

## Large scale splitter-less FFD-SPLITT fractionation: effect of flow rate and channel thickness on fractionation efficiency

Yeongsuk Yoo<sup>1</sup>, Jaeyeong Choi<sup>1</sup>, Woon Jung Kim<sup>1</sup>, Chul Hun Eum<sup>2</sup>, Euo Chang Jung<sup>3</sup> and Seungho Lee<sup>1,★</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea

<sup>2</sup>Geochemical Analysis Center, Korea Institute of Geoscience and Mineral Resources, Daejeon 305-350, Korea

<sup>3</sup>Nuclear Chemistry Research Center, Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon 305-353, Korea

(Received January 3, 2014; Revised January 29, 2014; Accepted February 3, 2014)

## 대용량 중력장 SPLITT Fractionation: 분획효율에 미치는 채널 두께와 유속의 영향

유영석<sup>1</sup> · 최재영<sup>1</sup> · 김운중<sup>1</sup> · 음철현<sup>2</sup> · 정의창<sup>3</sup> · 이승호<sup>1,★</sup>

<sup>1</sup>한남대학교 화학과, <sup>2</sup>한국지질자원연구원 지질자원분석실

<sup>3</sup>한국원자력연구원 원자력응용기술개발본부 원자력화학연구부

(2014. 1. 3. 접수, 2014. 1. 29. 수정, 2014. 2. 3. 승인)

**Abstract:** SPLITT fractionation (SF) allows continuous (and thus a preparative scale) separation of micron-sized particles into two size fractions ('fraction-*a*' and 'fraction-*b*'). SF is usually carried out in a thin rectangular channel with two inlets and two outlets, which is equipped with flow stream splitters at the inlet and the outlet of the channel, respectively. A new large scale splitter-less gravitational SF (GSF) system had been assembled, which was designed to eliminate the flow stream splitters and thus is operated by the full feed depletion (FFD) mode (FFD-GSF). In the FFD mode, there is only one inlet through which the sample is fed. There is no carrier liquid fed into the channel, and thus prevents the sample dilution. The effects of the sample-feeding flow rate, the channel thickness on the fractionation efficiency (*FE*, number % of particles that have the size predicted by theory) of FFD-GSF was investigated using industrial polyurethane (PU) latex beads. The carrier liquid was water containing 0.1% FL-70 (particle dispersing agent) and 0.02% sodium azide (used as bactericide). The sample loading rate was varied from about 4 to 7 L/hr with the sample concentration fixed at 0.01%. The GSF channel thickness was varied from 900 to 1300  $\mu\text{m}$ . Particles exiting the GSF channel were collected and monitored by optical microscopy (OM). Sample recovery was monitored by collecting the fractionated particles on a 0.45  $\mu\text{m}$  membrane filter. It was found that *FE* of fraction-*a* was increased as the channel thickness increases, and *FE* of fraction-*b* was increased as the flow rate was increased. In all cases, the sample recovery has higher than 95%. It seems the new splitter-less FFD GSF system could become a useful tool for large scale separations of various types of micron-sized particles.

**요 약:** SPLITT 분획법(Split-flow thin cell fractionation, SF)은 입자성 물질이나 거대분자를 크기에

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)42-629-8822 Fax : +82-(0)42-629-8811

E-mail : [slee@hannam.kr](mailto:slee@hannam.kr)

따라 연속적으로 분획할 수 있는 유용한 기술이다. SF에서는 얇은 리본 모양 채널의 입구와 출구에 존재하는 흐름분할기(flow stream splitter)에 의하여 시료의 분리가 이뤄진다. 대용량 중력장 FFD-SF 시스템(New large scale splitter-less FFD-SF system)은 흐름분할기를 사용하지 않고, 전액공급 모드(FFD mode)로 작동하도록 디자인되었다. 전액공급 모드는 용매의 공급 없이 시료만을 채널 내로 주입함으로써 시료의 희석을 방지할 수 있는 장점을 가진다. 본 연구에서는 산업용 polyurethane (PU) 입자를 시료로 이용하여, FFD-SF 장치의 성능에 미치는 시료의 주입유속과 채널두께의 영향을 확인하였다. Carrier 용액으로는 시료간 응집과 박테리아 생성을 방지하기 위하여 0.1% FL-70 와 0.02% sodium azide (NaN<sub>3</sub>)를 함유하는 수용액을 사용하였다. 시료농도는 0.02% (wt/vol)로 고정, 주입 양은 4.2~7.2 L/hr, 채널두께는 900~1300 μm의 범위에서 실험하였다. 분획효율(Fractionation efficiency, FE)은 optical microscopy (OM)을 사용하여 입자의 수를 확인하여 계산하였으며, 시료회수율(sample recovery)은 membrane filter를 이용하여 분획된 시료의 무게로부터 계산하였다. 채널두께가 두꺼울수록 fraction-*a*의 분획효율이 증가하였고, 유속이 증가할수록 fraction-*b*의 분획효율을 증가하였다. 시료회수율은 평균 95%를 보였다. 본 연구 결과는 새로운 splitter-less FFD-SF system은 다양한 마이크론 크기의 입자의 분획에 유용한 방법임을 보여준다.

**Key words:** SPLITT, throughput, fractionation efficiency, sample recovery, separation

### 1. 서 론

Split-flow thin cell Fractionation (SF)은 입자성 물질이나 거대분자를 특정 크기에 따라 빠르고 연속적으로 분획할 수 있는 유용한 기술이다.<sup>1-6</sup> SF는 단백질,<sup>3,6,7</sup> 마이크론 크기의 구형 입자,<sup>4,8</sup> 녹말,<sup>8</sup> 세포,<sup>9-11</sup> 실리카,<sup>12</sup> 전도성 입자,<sup>13</sup> 리보솜, 그리고 환경입자<sup>14-18</sup>와 같은 다양한 물질의 분리에 응용되었다.

SF에서는 얇은 리본 모양의 채널에서 외부장의 영향으로 분리가 이루어진다.<sup>1-6</sup> 분리조건의 변화는 간단하게 조절할 수 있으며 채널의 두께는 0.5 mm 이하로 내부 부피의 조절이 가능하여 비교적 빠르고 지속적인 분리가 가능하고 높은 시료처리량 (Throughput, TP)과 분리도를 가진다. 또한 다양한 입자의 분리에 적용될 수 있으며, 기계적인 압박을 받지 않아 시료가

파괴되지 않는다는 특징을 가진다.

SF 채널의 모식도를 Fig. 1에서 보여주고 있다.<sup>19</sup> SF의 작동방법에는 두 가지 mode가 존재 한다.<sup>20</sup> Fig. 1(a)에 나타낸 conventional mode는 채널에 각각 두 개의 inlet과 outlet을 가지며 내부에는 두 개의 흐름분할기(flow stream splitter)가 장착되어 있다. 분산 상태의 시료가 채널을 통과하는 동안 외부장인 중력의 영향을 받아 inlet splitting plane (ISP)와 outlet splitting plane (OSP) 사이의 운반 영역을 통과하게 되며, 이때 침강계수가 낮은 입자는 OSP를 통과하지 못하고 outlet-*a*로, 침강계수가 높은 입자는 OSP를 통과하여 outlet-*b*로 빠져 나오게 된다.

전액 공급 모드(full-feed depletion mode, FFD)는 Fig. 1(b)에서 보여준다. FFD mode의 특징은 conventional mode와 달리 시료를 주입하기 위한 하나의 inlet

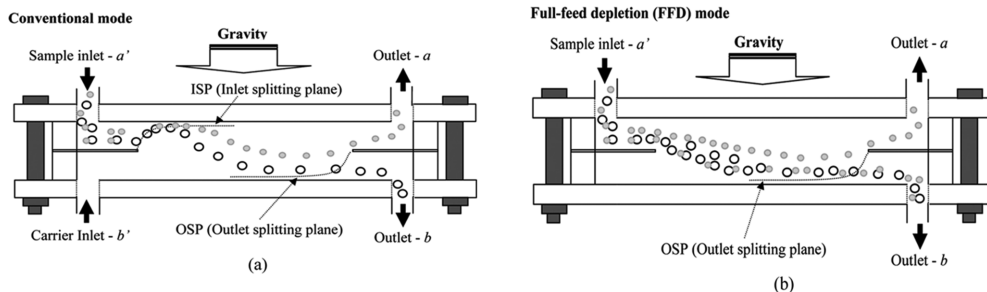


Fig. 1. Schematic view of SF channel: (a) Conventional mode and (b) Full-feed depletion (FFD) mode.

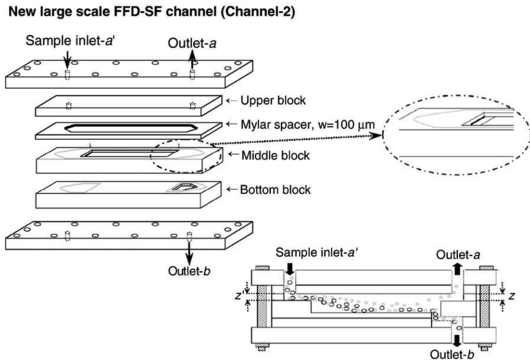


Fig. 2. SF channel assemblies of the new large scale splitter-less FFD-SF channel.

만을 사용한다는 점이다.<sup>21</sup> 시료는 inlet-a'으로 주입되므로,  $V(b)$ 이 존재하지 않아 ISP가 형성되지 않는다. 따라서 ISP와 upper wall 사이에 생성되는 시료 주입층이 conventional mode보다 두껍게 형성되어 분리도가 감소하는 단점이 있다.<sup>13</sup> 그럼에도 FFD mode를 사용하는 것은 별도의 carrier 주입이 없어 분석물의 희석이 방지되므로, 농도가 낮은 환경, 콜로이드 입자의 분리에 유리하기 때문이다. 또한 FFD mode는 출구 쪽 흐름분할기 하나만을 사용하므로, 채널의 크기가 증가하여 시료처리량을 증가시킬 수 있다. 하지만 outlet splitter의 존재로 인하여 시료처리량에 대해 어느 정도 제한을 가진다.

이러한 문제점을 보완하기 위하여 Fig. 2에 나타낸 것처럼 대용량 중력장 FFD-SF 채널이 개발되었다.<sup>19</sup> 기존의 FFD mode와는 달리, outlet의 splitter를 없애고 middle block와 bottom block을 사용하여 채널 크기와 시료처리량에 변화를 주었다. 기존 FFD mode 채널의 부피는 약 2.9 mL를 가지고 분획 시 유속 1~5 mL/min인 반면에, 이번 연구에 사용한 채널은 부피가 약 55 mL로 약 20 배 증가하였으며 유속 50~200 mL/min으로 분획하여 기존보다 더 많은 양의 시료를 처리할 수 있다.

기존 연구에서는 대용량 중력장 FFD-SF 채널에서의 시료처리량에 따른 분획효율(Fractionation efficiency, FE)의 변화에 대해 연구들이 이뤄졌다.<sup>19,22,23</sup> 본 연구에서는 마이크로 크기의 polyurethane (PU) latex bead를 이용하여 채널 두께와 유속의 변화에 따른 분획효율을 결정하고 전체적인 경향성을 확인하였다. 또한 시료회수율(Sample recovery)을 확인함으로써, 분획효율과 함께 대용량 중력장 FFD-SF 채널의 효율성을

확인할 수 있었다.

또한 분획효율과 시료회수율을 통해 마이크로 크기의 입자에 대한 가장 최적화된 분리 조건도 확인하였다.

## 2. 이 론

SF에서 cut-off diameter인  $d_c$ 는 분획이 이뤄지는 경계에서 입자의 크기로 정의된다. 이상적인 SF에서는 outlet-a에서는  $d_c$ 보다 작은 입자가, outlet-b에서는  $d_c$ 보다 큰 입자가 분리된다. FFD mode에서  $d_c$ 는 식 (1)로 나타낸다.<sup>2</sup>

$$d_c = \sqrt{\frac{18\eta}{bLG\Delta\rho}(V(a')-V(b))} \quad (1)$$

식 (1)에서  $\Delta\rho$ 는 입자와 carrier 용액 밀도 차이,  $\eta$ 는 carrier 용액의 점도,  $b$ 와  $L$ 은 채널의 폭과 길이,  $G$ 는 중력,  $V(a')$ 와  $V(b)$ 는 각각 inlet-a'와 outlet-b에서의 유속이다.

원하는  $d_c$ 와  $V(a')$ 를 선택하면, 식 (1)을 이용하여 outlet-a에서의 유속  $V(a')$ 와 outlet-b에서의 유속  $V(b)$  값을 구하여 설정할 수 있다.

분획효율은 fraction-a와 b에서 측정된 입자의 수의 백분율이며 식 (2)와 (3)으로 정의한다.

FE(%)for SF fraction-a =

$$\frac{\text{Number of particles smaller than } d_c \text{ among measured particles}}{\text{Total number of measured particles}} \times 100 \quad (2)$$

FE(%) for SF fraction-b =

$$\frac{\text{Number of particles larger than } d_c \text{ among measured particles}}{\text{Total number of measured particles}} \times 100 \quad (3)$$

시료회수율은 주입한 시료의 양과 분획된 시료의 양의 백분율로서, 식 (4)와 같이 정의된다.

Sample recovery(%) =

$$\frac{\text{Particle mass in collected fraction}}{\text{Total particle mass in sample}} \times 100 \quad (4)$$

## 3. 실 험

### 3.1. 시료

입자 크기가 2~8  $\mu\text{m}$ , 밀도는 1.14 g/mL의 PU 입자를 사용하였다. 시료의 응집과 박테리아 생성을 억제

하기 위하여 0.1% FL-70 (Fisher Chemical, New Jersey, USA)와 0.02% sodium azide,  $\text{NaN}_3$  (Sigma, St. Louis, USA)를 첨가한 6 L의 carrier 용액에 300 mg의 PU beads를 분산하여 0.02% (wt/vol) 농도로 설정하였다. 시료의 농도는 S. Lee 등의 연구를<sup>23</sup> 통해 확인된 시료농도와 분획효율의 관계를 참고, 보다 낮은 농도인 0.02%를 선택하였다.

**3.2. 대용량 중력장 SF 시스템 (Large scale splitter-less GSF System)**

대용량 중력장 SF 시스템은 Fig. 2에서와 같이 두 개의 Plexiglas™으로 된 block 사이에 끼워진 upper block, Mylar spacer, middle block 그리고 bottom block 으로 이루어져있다.

채널의 길이는 50 cm이고, 폭은 10 cm이다. 채널두께는 이전 연구에 대한 후속 연구 및 전체적인 경향성 비교를 위해 같은 두께 조건으로 100  $\mu\text{m}$  Mylar spacer와 다양한 두께의(800, 1000, 1200  $\mu\text{m}$ ) middle block을 이용하여 조절하였다. Inlet-a'에 분산시료 주입을 위하여 peristaltic pump (Masterflex, Barnant Company, USA)를 사용하였다.

**3.3. 광학 현미경 (Optical Microscope)**

입자 크기를 확인하기 위하여 광학 현미경(BX51TF, Olympus, Japan)을 사용하여 1000개의 PU 입자를 확인하였으며, Image Inside™(Focus, Korea) 프로그램을 사용하여 확인된 입자의 크기를 측정하여 분획효율 값을 계산하였다.

**4. 결과 및 고찰**

**4.1. 분획 조건**

다양한 실험 조건에서의 분획효율과 시료회수율을 관찰하기 위해 시료처리량은 4.2, 6 그리고 7.2 L/hr, 채널두께는 900, 1100 그리고 1300  $\mu\text{m}$  조건에서 분획을 진행하였으며, fraction-b의 분획효율을 증가시키기 위하여 fraction-b를 Fig. 3에서와 같이 반복 실험을 진행하였다.<sup>13</sup> PU 입자의  $d_c$ 를 5  $\mu\text{m}$ 로 하여 3회 분획하여 얻은 fraction-a, ba, bba, 그리고 bbb에 대한 분획효율 및 시료회수율을 계산하였다.

**4.2. 분획효율 (Fractionation efficiency, FE)**

위 조건에서 분획하여 얻은 분획효율을 Table 1과 Fig. 4에 정리하였다.

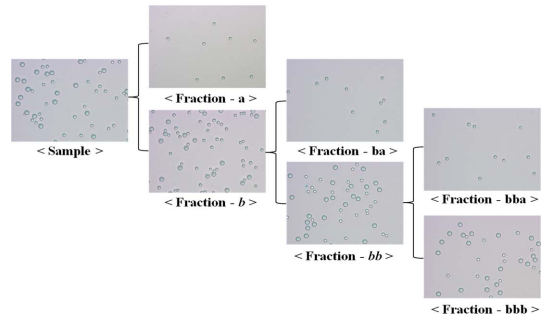


Fig. 3. Scheme of PU beads fractionation by large scale FFD-SF with cutoff diameter ( $d_c$ ) of 5  $\mu\text{m}$ .

Fraction-a, ba, bba의 결과를 보면, 채널 두께가 1100과 1300  $\mu\text{m}$ 일 때, 분획효율이 약 99%이상인 반면, 900  $\mu\text{m}$ 에서는 약 97%로 상대적으로 낮은 분획효율을 보였다. 시료가 채널을 통과하는 동안 분리가 일어나기 위해서는 입자가 중력과 침강계수의 영향을 받아 침강하기 위한 충분한 공간이 필요하지만, 채널 두께가 900  $\mu\text{m}$ 일 때에는 다른 경우에 비하여 공간이 좁으므로 분리가 충분히 일어나지 못하여 낮은 분획효율 값을 보이는 것으로 보인다.<sup>24</sup> 결과적으로 채널의 두께가 두꺼울수록 fraction-a의 분획효율을 감소시키지 않는 결과를 보인다.

SPLITT 이론에 의하면 다른 조건들은 고정된 상태에서  $V(a)$ 의 변할 때,  $V(a)$ 는 변하지 않기 때문에 Fraction-a, ba, bba의 결과로부터는 시료처리량에 따른 분획효율은 확인 할 수 없다. 하지만  $V(a)$ 이 변할 때,  $V(b)$ 도 변하기 때문에 outlet-b로 나오는 fraction-bbb의 결과로부터 시료처리량에 따른 분획효율을 확인하였다. 채널 두께와 상관 없이 분획효율이 증가함

Table 1. Fractionation efficiency of PU beads in SF-fractions

Channel thickness ( $\mu\text{m}$ )	TP (L/hr)	FE (%)			
		Fraction-a	Fraction-ba	Fraction-bba	Fraction-bbb
900	4.2	98.8	98.4	98.0	58.0
	6.0	97.2	97.3	97.4	63.5
	7.2	97.9	98.0	97.3	71.3
1100	4.2	99.0	99.1	99.4	55.2
	6.0	99.5	99.1	99.2	61.5
	7.2	99.1	99.1	99.2	65.3
1300	4.2	99.0	99.1	99.2	54.8
	6.0	99.1	98.9	99.1	59.9
	7.2	99.1	99.0	99.2	62.8

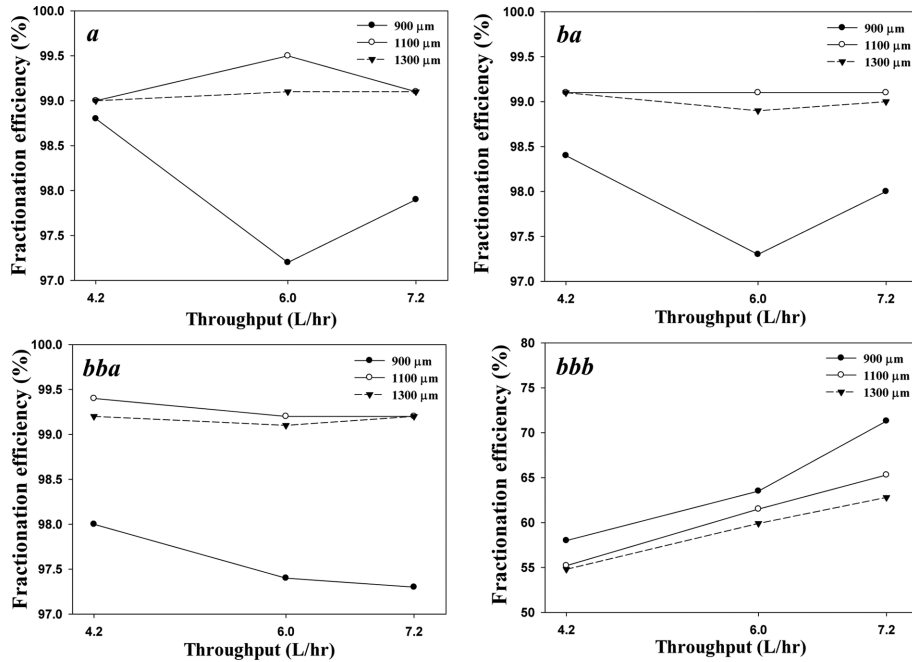


Fig. 4. Fractionation Efficiency (FE) of PU beads: fraction-*a*, *ba*, *bba*, and *bbb* in SF-fractions by validating channel thickness (900–1300  $\mu\text{m}$ ) and throughput (4.2–7.2 L/hr)

을 확인 할 수 있다. Fraction-*a*에서의 분획효율은 채널 두께가 두꺼울수록 감소하지 않았으며, 유속이 증가함에 따라 fraction-*b*의 분획효율을 높일 수 있음을 확인할 수 있다. 이와 같은 결과로부터 SF의 목표인 높은 시료처리량과 분획효율의 개선에 대한 가능성을 확인할 수 있다.

#### 4.3. 시료회수율 (Sample recovery)

시료회수율을 측정하기 위하여 0.45  $\mu\text{m}$  pore size를

가지는 cellulose nitrate membrane를 사용하여 여과된 PU 입자를 오븐건조 후 무게를 측정하여 계산하였다.

Table 2와 Fig. 5, 6은 식 (4)를 이용하여 얻은 시료 회수율을 보여준다. Fig. 5에서 나타난 것처럼 채널두께가 바뀔에 따라 시료회수율이 약간 변하였지만 전체적으로 약 95%의 시료회수율을 보여준다. 분리가 일어나는 동안 생기는 실험적 손실에 의해 시료회수율이 감소됐지만 95%로 다른 연구<sup>25-27</sup>에서 보여주고 있는 시료회수율 보다 높은 값을 보여주어 시료회수

Table 2. Particle mass and sample recovery in SF-fractions

Channel thickness ( $\mu\text{m}$ )	TP (L/hr)	Particle mass (mg)				Total	Recovery (%)
		Fraction- <i>a</i>	Fraction- <i>ba</i>	Fraction- <i>bba</i>	Fraction- <i>bbb</i>		
900	4.2	13.0	14.2	12.5	244.3	284.0	94.6
	6.0	13.5	13.9	14.0	245.6	287.0	95.6
	7.2	13.2	14.1	14.5	244.5	286.3	95.4
1100	4.2	14.7	13.0	10.9	248.2	286.8	95.6
	6.0	14.7	12.6	10.9	251.1	289.3	96.4
	7.2	15.1	12.4	10.6	249.0	287.1	95.7
1300	4.2	14.2	15.3	14.9	237.5	281.9	93.9
	6.0	14.6	14.9	14.8	238.1	282.4	94.1
	7.2	14.1	14.8	14.5	237.8	281.2	93.7

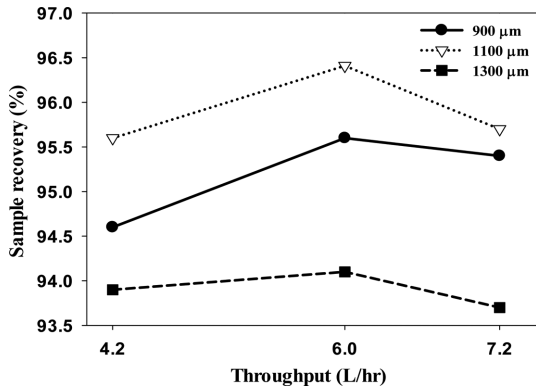


Fig. 5. Sample recovery in SF-fractions at various channel thicknesses (900~1300 μm) and throughput (4.2~7.2 L/hr).

율이 우수하다는 것을 확인할 수 있었다.

그리고 Fig. 6으로부터 1100 μm이 다른 두께보다 더 많은 fraction-a의 양이 분리된 것을 보여주고 있다. 이는 실용적인 측면에서 1100 μm가 다른 두께들보다 한 번의 분획만으로 더 많은 양을 분획을 할 수 있는

것을 보여주고, 또한 fraction-bbb의 결과에서도 다른 채널 두께들보다 1100 μm에서 수집된 입자의 무게가 더 큰 결과를 보여주어 1100 μm가 다른 두께들보다 시료회수율이 더 효율적임을 확인할 수 있었다.

### 5. 결 론

본 연구를 통해 채널 두께가 감소하면 fraction-a의 분획효율이 감소, 유속이 증가할수록 fraction-b의 분획효율이 증가하는 것을 확인하였으며, 결과적으로 2~8 μm 크기의 입자분획에서 채널두께는 1100 μm, 유속은 높을수록 효율이 좋은 것을 확인하였다. 또한, 시료회수율은 약 95%로 기존보다 높은 결과로, 본 연구에서 이용한 대용량 중력장 FFD-SF 시스템의 높은 성능과 응용가능성을 확인할 수 있었다.

이번 연구의 결과를 통해 시료처리량과 시료회수율 면에서 대용량 중력장 FFD-SF 시스템이 다양한 종류의 마이크로 크기의 산업입자 분획에 유용한 방법임을 확인할 수 있었으며, 나아가 더 많은 산업적 응용을 위해서는 나노입자 분획에 대한 연구가 필요하다.

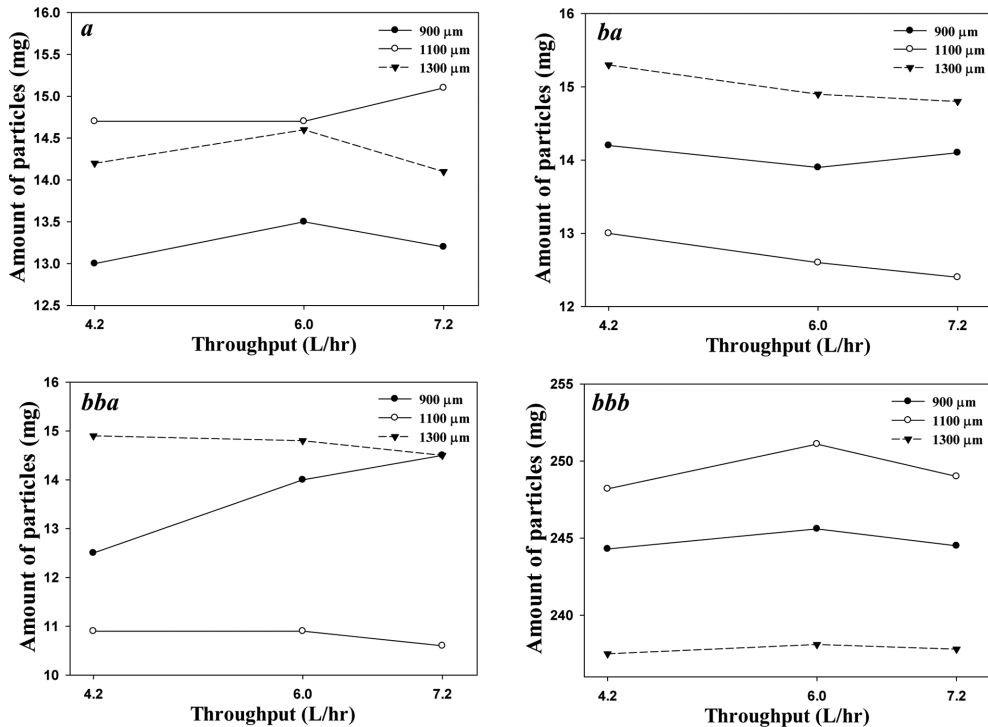


Fig. 6. Mass of PU beads in SF-fractions after SF fractionation at various channel thicknesses (900~1300 μm) and throughputs (4.2~7.2 L/hr).

## 감사의 글

The authors acknowledge the support provided by the National Research Foundation (NRF) of Korea.

## 참고문헌

1. J. C. Giddings, *Sep. Sci. Technol.*, **20**(9-10), 749-768 (1985).
2. S. R. Springston, M. N. Myers and J. Calvin Giddings, *Anal. Chem.*, **59**(2), 344-350 (1987).
3. S. Levin, M. N. Myers and J. C. Giddings, *Sep. Sci. Technol.*, **24**(14), 1245-1259 (1989).
4. Y. Gao, M. N. Myers, B. N. Barman and J. Calvin Giddings, *Part. Sci. Technol.*, **9**(3-4), 105-118 (1991).
5. J. C. Giddings, *Sep. Sci. Technol.*, **27**(11), 1489-1504 (1992).
6. P. S. Williams, S. Levin, T. Lenczycki and J. C. Giddings, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **31**(9), 2172-2181 (1992).
7. C. B. Fuh and J. C. Giddings, *Sep. Sci. Technol.*, **32**(18), 2945-2967 (1997).
8. C. B. Fuh, M. N. Myers and J. C. Giddings, *Anal. Chem.*, **64**(24), 3125-3132 (1992).
9. S. Levin and J. C. Giddings, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **50**(1), 43-56 (1991).
10. J. Zhang, P. S. William, M. N. Myers and J. C. Giddings, *Sep. Sci. Technol.*, **29**(18), 2493-2522 (1994).
11. C. B. Fuh, E. M. Trujillo and J. C. Giddings, *Sep. Sci. Technol.*, **30**(20), 3861-3876 (1995).
12. Y. Jiang, A. Kummerow and M. Hansen, *J. Microcolumn Sep.*, **9**(4), 261-273 (1997).
13. Y. Jiang, M. E. Miller, M. E. Hansen, M. N. Myers and P. S. Williams, *J. Magn. Magn. Mater.*, **194**(1), 53-61 (1999).
14. R. G. Keil, E. Tsamakakis, C. B. Fuh, J. C. Giddings and J. I. Hedges, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **58**(2), 879-893 (1994).
15. C. Contado, F. Dondi, R. Beckett and J. C. Giddings, *Anal. Chim. Acta*, **345**(1-3), 99-110 (1997).
16. F. Dondi, C. Contado, G. Blo and S. Garçia Martin, *Chromatographia*, **48**(9-10), 643-654 (1998).
17. M. H. Moon, D. Kang, H. Lim, J. E. Oh and Y. S. Chang, *Environ. Sci. Technol.*, **36**(20), 4416-4423 (2002).
18. M. H. Moon, S. G. Yang, J. Y. Lee and S. Lee, *Anal. Bioanal. Chem.*, **381**(6), 1299-1304 (2005).
19. S. Lee, T. W. Lee, S. K. Cho, S. T. Kim, D. Y. Kang, H. Kwen, S. K. Lee and C. H. Eum, *Microchem. J.*, **95**(1), 11-19 (2010).
20. C. B. Fuh, M. N. Myers and J. C. Giddings, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **33**(2), 355-362 (1994).
21. C. Contado and F. Dondi, *J. Sep. Sci.*, **26**(5), 351-362 (2003).
22. H. J. Choi, W. J. Kim, C. H. Eum and S. Lee, *Anal. Sci. Technol.*, **26**(1), 34-41 (2013).
23. S. Lee, J. Y. Lee, T. W. Lee, E. C. Jung and S. K. Cho, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **32**(12), 4291-4296 (2011).
24. A. De Momi and J. R. Lead, *Environ. Sci. Technol.*, **40**(21), 6738-6743 (2006).
25. C. Bor Fuh and S. Y. Chen, *J. Chromatogra. A*, **813**(2), 313-324 (1998).
26. G. Blo, C. Contado, D. Grandi, F. Fagioli and F. Dondi, *Anal. Chim. Acta*, **470**(2), 253-262 (2002).
27. H. Tsai, Y. S. Fang, and C. B. Fuh, *BMRT*, **4**:6, 1-7 (2006).