

5원자 헤테로고리 화합물을 이용한 Mg^{2+} 의 정량

徐戊龍[†] · 李心星 · 金載祥 · 朴泰明*

경상대학교 자연대 화학과

*순천공업전문대학 환경공학과

(1993. 6. 28. 접수)

Determination of Mg^{2+} using 5-membered Heterocyclic Compound

Moo Lyong Seo[†], Shim Sung Lee, Jae Sang Kim, and Tae Myung Park*

Department of Chemistry, Gyeongsang National University, Chinju, 660-701, Korea

*Department of Environmental Engineering, Soon cheon Junior Technical College, Soon cheon, 540-260, Korea

(Received Jun. 28, 1993)

요약 : 5원자 헤테로고리를 포함하는 열린고리형의 ionophore를 합성하였다. 이 때 합성한 ionophore를 착화제로 이용하여 수용액 중의 Mg^{2+} 을 염석추출법으로 추출하여 원자 흡광 광도법으로 정량하였다. Acetate 완충용액으로 pH를 4.2로 조절한 Mg^{2+} 를 포함하는 수용액에 ionophore-AN 용액을 넣어 Mg^{2+} -ionophore 착물을 형성시킨 다음, 염석제를 첨가하여 유기층으로 추출하고, 유기층의 착물의 흡광도를 원자 흡광 광도계로서 측정하여 Mg^{2+} 를 정량하였다. 최적 추출 조건을 조사해 본 결과, 최적 pH는 2.5~5.0이었으며, 염석제인 황산암모늄[(NH_4)₂SO₄]의 양은 5g 이상이면 정량적으로 추출되었다. 또한 Mg^{2+} 과 ionophore의 착물 조성비는 1:2이었다. Mg^{2+} 의 정량범위는 0.24ppm~2.4ppm이었으며 Ca^{2+} 이온 및 EDTA의 방해효과가 크게 나타났다.

Abstract : Ionophore, which contains 5-membered heterocyclic compound, was prepared. Mg^{2+} was determined by salting-out technique using ionophore as a chelating reagent. After Mg^{2+} was extracted into the acetonitrile layer as a Mg -(Ionophore)₂ complex from acetate buffered aqueous solution by salting-out extraction technique, absorbance of complex was recorded by atomic absorption spectrophotometry. Optimum pH was between 2.5 and 5.0 for extraction and 1:2([Mg^{2+}]/[ionophore]) complex were formed. The range of detection was 0.24ppm~2.4ppm and Ca^{2+} and EDTA were interfered in the determination of Mg^{2+} .

Key words : Ionophore(N, N'- dihexyl- N, N'- dimethyl-1, 4- butadion-diamide) : Atomic absorption spectrometric determination of Mg^{2+} ; Salting-out extraction technique.

1. 서론

Mg^{2+} 는 생체 내의 세포를 구성하는 물질로서 임상적으로 중요한 역할을 한다. 따라서 수용액 내에서

Mg^{2+} 의 농도를 정량하는 여러 가지 방법이 제안되었다¹⁻⁵.

이러한 방법들은 대부분 지시약인 Eriochrome Blue SE를 Mg^{2+} 와 complex를 형성시켜 분광광도법으로 정

량하는 것이다.⁶⁻⁹

그러나 최근에는 많은 연구자¹⁰⁻¹⁴들이 새로운 중성 운반체인 ionophore를 합성하여 세포 내의 Mg^{2+} 를 전위차법에 의한 직접정량을 시도하고 있다. 이러한 ionophore는 세포 내의 Mg^{2+} 에 대하여 선택성이 매우 뛰어난 것으로 알려져 있다.

Lanter¹⁰ 등은 Mg^{2+} 에 선택성이 좋은 중성운반체인 N, N'- diheptyl- N, N'-6 dimethyl- 1, 4- butadiene-diamide[ETH 1117]의 ionophore를 합성하여 전위차법으로 Mg^{2+} 를 정량하였으며, 또한 Hu¹¹ 등은 N, N'- octamethylene- bis(N'-heptyl- N'- methyl- methylmalon- amide[ETH 5214])의 새로운 ionophore를 합성하여 Mg^{2+} 를 정량하였다. 그리고 Mai- Zurawska¹² 등은 N, N'- octamethylene- bis(N'-heptyl- methyl- malonamide[ETH 4030])를 합성하여 이들 ionophore를 solvent polymeric membrane electrode에 사용하여 전위차법으로 serum 속의 Mg^{2+} 를 정량하였으며, Spichiger¹³ 등은 매우 lipophillic한 ionophore, N, N', N''- tri(3- heptylmethylamino- 3- oxopropionyl)- 8, 8'- iminodiocetylamine[ETH 7025]를 합성하여 혈액 속의 Mg^{2+} 를 정량하였다.

또한 서로 혼합되지 않은 두 용매 사이의 분배현상을 이용하여 수용액층으로부터 특정 성분을 유기층으로 추출 분리하는 방법¹⁸⁻²⁰을 분석에 이용하면 분석의 감도 및 선택성을 크게 높일 수 있다.

따라서 본 연구에서는 이들 화합물과 유사한 diketone hexadiol과 2차 amine 유도체를 반응시켜 열린고리형의 ionophore를 합성하여 이 화합물이 Mg^{2+} 와 착물을 이룰 때 이들 착물의 성질을 이용하여 수용액 속의 Mg^{2+} 를 염석추출법으로 추출하여 원자흡광광도법으로 정량하고자 한다. 또한 이 때 염석제의 효과, pH 영향 및 방해 이온 효과도 조사하고자 한다.

2. 실험

2. 1. 장치 및 시약

NICOLET 550 Magna- IR Spectrometer Gemini 300 MHz NMR을 이용하여 합성한 ionophore를 확인하였다. 또한 Varian- Techtron PTY, LTD, AA-5 Atomic Absorption Spectrophotometer를 이용하여 Mg^{2+} 를 정량하였으며 이때 air- acetylene 불꽃을 이

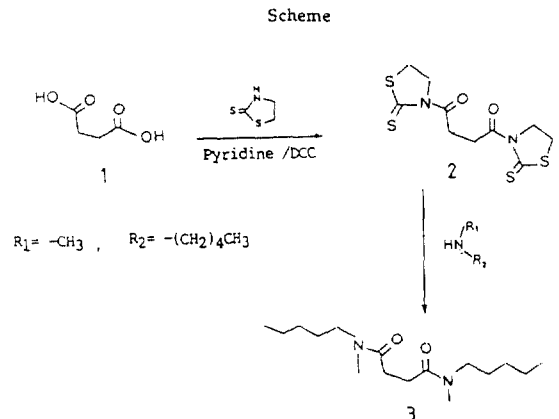
용하였다. 그리고 Radiometer America Inc의 pH 84 Research pH meter를 사용하여 용액의 pH를 측정하였다.

또한 모든 용액은 acetate 완충용액(pH 4.2)을 이용하여 조제하였으며, 0.10M HCl 또는 0.10M NaOH를 이용하여 pH를 조절하였다.

Ionophore의 합성에 사용한 1, 3- thiazolidine- 2- thion(TT)와 Dicyclohexylcarbodiimide(DCC), Pyridine, 2, 5- diketone- 1, 6- hexadiol 및 N, N'- methyl- amine을 Aldrich Co.로부터 구입하여 정제하지 않고 그대로 사용하였다. 또한 $Mg(SCN)_2$ 와 $(NH_4)_2SO_4$ 는 Kodak Co.로부터 구입하여 사용하였다.

2. 2. ionophore의 합성

5원자 헤테로고리를 포함하는 ionophore의 합성은 기존의 알려진 방법¹⁵⁻¹⁶으로 하였다. 곧 아래의 Scheme과 같이 1, 3- thiazolidine- 2- thiol(TT) 1.19g과 dicyclohexylcarbodiimide(DCC) 2.05g을 반응 용기에 넣고 정제된 질소를 통과시키면서 무수 pyridine 100ml를 가한다. 이때 무수 pyridine은 질소기류하의 CaH_2 내에서 3시간 동안 환류시켜 수분을 제거한 것을 사용하였다.



다시 반응용기에 2, 5- diketone- 1, 6- hexadiol, 0.74g을 pyridine 100ml에 녹여 가한 후, 26시간 동안 반응시키면 아래 scheme의 2의 생성물이 얻어지는데, 이것을 톨루엔과 EtOAc로 정제하여 다음 단계에 사용하였다.

이렇게 얻은 중간 생성물인 2와 N, N'- methyl- hexylamine을 몰비로 섞어 주면 곧바로 최종 생성물인

N, N'-dihexyl-N, N'-dimethyl-1, 4-butadien-diamide가 생성된다. 또한 최종 생성물인 3을 EtOAc로 정제한 후 IR 및 NMR로 확인하여 기존의 data^{15, 16}와 비교 확인하였다.

2. 3. 추출 과정

Acetate 완충용액(pH 4.2)으로 조제한 $1.0 \times 10^{-4}M$ 의 Mg^{2+} 를 포함하는 수용액 10ml에 $3.0 \times 10^{-4}M$ 의 ionophore를 포함하는 Acetonitrile용액 10ml를 첨가한 후 6g의 황산암모늄[(NH₄)₂SO₄]을 넣어 충분히 흔들어 준 다음 정치시키면 수용액과 유기층(Acetonitrile)으로 분리된다. 이때 유기층을 취하여 원자흡수분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정함으로써 Mg^{2+} 를 정량하였으며 수용액층의 pH를 측정하여 용액의 pH를 조절하였다.

3. 결과 및 토론

3. 1. 염석제 효과

수용액층과 아세토니트릴층이 최대한으로 분리되는데 필요한 염석제의 양을 구하여 Fig. 1에 나타내었다. $1.0 \times 10^{-4}M$ Mg^{2+} 를 포함하는 수용액 10ml에 $3.0 \times 10^{-4}M$ 의 ionophore를 포함하는 아세토니트릴 용액 10ml를 혼합하여 추출한 후 유기층의 흡광도를 측정하였다. 이때 사용한 염석제로는 염석추출 능력이 뛰어난 황산암모늄[(NH₄)₂SO₄]을 사용하였다.

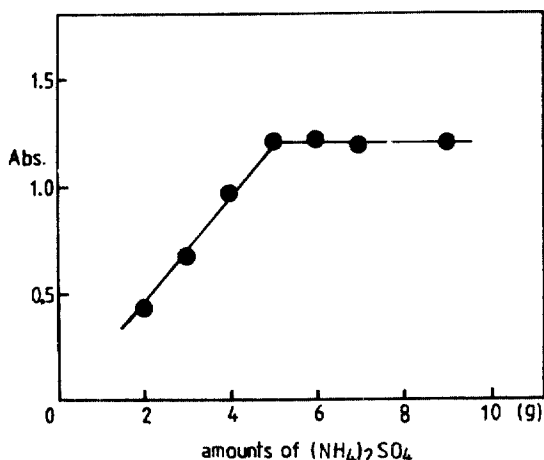


Fig. 1. Effect of the amounts of salting-out reagent on the extractability

Fig. 1에 나타낸 바와 같이 염석제의 양이 5g 이상이면 정량적으로 추출되므로 본 실험에서는 6g의 황산암모늄[(NH₄)₂SO₄]을 염석제로 사용하여 추출하였다.

3. 2. 추출에 미치는 pH의 영향

수용액에서의 착물 생성 및 추출 과정에서의 pH 영향을 조사하여 Fig. 2에 나타내었다.

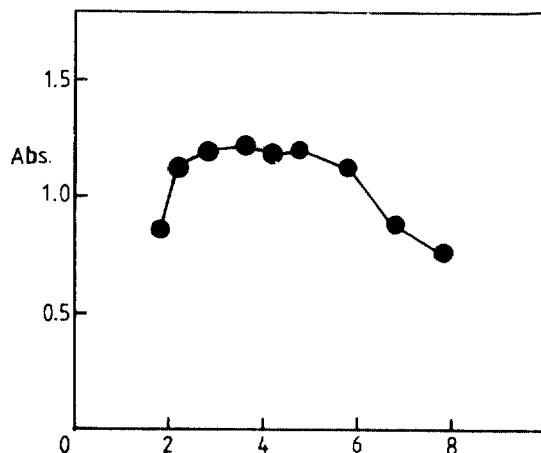


Fig. 2. Effect of pH on the extractability

0.1M HCl 또는 0.10M NaOH로 pH를 조절한 $1.0 \times 10^{-4}M$ 의 Mg^{2+} 를 포함하는 수용액 10ml에 $3.0 \times 10^{-4}M$ 의 ionophore를 포함하는 아세토니트릴 용액 10ml를 첨가하여 착물을 만들과 여기에 6g의 황산암모늄[(NH₄)₂SO₄]을 첨가하여 염석추출한다. 이때 유기층의 착물의 흡광도를 원자흡수분광광도계로 측정하고 수용액층의 pH를 측정하였다.

Fig. 2에 나타낸 바와 같이 pH 2.5에서 pH 5.0의 범위에서 추출효과가 크게 나타났다. 따라서 본 실험에서는 acetate 완충용액으로 수용액의 pH를 4.2로 고정하였다.

3. 3. 착물의 조성비

Mg^{2+} 를 염석추출할 때 필요한 리간드인 ionophore의 양을 구하기 위하여 착물의 조성비를 구하여 Fig. 3에 나타내었다. 곧 $1.0 \times 10^{-4}M$ Mg^{2+} 를 포함하는 수용액 10ml에 ionophore의 농도를 바꾼 아세토니트릴 용액 10ml를 첨가하고 여기에 염석제인 황산암모늄

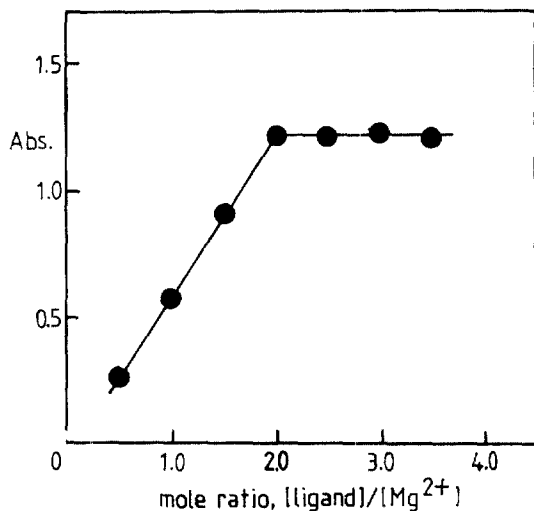


Fig. 3. Composition ratio of complex formed between Mg²⁺ and ionophore

[(NH₄)₂SO₄]을 6g 넣어 염석추출한 후 유기층의 흡광도를 측정하였다.

Fig. 3에 나타낸 바와 같이 Mg²⁺와 ionophore는 1:2의 착물이 생성됨을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 본 실험에 사용한 ionophore와 유사한 ionophore를 사용하여 착물의 조성비를 구한 Neupert-Laves¹⁷의 결과와 잘 일치한다.

따라서 본 실험에서는 착화제의 농도가 분석물질의 농도의 3배가 되도록 하였다.

3. 4. Mg²⁺의 정량을 위한 검정곡선

이와 같은 염석추출법으로 수용액 속의 Mg²⁺를 정량할 때 정량 가능한 정량범위와 검출한계를 조사하여 Fig. 4에 나타내었다. 곧 3.0×10⁻⁴M의 ionophore를 포함하는 아세트오니트릴 용액과 1.0×10⁻⁵M~1.0×10⁻⁴M 농도 범위의 Mg²⁺를 포함하는 수용액을 섞어서 착물을 형성시킨 다음, 염석제인 황산암모늄 [(NH₄)₂SO₄]을 첨가하여 염석추출하였다. 이때 아세트오니트릴층의 착물의 흡광도를 원자흡수 분광광도계로 측정하여 Mg²⁺를 정량하였다.

Fig. 4에 나타낸 바와 같이 본 실험에서의 정량범위는 0.24ppm~2.4ppm이며, 검출한계는 0.24ppm이었다. 검출한계는 바탕선 봉우리의 2배의 신호에 해당하는

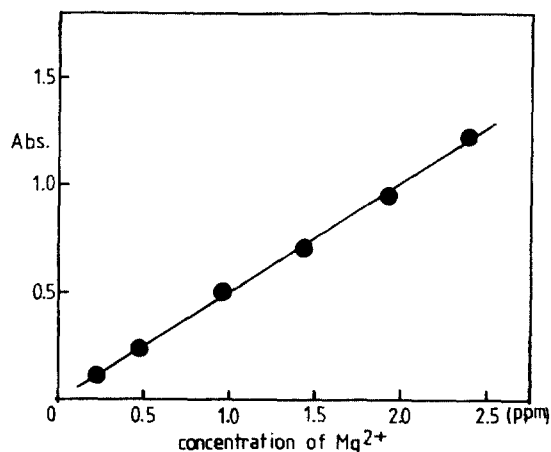


Fig. 4. Calibration curve for atomic absorption spectrophotometric determination of Mg²⁺

농도로서 결정하였다.

3. 5. 방해 이온의 영향

본 실험에 사용한 ionophore의 Mg²⁺에 대한 선택성을 조사하여 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 곧 1.0×10⁻⁴M의 Mg²⁺ 표준용액과 같은 농도의 방해이온이 포함되어 있는 수용액을 위에서 구한 최적 실험조건에서 염석추출하였다. 이때 유기층의 흡광도를 측정하여 다음 식에 의하여 상대오차를 구하여 Table 1에 나타내었다.

$$\text{relative error}(\%) = \{(A_D - A_M) / A_M\} \times 100$$

A_D : Mg²⁺과 방해이온이 함께 들어 있을 때의 흡광도

A_M : Mg²⁺만의 흡광도

Table 1에 나타낸 바와 같이 대부분의 이온들은 Mg²⁺의 정량에 영향을 미치지 않았다. 그러나 Ca²⁺는 큰 영향을 나타내었다. 이러한 결과는 본 실험에 사용한 ionophore와 유사한 ionophore를 사용하여 선택성을 조사한 Lanter¹⁰의 연구결과와 잘 일치한다. 또한 EDTA가 큰 영향을 미쳤는데, 이것은 Mg²⁺에 대한 EDTA와 ionophore와의 경쟁반응 때문인 것으로 생각된다.

Table 1. Effect of common ions on the determination of Mg^{2+} by salling-out technique.

Common ions	Abs.	rel. error(%)
Mg^{2+}	1.21	0
Li^+	1.24	2.5
Na^+	1.19	-1.7
K^+	1.17	-3.3
Rb^+	1.23	1.7
Cs^+	1.23	1.7
Ca^{2+}	0.86	-28.9
Sr^{2+}	1.18	-2.5
Ba^{2+}	1.20	-0.8
NH_4^+	1.24	2.5
SO_4^{2-}	1.20	-0.8
EDTA	0.09	-95.1

*Concentration of each metal ion is $1.0 \times 10^{-4} M$

4. 결론

Ionophore인 N, N'-dihexyl-N, N'-dimethyl-1, 4-butadione-diamide를 합성하고 이 화합물을 이용하여 염석추출법으로 Mg^{2+} 를 정량한 결과는 다음과 같다.

곧 염석추출할 때 필요한 염석제인 황산암모늄 $[(NH_4)_2SO_4]$ 의 양은 5g 이상이었으며, Mg^{2+} 와 ionophore는 1:2의 착물을 형성하기 때문에 염석추출할 때 필요한 ionophore의 양은 분석물질의 3배로 되게 하였다.

또한 염석추출에 미치는 최적 pH는 2.5~5.0이었으며, 정량범위는 0.24ppm~2.4ppm이었고 검출한계는 0.24ppm이었다. 그리고 Ca^{2+} 와 EDTA는 큰 방해효과를 나타내었지만 대부분의 IA족 이온과 Sr^{2+} , Ba^{2+} , NH_4^+ , SO_4^{2-} 등은 거의 영향을 미치지 않았다.

감사의 글

본 연구는 1991년도 학술진흥재단의 자유공모과제

학술연구조성비 및 1992년도 교육부 기초과학육성 연구비에 의해서 이루어진 것이므로 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

- H. S. Bachelard and P. S. G. Goldfarb, *J. Biochem.*, **112**, 579(1969).
- L. B. Nanninga, *Biophys. Acta.*, **54**, 338(1961).
- Th. Z. Gunther, *Naturforsch.*, **2213**, 149(1967).
- D. Veloso, R. W. Guynn, M. Oskarsson and R. L. Veech, *J. Biol. Chem.*, **248**, 4811(1973).
- C. C. Ashley and J. C. Ellory, *J. Physiol(London)*, **266**, 653(1972).
- F. J. Brinley, a. Scarpa and T. Tiffert, *ibid.*, **266**, 545(1977).
- F. J. Brinley and a. Scarpa, *FEBS Lett*, **50**, 82(1975).
- A. Scarpa, *Arzneim-Forsch*, **28**, 715(1978).
- A. Scarpa, T. Tiffert and F. J. Brinley, "Biochemistry of Membrane Transfer", Springer Verlag, Berlin, p. 552~566, (1977).
- F. Lanter, D. Erne, D. Ammann and W. Simon, *Anal. Chem.*, **52**, 2400(1980).
- Z. Hu, T. Buhner, M. Muller, B. Rusterhole, M. Rouilly and W. Simon, *Anal. Chem.*, **61**, 574(1989).
- M. Mar-Zurawsk and W. Simon, *Anal. Chim. Acta.*, **218**, 47(1989).
- U. E. Spichiger and W. Simon, J. Fresenius, *Anal. Chem.*, **341**, 727(1991).
- K. Suzuki, K. Tohda H. Ohzora S. Nishihama, H. Inoue and T. Shirai, *Anal. Chem.*, **61**, 362(1989).
- Y. Nagao, et. al, *Chem. Pharm. Bull.* **32(7)**, 2687(1984).
- T. M. Jeong and K. H. Park, *J. Kor. Chem. Soc.*, **33(4)**, 426(1989).
- K. Neupert-Laves and M. Dobler, *J. Crystallogr. Spectrosc. Res.*, **12**, 287(1982).
- S. A. Berger, *Talanta*, **29**, 718(1982).
- T. Fujinaga and B. K. Puri, *ibid.*, **22**, 71(1975).
- Y. Nagaosa, *ibid.*, **26**, 987(1979).