

역상 액체 크로마토그래피에 의한 금속-2-hydroxy-arylazopyrazolone 유도체 킬레이트의 용리거동에 관한 연구 (II)

이 원 · 김인환* · 강창희** · 김은경

경희대학교 문리과대학 화학과

*대구대학교 사범대학 화학교육과

**제주대학교 자연과학대학 화학과

(1994. 8. 29. 접수)

The Elution Behaviors of Some Metal-2-Hydroxy-arylazopyrazolone Chelates by Reversed Phase Liquid Chromatography (II)

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

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

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

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

(Received Aug. 29, 1994)

요약 : Ni(II), Cu(II), Co(III) 및 Cr(III) 이온과 2-hydroxy-arylazopyrazolone 유도체들 사이에 형성하는 킬레이트들에 대한 역상 액체 크로마토그래피에서의 용리 메카니즘을 열역학적인 접근방법으로 고찰하였다. van't Hoff plot에 의해 온도와 용량인자(k')와의 상관관계를 조사한 결과 온도와 용량인자와의 관계는 양호한 직선성을 나타냈으며, 온도 변화와 무관한 동일한 메카니즘에 의해 분리됨을 알 수 있었다. van't Hoff plot으로부터 엔탈피(ΔH°), 엔트로피(ΔS°)를 구하고, 엔탈피와 용량인자와의 상관관계를 조사한 결과 [Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz] ($r=0.787$)을 제외한 대부분의 킬레이트들은 비교적 좋은 직선성($r=0.980\sim 0.999$)을 보였고, 보정온도(β) 역시 일정한 값을 나타내었다. 이것은 금속-2-hydroxy-arylazopyrazolone 킬레이트와 정지상(C_{18})과의 상호작용이 동평형 거동을 하고 있음을 의미한다. 또한 엔탈피와 용량인자와의 상관관계로부터 구한 보정온도는 374.63~806.9k 범위의 값을 나타냈고, 이들 결과로부터 역상 액체 크로마토그래피에서 금속 킬레이트들의 머무름 메카니즘은 소수성 효과에 기인하고 있음을 확인할 수 있었다.

Abstract : The elution behaviors in reversed-phase liquid chromatography were investigated thermodynamically for 2-hydroxy-arylazopyrazolone chelates with Ni(II), Cu(II), Co(III), Cr(III) on Novapak C_{18} column. There was a good linear dependence of the capacity factor(k') on the variations of column temperature in van't Hoff plot. From this result, it was confirmed that the retention mechanism of these chelates in the reversed phase liquid chromatography system was invariant under the condition of various temperatures. For the most cases of the chelates studied, the dependence of capacity factor($\ln k'$) on enthalpy($-\Delta H^\circ$), calculated by van't Hoff plot showed a good linearity($r=0.980\sim 0.999$) except [Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz] ($r=0.787$) and also the compensation temperatures(β) showed

constant values. The range of compensation temperature values calculated from the slope of $-\Delta H^\circ$ vs $\ln k'$ plots was 374.3~806.9K. It was suggested that the retention of metal-2-hydroxy-arylazopyrazolone chelates in the reversed phase liquid chromatography system was largely affected by the hydrophobic effect.

Key words : Metal-2-hydroxy-arylazopyrazolone Chelates, Reversed phase liquid chromatography, Elution behaviors, Retention mechanism

1. 서론

액체 크로마토그래피의 응용범위는 더욱 다양해지고 있으며, 무기분석화학 분야에서도 금속이온의 분리, 정량을 위한 목적으로 이용되는 등 그 활용도가 점차 확대되고 있다. 액체 크로마토그래피에 의한 금속이온의 분리 및 분석은 주로 역상 용리법이 이용되고 있으며, 금속이온에 적당한 킬레이트 시약을 가하여 안정한 금속킬레이트를 형성시키고, 이들 화합물들의 극성, 용해도, 기하학적 구조 등과 같은 물리화학적 성질의 차이에 의하여 분리시키는 방법을 택하고 있다.^{1~5} 이 경우 대표적인 킬레이트시약으로는 β -diketone^{6~8}, dithizone⁹, dithiocarbamate^{10~12}, 8-hydroxyquinoline¹³ 등이 주로 사용되어 왔다. 최근 금속 킬레이트를 역상 액체 크로마토그래피로 분리시키기 위한 연구는 여러 금속이온들을 동시에 분석하기 위한 동시분리법과 아울러 이들의 용리 메카니즘을 규명하고, 머무름을 예측하기 위한 연구에 초점이 모아지고 있다.

역상 액체 크로마토그래피로 킬레이트화합물을 분리함에 있어서 분리관 내에서 이들의 용리 메카니즘을 규명하기 위한 연구는 현재까지 크게 두 가지 방향으로 이루어지고 있다. 첫째는 용리액의 용량인자에 대한 이동상의 조성 또는 분포계수와 상관관계를 고려한 것이고^{14~16}, 둘째는 시료의 머무름을 열역학적 측면에서 고찰한 것이다.^{17~19} 먼저 F. Vlácil 등은 소수성 상호작용과 친실란율성 상호작용의 기여 정도를 실험적으로 측정하여 역상 분리관 내에서 킬레이트의 머무름이 소수성 상호작용에 의해 일어난다는 것을 확인하였고, 다른 금속 킬레이트의 경우에도 이러한 결과가 적용될 수 있을 것으로 예상 할 수 있다.²⁰ 또한 P. Jandera 등은 열역학적 측면에서 용리 메카니즘을 설명하였으며, 대표적인 방법이 extra-thermodynamic approach이다. 이는 선형 자유에너지 관계(linear free energy relationship) 및 엔탈피-엔트로피 보정(en-

thalpy-entropy compensation)현상에 의해 시료의 머무름 메카니즘을 규명하기 위한 방법이다.^{21~24}

Lee²⁵ 등은 역상 액체 크로마토그래피에서 금속킬레이트화합물의 용리 메카니즘을 규명하고, 금속이온들의 동시분리 가능성을 확인하기 위하여 4종의 2-hydroxy-arylazopyrazolone 유도체를 합성하고, 이를 리간드로 Ni(II), Cu(II), Co(III), Cr(III) 금속이온들과 반응시켜 금속-2-hydroxy-arylazopyrazolone 킬레이트화합물을 합성한 후 그 구조를 몇 가지 분광법으로 확인하였다. 아울러 역상 액체 크로마토그래피에서 이들 킬레이트화합물들을 분리하기 위하여 분리관의 종류, 용리액의 조성, 흐름 속도 등 최적 분리조건을 조사하였고, 역상 분리관(C₁₈) 내에서 머무름 메카니즘을 규명하기 위하여 용리액 중 물의 부피분율과 용량인자(k')와의 관계, 용량인자와 분포계수(D_c)와의 상관관계를 검토한 결과를 이미 본 연구의 제 1호에 발표한 바 있다.

본 연구는 열역학적인 접근방법으로, 즉 온도변화와 용량인자와의 상관관계를 나타낸 van't Hoff plot 및 엔탈피(ΔH°)와 용량인자와의 관계를 검토하고, 보정온도(β)를 구하여 역상 액체 크로마토그래피의 분리관 내에서 금속-2-hydroxy-arylazopyrazolone 킬레이트의 머무름 메카니즘을 고찰하였다.

2. 실험

2.1. 측정 기기

금속 킬레이트들의 분리에 사용한 HPLC는 Varian사의 Model VISTA 5500 Liquid Chromatograph로 UV-Visible 검출기 및 영인 과학사의 YOUNGIN Model D520A Integrator를 부착하여 사용하였으며, 분리관은 Waters사의 Novapak C₁₈(3.69mm I.D. × 15cm L., N = 11,600, Particle size = 4 μ m)을 사용하였다. 또한 모든 실험에서 사용된 물은 Millipore사의

Milli-Q/RO Reagent Water Purification System으로 정제하여 사용하였다.

2.2. 시약

금속-2-hydroxy-arylazopyrazolone 킬레이트들은 Lee 등이 본 연구의 제 1 보에서 합성하여 구조를 확인한 것을 그대로 사용하였다.^{25~27}

HPLC 실험에서 용리액 또는 시료의 용매로 사용된 methanol, acetonitrile, methylisobutylketone, acetone, pentanol 등은 주로 Burdick & Jackson Lab.사의 크로마토그래피용 시약을 Millipore membrane filter (Type FH, Por size 0.45 μ m)로 정제하여 사용하였다. 그리고 실험에 사용한 물은 Water Purification System으로 정제한 후 사용하였으며, 리간드 및 킬레이트 합성 후 재결정을 거쳐 진공 데시케이터에 보관하고, 사용시 소량씩 용매에 녹여 5 μ m Sep-Pak으로 거른 후 사용하였다.

2.3. 온도 변화에 따른 용량인자(k') 측정

각 금속킬레이트들의 용리거동을 규명하기 위하여 온도의 변화에 따른 시료의 머무름과 분리도를 조사하였으며, 금속-[Pm(2-OH)PaPz] 킬레이트들의 경우 30 $^{\circ}$ C~45 $^{\circ}$ C에서, 금속-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz] 킬레이트들의 경우 25 $^{\circ}$ C~45 $^{\circ}$ C에서, 금속-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] 킬레이트들은 22 $^{\circ}$ C~42 $^{\circ}$ C, 그리고 금속-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz] 킬레이트들은 28 $^{\circ}$ C~43 $^{\circ}$ C에서 각각 5 $^{\circ}$ C 간격으로 분리관의 온도를 변화시키면서 크로마토그램을 작성하였다. 또한 HPLC의 최적 분리조건은 이미 Lee²⁵들이 본 연구의 제 1 보에서 조사한 결과를 따랐으며, 분리관의 온도는 universal column heater를 사용하여 조절하였다. 그리고 용리액으로 사용한 메탄올과 물의 혼합비율은 킬레이트 종류에 따라 75/25(금속-[Pm(2-OH)PaPz], 90/10(금속-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz], 63/37(금속-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz], 77/23(금속-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz])이 되도록 조절하였다. 그리고 용량인자는 분리관의 온도를 변화시키면서 각각의 크로마토그램을 작성한 후 식 $k' = (t - t_0) / t_0$ 로부터 계산하였다. 식에서 t 는 시료의 머무른 시간(retention time)이고, t_0 는 불감시간(dead time)이다.

3. 결과 및 고찰

역상 액체 크로마토그래피에서 시료의 머무름 메카니즘은 용량인자와 이동상의 조성 및 분포계수와 상관관계^{14, 16}, 그리고 열역학적인 개념을 도입하여 고찰^{17~19}하는 두 방향으로 주로 연구되어 왔다.

최근 Lee^{23, 24}은 몇 가지 금속 킬레이트들에 대한 용리 메카니즘을 이 두 가지 측면을 고려하여 고찰한 바 있으며, 또한 본 연구와 관련된 금속-hydroxy-arylazopyrazolone 킬레이트들에 대한 용리거동을 k' 값과 이동상의 조성 및 분포계수와 상관관계를 검토한 결과로부터 금속 킬레이트의 머무름은 주로 소수성 효과에 기인하고 있음은 이미 보고한 바 있다.²⁵

따라서 본 연구에서는 이들 금속 킬레이트들에 대한 용리거동을 열역학적인 접근법으로 해석하기 위하여 먼저 온도 변화에 따른 시료의 k' 값과 표준 엔탈피 및 표준 엔트로피값과의 상관관계를 검토하였고, 다음 엔탈피-엔트로피 보정(enthalpy-entropy compensation)현상과의 관계를 고찰하였다.

일반적으로 액체 크로마토그래피에서 용량인자(k')는 용질이 정지상과 상호작용할 때의 열역학적 평형상수(K)와 $k' = \phi k$ 의 관계를 갖게 되며²⁹, 이 식에 Gibb's Free Energy와 열역학 제 2법칙의 관계식을 대입하면, 주어진 온도에 용량인자(k_T')는 다음과 같은 표준 엔탈피와 표준 엔트로피의 관계식으로 나타낼 수 있다.^{28~30} 즉,

$$\ln k' = \frac{-\Delta H^{\circ}}{RT} - \frac{\Delta S^{\circ}}{R} + \ln \phi \text{이다.}$$

여기에서 ϕ 는 상비율(phase ratio)으로서, 이동상의 부피에 대한 정지상의 부피비이다. 일반적으로 C₁₈ 분리관의 경우 약 1/2.6 정도의 값을 갖는다고 보고된 바 있다.³⁰

본 연구에서는 분리관의 온도를 변화시키면서 크로마토그램을 작성하여 용량인자를 구하고 그 결과를 Table 1~Table 4에 수록하였으며, 앞의 식에서 용량인자와 온도와의 관계를 van't Hoff plot에 따라 도시한 결과는 Fig. 1~Fig. 4에 나타내었다. 또 van't Hoff plot의 기울기($-\Delta H^{\circ}/R$)로부터 용질이 이동상에서 정지상으로 전이될 때의 표준전이엔탈피를 구하고, 기울기($\Delta S^{\circ}/R + \ln \phi$)로부터 표준전이엔트로피를 계산하여 Table 1~Table 4에 함께 수록하였다.

결과에서 보는 바와 같이 용질의 머무른 시간은 온도가 증가할수록 감소하며 van't Hoff plot에서 $1/T \ln$

Table 1. Effect of temperature on the $\ln k'$ for metal-[Pm(2-OH)PaPz] chelates

Chelates	$\ln k'$ at Temperature(°C)				$-\Delta H^\circ$ (kcal /mol)	ΔS° (kcal /mol K)	r
	30	35	40	45			
Co-[Pm(2-OH)PaPz]	1.28	1.26	1.22	1.20	1.07	9.2×10^{-4}	0.981
Ni-[Pm(2-OH)PaPz]	2.31	2.56	2.19	2.14	2.26	-9.7×10^{-4}	0.987
Cu-[Pm(2-OH)PaPz]	3.11	3.02	2.95	2.89	2.76	-1.1×10^{-4}	0.997

Mobile phase : MeOH/H₂O (75/25), Flow rate : 0.7mL/min,
r : Correlation coefficient

Table 2. Effect of temperature on the $\ln k'$ for metal-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz] chelates

Chelates	$\ln k'$ at Temperature(°C)					$-\Delta H^\circ$ (kcal /mol)	ΔS° (kcal /mol K)	r
	25	30	35	40	45			
Co-[Pm(2-OH)(5-CH ₃)PaPz]	0.34	0.33	0.32	0.32	0.31	1.07	1.9×10^{-3}	0.946
Ni-[Pm(2-OH)(5-CH ₃)PaPz]	1.84	1.78	1.73	1.69	1.64	2.26	-6.1×10^{-4}	0.999
Cu-[Pm(2-OH)(5-CH ₃)PaPz]	2.17	2.13	2.08	2.01	1.94	2.76	-1.2×10^{-3}	0.992

Mobile phase : MeOH/H₂O (90/10), Flow rate : 0.7mL/min,
r : Correlation coefficient

Table 3. Effect of temperature on the $\ln k'$ for metal-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] chelates

Chelates	$\ln k'$ at Temperature(°C)					$-\Delta H^\circ$ (kcal /mol)	ΔS° (kcal /mol K)	r
	22	27	32	37	42			
Co-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]	0.23	0.09	0.03	-0.05	-0.13	3.17	-8.4×10^{-3}	0.989
Ni-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]	1.32	1.05	0.92	0.75	0.57	6.65	-1.8×10^{-2}	0.994
Cu-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]	1.70	1.41	1.30	1.11	0.92	6.87	-1.8×10^{-2}	0.992
Cu-[Pm(2-OH)(5-NO ₂)PaPz]	2.24	2.06	1.96	1.79	1.75	4.23	-9.4×10^{-3}	0.986

Mobile phase : MeOH/H₂O (63/37), Flow rate : 1.0mL/min,
r : Correlation coefficient

Table 4. Effect of temperature on the $\ln k'$ for metal-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz] chelates

Chelates	$\ln k'$ at Temperature(°C)				$-\Delta H^\circ$ (kcal /mol)	ΔS° (kcal /mol K)	r
	28	33	38	43			
Co-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]	1.45	1.44	1.41	1.37	1.03	1.4×10^{-3}	0.972
Ni-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]	2.07	2.03	2.01	1.99	1.07	2.4×10^{-3}	0.988
Cu-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]	2.39	2.26	2.24	2.23	2.11	-4.1×10^{-4}	0.981

Mobile phase : MeOH/H₂O (77/23), Flow rate : 0.7mL/min,
r : Correlation coefficient

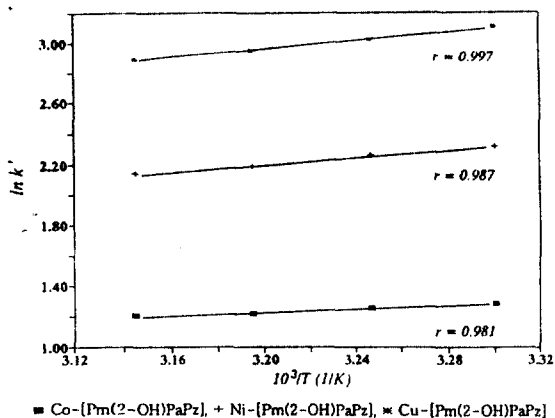


Fig. 1. van't Hoff plots for $\ln k'$ of metal-[Pm(2-OH)PaPz] chelates in reversed-phase chromatography using Novapak C₁₈ column.

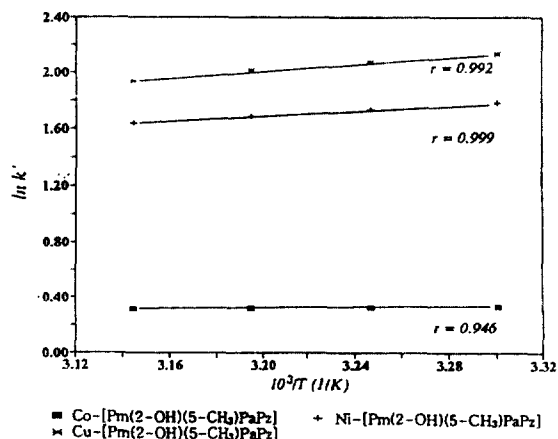


Fig. 2. van't Hoff plots for $\ln k'$ of metal-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz] chelates in reversed-phase chromatography using Novapak C₁₈ column.

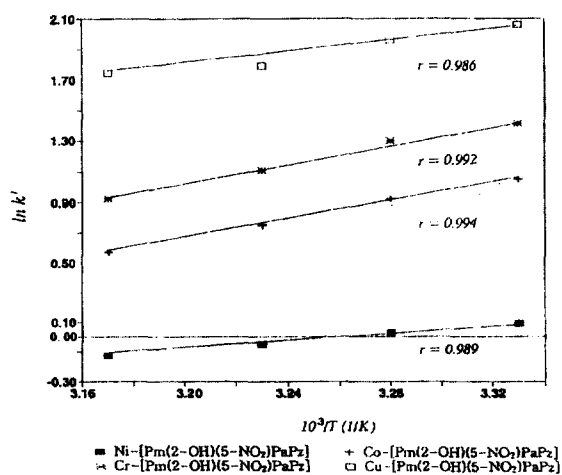


Fig. 3. van't Hoff plots for $\ln k'$ of metal-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] chelates in reversed-phase chromatography using Novapak C₁₈ column.

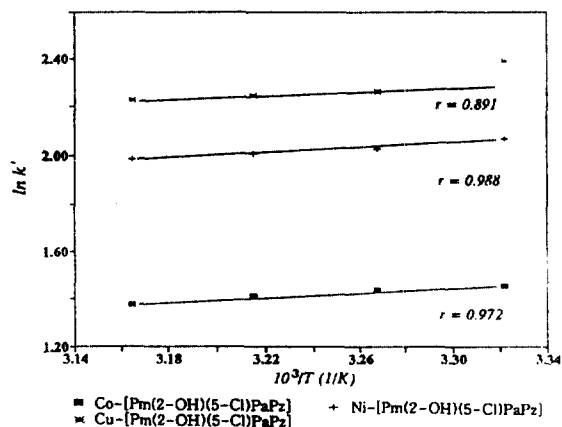


Fig. 4. van't Hoff plots for $\ln k'$ of metal-[Pm(2-OH)(5-Cl₃)PaPz] chelates in reversed-phase chromatography using Novapak C₁₈ column.

k' 의 관계는 상관계수(r)가 0.891~0.999의 값을 가지고, 모든 시료들에서 비교적 양호한 직선성을 나타내었다. 이것은 금속-2-hydroxy-arylazopyrazolone 킬레이트들의 머무름 거동이 온도의 변화에 무관하게 일정함을 의미하며, 주로 소수성 효과에 기인하는 결과라고 추정할 수 있다.²⁵ 한편, van't Hoff plot로부터 구한 엔탈피의 값은 음의 값을 나타냈으며 ΔS° 값은 ΔH° 에 비해 무시해도 좋을 만큼 작은 값을 보였다. 이 결과는 이동상에서 정지상으로의 분배가 발열과정임을 의미한다.³¹ 또한 각 시료들의 $\ln k'$ 과 ΔH° 값의 크

기를 비교해 보면 $\ln k'$ 이 감소할수록 ΔH° 가 증가하는 경향을 보였다. 이것은 용리액의 조성변화 실험에서 메탄올 함량이 증가할수록 $\log k'$ 이 감소하는 결과뿐만 아니라 Sander의 보고와도 잘 일치하는 경향을 나타내고 있음을 알 수 있다.^{25, 30}

다음 extra-thermodynamic 접근법에 의한 엔탈피-엔트로피 보정(enthalpy-entropy compensation)현상을 이용하여 머무름 메커니즘을 고찰하였다.

즉, 시료가 분리관 내에서 등평형(iso equilibrium)

변화를 일으킬 때 용량인자(k')는 반응속도 또는 평형 상수의 변화량이 0이 되는 보정온도(compensation temperature) β 에서의 자유에너지 변화(ΔG_{β}°) 및 φ 값과의 상관관계는, 즉

$$\ln k_T' = \frac{-\Delta H^{\circ}}{R} (1/T - 1/\beta) - \Delta G^{\circ}/R\beta + \ln \Phi \quad \text{된다.}^{24, 32, 33}$$

여기서 k_T' 은 온도 T에서의 용량인자이다. 이 식에서 만약 $-\Delta H^{\circ}$ 와 $\ln k_T'$ 를 도시하였을 때 직선관계를 나타낸다면 엔탈피-엔트로피 보정 현상이 일어나는 것으로 해석할 수 있으며, 정지상과 용질 사이의 가역결합(reversible binding)이 근본적으로 동일한 메카니즘에 의한 것으로 볼 수 있다. 또 직선의 기울기, $R^{-1}(1/T - 1/\beta)$ 로부터 보정온도 β 를 구할 수 있으며, 이 값이 거의 일정하다면 시료의 머무름이 등평형 거동(isoequilibrium behavior)을 하는 것으로 볼 수 있다.²⁹

본 연구에서는 각 킬레이트에 대해 금속-[Pm(2-OH)PaPz]의 경우 30°C~45°C, 금속-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz]의 경우 25°C~45°C, 금속-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz]는 22°C~42°C, 금속-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]는 28°C~43°C 범위 내에서 각각 5°C 간격으로 온도를 변화시키면서 특정 온도에서 구한 용량인자($\ln k_T'$)와 van't Hoff plot의 기울기로부터 구한 엔탈피 변화($-\Delta H^{\circ}$)를 도시하여 상관관계를 조사하였다. 그리고 이들의 상관관계를 도시한 직선의 기울기로부터 보정온도를 계산하였다. 이 중 킬레이트의 종류에 따라 30°C, 25°C, 22°C, 28°C에서 엔탈피 변화($-\Delta H^{\circ}$)와 용량인자($\ln k_T'$)와의 상관관계를 도시한 결과는 Fig. 5~Fig. 7에 나타내었다.

결과에서 보면, 먼저 금속-[Pm(2-OH)PaPz] 킬레이트의 경우(Fig. 5) $\ln k' = 1.0364(-\Delta H^{\circ}) + 0.1293$ ($r=0.988$)으로 $-\Delta H^{\circ}$ 와 $\ln k'$ 의 상관관계는 직선성을 보였으며, 기울기로부터 구한 β 는 806.9K였다. 금속-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz] 킬레이트의 경우(Fig. 6) 역시 $\ln k' = 1.9163(-\Delta H^{\circ}) + 0.1561$ ($r=0.999$)로 $-\Delta H^{\circ}$ 와 $\ln k'$ 의 상관관계는 아주 양호한 직선성을 보였으며, β 는 652.2K였다. 한편, 금속-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] 킬레이트의 경우(Fig. 7), Cu-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz]가 직선을 많이 벗어나는 관계로 이를 제외한 나머지 킬레이트들만을 고려하여 상관

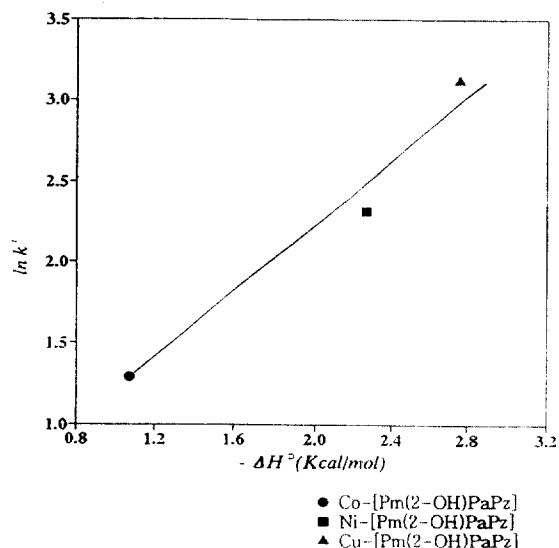


Fig. 5. Compensation plot of $\ln k'$ vs $-\Delta H^{\circ}$ for metal-[Pm(2-OH)PaPz] chelates.

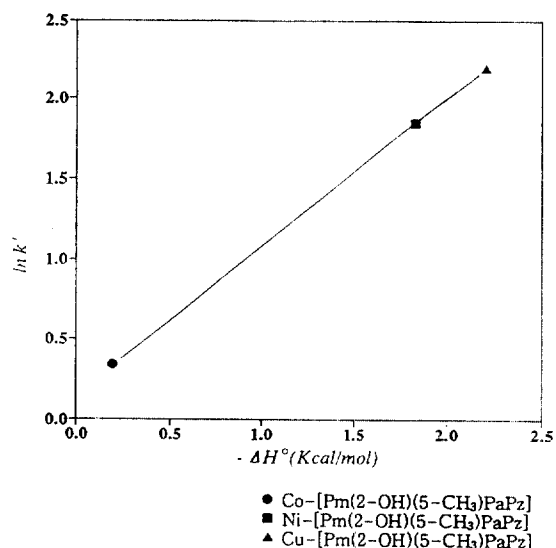


Fig. 6. Compensation plot of $\ln k'$ vs $-\Delta H^{\circ}$ for metal-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz] chelates.

관계를 조사한 결과 $\ln k' = 0.3614(-\Delta H^{\circ}) - 0.9217$ ($r=0.980$)이고, β 는 374.3K였다. 그러나 금속-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz] 킬레이트의 경우는 $\ln k' = 0.6129(-\Delta H^{\circ}) + 1.1106$ ($r=0.787$)으로서 직선관계를 많이 벗어나며, β 는 475.6K의 값을 보였다. 이상의 결과에서 보는 바와 같이 역상 HPLC의 분리에서 금속

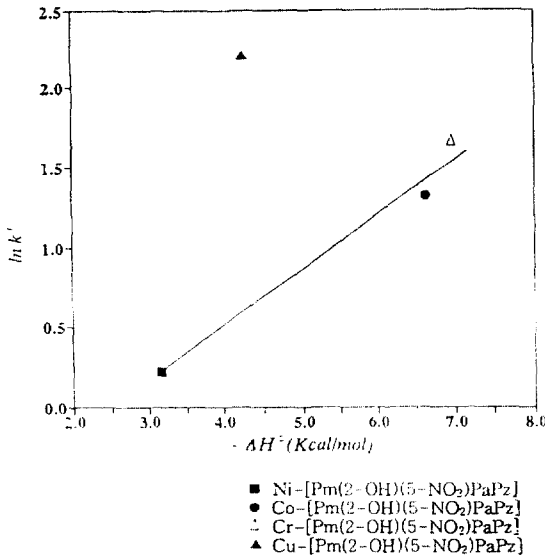


Fig. 7. Compensation plot of $\ln k'$ vs $-\Delta H^\circ$ for metal-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] chelates.

2-hydroxy-arylazopyrazolone 킬레이트들은 그 종류에 따라 약간의 예외적인 현상을 보여주고 있지만 그러나 대체적으로 $-\Delta H^\circ$ 와 $\ln k'$ 의 상관관계가 직선성을 유지하는 동시에, 엔탈피-엔트로피 보정 현상을 나타내고 있다. 따라서 정지상인 옥타데실실리카(octadecylsilica) 지지체와 시료의 상호 작용이 온도 변화에 무관하게 동일한 메카니즘에 의해 분리됨을 확인할 수 있었다. 특히 4종의 킬레이트들 모두에 대해 각 온도에서 구한 보정온도 β 값이 금속이온의 종류가 다르고, 리간드가 같은 동종의 킬레이트들간에는 서로 거의 동일한 값을 나타냄으로써 이들 시료들은 정지상과의 결합 과정이 등평형 거동을 나타내고 있음을 알 수 있었다.^{29, 30, 31}

또한 Melander 등에 의하면 β 가 대략 625K 정도 (95% 신뢰한계에서 400~900K)이면 용질의 분리가 소수성 효과에 기인한다고 보고한 바 있다.^{29, 31} 이를 기준으로 보면 본 연구에서 사용한 시료들 중 금속-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] 킬레이트를 제외한 나머지 킬레이트들은 이 범위를 만족시키는 것으로 나타냄으로써, 이들에 대한 용리 메카니즘은 주로 소수성 효과에 의해 머무름이 일어난다는 것으로 볼 수 있다. 그러나 금속-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] 킬레이트의 경우, Ni(II)을 제외한 나머지 킬레이트들에 있어서는 비교

적 직선성($\gamma=9.80$)을 나타내고 있으나 β 값(374.3K)이 다른 킬레이트 화합물보다 낮은 반면(475.6~806.9K), [Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz]의 경우는 금속이온의 종류가 부족한 정도 있겠지만 거의 직선관계($\gamma=0.787$)를 이루지 않고 있다. 이와 같은 결과는 금속 킬레이트들의 또다른 물리화학적 성질 등이 용리거동에 영향을 미치는 것으로 보이며, 앞으로 이를 해석하기 위한 연구가 필요하다.

그러나 이미 Lee²⁵ 등은 본 연구와 관련된 논문의 제 1 보에서 용량인자와 용리액 조성(메탄올과 물의 혼합 용매에서 물의 부피분율)과의 관계, 또 용량인자와 분포비와의 상관관계로부터 금속-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] 킬레이트들의 용리가 소수성 효과를 나타내는 것으로 확인한 바 있다. 따라서 이 결과와 함께 금속 킬레이트의 용리거동을 열역학적인 접근법으로 고찰한 본 연구의 결과를 종합하여 볼 때 금속-hydroxy-arylazopyrazolone 킬레이트들은 모두 역상 액체 크로마토그래피의 분리관 내에서 머무름이 주로 소수성 효과에 기인하는 것으로 판단된다.

4. 결론

리간드인 2-hydroxy-arylazopyrazolone 유도체 4종과 Ni(II), Cu(II), Co(III), Cr(III)과 형성하는 금속-2-hydroxy-arylazopyrazolone 킬레이트들에 대한 역상 크로마토그래피에서의 용리 메카니즘을 열역학적인 접근방법으로 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 분리관의 온도를 변화시키면서 작성한 크로마토그램으로부터 온도와 용량인자와의 관계를 도식한 van't Hoff plot에서 온도(1/T)와 용량인자($\ln k'$)와의 상관관계는 양호한 직선성을 나타냄으로써 금속-2-hydroxy-arylazopyrazolone 킬레이트들은 온도 변화와 무관하게 동일한 메카니즘에 의해 분리됨을 확인할 수 있었다.
2. $-\Delta H^\circ$ 와 $\ln k'$ 과의 상관관계를 조사한 결과 대체적으로 직선성을 보임으로써 역상 HPLC의 분리에서 금속-2-hydroxy-arylazopyrazolone 킬레이트들은 엔탈피-엔트로피 보정 현상을 나타내었다. 또 리간드가 동일한 각 킬레이트들에서 보정온도(β)는 동일한 값을 나타냈으며, 이로부터 정

지상인 옥타데실릴리카(octadecylsilica) 지지체와 시료의 상호 작용이 등평형 거동을 하고 있음을 알 수 있었다.

3. $-\Delta H^\circ$ 와 $\ln k'$ 과의 상관관계로부터 보정 온도를 구한 결과 금속-[Pm(2-OH)(5-NO₂)PaPz] 킬레이트를 제외한 금속-[Pm(2-OH)PaPz], 금속-[Pm(2-OH)(5-CH₃)PaPz], 금속-[Pm(2-OH)(5-Cl)PaPz] 킬레이트들이 각각 806.9K, 652.2K, 475.6K의 값을 나타냈으며, 이로부터 금속-2-hydroxy-arylazopyrazolone 킬레이트들의 역상 액체 크로마토그래피에서의 용리 메카니즘은 소수성 효과에 기인한다는 것을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 1992년도 한국과학재단의 일반목적기초연구비(920-0300-025-2)에 의해서 수행된 바 이에 깊은 감사를 드립니다.

인용문헌

- P. C. Uden and I. E. Bigley, *Anal. Chim. Acta.*, **94**, 29(1977).
- A. M. Bond and G. G. Wallace, *J. Liq. Chromatogr.*, **6(10)**, 1799(1983).
- R. M. Cassidy, S. Elchuk and J. O. Mchugh, *Anal. Chem.*, **54**, 727(1982).
- S. Inchinoki and M. Yamazaki, *Bunseki Kagaku*, **31E**, 319(1984).
- A. M. Krstulovic and P. R. Brown, "Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography", John Wiley & Sons Inc., New York, 1982.
- R. C. Gurira and P. W. Carr, *J. Chromatogr. Sci.*, **20**, 461(1982).
- J. D. Willett and M. M. Knight, *J. Chromatogr.*, **237**, 99(1982).
- I. Susumu, H. Noriko, and Y. Mitsuru, *Anal. Chem.*, **60**, 2099(1988).
- K. Ohashi, S. Iwami, and M. Horiguchi, *Bunseki Kagaku*, **31**, E285(1982).
- M. S. Roger, M. B. Arif, and T. Arun, *Analyst*, **110**, 35(1985).
- O. Liska, G. Guiochon, and H. Colin, *J. Chromatogr.*, **171**, 145(1979).
- S. Young-Tzung and W. C. Peter, *Anal. Chim. Acta*, **142**, 55(1982).
- C. Horvath, W. Melander, and I. Molnár, *J. Chromatogr.*, **125**, 129(1976).
- P. Jandera, H. Colin, and G. Guiochon, *Anal. Chem.*, **54**, 435(1982).
- H. Colin, A. Krstulovic, G. Guiochon, and Z. Yun, *J. Chromatogr.*, **255**, 295(1983).
- W. E. Hammers, G. J. Meurs, and C. L. DeLigny, *J. Chromatogr.*, **247**, 1(1982).
- C. Horváth, W. R. Melander, and I. Molnár, *J. Chromatogr.*, **125**, 129(1976).
- A. Nahum and Horváth, *J. Chromatogr.*, **203**, 53(1983).
- W. R. Melander and C. Horváth, *Chromatographia*, **18**, 353(1984).
- F. Vlácil and V. Hamplová, *Col. Czech. Chem. Commun.*, **502**, 2221(1985).
- P. Jandera, H. Colin, and G. Guiochon, *Anal. Chem.*, **54**, 435(1982).
- W. Lee, D. W. Lee, Y. J. Kim, and H. C. Kim, *J. Korean Chem. Soc.*, **32(3)**, 211(1988).
- I. W. Kim, G. Y. Choi, M. H. Lee, C. H. Kang, and W. Lee, *J. Kor. Chem. Soc.*, **3(5)**, 697(1992).
- C. H. Kang, I. W. Kim, and W. Lee, *J. Kor. Chem. Soc.*, **37(12)**, 1035(1993).
- C. H. Lee, C. H. Kang, E. K. Kim, and W. Lee, *J. Kor. Soc. Anal. Sci.*, **7(1)**, 103(1994).
- 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.
- F. A. Snavely, B. D. Kreckler, and C. G. Clark, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 1028(1957).
- L. R. Snyder, *J. Chromatogr.*, **179**, 167(1979).
- W. R. Melander, D. E. Campbell, and C. Horváth, *J. Chromatogr.*, **158**, 215(1978).
- L. C. Sander and L. R. Field, *Anal. Chem.*, **52**, 2009(1980).
- M. Diack, R. N. Compton, and G. Guiochon, *J. Chromatogr.*, **639**, 129(1993).
- J. Hine, "Physical Organic Chemistry", p. 81-91, McGraw-Hill, New York, 1972.
- I. W. Kim, H. C. Shin, M. H. Lee, T. K. Yoon, C. J. Kang, and W. Lee, *J. Kor. Soc. Anal. Sci.*, **5(4)**, 389(1992).