

## 고성능 이온 크로마토그래피에서 유기산의 크로마토그램 예측 연구

원혜진·<sup>1</sup>한선호·<sup>1</sup>박양순·<sup>1</sup>조기수·\*김인호  
<sup>1</sup>한국원자력연구소 원자력화학연구팀, 충남대학교 화학공학과  
(접수 : 2000. 1. 12., 게재승인 : 2000. 2. 21.)

### Prediction of Organic Acid Chromatogram in High Performance Ion Chromatography

Hye-Jin Won, Sun-Ho Han<sup>1</sup>, Yang-Soon Park<sup>1</sup>, Ki-Su Cho<sup>1</sup>, and In-Ho Kim<sup>\*</sup>  
Department of Chemical Engineering, Chungnam National University  
<sup>1</sup>Korea Atomic Energy Research Institute  
(Received : 2000. 1. 12., Accepted : 2000. 2. 21.)

In order to predict the chromatogram for organic acid in ion chromatography, Langmuir isotherm parameters were obtained by Retention Time Method(RTM) and moment method. Ion chromatography analysis for formic acid was performed and compared with theoretically predicted profiles under isocratic condition. Band profiles were estimated with the equilibrium-dispersive model of chromatography using a PDEsolver Macsyma<sup>®</sup>. The relationship between the characteristics of chromatogram and the variable operating condition in chromatography such as the flow rate, ionic strength and injection volume was studied. Satisfactory agreement was observed between the experimental and the estimated chromatograms with parameters obtained from the moment method.

**Key words** : simulation, organic acid chromatography, distribution coefficient

#### 서론

크로마토그래피는 혼합물이 고정상 및 이동상에 분배되는 성질을 이용한 분리법으로, 분석 등의 소규모 기기에서부터 대규모 흡착탑에 이르기까지 사용 범위가 광범위하다. 여러 산업분야의 관심의 증가로 인하여 생물 공학 연구에서 제조용 액체 크로마토그래피에서 실험조건을 최적화하는 것이 주요 관심사가 되었다(1).

크로마토그래피 단계에서 물질의 대규모 거동을 설명하고 경제조건을 결정하는데 많은 실험을 필요로 한다. 그러나 지난 몇 년 동안 컴퓨터의 발달로 크로마토그래피 시뮬레이션이 용이하게 되었고, 이에 크로마토그래피 모델링은 실험적 규모나 대규모의 실험을 가능한 줄여서 최적의 실험 조건을 얻고, 운전조건의 변화에 따른 크로마토그래피 피크를 예상하는데 중요한 역할을 하고 있다(2,3).

액체 크로마토그래피의 성능을 설명하기 위해 사용된 모델은 칼럼의 축방향 좌표와 시간의 함수로 이동상의 용질 농도가 표

현되며 편미분 방정식이 물질수지식으로 표기된다. 이는 크로마토그래피의 편미분 방정식을 적분함에 따라 혼합성분의 용출곡선도 재빨리 계산될 수 있게 하였다(3,4). 제조용 크로마토그래피를 이론적으로 해석하려는 많은 연구가 단백질에 대하여 Guiochon 연구 그룹(4-6)과 Snyder 연구 그룹(4)에서 이루어졌는데, 그 대표적인 모델식은 equilibrium-dispersive model이다. 분석용 크로마토그래피와는 달리 많은 양의 용질이 칼럼내에 주입되고 이때 칼럼내에서 축방향 분산과 고정상에서의 확산 현상, 성분에 대한 물질전달 속도 등과 같은 복잡한 문제들이 발생하므로, 수치 해석적 방법에 의해 쉽게 해를 구할 수 있다(1,5)

이동상과 고정상사이의 용질 농도의 관계는 화합물의 등온흡착식에 의하여 표현되는데, Langmuir 등온흡착식은 실험 데이터와 좋은 일치율을 보여준다(5). Langmuir 등온흡착식에서의 파라미터 값들은 다양한 실험을 통하여 얻을 수 있는데, 이들 파라미터는 RTM과 moment method를 이용하여 계산될 수 있다.

그 동안 HPLC나 이온 교환 크로마토그래피(IEC)에서 단백질의 거동에 대한 연구가 많이 이루어졌는데, 본 연구에서는 등온매 조건하에 유기산이 이온 크로마토그래피 칼럼으로부터 용출될 때의 크로마토그램의 특성을 연구하였다. 여러 가지 운전변수(이온강도, 유속, 유기산의 주입 농도, 유기산의 주입량)를 다르게 하여 크로마토그래피 실험을 수행하였고, 이 실험에서 얻은 데이터와 RTM과 moment method를 통해 얻어진 Langmuir 등온흡착식 파라미터를 토대로 equilibrium-dispersive model을 적

\* Corresponding author . Department of Chemical Engineering, Chungnam National University, 220 Kungdong, Yuseong, Taejeon 305-764, Korea

Tel : 042-821-5685, Fax : 042-822-8995

E-mail : ihkim@hanbat chungnam.ac.kr

용시켜 수치 모사한 결과를 비교하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 크로마토그래피 이론

이온 크로마토그래피에서 칼럼을 통과하는 용질의 거동을 설명하기 위하여 equilibrium-dispersive model이 사용되었다. 이 모델에서는 고정상과 이동상 사이에 순간적인 평형이 일어나고, 칼럼내의 물질전달은 오직 층진 입자 주위를 흐르는 이동상의 분자 확산에 의해 지배된다고 가정한다(6).

이 모델에서의 물질 수지식은 다음과 같이 쓸 수 있다.

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} + F \frac{\partial q_i}{\partial t} + u \frac{\partial C_i}{\partial z} = D_{i,a} \frac{\partial^2 C_i}{\partial z^2} \quad (1)$$

여기서,  $C_i$ 와  $q_i$ 는 각각 이동상과 고정상내의  $i$ 성분의 농도이고,  $z$ 는 칼럼길이,  $t$ 는 시간,  $u$ 는 이동상의 선속도이며,  $F$ 는 고정상과 이동상의 phase ratio로써  $(1-\epsilon)/\epsilon$ 로 주어지며, 여기서  $\epsilon$ 는 칼럼의 총 공극율을 나타낸다.  $D_{i,a}$ 는 겔보기 축방향 분산 계수로 비가역현상을 유발하는 모든 요인 - 축방향 확산 소용돌이 확산, 물질전달 속도 - 을 포함한 항이라 할 수 있다.

만약 선형 크로마토그래피에서 칼럼의 이론단수(HEPT)  $H$ 를 안다면,  $D_{i,a}$ 는 다음 식으로부터 계산되어진다.

$$D_a = \frac{Hu}{2} \quad (2)$$

(1)식을 풀기 위해서는 초기조건과 경계조건이 필요하다(7) 초기조건은,

$$C_i(x, 0) = 0 \quad t = 0 \quad (3)$$

용질은 칼럼에 펌프로 주입되고, 주입 시간은  $t_p$ 이다. 용질이 주입되는 동안 입구 경계조건은

$$C_i(0, t) = C_i^0 \quad 0 < t \leq t_p \quad (4)$$

이고, 출구 경계조건은 다음과 같다

$$\frac{\partial C_i}{\partial z} = 0 \quad t > t_p \quad (5)$$

#### 흡착등온식 (Adsorption Isotherm)

Equilibrium-dispersive model에서 흡착 등온식은 이동상과 평형에 있는 고정상내에 용질의 농도 함수로 간단히 관계지어줄 수 있다. Langmuir 등온흡착식은 비교적 넓은 농도 범위에서 흡착실험 데이터와 잘 일치한다고 보고되고 있다.

$$q = \frac{aC}{1 + bC} = \frac{bq_s C}{1 + bC} \quad (6)$$

여기서,  $a$ 와  $b$ 는 흡착등온식의 모양을 결정짓는 수치계수로, 이 파라미터는 실험을 통해 얻을 수 있다.  $q_s$ 는 매우 높은 이동상의 농도에서의 고정상에 흡착되어지는 농도 한계치로 두 파라미터의 비( $q = a/b$ )로써 표현되며, 고정상의 포화용량(saturation

capacity)이라고 한다(6).

이온 크로마토그래피에서는 용질 성분과 이온 교환기 사이의 관계를 수학적으로 표현할 때 이동상의 이온 강도가 중요하며, 이것을 토대로 흡착등온식을 유도할 수 있다. Yamamoto 등은 용질 성분의 분배 계수  $K$ 를 이동상의 이온 강도  $I$ 에 의존하는 함수로 다음과 같이 표현하였다(8).

$$K = A \cdot I^B + K_c \quad (7)$$

여기서,  $K_c$ 는 이온 강도가 매우 높을 때, 즉 용질이 고정상의 이온 교환기와 결합하지 않았을 때의 분배 계수이며,  $A$ ,  $B$ 는 실험으로 결정되는 물리적인 파라미터들이다.

#### Langmuir Parameter a, b의 결정

##### (1) Retention Time Method

Retention Time Method(RTM)(6)는 등온흡착식의 계수를 계산하는데 사용된다. 매우 적은 양의 용질을 주입할 때, 선형 조건 하에 체류시간  $t_r$ 은 등온흡착식의 초기 기울기에 비례한다. Langmuir 등온흡착식에 대하여 용출 피크는 매우 날카로운 모양을 보이며, 체류시간은 오직 칼럼의 포화용량과 용질의 크기의 비를 나타내는 loading factor,  $L_f$ 의 함수로 표현된다.

$$a = \frac{t_r - t_0}{F t_0} \quad (8)$$

$$b = \frac{L_f F (t_r - t_0)}{n_m} \quad (9)$$

$$L_f = \left[ 1 - \sqrt{\frac{t_r - t_0 - t_p}{t_r - t_0}} \right]^2 \quad (10)$$

여기서,  $a$ 와  $b$ 는 (6)식에서의 계수,  $t_r$ 은 실험에 의해 얻어진 체류시간,  $t_0$ 는 이동상의 체류시간,  $F$ 는 phase ratio,  $t_p$ 는 피크 앞부분의 체류시간,  $t_p$ 는 펄스 주입 시간,  $F$ 는 이동상의 유속, 그리고  $n_m$ 은 용질의 주입량을 나타낸다.

##### (2) Moment Method

크로마토그래피에서 용출 곡선의  $n$ 번째 모멘트는 다음과 같이 나타낸다.

$$m_n = \int_0^\infty C(t) \cdot t^n dt \quad (11)$$

$C(t)$ 는 칼럼의 출구에서의 시간에 따른 용질의 농도의 함수로서 용출 곡선을 나타낸다. 1차 절대 모멘트(first absolute moment)는 다음과 같이 나타낸다.

$$m'_1 = \frac{\int_0^\infty C(t) \cdot t dt}{\int_0^\infty C(t) dt} \quad (12)$$

1차 절대 모멘트  $m'_1$ 은 용출 곡선의 평균 체류 시간(mean residence time)이고, 이는 매개변수 추산에서 가장 중요하게 사용되는 모멘트이다. 이보다 더 높은 모멘트는 실험적인 용출 곡선을 계산하였을 때의 피크 퍼짐으로 인한 찌그러짐을 나타낸다(9-11).

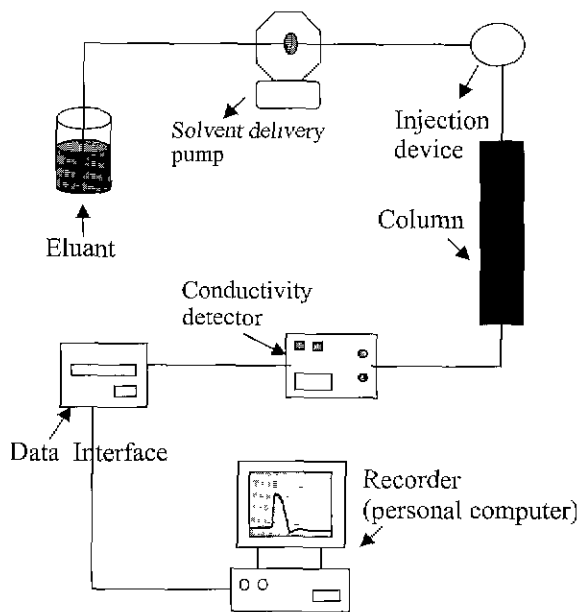


Figure 1. Schematic diagram of the apparatus.

모멘트 방법을 적용하기 위한 수학적 모델식에서는 고정상 주위의 이동상에서의 축방향 확산(axial dispersion)과 이동상과 고정상사이의 물질전달, 고정상 내부에서의 확산, 그리고 고정상 외부에서의 1차 가역흡착이라는 가정 하에 선형 흡착식을 사용한다. 이 모델식의 해는 수학적으로 계산이 어렵지만, Laplace transform에 의해 용출 곡선의 moment를 계산하여 피크의 평균 체류 시간의 해석을 시도할 수 있다.

선형계(linear system)에서 크로마토그램의 체류 시간을 의미하는  $m'_1$ 은 고정상과 이동상 사이의 분배 계수(distribution coefficient)  $K$ 를 포함한 식으로 다음과 같이 표현된다.

$$m'_1 = \frac{L}{u_0} [\varepsilon + (1 - \varepsilon)\beta(1 + K)] \quad (13)$$

여기서  $L$ 은 칼럼의 길이,  $u_0$ 는 superficial velocity( $u_0 = u\varepsilon$ ),  $\varepsilon$ 는 칼럼의 공극율이고,  $\beta$ 는 칼럼내 입자의 다공도를 의미한다(12).

### (3) Parameter b fitting by simulation

Langmuir 파라미터를 구하는데 있어서, RTM은 chromatography 실험을 통해 얻은 데이터로부터 (8)~(10)식을 이용하여  $a$ 와  $b$ 를 구할 수 있게 된다. 그러나 moment method에서는 파라미터  $a$ 를 얻기 위한 정보만을 제공한다. 따라서 Langmuir 등온흡착식에 맞추기 위해서 파라미터  $b$ 에 대하여 임의의 값을 대입하였다. 임의의 값으로 우선 RTM에 의하여 얻어진 값을 기본으로 하였으며,  $b$ 값을 변화시켜 경향성을 살펴보고, 실험 데이터와 가장 잘 맞는 값을 선택하였다.

### 크로마토그래피 실험

모든 실험은 등용매 조건에서 Figure 1과 같이 Dionex 300 Chromatography System (U.S.A.)을 사용하였다.

용리액은 AGP(Advanced Gradient Pump, Dionex)에 의해 이송되며 칼럼은 IonPac AS12A(200×4 mm I.D., packed particle size : 9.0  $\mu$ m)를 사용하였으며, 검출기는 Pulsed Electrochemical

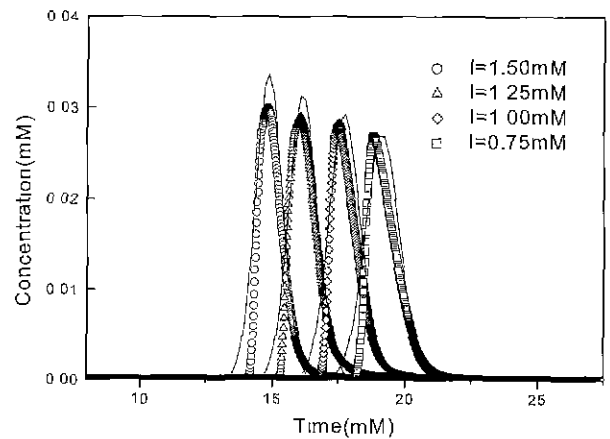


Figure 2. Effect of various ionic strength of NaOH on retention time.  $\circ, \triangle, \diamond, \square$  : experiments, — : simulations.

Detector(Conductivity mode, Dionex)를 사용하였다. 크로마토그램의 analogue signal은 computer interface를 통해 전환되며, Dionex's PeakNet Software(V4.30)에 의하여 저장된다.

이 실험에 사용된 용리액은 등용매 조건으로 칼럼에 공급되었다. 일반적인 실험을 수행할 경우 30%-5 mM NaOH와 70%-Water 혼합액을 사용하였고, 이동상 내에 잔존하는 공기를 제거하기 위해 헬륨을 이동상의 저장용기에서 탈기시켰다. 또한 NaOH함량을 30, 25, 20, 15%로 변화시켜 이온강도의 다른 영향을 살펴보았다.

이 실험에 사용된 유기산 용질은 가장 적은 탄소수를 지니고 있는 formic acid를 사용하였고, 일반적인 실험은 2 mM의 formic acid로 수행되었다. 주입농도에 따른 영향을 살펴보기 위하여 4, 6, 8 mM formic acid를 사용하였다. 이동상은 1 mL/min으로 칼럼을 통과시키거나, 0.9~1.2 mL/min으로 변화시켰고, 주입부피는 25  $\mu$ L를 기준으로 칼럼에 주입시켰다.

### Simulation

식(1~6)을 기초로 한 모든 계산들은 Pentium PC에서 편미분 방정식 solver인 Macsyma program(Macsyma Inc., Arlington, MA, U.S.A)을 사용하여 실행시켰다(13).

### 결과 및 고찰

#### 이온 강도에 따른 영향

용리액의 이온 강도 변화에 따른 실험치와 수치모사치의 결과는 Figures 2~4에서 볼 수 있다. Figure 2는 동일한 용질 농도에서 NaOH의 이온 강도(0.75, 1.00, 1.25, 1.5 mM)를 변화시켰을 때의 크로마토그램이다. 이온 강도가 커질수록 체류시간이 짧아졌다. 이는 고정상과 이동상내의 용질 성분간의 상호작용이 작게 이루어져 고정상내 오래 머무르지 못하고 빨리 용출됨을 의미한다.

RTM이나 moment method에 의하여 Langmuir 파라미터  $a$ 를 구하거나  $K$ 를 구할 수 있다. 이때 농도가 작은 범위에 있을 때에는 Langmuir 등온흡착식에서  $a$ 와  $K$ 의 값이 접근한다. Figure 2에서 수치모사한 결과는 각각의 이온 강도에서 이동상의 유속을 변화시켜  $m'_1$ 과  $L/u_0$ 의 관계로부터 얻은 분배 계수  $K$ 와 data

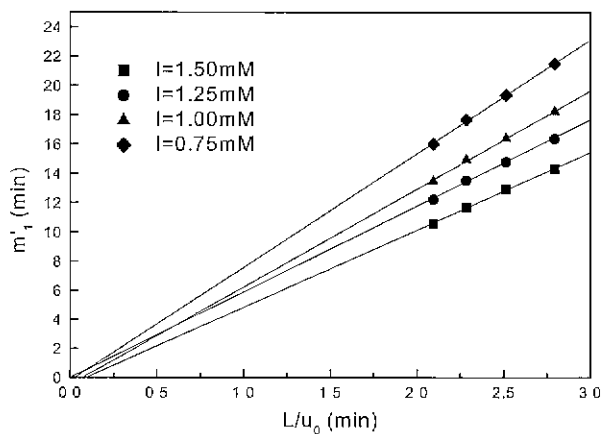


Figure 3. Experimental relationships between  $m_1$  and  $L/u_0$  for various ionic strength.

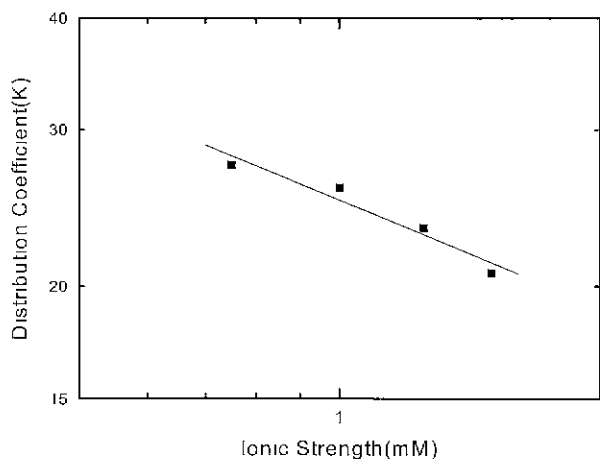


Figure 4. Relationship between distribution coefficient and ionic strength of NaOH

fitting에 의해 수행되었다. 그 결과 실험치와 수치모사치가 잘 일치함을 볼 수 있었다

Figure 3은 (13)식에서 용담 곡선의 체류시간을 나타내는 1차 moment  $m_1$ 과  $L/u_0$ 의 관계를 각각의 이온 강도에 대하여 plot한 그림이다. 그림에 보듯이 이온 강도가 증가할수록 직선의 기울기가 감소하였다. 분배 계수  $K$ 는 Figure 3에서 직선의 기울기로부터 계산되어질 수 있다. 이온 강도 변화에 따른 분배계수  $K$ 의 변화를 Figure 4에 나타내었다.

이온 강도가 증가할수록 직선의 기울기가 점차 감소함을 앞서 확인 할 수 있었다. 따라서 기울기로부터 얻어지는 분배 계수  $K$ 는 점차 감소하였고, 이는 Yamamoto에 의하여 실험되었던 저압·중압 이온 교환 칼럼에서 이온 강도와 분배 계수와의 관계가 고압 크로마토그래피 칼럼인 이온 교환 HPLC에서도 잘 적용될 수 있음을 보여 준다.

**주입농도에 따른 영향**

Figures 5와 6에서는 투입되는 유기산의 농도 변화에 따른 크로마토그램의 변화를 도시하였다. Figure 5에서는 RTM방법에 의하여 수치모사한 결과와 실험 결과와의 비교를 보여주며, Figure 6에서는 moment method에 의하여 수치모사한 결과와 실험의 비

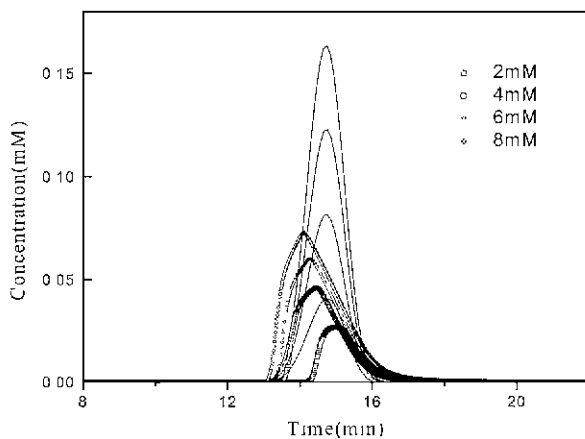


Figure 5. Comparison of simulated and experimental chromatography with parameters a, b obtained by RTM method under the change of injection sample concentration.

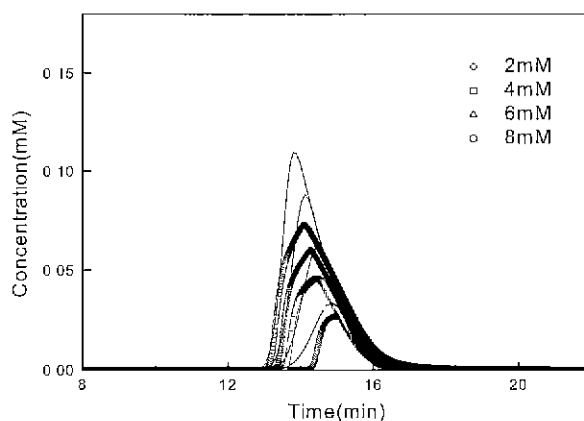


Figure 6. Comparison of simulated and experimental chromatography with parameters a, b obtained by moment method and data fitting under the change of injection sample concentration

교를 보여준다. 용질의 주입 농도가 증가할수록 실험과 수치모사 결과 모두에서 피크의 모양이 점점 비대칭 형태가 되면서 용출되는 시점이 앞으로 당겨지는 현상을 볼 수 있다. 이것은 고정상과 이동상내 용질 성분사이의 분배가 잘 이루어지지 않고, 연속적인 용리액의 흐름에 의해 용질 성분이 고정상에서 제대로 이온 교환을 하지 못하여 생기는 현상이다.

등온 흡착곡선의 경우 이동상내 용질의 농도가 낮은 경우에는 등온곡선의 선형구간에서 거동한다. 본 연구에서는 낮은 농도의 유기산 용질을 사용하여 Langmuir 등온흡착선의 선형 부분의 기울기를 모델식에 이용하였기 때문에 실험치와 수치 모사의 결과가 차이를 보인 것으로 생각되어진다. 등온흡착식 수치 모사에 사용된 파라미터는 두 모델식에 의해 계산된 값을 이용하였는데, 본 연구에서는 RTM보다 moment method와 data fitting에 의해 얻어진 파라미터로 수치 모사하였을 경우 실험치와 더 잘 일치하는 것을 볼 수 있었다.

**유속에 의한 영향**

Figures 7과 8은 이동상의 유속 변화에 따른 크로마토그램의 변화를 보여준다.

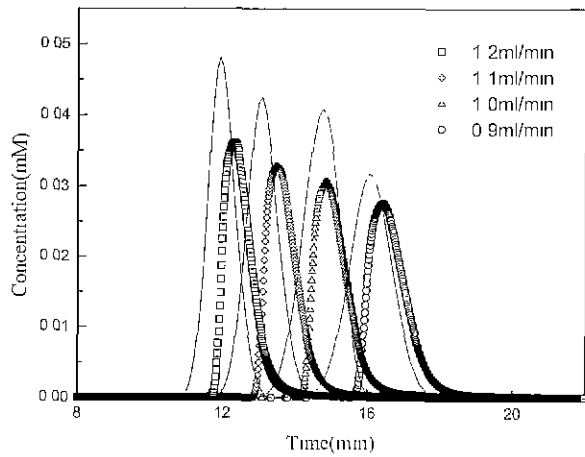


Figure 7. Comparison of simulated and experimental chromatography with parameters *a*, *b* obtained by RTM method under the change of flow rate of mobile phase.

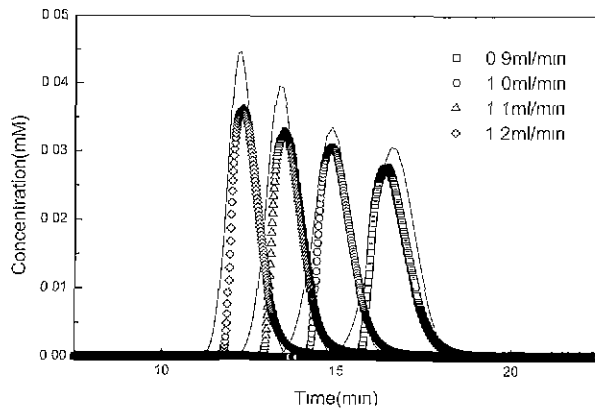


Figure 8. Comparison of simulated and experimental chromatography with parameters *a*, *b* obtained by moment method and data fitting under the change of flow rate of flow rate of mobile phase

실험은 NaOH의 이온 강도가 15 mM인 조건에서 수행되었으며, 이동상의 유속이 증가할수록 빨리 용출되게 되며, 체류 시간이 감소로 인하여 피크의 모양이 날카로워 지는 것을 볼 수 있다.

Figure 7에서는 RTM방법에 의하여 수치모사한 결과와 비교를 보여주고 있으며, Figure 8에서는 moment method에 의하여 수치 모사한 결과와의 비교를 보여준다. 유속에 의한 영향을 수치 모사할 때도 주입 농도에 의한 영향을 고려할 때와 같이 두 모델에 의해 등온흡착식의 파라미터가 계산되어졌으며, moment method와 data fitting에 의해 얻어진 결과가 실험과 보다 잘 일치함을 볼 수 있었다.

요 약

크로마토그래피의 거동을 수치 모사하기 위하여, retention time method와 moment method에 의해 계산된 파라미터들을 흡착 등온선 모델식에 사용하였다. 이 경우, 이론치와 비교하기 위해서 등온 조건하에 유기산 이온 크로마토그래피 실험을 수행하였고, 크로마토그래피의 거동을 설명하는 수학적 모델로 equilibrium-dispersive model을 사용하였다. Moment method에서

는 평균체류시간을 나타내는 1차 모멘트,  $m'_1$ 와 분배 계수  $K$ 의 관계로 나타낼 수 있으며, 실험을 통해 분배 계수는 쉽게 구해질 수 있다

유전 변수의 변화에 따른 크로마토그램의 특성을 살펴보기 위해서 유기산의 농도, 이동상의 유속, 용액의 이온 강도 그리고 용질의 주입량을 변화시켜 수치모사를 수행하였다. 각각의 조건에 대해서 크로마토그램은 용질의 농도가 증가할수록, 유속이 증가할수록, 이온 강도가 증가할수록 평균 체류 시간이 감소하고 날카로운 피크를 얻을 수 있었으며, retention time method에서 보다 moment method와 data fitting에 의해 계산된 파라미터들이 실험치와 더 잘 일치함을 볼 수 있었다.

본 연구를 바탕으로, gradient 조건에서 유기산에 대한 이온 크로마토그래피의 거동 연구로 확장할 수 있다.

사 용 기 호

- A, B empirical parameters (dimensionless)
- a* constant in Langmuir isotherm for sample component (dimensionless)
- b* : adsorption equilibrium constant for sample component (mL/ $\mu$ g)
- C* : concentration of the solute in mobile phase ( $\mu$ g/mL)
- $D_a$  : apparent dispersive coefficient (cm<sup>2</sup>/min)
- F* : phase ratio (dimensionless)
- F* : flow rate of mobile phase (mL/min)
- K* : distribution coefficient of formic acid (dimensionless)
- $K_c$  : distribution coefficient of protein at high ionic strength (dimensionless)
- H* : height equivalent to a theoretical plate of column (cm)
- I* : ionic strength (mM)
- L* : column length (cm)
- $L_i$  : loading factor (dimensionless)
- $m'_1$  : first absolute moment (min)
- $n_m$  : amount of sample injected ( $\mu$ g)
- q* : concentration of the solute stationary phase ( $\mu$ g/mL)
- $q_b$  : saturation capacity of stationary phase ( $\mu$ g/mL)
- t* : time (min)
- $t_0$  : mobile phase hold-up time (min)
- $t_r$  : retention time of the band front (min)
- $t_p$  : pulse injection time of sample (sec)
- $t_{r0}$  : retention time (min)
- u* : interstitial velocity (cm/min)
- $u_0$  : superficial velocity (cm/min),  $u_0 = u \epsilon$

그리스 문자

- $\beta$  : porosity of particle
- $\epsilon$  : total porosity of column

REFERENCES

1. Kim, I. H., S. M. Lee and W. S. Whang (1999), Simulation of Preparative Protein Chromatography, Korean J Biotechnol. Bioeng.,

- 14**, 371-376.
2. Bowers, J. S., P. M. Gioioso, D. C. Wylie and M. Voloch (1997), Applying Chromatography Simulation to Scale Up from Analytical Scale Experimentals, Schering-Plough Research Institute, 1101 Morris Avenue, Union, NJ07083.
  3. Felinger, A. and G. Guiochon (1994), Rapid Simulation of Chromatographic Band Profiles on Personal computers. *J. of Chromatography A*, **658**, 511-515.
  4. Kim, I. H. and B. H. Chung (1994), Modeling of Protein Chromatography, *CHEMICAL INDUSTRY and TECHNOLOGY*, **12**, 316-326.
  5. Felinger, A. and G. Guiochon (1998), Comparing the Optimum Performance of the different Modes of Preparative Liquid Chromatography, *J. of Chromatography A*, **769**, 59-74.
  6. Guiochon, G., S. Golshan-Shirazi and A. M. Katti (eds.) (1994), Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography, pp49-135, Academic Press, Boston, MA
  7. Bellot, J. C. and J. S. Condoret (1991), Liquid Chromatography Modelling : A Review, *Process Biochemistry*, **26**, 363-376
  8. Yamamoto, S. K. Nakanishi and R. Matsuno (1988), Ion-exchange Chromatography of Proteins, Marcel Dekker, New York.
  9. Kim, I. H. and J. T. Kim (1998), Pulse Response Test in Medium Pressure Protein Chromatography. *Korean J. Biotechnol. Bioeng* **15**, 575-579.
  10. Lee, J. W. and K. H. Row (1997), Comparison and Estimation of Equilibrium Constants for Deoxyribonucleosides by Plate Theory and Moment Method, *J. of Korean Ind. & Eng. Chemistry*, **8**, 403-409.
  11. Motoyuki Suzuki (1990), Adsorption Engineering. pp. 125-135. Kodansha. Tokyo.
  12. Ghim, Y. S. and H. N. Chang (1982). Adsorption Characteristics of Glucose and Fructose in Ion-Exchange Resin Columns, *Ins. Eng. Chem. Fundam.*, **21**, 369-374.
  13. Macsyma Inc. (1996), PDEase2DTM Reference Manual, Arlington, MA.