

역상 액체 크로마토그래피에 의한 금속-2-hydroxyarylazopyrazolone 유도체 칼레이트의 용리거동 및 동시분리에 관한 연구 (I)

이창현* · 강창희** · 김은경 · 이원

경희대학교 문리과대학 화학과

* 한국원자력연구소 화학분석부

** 제주대학교 자연과학대학 화학과

(1994. 3. 14. 접수)

Separation and Elution Behaviors of Some Metal-2-hydroxyarylazopyrazolone Chelates by Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography (I)

*Chang-Heon Lee, **Chang-Hee Kang, Eun-Kyung Kim, and Won Lee

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

*Korea Atomic Energy Research Institute, Taejeon 305-353, Korea

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

(Received Mar. 14, 1994)

요약 : 네 가지 2-hydroxyarylazopyrazolone 유도체를 합성하고, 이를 리간드로 사용하여 Ni(II), Cu(II), Co(III), Cr(III)의 금속이온들과 2-hydroxyarylazopyrazolone의 칼레이트를 합성하였다. 합성한 pyrazolone 유도체 및 금속 칠레이트의 구조는 IR, MS, UV-Visible, ICP 등의 분광법으로 확인하였다. 역상 액체 크로마토그래피에서 이들 금속 칠레이트 화합물들에 대한 동시 분리의 가능성 및 머무름 메카니즘을 확인하기 위하여 분리관의 종류, 용리액의 조성, 흐름 속도 등 최적 분리조건을 조사한 결과 Novapak C₁₈ 분리관과 용리액으로 사용한 메탄올과 물의 혼합비율을 적절히 조절했을 때 용량인자(k')는 $0 \leq \log k' \leq 1$ 의 범위를 만족시켰다. 또한 용량인자와 용리액 중 물의 부피분율 및 분포계수(D_c)와의 상관 관계들을 조사한 결과 이들은 상호 직선적인 비례관계를 나타내었고, 이로부터 분리관 내에서 이들 금속 칠레이트의 용리거동이 소용매 성 효과에 기인하고 있음을 확인하였다.

Abstract : The elution behaviors of Ni(II), Cu(II), Co(II), and Cr(II) in 1-phenyl-3-methyl-4(2-hydroxy-5-X-phenylazo)-5-pyrazolone, [Pm(2-OH)(5-X)PaPz] (X = H, CH₃, NO₂, Cl) chelates have been studied by reversed phase HPLC. Thirteen metal-[Pm(2-OH)(5-X)PaPz] chelates were prepared and characterized by UV, IR, MS, and ICP spectroscopic methods. These metal-2-hydroxyarylazopyrazolone chelates were successfully separated on Novapak-C₁₈ column using methanol/water mixtures as a mobile phases. It was found that the chelates were eluted properly in an acceptable range of the capacity factor value ($0 \leq \log k' \leq 1$). The dependence of the capacity factor ($\log k'$) on the volume fraction of water in the binary mobile phase showed a good linearity. Also, there was a good linear dependence of the capacity factor on the liquid-liquid extraction distribution ratio (D_c) in

methanol-water / n-pentadecane extraction system by the batch method. It suggested that the retention of the chelates in the reverse phase liquid chromatographic system be largely due to the solvophobic effect.

Key words : Metal-2-hydroxyarylazopyrazolone Chelates, Reversed Phase HPLC

1. 서 론

유기물 분석에 주로 이용되어 온 HPLC는 최근 금속이온의 분리, 정량을 위한 무기분석화학 분야로까지 그 활용도가 널리 확대되고 있다. HPLC에 의한 금속이온의 분리 및 정량은 C₁₈ 분리관을 이용한 역상 용리법이 주로 이용되고 있고, 최근에는 이러한 역상 액체크로마토그래피에서 금속 칼레이트의 분리 메카니즘을 규명하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 역상 분리법에 의한 금속이온의 분리, 정량은 주로 금속이온에 적당한 칼레이트시약을 가하여 안정한 금속 칼레이트를 형성시킨 다음 C₁₈ 분리관에서 금속 칼레이트의 극성, 용해도, 기하학적 구조 등과 같은 물리화학적 성질의 차이에 의하여 분리시키는 방법을 택하고 있다.^{1~5} 이 때 사용되는 대표적인 칼레이트시약으로는 β-diketone^{6~8}, dithizone⁹, dithiocarbamate^{10~12}, 8-hydroxyquinoline¹³ 등이 이용되고 있다. 역상 액체 크로마토그래피에서 금속칼레이트화합물을 분리하기 위한 용리 거동 및 메카니즘에 대한 연구는 F. Vlácl 등이 소용매성 상호작용과 친실란율성 상호작용의 기여 정도를 실험적으로 측정하여 역상분리관내에서 금속 칼레이트의 머무름이 소용매성 상호작용에 의해 일어남을 확인하였다.¹⁴ 또 P. Jandera 등은 열역학적 측면에서 용리 메카니즘을 설명하였으며¹⁵, 국내에서도 Lee 등이 diketone, dithiocarbamate류 등 금속 칼레이트화합물의 분리메카니즘이 소용매성 효과에 기인하는 것으로 발표한 바 있다.^{16, 17}

본 연구에서는 네 가지 2-hydroxyarylazopyrazolone 유도체를 합성하고, 이 pyrazolone 유도체를 리간드로 사용하여 Ni(II), Cu(II), Co(III), Cr(III)의 금속이온과 반응시켜 metal-2-hydroxyarylazopyrazolone 칼레이트화합물을 합성한 후 그 구조를 몇 가지 분광법으로 확인하였다. 또한 역상 액체 크로마토그래피에서 이들 금속 칼레이트 화합물들에 대한 동시분리의 가능성 및 머무름 메카니즘을 확인하기 위하여 용량인

자(*k'*)와 용리액 중 물의 부피분율 및 분포계수(D_c)와의 상관관계를 조사하여 C₁₈ 분리관 내에서 금속 칼레이트의 용리거동을 고찰하였다.

2. 실험

2. 1. 측정 기기

합성한 4종의 2-hydroxyarylazopyrazolone 유도체 및 metal-2-hydroxyarylazopyrazolone 칼레이트화합물의 구조 확인은 Perkin-Elmer 580B IR Spectrometer, VG 70-70 Mass Spectrometer, KRATOS ANALYTICAL의 CONCEPT-S Mass Spectrometer, Varian DMS90 UV-Visible Spectrophotometer, 그리고 Jovin Yvon의 JY-38 ICP Spectrophotometer를 사용하였다. 이때 리간드의 Mass Spectrum은 EI mode를, 그리고 칼레이트의 Mass Spectrum은 FAB mode를 이용하여 측정하였다. 금속 칼레이트들의 분리에 사용한 HPLC는 Varian사의 Model VISTA 5500 Liquid Chromatograph로 UV-Visible 검출기 및 영인 과학사의 YOUNGIN Model D520A Integrator를 부착하여 사용하였다. 분리관으로는 Waters사의 Novapak C₁₈(3.9mm I.D. × 15cm L., N = 11,600, Particle size = 4μm)을 사용하였으며, 금속 칼레이트들의 분포비 측정은 Varian사의 DMS 90과 Milton Roy사의 Specrtomic 1201 UV-Visible Spectrophotometer, 국제이화학상사의 SH-SV 형 Shaker를 사용하였다. 또한 모든 실험에서 사용된 물은 Millipore사의 Milli-Q / -RO Reagent Water Purification System으로 정제하여 사용하였다.

2. 2. 시약

리간드 합성에 사용한 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone(LONZA Chemical사), 2-amino phenol(Aldrich 사), 2-amino-4-methylphenol(TCI사), 2-amino-4-nitrophenol(Aldrich사), 2-amino-4-chlor-

ophenol(Junsei사) 및 NaNO₂(Junsei사)는 특급(EP) 시약을 사용하였다. 또 금속 칼레이트 합성에 사용한 Ni(NO₃)₂·6H₂O(Washihata사), Cu(NO₃)₂·3H₂O(Kanto사), Co(NO₃)₂·6H₂O(Washihata사), Cr(NO₃)₃·9H₂O(Tokyo Kasei Kogyo사)는 특급 시약을 정제하지 않고 사용하였다. 그밖의 HPLC 실험에서 용리액 또는 시료의 용매로 사용된 methanol, acetoneitrile, methylisobutylketone, acetone, pentanol 등은 Burdick & Jackson Lab.사의 크로마토그래피용을, n-pentadecane은 Aldrich사의 특급 시약을 Millipore membrane filter(Type FH, Pore size 0.45μm)로 정제하여 사용하였다. 실험에 사용된 물은 Water Purification System으로 정제한 후 사용하였으며, 리간드 및 칼레이트는 합성 후 재결정을 거쳐 진공 데시케이터에 보관하고, 사용시 소량씩 녹여 5μm Sep-Pak으로 거른 후 사용하였다.

2. 3. 리간드 및 금속 칼레이트의 합성

리간드로 사용한 네 가지 2-hydroxyarylazopyrazolone 유도체, 즉 1-phenyl-3-methyl-4-(2-hydroxyphenylazo)-5-pyrazolone [Pm(2-OH)], 1-phenyl-3-methyl-4-(2-hydroxy-5-methylphenylazo)-5-pyrazolone [Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz], 1-phenyl-3-methyl-4-(2-hydroxy-5-nitrophenylazo)-5-pyrazolone [Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz], 1-phenyl-3-methyl-4-(2-hydroxy-5-chlorophenylazo)-5-pyrazolone [Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]은 문헌의 방법에 따라 다음과 같이 합성하였다.¹⁸

0.015mole의 2-aminophenol, 2-amino-4-methylphenol, 2-amino-4-nitrophenol, 2-amino-4-chlorophenol 각각에 진한 염산 3.9ml, 20% NaNO₂ 용액 5.25ml 씩을 가하여 5°C 이하에서 1시간 동안 디아조화반응시켰다. 다시 이 용액들을 0.15 mole 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone을 0.32N NaOH에 녹인 용액에 천천히 가하여 5°C 이하에서 약 3시간 짹지움(coupling)반응시킨 후 생성물을 50°C 물증탕에서 약 1시간 동안 가온시켰다. 생성물은 거르고, 전조 후 dioxane 용매로 재결정하여 최종 생성물을 얻어냈으며, 수득률은 [Pm(2-OH)PaPz]=84.4%, [Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz]=87.0%, [Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz]=85.2%, [Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]=85.3%였다.

또한 금속-azopyrazolone의 합성은 문헌의 방법¹⁹에 따라 앞에서 합성한 2-hydroxyarylazopyrazolone 유도체들 2.5×10⁻⁴ mole을 각각 dioxane 50ml에 녹인 용액과 Ni(NO₃)₂, Cu(NO₃)₂, Co(NO₃)₂, Cr(NO₃)₃ 각각 5.0×10⁻⁴ mole을 물 10ml에 녹인 용액을 혼합하여, pH를 적절히 조절(pH 6.8~10.4)한 후 약 5시간 동안 결정이 석출될 때까지 물증탕에서 환류시켰다. 이렇게 생성된 금속 칼레이트는 농축 후 생성물을 거르고, 물 및 사염화탄소로 세척하여 구조를 확인하였으며, HPLC 실험용 시료로 사용하였다.

2. 4. HPLC의 분리조건 선택

최적 분리조건을 찾기 위하여 분리판, 흐름속도, 용리액의 조성, 검출 파장 등을 조사하였다. 용리액의 흐름속도는 합성한 각 금속 칼레이트를 30~50μg/ml의 농도가 되도록 dioxane에 녹인 용액 3μl를 HPLC에 주입시키고, 0.5~1.4ml/min 범위에서 0.2ml/min 씩 속도를 변화시키면서 최적 흐름속도를 측정하여 크로마토그램을 얻어내고 분리도가 가장 양호한 흐름속도를 선정하였다. 또한 금속 칼레이트에 따라 methanol/water의 혼합비율을 적절히 변화시킨 용리액을 사용하여 크로마토그램을 얻어내고, 용량인자가 최적 범위를 나타내면서 분리도가 좋은 용리액의 조성을 선택하였다.

2. 5. 용리액의 조성 및 용량인자(*k'*) 측정

용리액의 용매세기에 따른 분리도의 영향을 확인하기 위하여, 메탄올과 물의 혼합비율을 변화시키면서 각각의 크로마토그램을 작성한 후 다음 식에 따라 용량인자(*k'*)를 계산하였다. 이 때 메탄올과 물의 혼합비율은 금속 칼레이트의 종류에 따라 다르며 methanol/water=59/41~95/5의 범위 내에서 조절하였다. 식에서 *t*는 시료의 머무른 시간(retention time)이고, *t₀*는 불감시간(dead time)이다.

$$k' = (t - t_0) / t_0$$

2. 6. 뱃치법에 의한 분포비 측정

n-Pentadecane 10ml를 취하여 분별깔때기에 넣고, 각 금속 칼레이트 시료 일정량을 HPLC의 용리액과 같은 조성의 메탄올과 물의 혼합액 10ml에 녹인 다음

이를 분별갈때기에 합친 후 shaker에서 10분간 혼합시켜 시료가 두 상에 충분히 분배되도록 하였다. 두 층을 각각 분리시키고 두 상에 분배된 시료의 흡광도를 470nm에서 자외-가시선 분광광도계로 측정하여 농도를 구하였다. 이때 두 층에 분포된 시료의 분포비(D_c)는 다음 식에 따라 계산하였으며, 식에서 $C_{M.org}$ 는 유기용매층(n-pentadecane)의 시료농도이고, $C_{M.aq}$ 는 물층(methanol/water)의 시료농도이다.

$$\text{분포비} (D_c) = C_{M.org} / C_{M.aq}$$

3. 결과 및 고찰

3. 1. 리간드 및 금속 칼레이트의 구조 확인

합성한 리간드 및 금속 칼레이트는 적외선 분광법과 질량 분석법에 의해 그 구조를 확인하였다. Table 1에 수록한 것처럼 적외선 스펙트럼 분석 결과 4종의 리간드는 $\nu_{O-H} = 3372\sim3391\text{cm}^{-1}$ 에서 강한 흡수띠가 나타나지만 칼레이트에서는 이 흡수띠가 나타나지 않으므로 금속이온이 O-H의 산소원자와 결합되었음을 확인할 수 있었다. 또 리간드의 경우 $\nu_{C=O} = 1643\sim1657\text{cm}^{-1}$ 범위에서 강한 흡수띠가 나타나며, 이것은 카르보닐기의 탄소에 결합된 아민기의 공명효과에 의해 낮은 에너지 이동이 일어난 결과이다.²⁰ 그러나 금속 칼레이트의 경우 금속이온과 산소가 결합되면서 $\nu_{C=O}$ 의 흡수띠가 나타나지 않음을 확인할 수 있었다. 또한 $\nu_{C=N}$ 의 경우 4종의 리간드는 $\nu_{C=N}(\text{endo}) = 1596\sim1598\text{cm}^{-1}$ 에서, $\nu_{C=N}(\text{exo}) = 1570\sim1581\text{cm}^{-1}$ 에서 흡수띠가 나타나지만 금속 칼레이트는 $\nu_{C=N}$

Table 1. Characteristic IR spectral data of ligands and metal chelates.

Ligands & Chelates	Stretching Vibrational Peaks (ν , cm^{-1})					
	O - H	C = O	C = N (endo)	C = N (exo)	N = N	C - O
[Pm(2-OH)PaPz]	3375	1657	1596	1570		1255
Co(III)-[Pm(2-OH)PaPz]			1595		1547	1256
Ni(II)-[Pm(2-OH)PaPz]			1597		1543	1262
Cu(II)-[Pm(2-OH)PaPz]			1596		1551	1261
[Pm(2-OH)(5-CH ₃)PaPz]	3372	1658	1596	1574		1265
Co(III)-[Pm(2-OH)(5-CH ₃)PaPz]			1600		1547	1257
Ni(II)-[Pm(2-OH)(5-CH ₃)PaPz]			1600		1553	1273
Cu(II)-[Pm(2-OH)(5-CH ₃)PaPz]			1601		1548	1267
[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]	3382	1644	1597	1581		1227
Ni(II)-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]			1589		1562	1215
Co(III)-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]			1588		1557	1218
Cr(III)-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]			1592		1552	1213
Cu(II)-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]			1590		1548	1209
[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]	3391	1643	1598	1580		1228
Co(III)-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]			1597		1551	1217
Ni(II)-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]			1597		1555	1219
Cu(II)-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]			1601		1555	1225

(endo)만이 1588~1601cm⁻¹에서 나타나고, ν_{N=N}에 의한 새로운 흡수띠(1543~1562cm⁻¹)가 얻어졌다. 이것은 금속 칼레이트에서는 -N=N-의 새로운 결합이 생성된 결과로 보인다. 그러므로 금속이온은 리간드에서 -OH기의 산소, C=O기의 산소, 그리고 -N=N-기의 질소원자와 결합하여 금속 칼레이트를 형성하고 있음을 확인할 수 있었다.

또한 질량 스펙트럼에 의한 리간드와 금속 칼레이트의 분석결과를 Table 2에 수록하였다. 리간의 경우 EI mode로 측정한 스펙트럼에서 분자이온파크(M⁺)에 해당하는 m/e = 294, 308, 339, 328의 스펙트럼이 강하게 나타났다. 이것은 합성한 4종 리간드의 이론적인 분자량과도 잘 일치하였다. 또한 이들 스펙트럼들에서는 [C₆H₅]⁺ : m/e = 77, [C₁₀H₉N₃O]⁺ : m/e = 187, [C₁₀H₉N₄O]⁺ : m/e = 201의 특성 봉우리가 공통적으로 나타났으며, [Pm(2-OH)PaPz]에서 [C₆H₆NO]⁺ : m/e

= 108, [Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz]에서 [C₇H₈NO]⁺ : m/e = 122, [Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz]에서 [C₆H₅N₂O₃]⁺ : m/e = 153, 그리고 [Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]에서 [C₆H₄NOCl]⁺ : m/e = 142의 특성 스펙트럼이 비교적 강하게 나타났다. 따라서 이같은 질량 스펙트럼의 결과로부터 리간드의 구조를 확인할 수 있었다. 반면 금속 칼레이트들의 경우 FAB mode로 질량 스펙트럼을 측정하였음에도 불구하고 토막내기현상이 많이 나타났고, 상대적으로 분자이온 봉우리는 리간드에 비해 훨씬 약하게 나타났다. 이는 합성한 금속 칼레이트가 대부분 분자량이 크기 때문인 것으로 보이며, 분자이온에 대한 봉우리의 m/e값은 Table 2에 수록한 바와 같이 금속 칼레이트 각각의 이론적인 분자량과 잘 일치함을 확인할 수 있었다.

3. 2. 자외-가시선 및 ICP법에 의한 몰비 측정

Table 2. Mass spectral data of ligands and metal chelates.

Ligands & Chelates	Molecular Ion	m/e
[Pm(2-OH)PaPz]	[C ₁₆ H ₁₄ N ₄ O ₂] ⁺	294
[Pm(2-OH)(5-CH ₃)PaPz]	[C ₁₇ H ₁₆ N ₄ O ₂] ⁺	308
[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]	[C ₁₆ H ₁₃ N ₅ O ₄] ⁺	339
[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]	[C ₁₆ H ₁₃ ClN ₄ O ₂] ⁺	328
Co(III)-[Pm(2-OH)PaPz]	[C ₃₂ H ₂₆ N ₈ O ₄ Co] ⁺	645
Ni(II)-[Pm(2-OH)PaPz]	[C ₃₂ H ₂₆ N ₈ O ₄ Ni] ⁺	644
Cu(II)-[Pm(2-OH)PaPz]	[C ₃₂ H ₂₆ N ₈ O ₄ Cu] ⁺	649
Co(III)-[Pm(2-OH)(5-CH ₃)PaPz]	[C ₃₄ H ₃₀ N ₈ O ₄ Co] ⁺	673
Ni(II)-[Pm(2-OH)(5-CH ₃)PaPz]	[C ₃₄ H ₃₀ N ₈ O ₄ Ni] ⁺	672
Cu(II)-[Pm(2-OH)(5-CH ₃)PaPz]	[C ₃₄ H ₃₀ N ₈ O ₄ Cu] ⁺	677
Ni(II)-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]	[C ₃₂ H ₂₄ N ₁₀ O ₈ Ni] ⁺	734
Co(III)-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]	[C ₃₂ H ₂₄ N ₁₀ O ₈ Co] ⁺	735
Cr(III)-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]	[C ₃₂ H ₂₄ N ₁₀ O ₈ Cr] ⁺	728
Cu(II)-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]	[C ₃₂ H ₂₄ N ₁₀ O ₈ Cu] ⁺	739
Co(III)-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]	[C ₃₂ H ₂₄ Cl ₂ N ₈ O ₄ Co] ⁺	713
Ni(II)-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]	[C ₃₂ H ₂₄ Cl ₂ N ₈ O ₄ Ni] ⁺	712
Cu(II)-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]	[C ₃₂ H ₂₄ Cl ₂ N ₈ O ₄ Cu] ⁺	717

Ligand : measured by EI mode

Chelates : measured by FAB mode

Table 3. Metal contents of metal chelates by ICP analysis.

Sample	Measured / Theoretical (%)	Mole Ratio
Co(III)-[Pm(2-OH)PaPz]	9.12/9.15	1 : 2.01
Ni(II)-[Pm(2-OH)PaPz]	8.49/9.11	1 : 2.17
Cu(II)-[Pm(2-OH)PaPz]	8.86/9.78	1 : 2.4
Co(III)-[Pm(2-OH)(5-CH ₃)PaPz]	8.74/8.77	1 : 2.01
Ni(II)-[Pm(2-OH)(5-CH ₃)PaPz]	8.67/8.73	1 : 2.02
Cu(II)-[Pm(2-OH)(5-CH ₃)PaPz]	8.78/9.38	1 : 2.16
Ni(II)-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]	7.64/7.99	1 : 2.11
Co(III)-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]	8.01/8.03	1 : 2.01
Cr(III)-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]	6.89/7.15	1 : 2.09
Cu(II)-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]	8.26/8.59	1 : 2.09
Co(III)-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]	8.27/8.28	1 : 2.01
Ni(II)-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]	8.07/8.24	1 : 2.05
Cu(II)-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]	8.32/8.86	1 : 2.15

금속이온과 리간드가 칼레이트화합물을 형성할 때 금속이온과 리간드간의 결합비를 Job법으로 확인하였다.²¹ 일정량의 리간드 용액에 금속이온을 미량씩 첨가하면서 흡광도를 측정한 결과 각 금속이온들과 4종의 리간드들 간에는 1:2의 몰비로 결합하고 있음을 확인할 수 있었다. 또 합성한 각 금속 칼레이트화합물들을 산분해시킨 후 금속 칼레이트 중 금속이온의 함량을 ICP법으로 분석한 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 금속이온과 리간드와의 몰비가 대략 1:2의 비를 나타냈으며, 이론값과도 거의 일치하였다. 이와 같이 자외-가시선 및 ICP법에 의해 합성한 금속-2-hydroxyaryloyazopyrazolone 칼레이트들은 ML₂형 친화합물을 형성함을 확인할 수 있었다.

3. 3. 역상 HPLC의 용리 메카니즘

역상 액체 크로마토그래피로 금속착화합물을 분리함에 있어서 분리관에서 이들의 머무름을 메카니즘은 현재까지 두 방향으로 규명되고 있다. 첫째는 용리액의 용량인자에 대한 이동상의 조성 또는 분포상수와의 상관관계를 고려한 것이고^{22~24}, 둘째는 시료의 머무름을 열역학적 측면에서 고찰한 것이다.^{25~27} 본 연구에서는

금속 칼레이트의 분리에 영향을 주는 인자들 중 우선 용량인자와 용리액 조성과의 관계, 용량인자와 분포비와의 관계를 조사하여 용리 메카니즘을 규명하였다.

3. 3. 1. 용량인자(k')와 용리액 조성과의 관계

액체 크로마토그래피에서 분리도에 영향을 미치는 주요 인자는 분리인자(a), 분리관의 이론단수(N) 및 용량인자(k')이다. 이 중 실험적으로 비교적 쉽게 변화시킬 수 있는 인자는 용량인자로 용리액의 용리세기(eluotropic strength, ϵ^*)를 변화시킴으로써 분리도를 향상시킬 수 있으며, 용량인자의 최적 범위인 $0 \leq \log k' \leq 1$ 을 만족시키는 용리액을 사용하는 것이 바람직하다.^{28, 29} 본 연구에서는 먼저 용리액의 세기가 분리도에 미치는 영향을 조사하고, 최적 용리액의 조성비를 구하기 위하여 용리액의 조성 변화에 따른 크로마토그램을 얻어냈다. 이 때 사용한 용리액은 메탄올-파울의 이성분 혼합용매이며, 실험결과 methanol/water의 혼합비율이 금속-[Pm(2-OH)PaPz]인 경우 75/25, 금속-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz]는 91/10, 금속-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz]는 63/37, 그리고 금속-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]는 77/23일 때 용량인자가 최적 범위인 $0 \leq \log k' \leq 1$ 을 비교적 잘 만족시키면서

분리도가 가장 좋고, 봉우리넓힘 현상과 꼬리끌기가 감소함을 확인할 수 있었다. 이 때 용리액의 조성 변화에 따른 용량인자의 변화를 알아보기 위하여 각 칠레이트들의 크로마토그램으로부터 구한 $\log k'$ 값과 Snyder식으로부터 구한 용매의 용리세기(ϵ^*)의 관계를 도시하여 Fig. 1~4에 나타내었다. 여기서 용리세기는 각 용매의 유전상수와 부피분율의 곱을 더한 값이다. 그림에서 보는 바와 같이 ϵ^* 와 $\log k'$ 간의 관계를 보면 용리세기가 증가할수록 용량인자도 직선적으로 증가함을 볼 수 있다. 이처럼 ϵ^* 와 $\log k'$ 의 관계가 거의 직선적으로 정비례한다는 것은 용리액의 세기가 시료의 머무름에 크게 영향을 미치고 있음을 의미한다.

실리카겔에 옥타데칸기(C_{18})가 화학적으로 결합된 역상 HPLC 분리관 내에서 금속 칠레이트화합물의 머무름은 두 가지 메카니즘, 즉 소용매성 효과와 친실란율기성 효과에 의해 일어난다고 생각할 수 있다.³⁰ 본 연구에서 합성한 금속 칠레이트들은 전기적으로 비교적 중성인 시료이기 때문에 소용매성 상호작용에 의해 머무름이 일어날 것으로 예상된다. 만일 이들 금속 칠레이트화합물의 분리관 내에서의 머무름이 소용매성 효과에 기인한다면 용량인자와 이성분용매계에서 물

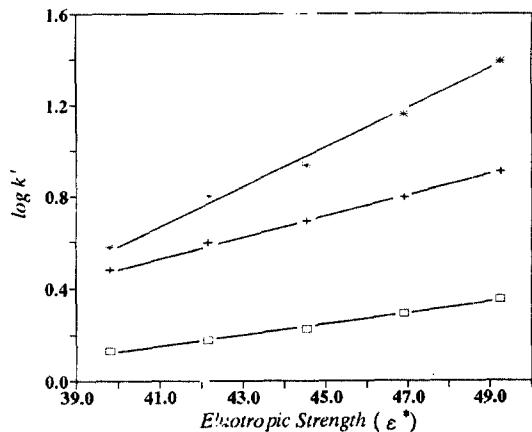


Fig. 1. Relationship between eluotropic strength(ϵ^*) of mobile phase and $\log k'$ of metal-[Pm(2-OH)PaPz] chelates.

* Cu-[Pm(2-OH)PaPz] + Ni-[Pm(2-OH)PaPz]
(r=0.993) (r=0.999)
□ Co-[Pm(2-OH)PaPz]
(r=0.995)

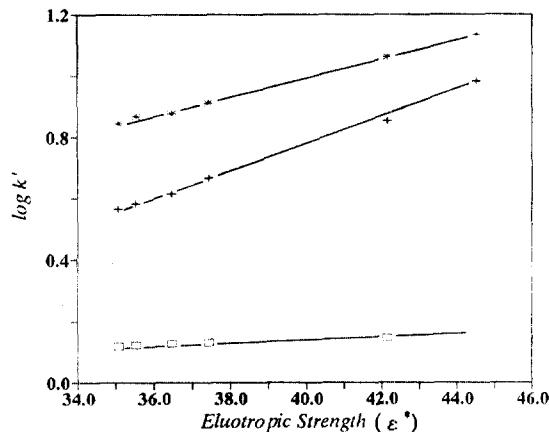


Fig. 2. Relationship between eluotropic strength(ϵ^*) of mobile phase and $\log k'$ of metal-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz] chelates.

* Cu-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz] (r=0.997)

+ Ni-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz] (r=0.997)

□ Co-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz] (r=0.950)

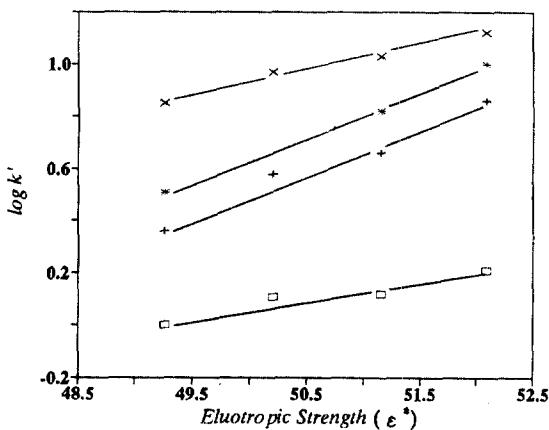


Fig. 3. Relationship between eluotropic strength(ϵ^*) of mobile phase and $\log k'$ of metal-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] chelates.

* Cu-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] (r=0.983)

* Cr-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] (r=0.969)

+ Co-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] (r=0.972)

□ Ni-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] (r=0.921)

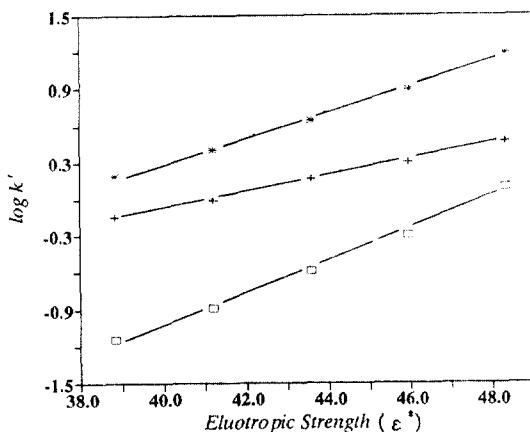


Fig. 4. Relationship between eluotropic strength (ϵ^*) of mobile phase and $\log k'$ of metal-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz] chelates.

* Cu-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]

($r=0.997$)

+ Ni-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]

($r=0.999$)

□ Co-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]

($r=0.994$)

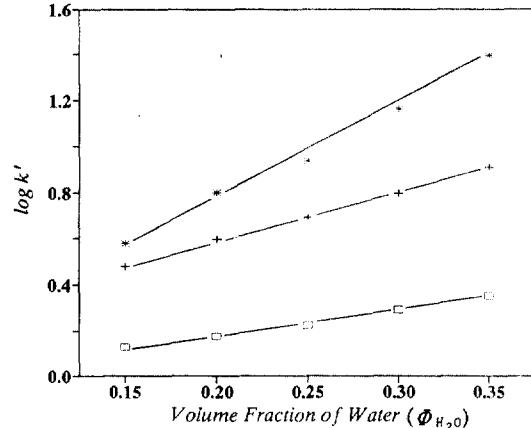


Fig. 5. Dependence of $\log k'$ of metal-[Pm(2-OH)PaPz] chelates on the volume fraction of water in Methanol/Water mixture solvent.

* Cu-[Pm(2-OH)PaPz] + Ni-[Pm(2-OH)PaPz]

($r=0.993$) ($r=0.999$)

□ Co-[Pm(2-OH)PaPz]

($r=0.994$)

의 부피분율 (ϕ_{H_2O})과의 관계식 $\log k' = \log a + b \phi_{H_2O}$ 에 따라 $\log k'$ 과 ϕ_{H_2O} 간의 상관관계를 도시하였고, 그 결과를 Fig. 5~8에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 $\log k'$ 과 ϕ_{H_2O} 의 상관관계는 양호한 직선성을 나타냈으며, 이로부터 시료로 사용된 금속-2-hydroxy arylazopyrazolone 칼레이트들은 역상 액체 크로마토 그래피의 분리판 내에서 소용매성 효과, 즉 본 연구의 경우 용매로 물을 사용하였기 때문에 소수성 효과 (hydrophobic effect)에 의해 머무름이 일어나고 있음을 확인할 수 있었다.

3. 3. 2. 용량인자(k')와 분포비(D_e)와의 관계

앞에서 이미 조사된 바와 같이 금속-2-hydroxyar- ylazopyrazolone 칼레이트들의 머무름이 실제로 소용 매성 효과에 기인한다면 역상 분리판 내에서 일어나는 시료의 이동상 및 정지상 사이의 상호작용은 분리판이 아닌 배치법에서도 분리판에서와 같은 경향을 나타내야 한다. 즉, 이동상 대신 메탄올과 물을 혼합한 극성 용매를 사용하고, C₁₈ 정지상을 대신하여 옥타데칸 유 기용매상에서 시료를 추출했을 경우에도 금속 칼레이-

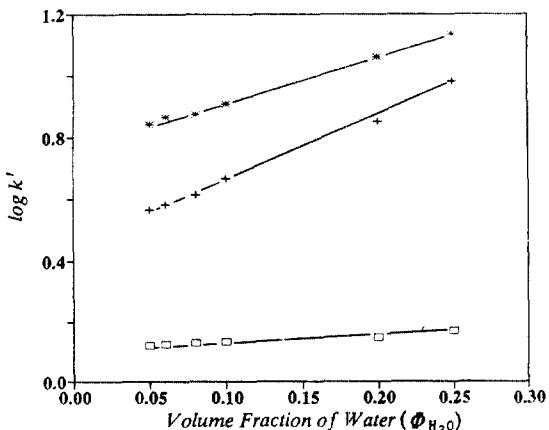


Fig. 6. Dependence of $\log k'$ of metal-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz] chelates on the volume fraction of water in Methanol/Water mixture solvent.

* Cu-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz]

($r=0.997$)

+ Ni-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz]

($r=0.997$)

□ Co-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz]

($r=0.950$)

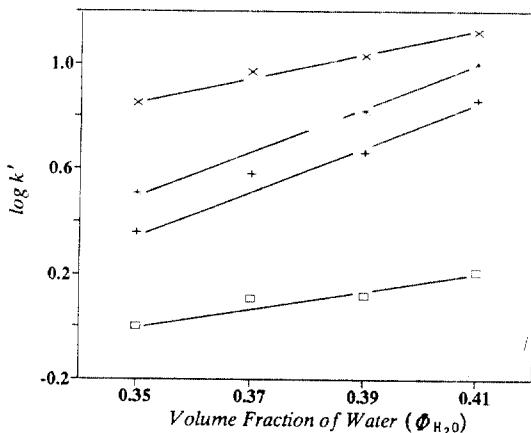


Fig. 7. Dependence of $\log k'$ of metal-[Pm(2-OH)(5- NO_2)PaPz] chelates on the volume fraction of water in Methanol/Water mixture solvent.

× Cu-[Pm(2-OH)(5- NO_2)PaPz]

$$(r=0.984)$$

* Cr-[Pm(2-OH)(5- NO_2)PaPz]

$$(r=0.970)$$

+ Co-[Pm(2-OH)(5- NO_2)PaPz]

$$(r=0.973)$$

□ Ni-[Pm(2-OH)(5- NO_2)PaPz]

$$(r=0.923)$$

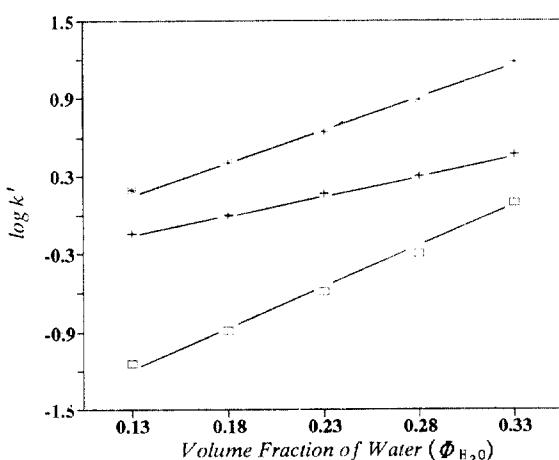


Fig. 8. Dependence of $\log k'$ of metal-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz] chelates on the volume fraction of water in Methanol/Water mixture solvent.

* Cu-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]

$$(r=0.997)$$

+ Ni-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]

$$(r=0.994)$$

□ Co-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]

$$(r=0.994)$$

트화합물들이 두 상에 분배되는 정도가 분리관 내에서 이동상 및 정지상 사이에서의 분포비와 동일한 경향을 나타내야 할 것이다. 따라서 역상 액체 크로마토그래피에서 금속 칼레이트의 용량인자(k')는 뱃치법에서 얻어지는 분포비(D_c)와 간단한 선형 함수관계를 나타내야 하며 그 관계식은 다음과 같다.¹⁴

$$k' = (V_m / V_M - 1) + r' D_c$$

식에서 V_m 은 이동상의 부피, V_M 은 불감부피(dead volume)이고, $r' = jr$ ($r = m_s / V_m$)이며, m_s 는 정지상의 질량, j 는 상관계수이다. 또 분포비는 $D_c = C_{m, \text{org}} / C_{m, \text{aq}}$ 이다.

본 연구에서는 분리관의 정지상인 비극성 옥타데칸의 모델로서 n-pentadecane을 사용하고, HPLC의 실험에서 이동상으로 사용한 용리액과 동일한 methanol/water 혼합액을 사용하여 뱃치법으로 금속-2-hydroxyarylazopyrazolone 칼레이트들 각각에 대한 D_c 값을 측정하였으며, k' 과 D_c 를 도시한 관계곡선을 Fig. 9~12에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 각 금속 칼레이트의 D_c 와 k' 과의 관계는 직선성을 비교적

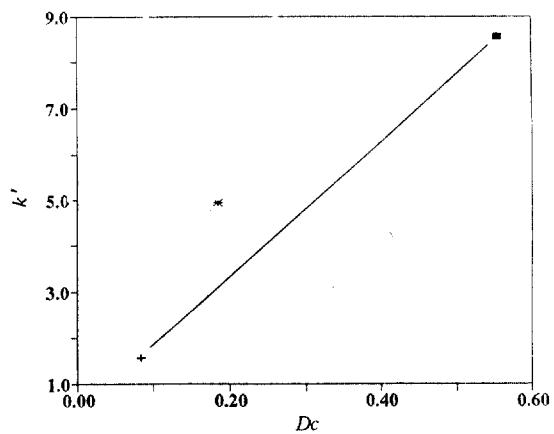


Fig. 9. Relationship between capacity factor(k') and distribution ratio(D_c) by the extraction from aqueous methanol into n-Pentadecane for metal-[Pm(2-OH)PaPz] chelates.

■ Cu-[Pm(2-OH)PaPz] * Ni-[Pm(2-OH)PaPz]

$$(r=0.918)$$

$$(r=0.918)$$

+ Co-[Pm(2-OH)PaPz]

$$(r=0.918)$$

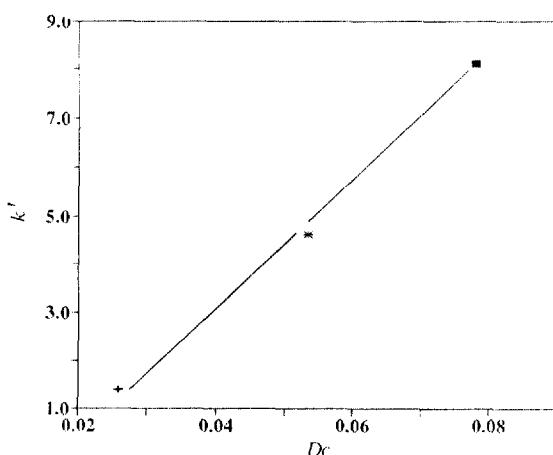


Fig. 10. Relationship between capacity factor (k') and distribution ratio (D_c) by the extraction from aqueous methanol into n-Pentadecane for metal-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz] chelates.

■ Cu-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz]

(r=0.998)

* Ni-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz]

(r=0.998)

+ Co-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz]

(r=0.998)

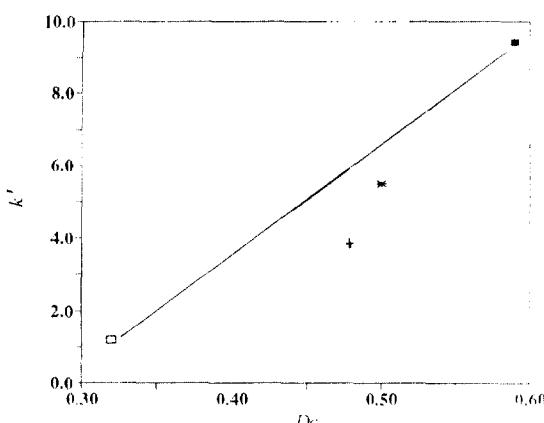


Fig. 11. Relationship between capacity factor (k') and distribution ratio (D_c) by the extraction from aqueous methanol into n-Pentadecane for metal-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] chelates.

■ Cu-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz]

(r=0.901)

* Cr-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz]

(r=0.901)

+ Co-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz]

(r=0.901)

□ Ni-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz]

(r=0.901)

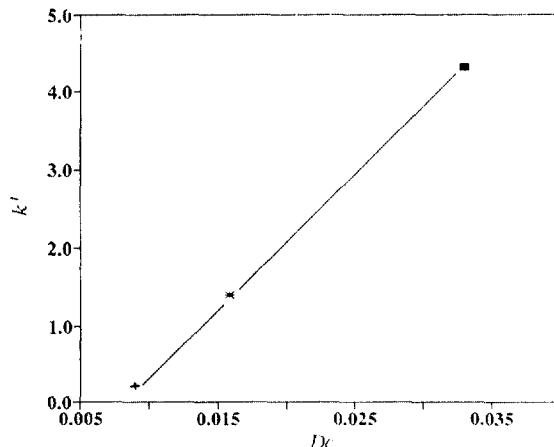


Fig. 12. Relationship between capacity factor (k') and distribution ratio (D_c) by the extraction from aqueous methanol into n-Pentadecane for metal-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz] chelates.

■ Cu-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]

(r=0.100)

* Ni-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]

(r=0.100)

+ Co-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]

(r=0.100)

잘 유지하고($r = 0.918, 0.998, 0.901, 0.100$) 있으며, 위의 관계식을 만족시키고 있다. 이 결과로부터 본 연구에서 합성한 금속-2-hydroxyarylazopyrazolone 칠레아트들의 분리관 내에서의 머무름은 소용매성 효과에 기인함을 재확인할 수 있었다.

4. 결론

네 가지 2-hydroxyarylazopyrazolone 유도체를 합성하고, 이를 리간드로 Ni(Ⅱ), Cu(Ⅱ), Co(Ⅲ), Cr(Ⅲ) 금속이온과 반응시켜 금속-2-hydroxyarylazopyrazolone 칠레아트들을 합성하였으며, 합성한 리간드 및 금속칠레아트의 구조를 분광법으로 확인하였다. 또 역상 액체 크로마토그래피에서 이 금속칠레아트들을 동시에 분리하기 위한 HPLC의 최적 조건 및 이들의 분리관 내에서의 용리 매개체를 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Ni(Ⅱ), Cu(Ⅱ), Co(Ⅲ), Cr(Ⅲ) 금속이온과 합

성한 4종의 리간드간의 반응에 의해 생성된 금속 칼레이트들은 금속이온과 이간드의 몰비가 1:2인 ML_2 형 착물을 형성한다.

2. 용리액의 조성을 변화시켜 본 결과 methanol/water의 혼합비가 각 칼레이트들에 대하여 금속-[Pm(2-OH)PaPz] = 75/25, 금속-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz] = 91/10, 금속-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] = 63/37, 금속-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz] = 77/23일 때 용량인자가 최적 분리조건인 $0 \leq \log k' \leq 1$ 을 비교적 잘 만족시키면서 분리도가 가장 양호하였다.
3. 각 칼레이트화합물들의 $\log k'$ 값을 이성분 용매계 중 물의 부피분율에 대하여 도시한 결과 직선 관계를 나타내었다. 또한 뱃치법으로 측정한 분포비 (D_c)와 k' 과의 상관 관계를 도시한 결과 역시 직선성을 나타내었다. 이상과 같은 결과로부터 역상 액체 크로마토그래피에서 금속-[Pm(2-OH)(5-X)PaPz] (X = H, CH₃, NO₂, Cl) 칼레이트들의 용리 매카니즘은 소용매성 효과에 기인한다는 것을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 1991년도 한국과학재단의 일반 목적기초(921-0300-025-2) 연구비 및 1991년도 경희대학교에서 지원한 학술연구조성비에 의해서 수행된 바 깊은 감사를 드립니다.

참고문헌

1. P. C. Uden and I. E. Bigley, *Anal. Chim. Acta.*, **94**, 29(1977).
2. A. M. Bond and G. G. Wallace, *J. Liq. Chromatogr.*, **6**(10), 1799(1983).
3. R. M. Cassidy, S. Elchuk and J. O. McHugh, *Anal. Chem.*, **54**, 727(1982).
4. S. Inchinoki and M. Yamazaki, *Bunseki KagaKu*, **31E**, 319(1984).
5. A. M. Krstulovic and P. R. Brown, "Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography", John Wiley & Sons Inc., New York, 1982.
6. R. C. Gurira and P. W. Carr, *J. Chromatogr. Sci.*, **20**, 461(1982).
7. J. D. Willettand and M. M. Knight, *J. Chromatogr.*, **237**, 99(1982).
8. I. Susumu, H. Noriko, and Y. Mitsuru, *Anal. Chem.*, **60**, 2099(1988).
9. K. Ohashi, S. Iwai, and M. Horiguchi, *Bunseki Kaagaku*, **31**, E285(1982).
10. M. S. Roger, M. B. Arif, and T. Arun, *Analyst*, **100**, 35(1985).
11. O. Liska, G. Guiochon, and H. Colin, *J. Chromatogr.*, **171**, 145(1979).
12. S. Young-Tzung and W. C. Peter, *Anal. Chim. Acta*, **142**, 55(1982).
13. C. Horvath, W. Melander, and I. Molnár, *J. Chromatogr.*, **125**, 129(1976).
14. F. Vláclík and V. Hamplová, *Col. Czechos. Chem. Commun.*, **50**, 2221(1985).
15. P. Jandera, H. Colin, and G. Guiochon, *Anal. Chem.*, **54**, 435(1982).
16. W. Lee, D. W. Lee, Y. J. Kim, and H. C. Kim, *J. Korean Chem. Soc.*, **32**, 3(1988).
17. I. W. Kim, G. Y. Choi, M. H. Lee, C. H. Kang, and W. Lee, *J. Korean Chem. Soc.*, **36**, 697(1992).
18. H. F. Mark, D. F. Othmer, C. G. Overberger, and G. T. Seaborg, "Encyclopedia of Chemical Technology", 3rd. Ed., Vol. 3, 387, John Wiley and Sons, New York, 1978.
19. F. A. Snavely, B. D. Krecker, and C. G. Clark, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 1028(1957).
20. R. A. Parent, *J. Soc. Dyers Colourists*, **92**, 371(1976).
21. D. C. Harris, "Quantitative Chemical Analysis", 2nd. Ed., 519~521, W. H. Freeman and Co., New York, 1984.
22. P. Jandera, H. Colin, and G. Guiochon, *Anal. Chem.*, **54**, 435(1982).
23. H. Colin, A. Krstulovic, G. Guiochon, and Z. Yun, *J. Chromatogr.*, **255**, 295(1983).
24. W. E. Hammers, G. J. Meurs, and C. L. DeLigny, *J. Chromatogr.*, **247**, 1(1982).
25. C. Horváth, W. R. Melander, and I. Molnár, *J. Chromatogr.*, **125**, 129(1976).
26. A. Nahum and Horváth, *J. Chromatogr.*, **203**, 53(1983).
27. W. R. Melander and C. Horváth, *Chromatographia*, **18**, 353(1984).
28. L. R. Snyder and J. J. Kirkland, "Introduction to Modern Liquid Chromatography", 2nd. Ed., p. 49~56, Wiley, New York, 1979.

29. J. L. Glanchn, J. J. Kirkland, K. M. Squire, and J. M. Minor, *J. Chromatogr.*, **199**, 57(1980).
30. J. Narkiewicz, M. Jaroniec, M. Borówko, and A. Patrykiew, *J. Chromatogr.*, **157**, 1(1978).
31. W. R. Melander, B. K. Chen, and C. Horváth, *J. Chromatogr.*, **185**, 99(1979).