응용 자료

에너지 및 화학

Agilent

Trusted Answers

유동 화학 반응기 사용 유기산 에스터 가수 분해의 Online LC 모니터링

Agilent InfinityLab Online LC 솔루션 사용

저자

Conor Burke, Eóin T. Bourke, Brian Mangan, Melba Simon, Damian Connolly, Brian Glennon
APC Ltd, Dublin, Ireland

Edgar Naegele, Daniel Kutscher
Agilent Technologies, Inc.

개요

이 응용 자료에서는 유동 화학 반응기(flow chemistry reactor)와 함께 사용하는 Agilent InfinityLab Online LC 솔루션의 성능에 대해 설명합니다. 고도로 정밀한 직접 주입 및 샘플링 모드를 사용하여 다양한 반응 파라미터가 전체 반응 및 반응 특성에 미치는 영향을 측정할 수 있습니다. Agilent Online LC 모니터링 소프트웨어를 통해 샘플링 및 분석을 완벽하게 수행함으로써 안전하고 경제적인 방식으로 실험 모니터링을 완전히 자동화할 수 있습니다.

서론

유동 반응기(flow reactor)의 사용은 연속적인 흐름 안에서의 화학 반응을 통해 원하는 산물을 생성할 수 있는 가능성을 제공합니다. 반응 전후로 투입이나 제거가 반드시 이루어져야 하는 회분식 반응기(batch reactor)와의 주요 차이점이 여기에 있습니다. 유동 반응 화학은 작은 분자 화합물을 생성하는 데 있어 보다 경제적인 방법을 제공하기 때문에 최근 상당한 관심을 받고 있습니다. 이 응용 자료에서는 유동 화학 반응을 모니터링하기 위한 Agilent InfinityLab Online LC 솔루션의 사용에 대해 설명합니다. 해당 예로서, 유기산의 가수 분해를 선택했습니다. Agilent InfinityLab Online LC 솔루션과 Agilent Online LC 모니터링 소프트웨어를 함께 사용하여 실험에 대한 온라인 분석을 조정할 수 있습니다. 그에 따라 얻은 데이터를 사용하여 반응을 최적화함으로써 최대한의 양으로 원하는 산물을 얻을 수 있습니다.

실험

기기

- Agilent 1290 Infinity II 고속 펌프 (G7120A)
- Agilent 1260 Infinity II Online Sample Manager Set(G3167AA): Agilent 1260 Infinity II Online Sample Manager(G3167A)와 클러스터링 된 Agilent 1290 Infinity 밸브 드라이브 (G1170A) 장착 외장 밸브(제품 번호 5067-6680), Agilent Online LC 모니터링 소프트웨어
- 1260 Infinity II Online Sample Manager 온도 조절 장치(G7167-60005)
- Agilent 1290 Infinity II 다중 컬럼 온도 조절 장치(G7116B), 표준 열 교환기 장착(G7116-60051)
- Agilent 1290 Infinity II 다이오드 어레이 검출기(G7117B), Max-Light 카트리지 셀(10mm, G4212-60008)
- 유동 화학 반응기: Corning Advanced Flow Reactor – low flow[1]

소프트웨어

- Agilent OpenLab CDS, 버전 2.6 이상
- Agilent Online LC 모니터링 소프트웨어, 버전 1.0

컬럼

Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 50mm, 1.8µm(제품 번호 959941-902)

분석법

파라미터	값
용매	A) 물 + 0.1% 포름산(FA) B) 아세토니트릴 + 0.1% FA
분석 유속	2mL/min
등용매	30% B
중지 시간	1.5분
컬럼 온도	50°C
Flow Through 주입	채취 속도: 100µL/min 배출 속도: 400µL/min 채취 후 대기 시간: 1.2초
시료량	1µL
니들 세척	3초, 물:ACN 1:1, 0.1% FA
내부 세척 및 리컨디셔닝	용매 S2
샘플링	직접 주입 방법 참조
다이오드 어레이 검출기	243 ±4nm, 참조: 390 ±100, 데이터 수집 속도 40Hz

반응기 흐름에서 직접 주입

- 채취 속도: 설정 2(채취 속도: 100µL/min, 대기 시간: 3.6초)
- 각 시점마다 시스템이 정상 상태(정류 상태) 조건에 도달할 수 있도록 했습니다(해당 특정 유속으로 H_2SO_4 및 아스피린 피드 전달)
- Online HPLC는 이 프로세스의 진행 상황을 모니터링하기 위해 사용되었으며, 피크 면적(%) 측면에서 관련 분석물질이 만족스러운 수준의 일관성을 보이면, 값을 기록했습니다

단일 베셀 내 회분식 반응(batch reaction)

- 황산(H_2SO_4) 촉매 사용
- 벤치탑 반응 베셀, 자력 교반기를 사용하여 교반
- 핫플레이트 온도: 75~100°C
- H_2O에 용해된 0.3g/L의 아세틸살리실산 출발 물질
- 반응 피드에서 직접 주입
- Watson Marlow 120 시리즈 연동 펌프: 반응 베셀과 Agilent 1260 Infinity II Online Sample Manager의 인터페이스 밸브를 연결하기 위해 해당 연동 펌프에 C-Flex 튜빙(C-Flex 6424-13, 0.8mm id)을 사용했습니다. C-Flex는 상당수의 일반 LC 용매 및 공정 용매와 화학적 호환성이 뛰어납니다. 이 C-Flex는 PEEK 튜빙(id: 0.13~0.8mm)과 연결하여 Online LC 시스템과 인터페이싱할 수 있습니다(밸브 드라이브 보호를 위해 인라인 필터 사용). Agilent InfinityLab Online LC 솔루션의 반응기 인터페이스에 연속적인 흐름을 만들기 위해 25rpm의 속도를 사용했습니다.

유동 화학 반응: Corning Advanced Flow Reactor – low flow.[1] Corning Advanced Flow Reactor는 전용 미세유체 부품으로 조립 구성 가능한 모듈식 미세유체 장치로, 반응물을 뒤이어 접촉하는 미세유체 칩을 이용해 혼합하여 반응을 최적화합니다. 전체 미세유체 칩 세트의 온도를 조절할 수 있으며, 시린지 펌프를 사용해 반응물을 혼합 칩에 공급합니다(그림 1).

모든 실험에서 열 교환기 온도는 86°C로 설정했습니다. 아세틸살리실산의 농도는 0.016M이었으며, 황산의 농도는 0.16, 0.375, 0.75, 1.5M의 농도로 준비했습니다. 체류 시간은 1, 5, 10, 30, 60분으로 설정했습니다(해당 반응기 피드 유속은 표 1 참조).

용매 및 화학물질

- 모든 용매는 Merck(독일)에서 구입하였습니다
- 화학물질은 VWR, 독일에서 구입하였습니다
- 초순수는 LC-Pak Polisher와 0.22µm 멤브레인 point-of-use 카트리지 (Millipak)를 장착한 Milli-Q Integral 시스템에서 얻었습니다

추가 재료

- Agilent 96 well plates, 0.3mL, polypropylene(제품 번호 5043-9305)
- Agilent sealing mat, 96 wells, round, preslitted, silicone(제품 번호 5043-9317)
- Agilent Amber wide-opening vial(제품 번호 5182-0716), Agilent conical insert(제품 번호 5181-1270) 및 Agilent screw cap(제품 번호 5182-0721)

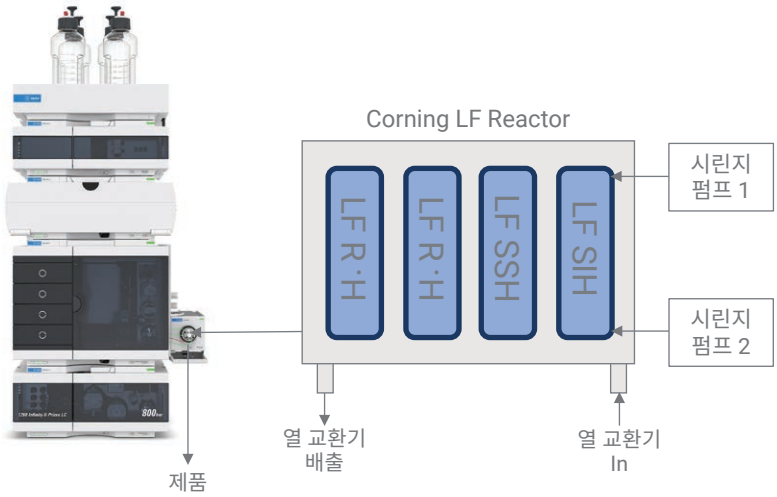


그림 1. Corning Low Flow Reactor 및 Agilent InfinityLab Online LC 솔루션 연결 모식도. (LF-SHH: 0.5mL, 두 개의 반응물과 접촉하는 하나의 주입 구역. LF-R × H, 0.5mL 혼합 칩, "원 인 원 아웃").

표 1. 유동 반응기에서 사용된 아세틸살리실산 및 H2SO4의 체류 시간에 따라 두 개의 시린지 펌프가 제공한 반응기 피드 유속.

체류 시간(분)	시린지 펌프 1 아세틸살리실산 피드 (mL/min)	시린지 펌프 2 H_2SO_4 피드(mL/min)	통합 유속 (mL/min)
1	1.0	1.0	2.0
5	0.2	0.2	0.4
10	0.102	0.102	0.204
30	0.034	0.034	0.068
60	0.017	0.017	0.034

결과 및 토의

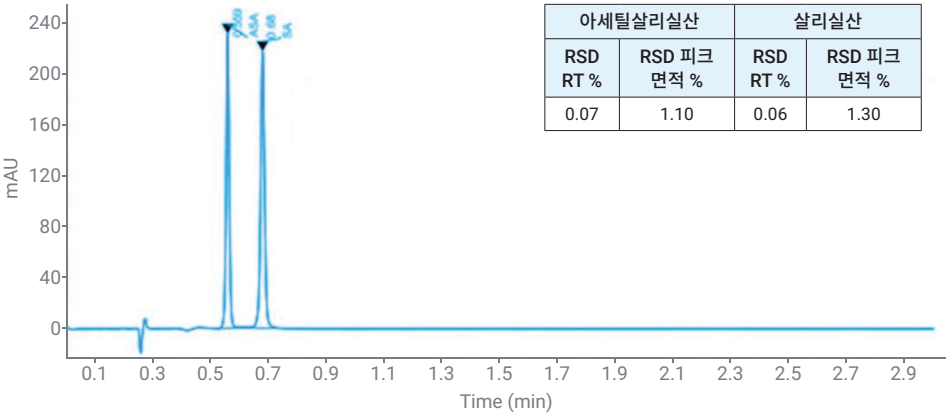
신뢰성 높은 반응 모니터링을 위해서는 기기가 높은 정밀도로 피크 면적 및 머무름 시간을 제공하도록 설정해야 합니다. 고품질 데이터를 생성하도록 설정이 적합한지 확인하기 위해 0.2mg/mL의 아세틸살리실산과 살리실산 혼합물을 반응 베셀에서 Agilent InfinityLab Online LC 솔루션으로 펌프를 사용해 주입했으며, 시료를 3분마다 채취해 즉시 분석했습니다. 분리 결과는 두 가지 피크에 대해 높은 분리능의 빠른 분리를 보였습니다. 아세틸살리실산과 살리실산의 피크 면적 정밀도는 1.1%와 1.3%이고, 머무름 시간 정밀도는 각각 0.07%와 0.06%였습니다 (그림 2). 아세틸살리실산과 살리실산 사이의 피크 분리능이 5.8임을 감안할 때 해당 크로마토그래피를 30초 미만 분리로 수행할 수 있는 가능성도 있습니다. 이러한 결과는 두 가지 분석물질에 대한 피크 면적 (%)과 머무름 시간의 반복성뿐만 아니라 분리능 및 피크 모양의 반복성도 견고하다는 점을 입증합니다. 사용된 연동 펌프는 반응 베셀의 피드 메커니즘으로서의 강력한 신뢰성을 보여줍니다.

유동 화학 반응기와 Infinity II Online LC 시스템 조합의 사용을 평가하기 위한 모델 반응으로, 산성 촉매에 의한 아세틸살리실산 (아스피린) 가수 분해를 선택했습니다(그림 3). 이전 응용 자료에서 설명한 것과 같이, 이 반응은 회분식 반응기와 Agilent InfinityLab Online LC 솔루션 조합의 사용을 평가하기 위한 기본 조건에서도 사용했습니다.[3]

이를 통해 시료를 반응기 흐름에서 직접 채취하여 퀀칭/희석 및 분석이 가능하다는 점을 입증한 바 있습니다. 빠른 반응의 경우에도 직접 주입이 가능하다는 점이 입증되었습니다.

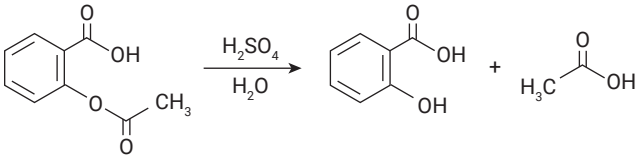
실험 섹션에서 설명한 것처럼, 첫 번째 반응 테스트로 회분식 반응기를 사용했습니다. 그림 4는 회분식 반응기에서 반응이 진행될 때 아세틸살리실산과 살리실산의 고속 분리를 보여줍니다. 머무름 시간 정밀도는 위에서 언급한 순서와 동일하게 명시되어 있습니다.

유동 반응 조건에서의 반응 최적화를 위해 체류 시간과 산 농도를 보다 면밀하게 조사했습니다. 유동 반응기의 체류 시간에 영향을 미치기 위해 황산과 아세틸살리실산 용액을 전달하는 시린지 펌프의 유속을 그에 따라 수정했습니다. 아세틸살리실산의 온도와 농도는 각각 86°C와 0.016M으로 일정하게 유지했습니다. 유동 반응기에서 배출되는 흐름을 Online LC 시스템에 연결했고, 시료를 3분마다 채취했습니다. 반응물(educt) 및 산물(product)의 면적(%)이 일정할 때 정상 상태(정류 상태)에 도달했습니다. 이 지점에서 6개의 시료를 채취해 결과를 계산했습니다.



아세틸살리실산		살리실산	
RSD RT %	RSD 피크 면적 %	RSD RT %	RSD 피크 면적 %
0.07	1.10	0.06	1.30

그림 2. 회분식 반응기 및 연동 시료 펌프를 포함한 기기 설정 성능 테스트.



아세틸살리실산 살리실산

그림 3. 아세틸살리실산(아스피린)의 산 촉매 가수분해(살리실산 및 아세트산으로 분해됨).

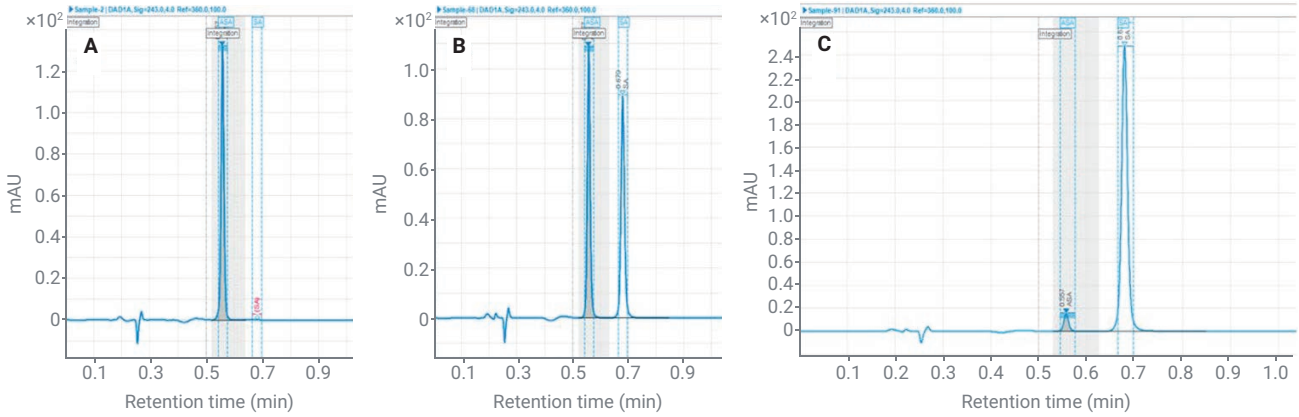


그림 4. 회분식 반응기 내 아세틸살리실산의 산 촉매 가수 분해 진행 과정. (A) 아세틸살리실산으로 반응 시작. (B) 약 절반의 아세틸살리실산이 이미 살리실산으로 가수 분해됨. (C) 반응 거의 완료.

첫 번째 평가 파라미터는 유동 반응기 내 반응물의 체류 시간입니다. 1, 5, 10, 30, 60분의 체류 시간에 도달하도록 시린지 펌프의 유속을 설정했습니다(표 1). 피크 면적(%) 정밀도는 정상 상태에 도달한 후 수행한 6번의 측정값을 사용해 계산했습니다(표 2). 예를 들어, 체류 시간이 30분일 때 아세틸살리실산의 피크 면적(%)은 70.10이었고, 살리실산의 피크 면적(%)은 29.90이었습니다. 각 RSD 값은 0.01% 및 0.02%였습니다.

반응물 면적(%)과 생성된 산물 면적(%)의 감소 결과는 그림 5에서 확인할 수 있습니다. 예를 들어, 체류 시간이 60분일 때 반응물 아세틸살리실산의 피크 면적은 54.81% 감소했고, 생성된 산물, 즉 살리실산의 면적(%)은 52.80%였으며, 2.01%의 불순물이 반응기에서 배출되는 혼합물에서 생성되었습니다(표 2).

표 2. 측정된 피크 면적(%) 관련 Agilent InfinityLab Online LC 솔루션의 성능.

체류 시간(분)	면적 % ASA Avg	면적 % ASA StDev	면적 % ASA RSD	면적 % SA Avg	면적 % SA StDev	면적 % SA RSD	면적 % Imp. Avg	면적 % Imp. StDev	면적 % Imp. RSD
1	95.02	0.27	<0.01	4.98	0.27	0.05	N/A	N/A	N/A
5	89.84	0.19	<0.01	9.82	0.20	0.02	0.34	0.01	0.02
10	84.30	0.27	<0.01	15.70	0.27	0.02	N/A	N/A	N/A
30	70.10	0.52	0.01	29.90	0.52	0.02	N/A	N/A	N/A
60	45.19	0.23	0.01	52.80	0.18	<0.01	2.01	0.06	0.03

ASA: 아세틸살리실산, SA: 살리실산, Imp.: 불순물, Avg: 평균, StDev: 표준 편차, RSD: 상대 표준 편차

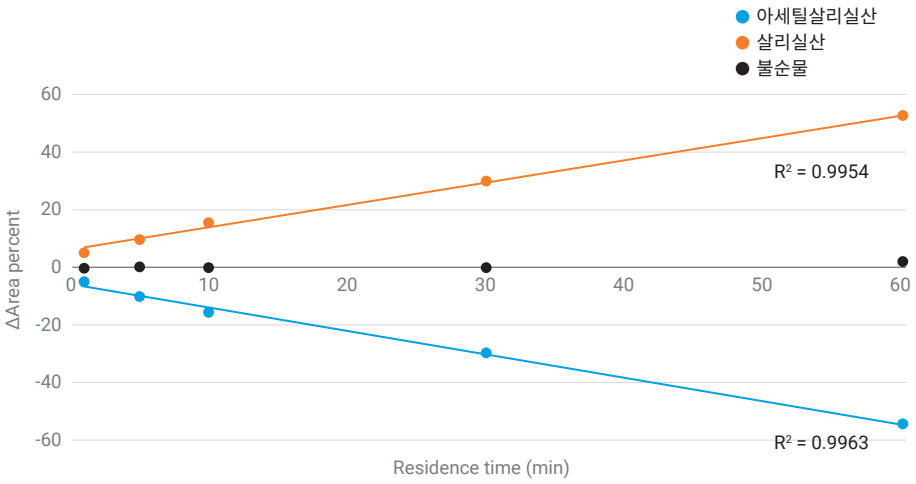


그림 5. 선택한 체류 시간 후 반응기에서 배출된 반응 성분 조성. 발생한 불순물도 표시됨.

반응의 진행에 대한 영향을 조사하기 위해, 유동 반응기의 반응 혼합물에서 1시간의 체류 시간을 달성하기 위한 조건을 일관되게 유지하고, 황산의 농도를 다양하게 변경했습니다. 그림 6에서 확인할 수 있는 것처럼, 반응물의 가수 분해 반응이 1.5M의 황산을 사용했을 때 거의 완료되었지만, 발생하는 불순물의 농도가 증가하는 단점이 있었습니다. 이러한 조건에서 아세틸살리실산 95.55% 감소, 78.88% 살리실산으로 전환, 15.87%의 부산물 생성이라는 결과를 얻었습니다(표 3).

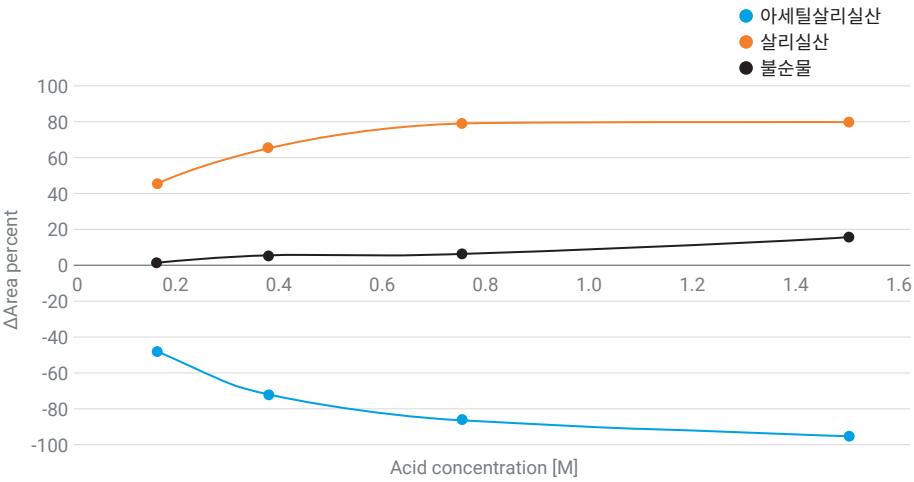


그림 6. 선택한 황산의 농도에 따른 반응기 배출 반응 성분 조성. 발생한 부산물도 표시됨.

표 3. 유동 반응기의 황산 농도에 따른 반응물 아세틸살리실산 및 산물 살리실산의 최종 조성. 발생한 불순물도 표시됨(AP = 면적 백분율).

산 농도 (M)	Δ (AP) 아세틸살리실산	Δ (AP) 살리실산	Δ (AP) 불순물
0.16	-47.57	45.71	1.86
0.38	-71.32	65.59	5.73
0.75	-85.59	79.03	6.56
1.50	-95.17	79.88	15.87

결론

이 응용 자료에서는 반응 조건을 최적화하기 위한 마이크로플로우 반응기와 Agilent InfinityLab Online LC 솔루션의 결합 사용에 대해 설명합니다. 샘플링 주기 1회에 해당하는 3분마다 우수한 피크 면적과 머무름 시간 정확도를 얻을 수 있었습니다. 이러한 결과는 Agilent InfinityLab Online LC 솔루션이 반응 특성 파라미터를 조사하여 이를 최적화하는 데 사용할 수 있는 탁월한 선택이라는 점을 보여줍니다. 이 솔루션은 유동 화학을 통해 생성되는 중요한 산물의 수율을 극대화하는 데 도움을 줄 수 있습니다.

참고 문헌

1. www.corning.com
2. https://www.corning.com/media/worldwide/Innovation/documents/LF_WEB.pdf
3. Naegele, E.; Kutscher, D. Agilent InfinityLab Online LC 솔루션을 이용한 온라인 반응 모니터링. *Agilent Technologies 응용 자료*, 발행 번호 5994-3528KO, **2021**.

www.agilent.com

DE76194294

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2022

2022년 6월 2일 한국에서 발행
5994-4733KO

한국애질런트테크놀로지스㈜
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com

Agilent
Trusted Answers