Journal of the Korean Chemical Society
1995, *Vol. 39, No. 4*
Printed in the Republic of Korea

Chromotropic Acid를 착화제로 이용한 이온쌍 액체 크로마토그래피에 의한 붕소의 분리와 정량

尹英子* · 劉九龍†
숭실대학교 이과대학 화학과
†삼육대학교 이과대학 화학과
(1994. 12. 24 접수)

Determination of Boron by Ion Pair Liquid Chromatography with Chromotropic Acid

Young Ja Yun* and Gu Yong Yu†
Department of Chemistry, Soong Sil University, Seoul 156-743, Korea
†*Department of Chemistry, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea*
(Received December 24, 1994)

요 약. Chromotropic acid(1.8-Dihydroxynaphthalene-3,6-disulfonic acid)를 착화제로 이용한 붕소에 대한 분리 정량을 이온쌍 액체 크로마토그래피로 연구하였다. 이동상(MeOH 61%, H_2O 39%, 인산완충용액 pH=8.5)에 tetrabutylammonium bromide를 첨가하므로서 붕소-chromotropic acid 착물과 chromotropic acid를 poly(styrene-devinylbenzene) 역상컬럼(PRP-1, 15 cm×4.6 mm i.d.) 상에서 분리할 수 있었으며, 또한 시료 용액중에 0.1 M의 tetrabutylammonium bromide를 첨가하므로 붕소와 chromotropic acid간의 착물형성을 촉진시켜 감도를 높일 수가 있었다. 0.5~1000 μg/L 농도범위에서 좋은 직선성을 나타내었고 검출 한계는 0.5 μg/L(S/N=2)이었다. 제안된 방법으로 시판용 시약, Na_2SO_4, NaOH, KCl에 있는 미량의 붕소를 정량하였다.

ABSTRACT. The separation and determination of boron with chromotropic acid (1,8-Dihydroxynaphthalene-3,6-disulfonic acid) as a complex agent has been studied using ion pair liquid chromatography. The use of tetrabutylammonium bromide added as an ion pair reagent to mobile phase (MeOH 61%, phosphate buffer 39% pH=8.5) allowed good separation of boron-chromotrophic acid complex anion and chromotrophic acid on poly(styrene-divinylbenzene) based reversed phase column (PRP-1, 15 cm×4.6 mm i.d.). The complex formation between boric acid and chromotrophic acid was enhanced in the presence of 0.1 M tetrabutylammonium bromide, resulting in high sensitivity. The linear calibration was achieved over the boron concentration range of 0.5~1000 μg/L. The detection limit was 0.5 μg/L (S/N=2). The proposed method was applied to the determination of boron in commercially available chemicals, Na_2SO_4, NaOH, KCl.

서 론

붕소의 미량분석은 식물의 생리연구, 원자로의 냉각수 관리, 화학약품, 철강제품과 전자제품의 품질관리 등 여러 분야에서 매우 중요하다.[1~4] 붕소를 정량하기 위해서 방사화학 분석법,[5,6] 질량분석법,[7] 유도결합 프라즈마(inductively coupled plasma; ICP) 원자방출분광법[8,9] 등을 사용하나 고가의 분석기기가 필요하다. 원자흡수분광법[10]과 전위차법[11]을 이용한 붕소의 분석은 감도와 정밀도가 좋지 않고 금속이온의 영향을 심하게 받는다. 자외-가시부 흡수분광광도법(UV-visible absorption spectrophotometry)[12~14]은 감도가 좋아 붕소의 미량분석법으로 여러

분야에서 이용되고 있으나 과량으로 존재하는 착화제를 분리해야되기 때문에 분석과정이 복잡하고 시간이 많이 소요된다.

최근에 고성능 액체 크로마토그래피를 이용한 붕소의 분리와 정량에 대한 연구가 몇 연구자들에 의하여 발표되었다.

Hill과 Lash[15]는 음이온 교환컬럼과 NaOH 이동상으로 tetrafluoroborate로서 존재하는 붕소를 분리 정량하였고 후에 Wilshire and Brown[16]이 같은 음이온 교환 컬럼과 carbonate 이동상으로 tetrafluoroborate로서 존재하는 붕소를 분리 정량하였다. Okada와 Kuwata[17]는 역상으로 fructose 용액을 이용하여 붕소를 정량하였다.

Motomizu[18] 등은 ODS 역상컬럼과 착화제로 chromotropic acid(CTA)를 이용해서 붕소를 분리하여 자외-가시부 흡수 분광검출기로 정량하였는데 이 방법은 비교적 간단하고 감도가 좋으나 비교적 높은 pH(8 이상)의 이동상중에서 붕소-chromotropic acid 착물을 분리해야 되기 때문에 컬럼이 손상을 받고 붕소의 머무름시간이 점점 짧아져 분리가 나빠지고 실험의 재현성이 좋지 않게 된다.[19,20]

본 연구에서는 ODS 역상컬럼상에서 나타나는 문제점을 개선하고자 여러 실험조건을 모색한 결과 poly(styrene-divinylbenzene) 역상컬럼이 ODS 컬럼보다 안정하고 붕소에 대한 머무름 시간이 일정함을 알 수 있었다. 그래서 착화제로 chromotropic acid와 poly(styrene-diviniybenzene) 컬럼을 이용하여 이온쌍 액체크로마토그래피로서 붕소를 분리한 다음 형광검출기로 검출하였다. 실험의 최적조건을 찾기 위해서 착화제의 농도, 이동상의 조성, 착물형성에 영향을 미치는 tetraalkylammonium(TAA)염의 종류와 농도 등을 살펴보았다. 제안된 실험방법으로 몇 가지 시판용 시약중에 존재하는 붕소를 정량하였다.

실 험

기 기. 본 실험에서 사용한 고성능 액체 크로마토그래프는 Waters사 제품으로, 펌프는 M 510 이중구동형 펌프, 검출기는 420-AC 형광검출기(들뜸파장; 313 nm, 방출 파장; 360 nm)를 사용하였다. 이동상과 분리관의 온도를 조절하기 위해 TMC-006543 온도조절기를 사용하였다.

분리관. Hamilton사 제품의 poly(styrene-divinylbenzene) (PRP-1 컬럼 15 cm×3.9 mm i.d., particle size; 5 μm)을 사용하였다.

이동상. 7.5×10^{-3} M tetrabutylammonium bromide(TBA, Aldrich사 제품, 특급시약)와 인산완충용액(pH=8.5, 5.0×10^{-3} M)을 포함하는 61% 메탄올, 39% 물 혼합용액을 이동상으로 사용하였다.

용액 A. 0.1 M CTA(Merk사 제품, 특급시약), 0.2 M EDTA를 포함하는 용액.

용액 B. 0.1 M TBA-Br, 아세트산 완충용액(0.1 M, pH 4.7)을 포함하는 용액.

표준시료용액. 1.0×10^{-3} M 붕산(Merk사 제품, 특급시약) 용액을 조제하여 필요에 따라 희석하여 사용하였다.

HPLC. 표준시료용액 1 mL를 10 mL polypropylene 시험관에 넣고 A용액 0.5 mL와 B용액 0.5 mL를 첨가하여 10 mL로 희석시켜 혼합해 17분간 방치시킨다. 그 다음 0.45 μm 필터(Hamilton사 제품)로 여과한 후 HPLC로 분석하였다. 이동상 흐름속도를 1 mL/min으로 하였고 분리관은 30 ℃로 항온으로 유지시켰다.

결과 및 고찰

붕소-CTA 착물 형성에 미치는 pH의 영향. 본 실험에서는 붕소-CTA 착물형성에 미치는 pH 영향을 살펴보기 위해서 10^{-5} M의 붕산과 5.0×10^{-2} M의 CTA가 포함된 용액의 pH를 4회 정제하여 미량의 붕소를 제거한 NaOH 용액과 HCl 용액으로 1.8에서 8.2까지 조절하여 붕소-CTA 착물의 크로마토그램 봉우리 높이를 측정하였다. *Fig.* 1에서 볼 수 있는 바와 같이 봉우리 높이가 pH 4.0에서 6.0 사이가 가장 높게 나타났다. 본 실험에서는 시료용액의 pH를 4.7로 조정하여 실험하였다.

착화제 CTA 농도가 붕소-CTA 착물형성에 미치는 영향. CTA 농도가 붕소-CTA 착물의 형성에 미치는 영향을 살펴보기 위해서 CTA의 농도를 1.0×10^{-3} M에서 1.5×10^{-2} M까지 변화시키면서 붕소의 봉우리 높이를 측정하였다.

그 결과 CTA의 농도가 7.5×10^{-3} M 이상에서 일정한 높이의 봉우리를 얻을 수 있었다. 1.0×10^{-2}

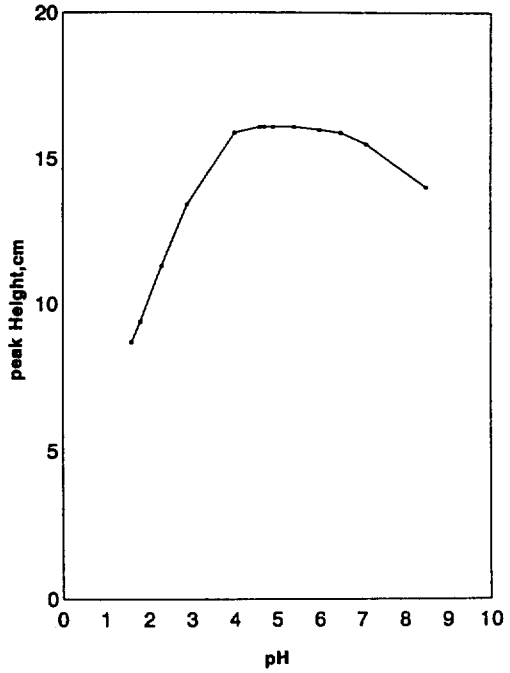

Fig. 1. Effect of pH boron-CTA complex formation. [Boron], 10^{-5} M. [TBA-Br], 0.1 M.

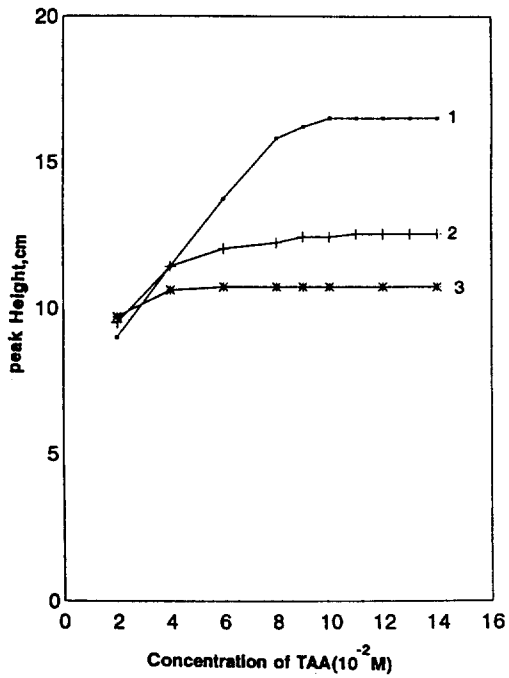

Fig. 2. Effect of TAA salt concentration on boron-CTA complex formation. [Boron], 10^{-5} M. 1; TBA-Br, 2; TEA-Br, 3; TMA-Br.

M 이상에서는 과량으로 존재하는 착화제의 꼬리끌기가 심하기 때문에 붕소를 분리하기가 어려웠다. 주어진 실험조건에서 일정한 높이의 봉우리를 얻을 수 있는 최소한의 착화제의 농도를 선택하는 것이 붕소를 분리하는데 유리함을 알 수 있었다. 본 실험에서는 착화제인 CTA의 농도를 7.5×10^{-3} M의 농도를 선택하였다.

시료용액의 조성. CTA 수용액은 일광중에서 서서히 분해되고, 나트륨 이온의 농도가 높을 경우 CTA 나트륨 염이 salting-out 효과에 의해서 석출되기 때문에 이 실험에서는 착물형성에 필요한 시약을 두 종류의 용액으로 만들었다. 한 용액은 CTA와 EDTA가 포함된 용액(용액 A)이고 다른 용액은 아세트산 완충용액과 TAA염을 포함하는 용액(용액 B)이다.

붕소의 검출감도를 높이기 위해 붕소-CTA 착물을 포함하는 용액 50 μL를 컬럼에 주입시켰다. 주입된 시료 중에 TAA염이 포함되어 있지 않는 경우, 컬럼내에 존재하는 음이온의 양이 반대이온(TAA+)의 양보다 많게 되어 CTA의 꼬리끌기가 증가하고 붕소-CTA 착물의 봉우리가 시료용액중에 TAA염이 있을 경우보다 작아진다. 이는 착화제인 CTA의 음전하보다 붕소-CTA 착물의 음전하가 크기 때문에 시료용액중에 존재하는 TAA 양이온과 이온쌍을 더 잘 형성함으로 붕소-CTA 착물의 형성이 촉진되기 때문이다.[18]

Fig. 2에서 보는 바와 같이 시료용액에 tetramethylammonium bromide(TMA-Br), tetraethylammonium bromide(TEA-Br), tetrabutylammonium bromide(TBA-Br)를 각각 혼합한 시료용액을 컬럼내에 주입하여 얻은 붕소 봉우리의 높이를 측정한 결과 TBA-Br가 가장 높게 나타났다. TBA-Br의 농도가 0.1 M 이상에서 최적 조건을 얻을 수 있다.

본 실험에서는 붕소의 착물형성을 촉진시켜 감도를 높이기 위해서 시료용액에 0.1 M의 TBA-Br 용액을 첨가한 후 컬럼에 주입시켰다.

Fig. 3은 TAA염이 붕소와 CTA간의 착물형성 시간에 미치는 영향을 살펴본 것이다. 그림에서 보는 바와 같이 TBA-Br의 경우가 TEA-Br 경우보다 1.3

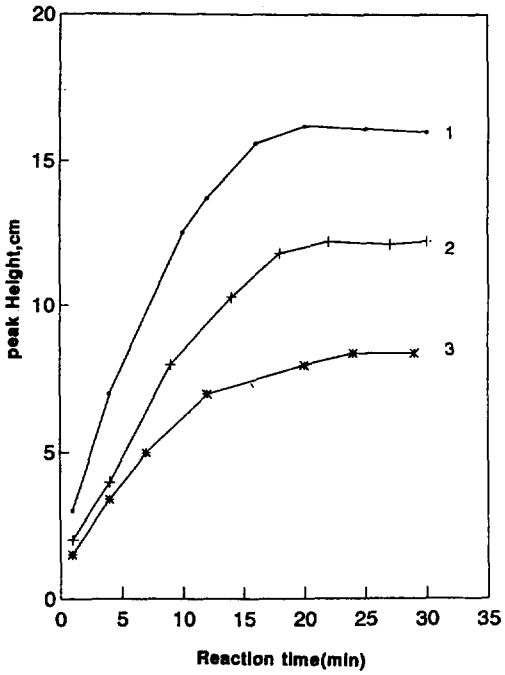

Fig. 3. Variation of peak height with reaction time for the complex formation of the boron complex with CTA. [Boron], 10^{-5} M. [TAA salts], 0.1 M. 1; variarion of boron peak in the presence of TBA-Br in sample, 2; same as 1 but TEA-Br, 3; without TAA salts.

배 정도의 높은 봉우리를 얻을 수 있었고, TAA염이 없는 경우보다 1.9배 정도의 높은 봉우리를 얻을 수 있었다. 20분 후에 일정한 높이의 안정된 봉우리를 얻을 수 있었다.

이동상의 조성. 본 실험에서는 이동상에 포함된 메탄올의 농도와 이온쌍 시약인 TBA-Br의 농도가 붕소-CTA 착물의 머무름 시간에 미치는 영향을 살펴보았다. *Fig.* 4에서는 메탄올의 농도가 붕소-CTA 착물의 머무름 시간에 미치는 영향을 살펴보기 위해서 메탄올의 농도를 52%에서 68%까지 변화시키면서 붕소-CTA 착물의 머무름 시간을 측정하였다. 그림에서 보는 바와 같이 메탄올의 농도가 증가할수록 붕소의 머무름 시간이 짧아짐을 관찰할 수가 있었다.

Fig. 5는 이온쌍 시약인 TBA-Br의 농도가 붕소의 머무름 시간에 미치는 영향을 살펴보기 위해서 TBA-Br의 농도를 2.5×10^{-3}에서 2.25×10^{-2} M까지

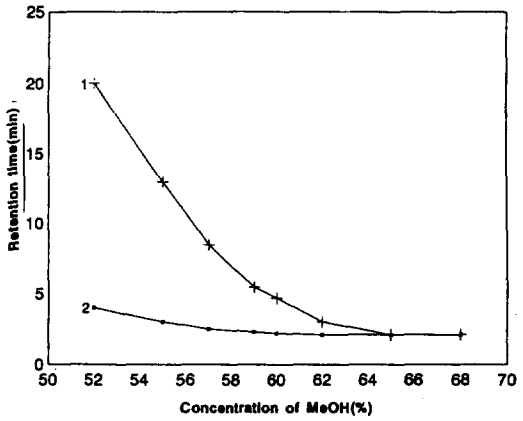

Fig. 4. Effect of MeOH concentration on retention time of boron. [Boron], 10^{-5} M. 1; retention time of boron-CTA complex, 2; retention time of CTA.

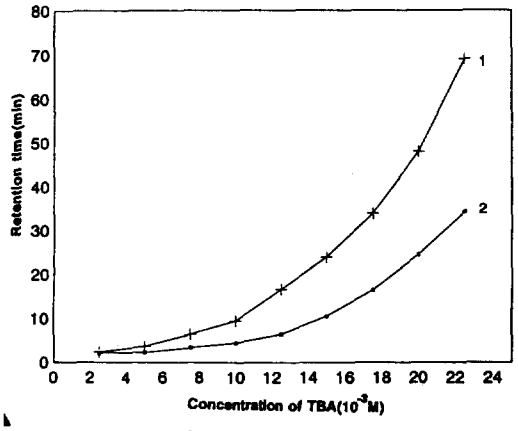

Fig. 5. Effect of TBA salt concentration on retetion time of boron. [Boron], 10^{-5} M. 1; retention time of boron-CTA complex. 2; retetion time of CTA.

변화시키면서 붕소의 머무름 시간을 측정한 것이다. 그림에서 보는 바와 같이 TBA-Br의 농도가 증가할수록 붕소의 머무름 시간이 길어짐을 관찰할 수 있었다. 이는 붕소-CTA 착물의 음전하가 착화제인 CTA의 음전하보다 크기 때문에 이온쌍 시약인 TBA 양이온이 CTA보다 붕소-CTA와 더 센 이온쌍회합체를 형성하여 역상컬럼에서 더 오랫동안 머물기 때문에 나타나는 현상이라고 생각되어진다.

재현성과 안정성. 붕소를 역상조건하에서 분리 정량하기 위해서는 진한 농도의 이온쌍 시약과 pH가 8 이상인 완충용액을 사용한다. Z. Jun[19] 등과 Yu[20]는

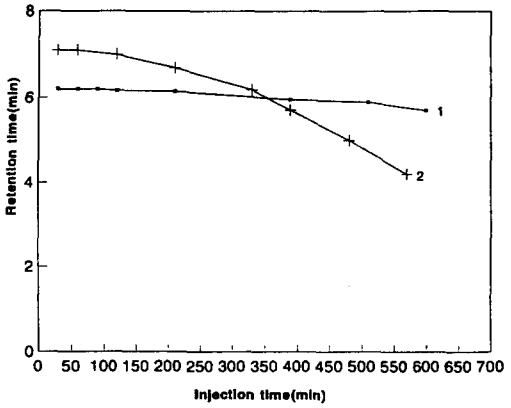

Fig. 6. Variation of retention time for boron with injection time. 1; for Poly(styrene-divinylbezene) column, 2; for ODS column.

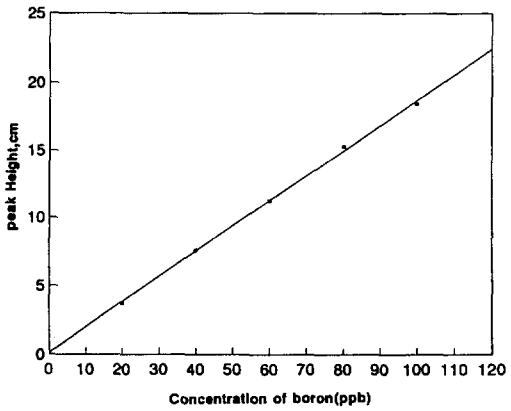

Fig. 7. Calibration curve of boron.

pH가 8인 이동상과 ODS 컬럼으로 붕소를 분리 정량한 결과 시간에 따라서 붕소의 머무름 시간이 점점 짧아지고 점차로 컬럼이 손상을 받는다고 발표하였다.

본 연구에서는 7.5×10^{-3} M의 TBA-Br와 pH가 8.5인 인산완충용액(5.0×10^{-3} M)을 포함하는 이동상과 poly(styrene-divinylbenzene) 역상컬럼으로 붕소의 머무름 시간에 대한 재현성과 분리관의 안정성을 살펴보았다. 붕소의 머무름 시간을 30분 간격으로 10시간 동안 살펴본 결과 *Fig.* 6에서 나타난 바와 같이 poly(styrene-divinylbezene) 컬럼이 붕소-CTA 착물의 머무름 시간의 재현성과 안정성에 있어서 ODS 컬럼보다 우수함을 알 수 있었다.

검정곡선. 주어진 실험조건에 따라 얻은 붕소에 대한 검정곡선으로부터 0.5 μg/L에서 100 μg/L까지 *Fig.* 8에서 보는 바와 같이 좋은 직선성을 나타내었고 검출기의 gain을 조절함으로 1000 μg/L까지 좋은 직선을 얻을 수 있었다.

시판용 시약중에 존재하는 붕소의 정량. 붕소를 미량분석할 경우 시약중에 포함된 붕소로 말미암아 심각한 오차가 유발된다. NaOH 경우 시약제조과정의 작업환경과 시약취급과정이 붕소가 포함된 borosilicate나 soda lime 등에 노출이 될 경우 미량의 붕소로 오염이 된다. 여러 종류의 시료중에 존재하는 붕소를 미량분석할 경우 시약중에 포함된 미량의 붕소를 정량하여 그 오차를 줄일 수 있다. 본 실험에서 붕소를 정량하기 위해서 사용한 시약 시료는

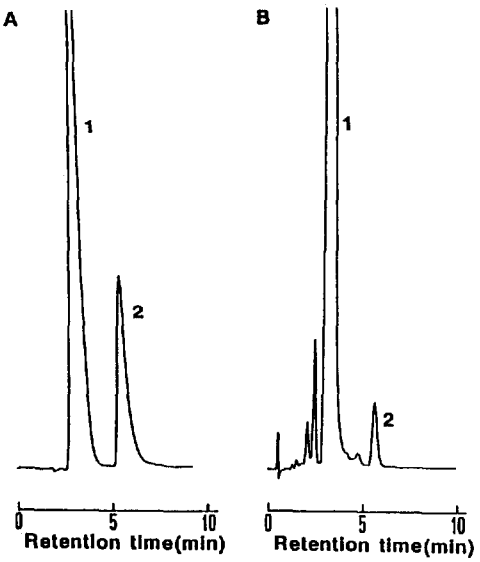

Fig. 8. A, Chromatogram of boron. [boron], 10^{-5} M. [TBA-Br], 0.1 M. mobile phase methanol, 61%. water, 39%. phosphate buffer, 5.0×10^{-3} M (pH=8.5). flow rate, 1 mL/min. B, Chromatogram of boron in Na_2SO_4 sample. HPLC condition; same as A. 1; peak of CTA, 2; peak of boron-CTA complex.

시판용 특급시약이다.

일정량의 각 시약을 물에 녹여 0.5 M 농도로 만든 후 적당한 농도로 희석하여 염산용액으로 pH 2.0로 조정한 다음 아세트산 완충용액으로 pH 4.5로 맞추어 시료용액을 만든다. 주어진 실험조건으로 시약중에 포함된 붕소를 3회 반복 정량한 결과 Na_2SO_4에서는 17± 0.5 ng/g이었고 KCl과 NaOH에서는 각각 1.9± 0.5 ng/g, 1.7± 0.2 ng/g이 검출되었다. *Fig.* 8에

서 시판용 시약, Na_2SO_4 중 포함된 붕소를 분리 정량한 크로마토그램을 예로 나타내었다.

결 론

붕소를 정량하기 위해 착화제로서 CTA와 이온쌍 시약으로 TBA-Br를 사용하고 분리관을 poly(styrene-divinylbenzene) 컬럼으로 선택하여 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 이동상에 포함된 이온쌍시약 TBA-Br의 농도가 증가함에 따라 붕소의 머무름 시간이 증가하였다. 그래서 1.75×10^{-3} M의 TBA-Br이 포함된 이동상을 사용하므로 과량으로 존재하는 착화제를 분리한 후 붕소를 정량할 수 있었다.

2. 시료용액에 0.1 M의 TBA-Br을 첨가시킨 결과 붕소와 착화제인 CTA간에 착물형성이 촉진되어 분석시간을 단축시키고 감도를 높일 수가 있었다.

3. 높은 농도의 이온쌍 시약과 완충 용액이 포함되어 있는 pH가 8 이상인 이동상의 조건하에서 poly (styrene-divinylbenzene) 컬럼이 ODS 컬럼보다 안정성과 머무름 시간의 재현성이 우수하였다.

인 용 문 헌

1. Mark, H. F.; and Mcketta, J. H.; Othmer, D. F. *Encyclopedia of chemical technology*, 2nd ed.; John Wiley & Sons Inc.: New York, 1968; Vol. 3, p 602~737 and Vol. 14, p 86~87.
2. Spicer, G. S.; Strickland, J. *Anal. Chim. Acta* **1958**, *18*, 2319.
3. Kunin, R.; Preuss, A. F. *Ine. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.* **1964**, *3*, 304.
4. Association of Official Analytical Chemists; *Methods of Analysis of the Associatoin of Official Analytical Chemists*, 2nd ed.; Washington, DC, 1975.
5. Garbrah, B. W.; Whitley, J. E. *Anal. Chem.* **1967**, *39, 345*..
6. *Isenhoour, T. L.; Morrison, G. H. Anal. Chem.* **1966**, *38, 167.*
7. *Catanzaro, E. J.; Champion, C. E.; Garner, E. L. NBS Spedial Publication*; Washington, CD, 1970; No. 260.
8. Nygaard, D. D.; Leighty, D. A. *Appl. Spectrosc.* **1985**, *39*, 968.
9. Ball, J. W.; Thompson, J. M.; Jenne, A. E. *Anal. Chim. Acta* **1978**, *98*, 67.
10. Goyal, N.; Dhobale, A. R. *Anal. Chim. Acta* **1986**, *182*, 225.
11. Savel'yanova, R.T.; Savel'yanov, V.P. *Mendeleev, D. I. Z. An. Chim.* **1976**, *31*, 2056.
12. Motomizu, S.; Oshima, M.; Jun, Z. *Anal. Chim. Acta* **1991**, *251*, 269.
13. Roland Gilbert, R.; Joseph Hubert, J. *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 2201.
14. Azarez, J.; Bonilla, A.; Vidal, J. C. *Analyst* **1983**, *108*, 368.
15. Hill, C. J.; Lash, R. P. *Anal. Chem.* **1980**, *52*, 24.
16. Wilshiure, J. P.; Vrown, A. *Anal. Chem.* **1982**, *54*, 1647.
17. Okada, T.; Kuwamoto, T. *Fresenius'. Anal. Chem.* **1986**, *325*, 683.
18. Motomizu, S.; Sawatani, I.; Oshima, M. *Anal. Chem.* **1983**, *55*, 1629.
19. Jun, Z.; Oshima, M.; Motomizu, S. *Analyst* **1988**, *113*, 1631.
20. Yu, G. Y.; *J. of Sahmyook Univ.* **1993**, *25*, 87.