

## XAD-2 지지체를 이용한 벤조산과 그 유도체들의 이온쌍 크로마토그래피에 관한 연구

姜三祐 · 柳三坤\*1 · 朴永奎\*

한남대학 이공학부 화학과

\*대전기계창

(1983. 11. 7 접수)

## Ion-Pair Chromatography of Benzoic Acid and Its Derivatives on XAD-2

Sam Woo Kang, Sam Gon Ryu\*<sup>†</sup> and Young Kyu Park\*

Department of Chemistry, Han Nam College, Daejeon 300, Korea

\*Daejeon Machine Depot, Daejeon 300, Korea

(Received November 7, 1983)

**요 약.** XAD-2 지지체를 이용하여 알코올성 수용액 중에서 벤조산과 그 유도체들의 머무름 거동을 조사하였으며, 또한 분리를 시도하였다. 벤조산과 그 유도체들의 머무름은 첨가한 유기용매의 농도와 종류, 유동상의 pH와 첨가된  $R_4N^+$ 에 의해 영향을 받았으며 시료 분자내의 치환기 종류와 위치에 의해서도 영향을 받았다. 약산 분자들이 산성 용액에서는 주로 분자 흡착에 의하여 무극성 XAD-2 표면에 머무름이 되고 반대이온을 첨가한 경우 염기성 용액에서는 이온쌍 모델을 따라 약산의 전리된 음이온들이 머무르는 것을 확인하였다. 이러한 결과들을 기초로 pH 8.50의 염기성 수용액에서 혼합시료를 분리하였다.

**ABSTRACT.** Retention behavior of benzoic acid and its derivatives on XAD-2 in the alcoholic aqueous solution was investigated and separation was attempted. Retention was affected by the concentration and kinds of added organic solvents, the pH of the aqueous solution, the added  $R_4N^+$  and the position and kinds of functional group in the sample molecules. Retention of sample acids in acidic conditions was due to mainly molecular adsorption on nonpolar XAD-2 surface and that in basic conditions was due to mainly ion-pair model. In these bases a mixed sample was separated in EtOH 20% aqueous solution at pH 8.50.

### 1. 서 론

이온화가 가능한 화합물들을 분리하는데 효과적인 이온쌍(ion-pair) 크로마토그래피법은 Eksborg와 Schill<sup>1</sup>이 이 방법을 적용한 이래 활발히 연구되고 있다<sup>2-16</sup>.

가장 많이 연구되고 있는 이온쌍 크로마토그래피방식은 알킬 처리된 실리카(alkyl-modified silica) 지지체를 이용한 역상계(reversed-phase

system)에서의 분리이다. 그러나 알킬 처리된 실리카는 염기성에서는 사용이 제한되며 적재능이 적은 단점이 있다.

본 연구에서 지지체로 이용한 Amberlite XAD-2는 폴리스티렌-다비닐벤젠의 공중합 고분자 물질로 된 흡착재로서 큰 표면적( $330\text{ m}^2/\text{g}$ )과 다공성( $0.40\text{ ml/ml}$ )이 특징이며<sup>17</sup> 크로마토그래피적인 응용면에서는 알킬 처리된 실리카와 비슷하다. XAD-2의 장점은 알킬 처리된 실리카에 비

해 머무름 정도가 크고 극성 기능기들이 전혀 없으며, pH 1~14 범위에서 안정(alkyl modified silica의 경우는 pH 2~9로 사용이 제한됨)하고 적재능(loading capacities)이 큰 점 등이다.

XAD-2 지지체를 이용하여 방부제의 분리<sup>18</sup>의 약품과 유기산<sup>19,20</sup>, 클로로페놀<sup>21</sup> 방향족 화합물<sup>22</sup> 아미노산과 펩타이드<sup>23</sup>의 크로마토그래피에 관하여는 이미 연구되었으며 최근에는 자연수에서 금속의 분리와 제거에 관한 연구<sup>24</sup>와 이온쌍 크로마토그래피에도 지지체로 이용되고 있다<sup>12~14</sup>. XAD-2에서 이온성 물질의 크로마토그래피적 머무름 기구는 시료 양이온 또는 음이온들이 XAD-2 표면에 첫번째 층으로 흡착되고 두번째 분산 층에는 작은 무기 양이온 또는 음이온층이 이루어지는 전기적 이중층 모델을 따르는 것으로 판명되었다<sup>25</sup>. 그러나 최근 벤젠술폰산의 머무름 거동이 H<sup>+</sup> 또는 테트라 알킬암모늄 이온(R<sub>4</sub>N<sup>+</sup>)이 포함된 용리액(eluent) 중에서 이중층 모델을 따르지 않고 이온쌍 모델을 따르는 것으로 밝혀졌으며, 여기서 벤젠술폰산의 머무름이 H<sup>+</sup>의 농도와 R<sub>4</sub>N<sup>+</sup>의 농도에 따라 현저하게 변화하는 것이 발견되었다<sup>14</sup>.

본 연구에서는 45-54 μm 입도의 XAD-2를 지지체로 이용하여 알코올성 수용액 중에서 벤조산과 그 유도체들의 머무름 거동을 조사하였으며, 특히 R<sub>4</sub>N<sup>+</sup>를 첨가할 경우 염기성 수용액에서 이온쌍 모델을 따라 무극성 XAD-2 표면에 머무르는 것을 확인하였다. 아울러 이러한 결과들을 기초로 혼합시료를 분리하여 염기성 수용액에서 약유기산의 분리는 XAD-2를 이용한 이온쌍 크로마토그래피법이 유용하다는 것을 증명하였다.

## 2. 실험

**시 약.** 벤조산과 그 유도체들은 Fisher Scientific Co., Eastman Kodak Co., Aldrich Chemical Co., BDH Chemical Ltd., Tokyo Kasei, Wako 등에서 구입하였으며, 이온쌍 시약으로 사용한 tetraethylammonium bromide (TEAB), tetrabutylammonium bromide (TPrAB), tetrabutylammonium bromide (TBAB)는 Eastman Kodak

Co. 제품을 사용하였다. 용리액으로 사용한 에탄올, *n*-프로판올 그리고 *n*-부탄올은 Merck 제품을 사용하였으며, 증류수는 증류장치로 1차 증류한 다음 이온교환수지를 통과시켜 사용하였다. 기타 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KCl 등은 BDH 제품을 사용하였다.

**XAD-2 칼럼 제작.** 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)용 칼럼을 다음과 같이 제작하였다. Amberlite XAD-2 수지는 Sigma Chemical Company에서 직경 20~50 메시의 것을 구입하여 1N HCl로 씻어 불순물을 제거한 다음 Cl<sup>-</sup> 이온이 검출되지 않을 때까지 증류수로 씻어내고 다시 속슬레(soxhlet) 추출장치를 이용하여 아세톤으로 하루동안 추출한 후 오븐속에서 60°C로 완전히 건조시켰다. 건조된 수지를 볼밀(ball mill)로 갈아서 작은 입자로 만든 다음, 체(U.S. standard sieves)로 45~54 μm의 입자들을 분리하고 분리된 수지를 다시 아세톤으로 추출한 다음 오븐속에서 건조하여 사용하였다. 칼럼 충전은 dynamic slurry-packing 방법<sup>26~28</sup>으로 준비해 둔 XAD-2 수지 1.4g을 취하여 98% 에탄올 용액 20 ml와 혼합한 다음 스테인레스강 튜브에 넣고 펌프에 연결한다. 에탄올에 연결되어 있는 펌프로 유속 4.4 ml/min, 압력 5,500 psi로 에탄올을 펌프질하여 스테인레스강 튜브에 연결되어 있는 칼럼에 XAD-2 수지가 채워지도록 하였다. 칼럼으로 사용한 튜브는 Gibson tube, ASTM-A269, No. 5178KI, 안지름 0.14 cm, 벽두께 0.09 cm, stainless steel type 304 pressure tubing으로 길이는 40 cm로 하였다. 충전이 끝난 칼럼은 약 2시간 동안 에탄올을 흘려 보내어 씻어준 다음 시료 분리에 사용하였다.

**기기 및 기구.** 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 장치는 Waters Associates의 ALC/GPC 244를 사용하였으며 Model 440 absorbance detector와 Model M 6000 A pump (0~6,000 psi) 그리고 Model U 6 K injector로 구성되어 있다. 시료주입은 25 μl micro-cylinge (Precision Sampling Corp.)를 사용했고 Omniscrite Recorder (Houston Instrument)를 써서 크로마토그램

을 그렸다.

**실험법.** 모든 용리액의  $R_4N^+$  농도는  $1.0 \times 10^{-3}M$ 로 하였고  $0.01M K_2HPO_4$ 에  $0.4N HCl$  또는  $0.4N KOH$ 를 첨가하여 원하는 pH의 완충용액을 만들었다. pH 2와 12는  $K_2HPO_4$ 를 첨가하지 않고  $0.4N HCl$ 과  $0.4N KOH$ 를 사용하여 조정하였다. 또한 이온강도는 KCl을 첨가하여  $\mu=0.1$ 로 조정하였다. 실험에 사용한 각 시료는 1~10 mg을 95% 에탄올 5 ml에 녹여서 사용하였고 시료 주입량은 한번에 1~15  $\mu$ l를 마이크로주사기로 주입하였다. 용리액은 1.0~2.5 ml/min의 속도로 흘러보냈으며 이때 칼럼에 미치는 압력은 800~2,500 psig였다. 결과에 대한 신뢰도를 높이기 위해서 같은 시료에 대해 두번씩 실험하였다. 자외선 흡광검출기(UV absorbance detector)의 파장은 254nm로 고정하여 사용하였으며 머무름크기성질(capacity factor)  $k'$ 는 다음 식에 의해 계산하였다.

$$k' = \frac{V_R - V_0}{V_0}$$

여기서  $V_R$ 는 시료의 머무름 부피이며  $V_0$ 는 칼럼틀세 부피이다.  $V_0$ 는 98% 에탄올 유동상에 시료 대신 물을 주입할 경우 크로마토그램의 바탕선 교란이 일어나는 것을 이용하여 구했다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 머무름에 영향을 주는 여러가지 인자

(1) 첨가한 유기용매의 농도 및 종류. pH를 8.5로 고정시키고 유기용매의 농도 및 종류를 변화시키면서 벤조산과 그 유도체들의 XAD-2에 대한 머무름을 측정하여 Table 1과 같았다. 에탄올의 농도가 증가할 수록 시료의 머무름이 감소됨을 알 수 있다. 이것은 에탄올의 농도가 증가할 수록 용매의 극성이 상대적으로 감소하게 되며 또한 유기시료의 용해도가 증가하므로 XAD-2 표면에서의 시료 약유기산들의 흡착을 방해하기 때문이라고 생각된다. 에탄올, *n*-프로판올, *n*-부탄올 각각 20% 수용액에서 행한 결과들을 비교하면 에탄올, *n*-프로판올, *n*-부탄올 순으로 머무름이 감소됨을 알 수 있다. 이는 용매가 에탄올 *n*-프로판올 *n*-부탄올 순으

Table 1. Retention (capacity factors,  $k'$ ) of benzoic acid and its-derivatives on XAD-2 in buffers containing various organic solvents at pH 8.50. Flow rate : 1.50 ml/min,  $V_0=0.63$ ,  $\mu=0.10$

Compounds	Solvents				
	EtOH			<i>n</i> -PrOH (20%)	<i>n</i> -BuOH (20%)
	10%	20%	30%		
benzoic acid	0.68	0.51	0.39	0.36	0.32
<i>o</i> -Cl	0.70	0.52	0.50	0.39	0.32
<i>m</i> -Cl	1.46	1.41	1.43	1.01	0.67
<i>p</i> -Cl	1.80	1.51	1.47	1.17	0.71
<i>o</i> -Br		0.67			
<i>p</i> -Br		2.10			
<i>o</i> -CH <sub>3</sub>	0.50	0.52	0.42	0.37	0.30
<i>m</i> -CH <sub>3</sub>	0.97	0.86	0.67	0.64	0.43
<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	1.02	0.81	0.72	0.69	0.41
<i>p</i> -OH		0.22			
<i>p</i> -NO <sub>2</sub>		0.90			
<i>o</i> -NH <sub>2</sub>		0.46			
3,5 dinitro	2.36	1.98	1.43	1.47	0.97
4-OH, 3-OCH <sub>3</sub>	0.41	0.32	0.32	0.29	0.30

로 극성이 감소하므로 극성이 작은 용매의 XAD-2 표면에서의 흡착성이 극성이 큰 용매보다 강하여 약유기산들의 흡착성을 감소시키기 때문이라고 생각된다. 이러한 결과를 기초로 머무름이 다른 용매에 비해 비교적 큰 에탄올을 택하고 칼럼에 미치는 압력 등의 영향을 고려하여 에탄올 10%가 아닌 20% 용액을 택하였다.

#### (2) 용리액의 pH와 시료 약유기산들의 $pK_a$ .

Fig. 1~4에 파라-톨루산(메틸벤조산) 그리고 오르토, 메타, 파라-클로로벤조산의 머무름을 용리액 중에 반대이온을 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우 각각에 대해 pH의 함수로 나타내었다. 공통적인 현상은 산성에서 머무름이 염기성에서 보다 훨씬 큰 점이다. 이것은 XAD-2가 비극성 지지체이기 때문에 약산들이 거의 전리하지 않는 산성 용액에서는 약산분자들이 분자 상태로 XAD-2 표면에 흡착이 되며 반면에 염기성 용액에서 약산들은 대부분 전리된 상태로 존재하기 때문에 무극성 XAD-2 표면에 거의 흡착이 되지 않기 때문이다.

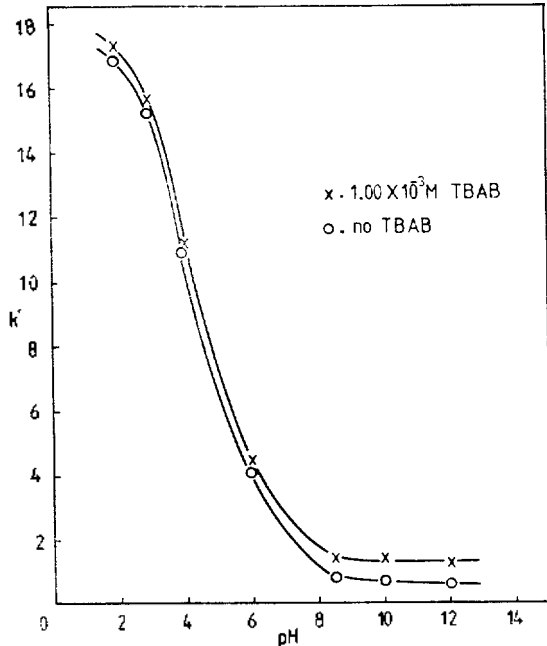


Fig. 1 Retention of *p*-toluic acid on XAD-2 in the absence and presence of TBAB as a function of pH. Eluent; 20% EtOH-80% H<sub>2</sub>O,  $\mu=0.10$ . Flow rate; 1.0~2.5 ml/min,  $V_0=0.63$  ml.

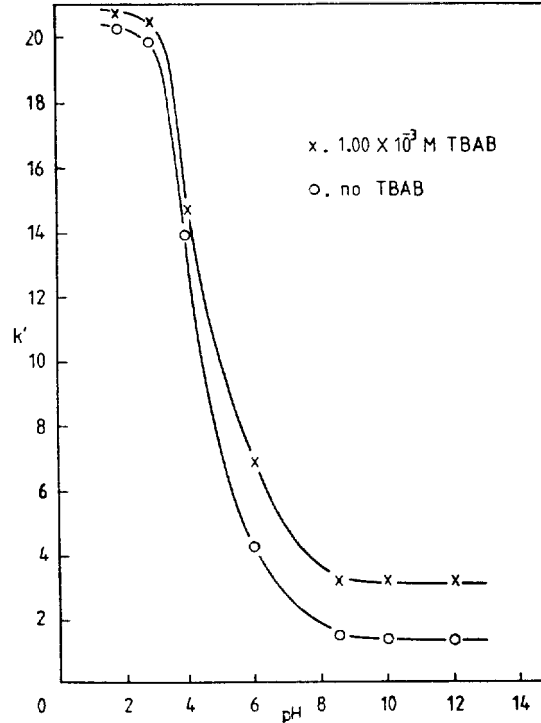


Fig. 3 Retention of *m*-chlorobenzoic acid on XAD-2 in the absence and presence of TBAB as a function of pH. Eluent; 20% EtOH-80% H<sub>2</sub>O,  $\mu=0.10$ . Flow rate; 1.0~2.5 ml/min,  $V_0=0.63$  ml.

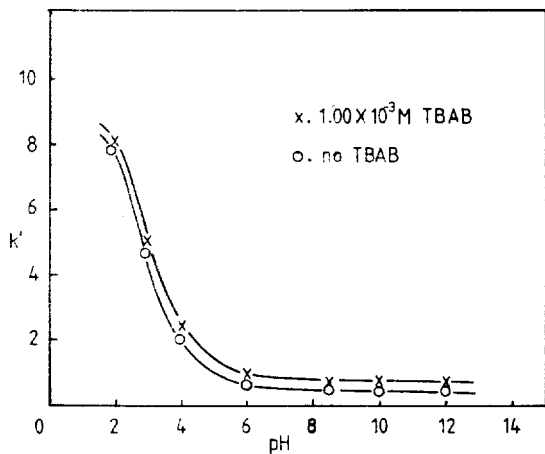


Fig. 2 Retention of *o*-chlorobenzoic acid on XAD-2 in the absence and presence of TBAB as a function of pH. Eluent; 20% EtOH-80% H<sub>2</sub>O,  $\mu=0.10$ . Flow rate; 1.0~2.5 ml/min,  $V_0=0.63$  ml.

$$k' = k_0 \left( \frac{1}{1 + Ka/[H^+]} \right) + k_{-1} \left( \frac{1}{1 + [H^+]/Ka} \right)$$

$k_0$ : capacity factors for undissociated weak acid;  
 $k_{-1}$ : capacity factors for dissociate weak acid.

이것은  $[H^+]=Ka$  되는 점에서  $k'$  값이 분자상태의  $k_0$  값과 이온상태의  $k_{-1}$  값을 합한 것의 절반이 된다는 것으로 Fig. 1~4의 결과와 거의 일치함을 알 수 있다. 그러나 실험치와 계산치가 정확하게 일치하지 않는 것은 잊식은 완전히 수용액인 경우에서의 관계식인데 비해 실제실험은 20% 에탄올 수용액에서 하였으며 용액에 첨가한 이온성 물질들의 영향때문이라고 생각된다.

(3) 반대이온( $R_4N^+$ ). 용리액에 TBAB를 첨가한 경우는 첨가하지 않은 경우보다 머무름이 증가하는 것을 Fig. 1~4에서 알 수 있다. 특히 염기성 용액에서의 증가폭이 산성에서 보다 크게 나타나 있는 것을 알 수 있다. 이것은 TBAB가 염기성 수용액중에서 전리된 상태로

Pietrzyk 등<sup>20~23,29</sup>은  $k'$ 와 pH 및  $pKa$ 의 상관관계를 다음 식과 같이 유도하였다.

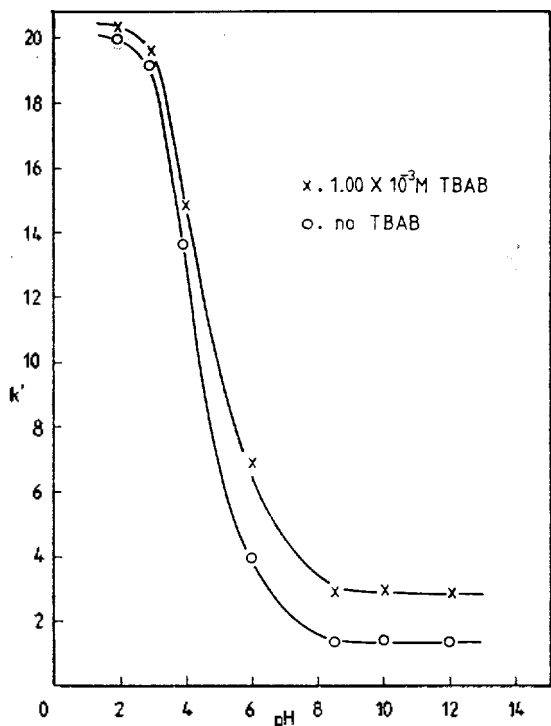
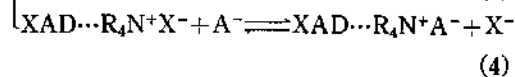
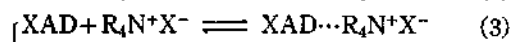
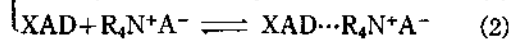
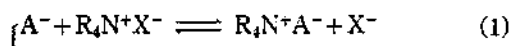


Fig. 4 Retention of *p*-chlorobenzoic acid on XAD-2 in the absence and presence of TBAB as a function of pH. Eluent; 20% EtOH-80% H<sub>2</sub>O,  $\mu=0.10$  Flow rate; 1.0~2.5 ml/min,  $V_0=0.63$  ml

있는 약유기산들의 음이온과 이온쌍을 형성하면서 XAD-2 표면에 흡착되는 과정을 거치기 때문이라고 생각되며, 산성용액에서는 약유기산들이 전리하지 않기 때문에 이온쌍 형성이 되지 않으므로 TBAB의 영향이 작아지기 때문이라고 생각된다.

$R_4N^+$  존재하의 이온쌍 머무름 기구는 다음과 같이 두 가지 방식으로 설명할 수 있다.



$A^-$ 는 약유기산의 전리된 형태이며  $R_4N^+$ 는 반대이온인 테트라부틸암모늄이온,  $X^-$ 는 공통 음이온인  $Br^-$ ,  $XAD \cdots R_4N^+A^-$ 는 XAD 표면과

$R_4N^+A^-$  이온쌍의 소수성 탄화수소 사슬이 상호 인력에 의하여 머무름이 되는 것을 나타낸다. 즉 (1)(2)식으로 표현한 것은 먼저 약유기산의 전리된 음이온과 반대이온이 이온쌍을 형성한 후에 형성된 이온쌍이 XAD-2 표면에 흡착되면서 머무름이 되는 것이며, (3)(4)식으로 표현한 것은 XAD-2와 반대이온의 탄화수소 사슬이 상호 인력에 의해서 먼저 흡착이 되고난 다음 반대이온의 공통 음이온  $X^-$  즉  $Br^-$ 와 약유기산의 전리된 음이온  $A^-$  사이에 이온교환이 일어나면서 머무름이 되는 것을 표현한 것이다.

알킬 처리된 실리카를 지지체로 쓴 경우 반대이온의 종류나 농도, 용리액의 이온강도 또는 시료의 농도 등 여러가지 인자들에 의해서 위의 두 머무름 기구 중 어느 한 과정이 지배적이 되며 상대적으로 다른 과정은 그 정도가 약해지는 것으로 알려져 있다<sup>9~11</sup>.

최근 XAD를 지지체로 쓴 경우  $A^-$  즉 시료 음이온의 농도가 큰 경우는 (1)(2) 과정이 지배적이고  $A^-$ 의 농도가 작은 경우는 (3)(4) 과정이 지배적인 것이 실험에 의해 밝혀졌다<sup>30</sup>.

또한 대부분의 화합물들은 첨가한  $R_4N^+$ 의 소수성 탄화수소 사슬길이가 길수록 즉 no  $R_4N^+ \leq TEAB < TPrAB < TBAB$ 의 순으로 머무름이 증가하는 것을 Table 2와 3에서 볼 수 있다. 이것은 탄화수소 사슬길이가 길어질 수록 소수성인 XAD-2 표면에 더욱 잘 흡착할 수가 있으며 결과적으로  $R_4N^+$  양전하와 유기산의 음이온들이 이온쌍을 형성할 수 있는 기회가 많아지기 때문이라고 생각된다.

(4) **치환기의 종류.** Table 4의 결과에 의하면 소수성 치환기를 포함하고 있는 파라-메틸벤조산의 경우는 벤조산보다 머무름 정도가 크고 친수성 치환기를 포함하고 있는 파라-히드록시벤조산의 경우는 벤조산보다 머무름 정도가 작다. 이것은 파라 위치에 소수성 메틸기가 있는 파라-메틸벤조산은 무극성 XAD-2 표면과 메틸기의 상호 인력에 의해서 흡착력이 증가하고 반면에 히드록시기를 파라 위치에 가지고 있는 파라-히드록시벤조산의 경우는 친수성의 수산기가 있으므로 이것이 수용액상으로 배향하려는

Table 2. Retention (capacity factors,  $k'$ ) of benzoic acid and its derivatives on XAD-2 in the absence and presence of some  $R_4N^+$  at pH 6.00. Eluent : 20 % EtOH-80 %  $H_2O$ ,  $\mu=0.10$ . Flow rate : 2.50 ml/min,  $V_0=0.63$  ml

Compounds	pKa	$R_4N^+$			
		NO	TEAB	TPr-AB	TBAB
benzoic acid	4.19	1.16	1.30	1.38	1.57
<i>o</i> -Cl	2.92	0.67	0.59	0.59	0.95
<i>m</i> -Cl	3.82	4.06	3.17	3.97	6.94
<i>p</i> -Cl	3.98	4.24	3.76	6.14	6.94
<i>o</i> -Br	2.84	0.62	0.79	1.78	0.95
<i>p</i> -Br	3.97	5.67	13.68	11.70	12.30
<i>o</i> -CH <sub>3</sub>	3.91	1.78	1.59	1.98	1.78
<i>m</i> -CH <sub>3</sub>	4.27	3.76	2.97	6.14	5.29
<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	4.36	4.16	3.37	3.57	4.25
<i>p</i> -OH	4.58, 9.46	0.30	0.59	0.59	0.79
<i>p</i> -NO <sub>2</sub>	3.41	1.22	1.22	1.35	2.97
<i>o</i> -NH <sub>2</sub>	2.11, 4.95	1.38	2.17	1.78	2.17
3,5-dinitro	2.82	1.86	2.38	2.57	8.13
4-OH, 3-OCH <sub>3</sub>		0.43	0.79	0.79	0.75

Table 3. Retention (capacity factors,  $k'$ ) of benzoic acid and its derivatives on XAD-2 in the absence and presence of some  $R_4N^+$  at pH 8.50. Eluent : 20 % EtOH-80 %  $H_2O$ ,  $\mu=0.10$ . Flow rate : 2.5 ml/min,  $V_0=0.63$  ml

Compounds	pKa	$R_4N^+$			
		NO	TEAB	TPr-AB	TBAB
benzoic acid	4.19	0.51	0.48	0.56	0.67
<i>o</i> -Cl	2.92	0.52	0.56	0.57	0.67
<i>m</i> -Cl	3.82	1.41	1.52	1.56	2.94
<i>p</i> -Cl	3.98	1.51	1.43	1.46	3.13
<i>o</i> -Br	2.84	0.67	0.52	0.56	0.95
<i>p</i> -Br	3.97	2.10	2.08	2.38	4.94
<i>o</i> -CH <sub>3</sub>	3.91	0.52	0.60	0.62	0.86
<i>m</i> -CH <sub>3</sub>	4.27	0.86	0.71	0.84	1.37
<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	4.36	0.81	0.65	0.86	1.37
<i>p</i> -OH	4.58, 9.46	0.22	0.29	0.24	0.29
<i>p</i> -NO <sub>2</sub>	3.41	0.90	0.81	0.94	1.75
<i>o</i> -NH <sub>2</sub>	2.11, 4.95	0.46	0.43	0.48	0.52
3,5-dinitro	2.82	1.98	1.90	2.10	5.90
4-OH, 3-OCH <sub>3</sub>		0.32	0.19	0.38	0.24

성질이 크기 때문이라고 생각된다. 또한 파라-메틸벤조산과 파라-클로로벤조산의 경우를 비교

Table 4. Retention (capacity factors,  $k'$ ) of benzoic acid and its derivatives on XAD-2 in the absence and presence of TBAB. Eluent : 20 % EtOH-80 %  $H_2O$ ,  $\mu=0.10$ . Flow rate : 1.0~2.5 ml/min,  $V_0=0.63$  ml

Compounds	NO TBAB			TBAB		
	pH			pH		
	6.00	8.50	10.00	6.00	8.50	10.00
benzoic acid	1.16	0.51	0.52	1.57	0.67	0.71
<i>p</i> -Cl	4.24	1.51	1.41	6.94	3.13	3.29
<i>p</i> -Br	5.67	2.10	2.19	12.30	4.94	5.19
<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	4.16	0.81	0.71	4.24	1.37	1.38
<i>p</i> -OH	0.30	0.22	0.19	0.79	0.29	0.27
<i>p</i> -NO <sub>2</sub>	1.22	0.90	0.90	2.97	1.75	1.86
<i>o</i> -Cl	0.67	0.52	0.48	0.95	0.67	0.79
<i>o</i> -Br	0.62	0.67	0.24	0.95	0.95	1.14
<i>o</i> -CH <sub>3</sub>	1.78	0.52	0.56	1.78	0.86	0.76
<i>o</i> -NH <sub>2</sub>	1.38	0.46	0.43	2.17	0.52	0.57
<i>m</i> -Cl	4.06	1.41	1.37	6.94	2.94	3.10
<i>m</i> -CH <sub>3</sub>	3.76	0.86	0.71	5.29	1.37	1.38
3,5-dinitro	1.86	1.98	1.90	8.13	5.90	6.14
4-OH, 3-OCH <sub>3</sub>	0.43	0.32	0.22	0.75	0.24	0.22

하여 보면 전기 음성도가 큰 염소가 치환된 파라-클로로벤조산이 반대이온을 첨가하지 않은 경우에 비해 반대이온을 첨가한 경우의 머무름 증가율이 파라-메틸벤조산에 비해 크게 나타나 있다(Fig. 1, 4 참조). 이것은 약산의 음이온 자체가  $R_4N^+$ 와 이온쌍을 형성하여 XAD-2에서의 머무름이 증가하는 것과 마찬가지로 전기 음성도가 큰 파라위치의 염소가 이온성 상호 인력에 의해  $R_4N^+$ 의 양이온 쪽으로 배향하려는 성질이 크며 메틸기는 그 반대의 성질을 가지고 있기 때문에 생기는 결과라고 할 수 있다. 이것을 더욱 확실하게 뒷받침해 주는 것은 pH 8.50과 pH 10.00에서  $R_4N^+$ 가 없는 경우는 머무름의 크기가  $p\text{-Br} > 3,5\text{-dinitro}$ 인데 비해  $R_4N^+$  존재시에는  $3,5\text{-dinitro} > p\text{-Br}$ 으로 순서가 바뀌어지는 것이다. 즉 3,5-dinitro 벤조산의 경우 전기 음성도가 큰 니트로기가 두 개나 있으므로  $R_4N^+$ 가 없는 경우는 니트로기의 친수성 때문에 머무름이 상대적으로 작은 반면  $R_4N^+$ 의 존재시에는 니트로기의  $R_4N^+$ 와의 이온성 상호

인력이 더욱 크게 작용하므로 머무름이 파라-브로모벤조산 보다 더욱 많이 증가하는 것이라고 생각된다. 또한 파라-브로모벤조산이 파라-클로로벤조산 보다 머무름이 큰 것은 분자량이 크기 때문에 XAD-2 표면과의 Van Der Waals 인력도 큰 이유 때문이라고 생각된다. 파라 위치에 기능이 치환된 유도체들의 머무름 크기 성질의 크기순서는 pH 6.00에서  $p\text{-Br} > p\text{-Cl} > p\text{-CH}_3 > p\text{-NO}_2 > p\text{-H} > p\text{-OH}$ ,  $m\text{-OCH}_3(4\text{-OH}, 3\text{-OCH}_3) > p\text{-OH}$  인데 비해 pH 8.50과 pH 10.00에서  $p\text{-CH}_3$ 와  $p\text{-NO}_2$ 의 순서가 바뀐 것 외에는 동일하다. 이러한 머무름 순서는 치환기의 친 또는 소수성 정도와 시료 분자량 그리고 반대이온을 첨가했을 경우는 전기 음성도 등에 의해서 결정된다는 것을 앞의 결과들이 말해주고 있다.

(5) 치환기의 위치. Table 4에 나타낸 결과들 중에서  $R_4N^+$ 를 첨가하지 않은 경우  $o\text{-CH}_3 < m\text{-CH}_3 \leq p\text{-CH}_3$  그리고  $o\text{-Cl} < m\text{-Cl} < p\text{-Cl}$  순으로 머무름 크기 성질이 증가하는 것을 알 수 있다. 이것은 소수성의 작용기가 오르토 위치에 서 메타, 파라 위치로 바뀔수록 시료 분자내의 전하를 띤 부분과 멀어지므로 소수성의 XAD-2 표면으로 배향하기가 쉬워지기 때문이라고 생각된다. 이와는 반대로 친수성의 히드록 시기 등이 치환되어 있는 경우는 오르토 > 메타 > 파라 순으로 머무름 크기 성질이 감소하는 것으로 알려져 있다<sup>12</sup>.

용리액 중에 TBAB를 첨가했을 때 첨가하지 않은 경우와 비교하여 파라, 메타 위치에 염소, 브롬 또는 메틸기가 치환된 경우는 오르토 위치에 치환된 경우보다 머무름 크기 성질의 증가가 큰 것도 주목할만 하다. (Fig. 2~4와 Table 4 참조). 이것은 시료 음이온이  $R_4N^+$ 와의 이온쌍 형성시에 오르토 위치에 치환기가 있는 경우는 소수성 치환기의 입체 가로막기 효과 등에 의해서 방해받지만 메타 또는 파라 위치에 있는 경우는 그 영향을 무시할 수 있다. 더우기 오르토에서 파라 위치로 바뀔수록 소수성 작용기가 양쪽(한쪽은 형성된 이온쌍의 알킬사슬이고 다른 한쪽은 치환기)으로 존재하므로 소수성을 띤

표면으로 배향하려는 부분이 늘어나기 때문이라고 생각된다.

### 3.2 혼합시료의 분리

지금까지의 실험 결과들을 토대로 몇가지 화합물들을 혼합하여 pH 8.50의 염기성 에탄올 20% 수용액에서 분리하였다. 4-히드록시, 3-메톡시벤조산, 파라-메틸벤조산(톨루산), 파라-클로로벤조산, 3,5-디니트로벤조산 그리고 파라-브로모벤조산을 TBAB을 첨가하지 않고 분리한 경우와 첨가하여 분리한 경우를 Fig. 5와 Fig. 6에 각각 나타내었다. 이 결과들은 Table 3에 나타나 있는 시료 각각의 실험 결과들과 잘 일치되고 있으며 용리액 중에 반대이온이 존재할 경우는 칼럼의 효율이 훨씬 증가하는 것을 알 수 있다. 이것은 시료 음이온들이  $R_4N^+$ 와의 상호 작용에 의해 이온쌍을 형성하여 XAD-2 표

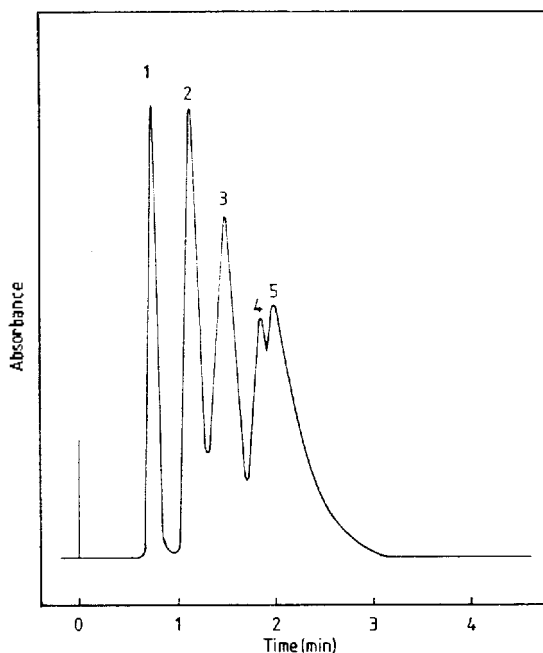


Fig. 5 Chromatogram for the separation of weak organic acids (1. 4-hydroxy, 3-methoxybenzoic acid, 2. *p*-toluic acid, 3. *p*-chlorobenzoic acid, 4. 3,5-dinitrobenzoic acid, 5. *p*-bromobenzoic acid) in the absence of  $R_4N^+$  at pH 8.50. Eluent; 20% EtOH-80%  $H_2O$ ,  $\mu=0.10$ . Flow rate; 1.0 ml/min,  $V_0=0.63$  ml.

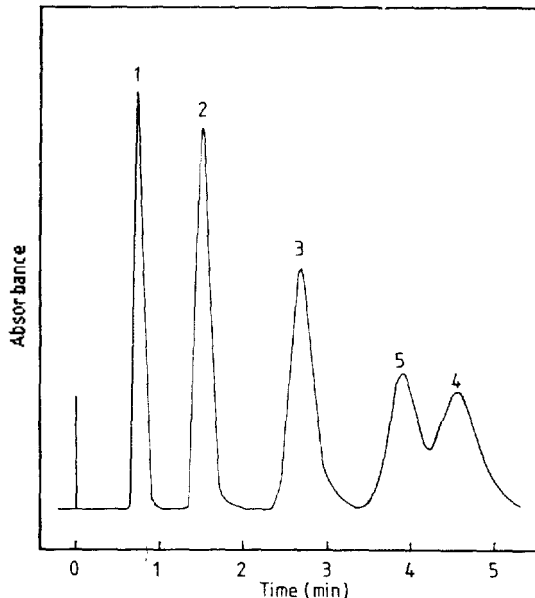


Fig. 6 Chromatogram for the separation of weak organic acids (1. 4-hydroxy, 3-methoxybenzoic acid, 2. *p*-toluic acid, 3. *p*-chlorobenzoic acid, 4. 3,5-dinitrobenzoic acid, 5. *p*-bromobenzoic acid) in the presence of TBAB at pH 8.50. Eluent; 20% EtOH-80% H<sub>2</sub>O with TBAB 0.001 M,  $\mu=0.10$ . Flow rate; 1.0 ml/min,  $V_0=0.63$  ml.

면에서의 머무름이 증가되기 때문이라는 앞에서의 설명을 뒷받침해 준다. 이 결과들로 보아 용액의 종류나 조성, pH, 반대이온의 종류나 농도 등을 다양하게 변화시키면 종래에는 분리하기 힘들었던 약유기산들을 XAD-2 칼럼을 이용하여 쉽게 분리할 수 있으리라 생각된다.

#### 4. 결 론

XAD-2 칼럼에서 약유기산들의 머무름은 다음과 같은 인지에 의해 영향을 받는다. (1) 첨가한 유기용매의 농도가 증가할수록 머무름이 감소하며 또한 첨가한 유기용매의 극성이 작을수록 머무름이 감소한다.

(2)  $pK_a$  이하의 pH에서는 약산들이 분자상태로 존재하기 때문에 머무름이 크지만  $pK_a$  이상의 pH에서는 전리된 상태로 존재하므로 머무름이 현저하게 감소한다.

(3) 시료 약산들이 거의 대부분 전리된 상태

로 존재하는 염기성 용액에서는 시료 음이온과  $R_4N^+$ 가 이온쌍을 형성하므로 반대이온을 첨가하지 않은 경우에 비해 머무름이 크다. 또한  $R_4N^+$ 의 알킬 사슬길이가 길수록 머무름이 증가한다.

(4) 반대이온이 존재하지 않을 때 시료 분자 내의 치환기가 소수성이면 머무름이 크고 친수성이면 머무름이 상대적으로 작다. 반면 반대이온이 존재할 경우는 전기 음성도가 큰 극성 치환기가 있는 시료의 머무름 증가율이 크다. 또한 소수성 치환기가 있는 경우 오르토<메타<파라순으로 머무름이 크고 친수성 치환기가 있는 경우는 그 반대이다.

**혼합시료의 분리.** pH 8.50의 염기성 수용액에서 혼합시료를 분리한 결과 TBAB를 첨가하면 첨가하지 않은 경우에 비해 XAD-2 칼럼의 성능이 현저하게 증가하였다.

#### 인 용 문 헌

1. S. Eksborg and G. Schill, *Anal. Chem.*, **45**, 2092 (1973).
2. D. P. Wittmer, N. D. Nuessle and W. G. Haney, *Anal. Chem.*, **47**, 1422 (1975).
3. S. P. Sood, L. E. Sartori, D. P. Wittmer and W. G. Haney, *Anal. Chem.*, **48**, 796 (1976).
4. J. H. Knox and G. R. Laird, *J. Chromatogr.*, **122**, 17 (1976).
5. J. H. Knox and J. Jurand, *J. Chromatogr.*, **125**, 89 (1976).
6. B. Franssen, K.-G. Wahlund, I. M. Johansson and G. Schill, *J. Chromatogr.*, **125**, 327 (1976).
7. I. M. Johansson, K.-G. Wahlund and G. Schill, *J. Chromatogr.*, **149**, 281 (1978).
8. J. H. Knox and J. Jurand, *J. Chromatogr.*, **149**, 297 (1978).
9. J. C. Kraak, K. M. Jonker and J. F. K. Hubber, *J. Chromatogr.*, **142**, 671 (1977).
10. C. Horvath, W. Melander, I. Molner and P. Molner, *Anal. Chem.*, **49**, 2295 (1977).
11. M. T. W. Hearn, B. Grego and W. S. Hancock, *J. Chromatogr.*, **185**, 429 (1979).
12. T. D. Rotsch and D. J. Peitzyk, *J. Chromatogr. Sci.*, **19**, 88 (1981).
13. T. Uematsu and R. J. Sukadolnik, *J. Chroma-*



- togr.*, **123**, 347 (1976).
14. T. D. Rotsch and D. J. Pietrzyk, *Anal. Chem.*, **52**, 1323 (1980).
  15. J. Crommen, B. Fransson and G. Schill, *J. Chromatogr.*, **149**, 283 (1977).
  16. H. F. Walton, *Anal. Chem.*, **50** 44R (1978).
  17. "Amberlite XAD-2," Technical Bulletin, Rohm & Hass Co., Philadelphia Pa., 1972.
  18. F. F. Cantwell, *Anal. Chem.*, **48** 1854. (1976).
  19. H. Y. Mohammed, and F. F. Cantwell, *Anal. Chem.*, **50**, 491 (1978).
  20. D. J. Pietrzyk, and C. H. Chu, *Anal., Chem.*, **49**, 860 (1977).
  21. C. H. Chu and D. J. Pietrzyk, *Anal. Chem.*, **46**, 330 (1974).
  22. D. J. Pietrzyk and C. H. Chu, *Anal. Chem.*, **49**, 757 (1977).
  23. E. P. Kroeff and D. J. Pietrzyk, *Anal. Chem.*, **50**, 502 (1978).
  24. D. J. Mackey, *J. Chromatogr.*, **236**, 81 (1982).
  25. F. F. Cantwell and S. Puon, *Anal. Chem.*, **51**, 623 (1979).
  26. H. P. Keller, F. Erni, H. R. Linder and R. W. Frei, *Anal. Chem.*, **49**, 1958 (1977).
  27. R. E. Majors, *Anal. Chem.*, **44**, 1722 (1972).
  28. R. G. Baur, R. Saetre and F. F. Cantwell, *Anal. Chem.*, **52**, 15 (1980).
  29. M. D. Grieser and D. J. Pietrzyk, *Anal. Chem.*, **45**, 1348 (1973).
  30. Z. Iskandarani, D. J. Pietrzyk, *Anal. Chem.*, **54**, 1065 (1982).