

방사방향 전기장에 의한 액체 크로마토그래피에서의 체류시간 변화

김영대^{*†} · 이기용 · 이종기 · 최광진 · 심상준 · 우경자 · 조영상

한국과학기술연구원 청정기술연구센터

^{*}전남대학교 응용화학부

(1999년 1월 21일 접수, 1999년 3월 22일 채택)

The Effect of Radial Electric Field on the Retention in Liquid Chromatography

Young Dae Kim^{*†}, Ki Yong Lee, Joong Kee Lee, Guang Jin Choi, Sang Jun Sim,
Kyungja Woo and Young Sang Cho

Clean Technology Research Center, KIST

^{*}Faculty of Applied Chem., Chonnam National University

(Received 21 January 1999; accepted 22 March 1999)

요 약

크로마토그래피의 분리 효율을 증가시키기 위해 새로운 조절 변수 도입을 시도하였으며, 새로운 조절 변수로서 크로마토그래피에 방사(radial)방향의 전기장을 도입하였다. 전기장을 크로마토그래피 컬럼의 방사방향으로 가하여 이에 따른 대상물질의 체류시간 변화를 조사하였다. 다양한 대상물질, 용매 및 충전제를 사용한 모든 경우에 있어 전압을 가함에 의해 대상물질의 체류시간이 변화하는 것이 관찰되었으며, 용매와 충전제의 종류에 따라서 전압에 따른 대상물질의 체류시간이 증가하거나 감소하는 경향을 보여 주었다. 이것은 가해진 전기장이 대상물질-용매-충진제 사이의 상관관계에 영향을 미쳐 체류시간에 영향을 주는 것으로 보인다. 따라서 새로운 조절 변수로서 도입한 방사방향 전기장이 대상물질의 체류시간을 조절할 수 있으며, 이에 의해 방사방향 전기장을 사용한 대상물질의 체류시간 조절에 의해 크로마토그래피 분리 효율을 증가시킬 수 있는 새로운 크로마토그래피의 개발 가능성이 제시되었다.

Abstract – Radial electric field was employed to efficiently control the solute retention times in liquid chromatography. It was observed that the solute retention times were changed by the applied radial electric field. This result indicates that the solute retention times can be controlled by the applied radial electric field strength, suggesting that a novel type chromatography can be developed employing the retention time control by the applied electric field. The change in the solute retention times seems to arise from the changed interactions among solute, solvent, and adsorbent due to the different degrees of their induced polarities.

Key words: Radial Electric Field, Chromatography, Retention Time

1. 서 론

크로마토그래피는 각 물질의 서로 다른 흡착력을 이용한 분리방법으로 분리대상물질들의 흡착평형에 따라 물질의 분리가 결정된다. 따라서, 크로마토그래피를 사용하여 분리를 수행할 때, 흡착평형에 영향을 미칠 수 있는 인자들이 물질의 분리능력을 결정하게 되고, 이런 인자들의 조절에 의해 원하는 물질을 효과적으로 분리하게 된다.

크로마토그래피를 이용한 분리는 충전물질이 채워진 컬럼에서 수행되는 까닭에, 흡착평형에 영향을 미칠 수 있는 인자들은 대상물질의 특성, 충전제의 종류, 용매의 종류 및 컬럼의 온도 등이다[1]. 따라서 제한된 조절 변수로 인해 크로마토그래피를 사용한 물질의 분리는 주로 대상분리물질에 가장 적합한 충전제의 개발(또는 선정)과 충전제를 효과적으로 사용할 수 있는 용매의 선정(혼합용매, 용매 구배 등)

에 의해 결정된다. 따라서, 대상분리물질의 종류만큼이나 많은 충전제가 개발되게 되고 이에 따른 다양한 용매선정이 필요하다. 그러나 이와 같은 방법에 의해 대상분리물질의 분리조건(충진제 선정 및 용매선정)들의 선정은 주로 수많은 실험에 의해 결정되고 있어 많은 노력을 필요로 하고 있다.

따라서 본 연구에서는 크로마토그래피의 흡착성능을 조절할 수 있는 변수를 추가함으로써, 좀 더 간편하게 대상분리물질의 분리조건을 선정할 수 있는 새로운 컬럼기술을 개발하고자 하였다. 새로운 조절 변수로서 방사방향 전기장을 가하는 것을 선정하였다. 크로마토그래피 시스템에 의한 분리의 경우 대상물질이 충전제의 흡·탈착하는 메커니즘에 의해 체류시간이 결정되게 되고 이런 체류시간의 차이에 의해 대상물질들의 분리가 이루어진다. 일반적으로 충전제로 사용되는 물질들은 입자 표면에 전하를 띄게 되며 이 전하의 존재에 의해 대상물질 또는 용매와의 상관 관계가 이루어지게 된다[2]. 따라서 크로마토그래피에 전기장을 가하게 되면 충전제 표면의 전하들의 위치가 전

[†]E-mail : youngdae@chonnam.ac.kr

기장의 영향으로 변화하게 되며 따라서 충전제의 성질 또한 변화하게 된다.

뿐만 아니라 용매와 대상물질도 전기장에 의한 극성변화에 의해 상관관계의 변화를 지니게 되며, 이와 같은 변화에 의해 충전제와의 상관관계에 영향을 미치리라 보인다. 따라서 방사방향 전기장을 새로운 조절 변수로 추가함에 의해 크로마토그래피에 의한 분리를 효율적으로 조절할 수 있으리라 판단되었다.

전기장을 분리에 이용하고자 하는 노력은 이미 여러 분야에서 사용되고 있다. 특히 크로마토그래피와 관련해서는 전기영동 방법을 사용하여 분자들을 분리하는 방법들이 사용되고 있다[3]. 특히 모세관 전기영동 크로마토그래피를 사용하여 단백질을 분리하는 방법은 많은 연구가 진행 중이다[4-6]. 전기영동적 방법에 있어서는 분리의 주 구동력은 축 방향의 전기장이며, 각 물질들의 전기장 하에서의 이동속도 차이를 이용하여 분리를 수행한다. 또 다른 전기장의 분리에의 응용은 electric field flow fractionation 방법으로 충전제를 채우지 않은 평판 사이에서 전기장을 가하여, 대상물질들의 전기장 하에서의 움직임과 용매의 흐름에 의한 움직임의 벡터 합의 차이를 이용한 분리 방법이다[7, 8].

본 연구에서는 기존의 크로마토그래피에 방사(radial) 방향으로 전기장을 가하여 전기장의 세기로 분리 대상물질의 체류시간을 조절할 수 있는 지를 조사하였으며, 충전제 종류 및 용매 종류에 따른 전기장 하에서의 대상물질의 체류시간 변화를 조사하였다.

2. 실험

컬럼에 전기장을 방사 방향으로 가하기 위하여 크로마토그래피 시스템을 변형하였다. 전기장을 걸 수 있도록 컬럼의 내부에 전극을 설치하였으며, 컬럼의 외부를 다른 하나의 전극으로 사용하였다. 크로마토그래피 컬럼을 다른 시스템으로부터 전기적으로 격리시키기 위해 적절한 절연을 하였다. 컬럼의 절연을 위해 연결 부위를 절연 물질인 테프론 튜브를 사용하여 연결하였다. 컬럼은 3/8 inch×40 cm의 스테인리스 스틸 관으로 만들어졌으며, 절연체로 사용된 테프론 튜브의 물리적 성질의 제약으로 인해 실험 압력은 300 psig 이상을 사용하지 않았으며, 상온에서 실험을 수행하였다. 실험에 사용한 컬럼은 Fig. 1에 소개되어 있다.

용매는 HPLC용 펌프(영린기기, 모델 M930)를 사용하여 크로마토그래피 컬럼으로 연속적으로 주입되었고, 용매에 희석된 샘플이 rheodyne 주입 루프(loop)를 사용하여 주입되었다. 주입 루프의 스위치와 인터그레이터와는 서로 연결을 하여 주입과 동시에 인터그레이터

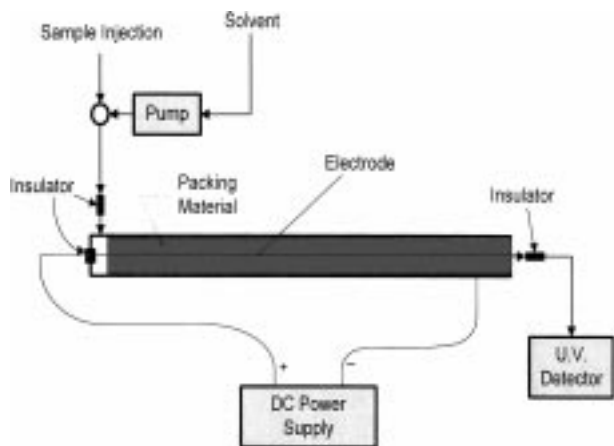


Fig. 1. Schematic diagram of radial electric field liquid chromatography.

가 작동하도록 하여 컬럼에서 나온 물질의 분석 결과를 기록하도록 하였다.

컬럼을 통해 나온 물질들은 UV 검사기(Varian 2550 UV detector)로 분석을 수행하였다. 컬럼은 유량흐름에 직각 방향으로 전기장을 적용하기 위해 컬럼과 전극사이를 절연체를 이용하여 절연하였으며, 한 전극은 충전제 내부로 삽입하였다. 충전제 내부에 삽입된 전극과 컬럼 바깥쪽을 다른 하나의 전극으로 하여 DC 전압 증폭기를 사용하여 전압을 걸었다. 전압은 컬럼 내부의 전극에 “+” 전압을 가하였고 외부 전극에 “-”로 연결하였다.

실험에 사용된 충전제로는 실리카(Merck, 0.04-0.063 mm), 카본(lignite activated carbon, 0.5 mm), 양이온수지(Dowex MSC-1-H, 0.5 mm) 등이었으며, 대상물질로는 나프탈렌(Aldrich), p-크레졸(Aldrich), 글루코스(Sigma), 프락토스(Sigma) 등을 사용하였다. 각 대상물질 분석에 적합한 UV 파장을 구하기 위해 용매에 희석된 대상물질을 UV 스펙트로포토미터를 사용하여 파장을 변화시키며 측정을 수행하여 가장 감도가 좋은 파장을 선정하여 실험을 수행하였다. 사용된 용매들은 메탄올(HPLC grade, J. T. Baker)과 물(deionized water)이었으며, 이온을 첨가하거나 하는 방법으로 용매의 전기 전도도에 영향을 주어 그 영향을 관찰하였다.

컬럼에 충전제의 팩킹은 슬러리 팩킹의 방법으로 수행하였다. 그러나 전기장을 걸기 위해 도입한 절연체인 테프론 튜브의 제한으로 인해 시스템의 압력이 과하게 걸리게 할 수 없어 입자 크기가 50 μm 이상인 충전제들을 사용하게 되었다. 슬러리 팩킹시 컬럼의 한쪽 끝은 진공 펌프에 연결하여 컬럼에 진공을 걸어 슬러리를 충전제를 잡아당김으로서 충진을 수행하였다.

충진제 팩킹이 끝난 컬럼은 용매 펌프에 연결하여 용매를 4시간 정도 1.2 ml/min의 유속으로 계속 흘려 시스템이 안정화되기를 기다린 후, 시스템이 안정화된 다음(일정한 유량에서 압력의 변화가 일어나지 않는 상태) UV 검색기를 작동시켜 UV 검색기가 안정화된 후 샘플을 주입하였다. 필요한 경우 전기장을 걸고 실험을 수행하였으며, 전기장은 샘플을 주입하기 1분전부터 전기장을 걸은 후 샘플을 주입하였으며 해당 분석이 완료될 때까지 계속 전기장을 걸어 놓았다.

3. 결과 및 토의

컬럼에 충전제를 충전한 후 전기장의 세기에 따른 대상물질들의 체류시간 변화를 살펴보았다. 용매를 메탄올을 사용하였을 경우 메탄올의 전기 전도도가 낮은 이유로 높은 세기의 전기장을 가할 수 있었으나, 용매로서 물 또는 메탄올과 물의 혼합물들을 사용한 경우에는 물의 높은 전기 전도도로 인하여 전기장을 높게 가할 수가 없었다.

용매는 대상물질이 유기물인 경우에는 메탄올 또는 메탄올과 물의 혼합물을 사용하였으며, 다당류인 경우에는 물을 사용하였다. 메탄올을 용매로 사용하는 경우에는 용매의 전기 전도도에 변화를 주기 위해 소량의 물을 첨가하거나 염을 첨가하여 용매의 극성 및 이온 농도에 변화를 주었다. 사용한 물질들의 전기적인 특성, 즉 유전도 및 영구 이종극 모멘트들의 자료들이 Table 1에 요약되어 있다.

Table 1. Electric properties of materials

Material	Dielectric constant@ 20 °C	Permanent dipole(Coulomb-m)
Water	80.1	1.84
Methanol	32.7	1.7
Naphthalene	2.54	-
p-cresol	9.91	1.54
Silica	2.8	-
Carbon	5.7	-

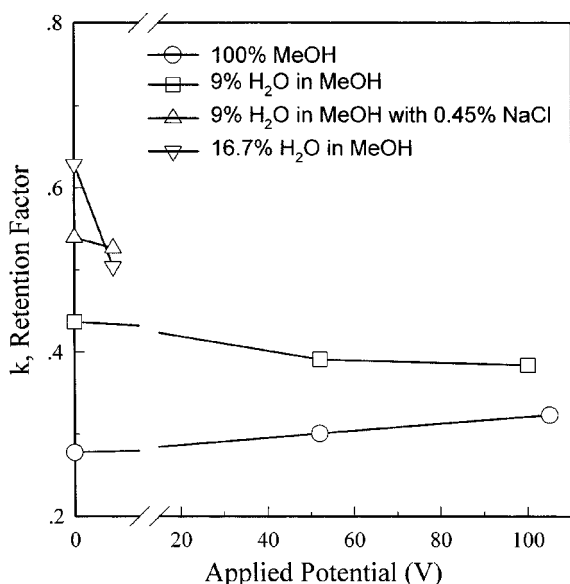


Fig. 2. Retention factors of naphthalene as a function of the applied radial potential using various mobile phases(stationary phase: silica, mobile phase flow rate=1.2 ml/min, temperature=25 °C).

3-1. 실리카를 충전제로 사용한 경우

정상(normal phase)의 실리카를 충전제로 사용하여 나프탈렌과 p-크레졸의 전기장에 따른 체류시간 변화를 살펴보았다. 용매로는 메탄올을 사용하였으며, 용매의 유량은 1.2 ml/min로 하여 실험을 수행하였다. 나프탈렌은 Table 1에서 나타났듯이 비극성 성질을 띠고 있으며, p-크레졸은 영구 이중극을 지니고 있는 극성(polar)물질이다. 나프탈렌과 p-크레졸의 선형은 대상물질의 극성 변화에 따른 체류시간 변화를 관찰하기 위해 선정되었다.

사용된 실리카는 실리카 표면의 실라놀 그룹의 존재로 인해 극성인 성질을 띠게 된다. 사용된 용매인 메탄올과 물은 극성이 매우 높은 물질로써 극성 대상물질인 p-크레졸에 비해서도 더 높은 극성도를 지니고 있다. 실험에 있어서 용매의 극성 증가와 이온 농도 증가에 따른 체류시간의 영향을 살펴보기 위해 메탄올에 물을 미량 섞거나 염화나트륨을 미량 첨가하여 사용하였다.

3-1-1. 나프탈렌의 체류시간 변화

Fig. 2는 비극성인 나프탈렌을 대상물질로 하여 전기장에 따른 체류시간 변화를 살펴본 결과이다. 샘플의 주입량은 20 μ l이며 나프탈렌을 용매인 메탄올에 10 wt%로 희석하여 샘플로 사용하였다.

메탄올만을 용매로 사용한 경우에는 전기장의 세기에 따라서 나프탈렌의 체류시간이 증가하는 경향을 나타내었다. 전기장에 따른 증가 경향은 전기장의 세기에 따라 선형적으로 증가하는 것으로 나타났다.

용매의 극성을 증가시키기 위해 소량의 물을 섞어 물 농도가 9 wt%가 되는 메탄올과 물의 혼합용매를 사용하여 실험을 수행한 결과 메탄올만을 사용한 경우와는 상반되게 전기장의 세기에 따라 체류시간이 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 체류시간과 전압의 관계도 초기에 체류시간 감소가 빨리 발생하는 비선형적인 관계를 나타내었다.

메탄올 중의 물의 비율을 증가시켜 물의 농도가 16.7 wt%인 메탄올과 물의 혼합용매를 사용한 경우에는 초기 기울기가 -0.31로서 물의 농도가 9 wt%를 사용한 경우의 -0.0356에 비해서 상당히 급격하게 감소하는 경향을 보여 주었다. 실험결과 물의 양의 증가로 인해 용매의 극성이 증가함에 따라서 체류시간도 더 많은 변화를 보이는 것이 관찰되었다. 그러나 이 경우 전류의 흐름이 너무 커서 전압을 5 V 이상으로 올려 실험을 수행할 수가 없어 전압이 5 V인 경우에 대

해서만 실험을 수행하였다.

용매 중의 이온 농도 증가에 의한 체류시간 변화를 살펴보기 위해 물의 농도가 9 wt%인 물과 메탄올의 혼합용매에 농도가 0.45 wt%가 되도록 NaCl을 녹여 만든 혼합용매를 사용하여 전기장의 변화에 따른 체류시간 변화를 살펴보았다. 이 경우 역시 전기장의 적용에 의해 체류시간이 감소하는 경향을 보여 주고 있었으며 초기 체류시간(전압을 가하지 않은 경우)은 이온을 첨가함에 의해 증가하였다. 그러나 초기의 체류시간 감소 기울기가 -0.36으로 물의 농도가 9 wt%의 혼합용매를 사용한 경우에 비해 그 변화율에 큰 차이가 없어, 용매의 이온 농도 증가가 극성 증가에 비해 체류시간 변화율에의 영향은 크지 않은 것으로 나타났다. 그러나 물의 첨가에 의한 전기 전도도의 증가로 인해 실험시 전압을 5 V 이상 가할 수 없었다.

실리카를 충전제로, 용매를 메탄올로 하여 실험을 수행한 결과 전기장에 따라 대상물질인 나프탈렌의 체류시간이 변화하는 것이 확인되어 전기장을 새로운 변수로 도입하여 크로마토그래피의 분리를 조절할 수 있는 가능성이 확인되었다. 또한 메탄올을 용매로 사용한 경우와 용매 극성을 높이기 위해 물을 첨가한 경우와 이온 농도를 증가시킨 경우에는 전기장에 따른 체류시간 변화의 형태가 서로 상반된 결과를 보여 주었다. 즉 메탄올만을 사용하였을 때는 전기장의 세기에 따라 체류시간이 선형적으로 증가하는 경향을 나타내어 전기장 하에서 나프탈렌과의 충전제 사이의 상관 관계가 증가하는 것을 보여 주었다.

이와 달리 물을 첨가하여 용매의 극성이 증가한 경우에는 전기장의 적용에 의해 전기장을 가하지 않은 경우에 비해 체류시간이 감소하여 전기장에 의해 나프탈렌과 충전제 사이의 상관 관계가 감소하는 경향을 보여 주었다. 즉 메탄올을 사용한 경우에는 전기장이 나프탈렌과 실리카 사이의 상관 관계를 강화시키는 반면, 메탄올에 물을 첨가하여 사용한 경우에는 그 상관 관계를 약화시키는 결과를 보여 주었다.

메탄올에 물을 첨가하여 사용한 경우의 이와 같은 결과는 용매의 극성 증가에 의한 나프탈렌과 실리카 사이의 상관 관계 약화에 따른 체류시간의 감소라고는 볼 수 없으며, 그 이유는 Table 2에 요약되었듯이 전기장을 가하지 않은 초기 체류시간은 용매의 극성 증가에 따라 증가하는 경향을 보여 주고 있다.

Table 2에서 나타난 것처럼 전압을 가하지 않은 경우 체류시간이 용매의 극성에 따라 증가하는 현상은 다음과 같이 설명될 수 있다. 극성이 매우 큰 용매를 사용할 경우, 사용되는 용매의 극성이 대상물질이나 충전제에 비해 커서, 충전제와 대상물질이 상대적으로 용매에 비해 비극성인 특성을 지니게 되어 충전제와 대상물질 사이의 친화력이 증가하게 된다. 이와 같은 특징은 용매의 극성이 증가할수록 상대적으로 충전제와 대상물질의 비극성적인 특성이 증가하게 된다. 따라서 용매 극성 증가에 따라 충전제와 대상물질 사이의 상관 관계가 증가하게 되고 이에 따라 Table 2에서와 같이 나프탈렌 초기 체류시간(전기장을 가하지 않은 경우)이 용매의 극성 증가에 따라서 증가하는 결과를 보이게 된다.

전기장을 크로마토그래피 시스템에 가한 경우 용매의 전기 전도도가 상대적으로 낮으면(메탄올 사용 경우) 충전제인 실리카 입자 사이

Table 2. Naphthalene retention times under various mobile phases without the applied radial direction potential

Mobile phase	Retention time(min)
MeOH	15.92
9% H ₂ O in MeOH	17.90
9% H ₂ O in MeOH w/0.45% NaCl	19.20
16% H ₂ O in MeOH	20.29

의 전압과 실리카 입자 내부에 걸리는 전압 사이의 비율이 전기 전도도가 높은 용매(물을 첨가한 경우)를 사용한 경우 보다 높게 된다. 따라서 전기 전도도가 낮은 용매(메탄올)를 사용한 경우 크로마토그래피에 가한 전압의 많은 부분이 충전제 사이의 용매에 걸리게 되어 충전제에 비해 용매가 더 많이 가해진 전압에 의해 극성화되게 된다. 이 결과로 용매의 극성도가 전압을 가함에 의해 증가하고 그 크기도 가한 전압의 세기에 따라 증가하게 된다. 따라서 전압에 따라 증가하는 용매의 극성도에 따라 상대적으로 충전제와 대상물질이 비극성화 특성이 증가하게 되며, 이의 결과로 충전제와 대상물질 사이의 비극성-비극성 친화력에 의한 상관 관계가 증가하여, 나프탈렌의 체류시간이 전압에 따라 증가하게 된다.

반면 용매의 전기 전도도가 큰 경우(물을 첨가한 경우)에는 충전제인 실리카 입자 사이의 전압과 실리카 입자에 걸리는 전압 사이의 비율이 줄어 들게 되어 상대적으로 충전제에 걸리는 전압의 비율이 증가하게 된다. 따라서 충전제가 더 많은 정도로 극성화되게 되며, 충전제의 극성화로 충전제와 용매 사이의 극성-극성 상관 관계가 증가하여, 비극성인 나프탈렌의 충전제와의 상관 관계 감소로 인해 전압을 가함에 의해 나프탈렌의 체류시간이 감소하게 된다.

용매에 이온을 첨가한 경우에는 첨가된 염인 NaCl이 해리하여 음전하를 띤 실리카 표면에 Na^+ 이온이 선택적으로 흡착하여 충전제의 특성이 바뀌게 된다. 따라서 충전제의 비극성도적인 특성이 더욱 증가하게 되어 비극성인 나프탈렌과의 상관 관계가 증가하여 초기 체류시간이 물만을 첨가한 경우에 비해 증가하게 된다. 그러나 전기장을 가한 경우에는 전기장에 의해 Na^+ 이온층 주위로 Cl^- 이온들이 많이 분포하게 되어 충전제의 비극성도가 상대적으로 감소하여 충전제와 나프탈렌의 상관 관계 감소로 체류시간이 감소하게 된다(double layer effect).

3-1-2. p-크레졸의 체류시간 변화

대상물질의 극성 변화에 따른 영향을 살펴 보기 위해 실리카를 충전제로 하여 나프탈렌 대신에 나프탈렌 보다 극성도가 높으나 사용한 용매에 비해 극성도가 낮은 p-크레졸을 대상으로 전기장에 따른 체류시간 변화를 살펴 보았다. 실험 결과는 Fig. 3에 나타내었다.

극성인 p-크레졸을 대상물질로 사용한 경우에도 나프탈렌의 경우와 비슷한 체류시간 변화를 보여 주었다. 이것은 비극 p-크레졸이 극성

을 띠고 있으나, 용매에 비해 극성이 상대적으로 낮아, 용매에 대해 상대적인 비극성 특성을 지녀 비극성인 나프탈렌과 비슷한 경향의 전압에 의한 체류시간 변화를 보이는 것으로 보인다. 그러나 메탄올을 용매로 사용한 경우 크레졸의 경우가 나프탈렌의 경우에 비해 변화율이 적었으며, 전압이 100 V인 경우나 200 V인 경우나 체류시간에 큰 차이가 없었으며 이것은 극성인 p-크레졸의 특성에 기인하는 것이 아닌가 생각된다.

메탄올을 사용한 경우에는 메탄올의 낮은 전기 전도도로 인해 충전제 사이의 메탄올이 상대적으로 많이 극성화되어 극성도가 상대적으로 낮은 p-크레졸과 충전제 사이의 상관 관계가 전압의 세기가 증가함에 따라 증가하게 되어 체류시간이 전압에 따라 증가한다. 또한, 전기 전도도가 높은 물을 메탄올에 첨가한 경우에는 상대적으로 충전제가 더욱 많이 극성화되어 상대적 극성의 성질을 지닌 용매와 충전제 사이의 상관 관계가 증가하게 되고 이에 따라 전압을 가함에 의해 용매의 전기 전도도가 큰 경우에는 크레졸의 체류시간에 감소하게 된다.

그러나 나프탈렌의 경우와 비교하여 가장 큰 특징은 이온 농도를 증가시키기 위해 염(NaCl)을 소량 첨가한 경우 나프탈렌의 경우와는 완전히 상반되는 결과를 보여 주는 것이었다. 즉 나프탈렌의 경우와는 달리 전압을 가함에 의해 체류시간이 증가하는 현상을 보였다.

이것은 용매에 이온을 첨가한 경우에는 첨가된 염인 NaCl이 해리하여 음전하를 띤 실리카 표면에 Na^+ 이온이 선택적으로 흡착하여 충전제의 특성이 바뀌게 되며, 이에 따라 충전제의 비극성도가 증가하게 된다. 그러나 극성인 p-크레졸과 극성인 용매사이의 강한 상관 관계로 인해 충전제의 미세한 비극성 특성 증가는 p-크레졸의 체류시간에 거의 영향을 미치지 못해, 이에 따라 p-크레졸의 초기 체류시간은 이온 첨가에 거의 영향을 받지 않는 것으로 보인다.

그러나 전기장을 가한 경우에는 전기장에 의해 흡착된 Na^+ 이온층 주위로 Cl^- 이온들이 분포하게 되어 충전제의 비극성도가 상대적으로 줄어들어 충전제와 p-크레졸 사이의 상관 관계가 형성되기 시작하여 체류시간이 전압을 가함에 의해 증가하게 된다.

3-2. 카본을 충전제로 사용한 경우

나프탈렌과 크레졸의 전기장에 따른 체류시간 변화실험을 충전제를 바꾸어서 수행하였다. 충전제로 전기 전도성이 있는 비극성 카본을

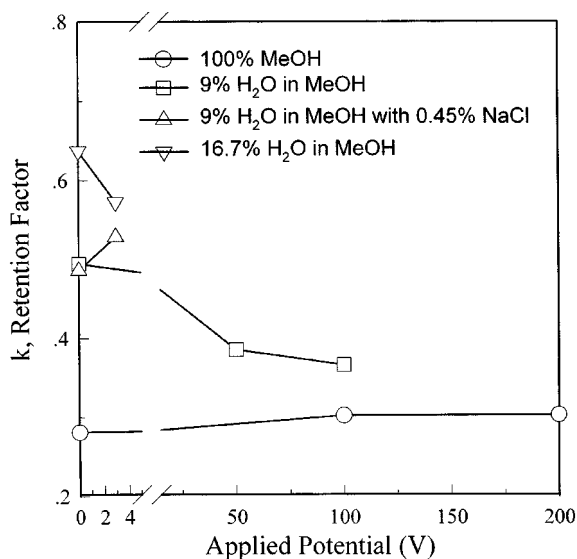


Fig. 3. Retention factors of p-cresol as a function of the applied radial potential using various mobile phases(stationary phase: silica, mobile phase flow rate=1.2 ml/min, temperature=20 °C).

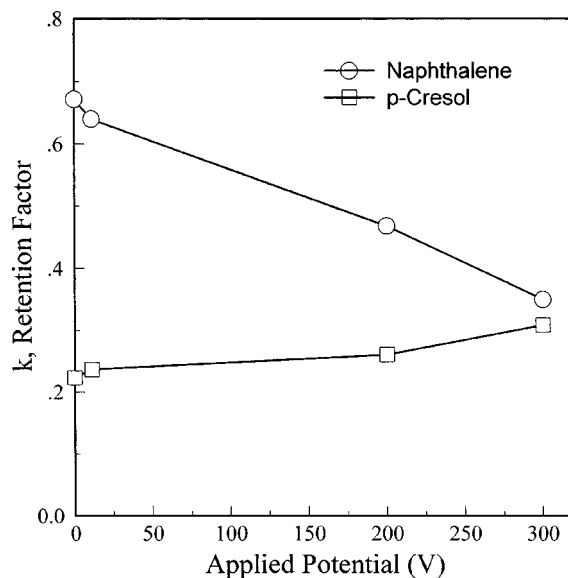


Fig. 4. Retention factors of naphthalene and p-cresol as a function of the applied radial potential(stationary phase: carbon, mobile phase: methanol, flow rate=1.2 ml/min, temperature=25 °C).

사용하였으며 용매로는 메탄올을 사용하여 전기장을 변화시키며 실험을 수행하고 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다.

메탄올을 용매로 사용하였기 때문에 메탄올의 낮은 전기 전도도로 인해 강한 전기장을 걸 수 있었으며, p-크레졸이나 나프탈렌 모든 경우에 체류시간이 전압의 세기에 따라서 선형으로 변화하는 것이 관찰되었다. 그러나 변화하는 형태는 대상물질의 극성도에 따라서 크게 다른 양상을 보여 주었다. 극성인 p-크레졸의 경우에는 실리카를 충전제로 사용한 경우와 동일하게 가한 전압이 증가함에 따라 체류시간이 증가하는 경향을 보여 주었다.

그러나 비극성인 나프탈렌의 경우에는 실리카를 충전제로 사용한 경우와는 완전히 다른 양상을 보여 전압의 세기에 따라 체류시간이 감소하는 결과를 보여 주고 있다. 이는 실리카가 극성 충전제인데 반하여 카본이 비극성 충전제인데서 기인하는 것으로 사료된다.

카본이 비극성인 충전제이고 메탄올이 극성을 지니고 있어, 대상물질의 극성도에 따라 체류시간이 많은 영향을 받게 되며, 그 결과로 나프탈렌과 p-크레졸이 상반된 결과를 보이게 된다.

극성 용매 하에서 비극성인 나프탈렌은 비극성인 충전제인 카본과의 비극성·비극성 상관 관계가 강하게 되어, 그 결과로 극성인 p-크레졸이 비해 긴 초기 체류시간(전기장을 가하지 않은 경우)을 갖게 된다. 그러나 전압을 가한 경우에는 전도성이 있는 카본이 전기 흐름에 의해 극성화되게 되며, 전압 증가에 따라 충전제인 카본의 극성이 증가하게 된다. 이의 결과로 비극성인 나프탈렌과의 비극성·비극성 상관관계는 감소하게 되고, 반면 극성인 p-크레졸과의 상관 관계는 생기게 되어, 전압의 증가에 따라 나프탈렌의 체류시간은 감소하게 되고 p-크레졸의 체류시간은 증가하게 된다. 따라서 대상물질의 극성에 따라 체류시간이 전압에 대해 상반된 결과를 보이게 된다.

이제까지의 결과들은 모든 경우에 있어 가한 전압에 의해 대상물질의 체류시간이 변화하는 것을 보여 주었으며, 또한 비극성 또는 극성 대상물질들이 충전제의 종류 및 용매의 종류에 따라서 전압에 의해 체류시간의 변화 경향이 다른 결과를 보여 주고 있어 전기장에 의한 체류시간 조절을 통해 크로마토그래피 분리를 최적화할 수 있는 가능성을 확인하여 주었다.

3.3. 양이온 수지를 충전제로 사용한 경우

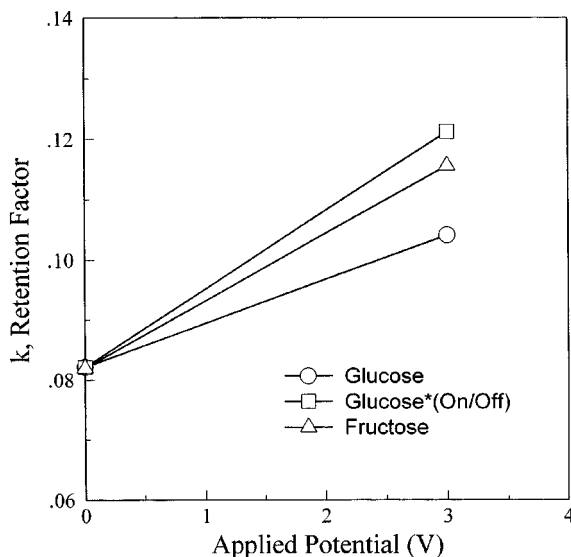


Fig. 5. Retention factor as a function of the applied radial potential (stationary phase: cation exchange resin, mobile phase: water, flow rate=1.2 ml/min, temperature=25 °C).

Fig. 5는 양이온 수지(dowex)를 충전제로 사용하여 다당류인 프락토스와 글루코스의 전기장에 따른 체류시간 변화를 살펴 본 결과이다. 용매로는 다당류를 사용하는 까닭에 물을 사용하였다. 물을 사용하는 경우에는 물의 전기 전도도가 매우 커 전압을 5V 이상으로 높일 수 없어 3V에서 실험을 수행하였으며, 물의 유속은 1.2 ml/min이었다.

프락토스와 글루코스 모두의 경우에 전압을 가함에 의해 체류시간이 증가하는 것이 관찰되었다. 그러나 전압에 글루코스와 프락토스의 체류시간 변화가 틀려 전압에 의해 분리 효율을 증가시킬 수 있으리라 보인다. 즉 다당류의 종류가 다른 경우(프락토스 및 글루코스) 서로 다른 정도의 영향을 받는 것으로 나타나 전기장에 의해 분리 효율이 증가할 수 있다는 가능성을 보였다. 따라서 전기장의 가함에 의해 다당류와 이온교환수지 사이의 상관 관계가 증가하여 체류시간이 증가하는 것을 보여 주었다.

또한 전기장을 가하는 방법을 연속적으로 가하는 것이 아니라 전기장을 샘플을 주입하기 전에 1분 가하였다가 샘플을 주입한 후에는 전기장을 제거한 후 체류시간을 조사하였다. 이 경우 3V의 전기장을 샘플 주입 전에 가하였는데 분리 내내 전기장을 가한 경우 보다 더욱 큰 체류시간의 변화를 보여 주었다. 이와 같은 결과는 전기장을 가하는 방법을 또 하나의 조절 변수로 사용할 수 있음을 보여 주고 있다.

따라서 이온교환 크로마토그래피의 경우에도 전압을 가함에 의해 대상물질의 체류시간을 조절할 수 있다는 것을 확인하였다.

4. 결 론

크로마토그래피의 분리 효율을 증가시키기 위해 새로운 조절 변수 도입을 시도하였으며, 새로운 조절 변수로서 크로마토그래피에 방사(radial) 방향의 전기장을 도입하였다. 전기장을 크로마토그래피 컬럼의 방사 방향으로 가하여 이에 따른 대상물질의 체류 시간 변화를 조사하였다. 대상물질로는 비극성인 나프탈렌과, 극성인 p-크레졸, 글루코스 및 프락토스였으며, 충전제는 극성인 실리카와 비극성인 카본을 사용하였다.

용매로는 메탄올과 물을 사용하여 용매 극성변화 및 이온 첨가에 의한 용매 중의 이온 농도 증가에 따른 체류시간 변화를 살펴 보았다. 모든 경우에 있어 전압을 가함에 의해 대상물질의 체류시간이 변화하는 것이 관찰이 되었으며, 용매 종류와 충전제에 따라서 전압에 따라 체류시간이 증가하거나 감소하는 경향을 보여 주었다. 이것은 가해진 전압이 대상물질-용매-충전제 사이의 상관 관계에 영향을 미쳐 체류시간에 영향을 주어 생기는 것으로 보인다.

따라서 크로마토그래피의 효율적인 분리를 위한 새로운 조절변수로서 전기장을 도입한 결과 전기장에 의해 물질의 체류시간을 조절할 수 있는 결과를 얻었으며, 이에 의해 전기장을 새로운 조절변수로 사용하여 크로마토그래피의 효율을 증가시킬 수 있는 가능성이 제시되었다.

감 사

본 연구는 과학기술부가 지원하는 미래원천사업의 일환으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Smith, R. M.: "Retention and Selectivity in Liquid Chromatography," Elsevier, Amsterdam(1996).
2. Birdi, K. S.: "Handbook of Surface and Colloid Chemistry," CRC Press, New York(1997).

3. Hefmann, E.: "Chromatography", 5th ed., Elsevier, Amsterdam(1992).
4. O'Farrell, P. H.: *Science*, **227**, 1586(1985).
5. Stahlberg, J.: *Anal. Chem.*, **69**, 3812(1997).
6. Cole, K. D. and Cabezas Jr. H.: *J. of Chrom. A*, **760**, 259(1997).
7. Janca, J.: *J. Appl. Poly. Sci.*, **51**, 91(1992).
8. Gidding, J. C.: *Sep. Sci. Tech.*, **21**, 831(1986).