20.0	95	13.7	95
15	24.8	95	18.4	95
20	30.0	97	23.3	96
25	35.0	98	29.0	99
30	40.5	100	33.5	98



변화시켜도 일치하였다.

9. Cyanide 분석<sup>45-48</sup>

청산염류는 KCN 및 NaCN 등으로 금속가공, 사진 및 살서제 등에 사용되며 구입이 용이하여 자살 및 타살의 목적으로 사용되는 사건이 종종 발생한다. 이들 cyan 화합물의 중독기전은 산(위액)에 의하여 시안화수소로 유리된 다음 생리적 촉매작용을 하는 Fe, Cu, Co 등의 금속과 결합하여 안정한 complex를 형성한 후 Cytochrome계의 세포내 산화·환원기능을 상실케 하므로 다량 흡수되었을 때는 거의 순간적으로 호흡이 정지되어 사망하며 청산염 검출법으로는 습식법, UV/Vis.에 의한 방법 및 GC/ECD에 의한 방법 등 여러 가지가 있다.

※ 시료분석

가정불화로 일가족이 청산염을 음독하고 집단자살한 사건으로 혈액에서 conway microdiffusion으로 CN을 분리하고 1M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 용액 2ml, 0.25% chromamine T 1ml, pyridine-barbituric acid 용액 3ml를 넣어 비색시킨 다음 580nm에서 UV/Vis.에 의한 정량과 IC의 pulsed amperometric detector로 정량하여 비교한 결과를 Table 18에 나타내었으며 IC의 분석조건은 sulfide 분석조건과 동일하고 detection limit는 0.1ppm이었다.

Table 18. The comparison of cyanide concentration by UV/Vis. and IC on poisoning blood.

Case	Method	
	UV/Vis.	IC
1	8.6	8.8
2	36.4	37.1
3	12.3	12.5
4	5.3	5.6

10. Sulfide 분석<sup>49-51</sup>

황화물에는 Na<sub>2</sub>S 및 Na<sub>2</sub>S<sub>3</sub> 등이 있으며 고무나 유화염료의 제조, 금속정제, 사진 및 피혁탈모제 등에 사용

되며 쥐(mouse)의 복강내 주사 치사량(LD<sub>50</sub>)은 53mg/kg이며 Sulfide의 분석법으로는 UV/Vis.법 및 GC/ECD법 등이 있다.

※ 시료분석

92년 ○○경찰서에서 의뢰된 사건으로 황화물을 음독한 사건으로 분석시료인 위내용물을 탈이온수로 200배 희석하여 millipore(0.22μm) filter로 여과하여 Table 19의 분석조건에서 분석한 결과 sulfide 이온 0.15%, 나트륨 및 황이 검출되었으며 이때의 sulfide의 detection limit는 0.05ppm이었으며, chromatogram은 Fig. 19에 나타내었다.

Table 19. Ion Chromatography conditions.

Detector : pulsed amperometric detector	
Working electrode : Ag	
Counter electrode : Ag/AgCl	
Column : HPIC-AS <sub>8</sub>	
Eluent : 0.5 M sodium acetate	
0.1 M sodium hydroxide	
0.5 % (v/v) ethylene diamine	
Flow rate : 0.7ml/min	
E <sub>1</sub> (V) : 0	T <sub>1</sub> (ms) : 60
E <sub>2</sub> (V) : -	T <sub>2</sub> (ms) : 0
E <sub>3</sub> (V) : -	T <sub>3</sub> (ms) : 0

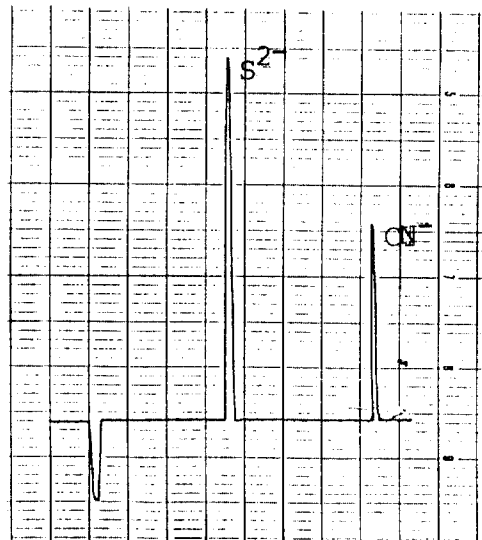


Fig. 19. Chromatogram of sulfide and cyanide by PAD detector. Sulfide 0.2ppm, cyanide 0.5ppm.

### 11. 화약류 분석<sup>52~56</sup>

화약류는 도로건설, 수리사업, 토목사업 및 광산 등 산업용과 군용으로 광범위하게 사용되고 이들의 조성은 유기화약류인 NG, NC, RDX, TNT 및 tetryl 등과 무기화약류인  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{KClO}_3$ ,  $\text{KClO}_4$ , Al 및 S 등이 혼합물로 사용되고 있다. 화약류의 폭발은 법화학적 측면에서는 계획적으로 사용되는 범죠훈, 요인 압살용 및 특정 지역 폭과 등이 있고 취급부주의로 인한 안전사고 등으로 크게 분류할 수 있으며, 이들 화합물의 분석은 미폭발상태와 폭발 후 잔사 중에서 확인 및 정량을 행하는 것으로 사고현장에서 채취되는 파편, 의류 및 토양 등 기타 각종 시료를 대상으로 유기용매 및 탈이온수로 추출 정제한 후 용용점, 점색반응, TLC, GC, HPLC, GC/MS, IR 및 UV/Vis. 등을 사용 확인 및 정량하는 방법 등이 보고되어 있으나 IC는  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$  및  $\text{ClO}_3^-$  등의 분석을 용이하게 할 수 있는 장점이 있다.

#### ※ 택시폭발사건

91년 6월 ○○경찰서에서 의뢰된 사건으로 스티라 폴택시의 조수석 밑부분에서 원인미상 폭발로 운전사 및 승객 3명이 중상을 입은 사건과 관련된 시료로 건전지의 금속편, 탄소봉, 전선, 황색지류 및 택시폭발 잔사를 채취하여 IC에 의한 분석 결과  $\text{NO}_3^-$  함량(ppm)은 조수석 밑(섬유 2,500, 비닐판 9,500, 의자시트 930)과 대조품으로 운전석 밑(비닐판 230, 의자시트 25 이하)이었고, 또한  $\text{NH}_4^+$  함량(ppm)은 조수석 밑(섬유 130, 비닐판 720, 의자시트 280)과 대조품인 운전석(비닐판 및 의자시트 10 이하)로 폭발된 조수석 밑에서  $\text{NO}_3^-$  및  $\text{NH}_4^+$  가 다량 검출되었다.

#### ※ 사제 폭약사건

88년 5월 ○○경찰서에서 의뢰된 사건으로 ○○대사관에 사제폭발물을 투척한 사건과 관련 백색분말, 도화선 및 금속뇌관 등이 의뢰되어 시료를 일정량씩 채취하여 탈이온수 및 유기용매로 추출하여 IC, GC 및 습식법 등에 의한 실험결과 백색분말에서 질산암모늄 82% 및 흑색분말에서  $\text{KNO}_3$  48%를 검출하였다.

#### ※ 완구용 화약사건

88년 ○○경찰서에서 의뢰된 사건으로 완구용 화약을 구입한 어린이의 호주머니에서 폭발, 화상을 입은 사례로 완구용 화약 4종이 의뢰되어 IC에 의한 시험결과 단발폭죽에서  $\text{KClO}_3$  66.5%, 8원발 안전화약에서

$\text{KClO}_3$  83.5%, 분수불꽃에서  $\text{NH}_4\text{ClO}_3$  43.1% 및 달여행 화약에서  $\text{KNO}_3$  40.2% 및  $\text{KClO}_3$  등이 검출되었다.

### 12. 결론

Ion chromatography는 음이온 및 1, 2가 양이온 분석에 많이 활용되며 광산류의 중독 여부 판단, 폭약류, 음료수, 환경폐기물 및 대사체 분석 등 여러 분야에 응용되나 새로운 전처리 및 분리방법의 개발이 계속 요구되고 있다.

### 13. 인용문헌

1. H. Small, T.S. Stevens and W.C. Baumann, *Anal. Chem.*, **47**, 1801(1975).
2. J. S. Fritz, D.T. Gjerde and R.M. Becker, *Anal. Chem.*, **52**, 1591(1980).
3. D. R. Jenke and G.K. Pqgenkopf, *Anal. Chem.*, **55**, 1168(1983).
4. M. Tswett, *Trav. Soc. Nat. Var.*, **14**, 1903(1903).
5. M. Tswett, *Ber. Deut. Botan. Ges.*, **24**, 385(1906).
6. Exodus, 15, 24 and 25.
7. W. Rienon and H.F. Walton, "Ion Exchange in Analytical Chemistry", Pergamon press, (1970).
8. Karen K. Haak, William E. Rich and Edward Johnson, *Clin. Liqu. Chromatogr.*, Vol. II, 155, (1984).
9. R. M. Wheaton and W.C. Bauman, *Ind. Eng. Chem.*, **45**, 228(1953).
10. Raphaella Widiastuti and Paul R. Haddad, *J. Chromatogr.*, **602**, 43(1992).
11. Da Shi Lu, Wen Yu Feng, Da Hui Ling and Wang Zhog Hua, *J. Chromatogr.*, **623**, 55(1992).
12. D. P. Wittmer, N.O. Nuessle and W.G. Haney jr., *Anal. Chem.*, **47**, 1422(1975).
13. S. P. Sood, L. E. Sartori, D. P. Wittmer and W.G. Haney, *Anal. Chem.*, **48**, 796(1976).
14. "Paired Ion Chromatography, an Alternative to Ion Exchange". *Waters Associates, Milford, Mass.*, (1975).
15. J. H. Knox and G.R. Laird, *J. Chromatogr.*, **122**, 17(1976).
16. J. H. Knox and J. Jurand, *J. Chromatogr.*, **125**, 89(1976).
17. John D. Pfaff, Carol A. Brocjhoff and Hames W. O'Dell, *United States Environmental Protection Agency*,

- Aug., 23(1991).
18. L. W. Green and J. R. Woods, *Anal. Chem.*, **53**, 2187(1981).
  19. Daniel P. Hautman, *J. Chromatogr.*, **602**, 65(1992).
  20. 박성우, 김은호, 김영운, 유재훈, 민지숙, 손성건, 분석과학, Vol. **4**(2), 134(1991).
  21. William Rich, Edward Johnson and Barian Stafford, *Clin. Chem.*, **26**, 1492(1980).
  22. Peter de Jong and Marjolijn Burggtoaf, *Clinica Chimica Acta*, **132**, 63(1983).
  23. 박성우, 최영남, 김영운, 김은호, 유재훈, 국과수연보, Vol. **19**, 251(1987).
  24. 박성우, 김을환, 한국환경위생학회 Vol. **17**(1), 89(1991).
  25. 박성우, 김은호, 유재훈, 김을환, 한국환경위생학회 Vol. **16**(2), 113(1990).
  26. Lisa A. Kaine and Karen A. Wolnik, *J. Chromatogr.*, **602**, 141(1992).
  27. C. Horvath, "Pellicular ion exchangers. Bonded stationary phases in chromatography", Edited by E. Grushka, Ann Arbor Science(1974).
  28. R. S. Nordhaus and J. M. Anderson, jr. *J. Chromatogr.*, **602**, 15(1992).
  29. John Morris and James S. Fritz, *J. Chromatogr.*, **602**, 111(1992).
  30. R. Widiastuti and P. R. Haddad, *J. Chromatogr.*, **602**, 43(1992).
  31. B. A. Bidlingmeyer, S. N. Deming, W. P. Price jr., B. Sachok and M. Petrusek, *J. Chromatogr.*, **186**, 419(1979).
  32. B. A. Bidlingmeyer, *J. Chrom. Science*, **18**, 525(1980).
  33. S. A. Bouyoucos, *J. Chromatogr.*, **242**, 170(1982).
  34. S. Laksana and P. R. Haddad, *J. Chromatogr.*, **602**, 57(1992).
  35. 新谷英晴 等, *Bunseki Kagaku*, Vol. **33**, 347(1984).
  36. C. Anderson, *Clin. Chem.*, **22**, 1424(1976).
  37. 박성우, 최영남, 김영운, 김은호, 국과수연보 Vol. **18**(1), 246(1986)
  38. Setsunori Takahash et al., *Jap. J. Legal Med.*, **33**(4), 352(1979).
  39. Shohei Kira, *British J. Industrial Medicine*, **34**, 305(1977).
  40. L. D. Pagnotto et al., *American Industrial Hygtene Association J.*, **28**, 129(1967).
  41. Kiyoshi Kuboto et al., *J. Chromatogr.*, **425**, 67(1988).
  42. 박성우, 김은호, 유재훈, 민지숙, 김동욱, 국과수연보 Vol. **19**, 256(1987).
  43. 박성우, 최영남, 김영운, 김은호, 유재훈, 국과수연보 Vol. **19**, 251(1987).
  44. Correspondence, *Anal. Chem.*, **53**, 1302(1981).
  45. J. Zamecnik and J. Tam, *J. Anal. Toxicol.*, Vol. **11**, 47(1987).
  46. F. Ishizawa and S. Misawa, *Jpn. J. Legal. Med.*, **41**(2), 88(1987).
  47. Levin B.C., Rehani P. R. et al., *J. Forensic Sciences*, Vol. **35**(1), Jan., 151(1990).
  48. 박성우, 김영운, 한백희, 국과수연보, Vol. **16**, 157(1984).
  49. Kage S., Nagata T., Kimura K. and Kudo K., *J. Foresic Sciences*, Vol. **33**(1), Jan., 217(1988).
  50. Nagata T., Kago S., Kimura K., Kudo K. and Nada M., *J. Foresic Sciences*, Vol. **35**(3), May, 706(1990).
  51. 주충노, 최상돈, 한국생화학회, Vol. **25**(5), 397(1992).
  52. Kelly A. Hatgadon, *J. Chromatogr.*, **602**, 241(1992).
  53. I. K. Henderson and R. S. Nordhaus, *J. Chromatogr.*, **602**, 149(1992).
  54. 박성우, 이정필, 홍성욱, 분석과학, Vol. **5**(2), 83A(1992).
  55. 박성우, 이정필, 손성건, 최영남, 김은호, 민지숙, 국과수연보, Vol. **19**, 273(1987).
  56. 박성우, 이정필, 손성건, 김은호, 정영호, 유재훈, 국과수연보, Vol. **20**, 191(1988).