

역상 액체 크로마토그래피에 의한 Pd(II) - Isonitrosoethylacetoacetate Imine 유도체 킬레이트들의 용리 거동

김인환[†] · 신한철 · 이만호* · 윤태건** · 강창희*** · 이 원****

대구대학교 사범대학 화학교육과

*경북대학교 공과대학 공업화학과

**한국표준과학연구원 검교정 CRM 센터

***제주대학교 자연과학대학 화학과

****경희대학교 문리과대학 화학과

(1992. 10. 26 접수)

Elution Behavior of Pd(II) - Isonitrosoethylacetoacetate Imine Chelates by Reversed Phase High Performance liquid Chromatography

In-Whan Kim[†], Han-Chul Shin, Man-Ho Lee*, Tai-kun Yoon**, Chang-Hee Kang***, Won Lee****

Department of Chemistry Education, Taegu University, Kyongsan 713-714, Korea

*Department of Industrial Chemistry, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

**Calculation and CRM Center, Korea Research Institute of Standards and Science, Taejon 305-606, Korea

***Department of Chemistry, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea

****Department of Chemistry, Kyunghee University, Seoul 130-701, Korea

(Received Oct. 26, 1992)

요약. 역상 액체 크로마토그래피에 의하여 Pd(IEAA-NR)₂ (R=H, CH₃, C₂H₅, n-C₃H₇, C₆H₅-CH₂, n-C₄H₉) 킬레이트의 용리 거동을 Micropak MCH-5 분리관을 사용하여 연구하고, 아울러 동시 분리분석에 미치는 흐름속도, 이동상의 세기, 분리관의 온도 등 여러 가지 인자들의 영향을 조사 검토하였다. 용리액으로 methanol/water의 이성분 용매를 사용하였으며, 모든 금속 킬레이트의 용매 세기 인자는 $0 \leq \log k' \leq 1$ 의 범위임을 확인하였고, 각 금속 킬레이트의 $\log k'$ 와 이성분용매 중의 물의 부피분율을 도시한 결과 직선 관계가 성립하였다. 또한 배치법으로 측정된 분포비(D_c)값과 k'값을 도시하여 본 결과 직선관계가 성립됨으로써 금속 킬레이트의 용리 메카니즘이 주로 소용매성 효과, 즉 소수성효과에 기인함을 확인하였다. 또한 금속 킬레이트의 머무름에 미치는 용량 인자와 온도와의 관계를 알아본 결과 좋은 직선성을 나타내고 있으며, 직선의 기울기로부터 엔탈피(ΔH)와 엔트로피(ΔS)를 구하고, 엔탈피와 용량 인자와의 관계로부터 금속 킬레이트의 머무름이 반드시 엔탈피와 관련되어 있다고 할 수 없으며 구조적 성질과도 관계가 있는 것으로 여겨진다.

Abstract. Liquid Chromatographic behavior of Pd(II) in Isonitrosoethylacetoacetate Imine, Pd(IEAA-NR)₂ (R=H, CH₃, C₂H₅, n-C₃H₇, C₆H₅-CH₂, n-C₄H₉) chelates were investigated by reversed-phase HPLC on Micropak MCH-5 column using methanol/water

as mobile phase. The optimum conditions for the separation of Pd(IEAA-NR)₂ chelates were examined with respect to the effect of the flow rate, sample solvent, mobile phase strength and column temperature.

It was found that metal chelates were properly eluted in an acceptable range of capacity factor value ($0 \leq \log k' \leq 1$). The dependence of the logarithm of capacity factor (k') on the volume fraction of water in the binary mobile phase was examined. Also, the dependence of k' on the liquid-liquid extraction distribution ratio (D_c) in methanol-water/*n*-alkane extraction system was investigated. Both kinds of dependence are linear, which suggests that the retention of the electroneutral metal chelate is largely due to the solvophobic effect.

Standard adsorption enthalpy changes (ΔH°) and standard adsorption entropy changes (ΔS°) of Pd(II) Isonitrosoethylacetoacetate imine chelates on Micropak MCH-5 column were calculated by measuring capacity factor with changing temperature of the column.

Key Words : Reversed-phase liquid chromatography, Pd(II)-Isonitrosoethylacetoacetate imine chelates

1. 서 론

최근 각종 의약품, 농약, 식품, 생체 및 환경시료 중에 함유되어 있는 유기물질의 분석 뿐만 아니라, 금속이온의 분리 및 정량 등과 같은 무기 분석화학 분야에 이르기까지 고성능 액체 크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)의 응용범위가 확대되어 가고 있다^{1~5}.

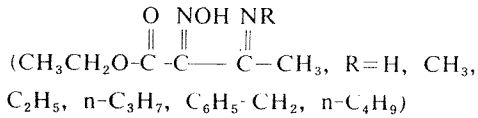
HPLC에 의한 금속 이온의 분리방법은 여러 가지로 나눌 수 있지만, 그 중에서도 금속 이온을 적당한 킬레이트 시약으로 반응시켜 금속 킬레이트를 형성시킨 다음 역상법(reversed phase)^{6~14}에 의한 분리가 주로 이용되고 있는데, 이때 사용되는 킬레이트 시약에는 β -diketone 류^{15~19}, dithiocarbamate(DTC)^{20~23}, dithizone^{24,25}, 8-hydroxyquinoline²⁶ 등이 있다. 지금까지 역상 HPLC를 이용한 유·무기 혼합 시료의 동시 분리 및 분석 방법의 개발에 대한 연구도 활발히 진행되고 있으며, 시료가 용리되는 메커니즘을 규명하고 머무름을 예측할 수 있는 연구 또한 다각적으로 이루어지고 있다.

이 중에서 본 연구와 관련된 β -diketone 금속 킬레이트를 HPLC에 의하여 분리를 시도한 연구내용을 살펴보면 1972년 Huber¹⁵ 등이 acetylacetone(ACAC)의 Be(II), Cu(II) 등 6종의 금속 킬레이트를 분리하였음을 보고한 이래로 1978년 Tollinche¹⁶와 1982년 Gurira¹⁸ 등에 의해 HPLC에 의한 금속 킬레이트의

분리가 보고된 바 있다. 또 β -diketone의 isonitroso화 반응에 의한 α -isonitroso- β -diketone류의 일종인 isonitrosoacetylacetone(H-IAA) 및 isonitrosobenzoylacetone(H-IBA)의 금속 킬레이트를 역상 HPLC로 분리하는 데 관한 연구가 1988년 Lee 등²⁷에 의해서 발표되었다. 이 연구에서는 Novapak C₁₈ 분리관을 사용하여 H-IAA의 경우 acetone/acetonitrile/water(25/25/50)을 용리액으로 Pd(II), Co(III)의 킬레이트들을 동시 분리 정량하였고, H-IBA의 경우에는 acetonitrile/water(70/30)을 용리액으로 Pd(II), Co(III)의 킬레이트를 분리하였다. 그리고 비극성 C₁₈ 분리관을 사용한 역상 액체 크로마토그래피에서 금속 킬레이트의 분리를 위한 용리거동 및 머무름 메커니즘에 관한 연구가 F. Vlácil 등²⁸에 의해 이루어졌는데, 여기서는 착물의 머무름이 주로 소용매성 상호작용(solvophobic interaction)에 의해 일어난다는 것을 확인하였고 다른 모든 착물의 머무름에도 이러한 결과가 적용될 것으로 예상하였다.

한편, 본 연구에서 사용한 α -isonitroso- β -diketone류의 Isonitrosoethylacetoacetate(H-IEAA)의 imine 유도체들은 Pd(II) 금속 이온과 반응하여 1:2의 몰비를 갖는 착물을 형성하는데, 2개의 IEAA-NR 이민 리간드가 모두 isonitroso기(=N-O)의 질소 원자를 통하여 금속에 배위되어 대칭적인 5원-5원 고리를 가진 비교적 안정된 분자내 착물을 형성한다고 알려져 있다²⁹.

본 연구에서는 Isonitrosoethylacetoacetate(H-IEAA)의 imine 유도체



를 리간드로 하는 Pd(II) 킬레이트들, 즉 Pd(IEAA-NR)₂들을 Micropak MCH-5 분리관을 사용하여 역상 액체 크로마토그래피에 의한 분리 가능성 및 용리 거동을 알아보기 위해 여러 가지 최적 분리 및 기기 조건을 측정하였다. 아울러 금속 킬레이트의 용리 거동에 미치는 리간드의 효과를 조사하기 위해 리간드의 alkyl기의 변화에 따른 용리거동을 서로 비교하기 위한 용량인자(k', capacity factor)와 분포계수(Dc, distribution coefficient)등 금속 킬레이트의 머무름 메카니즘에 영향을 주는 몇 가지 인자들과 온도에 따른 열역학적 관계 등³⁰⁻³³을 조사 검토하였다.

2. 실험

2.1. 측정기기 및 실험기구

본 연구에서 금속 킬레이트의 분리에 사용한 HPLC는 Varian 사제 Model Vista 5500 liquid chromatograph로 영인과학사의 Young-in model D520A integrator가 부착된것이고 분리관은 Micropak MCH-5 column(4.00 I.D × 15cm L., k'=14.3 particle size 5μm)을 사용하였다. 또한 금속 킬레이트의 분포비 측정에는 Milton Roy 사제 Spectronic 1201 UV-Vis Spectrophotometer를, 합성한 금속 킬레이트 구조 확인에는 Perkin-Elmer 283 elemental analyzer, Mattson Galaxy 6030E FT-IR spectrophotometer, Bruker AM-300 FT-NMR Spectrometer를 사용하였다. 또한 분리관의 온도 조절은 Universal column heater를 사용하였으며 모든 실험에서 사용된 물의 정제에는 Millipore water system(Milli-Ro20) Milli-Q Reagent water purification system을 사용하였다. 또한 시료의 주입에는 Hamilton 사제 10μl Micro syringe를 사용하였다.

2.2. 시약

본 연구에서 금속 킬레이트의 합성에 사용한 amine류 (ammonia, methylamine, ethylamine, n-propylamine, n-benzylamine 및 butylamine) 및 모든 시약들은 1급 또는 특급 시약으로서 정제하지 않고 사용하였다.

Isonitrosoethylacetoacetate(H-IEAA)는 문헌³⁴에 따라 합성하였다. 또한 용리액 및 시료의 용매로 사용한 methanol, acetonitrile, methylenechloride, methylisobuthylketone 등은 HPLC용 Burdick & Jackson Lab. Inc. 사제, 그리고 n-dodecane, n-hexane은 Aldrich 사제로써 Millipore membrane filter(type FH, pore size 0.45μm)로 걸러 사용하였다. 모든 실험에서 사용한 물은 탈염장치를 통과시킨 후 정제하여 사용하였다. 합성한 Pd(IEAA-NR)₂ 킬레이트들은 재결정하여 진공 데시케이터에 보관하였다.

2.3. 실험방법

2.3.1. 금속 킬레이트의 합성 및 분리

문헌²⁹에 따라 PdCl₂(0.35g, 0.002mol) 및 H-IEAA(0.63g, 0.004mol)을 에탄올 40ml 에 녹이고 30% NH₄OH 0.0048mol을 가한 후 4시간 교반환류시킨 다음 용액을 증발시키고 생성된 침전물을 거르고 난 후 에탄올-클로로포름(1:1)으로 재결정하여 Pd(IEAA-NH)₂를 얻고, 합성한 Pd(IEAA-NH)₂를 여러 가지 아민들과의 아민 교환 반응으로 Pd(IEAA-NR)₂(R=CH₃, C₂H₅, n-C₃H₇, C₆H₅-CH₂, n-C₄H₉)를 합성하였다. 즉, Pd(IEAA-NH)₂(0.42g, 0.001mol)를 에탄올-크로로포름(1:1) 50ml 에 녹이고 alkylamine 0.02mol을 가한 후 4시간 교반 환류시켰다. 이 용액을 증발시키고 생성된 침전물을 거르

Table 1. HPLC operating condition

Description	Condition
Column	Micropak MCH-5(4.00mmID×15cm L, k'=14.3, particle size5μm)
Mobile phase	MeOH/H ₂ O(73/27)
Flow rate	0.7 ml /min
Injector volume	4 μl
Detection	UV254mm, AUFS0.02
Chart speed	0.5cm/min

고 난 후 에탄올-클로로포름 (1 : 1)으로 재결정하였다. 그리고 각 금속 킬레이트 일정량을 취하여 CH₃CN 등 적당한 용매에 녹여 일정 농도로 묽힌 후 micro syringe로 4 μ l를 취하여 시료 주입구에 주입하고 Table 1의 HPLC 최적 분리 조건하에서 분리시켰다.

2.3.2. 용량인자(k')의 측정

각 금속 킬레이트의 용리거동을 나타내는 용량인자는 앞에서 기술한 2.3.1의 방법에 따라 얻어진 크로마토그램으로부터 다음 식에 따라 계산하여 구하였다.

$$k' = \frac{t - t_0}{t_0}$$

여기서 k'는 용량인자(capacity factor), t는 머무름 시간(retention time)이며 t₀는 불감시간(dead time)이다.

2.3.3. 금속 킬레이트의 분포비 측정

벡터법으로 금속 킬레이트의 머무름 순서와 그 베카니즘을 조사하기 위하여 고정상의 모델인 n-dodecane과 n-hexane 혼합용액 (1 : 1) 10m/를 취하여 분별 깔대기에 넣고 각 금속 킬레이트의 용액 일정량을 10 μ l micro syringe로 가하였다. 여기에 용리액으로 사용한 극성 유기용매와 불의 혼합액인 methanol과 water를 섞은 이 성분 혼합용액을 10m/씩 가한 다음 15분간 진탕시켜 금속 킬레이트가 두 상에 충분히 분배되도록 하였다.

두 층으로 분리시킨 후 각 상에 분포된 금속 킬레이

트의 농도를 자외가시선 분광법으로 흡광도를 측정하여 구한 다음 다음 식에 따라 분포계수를 구하였다.

$$D_c = C_{M,org}/C_{M,aq}$$

여기서 D_c는 분포비, C_{M,org}는 유기층의 금속 킬레이트의 농도, C_{M,aq}는 물층의 금속 킬레이트의 농도이다. 이때 측정파장은 HPLC 검출파장과 같은 254nm이다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 용리액의 흐름 속도에 대한 영향

일반적으로 용리액의 흐름속도는 분리도와 전체 용리시간에 영향을 미치므로 Pd(IEAA-NR)₂ 킬레이트의 분리도와 관계를 조사하기 위하여 용리액의 흐름속도를 Table 2에 수록하였다.

결과에서 보면 흐름속도가 0.5m/ /min에서 0.9m/ /min로 증가할수록 머무름 시간은 감소하지만 상대적 머무름 시간은 거의 일정하였다. 따라서 흐름속도가 커질수록 시료의 용리시간이 짧아지므로 시료의 용리에 적당한 것으로 생각되지만 흐름속도가 커지면 분리관의 압력이 서서히 증가하며 장시간 많은 양의 시료를 용리시킬 경우 머무름 시간, 봉우리 넓이 및 분리도의 재현성을 감소시킬 가능성이 있다. 따라서 이와 같은 점을 고려하면 분리도 및 봉우리 넓이가 가장 이상적이고, 전체 시료의 용리시간이 적당하며, 반복 실험시 머무름 시간의 재현성이 가장 좋은 0.7m/ /

Table 2. Effect of flow rate on the retention time of Pd(IEAA-NR)₂ chelates.

Metal Ion	Alkyl groups	Amount Added (μ g/ml)	Flow rate (ml/min)				
			0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
			Retention time (min.)				
Pd	H	50	4.16	3.62	3.04	2.73	2.38
	Methyl	50	5.08	4.49	3.73	3.39	2.93
	Ethyl	50	6.85	6.67	5.07	4.67	3.99
	Propyl	50	11.38	10.38	8.48	7.82	6.71
	Benzyl	50	15.49	14.25	11.61	10.07	9.05
	Butyl	50	23.61	21.28	17.58	16.04	13.62

Mobile phase : MeOH / H₂O (73/27)

Injection volume : 4 μ l

Table 3. The peak area and retention time of Pd(IEAA-NR)₂ chelates in solvents.

Metal Chelate	Amount Added ($\mu\text{g/ml}$)	Solvent	Retention Time (min)	Peak Area ($\times 10$)
Pd(IEAA-NH) ₂	50	CH ₃ CN	2.99	16.65
		CH ₃ OH	2.98	15.8
		CH ₂ Cl ₂	3.01	27.9
		MIBK	3.05	14.9
Pd(IEAA-N-CH ₃) ₂	50	CH ₃ CN	3.65	23.1
		CH ₃ OH	3.64	24.4
		CH ₂ Cl ₂	3.80	31.7
		MIBK	3.72	22.6
Pd(IEAA-N-C ₂ H ₅) ₂	50	CH ₃ CN	4.91	23.5
		CH ₃ OH	4.91	22.3
		CH ₂ Cl ₂	5.19	27.4
		MIBK	4.91	19.5
Pd(IEAA-N-C ₃ H ₇) ₂	50	CH ₃ CN	8.11	33.1
		CH ₃ OH	8.06	17.1
		CH ₂ Cl ₂	8.66	26.8
		MIBK	8.20	14.6
Pd(IEAA-N-C ₆ H ₅ -CH ₂) ₂	50	CH ₃ CN	11.30	37.5
		CH ₃ OH	—	—
		CH ₂ Cl ₂	11.98	20.8
		MIBK	11.28	7.9
Pd(IEAA-N-C ₄ H ₉) ₂	50	CH ₃ CN	17.05	48.9
		CH ₃ OH	16.80	50.2
		CH ₂ Cl ₂	17.94	23.4
		MIBK	17.09	12.7

min가 가장 적당한 흐름속도라고 생각된다.

3.2. 시료용매가 분리도에 미치는 영향

시료를 녹이는 용매에 따라 용리거동에 어느 정도 영향을 미칠 것으로 생각되어 대표적인 용매 CH₃CN, CH₃OH, CH₂Cl₂, MIBK 등을 사용하여 용매에 따른 머무름시간과 봉우리 넓이를 Table 3에 나타내었다.

결과에서 보면, 용매-용리액 사이의 상호작용은 금속 킬레이트의 용리거동에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 따라서 본 연구에서는 이들 금속 킬레이트를 동시 분리시키기 위하여 적당한 용리시간과 봉우리 넓이를 나타낸 CH₃CN를 시료용매로 사용하였다.

3.3. 용매 세기의 영향

용매의 세기가 분리도에 미치는 영향을 조사한 결과 용리액의 세기에 따른 일련의 크로마토그램을 Fig 1에 나타내었다. 물의 분율이 증가할수록 전반적으로 좋은 분리도를 나타내고 있으나 (D), (E)의 경우는 용리시간이 너무 길어지고 봉우리의 폭이 넓어짐을 볼 수 있었다. 여기서 적당한 용리시간을 고려하면 가장 좋은 분리도를 보여 주는 것은 (C)의 경우(73/27)이다.

이상과 같이 용리액의 혼합비에 따라 Pd(IEAA-NR)₂ 킬레이트의 크로마토그램으로부터 구한 용매 세기값(log k')과 Snyder 식³⁶으로부터 구한 혼합용매의 용매세기(eluotropic strength, ϵ^*)를 도시하여 얻어진 결과는 Fig. 2와 같다.

결과에서 보는 바와 같이 각 혼합용액의 용매세기에

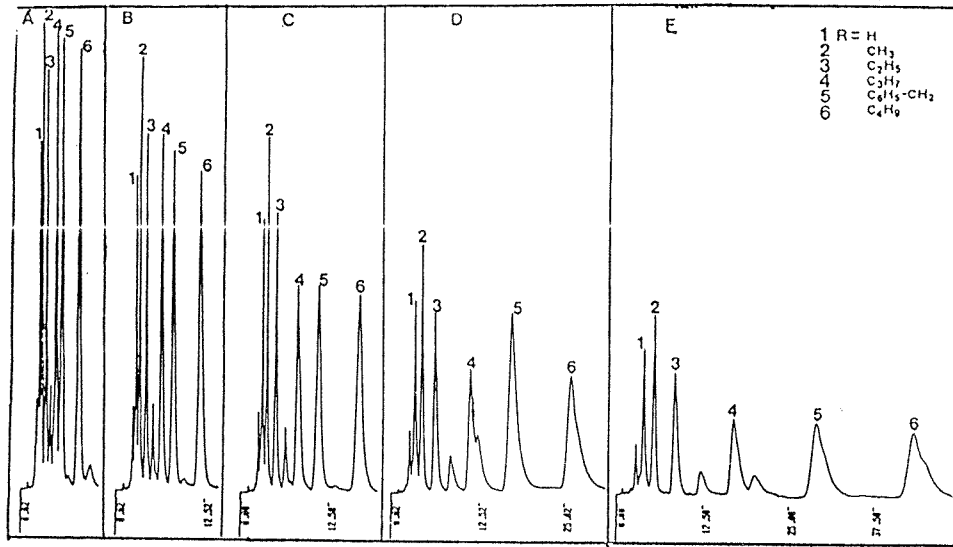


Figure 1. Chromatogram of Pd(IEAA-NR)₂ chelates as a function of mobile phase composition
 Mobile Phase ; MeOH/water
 (A) 80/20 (B) 75/25 (C) 73/27 (D) 70/30 (E) 65/35
 Flow rate ; 0.7 ml /min.

따른 Pd(IEAA-NR)₂ 킬레이트의 log k'과의 관계는 비교적 좋은 직선성을 보여 주고 있다.

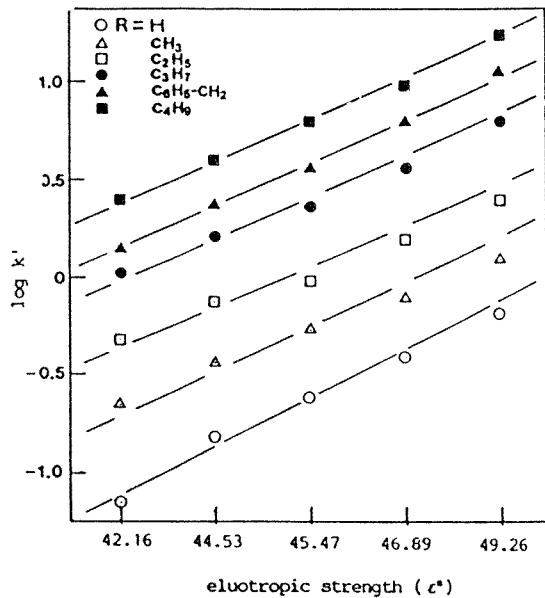


Figure 2. Relationship between: eluotropic strength (ϵ^*) of the mobile phase and $\log k'$ of Pd(IEAA-NR)₂ chelates.

이때 $\log k'$ 값의 최적 조건^{35,36}인 $0 \leq \log k' \leq 1$ 범 위에는 만족하지는 않지만, 비교적 금속 킬레이트의 분리가 잘 되는 동시에 용리시간 및 봉우리 폭넓힘 현 상이 줄어드는 methanol/H₂O의 비율이 73/27($\epsilon^* = 45.47$)인 것을 용리액으로 선택하였다.

3.4. Pd(IEAA-NR)₂ 킬레이트의 머무름 메카니즘

3.4.1. 용량인자(k')와 용리액의 조성과의 관계

실리카겔에 옥타데칸기가 화학적으로 결합된 역상 HPLC 분리관내에서 ML₂형 금속 킬레이트의 머무름 이 주로 소용매성 메카니즘에 의해서 일어난다면, 머 무름을 나타내는 용량인자(k')와 이성분 용매계의 물 의 부피분율(ϕ_{H_2O})은 다음과 같은 관계가 성립한다 고 알려져 있다^{28,32,38,39}.

$$\log k' = \log a + b \phi_{H_2O} \quad (1)$$

여기에서 a 및 b는 실험적으로 얻어진 상수이다. 따라 서 본 연구에서는 금속 킬레이트를 분리함에 있어서 이동상으로 물과 methanol의 이성분 혼합용매를 사용 하여 이동상에서의 물의 부피분율 (ϕ_{H_2O})과 $\log k'$ 과의 관계를 조사하였다.

그 이유는 Pd(IEAA-NR)₂ 킬레이트가 거의 소용매성 메카니즘에 의해 머무름이 일어난다면 식(1)에서 알 수 있듯이 직선적인 관계가 성립할 것이기 때문이다. 실험결과를 이성분 용매계에 대한 ϕH₂O 대 log k'를 도시한 것을 Fig. 3에 나타내었다. 결과에서 보는 것처럼 log k'가 이동상에서의 목의 부피분율(ϕH₂O)에 대하여 직선적인 관계를 갖는 것으로 보아 Pd(IEAA-NH)₂ 킬레이트의 머무름은 소용매성 효과, 즉 소수성 효과(hydrophobic effect)에 크게 기인한다는 사실을 알 수 있었다.

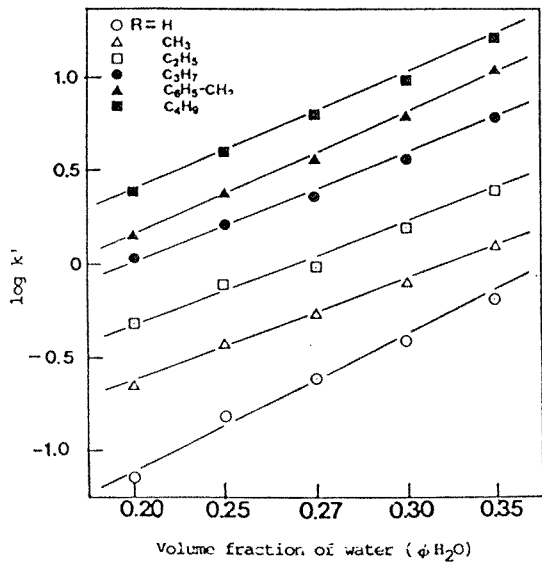


Figure 3. Dependence of log k' of Pd(IEAA-NR)₂ chelates on the volume fraction of water in mixture with methanol.

3.4.2. 용량인자(k')와 분포비(D_C)간의 관계

Pd(IEAA-NH)₂ 킬레이트의 머무름이 실제로 소수성효과(hydrophobic effect)에 기인한다면, 본 연구에서 사용한 역상 HPLC의 분리관 내에서 일어나는 상호작용은 배치법에 의해 금속 킬레이트와 물을 혼합한 극성용매와 n-dodecane/n-hexane 유기용매상에서 분배되는 경우에도 비슷하게 일어나야 한다. 즉, 역상 HPLC에서 금속킬레이트의 용량인자(k')는 배치법에서 얻어진 분포비(D_C)와 간단한 선형함수관계를 가져야 하며 그 관계식은 다음과 같다²⁸.

$$k' = (V_m/V_M - 1) + \gamma'D_C \quad (2)$$

여기에서 V_m은 분리관 내의 이동상의 부피, V_M은 불감부피(dead volume)이며, γ' = jγ로 주어지는데, γ = m_s/V_M이다. m_s는 정지상의 질량이며, j는 상관계수이며 일정한 값이다. 그리고 분포비 D_C =

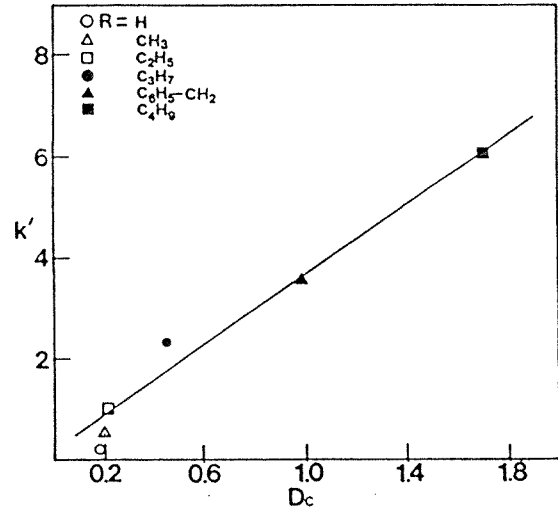


Figure 4. Dependence of capacity factor(k') of Pd(IEAA-NR)₂chelates on their distribution ratio(D_C) for the extraction from aqueous methanol into n-alkane.

Table 4. Capacity factor(k') and liquid-liquid distribution ratio(D_C) of Pd(IEAA-NR)₂ chelates.

Metal chelate	k'	D _C
Pd(IEAA-NH) ₂	0.24	0.18
Pd(IEAA-N-CH ₃) ₂	0.52	0.20
Pd(IEAA-N-C ₂ H ₅) ₂	1.04	0.22
Pd(IEAA-N-C ₃ H ₇) ₂	2.36	0.45
Pd(IEAA-N-C ₆ H ₅ -CH ₂) ₂	3.62	0.94
Pd(IEAA-N-C ₄ H ₉) ₂	6.05	1.71

Determination of distribution ratio : D_C = C_{M,aq}/C_{M,org}

Aqueous phase : MeOH/Water (73/27)

Organic phase : n-dodecane/n-hexane

Shaking time : 15 min

$C_{M,org}/C_{M,aq}$ 이다. 본 연구에서는 이와 같은 상관관계가 성립되는가를 확인하기 위해서 배치법에 의해 비극성 모델로서 n-dodecane/n-hexane(1:1)을 사용하였고 물과 methanol 혼합액(27/73)을 써서 각각의 Pd(IEAA-NR)₂ 킬레이트의 D_C 값을 측정하였다. 측정된 D_C 값을 k' 값과 함께 Table 4에 수록하였으며 k' 과 D_C 의 관계는 Fig. 4에 나타내었다.

결과적으로 금속 킬레이트의 용리순서와 분배계수의 순서가 일치하고, k' 값과 분포비(D_C)는 직선적인 관계를 가지며 식(2)을 만족하고 있다. 따라서 금속 킬레이트의 머무름은 분리관내에서나 분리관이 아닌 배치법에서도 마찬가지로 주로 소용매성 효과에 기인한다는 사실을 재확인할 수 있었다.

3.4.3. 용량인자(k')와 엔탈피(ΔH°) 및 엔트로피(ΔS°)

Pd(IEAA-NH)₂ 킬레이트의 머무름에 대한 온도의 영향을 검토하기 위하여 용리액을 온도 25°C로부터 10°C 간격으로 65°C까지 변화시킨 분리관에서 용리시키면서 시료들의 용량인자(k')와 엔탈피 및 엔트로피 값과의 관계를 살펴보았다. 그 결과를 Table 5에 나타내었다.

그리고 그로마토그래피에서 시료의 머무름은 용량인자(k')값으로 나타낼 수 있는데, Gibbs 자유에너지와 평형상수는 $\Delta G^\circ = RT \ln k'$ 및 $\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$ 의 관계가 있으므로 용량인자(k')는 다음 식과 같이 시료가 이동상에서 고정상으로 전이될 때의 엔탈피 변화와 엔트로피 변화로 나타낼 수 있다^{40,42,43}.

$$\ln k' = -\Delta H^\circ/RT + \Delta S^\circ/R + \ln \Phi \quad (3)$$

여기에서 Φ 는 고정상과 이동상의 부피비이다.

따라서 $\ln k'$ 과 $1/T$ 관계를 도시하면 직선성을 보일 것이고, 그 직선의 기울기와 절편으로부터 표준전이 엔탈피와 표준전이 엔트로피를 구할 수 있다. 일반적으로 $\ln \Phi$ 는 0에 가까우므로 본 연구에서는 MCH-5

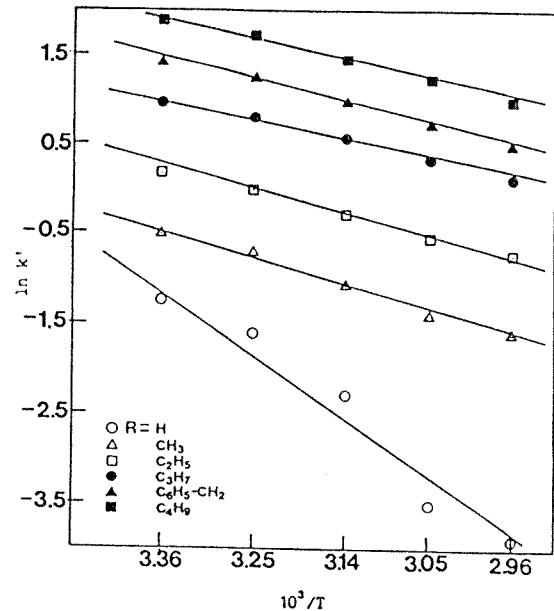


Figure 5. Van't Hoff plot for $\ln k'$ in the Micropak MCH-5 column.

Table 5. Effect of temperature on the $\ln k'$ for Pd(IEAA-NR)₂ chelates

Pd(IEAA-NR) ₂ chelates	$\ln k'$ at temperature (°C)					$-\Delta H^\circ$ (kcal/mol)	ΔS° (kcal/mol K)
	25	35	45	55	65		
R = H	-1.24	-1.61	-2.30	-3.51	-3.91	14.514	-0.0487
CH ₃	-0.51	-0.73	-1.08	-1.43	-1.61	5.828	-0.0186
C ₂ H ₅	0.17	-0.01	-0.27	-0.53	-0.71	4.573	-0.0130
n-C ₃ H ₇	0.97	0.81	0.57	0.34	0.17	4.341	-0.0160
C ₆ H ₅ -CH ₂	1.40	1.22	0.96	0.71	0.47	4.720	-0.0111
n-C ₄ H ₉	1.89	1.71	1.45	1.22	0.97	4.659	-0.0988

Mobile phase : MeOH/Water (73/27)

Flow rate : 0.7 ml /min.

Injection volume : 4 μ l

Column에 관한 자료가 없기 때문에 그 대신 이미 보고된 μ -Bondapak C₁₈ Column의 값 ($\Phi=1/2.6$)⁴²을 인용하여 나머지 항을 계산하였다. 현재까지 알려진 바에 의하면 ODS 분리관의 경우, 온도가 증가함에 따라 머무름은 감소되고 엔탈피는 증가되는 것으로 알려져 있다⁴³. Table 5 및 Fig. 5에서 보면, 모든 엔탈피의 값은 음의 값이며, ΔS° 값은 $-\Delta H^\circ$ 값에 비해 무시해도 좋을만큼 작은 값을 나타내고 있다. 또한 비교적 높은 온도 주위에서 용량인자와 온도와의 관계로부터 좋은 직선성을 나타내므로 Pd(IEAA-NR)₂ 킬레이트의 머무름은 물의 어는 점까지도 소수성효과(hydrophobic)가 작용함을 나타내 주고 있다⁴⁴.

3.4.4. 용량인자(k')와 엔탈피-엔트로피 보정현상과의 관계

Melander 등은 어떤 온도에서 측정된 용량인자와 그에 대응하는 엔탈피 사이에 직선관계가 있다는 것은 자유에너지와의 관계를 밝혀 주는 엔탈피-엔트로피 보정현상에 기인한다는 것으로 설명하였으며, 이것은 전체적인 자유에너지의 변화와 그에 대응하는 엔탈피의 변화 사이에 직선관계가 나타나는 현상을 말해 준다⁴⁴⁻⁴⁶.

만약 그러한 관계가 있다면, 근본적으로 평형과정 혹은 화학반응은 각각 isoequilibrium 혹은 isokinetic 과정이라 말할 수 있으며, 다음과 같이 나타낼 수 있다⁴⁷⁻⁵⁰.

$$\Delta H^\circ = \beta \Delta S^\circ + \Delta G^\circ_\beta \quad (4)$$

여기서 β 는 보정온도로서 일련의 화학반응들에서 그 과정에 관련된 속도나 평형상수의 변화량이 0이 되는 온도를 말한다.

한편, 식 (4)는 $\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$ 와 결합하여 일정 온도 T에서의 자유에너지 변화인 ΔG_T° 로 나타낼 수 있다.

$$\Delta G_T^\circ = \Delta H^\circ - (1-1/\beta) + T\Delta G^\circ_\beta / \beta \quad (5)$$

위 식은 보정온도가 조건 변화에 대하여 일정하면 그 머무름은 메카니즘도 일정하다는 것을 나타낸다. 온도변화에 따라서 반응메카니즘이 변하지 않고 엔탈

피가 일정하다면, (3)식에 의한 Van't Hoff Plot가 직선관계를 갖는다. (3)식과 (5)식을 합하면 다음과 같다.

$$\ln k'_T = -\Delta H^\circ/R(1/T-1/\beta) - \Delta G^\circ_\beta/R - \ln \Phi \quad (6)$$

여기서 k'_T 는 온도 T에서의 용량인자이고 β 는 보정 온도로서 일련의 화학반응들에서 그 과정에 관련된 속도나 평형상수의 변화량이 0이 되는 온도를 말한다. 본 연구에서는 온도(T)를 변화시켜 가면서 측정된 시료의 용량인자(k'_T)와 그에 해당하는 엔탈피 변화가 직선성을 나타내고 있는지를 알아 보았으며, 그 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 결과에서 보는 바와 같이 직선성이 없는 것으로 보아 보정현상이 일어났다고 볼 수는 없다.

이러한 결과로부터 금속킬레이트의 용리거동은 반드시 엔탈피 변화에만 관련되어 있다고 할 수 없으며, 구조적 성질과도 관계가 있는 것으로 생각되어진다.

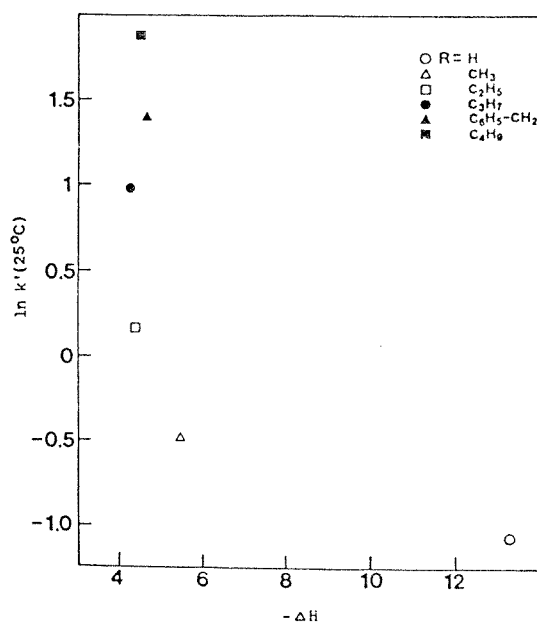


Figure 6. Plot of $\ln k'$ vs $-\Delta H^\circ$ values of Pd(IEAA-NR)₂ chelates.

인용문헌

1. K. Saitoch, N. Suzuki, *J. Chromatogr.*, **109**, 33(1975).
2. P. E. Antle, C. A. Tolman, *J. Organometal.*, **159**, C5(1978).
3. S. K. Haajibrahim, P. J. C., Tibetts, C. D. Watts, J. R. Maxwell, G. Eglinton, H. Colin, G. Guiochon, *Anal. Chim.*, **50**, 549(1978).
4. D. W. White, R. C. Bachmann, B. F. Burnham, "The Porphyrins", D. Dolphin Ed., vol. 1. chap. 12, Academic Press, New York, 1979.
5. D. W. Hausler, L. T. Taylor, *Anal. Chem.*, **53**, 1223(1981).
6. J. M. Greenwood, H. Veening, B. R. Willefond, *J. Organometal. Chem.*, **38**, 345(1969).
7. A. M. Bond, G. G. Wallace, *Anal. Chim. Acta*, **164**, 223(1984).
8. A. M. Bond, G. G. Wallace, *Anal. Chem.*, **56**, 2085(1984).
9. R. M. Smith, A. M. Butt, A. Thakur, *Analyst*, **100**, 35(1985).
10. J. N. King, J. S. Friz, *Anal. Chem.*, **59**, 703(1987).
11. W. Lee, D. W. Lee, Y. J. Kim, *J. Korean Chem. Soc.*, **19**, 79(1981).
12. I. Susumu, Y. Mitsuru, *Bunseki Kagaku*, **E 319**, 31(1982).
13. I. Susumu, T. Morita, Y. Mitsuru, *J. Liq. Chromatogr.*, **7**, 2467(1984).
14. I. Sumumu, M. Toshihiro, et al., *Bunseki Kagaku*, **32**, 285(1983).
15. F. K. Huber, J. C. Kraak, H. Veening, *Anal. Chem.*, **44**, 1554(1972).
16. C. A. Tollinche, T. H. Risby, *J. Chromatogr. Sci.*, **16**, 448(1978).
17. P. C. Uden, I. E. Bigley, F. H. Walters, *Anal. Chim. Acta*, **100**, 555(1978).
18. R. C. Gurira, P. W. Carr, *J. Chromatogr. Sci.*, **20**, 461(1982).
19. I. Suaumu, H. Noriko, Y. Mitsuru, *Anal. Chem.*, **60**, 2099(1988).
20. M. S. Roger, M. B. Arif, T. Arun, *Analyst*, **110**, 35(1985).
21. O. Lisk, G. Guiochon, H. Colin, *J. Chromatogr.*, **171**, 145(1979).
22. M. Masataka, H. Yohei, E. Massaru, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **54**, 3369(1981).
23. S. Young-Tzung, W. C. Peter, *Anal. Chim. Acta*, **142**, 55(1982).
24. D. E. Henderson, R. Chaffee, F. P. Novak, *J. Chromatogr. Sci.*, **19**, 79(1981).
25. M. Lohmuller, P. Heizmann, K. Ballschmiter, *J. Chromatogr.*, **137**, 165(1977).
26. C. S. Hamball, P. R. Haddad, *Chromatographia*, **13**, 663(1980).
27. W. Lee, W. K. Jeong, I. W. Kim, D. W. Lee, *J. Kor. Soc. Anal. Sci.*, **1**, 19(1988).
28. F. Vlacil, V. Hamplova, C. Czecho, *Chem. Commun.*, **50**, 2221(1985).
29. Y. S. Jun, M. H. Lee, I. W. Kim, S. H. Kim, *J. Korean Chem. Soc.*, **35**, 368(1991).
30. A. Nahum, Horvath, *J. Chromatogr.*, **203**, 53(1983).
31. W. R. Melander, C. Horvath, *Chromatographia*, **18**, 353(1984).
32. P. Jandera, H. Colin, G. Guiochon, *Anal. Chim.*, **54**, 435(1982).
33. H. Colin, A. Krstulovis, G. Guiochon, Z. Yun, *J. Chromatogr.*, **255**, 295(1983).
34. R. Adams, *Org. Reac.*, **7**, 353(1960).
35. D. L. Saunders, *Anal. Chim.*, **46**, 479(1974).
36. L. R. Snyder, J. J. Kirkland, "Introduction to Modern Liquid Chromatography", 2nd Ed., pp49-66, Wiley, New York(1979).
37. J. L. Glajch, J. J. Kirkland, K. M. Squire, J. M. Minor, *J. Chromatogr.*, **199**, 57(1967).
38. A. Hulanicki, *Talanta*, **14**, 1371(1967).
39. J. Narkievicx, M. Jaroniec, M. Borowko, A. Patrykiew, *J. Chromatogr.*, **157**, 1(1978).
40. L. R. Synder, *J. Chromatogr.*, **179**, 167(1979).
41. Y. H. Lee, J. H. Lim, C. H. Kang, and W. Lee, *J. Kor. Soc. Anal. Sci.*, **3**, 313(1990).
42. L. C. Sander, L. R. Field, *Anal. Chem.*, **52**, 2009(1980).

43. Y. Arai, M. Hirukawa and T. Hanai, *J. Chromatogr.*, **384**, 279(1987).
44. W. Melander, D. E. Campbell, C. Horvath, *J. Chromatogr.*, **158**, 215(1978).
45. J. H. Knox, G. Vasvari, *J. Chromatogr.*, **83**, 181(1973).
46. C. Horvath and W. Melander, *J. Chromatogr. Sci.*, **15**, 393(1977).
47. J. Hine, "Physical Organic Chemistry", pp81-93, McGraw-Hill, New York (1972).
48. L. P. Hammett, *Chem. Rev.*, **17**, 125(1935).
49. R. Lumry and S. Rajender, "*Biopolymers*", **9**, 1125(1970).
50. J. Laffier and E. Grunwald, "Rates and Equilibria of Organic Reactions", Wiley, New York (1963).