

분석 및 분리용 크로마토그래피에서 조업조건의 최적화를 위한 HCI 프로그램의 이용

이 주 원 · 이 민 우 · 노 경 호†
인하대학교 화학공학과, ¹전자재료공학과
(접수 : 1999. 3. 26., 게재승인 : 1999. 6. 11.)

Use of HCI Program for Optimization of Operating Conditions in Analytical and Preparative Chromatography

Ju Weon Lee, Min Woo Lee¹, and Kyung Ho Row†
Dept. of Chem. Eng., ¹Dept. of Electrical Materials and Devices, Inha University
(Received : 1999. 3. 26., Accepted : 1999. 6. 11.)

To separate mixtures analytically and preparatively by LC (Liquid Chromatography), the operating conditions of analytical chromatography should be determined. The HCI program was utilized to find the optimum operating condition accurately and rapidly, and to reduce the number of experiments. In an analytical chromatography, based on the resolution and analysis time, the experimental conditions of deoxyribonucleosides and phospholipids were fixed in terms of mobile phase composition and gradient mode. By HCI program, in a preparative chromatography the Langmuir adsorption isotherm of taxol was calculated, and the collection time was predicted for the mixture of 5'-IMP and 5'-GMP from the elution profile when yield and purity were known.

Key Words : Optimization, Operating Condition, Analytical Chromatography, Preparative Chromatography, HCI Program

서 론

분리기술은 혼합물을 신속하고 고순도로 정제하는 것이 중요하다. 다양한 분리기술 중에서 관심을 모으는 것이 크로마토그래피이다(1). 분석기기용으로 널리 이용되는 크로마토그래피가 상업적 규모로 응용되려는 시도는 오래 전부터 있어 왔으나 유전 및 생명공학에 의한 제품들에 대한 분리, 정제의 방법으로서 연구 및 산업화가 급속히 진행 중이다. 1950년대 후반 이후 기체 크로마토그래피 (GC)가 산업화되기 시작하였으며, 10년 후에는 액체 크로마토그래피 (LC)가 GC와 더불어 이용되었다. 초기에 scale up을 하기 위해서는 크로마토그래피 관 (column)의 직경, 높이의 크기를 증가시켰으며 이 당시에는 주로 관의 설계나 충전물 방법에 대한 연구를 하였지만 관의 크기가 크면 분리효율은 크게 감소하게 된다. 1960년대부터는 이동상과 고정상의 향류에 의한 연속식 분리를 하였으며 이러한 원리를 이용한 Universal Oil Products (UOP)공정이 개발되어 현재 상업적으로 이용되고 있다(2, 3). 최근에 크로마토그래피는 천연물, 세포 배양, 또는 합성 후에 고부가가치의 특정성분을 고순도로 분리하기 위해서 주로 이용된다. 새로운 의약품 개발 중에서 특히

천연 식물에 포함되어 있는 유용성분들을 이용하기 위한 연구가 많이 진행되고 있다. 몇 가지 예를 들면, 강력한 항암제인 택솔은 주목나무에 포함되어 있으며 국내의 몇 기업에 의해서 상용화가 진행 중이다(4-7). 또한 녹차에 함유되어 있는 여러 성분들이 성인병의 예방과 치료에 대한 효능이 밝혀지면서 녹차류의 수요가 점차 확대되어 가고 있으며, 귤이나 오렌지 등의 감귤류의 표피에 포함된 여러 유용성분들은 유방암, 대장암, 폐암 등 여러 가지 질병들에 대해서 항암효과가 있다(8, 9).

천연물 중에서 유용성분을 추출 및 정제하는 수단으로서 HPLC가 많이 이용됨에 따라서 상용공정에서의 최적 조업조건을 신속하고 정확하게 결정하는 것이 매우 중요하다. 이러한 목적을 위해서 개발된 프로그램들은 최근에 외국에서 많은 관심을 모으고 있다. DryLab을 포함한 최근에 상용화되거나 시판중인 프로그램을 참고문헌(10)에 나열하였다.

분석용 및 분취용 고성능 액체 크로마토그래피 (preparative HPLC)의 사용이 급증함에 따라 생산성을 극대화시킬 목적으로 인하대학교 화학공학과 고순도분리 연구실(노경호 교수)에서는 HCI(High-Purity Separation Lab. Dept. of Chem. Eng. Inha Univ.) 프로그램을 개발하였다(11). 특정 고부가가치 물질을 정제하여 고순도로 얻기 위해서 preparative HPLC를 이용하기 위한 많은 실험이 요구된다. 분석 및 분리조건을 신속하고 경제적으로 최적화하기 위하여 개발된 이 프로그램은 최소한의 실험 데이터를 이용하여 분석조건의 최적화에서부터 제조용 공정의 기본 설계 및 경제성 분석에 이르기까지 초보자도 일반 PC에서

† Corresponding Author : Department of Chemical Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea
Tel : 032-860-7470, Fax : 032-872-0959
e-mail : rowkho@dragon.inha.ac.kr

쉽게 사용할 수 있도록 고안되었다. 일반적으로, 액체 크로마토그래피는 분리하고자 하는 원료물질에 따라서 역상(reversed-phase)과 정상(normal-phase) 방법으로 사용된다. 역상방법에서는 고정상으로 비극성물질이 사용되고 대표적으로 C₁₈기를 silica에 결합시켜 표면을 비극성으로 하고 이동상으로 물을 기본으로 methanol과 acetonitrile등과 같이 물보다 극성이 낮은 이동상을 첨가하여 사용한다. 역상방법을 이용하여 분리하는 물질은 deoxyribonucleosides, nucleotides 등과 같이 주로 물에 녹는 물질이다(12-16). 이에 비해서, 정상방법에서는 대표적으로 silica에 OH기가 결합된 극성물질이 고정상으로 사용되고 이동상으로 hexane과 같은 비극성 용매를 기본으로 alcohol과 같이 약간의 극성을 가지는 용매를 혼합하여 사용한다. 정상방법으로 분리하는 물질은 taxol, phospholipids등이 있다(17, 18). 본고에서는 HCI 프로그램의 개요와 위에서 언급한 특정물질에 대해서 이 프로그램을 이용하여 최적화된 분석 및 분리조건의 적용 예를 보여주하고자 한다.

HCI의 개요

본 프로그램은 시료의 양이 적은 분석용(analytical) HPLC에 대해서 역상 및 정상 방법에 모두 적용할 수 있고 이동상의 조성을 일정하게 유지하는 일정용매조성법(isocratic mode)와 이동상의 조성을 시간에 따라 변화시키는 구배용매조성법(계단 및 선형함수, gradient mode)에서 이동상의 조성 및 물질의 체류인자의 상관관계를 이용하여 물질의 체류시간을 예측할 수 있다(19-24). 또한 plate theory를 이용하여 임의의 조업조건에서 용출곡선을 예측할 수 있으며 이동상의 조성 및 operating mode(isocratic and gradient mode)에 대하여 최적화를 수행하여 분리도와 분리시간이 고려된 최적 조업조건을 계산할 수 있다(25-27). HCI 프로그램으로 계산된 결과는 직접 스크린에 표시되고 실험 데이터와 비교할 수 있도록 텍스트파일로 변환할 수 있다. 계산된 크로마토그램의 원하는 부분을 마우스로 클릭하여 순도와 수율을 쉽게 계산하고, 목적물질의 단위 무게당 운전비용 등을 예측할 수 있다.

Figure 1에서는 HCI 프로그램이 취급할 수 있는 범위를 분석용과 분리용으로 각기 도식적으로 나타내었다. 'Evaluate'와 'Optimize'에서는 각각 특정 조건과 최적화된 조건에서의 계산된 용출곡선을 보여준다. 'Economic analysis'에서는 packing, column, 및 이동상에 대한 자료를 database화하여 최적화된 조업비용을 산출할 수 있다. Figure 2에서는 HCI 프로그램의 main window(창)와 실험 data를 입력하는 창을 보여주고 있다. 모든 data는 column, solvent, 및 solute에 대해서 저장할 수 있다. Column에 대한 data는 직경과 길이 및 dead volume이다. Solvent에 대한 data는 이동상의 조성(2, 3성분계), 각 이동상의 이름, 일정용매 및 구배용매조성법의 조업방법이고 solute에 대한 data는 각 물질의 이름과 주입 농도와 부피이다.

HCI 프로그램에서는 이동상의 조성 및 물질의 상관관계를 나타내는 모델을 선정하게 된다. 물질의 체류인자 (retention factor, k')와 이동상의 조성간의 함수식은 Snyder eq.(1), Langmuir type(19, 20), 다항식의 함수 중에서 선택할 수 있다. 다항식은 나머지 두 가지 식에 비해서 실험상수가 3개로 1개

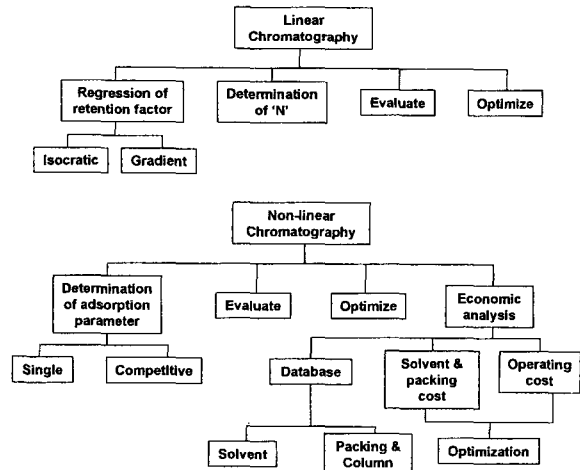


Figure 1. Scope of HCI program.

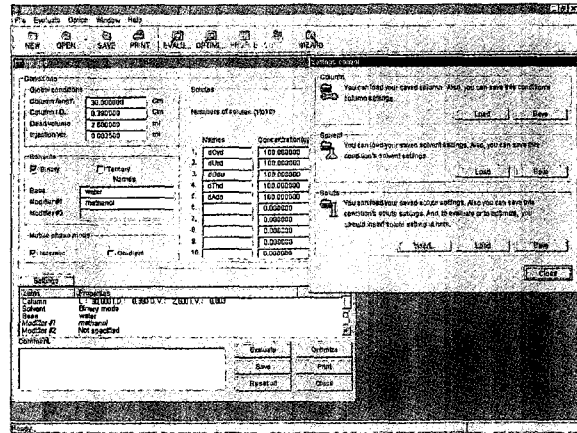


Figure 2. Main window and setting window.

가 더 많지만 실험값이 비교적 이동상의 전 조성에 대해서 잘 일치하였다(21). 또한 분리용 크로마토그래피에서 용출곡선을 예측하기 위해서 비선형 흡착평형식의 대표적인 Langmuir, Freundlich isotherm을 선택할 수 있다. 이동상의 유속, 이동상의 조성 및 operating mode를 각기 입력하면 입력된 조건하에서 용출곡선을 예측할 수 있다. 마지막으로 조업조건을 최적화하기 위한 제한 조건을 입력하면 최적의 이동상을 계산한다. 제한조건으로는 이동상 조성의 범위, 최소 구배시간, 및 분리도의 범위이다.

Figure 3에서는 분취용 크로마토그래피의 계산된 결과이고 각 물질의 순도와 수율을 쉽게 계산할 수 있도록 마우스로 조절하고 마우스 오른쪽 버튼을 클릭하면 그림에서 보는 바와 같이 다양한 기능들이 추가되었고 특히 경제성분석까지 직접 연결되어 있다. '마법사' 단계를 설정하여 초보자도 손쉽게 분석에서의 최적조건 뿐만 아니라 제조용 분리인 경우 분석용에서 경제성 분석까지 단계별로 쉽게 계산할 수 있는 기능을 추가하였다. 이 소프트웨어를 사용하는 경우에서 제한조건과 필요한 data는 각기 Tables 1, 2에 표시하였다.

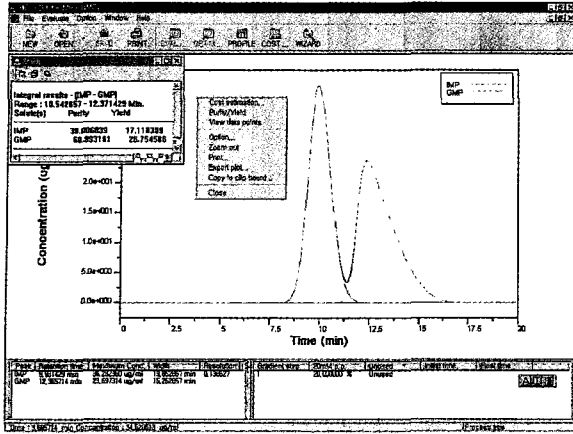


Figure 3. Plot window in non-linear chromatography.

Table 1. Limitations.

Mobile phase	Ternary
Number of solutes	10
Operating time	4 hr
Number of gradient stages	10

Table 2. Required data.

Column	Solute	Mobile phase
I.D. (cm)	Number of solutes	Number of solvents (Binary, Ternary)
Length (cm)	Injection volume(ml)	
Packing amount (g)	Concentration (mg/ml)	Operating condition (Isocratic, Gradient)
Void fraction	Retention time (min)	
	Adsorption isotherm	

분석용 크로마토그래피에의 적용

분석용 크로마토그래피는 분취를 목적으로 하지 않기 때문에 작은 양만의 시료가 필요하고 따라서 이동상과 고정상의 관계는 선형 흡착평형식에 의해서 표시할 수 있다. HCl 프로그램을 적용하기 위하여 역상에서는 deoxyribonucleosides (dCyd, dUrd, dGuo, dThd, dAdo)를 사용하여 임의의 조성에서 용출곡선을 예측하였고(13-16), 정상에서는 phospholipids (PE, PI, PC)를 사용하여 최적화된 분석조건을 계산하여 구하였다 (17, 18). Deoxyribonucleosides를 분리하기 위해 일정용매조성법에서 이동상의 조성과 물질의 체류인자에 대한 상관관계를 알기 위하여 예비 실험을 하였고 이 실험 data로부터 각 물질의 이론 단수를 구하고 일정용매조성법과 구배용매조성법(step, linear)에서 각 물질의 체류시간과 용출곡선을 예측하였다. Figure 7의 Isocratic에서는 이동상을 물과 methanol을 90/10 (vol.%)의 일정용매조성법으로 하였을 때 예측된 용출곡선이다. dCyd, dUrd, dAdo는 분리되었으나 dGuo와 dThd는 분리가 잘 되지 않았다. 또한 dAdo의 긴 체류시간으로 분리시간이 매우 길어지고 있다. 이러한 점을 해결하기 위해서 계단 및 선형함수의 구배용매조성

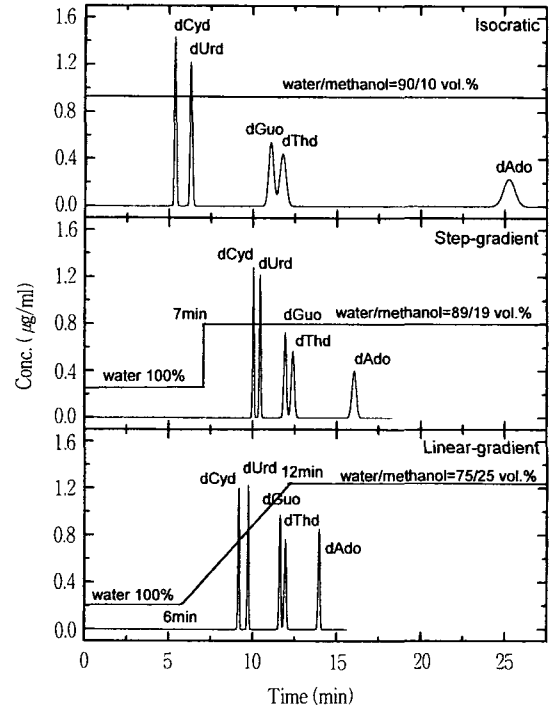


Figure 4. Calculated elution profiles of deoxyribonucleosides.

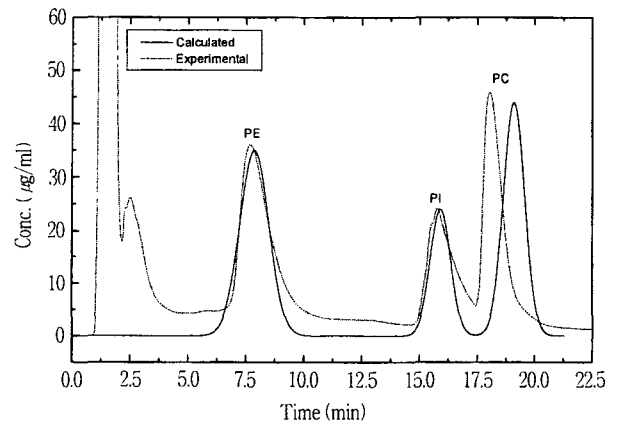


Figure 5. Comparison of experimental and calculated elution profiles of phospholipids (1st mobile phase : 90/5/5 vol.%, gradient time : 15min, 2nd mobile phase : hexane/IPA/Me OH, 50/20/30 vol.%).

법을 사용하게 된다. Figure 7의 Step-gradient에서는 계단함수형 구배용매조성법 (step-gradient mode)을 사용한 경우에서의 용출곡선이고 첫 번째 이동상은 물 100%로 유지하다가 7분 후에 두 번째 이동상은 물과 methanol을 89/19 (vol.%)로 유지하였다. dCyd와 dUrd의 분리도는 일정용매조성법보다는 감소하였지만 dGuo와 dThd의 분리도가 향상되었으며 dAdo의 빠른 용출로 분석시간이 약 10분 정도 줄어들었다. 선형 구배용매조성법 (linear-gradient mode)을 적용한 용출곡선이 Figure 7의 Linear-gradient에서 볼 수 있다. HCl 프로그램을 적용하여 계산한 결과는 첫 번째 이동상의 조성이 물 100%로 유지하고 6분부터 12분까지 선형적으로 methanol의 양을 증가시켜 최종 조성이 물과 methanol, 75/25(vol.%)이었다. 관의 효율이 증가하

여 dCyd와 dUrd, dGuo와 dThd의 분리도가 증가하였고 dAdo가 빨리 용출되어서 계단함수형 구배용매조성법보다 분리시간이 빨랐다.

분석조건 최적화는 분리도와 분석시간을 사용자가 정한 범위 내에서 HCl 프로그램이 반복적으로 계산하여 최적화된 결과를 얻게 된다. Figure 5에서는 HCl 프로그램을 이용하여 이동상 조성의 최적화를 수행하여 대두에서 추출된 phospholipids를 분석한 용출곡선이다. 제한 조건은 isopropanol과 methanol의 조성을 5%-40% (vol.%)로 변화시켰으며 최소 구배시간은 15분, 최소 분리도는 1.5로 고정하였다. 최적 조건은 계단함수형 구배용매조성법에서 첫 번째 이동상의 조성은 hexane/ isopropanol/methanol 95/5/5 (vol.%)로 하였고 15분 후에 두 번째 이동상은 hexane/ isopropanol/methanol 50/20/30 (vol.%)로 유지하였다. 점선은 실험 data를 보여주며 실선은 HCl 프로그램에 의하여 계산한 용출곡선이다. 계산값과 실험값이 서로 잘 일치하고 있음을 보여주고 있다.

분취용 크로마토그래피의 적용

분취용에서는 분리하고자 하는 물질의 양이 많이 있기 때문에 관내에서의 물질이 선형 흡착에서 벗어난 비선형 흡착이 된다. 비선형 흡착평형식을 실험적으로 결정하게 되면 흡착평형식을 이용하여 용출곡선을 계산할 수 있다. 이 결과를 이용하여 순도와 수율에서의 분취 시간을 계산할 수 있거나 원하는 순도와 수율을 맞추기 위한 시료의 농도와 주입부피를 조절할 수 있다. 즉 사용자가 원하는 실험조건을 변화시켜 조업조건을 최적화 할 수 있다. 또한 분리에 소요되는 1 batch당 경비를 계산하여 경제성 분석이 가능하다.

Figure 6은 5'-IMP의 주입량을 변화시키면서 실험한 크로마토그램과 HCl 프로그램으로 계산한 용출곡선을 비교한 것이다. HCl은 HCl의 add-in 프로그램으로서 비선형 흡착평형식(Langmuir, competitive Langmuir, Freundlich isotherm)의 실험상수를 구하는 데 사용되며 주로 dynamic method에 의해서 구하게 된다(28, 29). 5'-IMP의 주입량이 증가할수록 체류시간이 감소하여 Langmuir isotherm으로 표시할 수 있으며 실험적으로 구한 크로마토그램과 계산에 의한 용출곡선이 비교적 잘

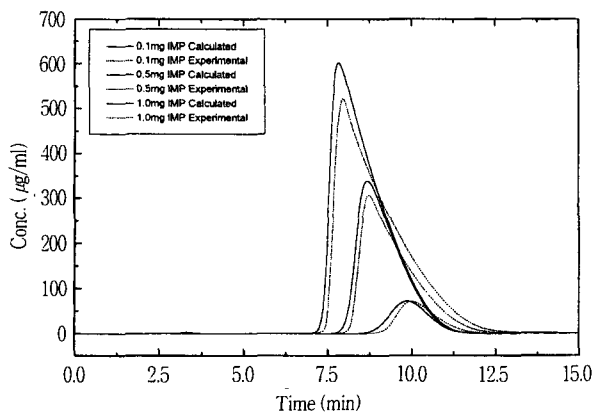


Figure 6. Comparison of experimental and calculated elution profiles of 5'-IMP(Langmuir isotherm : a=3.86, b=0.349 cm³/mg)

일치하고 있다. 강력한 항암제인 taxol을 주목나무에서 추출하여 HPLC를 사용하여 분취하였고(5-7), 시료의 질량에 따른 용출곡선을 비교한 것이 Figure 7에 나타나 있다. 혼합물을 순수한 형태로 얻기 위한 분취인 경우 많은 양의 시료를 주입하게 된다. 시료양은 시료농도와 시료주입부피에 의해서 결정되는데 시료의 농도가 높으면 concentration overload, 시료의 주입부피가 많으

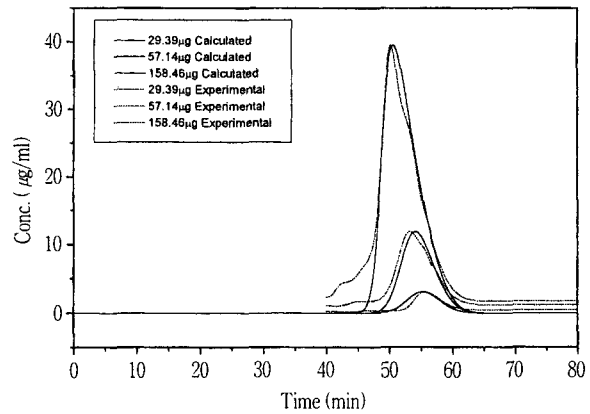


Figure 7. Comparison of experimental and calculated elution profiles of Taxol (Langmuir isotherm : a=59.54, b=1.375 cm³/mg).

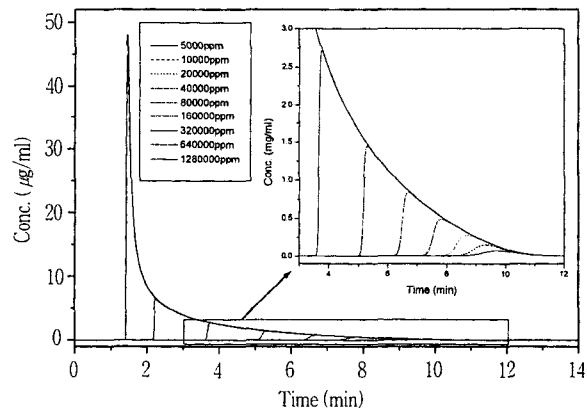


Figure 8. Concentration overload of 5'-IMP (Langmuir isotherm : a=3.86, b=0.349 cm³/mg).

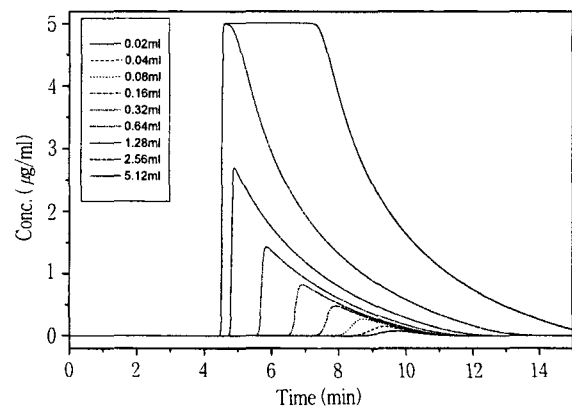


Figure 9. Injection overload of 5'-IMP (Langmuir isotherm : a=3.86, b=0.349 cm³/mg).

면 volume overload라고 한다. Figure 8, 9는 각기 전자와 후자에 해당되는 것이다. Langmuir isotherm으로 나타낼 수 있는 5'-IMP에 대해서 주입부피와 주입농도를 증가시키면 일정한 관내에서 overload 현상이 생긴다. Figure 8에서 보는 바와 같이 주입농도가 매우 크면 체류부피가 심지어 dead volume까지 감소하게 된다. 주입부피를 증가시켰을 경우에는 Figure 9와 같이 peak의 정상에서 일정한 농도가 유지되는 flat-top 현상이 나타난다. 또한 HCl 프로그램을 이용하여 계산된 용출곡선으로부터 순도와 수율을 손쉽게 계산할 수 있고 총 실험시간과 사용된 용매의 양을 계산할 수 있기 때문에 한번 주입할 때의 경비를 계산할 수 있다.

결 언

빠른 분석시간과 우수한 분리도를 가진 분석기기로서 크로마토그래피가 분취용으로 이용되기 위해서는 많은 시료량을 취급할 수 있어야 한다. 이 경우 충전물과 관의 크기가 커지게 되며 관의 효율은 분석용에 비해서 떨어지게 된다. 순도와 수율에 미치는 변수가 서로 복잡하게 연관되어 있기 때문에 특히 분취용 조업조건의 최적화는 많은 경험과 실험이 요구된다. 또한 많은 상관된 실험변수들이 있고 분리하고자 하는 물질의 종류가 다양하기 때문에 수학적 모델을 적용하여 시료가 관내에서 거동 (behavior)을 예측하는 것이 쉽지 않다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서 외국에서는 최소한의 실험을 통하여 고분자 가치 물질을 효율적이고 경제적으로 얻기 위한 크로마토그래피용 프로그램을 활발하게 이용하기 시작하였다. 인하대학교 고순도분리연구실에서 개발된 HCl 프로그램은 단지 LC에 국한된 것이 아니라 GC, SFC (supercritical fluid chromatography) 뿐만 아니라 연속식 시스템인 SMB (simulated moving bed)까지 확장될 예정이다.

요 약

액체 크로마토그래피를 이용하여 분석 및 분취를 하기 위해서는 분석용 규모의 조업조건이 결정되어야 한다. 본 연구에서는 많은 실험을 줄이고 보다 정확하고 빠른 최적 조업조건을 HCl 프로그램을 이용하여 구하였다. 분석용 크로마토그래피에서는 분리도와 분석시간을 기준으로 deoxyribonucleosides, phospholipids의 분석조건을 각기 역상 및 정상조건에서 이동상의 조성구배용매조성의 실험조건을 정하였다. 제조용 크로마토그래피에서는 HCl 프로그램에 의하여 taxol의 Langmuir 흡착 평형식을 계산하였고 5'-IMP와 5'-GMP를 원하는 순도와 수율을 얻기 위한 분취 시간을 용출곡선으로부터 결정하였다.

알 림

본 논문은 과학재단 핵심연구 (과제번호:971-1107-048-2)와 인하대학교 연구비(1999)에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Snyder, L.R. and J.J. Kirkland (1979), Introduction to high-Performance Liquid Chromatography, 2nd Ed., John Wiley & Sons, Inc..
2. Row, K.H. (1995), Combined Continuous and Preparative Chromatographic Separation, *J. Chromatogr.*, **707**, 105-116.
3. Row, K.H. (1996), Simulation of the Combined Continuous and Preparative Gas-Liquid Chromatographic Separation of Three Close-Boiling Components, *J. Chromatogr.*, **734**, 145-154.
5. 장경근, 노경호, 정성택 (1997), 정상 액체 크로마토그래피를 이용한 taxane으로부터 taxol의 분리, *공업화학*, **8** (2), 286-291.
6. 정용안, 정성택, 노경호 (1997), 역상 액체 크로마토그래피에서 이동상 조성의 함수로서 taxol의 분리도, *화학공학*, **35** (5), 712-716.
7. 장경근, 박영광, 노경호, 정성택 (1998), Taxol 분리공정에서 전처리 단계, *화학공업과 기술*, **16** (1), 46-50.
8. Jung, Y.A. and K.H. Row (1998), Separation of Perillyl Alcohol from Korean Orange Peel by Solvent Extraction and Chromatography, *Korean J. Chem. Eng.*, **15** (5), 538-543.
9. Jung Y.A. and K.H. Row (1998), Extraction and Purification of Perillyl Alcohol from Korean Orange Peel by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography, *J. Chromatogr.*, **828**, 445-449.
10. DryLab, <http://www.lcresources.com/dltech.htm> ; HPLC Simulator, http://www.acdlabs.com/products/chroma/hplc_sim_ftr.html ; EluEx, <http://www.dkg.no/computdrug/EluEx.html> ; HPLC Optimization, <http://www.chemsw.com/13009.htm> ; LC Method Developer, <http://act.ourway.com/>
11. (1998) *화학공업과 기술*, **16** (2), 144.
12. Row, K.H. (1997), Purification of Thymine Dimer from Monomer Solution in Preparative Liquid Chromatography, *Chromatographia*, **45**, 296-300.
13. 이주원, 노경호 (1997), 단일분과 모멘트 방법을 이용한 테옥시리보뉴클레오사이드의 평형상수의 계산 및 비교, *공업화학*, **8** (3), 403-409.
14. 이주원, 노경호 (1997), RP-HPLC에서 Deoxyribonucleosides를 분리하기 위한 이동상의 선택도와 구배용매조성법의 최적화, *화학공학*, **35** (5), 769-775.
15. 노경호, 이주원 (1998), 테옥시리보뉴클레오사이드를 분리하기 위한 최적 조건, *화학공학*, **36** (2), 343-346.
16. Lee C.H., J.W. Lee, and K.H. Row (1998), Optimum Solvent Selectivity and Gradient Mode for Deoxyribonucleosides in Reversed - Phase High - Performance Liquid Chromatography, *J. Chromatogr.*, **828**, 337-344.
17. 이주원, 노경호 (1997), Step-Gradient Mode를 이용한 인지질의 분리, *공업화학*, **8** (4), 694-699.

18. Row, K.H. and J.W. Lee (1997), Preparative Separation of Phospholipids from Soybean by NP-HPLC, *Korean J. Chem. Eng.*, **14** (5), 412-415.
19. Lee, Y.W., K.H. Row, M.S. So, I.A. Polunina, and A.V. Larin (1995), Reversed-Phase HPLC Retention of Deoxyribonucleosides as a Function of Mobile Phase Composition, *J. Liquid Chromatogr.*, **18** (15), 3077-3089.
20. Kim, J.D., K.H. Row, M.S. So, I.A. Polunina, and A.V. Larin (1995), Chromatographic Behaviour of Deoxyribonucleosides with respect to Organic Modifier Content in the Mobile Phase, *J. Liquid Chromatogr.*, **18** (15), 3091-3104.
21. Lee, Y.W., M.S. So, J.W. Lee, S.T. Chung, and K.H. Row (1996), Retention Models of Capacity Factor with Different Compositions of Organic Modifier in RP-HPLC, *Korean J. Chem. Eng.*, **13** (6), 578-584.
22. Polunina, I.A., D.K. Choi, K.H. Row, and A.V. Larin (1996), Adsorption Isotherm of Deoxyadenosine under the Conditions of a Reverse Phase Liquid Chromatography, *Colloid J.*, **58** (6), 805-807.
23. Larin, A.V. and K.H. Row (1997), "New Relationship between the Capacity Factor and the Fraction of Organic Modifier in the Mobile Phase", *Russian J. of Anal. Chem.*, **52** (10), 1064-1066, translated to *J. of Anal. Chem.*, **52** (10), 966-968.
24. Row, K.H. (1998), Comparison of Retention Models for the Dependence of Retention Factors on Mobile-Phase Composition in Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography, *J. Chromatogr.*, **797**, 23-31.
25. Row, K.H. and A.V. Larin (1995), Experimental Study of Influence of Slight Deviation from Adsorption Isotherm Linearity on Elution Peak Profiles, *J. Chem. Eng. Japan*, **28** (6), 851-853.
26. Row, K.H. and A.V. Larin (1995), A Chromatographic Theory based on the Concept of a Layer of Equilibrium Adsorption, *Korean J. Chem. Eng.*, **12** (4), 442-447.
27. Row, K. H. and A. V. Larin (1995), Computational Algorithm to Predict Peak Profiles in Preparative High-Performance Chromatography, *Korean J. Chem. Eng.*, **12** (5), 512-515.
28. 최용석, 이주원, 최대기, 노경호 (1998), Dynamic Method에 의한 비선형 흡착평형식의 결정, *화학공학의 이론과 응용*, **4** (2), 2765-2768, '98 추계 화학공학회 학술발표회 논문집, 조선대, 광주, 10월 23-24일.
29. 최용석, 이종호, 노경호 (1998), 제조용 충전물을 사용한 액체 크로마토그래피의 흡착특성, *공업화학*, **9** (3), 430-434.