

# 역상 고성능 액체크로마토그래피에서 이온성 액체의 응용

울리아 폴리아코바, 노 경 호

초정밀생물분리기술연구센터, 인하대학교

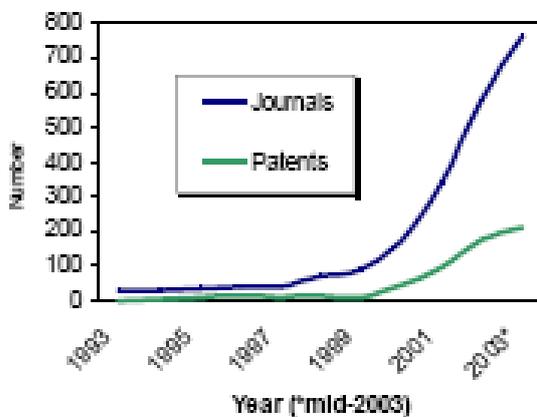
## 서론

이온성 액체는 독특한 잠재력으로 화학공업에서 화학반응의 결합을 조절할 수 있다. 소금과 같은 염은 일반적으로 180°C 이상에서 녹는 것과 달리 양이온과 음이온으로 결합된 이온성 액체는 100°C 이하에서 액체로 존재하며 상압에서 아주 낮은 증기압으로 존재하여 휘발하지 않고 독성을 줄일 수 있기에 green solvent로 불리며 최근에 화학공업에서 크게 부각되고 있다.

이온성 액체는 세계적인 과학에 신속히 성장하고 산업에서도 많은 관심을 보이고 있으며 다양한 분야에 걸쳐 활발한 연구가 진행되고 있으며 논문 및 특허 발표가 해마다 증가하는 추세이다(Figure 1). 이온성 액체의 응용은 거대한 전망을 보이고 있다. 특히 이온성 액체는 양이온과 음이온의 구조에 따라 크게 영향을 받으며 사용목적에 따라 최적화를 달리 할 수 있어 기존의 용매를 사용하는 것 보다 더 빠른 반응과 높아진 수율을 얻을 수 있다. 복잡성을 줄이고 많은 에너지를 물질을 분리할 수 있고, 산업과정에서 환경에 대한 오염도 줄일 수 있다.

이온성 액체는 상온에서 액체상태로 존재하며 상온에서 존재하는 이온성 액체를 상온 이온성 액체라고 한다. 전형적인 이온성 액체는 큰 유기음이온과 작은 무기양이온으로 존재한다. 열역학과 동력학에서 이온성 액체는 독특한 특성을 갖고 있기에 생 촉매 반응, 분리, 유기용매, 재료, 효소고정화, 전기화학 및 결합반응/분리과정 등 분야에 응용되고 있다.

Figure 1. Worldwide Growth in Number of Ionic Liquid Publications and Patents



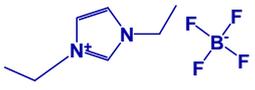
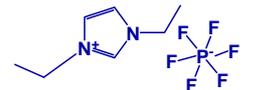
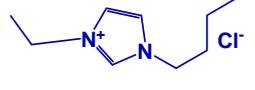
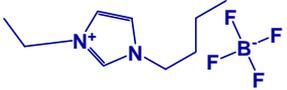
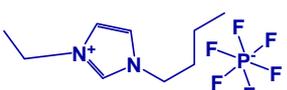
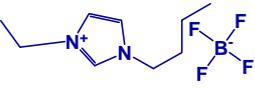
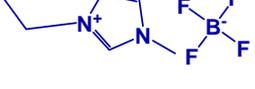
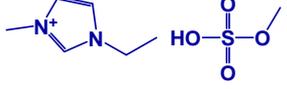
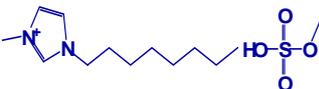
이온성 액체는 용매력이 우수하여 높은 극성으로 역상 고성능 액체 크로마토그래피에서 (RP-HPLC) 새로운 이동상의 첨가제로 주로 이용된다. 간단한 두가지 극성을 갖고 있는 시스템에서 (물-유기물 용출액) 부동한 첨가제를 사용하지 않고 언제나 만족할만한 분석과 완전 분리를 할 수 없다. 최근에 이온성 액체를 액체 크로마토그래피에서는 이동상의 첨가제로 많이 사용되어 왔고 비 휘발성, 높은 이온 전도성, 비 가연성, 높은 열 안정성과 높은

극성, 낮은 증기압, 좋은 전기적 특성을 가지고 있어서 크로마토그래피 분리

공정에 응용되는 목적에 도달하고 있다.

대표적인 이온성 액체는 니트로겐(nitrogen)을 포함하고 있고 양이온과 음이온으로 구성되어 있다. 양이온으로는 imidazolium, pyridinium, pyrrolidinium, ammonium, phosphonium 등이 있고 음이온으로는 tetrafluoroborate, chloride, bromide, hexafluorophosphate 등이 있다. 이온성 액체는 녹는점, 친수성/소수성 등 물리적 성질을 수많은 양이온과 음이온의 결합을 조절하여 합성할 수 있기에 designer 용매로 불리며 목적에 맞는 이온성 액체를 양이온과 음이온의 구조를 변화하여 다양하게 합성할 수 있으므로 효율적으로 연구 및 산업에 적용 시킬 수 있다 (Table 1 참조).

Table 1. Common ionic liquids, their systematic and abbreviation names, and chemical formulas (\* tested in our lab)

Systematic name	Abbreviation	Chemical formula
1-Ethyl-3-ethylimidazolium tetrafluoroborate	[EEIm][BF <sub>4</sub> ]	
1-Ethyl-3-ethylimidazolium hexafluorophosphate	[EEIm][PF <sub>6</sub> ]	
1- <i>n</i> -Butyl-3-ethylimidazolium chloride	[BEIm][Cl]	
1- <i>n</i> -Butyl-3-ethylimidazolium tetrafluoroborate	[BEIm][BF <sub>4</sub> ]	
1- <i>n</i> -Butyl-3-ethylimidazolium hexafluorophosphate	[BEIm][PF <sub>6</sub> ]	
1- <i>n</i> -Butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate*	[BMIm][BF <sub>4</sub> ]	
1-Ethyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate*	[EMIm][BF <sub>4</sub> ]	
1-Ethyl-3-methylimidazolium methylsulfate *	[EMIm][MS]	
1- <i>n</i> -Octyl-3-methylimidazolium methylsulfate *	[OMIM][MS]	

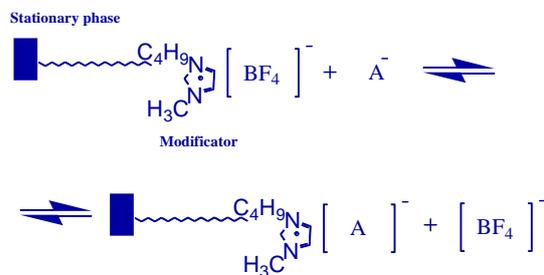
## 역상 고성능 액체 크로마토그래피에서 이온성 액체의 응용

일정한 분자의 상호작용, 강한 수소 결합을 포함하고(수소는 아미노기 양이온의 C-2 탄소와 연결), 소수성의 상호작용과 이온-쌍극자 또는 이온-유도-쌍극자, 강력한 이온-쌍, 등 모두 이온성 액체에서 발견되었다. Figure 2를 보면 이온성 액체는 양이온과 음이온으로 존재하므로 극성을 띄고 있다. 따라서 이온성 액체를 실리카 표면에 부착하여 실리카의 성질을 변환시킬 수 있으며 이온성 액체를 이동상에 첨가해서 이동상의 성질을 변화시킬 수도 있다. 그 메커니즘을

보면 C<sub>18</sub> 컬럼을 사용했을 때 이동상에 첨가된 이온성 액체의 양이온과 시료의 극성이 강한 부분을 알킬 실리카 표면에 있는 실라놀 그룹과 특별한 정전기적 작용 (electrostatic interaction)에 의해 경쟁을 하게 된다. 이와 동시에 고정상의 비극성 알킬 그룹과 이온성 액체의 heterocyclic ring 혹은 quaternary cation은 비극성간의 작용 또는 불 특이한 작용을 하게 된다. 따라서 남은 실라놀 그룹을 보호해줌으로써 피크의 모양을 곧게 한다. 표면에서 일어나는 이온-교환 작용은 체류시간에

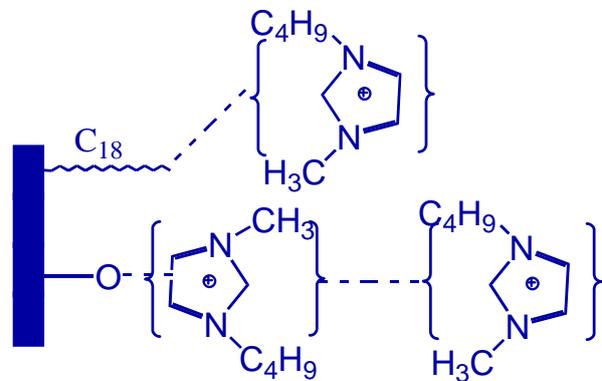
영향을 준다. 이동상에 이온성을 증가함에 따라 체류시간이 줄어들고 표면에서 이온-교환 능력이 증가함에 따라 증가한다. 이 실례로부터 음이온교환이 역상 표면에서 흡착이 일어나는 것을 알 수 있다 (Figure 3). 이온성 액체의 양이온의

**Figure 3. The formation of anion exchanger on the surface of reversed-phase sorbent (A<sup>-</sup> is an the anionic form of solute)**



용출시간을 조절할 수 있고 알킬기의 길고 짧음에 따라 상응한 비극성의 크기가 변함으로 고정상과 흡착작용에 영향을 미치기 때문에 피크의 모양과 효율을

**Figure 2. Schematic drawing of the proposed interactions of 1-*n*-butyl-3-methylimidazolium cations with the surface of reversed-phase sorbent**



친수성 부분은 맨 끝부분을 보류하는 작용을 일으킨다. 이 작용은 이온성 액체의 음이온 부분이 기타 물질과 결합에 도움을 주기 때문에 표면에 정전기 에너지를 발생함으로써 분석물의 체류시간에 영향을 준다. 이온성 액체를 이동상에 첨가했을 때 이온성 액체의 음이온은 고정상과의 흡착작용 그리고 양이온과의 이온결합 작용을 하기 때문에 음이온의 종류를 잘 선택 함으로써 분석시료의

조절할 수 있다.

## 예제

이온성 액체는 생물에 작용하는 분자의 부동한 작용으로 역상 고성능 액체 크로마토그래피 분리에 사용된다.

**아미노산(Amino acids).** 다섯 가지 물질 (ortho-, meta-, para-isomers of amino benzoic acid, N-carbobenzyloxy-D-phenylalanine, D-tryptophan)에 물-메탄올 이동상과 이온성 액체를 첨가하여 실험을 하였다. amino benzoic acid의 체류시간은 첨가제인 이온성 액체 ([BMIm][BF<sub>4</sub>])의 영향을 받았다 (Figure 4). 크로마토그램이 보는 바와 같이 amino benzoic acid isomers는 이온성 액체 ([OMIm][MS])를 0.0528-0.2112 vol.% 사용하였거나 0.0186-0.1488 vol.%의 [EMIm][MS]를 사용했을 때 그 분리도가 우수함을 보아낼 수 있다. N-CBZ-D-phenylalanine과 D-tryptophan는 완전히 분리할 수 있으며 분리 조건으로는 낮은 농도의 0.0388 (b) vol.%의 [BMIm][BF<sub>4</sub>] 이온성 액체를 이동상에(65% 메탄올) 첨가하는 것이다 (Figure 5).

Figure 4. Chromatograms of amino benzoic acids without (a) and with 0.1552 (b) vol.% of [BMIm][BF<sub>4</sub>] in mobile phase (25% methanol in water).

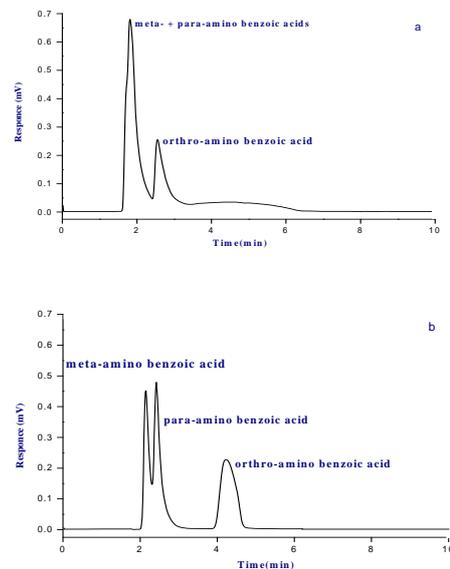
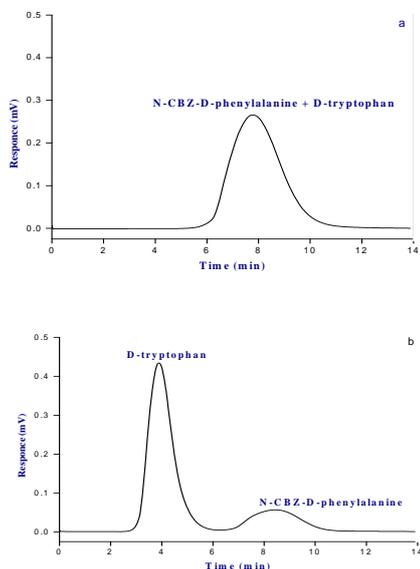


Figure 5. Chromatograms of N-CBZ-D-phenylalanine and D-tryptophan without (a) and with 0.0388 (b) vol.% of [BMIm][BF<sub>4</sub>] in mobile phase (65% methanol in water).



**Nucleic compounds.** 세가지 이온성 액체를([BMIm][BF<sub>4</sub>], [EMIm][BF<sub>4</sub>], [EMIm][MS]) 이동상에 첨가하여 네가지 뉴클레오타이드 혼합물을 역상 고성능 액체 크로마토그래피로 분리하는데 연구되었다. 0.2522 vol.%의 [BMIm][BF<sub>4</sub>]를 이동상에 첨가하였을 뉴클레오타이드를 분리할 수 있었다. Figure 6은 뉴클레오타이드 물질이 이온성 액체를 첨가하지 않았을 때(a)와 각각 0.0097 (b), 0.1940 (c), 0.2522 (d) vol.%의 [BMIm][BF<sub>4</sub>]를 10% 메탄올 용액에 첨가했을 때 용출곡선이다. [BMIm][BF<sub>4</sub>]를 첨가한 용출곡선으로부터 이온성 액체는

체류시간과 분리에 중요한 영향을 미치고 있다.

Figure 7은 이온성 액체를 첨가하지 않았을 때 (a) 와 0.0097 (b), 0.0776 (c), 0.1552 (d), 0.2328 (e) vol. %의 [EMIm][MS]를 이동상에 첨가한 크로마토그램이다. 이상의 실험결과로부터 뉴클레오타이드는 이온성 액체를 이동상에 첨가하여 사용하였을 때의 분리효과는 이온성 액체를 첨가하지 않았을 때보다 좋았다.

Figure 6. Chromatograms of a mixture of nucleotides with mobile phases without (a) and with [BMIm][BF<sub>4</sub>] (peaks numbering: (1) 5'-UMP, (2) 5'-IMP, (3) 5'-GMP, (4) 5'-TMP).

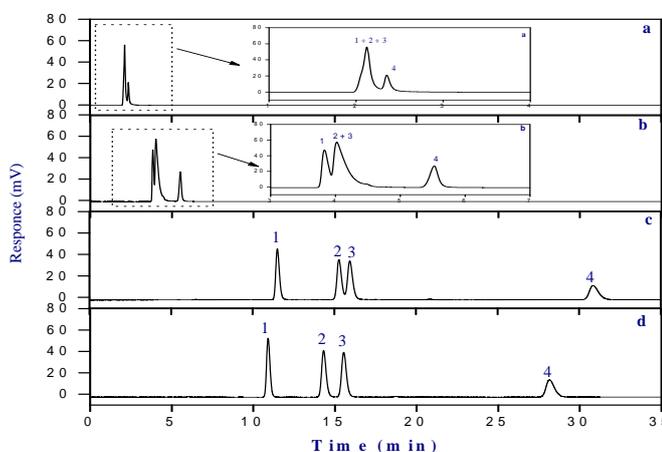
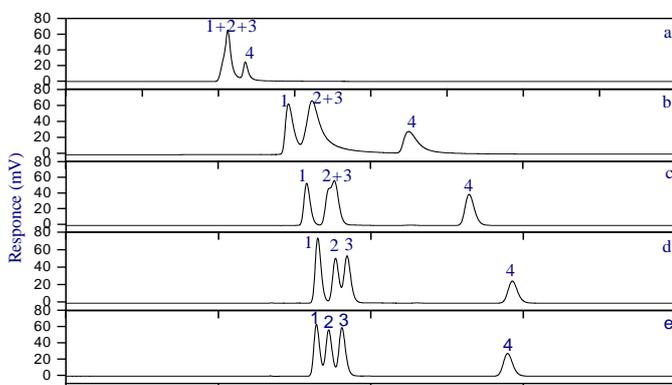


Figure 7. Chromatograms of a mixture of nucleotides with mobile phases without (a) and with [EMIm][MS] (peaks numbering: (1) 5'-UMP, (2) 5'-IMP, (3) 5'-GMP, (4) 5'-TMP).



물론, 경제적인 관점에서도 바람직한 청정 용매라 할 수 있다. 뿐만 아니라 여러가지 종류의 화합물과 작용함으로써 이들을 혼합용액으로부터 추출할 수 있으므로 고순도로 분리할 수 있다.

## Conclusion

이와 같이, 이온성 액체는 비휘발성, 무독성, 비가연성, 우수한 열적 안정성으로 휘발성 유기 화합물을 대체할 수 있을 뿐만 아니라 이온전도도를 지니고 있고 극성이 커서 무기 및 유기 금속 화합물을 잘 용해 시키며 넓은 온도범위에서 액체로 존재하는 독특한 특성으로 환경적 측면은

## References

1. C. Poole, B. Kersten, S. Ho, K. Furton, J. Chromatogr. A, 352, 407-425 (1986).
2. M. Marszałł, T. Bączek, R. Kaliszan, Anal. Chim. Acta, 547, 172-178 (2005).

3. Y. Polyakova, Y. M. Koo, K. H. Row, *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 11, 1–6 (2006).
4. Y. Polyakova, Y. Jin, J. Zheng, K. H. Row, *J. Liq. Chromatogr. Related Technol.*, 29, 1687–1701 (2006).
5. W. Zhang, L. He, X. Liu, S. Jiang, *Chinese J. Chem.*, 22, 549–552 (2004).