

역상 액체 크로마토그래피에서 벤젠 일치환체들의 머무름 메카니즘에 관한 연구(I). 벤젠 일치환체들의 용리거동

李大云[†] · 崔鎔旭 · 金賢珠 · 鄭龍淳*

연세대학교 이과대학 화학과

*충북대학교 자연과학대학 화학과

(1986. 8. 13 접수)

A Study of the Retention Mechanism of the Monosubstituted Benzenes in Reversed-Phase Liquid Chromatography(I). The Elution Behavior of the Monosubstituted Benzenes

Dai Woon Lee[†], Yong Wook Choi, Hyun Joo Kim, and Yong Soon Chung*

Department of Chemistry, Yonsei University, Seoul 120, Korea

*Department of Chemistry, Chungbuk National University, Cheongju 310, Korea

(Received August 13, 1986)

요약. 본 연구는 결합 정지상 컬럼을 이용한 역상 액체 크로마토그래피에서 치환기에 따른 시료의 용리거동을 알아 보기 위한 일련의 연구로서 비교적 극성인 치환체에서 비극성인 치환체까지 18종의 벤젠 일치환체를 대상으로 μ -Bondapak C₁₈ 컬럼 및 μ -Bondapak phenyl 컬럼상에서 메탄올-물, 아세토니트릴-물, 및 THF-물의 혼합용액을 이동상으로 하여 시료의 용리거동을 알아 보았다. 극성인 치환체를 갖는 치환체들의 용량인자(k')는 벤젠에 k' 값보다 적었으며, 반대로 비극성인 치환체들의 k' 값은 벤젠보다 컸다. 이동상중의 유기용매의 농도가 감소함에 따라 모든 벤젠 일치환체들의 용량 인자값은 증가하였다. 혼합물의 분리의 가능성을 예측하고 치환체들의 용리거동을 설명하기 위하여 컬럼의 종류 및 이동상의 종류에 따라 달라지는 각 치환체들의 머무름의 변화를 벤젠을 기준으로 하여 용량인자의 절대치의 차($\Delta k'$)로 도식화하였다. 두 컬럼과 세가지 용매시스템에서 치환체들의 용량인자를 상호 비교하므로써 선택성이 큰 용매시스템을 조사하였다.

ABSTRACT. The systematic investigation of the retention behaviors of 18 monosubstituted benzenes in reversed-phase liquid chromatography(RPLC) was studied in order to predict the separation possibility of their mixtures and study the contribution of substituent group to the retentions of solutes. The columns and mobile phases employed in this study were μ -Bondapak C₁₈, μ -Bondapak phenyl columns and methanol/water, acetonitrile/water, and THF/water, respectively. The polar substituents such as phenol, aniline, acetophenone and benzonitrile have smaller capacity factor(k') values than benzene, while nonpolar ones such as alkylbenzenes and halobenzenes show larger k' value. The capacity factors of all solutes increased on both C₁₈ bonded and phenyl bonded phases as the organic solvent content of three organic solvent-water mixtures decreased. The absolute differences in capacity factor($\Delta k'$) between substituent and benzene were graphically shown for the prediction of the separation of the mixture and interpretation of the elution behavior of substituent. In addition, the selectivity of solvent system for the separation of the mixture was investigated in both two columns and three mobile phases.

1. 서 론

크로마토그래피법으로 유기화합물을 분리하고 분석하는데 가장 많이 사용되는 방법은 결합 정지상 컬럼을 이용하는 역상 액체크로마토그래피이다. 그 이유는 결합 정지상은 고압에서도 상당히 안정하여 기울기 용리가 가능하며 광범위한 용량인자(k')를 갖는 성분들이 혼합된 시료를 분석하는데 적합하기 때문이다. 또한 극성은 물론 비극성의 시료들까지도 분리하는데 유용하다. 가장 많이 쓰이는 컬럼은 octadecylsilane의 작용기를 갖는 C_{18} 컬럼이며, 이동상인 용매로는 물-메탄올 및 물-아세트니트릴을 가장 많이 사용하고 있다. 이같은 장점을 갖는 결합 정지상을 이용한 역상 액체 크로마토그래피가 광범위한 시료에 대해서 활용되기 위하여는 각종 시료들의 머무름 메카니즘, 용리거동 및 분리조건에 따른 선택성에 대한 연구가 수행되어야 한다. 지금까지 연구된 몇가지 연구결과를 보면 다음과 같다. Karch¹들은 시료와 비극성 정지상 간의 분산력(dispersion force)을 가장 큰 상호작용이라고 생각하여 정지상의 알킬 사슬의 길이가 증가할수록 시료의 머무름이 증가한다고 하였고, Lock²도 역시 van der Waals형의 비고유성 분산력(non-specific dispersive force)이 크게 작용한다고 하여 시료의 머무름을 이동상에 대한 용해도로써 설명하였다. Karger³들도 물에 대한 용해도를 강조하여 시료의 탄소 골격만을 고려한 분자간 연결지수(molecular connectivity)로부터 머무름을 예측하였다. 또한 Jinno⁴들은 C_2 , C_5 및 C_{18} 이 결합된 정지상에서 알킬 벤젠의 $\log k'$ 과 여러가지 물리적 파라미터와의 상관관계를 조사해본 결과 C_2 , C_5 에서는 분자간 연결지수가, C_{18} 에서는 van der Waals 부피와의 상관관계가 가장 좋다고 밝혔다. 한편 Horváth⁵들은 주로 시료와 이동상간의 효과를 solvophobic 이론에 적용하여 시료의 머무름과 선택성을 결정하기 위한 이동상의 역할에 대하여 고려하였는데, 시료의 머무름은 이동상의 표면 장력과 유전상수에 의해 크게 영향을 받는다고 하였다. Bakalyar⁶들은 벤젠과 나프탈렌에 비교적 극성

인 치환기를 치환시켰을 때 이동상의 유기 용매의 종류에 따른 선택성을 알아본 결과 치환기에 따라 전부 다른 선택성을 나타내고 있음을 보여주었는데 이와같이 치환기의 특성에 따라 시료들이 서로 다른 특성을 나타내는 것은 시료의 용리 거동이 치환기에 따라 크게 영향을 받으며 시료를 분리하기 위한 이동상을 선택하는데 중요한 정보를 준다는 것을 알 수 있다. 그중에서도 니트로기가 치환된 경우에 동일한 컬럼 상에서 이동상의 종류를 변화시킴으로써 용리 순서가 완전히 역전될 수 있음을 Tanaka⁷들은 보여주었다.

다른 한편으로는 동일한 역상 액체 크로마토그래피에서 정지상의 구조적 특성에 따라 시료의 선택성에 변화를 줄 수도 있다. 일반적으로 phenyl기가 결합된 정지상은 알킬 사슬이 결합된 정지상과 기하학적 구조가 다를 뿐만 아니라 쉽게 편극화될 수 있고 π - π 상호작용⁸도 할 수 있으므로 동일한 시료들에 대해서 다른 선택성을 보일 수도 있다. 또한 방향족 화합물이 정지상으로 사용될 경우 머무름과 시료의 선택성은 알킬 사슬의 정지상보다도 이동상의 변화에 더 민감하다고 Tanaka⁹들이 밝힌 바 있다.

본 연구는 시료의 머무름 메카니즘 및 용리거동을 한 종류의 시료에 대해서 체계적으로 알아보고자 하는 일련의 연구로서 비교적 다양한 종류의 치환기를 갖는 벤젠 일치환체들을 시료로 선택하여 역상 액체 크로마토그래피에서 이들이 용리될 때 치환기만의 특성이 용리 데이터에 영향을 줄 것으로 생각하고 용리순서를 치환기별로 설명할 수 있는지를 알아 보고자 하였다. 또한 정지상의 종류 및 이동상의 조성에 따라서 용리현상이 변하는 정도를 알아보기 위해서 정지상으로는 μ -Bondapak C_{18} 컬럼과 μ -Bondapak phenyl 컬럼을 선택하였고, 이동상의 유기용매로는 메탄올, 아세트니트릴 및 THF를 사용하였다. 이러한 머무름 현상을 알아봄으로써 실험조건이 변할때 시료의 용리현상이 동일한 머무름 메카니즘에 의하여 설명될 수 있는지를 파악하고, 서로 다른 치환기를 가진 시료를 효과적으로 분리하는데 기초 자료를 얻고자 본 연구를

시도하였다.

2. 실험

2.1. 시약 및 기기. 실험에 사용한 벤젠 및 18종의 벤젠 일치환체들은 일급 및 특급 시약을 단순 정제 및 재결정을 하여 사용하였으며, 시료를 주입하기 전에 시료여과 기구(sample clarification kit)를 사용하여 $0.5\mu\text{m}$ 이상의 입자들을 제거한 후 $10\mu\text{L}$ 씩 주입하였다.

이동상으로 사용한 용매는 HPLC 용 메탄올(Merck), 아세토니트릴(Burdick & Jackson) 및 THF(Burdick & Jackson)를 각각 HPLC 용 증류수(Wako)에 부피 %로 혼합하여 사용하였다. 각 혼합용액은 완전한 평형을 위해서 1시간 정도 방치한 후 $0.5\mu\text{m}$ Millipore organic filter로 거르되 초음파 진동기로 약 20분간 진동시켜 용존되어 있는 기포를 완전히 제거하여 사용하였다.

정지상으로서 μ -Bondapak C_{18} 과 μ -Bondapak phenyl 컬럼($3.9\text{mm} \times 30\text{cm}$)으로 충전제의 평균 입자의 크기는 $10\mu\text{m}$ 로 충전된 것을 사용하였다.

실험에 사용된 기기는 Waters Associates Liquid Chromatograph로서 검출기는 M-440 Absorbance Detector, 펌프는 M-45 Solvent Delivery System 및 시료 주입 장치는 M-U6K Universal Injector가 부착된 기기를 사용하였다. 이때, 시료의 검출 파장은 254nm , 감도는 0.05 AUFS 에서 고정하여 실험하였다.

2.2. 실험법. 용량인자(k')는 시료의 머무름을 나타내는 값으로 $k'(t_R - t_0)/t_0$ 에 의해 측정하였다. t_0 는 메탄올에 의한 바탕선의 변화로 결정하였고, 상대적 머무름 비인 α 는 벤젠에 대한 벤젠 일치환체들의 용량인자와의 비로써 $\alpha = k'_S/k'_B$ 로 계산하였다. 여기서 k'_S 은 벤젠 일치환체들의 용량인자이며, k'_B 는 벤젠의 용량인자이다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 이동상의 종류에 따른 용매강도 변화.

C_{18} 컬럼을 이용하는 역상 크로마토그래피에서 이동상이 물-유기용매인 경우 유기용매의 종류와

용매강도의 변화에 따른 시료의 머무름을 알아 보기 위하여 메탄올-물 및 아세토니트릴-물의 혼합용액을 택하여 부피 %를 변화시키면서 시험시료로서 선택한 벤젠과 톨루엔의 $\log k'$ 값을 측정 한 결과는 Fig. 1와 같다. 유기용매의 부피 퍼센트를 85%에서 10%까지 감소시킴에 따라 용매강도는 약해지는데, 메탄올의 경우에는 이러한 농도변화 범위에서 $\log k'$ 이 직선적으로 증가하는 현상을 보여주었다. 이러한 용매강도 변화범위에서 용량인자(k')의 변화범위는 0.42에서 48.3이었다. 한편, 아세토니트릴의 경우에는 톨루엔에 대한 용량인자에 변화범위가 0.26에서 41.5까지 이었다. 두 이동상을 비교할때 동일한 농도에서 메탄올 보다 아세토니트릴의 용매강도가 더 크다는 것을 알 수 있다. 또한 아세토니트릴의 농도가 30% 정도까지는 메탄올의 경우와 마찬가지로 용매강도가 감소함에 따라 벤젠과 톨루엔의 $\log k'$ 이 직선적으로 증가하는 현상을 보였으나 약 20% 이하에서는 $\log k'$ 이 급격히 증가함으로써 메탄올의 $\log k'$ 과 거의 유사하게 되었고 이후 다소 완만한 증가를 보여 주었다. 이러한 현상은 주로 용매 시스템의 구조 변화에 기인하는 현상과 용매화되는 정지상의 구조 변화에 따른 머무름 메카니즘의 변화에 기인된 현상이라고 생각된다. 이동상중 유기용매의 농도가 클 경우에는 Karger³들이 ODS를 정지상으로 사용하여 실험한 결과와 본 연구의 결과가 유사하였다. 물에 낮은 농도의 유기용매가 포함될때 이동상의 구조에는 유기용매의 영향이 별로 없지만 유기용매의 농도가 증가함에 따라 어떤 부피비에서는 친수성분자를 둘러싼 이동상의 구조적 양상이 달라지게 된다. 이러한 현상이 일어나는 부피비의 영역은 유기용매의 종류에 따라 달라진다. 물-메탄올의 경우 메탄올은 양성자 주계와 반계로 작용할 수 있기 때문에 물이 적은 영역에까지도 전체적인 이동상의 구조적 양상이 크게 변하지 않지만 물-아세토니트릴의 경우에는 아세토니트릴이 양성자 반계의 능력밖에 없기 때문에 메탄올보다 쉽게 구조적 양상에 변화를 초래하게 된다. 그런데 본 연구에서는 유기용매의 농도가 약 85%까지는 메탄

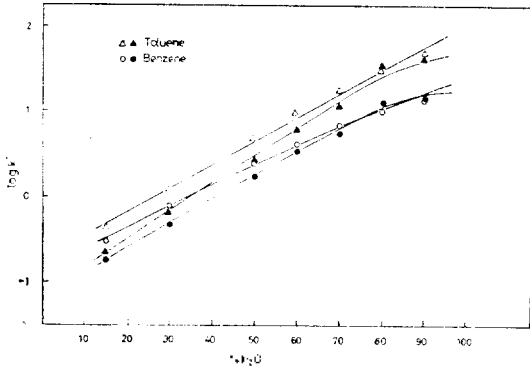


Fig. 1. $\text{Log } k'$ vs. volume percent organic component for benzene and toluene in methanol-water (open) and acetonitrile-water (closed) mobile phases.

올과아세토니트릴 시스템에서 모두 직선성을 나타내었지만 20% 이하의 농도에서 아세토니트릴 시스템은 비직선성을 나타내었다. 이것은 유기용매에 대한 특성 이외에 또 다른 작용에 의한 것이 아닌가 생각된다. 유기용매의 농도가 낮은 경우에는 이동상이 정지상을 충분히 용매화하지 못하기 때문에 이러한 조건하에서 머무름 메카니즘은 다소 복잡하다고 생각한다. Nikolov¹⁰는 결합 정지상에서의 머무름 메카니즘은 정지상과 실란을 집단의 영향으로 인한 혼합 메카니즘에 의해서 결정된다고 하였는데, 이와같은 사실을 본 실험결과와 비교하여 보면 이동상이 정지상을 충분히 용매화하지 못할 때 미반응된 실란을 집단이 시료의 용리에 더 큰 영향을 미친 것으로 생각된다. 또한 Scott¹¹들은 이동상이 정지상을 용매화시킬 수 있는 한계에 대한 실험을 하였는데 메탄올-물의 이동상에서는 68% 메탄올의 농도비, 아세토니트릴-물에서는 46% 아세토니트릴의 농도비까지 ODS 필름 (carbon content, 16.9% w/w)을 완전히 용매화시킬 수 있다고 하였다. 이와같이 이동상 중의 유기용매의 농도가 극히 큰 경우와 작은 경우에는 직선성에서 벗어나는 현상을 보였다. 따라서 본 연구에서는 치환기만의 영향을 보기 위해서 유기용매의 농도에 따라 비교적 직선성을 나타내는 영역인 30% ~ 70%의 유기용매 농도 범위에서 모든 실험을 하였다.

3.2. 이동상의 용매강도에 따른 시료의 머무름의 변화.

역상 액체 크로마토그래피에서 시료의 머무름 메카니즘은 매우 복잡한데 주된 메카니즘은 시료와 이동상 및 시료와 정지상과의 상호작용 각각 혹은 혼합작용에 의존하게 된다. 일반적으로 이동상의 용매강도가 증가되면 시료의 머무름은 감소하게 되는데, 용매강도는 보통 이동상의 극성과 관련되며, 역상 액체 크로마토그래피에서는 이동상의 극성이 증가할수록 용매강도는 감소한다. 그러나 이동상의 극성이 모든 시료의 머무름 변화의 척도가 되지는 않는다. 본 실험에서 사용된 시료들은 벤젠고리를 공통적으로 소유하고 있기 때문에 각 치환기의 특성에 따라 시료의 용리순서가 결정된다.

3.2.1. C_{18} 결합 정지상에서의 시료의 머무름. C_{18} 결합 정지상은 비극성의 알킬사슬이므로 모든 시료가 공통으로 갖는 벤젠고리와 비극성-비극성 상호작용과 같은 London force 또는 dispersion force 만이 존재하게 된다. 또한 이동상과 시료의 상호작용은 주로 치환기의 종류에 따라 쌍극자-쌍극자 인력, 수소결합 또는 소수성 효과등이 고려되어 각 시료의 용리거동은 달라지게 된다.

50% 메탄올 시스템을 기준으로 벤젠 일치환체들이 용리되는 현상을 용량인자의 증가순으로 Table 1에 나타내었다. 이러한 용리순서를 살펴 보면 산, 염기 및 수소결합을 할 수 있는 치환체들과 N, O들의 원소와 같이 비교적 전기 음성도가 커서 벤젠고리의 전자밀도에 크게 영향을 미치는 치환체들은 벤젠보다 용리가 빠른 경향을 보였다. 벤조산은 메탄올 보다는 먼저 용리되어 음(-)의 용량인자 값으로 나타내었다. 케톤, 니트로 치환기들은 벤젠고리의 분자 쌍극자 능력을 증가시켜 극성인 이동상으로 용이하게 분배되고 상호작용이 더 증대되어 용리는 빨라진다. 할로겐 치환체들의 경우에는 치환기들의 전기 음성도가 커서 분자 전체의 쌍극자 능력을 증가시키기 때문에 극성인 이동상으로 분배가 용이하여 벤젠보다 더 빨리 용리될 것으로 예상하였지만, -F를 제외하고 다른 할로 벤젠들은 모든 유기용매 농도에서 벤젠보다 늦게 용

Table 1. Capacity factors (k') of monosubstituted benzenes on μ -Bondapak C₁₈ column

Substituted groups	% CH ₃ OH			% CH ₃ CN		
	70	50	30	70	50	30
COO ⁻	-0.12	-0.32	-0.14	-0.13	-0.24	-0.53
NH ₂	0.25	0.66	1.52	0.22	0.58	1.35
OH	0.26	0.83	2.28	0.20	0.56	1.48
CHO	0.42	1.55	4.53	0.42	1.21	2.65
CN	0.40	1.55	5.47	0.60	1.42	3.35
COCH ₃	0.46	1.77	6.62	0.37	1.00	2.99
NO ₂	0.63	2.41	7.31	0.49	1.47	5.27
Benzene	0.79	2.90	7.48	0.61	1.77	5.77
OCH ₃	0.74	2.93	9.53	0.56	1.67	5.88
F	0.78	3.28	9.78	0.84	2.27	6.83
OC ₂ H ₅	1.09	4.95	19.81	1.06	3.01	10.50
CH ₃	1.24	6.26	—	0.83	2.69	—
CH=CH ₂	1.33	6.33	—	0.88	3.02	—
Cl	1.21	6.57	—	0.84	2.74	—
C≡CH	1.17	7.40	—	1.16	3.78	—
Br	1.35	7.61	—	0.92	3.05	—
I	1.63	9.03	—	1.01	3.64	—
C ₂ H ₅	1.85	10.60	—	1.42	4.64	—

리되었다. 이것은 전기 음성도가 큰 할로젠이 벤젠고리에 치환되면 벤젠고리의 전자들을 어느 정도 끌어들이게 되지만 비편재화 능력이 큰 벤젠고리 쪽으로 다시 전자밀도가 쏠리게 되어 쌍극자 능률의 정도가 완화된다. 따라서 상대적으로 정지상과의 분산력이 증대되어 머무름은 커지게 된다. 이것은 기체-액체 크로마토그래피 상에서 Korol¹²들이 벤젠유도체들의 용리현상을 실험한 결과와도 잘 일치한다고 볼 수 있다. 그러나 -F도 이동상의 극성이 증가함에 따라 벤젠보다 늦게 용리되었으며 할로벤젠들의 용리순서를 살펴보면 F<Cl<Br<I 순서로 용리되었다. 이러한 순서는 전기음성도의 역순이며, 분자량 및 분자반경이 증가하는 순서이다. 따라서 역상 액체 크로마토그래피에서 분자량 및 분자반경이 머무름 현상에 크게 기여하는 인자라는 것을 알 수 있다. 알킬기 또는 알켄기가 치환된 경우 탄소수가 증가함에 따라 용리가 늦어지는 것은 메틸렌기가 증가함에 따라 소수성 효과 또는 정지상과의 분산력이 상대적으로 증대되었기 때문인데 이것은 분자내 동일한 집단의 치환된

수가 증가함에 따라 일정한 용액내에서 용매분자와 시료분자가 상호작용하는 에너지도 일정하게 증가한다는 현상을 밝힌 Martin rule¹³과도 잘 일치한다고 볼 수 있다.

한편 -CH=CH₂, -CN 및 -C≡CH와 같이 이중 또는 삼중 결합이 있는 치환체들은 메탄올-물 혼합용액과 아세토니트릴-물의 혼합용액에서 다른 치환체들과의 상대적인 용리순서를 비교하여 볼 때 다소 차이가 있었다. 메탄올-물 시스템에서는 -CH=CH₂<-Cl<-C≡CH<-I인 용리순서가 아세토니트릴-물 시스템에서는 -Cl<-CH=CH₂<-I<-C≡CH으로 바뀌었다.

이와같이 이중 또는 삼중결합의 치환기를 갖는 치환체들이 아세토니트릴-물 시스템에서 머무름이 상대적으로 증가하는 이유는 미반응된 실란올 집단의 영향을 고려하여 설명한다면, 미반응된 실란올 집단쪽으로 메탄올 보다는 아세토니트릴이 더 접근하기가 용이하기 때문이라고 설명할 수 있으며, 이때 이러한 치환기들이 컬럼을 통과할 경우 실란올 집단보다는 전자밀도가 더 큰 CN집단과 더 큰 π - π 상호작용을 할 수

있을 것으로 예측된다. 따라서 전자밀도가 풍부한 이중 또는 삼중결합이 있는 치환기들과 π - π 상호작용이 가능하게 되므로 비정상적으로 머무름 시간이 길어지게 된 것이라고 생각된다. 이와같은 현상은 Colin¹⁴들이 벤젠일치환체와 알켄 화합물을 대상으로 실험한 결과와도 잘 일치하는 현상이라고 볼 수 있다. 한편 이러한 치환기들의 용리현상을 좀 더 쉽게 알아보기 위해서 메탄올과 아세트니트릴의 동일한 농도비 조건에서 벤젠 일치환체들의 용리현상을 도식적으로 나타내었다(Fig. 2). Fig. 2에 나타낸 각 치환기는 벤젠의 용량인자를 기준으로 하여 벤젠 일치환체들의 용량인자와의 산술적인 차이 ($\Delta k'$)로써 표현하였다. 따라서 벤젠과 벤젠 일치환체들이 혼합된 시료에서 각 치환체들의 분리 가능성은 Fig. 2의 $\Delta k'$ 의 크기로부터 예측할 수 있으며 50% 유기용매조건이 아닌 경우도 거의 경향이 비슷하므로 분리조건을 선택하는데 Fig. 2는 유용하다고 생각한다. 또한 $\Delta k'$ 의 간격으로 볼 때 동일한 농도비(50%)에서 메탄올 보다 아세트니트릴의 용매강도가 훨씬 강하다는 것을 알 수 있다.

3.2.2 페닐 결합 정지상에서 시료의 머무름.

페닐 결합정지상의 컬럼에서 메탄올 및 아세트니트릴의 부피 %에 따라 벤젠 및 벤젠 일치환체들의 용량인자를 측정 한 결과는 Table 2에서 볼 수 있는데 치환기의 나열 순서는 50% 메탄올-물의 혼합용액에서의 용량인자의 크기 순서이다. 이동상 중의 유기용매의 혼합비율이 감소할수록 용매강도가 감소하였고, 용량인자의 대수값($\log k'$)은 직선적으로 증가하였다. 이들의 용리순서를 살펴보면 메탄올-물의 혼합용액에서 μ -Bondapak C₁₈ 컬럼의 경우와 유사하며 이동상과 수소결합이 가능한 극성인 치환기들이 치환된 경우가 가장 빨리 용리되었다. 벤조산의 경우에는 t_0 보다도 더 빨리 용리되는데 이것은 물이 포함된 이동상 속에서 COOH기가 일부 해리되었기 때문이라고 생각된다. 스티렌(CH=CH₂)과 에틸렌 벤젠(C≡CH)은 C₁₈결합 정지상 컬럼에서는 분리되었지만 페닐결합 정지상에서는 30% 메탄올-물의 혼합용액에서까지 분리가

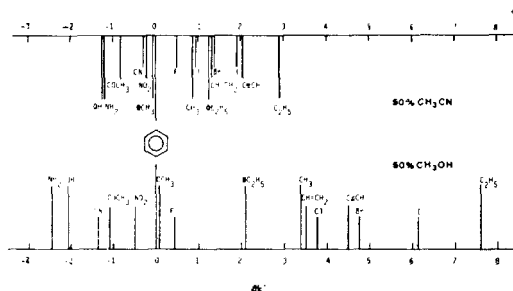


Fig. 2. Comparison of the retentions of monosubstituted benzenes on μ -Bondapak C₁₈ column in two solvent systems.

되지 않았다. 또한 C₁₈결합 정지상의 경우에 비하여 용리순서가 크게 늦어진 치환기로는 니트로 벤젠을 들 수 있다. 일반적으로 니트로기는 쌍극자능률이 상당히 강하여 벤젠고리의 전자 밀도를 감소시킬 뿐만 아니라 분자전체가 영구 쌍극자 능률을 갖게 된다. 따라서 미반응된 실란을 집단의 영향을 고려하지 않는다면 니트로 벤젠은 페닐 결합 정지상과 쌍극자-유도 쌍극자 상호작용¹⁵(dipole-induced dipole interaction)을 갖게 되고, 메탄올-물의 혼합용액인 이동상과는 쌍극자-쌍극자 상호작용(dipole-dipole interaction)을 갖게 되어 이동상과의 상호작용이 더 큰 기여도를 나타내는 것으로 볼 수 있다. 그러나 미반응된 실란을 집단의 영향을 고려한다면 니트로기는 수소결합이 가능하지 않으므로 벤젠고리 자체와 미반응된 실란올과의 반응에서 벤젠고리가 양성자 받개의 구실을 하여 일종의 Si-O...H...C₆H₅NO₂ 형태의 adduct를 형성하였기 때문이라고 생각된다. 이러한 형태의 상호작용은 Wayland¹⁶들의 연구에서도 설명하고 있다.

Table 2에서 아세트니트릴-물 시스템을 보면 전체적으로 C₁₈결합정지상 컬럼과 마찬가지로 동일한 부피 %에서 메탄올-물 혼합용액의 이동상보다 용매강도가 크다는 것을 알 수 있으며 -NO₂, -OCH₃ 등의 치환체의 경우는 메탄올에서는 아세트니트릴에 비해 다른 선택성을 나타내었다. 70% 아세트니트릴에서는 벤젠, 니트로 벤젠 및 애니솔의 용리시간이 거의 비슷하였으나 50% 아세트니트릴에서는 용리순서가 니트로 벤젠 < 애니솔 < 벤젠의 순으로, 30% 아세토

Table 2. Capacity factors (k') of monosubstituted benzenes on μ -Bondapak phenyl column

Substituted groups	% CH ₃ OH			% CH ₃ CN		
	70	50	30	70	50	30
COOH	-0.30	-0.10	-0.28	-0.37	-0.11	-0.42
NH ₂	0.34	0.66	1.92	0.22	0.58	1.51
OH	0.22	0.66	1.99	0.19	0.50	1.70
CHO	0.42	1.18	4.39	0.31	0.78	2.80
CN	0.42	1.37	5.39	0.34	0.96	3.79
COCH ₃	0.45	1.44	6.22	0.30	0.81	3.16
Benzene	0.52	1.47	4.52	0.42	1.30	5.03
F	0.36	1.73	5.80	0.42	1.32	6.20
NO ₂	0.53	1.75	6.22	0.39	1.19	5.41
OCH ₃	0.58	1.81	6.80	0.41	1.24	5.70
CH ₃	0.69	2.54	9.56	0.51	1.68	9.45
OC ₂ H ₅	0.67	2.76	12.70	0.52	1.70	9.61
Cl	0.69	2.86	12.28	0.54	1.77	10.95
CH=CH ₂	0.76	3.29	17.89	0.49	1.96	13.50
C≡CH	0.78	3.30	18.05	0.56	1.97	13.68
Br	0.79	3.40	17.80	0.57	1.93	13.05
C ₂ H ₅	0.90	4.05	22.60	0.63	2.33	17.13
I	0.78	4.35	26.55	0.54	2.30	18.60

니트릴에서는 벤젠 < 니트로 벤젠 < 애니솔 순으로 용리되었다. 이와같이 이동상 중의 유기용매의 농도비에 따라 용리순서가 바뀐다는 것은 농도비에 따라 이동상에 의한 정지상의 환경이 변하는 것으로 생각할 수 있고 또한 30% 아세토니트릴 이하의 농도비에서는 메탄올 시스템에서의 용리순서와 일치하게 되는 것으로 보아 이때의 정지상의 환경은 두 시스템에서 동일하다고 생각된다.

이와같은 현상을 종합하여 보면 정지상 및 이동상중 유기용매의 소수성 크기의 정도에 따라 이동상이 정지상을 완전히 용매화할 수 있는 농도비가 서로 다르며, 정지상의 용매화 정도에 따라 이동상에 의한 정지상의 환경이 달라질 것으로 생각된다. Fig. 3에는 동일한 농도비에서 벤젠 일치환체들의 용리현상을 Fig. 2와 같이 도식적으로 나타내었다. C₁₈ 결합 정지상에서와는 달리 이중 또는 삼중결합을 지닌 치환체들의 용리순서가 메탄올에서 아세토니트릴로 유기용매의 종류가 바뀌어도 이들의 용리순서에는 변함이 없었다. 또한 메탄올 보다는 아세토니트릴의

용매강도가 훨씬 더 강하다는 것도 알 수 있다. 물론 Fig. 3은 페닐 컬럼을 사용할 경우 벤젠 치환체의 혼합물을 분리할 수 있는지를 예측하는데 이용될 수 있다.

3.3. 이동상의 유기용매의 종류의 따른 시료의 선택성. 각 치환기에 대한 용매의 선택성은 어떤 치환기를 포함한 시료와 포함하지 않은 시료와의 상대적인 머무름을 비교함으로써 알아볼 수 있다. 본 연구에서는 각 치환체의 상대적인 머무름을 비교하기 위해 벤젠의 머무름을 기준으로 하고 벤젠의 머무른 시간이 같도록 이동상의 유기용매의 농도비를 조절하여 각 이동상에서의 시료의 k' 을 측정하였다. 그 결과는 Table 3과 같다. 또한 용매의 선택성을 비교하기 위하여 메탄올, 아세토니트릴외 쌍극자 능력이 작은 THF를 추가로 선택하여 세가지 용매에서의 k' 을 비교 검토하였다.

벤젠에 대한 용매강도는 세가지 이동상에서 서로 같지만, 대부분의 치환체에 대해서는 벤젠에 대한 상대적 머무름 값이 메탄올, 아세토니트릴, THF 순으로 감소하였다. 이들의 용리순

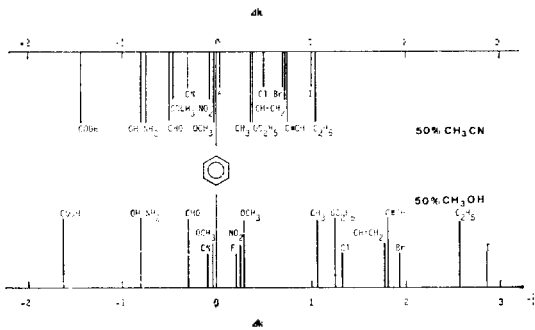


Fig. 3. Comparison of the retentions of monosubstituted benzenes on μ -Bondapak phenyl column in two solvent systems.

Table 3. Capacity factors (k') of monosubstituted benzenes in three binary solvents

Substituted group	50% CH ₃ OH -H ₂ O	48% CH ₃ CN -H ₂ O	46% THF -H ₂ O
COOH	-0.10	-0.35	0.17
OH	0.66	0.59	0.84
NH ₂	0.66	0.64	0.71
CHO	1.18	0.88	0.76
CN	1.37	1.12	0.91
COCH ₃	1.44	0.88	0.71
H (Benzene)	1.47	1.48	1.46
F	1.73	1.55	1.53
NO ₂	1.75	1.39	1.24
OCH ₃	1.81	1.45	1.31
CH ₃	2.54	1.94	1.90
OC ₂ H ₅	2.76	1.92	1.78
Cl	2.86	2.03	1.88
CH=CH ₂	3.29	2.26	2.12
C≡CH	3.30	2.23	2.12
Br	3.40	2.25	2.01
C ₂ H ₅	4.05	2.64	2.53
I	4.35	2.67	2.30

서를 살펴보면 $-\text{NO}_2$ 와 $-\text{OCH}_3$ 는 메탄올-물의 혼합용액에서 벤젠보다 늦게 용리되었지만, 아세토니트릴-물과 THF-물의 혼합용액에서는 벤젠보다 빨리 용리되었다. 또한 $-\text{COCH}_3$, $-\text{CHO}$ 및 $-\text{CN}$ 도 이동상의 유기용매가 메탄올에서 아세토니트릴로 바뀔 때 마무름의 급격한 감소를 보였다. 이러한 치환기들은 시료의 쌍극자능을 증대시킴으로써 쌍극자능들이

비교적 큰 아세토니트릴과 THF와의 상호작용이 증대되었기 때문이라고 생각된다.

반면에 $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$ 는 머무름이 아세토니트릴-물에서는 최소이고, THF-물에서는 최대를 보였고, $-\text{COOH}$ 는 THF-물에서 양(+)의 용량인자(k')를 나타내었다. 이것은 아세토니트릴은 극성이 크고 수소결합이 가능한 반면, THF는 극성이 작고 수소결합에의 기여도가 없기 때문에 수소결합이 가능한 극성인 치환기가 치환된 시료는 THF-물에서 머무름이 증대되기 때문이라고 생각된다. 또한 유기용매에 따른 메틸렌기의 영향을 비교해 보기 위해서 에틸벤젠과 톨루엔, 페넨올(OC_2H_5)과 에니솔($-\text{OCH}_3$)간의 상대적 머무름 값(α)을 각각 취하여 평균을 구해보면 메탄올-물에서는 1.56이고, 아세토니트릴-물 및 THF-물에서는 각각 1.35와 1.34로서 유사한 값을 나타내고 있다. 이것은 후자의 두 용매에서는 알킬사슬이 시료의 머무름에 기여하는 정도가 비슷하다는 것을 의미한다. 동일한 용매강도에서 메탄올-물이 가장 큰 선택성을 나타내었으면, THF-물은 가장 작은 선택성을 나타내었지만 $-\text{NO}_2$ 기나 또는 비교적 쌍극자능들이 큰 치환체들은 벤젠에 대해서 큰 선택성을 보여 주었다.

Fig. 4는 페닐 결합 정지상에서 용매의 선택성을 쉽게 알아보기 위해 동일한 용매강도에서 벤젠을 기준으로 한 각 치환체들의 상대적인 머무름 값(α)의 관계를 표현한 것이다. 비교적 극성인 치환체들은 직선성에서 많이 벗어나 있으며 아세토니트릴보다도 THF에서 더 큰 편차를 나타내었다. 직선상에 놓인 치환기들은 메탄올 대신에 아세토니트릴 또는 THF를 사용하더라도 선택성에는 큰 차이가 없는 치환체들이고 직선성에서 벗어난 쪽의 용매를 사용하였을 때 선택성의 변화를 기대할 수 있을 것이다. Fig. 4에 나타낸 직선은 최소자승법에 의해 얻은 것으로 메탄올과 아세토니트릴에 대해서는 0.977($n=17$)이고 메탄올과 THF에 대해서는 0.947($n=17$)로 나타났다. 이때 벤조산은 음의 값을 갖게 되어 고려대상에서 제외시켰다. 메탄올을 사용하였을 경우에는 쌍극자능들이 비교적 큰 치

