

역상계에서 방향족 카르복시산류의 이온-쌍 크로마토그래피

吳海範[†] · 姜三祐* · 李承錫*

전주우석대학 이학부 화학과

*한남대학교 이공대학 화학과

(1985. 12. 12 접수)

Ion-Pair Chromatography of Aromatic Carboxylic Acids on the Reversed-phase System

Hae-Beom Oh[†], Sam-Woo Kang*, and Seung-Seok Lee*

Department of Chemistry, Jeonju Woo Seok College, Wanju 520-75, Korea

*Department of Chemistry, Han Nam University, Tae-Jon 300, Korea

(Received December 12, 1985)

요약. 알킬 처리된 실리카(ODS)칼럼을 정지상으로하여 역상에서의 이온-쌍 크로마토그래피 법으로 방향족 카르복시산들의 크기 인자를 조사하고 분리하는데 반대 이온으로 브롬화 도데실트리메틸암모늄(DTAB)을 사용하였다. 시료의 크기 인자는 반대 이온의 농도, 메탄올의 농도, 전해질의 종류 및 농도, 시료 분자에 붙어 있는 다른 작용기의 종류 및 위치등에 따라 영향을 받았다. 최적 조건 하에서 몇가지 혼합 시료를 분리할 수 있었다.

ABSTRACT. Dodecyltrimethylammonium bromide (DTAB) was examined as a counter-ion in the investigation of capacity factor and separation of aromatic carboxylic acids on alkyl-modified silica (ODS) column as a stationary phase by ion-pair chromatography on reversed-phase system. The capacity factor of samples was influenced by the several factors such as a concentration of counter-ion as well as kinds and concentration of electrolyte, concentration of methanol in mobile phase and kinds and position of functional group in sample molecule. Some mixtures of samples were able to be separated under optimum condition.

1. 서 론

이온성 혼합 시료를 분리하는 방법으로 이온 교환 크로마토그래피가 많이 이용되고 있으나 HPLC에서는 여러가지 단점이 있는 것으로 밝혀졌다¹. Schill^{2,3} 등이 정상 크로마토그래피법으로 알킬 처리한 셀룰로우즈 칼럼하에서 cyclohexane, chloroform, n-pentanol 등을 혼합한 이동상에 N, N-dimethylprotriptyline을 첨가하여 유기산의 혼합물을 분리해내고 역상 크로마토그래피법으로 수용액상에 bis-(2-ethylhexyl) phosphoric acid를 반대 이온으로 첨가하여 aminop-

henol 류를 분리할 수 있음을 발표하였다. 그후 이온-쌍을 이용한 크로마토그래피(IPC)가 이온 교환 크로마토그래피법이 지니고 있는 문제점을 보완할 수 있는 유용한 방법으로 널리 이용되고 있다. IPC에는 비극성 용매를 이동상으로 하는 정상 크로마토그래피법과 극성용매를 이동상으로 사용하는 역상 크로마토그래피법이 있는데 칼럼의 안정성이거나 조작의 편리성을 고려하여 역상 크로마토그래피법이 많이 이용되고 있다. Santi⁴ 등은 CH₂Cl₂ 및 CHCl₃ 이동상에 피크린 산을 반대 이온으로 첨가하여 hyoscyamine, ergotamine 등 생화학적 물질을 분리하였고 Wa-

hlund 와 Lund⁵는 tetrabutylammonium 이온을 반대 이온으로 첨가하여 phenylacetic 산유도체들과 pyridine의 산성 유도체들을 분리하였으며 Perrson 과 Karger⁶는 butanol-hexane 이동상에서 ClO_4^- 를 반대 이온으로 사용하여 tyramine 등 생화학적 아민류를 분리하여 무기 이온도 반대 이온으로 사용할 수 있음을 밝혀냈다.

Knox 와 Laird⁷는 cetyltrimethylammonium 반대 이온을 극성 이동상에 첨가하여 슬픈산류와 염료의 머무름에 미치는 영향을 조사하였고 이 방법을 soap-chromatography 라 하였다. 한편 Riley⁸ 등은 C_{18} bonded phase 칼럼에서 알킬슬픈산 이온을 물-메탄을 이동상에 넣어 생체속에 있는 tryptopane 과 대사 물질을 분리해내고 surfactant ion-pair chromatography 라 불렀으며 Kraak⁹ 등은 solvent-generated (dynamic) chromatography, Horvath¹⁰ 등은 hetaeric chromatography 라 칭하였으나 일반적으로 ion-pair chromatography 라 부른다.

IPC는 가시광선이나 자외선을 흡수하지 않는 시료들도 가시광선이나 자외선에 대한 물 흡광계수가 큰 반대 이온을 사용하여 간접적으로 시료를 검출하는 방법(indirect photometric chromatography)을 이용함으로써 전기 전도도 검출기를 이용했을 때의 문제점(분석시간, 분리도, 조작등)을 보완할 수 있기 때문에 많은 연구 보고가 발표되었다^{11~13}.

한편 IPC를 이용한 분리 과정에서 일어나는 칼럼과 반대 이온 및 시료 사이의 머무름 거동이 관심의 대상이 되고 있는데 ion-pair model과 ion-interaction model이 있는 것으로 알려졌다. 초기의 연구 결과는^{4, 8, 10} ion-pair model로 설명하였으나 Bidlingmeyer¹³ 등은 지방족 슬픈산염을 분리하면서 전해질이 머무름에 미치는 영향을 조사하고 ion-interactionmodel을 따른다고 하였으며 여러편의 연구 결과도 이 모델을 지지하였다^{14, 15}. 그러나 이를 두 모델 중 머무름 기구가 어느 한쪽 모델만으로 이루어지는 것이 아니라 두 모델이 서로 경쟁적으로 일어나며 실험 조건에 따라서 한쪽 모델이 더 우세하게 이루어진다고 설명하고 있다^{16, 17}.

본 연구에서 분리하고 하는 방향족 카르복시산류와 다가 카르복시산들에 대한 연구 결과도 나와 있으나¹⁸ 이온교환 크로마토그래피법을 이용하여서 분리도가 떨어지며 분리 시간이 길고 꼬리풀기 현상이 나타나는 단점이 있었다. 그러므로 본 연구는 ODS 칼럼을 정지상으로 하고 DTAB를 반대 이온으로 사용하여 크기 인자에 영향을 미칠것으로 예상되는 여러가지 조건을 조사하여 최적 조건하에서 시료 혼합물을 분리해냄으로써 ODS를 이용한 이온-쌍 크로마토그래피가 방향족 카르복시산류의 분리에도 유용하게 쓰일 수 있음을 증명하고자 한다. 또한 본 실험 결과는 수질 오염에 관한 공해문제에서 유기산류를 분리 회수하는데, 그리고 의약품의 순도 측정 및 분리 정제에도 적용될 수 있는 기초 자료가 될 것으로 생각된다.

2. 실험

2.1 측정기기 및 시약

본 실험에서 사용한 HPLC는 Pye-Unicam 회사 제품으로 PU4010이중 펌프, PU4020 분광광도 검출기, CDP 4 computing 기록기 및 20 μl rotary valve injector를 사용하였고 칼럼은 실리카에 octadecyl기를 결합시킨 10 μm 직경의 입자를 길이 25cm 내경이 0.5cm인 스테인레스관에 고압으로 충진시킨 Partisil ODS 칼럼을 사용하였다.

그리고 반대 이온으로 사용한 DTAB와 시료로 사용한 카르복시산류들은 Tokyo Kasei, B.D.H, Aldrich 및 Junsei 회사의 G.R 등급을 정제하지 않고 사용하였다. 중류수는 KMnO_4 법으로 이차 중류하여 이온 교환수지에 통과시킨 탈 이온수를 사용했으며 유기용매로 사용한 메탄올은 크로마토그래피용을 사용하였다.

2.2 실험방법

이동상은 메탄올, 물, DTAB 및 전해질 등을 주어진 조건에 따라 일정한 농도로 만든 다음 Ultrasonic bath에서 용액 속에 녹아있는 공기를 제거하고 0.45 μm millipore 여과지로 걸려서 사용하였다. 실험 절차는 칼럼에 시료를 주입하기 전에 이동상을 통과시켜 반대 이온이 이동상과

칼럼사이에 완전히 평형이 이루어져서 통과전의 이동상과 통과된 후의 이동상이 RI 검출기에 대한 감응도가 같을 때까지 용리시켰다. 완전히 평형이 이루어졌을 때 각 시료의 머무름 시간이 일정하였고 바탕선도 안정되었다. 이동상의 유속은 1.0 ml/min 으로 고정하였고 시료의 검출은 254nm 에서 측정하였다. 시료는 물 흡광계수에 따라 $1.0 \times 10^{-5} \text{ M} - 1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ 의 농도로 만들어 $20\mu\text{l}$ 씩 주입하였으며 머무름 정도를 알아보기 위하여 다음 식에 의해 크기 인자(k')를 계산하였다.

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

V_R : retention volume

V_0 : void volume

혼합 시료의 분리는 윗 식에서 계산한 k' 값을 기초로하여 분리에 알맞는 최적 조건을 선택하여 몇가지 가능한 혼합시료를 분리하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 시료의 머무름에 영향을 주는 인자

(1) 반대 이온으로 사용한 DTAB의 농도. 방향족 카르복시산들은 반대 이온을 이동상에 넣지 않았을 때 넣었을 때, 그리고 반대 이온의 농도에 따라 London 힘이나 정전기적 인력의 차이가 있기 때문에 칼럼에 대한 머무름 정도가 달라질 것이다. 40% 및 60% 메탄을 이동상에 반대 이온으로 사용한 DTAB를 첨가하지 않았을 때와 여러가지 농도로 첨가했을 때의 크기 인자가 Table 1과 Table 2에 나타나 있다. DTAB 가 없을 때의 크기 인자는 0이거나 아주 작은 값을 가지고 있는데 방향족 카르복시산들은 대부분 약산이므로 용액에서 전리되지 못한 분자가 일부 존재하기 때문에 소수성인 ODS 칼럼에 약간의 분자 흡착이 일어나는 것으로 보인다. DTAB의 농도가 증가하면 크기인자도 증가되는 것을 볼 수 있는데 이것은 DTAB의 농도가 증

Table 1. Capacity factor of aromatic carboxylic acids on the ODS column as a function of the concentration of DTAB in 40% methanol

Compound	Concentration of DTAB in the mobile phase, mM					
	0.0	0.2	0.5	1.0	5.0	10.0
Benzoic	0.00	2.27	4.36	8.55	22.18	30.18
<i>o</i> -Cl benzoic	0.00	2.09	4.00	8.27	21.55	29.73
<i>m</i> -Cl benzoic	0.36	5.64	13.55	32.91	>50.00	
<i>p</i> -Cl benzoic	0.36	5.73	13.73	33.82	>50.00	
<i>o</i> -CH ₃ benzoic	0.09	2.45	4.73	9.73	23.82	>50.00
<i>m</i> -CH ₃ benzoic	0.36	3.82	7.09	15.09	38.09	>50.00
<i>p</i> -CH ₃ benzoic	0.55	3.82	7.18	15.18	38.27	>50.00
<i>o</i> -Br benzoic	0.09	2.45	4.91	9.82	24.73	>50.00
<i>m</i> -NO ₂ benzoic	0.09	2.64	5.45	12.45	30.18	>50.00
3, 5-di NO ₂ benzoic	0.09	3.73	7.73	16.73	>50.00	
<i>p</i> -NH ₂ salicylic	0.00	1.82	1.82	1.91	2.00	2.18
<i>o</i> -Benzoylbenzoic	0.64	7.09	14.45	40.18	>50.00	
1-Naphthoic	0.55	5.18	10.36	23.36	>50.00	
Phthalic	0.00	2.27	5.82	15.27	44.91	>50.00
Homophthalic	0.00	2.18	4.73	10.82	35.64	>50.00
1, 2, 3-Benzenetricarboxylic	0.00	2.36	17.64	>50.00		
1, 2, 4-Benzenetricarboxylic	0.00	2.36	19.36	>50.00		
1, 3, 5-Benzenetricarboxylic	0.00	2.36	25.00	>50.00		
1, 2, 4, 5-Benzenetetracarboxylic	0.00	4.73	44.18	>50.00		
Mellitic	0.00	5.36	>50.00			

Table 2. Capacity factor of aromatic carboxylic acids on the ODS column as a function of the concentration of DTAB in 60% methanol

Compound	Concentration of DTAB, mM						
	0.0	0.5	1.0	5.0	10	50	100
Benzoic	0.00	1.18	1.64	3.55	4.95	6.91	6.82
<i>o</i> -Cl benzoic	0.00	1.27	1.55	3.09	4.50	6.09	5.91
<i>m</i> -Cl benzoic	0.36	1.91	2.68	5.91	9.54	14.27	13.45
<i>p</i> -Cl benzoic	0.36	1.91	2.73	6.00	9.64	14.50	13.64
<i>o</i> -CH ₃ benzoic	0.09	1.27	1.82	3.64	5.09	7.18	7.09
<i>m</i> -CH ₃ benzoic	0.18	1.27	2.09	4.27	6.00	7.91	7.82
<i>p</i> -CH ₃ benzoic	0.45	1.55	2.09	4.27	6.09	8.09	7.91
<i>o</i> -Br benzoic	0.00	1.27	1.82	4.00	5.45	7.91	7.73
<i>m</i> -NO ₂ benzoic	0.09	1.55	1.82	4.27	5.91	7.91	7.55
3, 5-di NO ₂ benzoic	0.09	1.41	2.18	5.36	7.64	10.18	10.00
<i>p</i> -NH ₂ salicylic	0.00	1.37	1.45	1.47	1.73	1.82	1.82
<i>o</i> -Benzoylbenzoic	0.18	1.73	2.73	6.55	9.45	13.00	12.82
1-Naphthoic	0.36	1.73	2.55	5.82	8.77	12.92	12.36
Phthalic	0.00	1.18	1.64	4.00	6.18		
Homophthalic	0.00	1.09	1.36	3.27	4.45		
1, 2, 3-Benzenetricarboxylic	0.00	1.27	1.91	10.27	17.91		
1, 2, 4-Benzenetricarboxylic	0.00	1.27	2.00	10.36	21.36		
1, 3, 5-Benzenetricarboxylic	0.00	1.18	2.36	14.73	34.91		
1, 2, 4, 5-Benzenetetracarboxylic	0.00	1.36	2.82	23.36	>50.00		
Mellitic	0.00	3.36	5.18	>50.00			

가할수록 시료 이온과 이온-상호작용이 일어날 수 있는 자리수가 많아지므로 머무름이 증가한다. 다가 카르복시산들은 카르복시기가 많아질수록 DTAB의 농도에 따라 크기 인자가 큰 차이를 보이고 있는데 그 이유는 반대 이온의 농도가 상당히 끓을 때는 시료 이온과의 평형 관계가 완전히 이루어지지 못했으므로 머무름 정도가 작지만 반대 이온의 농도가 커지면 완전한 평형이 이루어지고 DTA⁺ 이온과 이온 상호작용을 일으킬 수 있는 자리수가 많기 때문에 크기 인자가 급격히 증가한다고 할 수 있다. 그러나 Fig. 1에서 보면 60% 메탄올을 이동상하에서 DTAB의 농도가 $5.0 \times 10^{-2} M$ 부근에서 크기 인자는 극대값을 나타내고 그 이상의 농도에서는 오히려 감소하였다. 이것은 DTAB의 농도가 어느 정도되면 칼럼에 흡착된 DTA⁺ 이온 포화 상태로 되므로 그 이상의 농도에서도 칼럼에 흡착된 DTA⁺ 이온의 양은 일정한 값을 계속 유지하나 이때같이 들어가게 되는 Br⁻ 이온의 농도가

커지기 때문에 시료 음이온과 함께 DTA⁺ 이온과 이온쌍을 형성하려고 하는 경쟁 효과가 나타나므로 시료의 머무름 시간이 감소한다고 할 수 있다. 40% 메탄올 이동상하에서 DTAB의 농도가 $5.0 \times 10^{-3} M$ 이상에서는 크기인자가 너무 커서 측정하지 못했으나 이때도 극대값이 나타날 것으로 생각되며 이러한 현상은 다른 연구에서도 보고되었다^{15, 17}.

(2) 이동상에 첨가한 메탄올의 농도. 이동상 중에 있는 메탄올의 농도가 끓으면 solvent strength가 증가하여 유기 시료가 이동상에 배향하려는 힘이 작아지므로 머무름 시간이 커지고 메탄올의 농도가 진하면 반대 현상이 나타날 것으로 생각된다. Table 3에서 메탄올의 농도가 진할때의 크기 인자가 모두 작아졌음을 이를 입증해주고 있다.

(3) 치환기의 종류와 위치. 벤조산에 붙어있는 치환기의 종류에 따라서 분자의 소수성에 영향을 미치므로 크기 인자가 영향을 받을 것으로

생각된다. Table 1에서 1.0mM DTAB 농도에서의 몇 가지 시료의 크기 인자가 *p*-aminosalicylic acid < benzoic < *o*-methylbenzoic < *o*-bromo-benzoic < 1-naphthoic < *o*-benzoylbenzoic의 순으로 증가하였음을 볼 수 있다. 일반적으로 치환기의 소수성이 증가할수록 크기 인자가 커지는데 반대 이온과 이온 쌍을 형성하면 소수성이 더욱 커지므로 역시 소수성이 ODS 칼럼과 London 힘에 증가하게 되고 따라서 정지상에 배향하려는 힘이 커지기 때문이다.

p-aminosalicylic 산의 경우 크기 인자가 작은데 그 이유는 카르복시기와 인접한 수산기가 수소결합을 형성하므로 반대이온과 이온쌍을 형성하기 어렵고 아미노기는 파라위치에서 극성인 이동상과 이온 상호작용을 일으키며 수소 이온과 반응하여 반응하여 NH_3^+ 이온이 되기 쉬우므로 반대이온과 같은 전하를 띠게 되므로 반발력에 의해 머무름 시간이 짧은 것이라고 생각된다.

또한 치환기의 위치에 따라서 머무름 시간에 미치는 영향이 다르다. 소수성을 띤 치환기가 치환되어 있을 경우는 분자 전체의 소수성이 오르토 < 메타 < 파라의 순으로 증가하기 때문에 크기 인자도 같은 순서로 증가할 것이다. Chlorobenzoic acid나 methylbenzoic acid의 경우 크기 인자가 오르토 < 메타 < 파라의 순으로 증가하였음을 Table 1에서 볼 수 있다. 그러나 두 경우 모두 메타나 파라 치환체의 크기 인자가 비슷한 것은 메타나 파라위치에 치환된 물질의 전체 소수성이 비슷하므로 큰 차이가 나지 않는 것으로 보

인다.

이와 반대로 친수성 원자단이 붙어있으면, 오르토에 있을 때는 반대 이온과의 정전기적 인력을 강하게 해주므로 크기 인자가 커지며 파라위치에 있을 때는 친수성 작용기가 극성인 이동상에 배향하려는 성질때문에 크기 인자가 작아질 것으로 생각된다.

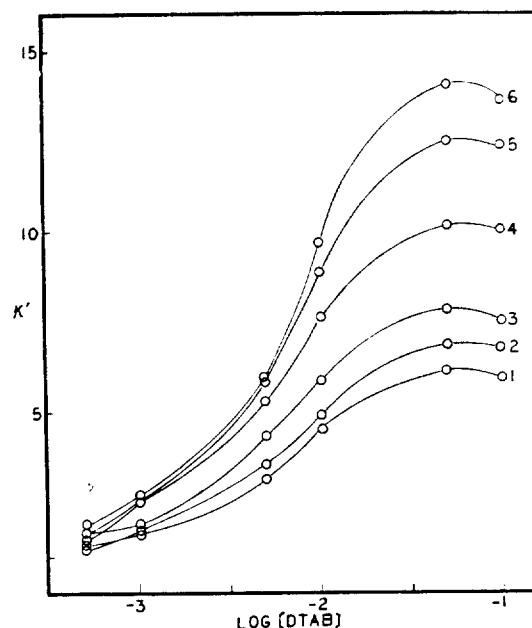


Fig. 1. Effect of DTAB concentration on the retention of aromatic carboxylic acids. 1:*o*-Chlorobenzoic acid. 2:Benzoic acid 3:*o*-Bromobenzoic acid. 4,5-Dinitrobenzoic acid. 5:1-Naphthoic acid. 6:*p*-chlorobenzoic acid. Mobile phase: 60% MeOH and added DTAB.

Table 3. Capacity factor of aromatic carboxylic acids on the ODS column

Compound	MeOH, %		Compound	MeOH, %	
	40%	60%		40%	60%
Benzoic	8.55	1.64	<i>o</i> -Br benzoic	9.82	1.82
<i>o</i> -Cl benzoic	8.27	1.55	<i>m</i> -NO ₂ benzoic	12.45	1.82
<i>m</i> -Cl benzoic	32.91	2.68	3,5-di NO ₂ benzoic	16.73	2.18
<i>p</i> -Cl benzoic	33.82	2.73	<i>o</i> -Benzoyl benzoic	40.18	2.73
<i>o</i> -CH ₃	9.73	1.82	1-Naphthoic	23.36	2.55
<i>m</i> -CH ₃ benzoic	15.09	2.09	Phthalic	15.27	1.64
<i>p</i> -CH ₃ benzoic	15.18	2.09	Homophthalic	10.82	1.36

Mobile phase: MeOH-H₂O solvent mixture containing 1.0×10^{-3} M. DTAB.

(4) 이동상에 첨가한 공존 음이온의 종류와 농도. 이동상에 첨가한 DTA^+ 이온과 시료 음이온 사이에 정전기적 인력이 작용하게 되는데 시료 음이온과 같은 전하를 띤 이온을 이동상에 첨가하면 반대 이온과 공존 음이온 사이에도 인력이 작용하게 될 것이다. 그러므로 시료 음이온과 공존 음이온이 서로 이온 쌍을 형성하려는 경쟁 효과가 생겨서 크기 인자에 영향을 미칠 것이다. 공존 음이온이 크기 인자에 미치는 영향을 알아보기 위하여 여러가지 농도의 염소 이온을 이동상에 넣고 측정한 크기 인자가 Fig. 2에 나타나 있다. 염소 이온의 농도가 상당히 높을 때는 큰 영향을 받지 않으나 $2.0 \times 10^{-3}M$ 농도 이상에서는 현저히 감소하는 것을 볼 수 있다. 끓은 전해질 용액하에서는 소수성을 띤 반대 이온과 시료 이온 사이의 인력이 커서 칼럼에 배향하려는 힘이 강하므로 큰 영향을 받지 않으나 농도가 진해지면 경쟁효과가 커지기 때문에 상대적으로 머

무를 시간이 짧아진다. 이와 같은 실험 결과로 보아서 머무름 형태는 ion-interaction 모델쪽이 우세하다는 것을 알 수 있다. 그리고 크기 인자가 큰 시료일수록 전해질의 영향을 더 많이 받는 것으로 관찰되었다.

한편 전해질의 종류에 따라서도 인력이 달라지기 때문에 크기인자도 변할 것으로 생각된다. 세가지 음이온을 각각 이동상에 첨가했을 때의 크기 인자가 Table 4에 나타나 있다. 반대 이온에 대한 시료 이온과의 경쟁 효과가 $Cl^- < Br^- < SO_4^{2-}$ 의 순으로 증가하여 크기 인자는 반대로 $Cl^- > Br^- > SO_4^{2-}$ 의 순으로 감소하였다. 특히 황산 이온은 전하량이 염소 이온이나 브롬이온보다 크기 때문에 반대 이온과의 정전기적 인력이 커서 시료 이온의 머무름 시간을 감소시킨다고 볼 수 있다. 이결과도 ion-interaction 모델이 우세하다는 것을 설명할 수 있는 좋은 예라 할 수 있다.

3.2. 혼합 시료의 분리

여러가지 실험 결과를 토대로 혼합 시료를 분석할 수 있는 최적 조건은 벤조산과 그 유도체

Table 4. Capacity factor of aromatic carboxylic acids on the ODS column as a function of kinds of electrolyte in mobile phase.

Compound	Electrolytes, 0.1M			
	absence	NaCl	NaBr	Na ₂ SO ₄
Benzoic	8.55	3.82	3.73	3.09
<i>o</i> -Clbenzoic	8.27	3.27	3.09	2.64
<i>m</i> -Cl benzoic	32.91	9.91	9.64	8.91
<i>p</i> -Cl benzoic	33.82	10.18	10.00	9.36
<i>o</i> -CH ₃ benzoic	9.73	4.09	4.00	3.09
<i>m</i> -CH ₃ benzoic	15.09	6.00	5.82	4.64
<i>p</i> -CH ₃ benzoic	15.18	6.09	5.82	4.64
<i>o</i> -Br benzoic	9.82	3.91	3.82	3.18
<i>m</i> -NO ₂ benzoic	12.45	4.45	4.36	3.91
<i>o</i> -Benzoylbenzoic	40.18	11.82	11.64	9.45
1-Naphthoic	23.36	9.91	9.73	7.27
Phthalic	15.27	3.09	2.45	1.91
Homophthalic	10.82	2.55	2.45	2.18
1, 2, 3-Benzenetricarboxylic	>50.00	3.00	2.36	1.36

Mobile phase: 40% MeOH-H₂O (v/v) solvent mixture containing $1.0 \times 10^{-3}M$ DTAB.

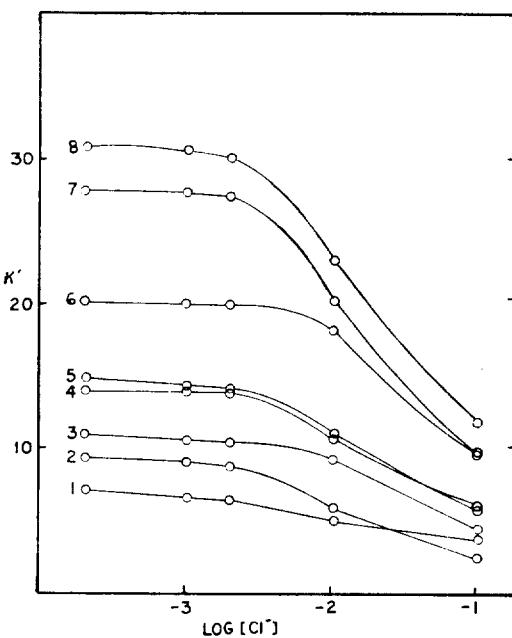


Fig. 2. Effect of ionic strength in mobile phase on theretention of aromatic carboxylic acids. 1: Benzoic. 2: Homophthalic. 3: *m*-Nitrobenzoic. 4: *p*-Methylbenzoic. 5: 3, 5-Dinitrobenzoic. 6: 1-Naphthoic. 7: *p*-Chlorobenzoic. 8: *o*-Benzoylbenzoic. Mobile phase: 40% MeOH, 1.0mM DTAB and added NaCl.

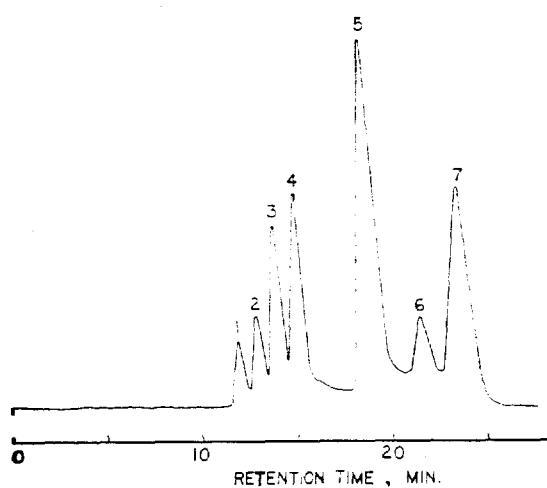


Fig. 3. Separation of benzoic acid and its derivatives. 1: Benzoic(0.3 μ g). 2: *o*-Chlorobenzoic(0.35 μ g). 3: *o*-Bromobenzoic(1.0 μ g). 4: *m*-Nitrobenzoic(0.2 μ g). 5: 3, 5-Dinitrobenzoic(0.25 μ g). 6: 1-Naphthoic(0.35 μ g). 7: *p*-Chlorobenzoic(3.5 μ g). Mobile phase: 60% MeOH containing 5.0mM DTAB. AT : 32.

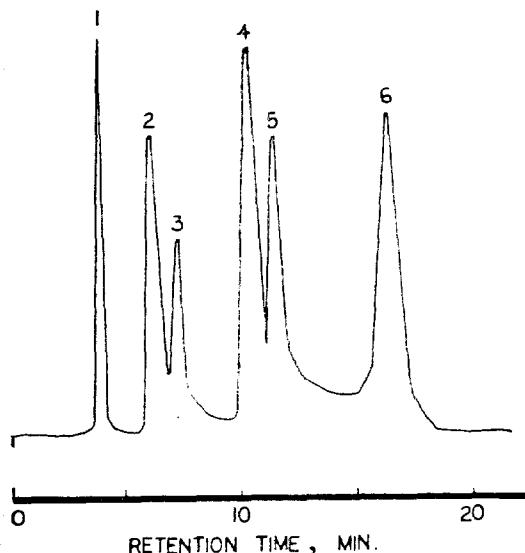


Fig. 4. Separation of paraaminosalicylic acid and aromatic polycarboxylic acids. 1: *p*-Aminosalicylic(0.15 μ g). 2: Homophthalic(0.18 μ g). 3: Phthalic(0.04 μ g). 4: 1, 2, 4-Benzenetricarboxylic(0.11 μ g). 5: 1, 2, 4, 5-Benzenetetracarboxylic(0.25 μ g). 6: Mellitic(0.34 μ g). Mobile phase: 60% MeOH containing 5.0mM DTAB and 0.01M NaCl. AT:32.

들은 60% 메탄을 5.0×10^{-3} M DTAB 를 첨가한

이동상을 사용했을 때였다. 이 때 몇 가지 혼합 시료를 분리한 크로마토그램이 Fig. 3에 있는데 254nm에서 몰 흡광계수가 큰 시료는 0.2 μ g 까지 검출할 수 있었다. 한편 다가 카르복시산들은 보편적으로 분리시간을 단축시키기 위해서 공존 음이온을 첨가해주는 것이 효과적이었다.

Fig. 3과 같은 이동상의 조건에 염화 나트륨의 농도를 1.0×10^{-3} M로 하였을 때 완전히 분리할 수 있으나 분석시간이 길고 꼬리 끌기 현상이 나타나는 단점이 있었다. 그러므로 적절한 분리 조건은 Fig. 4에 나와 있듯이 1.0×10^{-2} M 염화나트륨 용액을 이동상에 넣었을 때였다. 몰 흡광계수가 큰 시료는 0.04 μ g 까지 검출할 수 있었다.

인용 문헌

1. L. R. Snyder and J. J. Kirkland, "Introduction to modern liquid chromatography" 2nd. Ed., p. 454, Wiley, New York, 1979.
2. S. Eksborg and G. Schill, *Anal. Chem.*, **45**, 2092 (1973).
3. S. Eksborg, P. O. Lagerström, R. Modin and G. Schill, *J. Chromatogr.*, **83**, 99 (1973).
4. W. Santi, J. M. Huen and R. W. Frei, *J. Chromatogr.*, **115**, 423 (1975).
5. K. G. Wahlund and U. Lund, *J. Chromatogr.*, **122**, 269 (1976).
6. B. A. Perrson and B. L. Karger, *J. Chromatogr. Sci.*, **12**, 521 (1974).
7. J. H. Knox and C. R. Laird, *J. Chromatogr.*, **122**, 17 (1976).
8. C. M. Riley, E. Tomlinson, T. M. Jefferies and P. H. Redfern, *J. Chromatogr.*, **162**, 153 (1979).
9. J. C. Kraak, K. M. Jonker and J. F. K. Huber, *J. Chromatogr.*, **142**, 67 (1977).
10. C. Horvath, W. Melander, I. Molnar and P. Molnar, *Anal. Chem.*, **49**, 2295 (1977).
11. T. Gnanasambandan and H. Freiser, *Anal. Chem.*, **54**, 1282 (1982).
12. S. W. Kang, *J. Korean Chem. Soc.*, **29**, 365 (1985).
13. B. A. Bidlingmeyer and F. V. Warren, Jr., *Anal. Chem.*, **54**, 2351 (1981).

14. J. H. Knox and R. A. Hartwick, *J. Chromatogr.*, **204**, 3 (1981).
15. R. L. Smith and D. J. Pietrzyk, *Anal. Chem.*, **56**, 1572 (1984).
16. N. E. Hoffman and J. C. Liao, *Anal. Chem.*, **49**,
17. Z. Iskandarani and D. J. Pietrzyk, *Anal. Chem.*, **54**, 1061 (1982).
18. J. Aurenge, *J. Chromatogr.*, **84**, 285 (1973).