

## Capillary Zone Electrophoresis를 이용한 음이온 동시분석에 관한 연구

박성우 · 진광호 · 유재훈 · 김동환 · 서배석\* · 김영상\*\*

국립과학수사연구소 법과학부

\*가톨릭대학교 의과대학 화학과

\*\*고려대학교 화학과

(1996. 11. 2 접수)

### Analysis of Inorganic Acids by Capillary Zone Electrophoresis

Sung-Woo Park, Kwang-Ho Jin, Jae-Hoon You, Dong-Hwan Kim,  
Baeseuk Seo\* and Young-Sang Kim\*\*

*Department of Forensic Science, The National Institute of Scientific Investigation, Seoul 158-097*

*\*Department of Chemistry, Catholic University Medical College*

*\*\*Department of Chemistry, Korea University, Jochiwon 339-700, Korea*

(Received November 2, 1996)

**요 약 :** Bromide, chloride, fluoride, nitrite, nitrate, sulfite, sulfate, perchlorate, chlorate 및 chlorite가 포함된 시료를 capillary zone electrophoresis(CZE)와 indirect UV detection 방법으로 분리하였다. 음이온류의 분리는 running buffer로 5 mM ammonium dichromate, 10 mM ammonium acetate, 20 mM diethylenetriamine, 10% methanol(pH 9.3)을 사용하였으며 전압은 cathode에 15 kV를 공급하였다. 또한 최초로 CZE에서 음이온의 정량이 가능하도록 각 이온들에 대한 regression과 detection limit를 결정하였고, 이 분석방법은 톨루엔을 흡입한 사람의 뇨, 부검 혈액, 폐수 및 폭약 등 시료에 적용하였으며, 음이온의 함량을 ion chromatograph(IC)와 비교 검토하였다.

**Abstract :** The determination of inorganic anions by capillary zone electrophoresis is reported. A ten component synthetic mixture of anions of bromide, chloride, fluoride, nitrite, nitrate, sulfite, sulfate, perchlorate, chlorate and chlorite was separated by the capillary column and detected by indirect UV method. The running buffer contained 5 mM ammonium dichromate, 10 mM ammonium acetate, 20 mM diethylenetriamine, 10% methanol solution at pH 9.3. A potential of 15 kV at the cathode (reversed polarity) was utilized for the separation of inorganic anions. A complete separation of anions was achieved in less than 10 min and the applicabilities of the method for the analysis of real samples was demonstrated. We compare the concentration of anions in toluene inhaled human's urine and in postmortem bloods obtained by capillary zone electrophoresis and ion chromatograph.

**Key words :** Inorganic anions, capillary zone electrophoresis, indirect UV detection

#### 1. 서 론

음이온류는 피부접촉 및 음용시 강렬한 부식성을 나타내며, 소량 섭취시 독성이 매우 강하므로 자타살, 상해, 오용 및 가공식품에 투입, 협박하는 등 여러가지

형태로 법화학적 문제를 발생시키고 있다. 음이온류의 분석법으로는 습식법, 비색법, high performance liquid chromatography법,<sup>1</sup> ion chromatography법,<sup>2-5</sup> 등이 사용되고 있다. 저자들은 현재 많은 이온들이 함유된 시료에서 음이온들을 분석 및 정량에는 일반적인

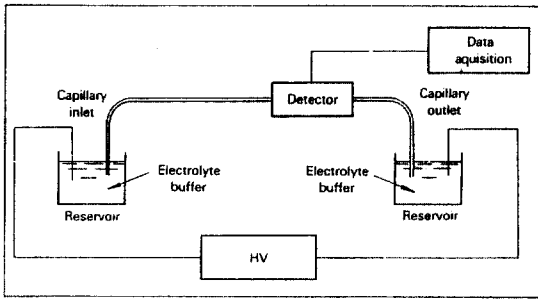


Fig. 1. Capillary electrophoresis instrumental system.

로 IC를 이용하고 있으나, nitrate, perchlorate, chlorate의 동시분석시 분리능이 좋지 않고 retention time이 비슷하여 각 이온들을 확인하는데 어려움이 있으며, 미량 시료의 분석시 제한을 가진다(injection 양; 50  $\mu$ L). 그러므로 이런 한계점을 극복하고 capillary electrophoresis(CE)를 법화학적인 측면에 활용하기 위하여 CE를 이용 음이온류의 분석조건을 확립하고자 하였다.

CE는 1979년 Mikkers 등이 모세관 teflon tube를 이용하여 처음 개발하였으며, 1980년대 후반에 상품화되어 많은 연구가 진행되고 있고, 높은 분리능과 빠른 분리속도(1~30 min), 최소량의 시료(pg, nL), 소량의 시약 소모, 모세관 및 검출기의 종류에 따라 광범위한 분야에 적용할 수 있는 장점을 갖으며, CE의 기본적인 모식도를 Fig. 1에 나타내었다.

CE는 capillary column의 종류 및 길이, 사용하는 running buffer의 변화, 검출기의 종류에 따라 organic acids,<sup>6</sup> carbohydrates,<sup>7</sup> catecholamines,<sup>8</sup> peptides,<sup>9</sup> proteins,<sup>10</sup> oligonucleotides,<sup>11</sup> DNA<sup>12</sup> 등 거대 분자 뿐만 아니라 양이온 및 음이온<sup>13,14</sup> 분리등 광범위한 분야에서 활용되고 있다.

CE에 의한 분석방법은 일반적으로 사용되는 4가지 방법인 fused silica capillary를 사용하는 capillary zone electrophoresis(CZE),<sup>15,16</sup> 계면활성제를 이용하는 micellar electrokinetic capillary electrophoresis(MECE),<sup>17,18</sup> 등전점(pI)을 이용 주로 단백질들의 분석에 사용되는 isoelectric focusing,<sup>19</sup> 그리고 모세관 내부를 특정물질로 충전시켜 사용하는 capillary gel electrophoresis<sup>20,21</sup> 등이 있으며, 현재에는 capillary 내벽의 functional group을 변형시켜 분석에 이용하는 방법도 개발되고 있다.

음이온 분리에 Takashi Kaneta 등<sup>22</sup>은 cationic

surfactant인 cetyltrimethylammonium chloride (CTAC)를 이용 MECE 방법으로 bromide, nitrate, bromate, iodide, iodate를 분리하였고, Yinta Ma와 Rulin Zhang<sup>23</sup>은 bromide, chloride, nitrate, sulfate를 분리하였다. 또한 Victoria Gonzalez 등<sup>24</sup>은 CTAC와 dithiobis(2-nitrobenzoic acid)를 이용 cyanide, sulfide, sulfite를 분리하였으며, Thomas G. Huggins와 Jack D. Henion<sup>25</sup>은 질량분석기를 검출기로 사용하는 CE를 이용하여 bromide, chloride, nitrite, nitrate, thiosulfate, azide, thiocyanide, sulfate, selenate, oxalate, molybdate를 분리하였다. 그리고 Kelly A. Hargodan과 Bruce A. Hargadon<sup>26</sup>은 CE와 IC를 이용 폭발물 잔사에서 음이온을 분리하여 비교하였다.

본 연구에서는 Thomas G. Huggins와 Jack D. Henion<sup>25</sup>의 방법을 개선하여 running buffer로 5 mM ammonium dichromate, 10 mM ammonium acetate, 0.02 M diethylentriamine(CETA), 10% methanol 수용액(pH 9.3)을 이용하여 CZE와 indirect UV detection 방법으로 음이온을 분석하였다. CZE에서 음이온들을 분석하기 위한 최적의 분석조건을 확립하기 위하여 DETA의 농도별(0.01~0.1 M), capillary column에 걸어주는 전압량의 변화(10~25 kV), 사용하는 running buffer의 pH 변화(pH 7.8~11.3)에 따라 음이온을 분석하여 분석조건을 확립하였다. 이 실험을 바탕으로 각 이온들에 대한 regression과 detection limit을 측정함으로써 생체시료에서 음이온의 정량이 가능하도록 하였으며, 그 동안 IC에서 유기물과 동시에 분리되는 fluoride의 분석이 가능하고 분리가 어려웠던 perchlorate와 sulfite를 분리하였다. 또한 이 분석방법을 이용하여 물, 뇨, 혈액, 폭발물 치약 등에서 분석한 결과를 IC와 비교 검토함으로써 음이온류의 분석에서 data의 신뢰성을 높일 수 있을 것으로 사료된다.

## 2. 실험

### 2.1. 기기 및 기구

#### 2.1.1. Capillary electrophoresis

Model 270A-HT(high throughput capillary electrophoresis system, applied biosystem, U.S.A.)과 Model 270A-HT software를 사용하였으며, 자세한

Table 1. The conditions of capillary zone electrophoresis

Analysis mode	Capillary zone electrophoresis (CZE)
Column	Untreated fused silica capillary tube (ID 50 $\mu\text{m}$ $\times$ 72 cm)
Running buffer	5 mM ammonium dichromate, 10 mM ammonium acetate, 0.02 M diethylenetriamine, 10% MeOH (pH 9.3)
Voltage	Negative 12~18 kV
Injection	Vacuum 5 mmHg for 2.5 sec
Detection	Indirect UV detection (254 nm)
Chamber temperature	30°C
Injection vol.	10 nL

Table 2. The conditions of ion chromatography

Detector	Conductivity
Column	HPIC-AS <sub>4</sub>
Eluent	2.8 mM NaHCO <sub>3</sub> /2.2 mM Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
Flow rate	1.0 mL/min
Suppressor	AMMS
Regenerant	12.5 mM H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Injection vol.	50 $\mu\text{L}$

실험조건은 Table 1에 나타내었고, 검출기는 model 9176 recorder(Varian)를 이용하였다.

### 2.1.2. Ion chromatograph

High performance chromatographic system (Dionex 2000i Ion Chromatograph) 및 conductivity detector를 사용하였으며, 자세한 실험조건은 Table 2에 나타내었고, 검출기는 C-R3A chromatopac(Shimadzu)을 사용하였다.

### 2.2. 시약

Ammonium dichromate, ammonium acetate, DETA는 sigma Co.제를 사용하였고, 그의 사용한 시약은 Sigma제 또는 타사의 특급시약을 사용하였다. 표준액으로 sodium bromide, sodium chloride, sodium nitrite, sodium nitrate, sodium chlorate, sodium perchlorate, sodium sulfate, sodium sulfite, sodium fluoride 및 sodium chlorite는 특급시약을 사용하여 탈이온수를 녹여 음이온의 농도가 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  용액으로 만들어 저장하였다가 사용할 때 희석하여 사용하였다.

### 2.3. 시료 전처리

시료의 준비는 물 및 뇨는 0.22  $\mu\text{m}$  filter(Millipore)

로 여과한 후 탈이온수로 적정량 희석하여 사용하였으며, 다이아마이트는 탈이온수로 녹인 후 0.22  $\mu\text{m}$  filter로 여과한 후 적정량 희석하여 사용하였다. 또한 혈액은 탈이온수로 10배 희석한 후 dialysis membrane filter(Gottingen collodion bag, Satorius)로 여과하여 적정량 희석하여 사용하였다.

### 2.4. 분리 및 검출

Column은 untreated fused-silica capillary(길이 72 cm, 직경 50  $\mu\text{m}$ )를 사용하였으며, UV detector까지의 순수 길이는 62 cm였다. 시료 이동 및 분리는 전압을 cathode에 12~18 kV를 걸어주었으며, buffer로 5 mM ammonium dichromate, 10 mM ammonium acetate, 0.02~0.04 M DETA, 10% methanol(pH 9.3)을 사용하여 CZE와 indirect UV detection으로 측정하였다. 음이온 분리에서 UV-absorbing species로 사용한 chromate는 254 nm에서 음이온들의 indirect UV 검출을 가능하게 해주며, DETA는 electroosmotic flow를 낮추어 주므로 음이온들의 분리능을 향상시켜 준다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 음이온 분석

#### 3.1.1. 음이온 분리

CE를 이용 indirect UV detection 방법으로 음이온을 분리한 electropherogram을 Fig. 2에 나타내었다. 분리는 Table 1의 조건을 사용하였으며, 시료로 음이온 10종(bromide, chloride, nitrite, nitrate, perchlorate, chlorate, sulfite, sulfate, fluoride, chlorite)으로 농도는 chloride, nitrite, fluoride, sulfite, sulfate, 10 ppm, chlorite 20 ppm, bromide, nitrate, perchlorate, chlorate 30 ppm이었다. 시료 주입은 capillary column에 2.5초 동안 압력으로, 시료주입량은 10 nL였으며, 분리는 cathode에 15 kV의 전압을 공급하여 수행하였다. Fig. 2는 10종의 음이온을 분리한 electropherogram을 나타낸 것으로 일곱번째 peak는 sulfite와 sulfate가 동시에 검출되는 것으로 확인되었으며, 또한 IC로 Table 2의 조건에서 Table 4에서 나타낸 것과 같이 perchlorate, chlorate, sulfite, chlorite는 분리가 되지 않으나 CE에서는 많은 이온들과 동시에 분리할 수 있으며 분리능도 좋다는

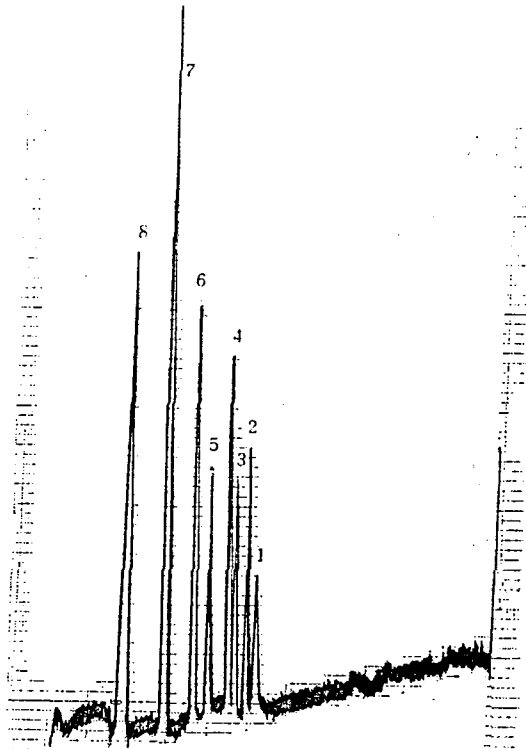


Fig. 2. Separation of inorganic anions by CE with indirect UV detection. Sample was applied to the CE column by pressure injection (2.5 s). Separation condition: buffer, experimental section; applied voltage, -15 kV; temperature, 30°C. The actual amount of each anion injected on column was 0.1~0.4 ng. 1, bromide (0.2 ng); 2, chloride (0.2 ng); 3, nitrite (0.2 ng); 4, nitrate (0.3 ng); 5, perchlorate (0.4 ng); 6, chlorate (0.4 ng); 7, sulfate (0.2 ng), sulfite(0.2 ng); 8, fluoride(0.1 ng).

것을 나타내 준다.

### 3.1.2. pH의 영향

pH 7.8~11.3의 변화에 따라 검출되는 음이온의 이동 시간을 측정하여 Fig. 3A 및 3B에 나타난 것과 같이 pH 9.3까지는 bromide, chloride, nitrite, nitrate, perchlorate, chlorate, sulfite+sulfate, fluoride, 모두 분리가 되었으나 pH 10.3부터는 bromide와 chloride는 동시에 검출되었다. pH 7.8~8.8까지는 검출되는 음이온은 낮은 pH로 갈수록 감도가 점점 더 낮아지는 경향을 보여주었다(data not shown). 그러므로 음이온들의 분리에는 pH 9.3~9.8이 적당한 것으로 사료된다.

### 3.1.3. DETA 농도의 영향

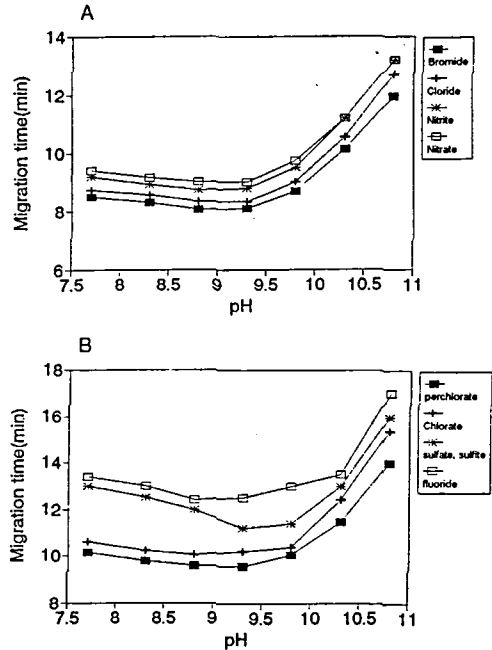


Fig. 3. Effects of pH on migration time of inorganic anions.

DETA 농도변화(0.01~0.1 M)에 따라 검출되는 음이온의 이동 시간을 측정하여 Fig. 4A 및 4B에 나타난 것과 같이 음이온 모두 이동 시간만 바뀌고 모두 분리되어 검출되었으며, DETA의 농도가 0.02 M일 때 가장 빠른 이동 시간을 나타내었고, 0.02 M 이상은 계속적으로 이동 시간이 늘어나는 것을 보여주었다. 그러므로 DETA의 적정 농도는 0.02~0.04 M로 사료된다.

### 3.1.4. Current의 영향

Cathode에 걸어주는 전압의 변화(10~25 kV)에 따라 검출되는 음이온의 이동 시간을 Fig. 5A 및 5B에 나타내었다. 모든 이온들이 전압이 높을수록 빠르게 검출되었으나, 전압을 20 kV 이상 걸어주면 electropherogram에서 이온들의 이동 시간이 빨라져 분리가 되지 않으며, 전압이 너무 낮으면 검출시간이 늦고 peak가 확산되는 경향을 보여주었다(data not shown). 그러므로 적당한 전압은 10~18 kV이었다.

### 3.1.5. 표준 검량선 및 검출한계

각각의 음이온 5~60 ppm을 이온에 따라 5~20 ppm 간격으로 분석하여 peak height로 검량선을 정하였고, 검출한계 측정은 시료 주입량을 조절하면서 bass line noise의 3배 peak을 검출한계로 정하였다.

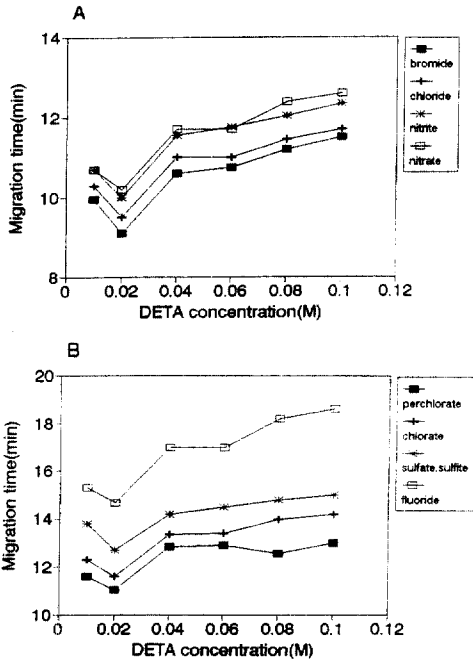


Fig. 4. Effect of DETA concentration on migration time of inorganic anions.

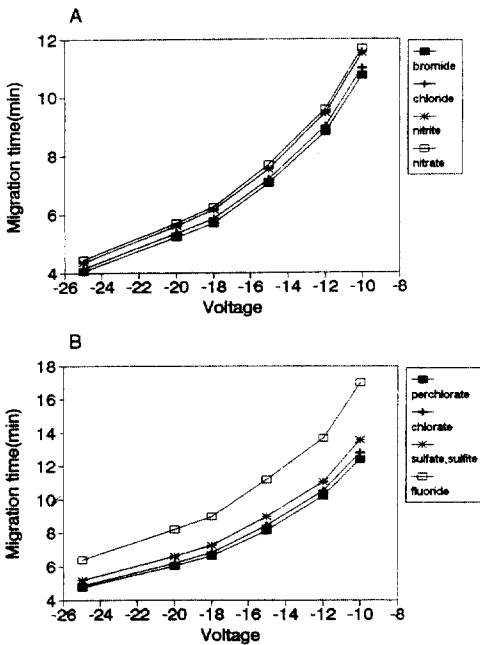


Fig. 5. Effect of voltage on migration time of inorganic anions.

음이온들의 표준 검량선은 Table 3에 나타내었고, linear square법에 의한 r값은 0.999 이상으로 양호하

였다. 검출한계 및 migration time은 Table 4에 나타내었으며, 검출한계는 0.25~1.00 ppm으로 IC에서 0.005~0.050 ppm과 비교하여 좋지 않았으나, 많은 이온들을 분리할 수 있다.

3.2. 생체시료 분석

3.2.1. 혈액

3.2.1.1. 회수율

각 이온종의 회수율 측정은 혈액 1g에 음이온 표준 용액(1000 µg/g)을 bromide, chloride, sulfate, fluoride는 1 mL씩, nitrite, nitrate, perchlorate, chlorate, chlorite는 2 mL씩 첨가하여 100 mL 용량 플라스크에 넣은 다음 탈이온수로 표선까지 채운 후 dialysis membrane filter로 여과한 여액을 CZE로 음이온들을 분리하여 회수율을 측정하였다(각 5회). 그 결과를 Table 5에 나타내었으며, 회수율은 nitrate가

Table 3. The regression analysis of standard anions

Anions	Regression analysis (range 5-60 ppm)	
	r squared	Regression equation
Bromide	0.999	y=0.160x - 0.43
Chloride	0.999	y=0.212x+0.07
Nitrite	0.999	y=0.222x+0.07
Nitrate	1.000	y=0.210x+0.00
Perchlorate	0.999	y=0.162x+0.04
Chlorate	0.999	y=0.099x+0.13
Sulfite	0.999	y=0.712x+0.01
Sulfate	0.999	y=0.713x+0.02
Fluoride	0.999	y=0.388x+0.08
Chlorite	0.999	y=0.202x - 0.08

Table 4. The detection limits and migration time (IC: retention time) of standard anions

Anions	Detection limits (ppm)		Migration time (min)	
	CE	IC	CE	IC
Bromide	1.0	0.05	6.0	10.36
Chloride	1.0	0.005	6.2	4.19
Nitrite	0.5	0.01	6.5	5.11
Nitrate	1.0	0.05	6.6	12.03
Perchlorate	1.0	ND	7.0	ND
Chlorate	1.0	0.05	7.4	12.03
Sulfite	0.5	ND	8.0	ND
Sulfate	0.5	0.05	8.0	17.27
Fluoride	0.25	0.001	9.0	2.29
Chlorite	1.0	ND	9.5	ND

ND: not detected.

Table 5. Recovery of anions in postmortem human bloods by CE

	Blood ( $\mu\text{g/g}$ )	Added ( $\mu\text{g/g}$ )	Found ( $\mu\text{g/g}$ )	Yield (%) (mean $\pm$ S.D)
Bromide	<1.0	10	9.7	96.5 $\pm$ 3.4
Chloride	25.3	10	35.4	101.0 $\pm$ 2.4
Nitrite	<0.5	20	20.4	101.8 $\pm$ 5.3
Nitrate	<1.0	20	17.3	87.8 $\pm$ 8.5
Perchlorate	<1.0	20	21.1	104.0 $\pm$ 2.2
Chlorate	<1.0	20	19.1	95.5 $\pm$ 5.2
Sulfate	<0.5	10	10.4	100.8 $\pm$ 2.7
Fluoride	<0.25	10	9.7	96.5 $\pm$ 3.4
Chlorite	<1.0	20	19.8	99.4 $\pm$ 1.5

n=5, S.D=standard deviation, Dilution factor: 100.

87.8  $\pm$  8.5로 좋지 않고 그 이외는 96.5  $\pm$  3.4~104.0  $\pm$  2.2로 모두 양호하였다.

### 3.2.1.2. 혈액 중 chloride 정량

인체 중 염소이온은 산업기의 평형을 조절하는 중요한 전해질로 작용하지만 염산의 독성을 이용한 자·타살 등의 목적으로 사용될 수 있어 법과학적으로 문제가 되고 있다. 저자들은 지난번 보고에서 염소이온의 음독 혈액과 정상 혈액에 대하여 자세히 보고<sup>5</sup>하였기에 여기서는 간단히 CE와 IC에 의한 염소이온의 정량치만을 비교하였다. 시료는 교통사고 사망자의 혈액을 회석 후 여과하여 실험에 사용하였으며, Table 6에 나타난 것과 같이 CE와 IC에서 chloride의 정량치가 잘 일치함을 알 수 있다.

### 3.2.2. 뇨

Table 6. Comparisons of chloride ion concentration in postmortem bloods by CE

	Chloride (%)			Chloride (%)	
	CE	IC		CE	IC
1	0.24	0.22	11	0.25	0.19
2	0.28	0.26	12	0.27	0.25
3	0.22	0.23	13	0.41	0.45
4	0.25	0.21	14	0.33	0.31
5	0.31	0.27	15	0.25	0.22
6	0.31	0.28	16	0.20	0.21
7	0.27	0.24	17	0.33	0.32
8	0.24	0.21	18	0.32	0.33
9	0.30	0.31	19	0.36	0.34
10	0.27	0.27	20	0.29	0.30
Range	0.20~0.41	0.19~0.45			
Ave.	0.28	0.27			

### 3.2.2.1. 회수율

각 이온종의 회수율 측정은 뇨 1g에 음이온 표준용액(1000  $\mu\text{g/g}$ )을 chloride, sulfate, fluoride는 1 mL씩, bromide, nitrite, nitrate는 2 mL씩, perchlorate, chlorate, chlorite는 3 mL씩 첨가하여 100 mL 용량 후라스크에 넣은 다음 탈이온수로 표선까지 채운 후 dialysis membrane filter로 여과한 여액을 CZE로 음이온들을 분리하여 회수율을 측정하였다(각 5회). 그 결과를 Table 7에 나타내었으며, 회수율은 chloride가 85.2  $\pm$  1.7, sulfate가 85.6  $\pm$  2.4로 좋지 않고 그 이외는 100.4  $\pm$  1.0~105.9  $\pm$  0.8로 모두 양호하였다.

### 3.2.2.2. 음이온 분석

청소년들이 환각을 목적으로 사용되는 본드류, 신나류, 벤졸(상품명) 등은 톨루엔이 주성분으로 이루어져 있으며, 톨루엔 흡입은 사회적인 문제로 대두되고 있는 실정이다. 톨루엔 흡입 후 약 80% 정도는 benzoic acid로 산화된 후 glycine과 conjugation에 의해 뇨를 통해 배설된다.<sup>27</sup> 그러므로 저자들은 톨루엔 흡입 후 대사되어 배출되는 뇨에서 각 성분들의 변화량을 알아보기 위한 실험의 한 부분으로 톨루엔 흡입에 대한 증거물로 의뢰된 뇨에서 음이온을 분석하였고 그 electropherogram을 Fig. 6에 나타난 것과 같이 chloride, nitrate, sulfate, fluoride, uric acid가 검출되었으며, 이 음이온 중 chloride와 sulfate를 CE와 IC로 분석한 정량치를 Table 8에 나타내었으며, 정량치를 비교했을 때 chloride 및 sulfate가 잘 일치한다. 톨루엔을 흡입한 뇨에서 chloride의 함량은 0.20~0.96%(평균 0.60%, 17명)이었으며, sulfate의 함량은 0.04~0.27%(평균 0.14%, 17명)이었고 정상인(○○

Table 7. Recovery of anions in human urines by CE

	Urine ( $\mu\text{g/g}$ )	Added ( $\mu\text{g/g}$ )	Found ( $\mu\text{g/g}$ )	Yield (%) (mean $\pm$ S.D)
Bromide	<1.0	20	20.5	102.7 $\pm$ 0.3
Chloride	38.2	10	46.7	85.2 $\pm$ 1.7
Nitrite	<0.5	20	20.2	101.2 $\pm$ 1.4
Nitrate	1.4	20	21.5	100.4 $\pm$ 1.0
Perchlorate	<1.0	30	31.0	103.4 $\pm$ 2.5
Chlorate	<1.0	30	31.8	105.9 $\pm$ 0.8
Sulfate	14.6	10	23.2	85.6 $\pm$ 2.4
Fluoride	<0.25	10	10.3	102.5 $\pm$ 1.1
Chlorite	<1.0	30	30.9	103.0 $\pm$ 0.9

n=5, S.D=standard deviation, Dilution factor: 100.

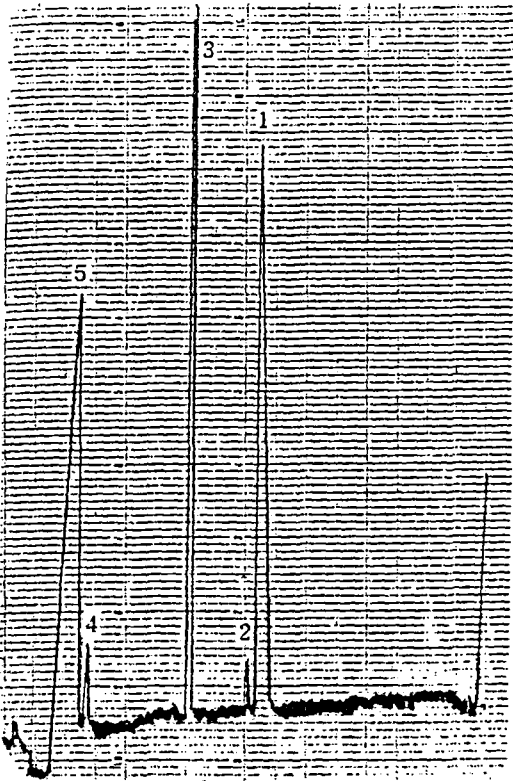


Fig. 6. Electropherogram of inorganic anions in toluene inhaled human urine by CE with indirect UV detection. Sample was applied to the CE column by pressure injection (2.5 s). Separation condition: buffer, experimental section; applied voltage, -12 kV; temperature, 30°C. 1, chloride; 2, nitrate; 3, sulfate; 4, fluoride; 5, uric acid.

고등학교 학생)의 뇨에서 chloride의 함량은 0.39~1.28%(평균 0.89%, 25명)이었으며, sulfate의 함량은 0.04~0.28%(평균 0.15, 25명)이었다. Chloride의 함량이 정상적인 뇨가 톨루엔을 흡입한 뇨보다 일반적으로 높았으나 식생활에 따라 편차가 클 수 있으므로 그 변화에 대하여는 논단할 수 없으며, sulfate의 함량은 차이가 없었다. 그러므로 변화의 관계에 대하여는 논의하지 못하고 앞으로 지속적인 실험을 통하여 그 관계를 밝히고자 한다.

3.3. 폐수에서 음이온 분석

저자들은 지난번 보고<sup>28</sup>에서 환경물질 분석에 관한 전반적인 보고를 하였으므로 수질오염에 관련된 실험 및 결과에 대하여는 보고하지 않고, 그 중 수질오염과

Table 8. Comparisons of chloride and sulfate ion concentration in toluene inhalation human urines by CE and IC

	Chloride (%)		Sulfate (%)	
	CE	IC	CE	IC
1	0.21	0.20	0.05	0.04
2	0.22	0.22	0.04	0.04
3	0.27	0.27	0.09	0.08
4	0.33	0.33	0.14	0.14
5	0.39	0.37	0.26	0.26
6	0.43	0.45	0.14	0.14
7	0.57	0.61	0.06	0.05
8	0.60	0.60	0.23	0.23
9	0.63	0.62	0.12	0.12
10	0.66	0.67	0.18	0.18
Range	0.21~0.66	0.20~0.67	0.04~0.26	0.04~0.26
Ave.	0.43	0.43	0.13	0.13

관련하여 폐수가 방류된 증거물에서 음이온을 분석한 electropherogram을 Fig. 7에 나타내었으며, chloride, sulfate, uric acid를 검출하였다. 그러므로 이 폐수는 분료가 섞인 것을 확인할 수 있었다.

3.4. 다이아마이트 중 chloride 및 nitrate의 분석

협박사건과 관련하여 의뢰된 폭약을 고성능 다이아마이트와 비교한 electropherogram을 Fig. 8A와 8B

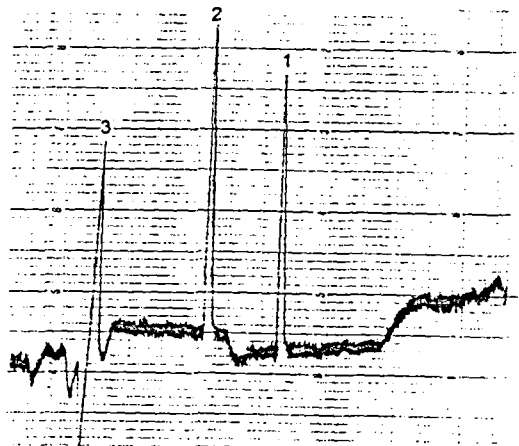


Fig. 7. Electropherograms of inorganic anions in wastewater by CE with indirect UV detection. Sample was applied to the CE column by pressure injection (2.5 s). Separation condition: buffer, experimental section; applied voltage, -15 kV; temperature, 30°C. 1, chloride; 2, sulfate; 3, uric acid.

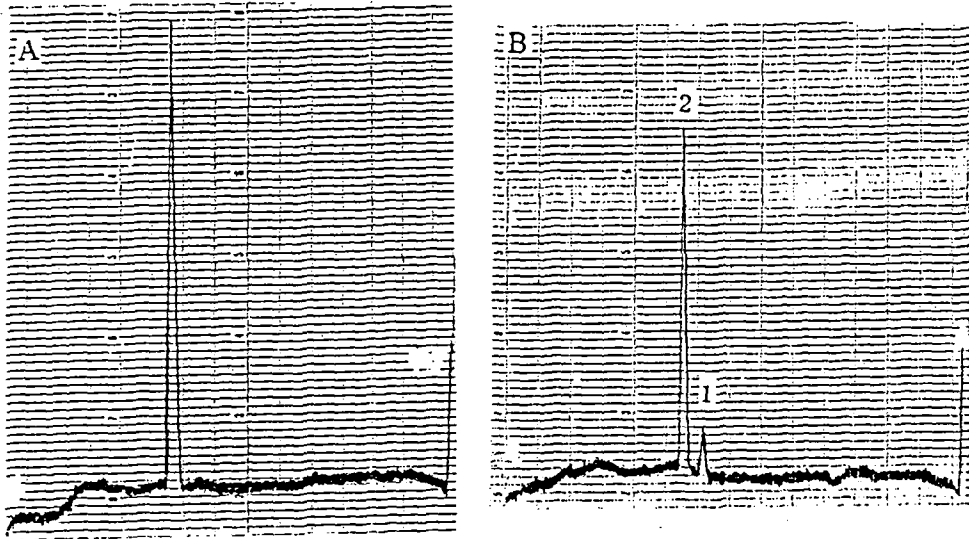


Fig. 8. Electropherograms of inorganic anions in dynamite by CE with indirect UV detection. Sample was applied to the CE column by pressure injection (2.5 s). Separation condition: buffer, experimental section; applied voltage, 12 kV; temperature, 30°C. A: RWS 80%, nitrate; B: RWS 70%, 1, chloride; 2, nitrate. \*RWS: Relative Weight Strength.

에 비교하였다. Fig. 8A는 고성능 다이아미트로 질산이온이 검출되고 염소이온은 검출되지 않았으나, Fig. 8B는 일반적으로 사용하는 다이아미트로 질산이온 및 염소이온이 검출되었다. 의뢰된 폭약에 대한 electropherogram은 일반 다이아미트와 동일하므로 나타내지 않았고, 험박에 사용한 폭약이 다이아미트라는 결론을 내리는데 보조자료로 활용되었다.

#### 4. 결 론

1. 저자들은 capillary zone electrophoresis 및 indirect UV detection 방법으로 법과학적으로 적용할 수 있는 10종의 음이온, bromide, chloride, nitrite, nitrate, perchlorate, chlorate, sulfate, fluoride 및 chlorite를 분리하였고, 최적의 분리조건은 pH 9.3~9.8, current 12~18 kV, running buffer 중 DETA 농도가 0.02~0.04 M에서 음이온을 분리할 수 있었으며 CE에서 시료분석시 시료의 적정 pH(9~10)를 맞추어 주어야 한다.

2. CZE에서 혈액 및 뇨 등 실제시료에서 각 이온들의 회수율 및 detection limit를 측정함으로써 생체시료에서 음이온의 정량이 가능하도록 하였으며, 그동안 IC에서 동시분석이 어려웠던 nitrate, chlorate, chlorite의 분리와 유기물과 동시에 검출되는 fluoride

의 분석이 가능하게 되었으며, IC에서 검출이 어려웠던 perchlorate와 sulfite를 분리 검출할 수 있었다.

3. IC와 비교하여 detection limit는 100배 정도 나 빠지지만 시료량이 1000배(injection volume, CE: 5~20 nL, IC: 50 µL) 정도 작아도 분석이 용이하므로 미량의 시료에서 음이온을 검출할 수 있는 장점을 가지며, 의뢰되는 증거물에서 음이온 분석시 IC와 상호 보완으로 data의 신뢰성을 높일 수 있을 것으로 사료되며, 많은 분야에서 CE를 이용 음이온을 분석하여 법과학적 감정에 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

#### 참 고 문 헌

1. Louis G. Daignault and D. Paul Rillema, "Ion-interaction chromatography: a study of the distribution of n-alkylammonium ions on an ODS-2 column", *J. Chromatogr.*, **602**, 3 (1992).
2. H. Small, T. S. Stevens and W. C. Bauman, "Novel ion exchange method using conductrimetric detection", *Anal. Chem.* **47**, 1801 (1975).
3. C. Anderson, "Ion chromatography: a new technique for clinical chemistry", *Clin. Chem.*, **22**, 1424 (1976).
4. 박성우, 김은호, 유재훈, 손성진, 진광호, "Ion Chromatography의 법과학적 응용에 관하여", *분석화학*, **6**, No. 1, 3A (1993).
5. 박성우, 김영운, 유재훈, 김동환, 진광호, "Ion Chro-



- matography에 의한 혈액중 음이온 및 양이온의 분석에 관하여”, 국립과학수사연구소보, 26, 207 (1994).
6. Xiao-Hua Yang, Cindy Lee and Mary I. Scranton, "Determination of Nanomolar Concentrations of Individual dissolved Low Molecular Weight Amines and Organic Acids in Seawater", *Anal. Chem.*, **65**, 572 (1993).
  7. Luis A. Colon Rajeev and N. Richard, Zare., "Determination of Carbohydrates by Capillary Zone Electrophoresis with Amperometric Detection at a Copper Microelectrode", *Anal. Chem.*, **65**, 476 (1993).
  8. Ross A. Wallingford and Andrew G. Ewing, "Separation of Serotonin Catechols by Capillary Zone Electrophoresis with Electrochemical Detection", *Anal. Chem.*, **61**, 98 (1989).
  9. Lawrence N. Amankwa and Werner G. Kuhr, Trypsin-Modified Fused-Silica Capillary Microreactor for Peptide Mapping by Capillary Zone Electrophoresis, *Anal. Chem.*, **64**, 1610 (1992)
  10. John K. Towns, Impact of Polycation Adsorption on Efficiency and Electroosmotically Driven Transport in Capillary Electrophoresis, *Anal. Chem.*, **64**, 2473 (1992).
  11. Yoshinobu Baba, Toshiko Matsuura, Kyoko Wakamoto, Yoshiko Morita, Yumi Nishitsu, and Mitsutomo Tshuhako, "Preparation of Polyacrylamide Gel Filled Capillaries for Ultrahigh Resolution of Polynucleotides by Capillary Gel Electrophoresis", *Anal. Chem.*, **64**, 1221 (1992).
  12. Harold Swerdlow, Jian Zhong Zhang, Da Yong Chen, Heather R. Harke, Ronda Grey, Shaole Wu, and Norman Dovich, "Three DNA Sequencing Methods Using Capillary Gel Electrophoresis and Laser-Induced Fluorescence", *Anal. Chem.*, **63**, 2835 (1991).
  13. Frantisek Foret, Salvatore Fanali, Annalisa Nardi, Petr Bocek, "Capillary Zone Electrophoresis of rare earth metals with indirect UV absorbance detection", *Electrophoresis*, **11**, 780 (1990).
  14. Dean S. Burgi, "Large Volume Stacking of Anions in Capillary Electrophoresis Using an Electroosmotic Flow Modifier as a Pump", *Anal. Chem.*, **65**, 3626 (1993).
  15. S. C. Smith and M. G. Khaledi, "Optimization of pH for the Separation of Organic Acids Capillary Zone Electrophoresis", *Anal. Chem.*, **65**, 704 (1993).
  16. S. Fanali, M. Fliieger, N. Steinerova and A. Nardi, "Use of Cyclodextrins for the Enantioselective Separation of Ergot Alkaloids by Capillary Zone Electrophoresis", *Electrophoresis*, **13**, 35 (1992).
  17. M. M. Bushey and J. W. Jorgenson, "Separation of Dansylated Methylamine and Dansylated Methyl-d<sub>3</sub>-amine by Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography with Methanol Modified Mobile Phase", *Anal. Chem.*, **61**, 491 (1989).
  18. S. Fujiwara, S. Iwase and S. Honda, "Analysis of Water-Soluble Vitamins by Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography", *J. Chromatogr.*, **447**, 133 (1988).
  19. S. M. Chen, J. E. Wiktorowicz, "Isoelectric Focusing by Free Solution Capillary Electrophoresis", *Anal. Biochem.*, **206**, 84 (1992).
  20. R. M. McCormick, "Capillary Zone Electrophoretic Separation of Peptides and Proteins Using Low pH Buffers in Modified Silica Capillaries", *Anal. Chem.*, **60**, 2322 (1988).
  21. W. Schutzner and E. Kenndler, "Electrophoresis in Synthetic Organic Polymer Capillaries: Variation Electroosmotic Velocity and  $\zeta$  Potential with pH and Solvent Composition", *Anal. Chem.*, **64**, 1991 (1992).
  22. T. Kaneta, S. Tanaka, M. Taga and H. Yoshida, "Migration Behavior of Inorganic Anions In Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography Using a Cationic Surfactant", *Anal. Chem.*, **64**, 798 (1992).
  23. Yinfa Ma and Rulin Zhang, "Optimization of Indirect Photometric Detection of Anions in High-Performance Capillary Electrophoresis", *J. Chromatogr.*, **625**, 341 (1992).
  24. Victoria Gonzalez, Bernardo Moreno, Dolores Sicilia, Soledad Rubio and Dolores Perez-Bendito, "Micellar Catalysis in Kinetic Multicomponent Analysis: Simultaneous Determination of Binary Mixtures of Cyanide, Sulfide, and Sulfite Ions", *Anal. Chem.*, **65**, 1897 (1993).
  25. Thomas G. Huggins and Jack D. Henion, "Capillary Electrophoresis/mass Spectrometry Determination of Inorganic Ions Using an Ion Spray-Sheath Flow Interface", *Electrophoresis*, **14**, 531 (1993).
  26. K. A. Hargadon and B. R. McCord, "Explosive Residue Analysis by Capillary Electrophoresis and Ion Chromatography", *J. Chromatogr.*, **602**, 241 (1992).
  27. 박성우, 김남이, 최영남, 이광영, 양영근, "본드류 흡입자의 뇨 중에서 톨루엔과 대사체의 분석 및 분포에 관한 연구", 국립과학수사연구소연보, **27**, 282 (1995).
  28. 김동환, 문영호, 유재훈, 진광호, 박성우, "환경물질 분석에 대한 법과학적 고찰", 국립과학수사연구소연보, **27**, 261 (1995).