

다목적 자동시료주입기를 이용한 소독부산물 분석의 신속화

윤병석 · 최재원[†] · 이재희 · 백경희 · 이상태

한국수자원공사 수돗물분석연구센터

Simplified Analysis of Disinfection Byproducts using Multi-Functional Auto Injector

Byung-seok Yoon, Jae-won Choi[†], Jae-hee Lee, Kyung-hee Baek, and Sang-tae Lee

Water Analysis & Research Center, Korea Water Resources Corporation,
560 Sintanjin-Ro, Daedeok-Gu, Daejeon, Republic of Korea

Simplified analytical method of nine disinfection by-product (DBPs) including chloral hydrate (CH), dibromoacetonitrile (DBAN), dichloroacetonitrile (DCAN), trichloroacetonitrile (TCAN), bromochloroacetonitrile (BCAN), ethylenedibromide (EDB), chloropicrin (CP), 1,1-dichloropropanone (DCP), 1,1,1-trichloropropanone (TCP) were validated using CTC Combi PAL headspace solid-phase microextraction (SPME) - gas chromatograph-electron capture detector (GC-ECD). Basic conditions for SPME such as fiber properties, extraction temperature, adsorption/desorption time, salt effect, repeatability and detection limits were optimized. Calibration curves was resulted in 1.0-50 $\mu\text{g/L}$ with R^2 value ranges between 0.960-0.997. The averaged limits of detection (LOD) of 10 $\mu\text{g/L}$ standard solution were ranged 1.51-3.78 $\mu\text{g/L}$ with available relative standard deviation.

Key words : DBPs (Disinfection byproducts), Headspace-SPME (solid-phase micro extraction), 50/30-DVB/CAR/PDMS

1. 서 론

정수처리 시 염소소독은 병원성 미생물의 활성을 저하시키는 동시에 유기물을 산화시켜 수인성 전염병을 예방하기 위한 중요한 수처리 방법 중의 하나이다. 이 과정에서 휴믹산과 펠빅산이 근원이 되는 유기물을 포함하고 있는 지표수를 포함하는 원수를 처리하는 과정에서 염소와의 반응으로 소독부산물(disinfection byproducts, DBPs)이 발생한다. 이러한 염소로 소독된 처리수는 원수에 비해 돌연변이성이 증가된다고 보고됨에 따라 이들 부산물이 포함된 수돗물의 음용에 따른 인체 건강피해에 대한 관심이 고조되고 있어 정확하고 신속한 분석이 요구된다.

염소소독부산물 중에는 chloral hydrate(CH), trihalomethanes(THMs), haloacetic acids(HAAs), halo-

acetonitriles(HANs) 등이 주로 생성되며, 분석방법으로는 액-액(liquid-liquid) 추출, 헤드스페이스(static headspace) purge & trap, SPME(Solid-phase microextraction)방법^{1,2)}이 있다. 이들 시험법 중에서 우리나라의 수질오염 공정시험법 및 EPA의 시험법은 유기용매 MTBE를 이용한 액-액 추출 방법을 사용하도록 지정하고 있다. 하지만, 전처리 시 유기용매로부터의 노출로 인해 시험자의 건강에 악영향을 미치며, 전처리 시간이 많이 소요되는 등의 단점이 발생한다.

이러한 단점을 보완하기 위하여 본 연구에서 적용하고자 하는 Headspace-SPME 방법의 경우 Henry's law에 의해 액체시료 혹은 고체상의 시료에서 기상으로 평형을 이루는 분석대상물질을 측정하는 방법으로써 주로 휘발성 물질을 측정하는데 사용한다. 1990년 Pawliszyn 등³⁾이 개발한 SPME방법의 경우, 조작이 용

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: choijw@kwater.or.kr

이하고 저렴하며 용매를 사용하지 않으면서 자동화 가능한 방법으로, 기체와 액체시료 사이의 평형 분배에 의한 추출방법이다. SPME 방법은 고체-액체-기체 사이에 존재하는 휘발성 유기화합물(VOC)외에 다른 유기물질도 효과적으로 추출한 것으로 나타났으며, fiber에 유기물을 흡·탈착하고 fiber를 GC의 주입구로 이동하여 가온에 의해 탈착되어 분리되며 컬럼으로 유입한다. 그러므로, 시료의 전처리 과정이 생략되거나 매우 간단하고 추출과 농축이 동시에 이루어지게 되며 방해물질의 영향 및 분석물의 손실이 적어 감도가 높고 검출한계가 낮은 장점을 가지고 있다.^{4,5)} 본 연구에서는 다목적 자동시료주입 장치인 Combi-PAL에 SPME fiber를 종류별로 장착하여 온도, 추출시간 등의 운전요소를 최적화하고 가스크로마토그래프-전자포획검출기(GC-ECD)에 시료를 자동 도입하는 방법을 통해 소독부산물을 전처리 없이 신속·정확하게 분석하는데 목적이 있다. 실험에 적용한 소독부산물은 먹는물 수질기준 항목인 chloral hydrate (CH), dibromoacetonitrile (DBAN), dichloroacetonitrile (DCAN), trichloroacetonitrile (TCAN)의 4개 항목과 먹는물 감시항목인 bromochloroacetonitrile (BCAN), ethylenedibromide (EDB)의 2 항목, 그리고 수자원공사 자체 감시항목으로 설정한 chloropicrin (CP), 1,1-dichloropropanone (DCP), 1,1,1-trichloropropanone (TCP)의 3항목을 포함하여 총 9개 항목이다.

2. 재료 및 분석방법

2.1. 시약 및 표준용액

본 실험에 사용된 표준물질들은 Supelco사(CA, USA)로부터 구입한 RM (Reference material) 등급의 시약이다. 표준원액의 농도는 CH의 경우 2000 µg/mL으로 아세트니트릴에 희석되어 있으며, EDB와 나머지 7종의 소독부산물은 각각 1000 µg/mL의 혼합 표준용액으로 아세톤에 희석되어있다. 이들 표준물질을 단계

적으로 100, 10 µg/mL의 농도가 되도록 아세톤으로 희석하여 조제하였으며 3차 증류수에 각각의 농도가 1 µg/mL이 되도록 희석, 조제한 뒤 실험에는 10 µg/L의 농도로 맞추어 사용하였다.

2.2. 분석장비

본 연구에서 사용된 기기는 전자포획형 검출기 (electron capture detector, ECD)를 장착한 가스크로마토그래프 (HP6890, Agilent, USA)이며, 분석에 사용한 캐필러리 컬럼은 Agilent사의 HP-5를 사용하였다. 컬럼 길이는 30 m이며, 내경은 0.32 mm, 코팅의 두께는 0.25 µm이다. 가스크로마토그래프의 주입구에 장착한 SPME fiber는 다목적 자동시료주입 장치인 Combi-PAL SPME kit를 사용하였다. SPME 주입장치는 98 시료용 트레이, SPME fiber 키트, 시료에 일정한 진동과 온도를 가열하기 위한 agitator로 구성되어 있다.

2.3. 분석방법

본 실험에서 사용한 Combi-PAL SPME-GC-ECD의 분석 조건은 Table 1에 나타내었으며, Table 3에는 실험에 이용한 9가지 소독부산물의 물리·화학적 특성을 간략히 나타내었다. 분석에 사용된 소독부산물의 표준액을 3차 증류수에 단계적으로 희석하여 조제한 시료를 각 10 mL씩 20 mL 바이알에 넣어 분석 시료로 하였다. 또한, fiber의 종류에 따른 소독부산물의 흡·탈착량 확인 실험을 위해 사용된 SPME fiber는 Supelco사 (CA, USA)의 65-PDMS/DVB, 75-CAR/PDMS, 70-CW/DVB, 50/30-DVB/CAR/PDMS 4종류이며, 각 fiber의 특성은 Table 2에 나타내었다. Fiber는 분석하기 전에 종류별 권장 온도에서 일정시간동안 불순물 피크가 검출되지 않을 때까지 컨디셔닝을 수행한 뒤 안정화하여 사용하였다. 이 후 소독부산물이 fiber에 흡·탈착하는 최적시간을 결정하기 위한 실험을 수행하였으며, 소독부산물의 효과적인 추출을 위한 염색효과를 확인하기 위해서 500°C에서 30분 동안 회

Table 1. GC operating conditions

Item	Conditions
Carrier gas	Nitrogen 1.2 mL/min
Make-up gas	Nitrogen 60 mL/min
Split ratio	Splitless
Injector temperature	260°C
Detector temperature	280°C
Oven	35°C for 7 min, 1.5°C/min to 47°C, 6.5°C/min to 100°C, 15°C/min to 180°C

Table 2. SPME fibers and available temperatures for GC use

Stationary Phase	Film Thickness (μm)	pH	Maximum Temp.($^{\circ}\text{C}$)	Operating Temp.($^{\circ}\text{C}$)	Conditioning Temp.($^{\circ}\text{C}$)	Time (Hrs.)
PDMS/DVB	65	2-11	270	200-270	250	0.5
CAR/PDMS	75	2-11	320	250-310	300	1-2
CW/DVB	70	2-9	260	200-250	220	0.5
DVB/CAR/PDMS	50/30	2-11	270	230-270	270	1

- PDMS : Polydimethylsiloxane - DVB : Divinylbenzene
 - CAR : Carboxen - CW : Carbowax

Table 3. Physical and chemical properties for disinfection byproducts

Compounds	Chemical formula	Molecular weight	Boiling point($^{\circ}\text{C}$)	Melting point($^{\circ}\text{C}$)
CH	$\text{C}_2\text{H}_3\text{Cl}_3\text{O}_2$	165.42	95.5	57
DBAN	$\text{C}_2\text{HBr}_2\text{N}$	198.84	68	-
DCAN	$\text{C}_2\text{HCl}_2\text{N}$	109.94	112.3	-
TCAN	$\text{C}_2\text{Cl}_3\text{N}$	144.39	85	42
BCAN	C_2HBrClN	154.39	138	-
CP	CCl_3NO_2	164.38	112.4	-69.2
EDB	$\text{C}_2\text{H}_4\text{Br}_2$	187.86	131.7	9.97
1,1-DCP	$\text{C}_3\text{H}_4\text{Cl}_2\text{O}$	126.97	-	117
1,1,1-TCP	$\text{C}_3\text{H}_3\text{Cl}_3\text{O}$	161.42	-	-

화 처리한 염화나트륨을 첨가하여 추출효과에 미치는 영향을 살펴보았다.

3. 결과 및 고찰

3.1 Fiber의 종류별 흡·탈착 효율 비교

다양한 fiber 선택의 기준은 대상 물질에 따라 “like-dissolves-like”의 기본 개념이 적용되며, 극성 코팅물은 페놀류, 카르복실산류와 같은 극성 물질이 매우 잘 추출되는 반면에 무극성 코팅물은 탄화수소류 등의 무극성 물질이 잘 추출된다는 원리 아래에서 실험을 통해 분석물에 대한 최적의 fiber를 선택해야 한다.^{2,6)} 또한, 시료의 극성에 따라 fiber의 극성을 선택하면 분석물의 분배계수가 증가해서 감도가 향상하는 것으로 알려져 있다.⁵⁾ 본 연구에서는 Fiber 종류별로 소독부산물의 흡·탈착 효율을 확인하기 위해 예비실험을 수행하였다. 9개 항목의 소독부산물의 농도를 $10 \mu\text{g/L}$ 로 맞춰 혼합하고 60°C 에서 30분간 흡·탈착한 뒤 1분간의 탈착시간으로 고정하여 실험하였다. 본 연구에서는 65-PDMS/DVB, 75-CAR/PDMS, 70-CW/DVB, 50/30-DVB/CAR/PDMS의 4종류의 fiber를 이용해서 피크의 세기를 통해 fiber의 흡·탈착의 효율을 비교하였다. 실

험결과, fiber에 대한 흡·탈착 효율의 순은 65-PDMS/DVB < 75-CAR/PDMS < 70-CW/DVB < 50/30-DVB/CAR/PDMS으로 나타나, HANs에 대한 타 연구사례의 결과⁷⁾와 마찬가지로 전체 소독부산물에 대한 흡·탈착 양은 50/30-DVB/CAR/PDMS에서 가장 우수하게 나타났다(Fig. 1). 50/30-DVB/CAR/PDMS fiber의 경우 화학적으로 극성이 약한 DVB와 강한극성의 CAR, 그리고 강한 비극성의 PDMS의 3가지 성분을 모두 포함하고 있기 때문에 본 연구에서 사용한 9가지 소독부산물의 다양한 극성정도에 따라 흡·탈착 효율에 있어서 다른 3종류의 fiber에 비해 효율이 우수한 것으로 판단된다. 따라서, 이후의 소독부산물의 최적 흡·탈착 실험에 적용한 fiber는 50/30-DVB/CAR/PDMS를 이용하였다.

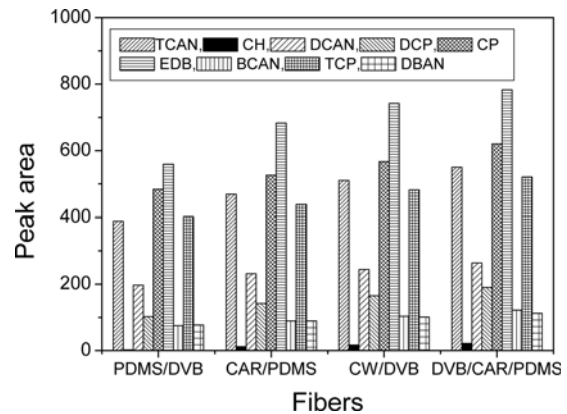


Fig. 1. Peak intensities on GC-ECD of DBPs among four types of SPME fiber (Following condition was fixed; extraction time, 30 min at 30°C ; desorption time, 1 min at 260°C ; DBPs concentration, $10 \mu\text{g/L}$).

3.2 시간구배에 따른 흡·탈착 효율변화

다음은 3.1에서 선정된 50/30-DVB/CAR/PDMS를 이용하여, 흡·탈착온도를 30°C 로 고정하고, fiber 흡·탈착시간을 10분에서 60분까지 6단계로 나누어 피크의

세기를 비교하였다. 이 때 탈착온도는 fiber의 안전운전 범위인 260°C로 유지하였다. 실험결과, 흡·탈착시간이 30분까지는 피크의 세기가 점차적으로 증가하다가 그 후 피크의 세기가 감소하는 경향을 보였다. Ai[®]의 결과에 의하면 서로 다른 화학적인 성질을 갖는 물질의 경우, SPME fiber에서 다른 흡·탈착 양상을 보인다고 하였는데, 해당 화합물에 대한 최적 흡·탈착시간을 결정하기 위한 실험결과에서도 각 물질마다 흡·탈착시간의 변화에 따라 흡·탈착량의 경향이 다르게 나타났다. 본 연구에서는 최적 흡·탈착시간을 30분으로 결정하였다.

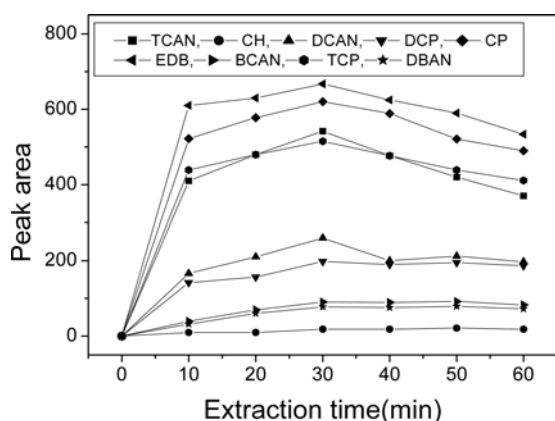


Fig. 2. Peak intensities on GC-ECD of DBPs among extraction time (Following condition was fixed; extraction temperature, 30°C; desorption time, 1 min at 260°C; DBPs concentration, 10 µg/L).

3.3. 시간에 따른 탈착량의 변화

50/30-DVB/CAR/PDMS fiber를 이용하여 260°C에서 6단계, 즉 0.5분, 1분, 1.5분, 2분, 4분, 5분의 범위에서 탈착된 양을 확인하였다. 온도가 증가됨에 따라 흡·탈착 분배계수가 감소하며 발열과정에서 fiber에 흡·탈착되는 분석물질의 양은 감소하게 된다. 본 실험에서는 GC의 시료주입구의 온도를 50/30-DVB/CAR/PDMS fiber의 운전온도 적정범위인 230°C~270°C 중에서 최대 온도보다 10°C 낮은 260°C로 고정하였는데 이는 각 분석대상물질의 끓는점보다 유의하게 높게 설정된 값이며 열적 탈착이 충분히 이루어지도록 고려하였다. 참고로 230°C~260°C 범위내에서 각 화합물별로 최적의 탈착온도가 존재할 것으로 예상되며 주입구의 가스 유속에도 최적화가 요소가 있을 것으로 예상되었으나, 본 연구에서는 일정온도에서 탈착시간에 따른 영향이 가장 클 것으로 예상하여 한 가지 온도에서 고정하여

실험을 진행하였다. 분석에 사용된 소독부산물들은 Fig. 3과 같이 1분 이후에는 변화량이 거의 없는 것으로 나타났다. 본 연구에서는 50/30-DVB/CAR/PDMS fiber에서 소독부산물의 최적의 탈착을 유도하기 위해 1분의 탈착시간을 유지하였다.

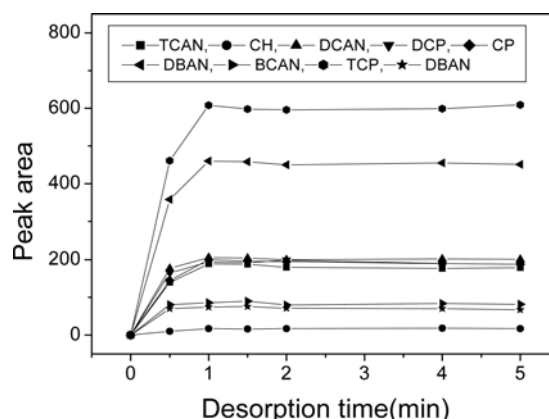


Fig. 3. Peak intensities on GC-ECD of DBPs among desorption time (Following condition was fixed; extraction time, 30 min at 30°C; desorption temp., 260°C; DBPs concentration, 10 µg/L).

3.4. 추출온도에 따른 효율변화

Headspace SPME에서 추출온도의 증가는 공간부위로 분석대상 화합물의 농도를 증가시켜 보다 빠른 추출을 이룰 수 있으며, 분자량이 큰 분석대상 화합물들의 추출되는 양은 승온으로 인하여 증가한다. 본 실험에서는 추출온도를 25°C에서 90°C까지 거의 10°C 간격으로 8단계로 구분해서 실험을 실시하였다(Fig. 4). 실험결과, 추출온도가 증가함에 따라서 30°C까지 대부분의 소독부산물 피크세기가 증가하는 경향을 보였으나, 30°C 이후에는 대부분 소독부산물의 흡·탈착량이 다소 감소하는 현상을 보였다. 이는 Headspace-SPME 방법에 있어서 추출 온도가 증가할수록 액체에 용해된 기체의 무게는 기체 압력에 비례한다는 헨리의 법칙에 따라 headspace에서 휘발성 소독부산물의 증기압 증가를 초래하게 되어 오히려 휘발하는 양보다 액상으로 흡수되는 소독부산물의 양이 증가하게 되고 결국, fiber에 흡·탈착되는 양은 감소하게 된다고 판단된다. 본 연구에서는 모든 소독부산물에서 안정적 범위를 나타낸 30°C로 추출온도를 결정하였다.

3.5. 염의 양에 따른 효율변화

수용액 상에서 염의 첨가로 인해 수증에 포함된 유

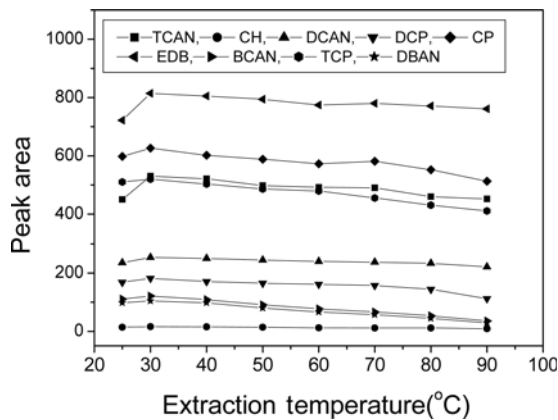


Fig. 4. Peak intensities on GC-ECD of DBPs among extraction temperature (Following condition was fixed; extraction time, 30 min; desorption temp, 1 min at 260°C; DBPs concentration, 10 µg/L).

기물을 분리하는 분배계수가 증가하게 되는데 이때, 기상으로 분배계수가 증가하는 현상과 액상으로 분배계수가 증가하는 두 경우가 있다.⁹⁾ 이러한 분배현상을 본 연구의 대상화합물에 적용·검토하고자 500°C에서 30 분간 회화 처리한 NaCl을 사용하여 각 10 mL 시료에 NaCl 양을 0, 10, 20, 30 (w/v)% 및 과포화농도인 40, 50 (w/v)%로 첨가해서 실험을 실시하였다. Fig. 5에 나타난 바와 같이 대부분의 소독부산물의 흡·탈착량은 염의 농도가 30 (w/v)%에서 최대를 나타내었고, 그 이상의 과포화 농도에서는 오히려 감소하는 경향을 보였다. 이는 수용액에서의 NaCl의 물에 대한 용해도가

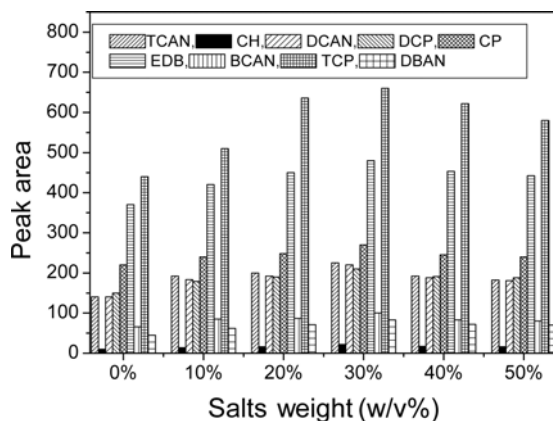


Fig. 5. Peak intensities on GC-ECD of DBPs among salt concentration (Following condition was fixed; extraction time, 30 min at 30°C; desorption time, 1 min at 260°C; DBPs concentration, 10 µg/L).

35.7%임을 감안할 때 염의 농도가 과포화 상태이면 기화로의 양적 이동에 대한 효율이 떨어져 오히려 추출에 부정적인 영향이 있음을 확인하였다.

3.6. 재현성과 검출한계

지금까지 검토한 조건을 바탕으로 다목적 자동시료주입기를 이용한 Headspace-SPME 방법에 의해 9개 소독부산물의 검량곡선용 표준물질을 이용하여 재현성(repeatability) 및 검출한계(limits of detection, LOD)를 검토하였다. 먼저, 검량곡선의 직선성을 확인하기 위해 1, 5, 10, 20, 50 µg/L를 Headspace-SPME 방법으로 각 5회씩 주입하였다. 또한 각 물질에 대해 최저농도로 반복분석하여 산출하는 것이 원칙이나, 본 실험에서는 검량선의 중간범위인 10 µg/L를 7회 반복 분석하고 평균값과 표준편차를 이용하여 상대표준편차(relative standard deviation, RSD)를 산출하였다. 본 실험에서는 검출한계는 이 결과의 표준편차에 3을 곱하여 산출하였다.

Table 4에 나타난 바와 같이 각 소독부산물의 직선성은 0.960에서 0.997로 비교적 우수하게 나타났으며, 상대표준편차(%RSD)는 CH가 4.93%로 재현성이 가장 높게 나타났고, CP와 EDB가 11.5%와 11.7%로 반복측정성이 다소 떨어지는 것으로 나타났다. 또한, 중간범위의 표준물질로 검토한 관계로 Headspace SPME-GC-ECD 방법에 의한 소독부산물들의 검출한계는 1.51 µg/L~3.78 µg/L로 다소 높게 나타났다. 향후 안정적인 조건에서 최저농도의 반복분석을 통하여 Headspace SPME-GC-ECD에 의한 µg/L 이하의 검출한계 농도를 검토할 필요가 있으며 다양한 범위의 화합물에 대한 재현성 확보가 본 SPME의 일상분석 적용을 위한 중요한 요소로 판단된다.

Table 4. Correlation coefficients (r^2) of linearity, repeatability and limits of detection

Compounds	Linear (r^2)	%RSD	LOD (µg/L)
TCAN	0.991	9.11	2.83
CH	0.995	4.93	1.51
DCAN	0.993	6.94	2.21
DCP	0.961	8.16	2.40
CP	0.992	11.5	3.78
EDB	0.991	11.7	3.65
BCAN	0.960	5.94	1.87
TCP	0.994	7.53	2.21
DBAN	0.997	5.59	1.71

4. 결 론

먹는물 수질기준항목인 Chloral hydrate(CH), Dibromoacetonitrile(DBAN), Dichloroacetonitrile(DCAN), Trichloroacetonitrile(TCAN)의 4개 항목과 먹는물 감시항목인 Bromochloroacetonitrile(BCAN), Ethylene-dibromide(EDB)의 2항목, 그리고 자체 감시항목으로 설정한 Chloropicrin(CP), 1,1-Dichloropropanone(DCP), 1,1,1-Trichloropropanone(TCP)의 3항목을 포함하여 총 9개 항목의 소독부산물 항목에 대한 분석절차 간이화를 위하여 CTC Combi PAL Headspace SPME-GC-ECD 방법을 최적화 하였고, 다음과 같은 결론을 얻었다.

- SPME fiber의 주요 4종에 해당하는 65-PDMS/DVB, 75-CAR/PDMS, 70-CW/DVB, 50/30-DVB/CAR/PDMS를 이용하여 흡·탈착 효율을 확인한 결과, 크로마토그램상의 피크 세기 비교에서 50/30-DVB/CAR/PDMS가 가장 우수하게 나타났으며, 흡·탈착 효율은 65-PDMS/DVB < 75-CAR/PDMS < 70-CW/DVB < 50/30-DVB/CAR/PDMS의 순으로 나타났다.
- 50/30-DVB/CAR/PDMS fiber를 이용하여 소독부산물에 대한 최적의 추출 및 탈착 시간을 확인한 결과, 각각 30분과 1분으로 결정하였으며, 정수시료에서 소독부산물의 추출온도는 30°C에서 가장 효율이 우수한 것으로 나타났다. 또한, 염의 농도비는 30(w/v)% 일 때, 액상에서 기상으로의 분배정도가 최대였다.
- CTC Combi PAL Headspace SPME-GC-ECD 방법에 의한 9종의 소독부산물에 대한 직선성은 0.960

~0.997이었다. 또한, 상대표준편차(%RSD)는 CH가 4.93%으로 재현성이 가장 높은 것으로 나타났으며, CP와 EDB가 11.5%와 11.7%로 상대적으로 낮은 편이었다. 또한 각 분석성분의 검출한계는 1.51 µg/L ~3.78 µg/L로 산출되었다.

- 자동시료주입장치에 의한 고상미량추출법(SPME)을 이용한 해당 소독부산물의 시료주입방법은 기존의 액-액추출방법에 비하여 추출시간, 추출용매의 절감과 분석의 편이성을 제공할 뿐 아니라 시험자에 대한 유기용매 노출가능성을 저감하는 장점이 있는 것으로 나타났다. 단점으로는 주입장치의 비용 및 일상분석을 위한 fiber의 단가는 높은 점이었으며, 장시간 사용에 따른 결과의 재현성은 기존의 비분할주입방식(splitless)과의 비교와 함께 추가 검토할 필요가 있다.

참고문헌

1. Kuran P and Sojak L., J. chromatography A, **1996**, 733, pp. 119-141.
2. J. Dron, R. Garcia and E. Millan, J. Chromatography. A, **2002**, 963, 259-264.
3. J. Pawliszyn., **1997**, Wiley-VCH, 37.
4. C.L. Arthur, L.M. Killam, K.D. Buchholz, J.P. and J.R. Berg, Anal. Chem., **1992**, 64, 1960-1966.
5. C.J. Koester, S.L. Simonich and B.K. Esser, Anal. Chem., **2003**, 75, 2813-2829.
6. 김택재, 분석과학회지(별책), **2000**, 15(5).
7. 조덕희, 상하수도학회지, **2004**, 18(5), 628-637.
8. J. Ai., Anal. Chem., **1997**, 69, 1230-1236.
9. J. Dron, R. Garcia and E. Millan, J. Chromatography. A, **2002**, 963, 259-264.