

## MECC법과 Ion-Pairing 크로마토그래피법을 이용한 염료성분의 분석

정 혁★

숙명여자대학교, 자연과학부, 화학전공  
(2006. 1. 11. 접수, 2006. 2. 9. 승인)

### Analysis of dye components using MECC and ion-pairing chromatography

Hyuk Jeong★

Department of Chemistry, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea  
(Received January 11, 2006, Accepted February 9, 2006)

**요 약** : Ion-Pairing을 이용한 고성능 액체 크로마토그래피법과 계면활성제를 완충용액에 섞어서 사용하는 미셀 모세관 전기영동법(micellar electrokinetic capillary chromatography, MECC)을 이용하여 아조염료의 합성성분이면서 동시에 독성을 나타내는 분해물인 H-acid, J-acid,  $\gamma$ -acid, orthanilic acid, sulfanilic acid 그리고 2-naphthylamine-1,5-disulfonic acid 등의 디아조 성분에 대하여 분석을 수행하였다. 같은 방법으로 Acid Orange 7, Acid Orange 5, Acid Blue 92 등의 산성염료와 Direct Red 80 등의 직접염료와 같은 반응성 염료 및 Calcion에 대한 분리를 시도한 결과 모든 염료에 대한 완전한 분리를 얻었으며, 특히 각 염료의 환원용액을 H-acid, J-acid,  $\gamma$ -acid, orthanilic acid, sulfanilic acid 혹은 2-naphthylamine-1,5-disulfonic acid 등의 표준물질과 비교 분석한 결과 사용한 각 염료의 디아조 혹은 커플링 성분을 완벽하게 분석할 수 있음을 알 수 있었고, 따라서 Ion-Pair 크로마토그래피법과 모세관 전기영동법은 미지의 염료에 대한 성분확인 및 디아조 혹은 커플링 성분분석에 응용할 수 있음을 보였다.

**Abstract** : Micellar electrokinetic capillary chromatography(MECC) and HPLC with ion-pairing mechanism were applied for the separation of the well known environmental wastes from dye industry. These compounds include H-acid, J-acid,  $\gamma$ -acid, orthanilic acid, sulfanilic acid and 2-naphthylamine-1,5-disulfonic acid, and are known to be the diazo components of the azo dye. MECC method was also applied to separate few acid dyes including Acid Orange 7, Acid Orange 5 and Acid Blue 92 and direct dye such as Direct Red 80. Informations about the diazo components of any azo dye could be obtained by comparison of electropherogram of the reduction solution of a given dye with those obtained from standard materials such as H-acid, J-acid,  $\gamma$ -acid, orthanilic acid, sulfanilic acid and 2-naphthylamine-1,5-disulfonic acid. It has been concluded that MECC and HPLC with ion-pairing mechanism could be successfully applied for the analysis of unknown dyes and their diazo components.

**Key words** : micellar electrokinetic capillary electrophoresis, azo dye, diazo component, coupling

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)2-710-9412 Fax : +82-(0)2-710-9413

E-mail: jeong@sookmyung.ac.kr

## 1. 서 론

약 400 nm~800 nm의 파장을 갖는 가시광선을 선택적으로 흡수하여 고유한 색을 나타내는 물질을 색소(colorant)라 하며, 색소 중에서 섬유 및 그 외의 소재에 친화성을 갖고 물이나 다른 매질로부터 선택적으로 이행되어 염착하는 성질을 갖는 물질을 염료(dye)라 하고, 일반적으로 매질 속에서 분산되어 녹지 않으며 화학적, 물리적으로 매질에 의한 영향을 크게 받지 않는 유채색이나 무채색의 여러 물질을 안료(pigment)라 한다.<sup>1,3</sup> 그러나 최근에는 가용성인 염료를 여러 가지 방법에 의하여 불용성(lake)으로 만드는 등 염료와 안료의 구별은 점차 뚜렷하지 않게 되었다.

염료는 발색단(chromophore)의 화학적 구조에 따라서 혹은 물성(염색성)에 기초하여 분류되는데,<sup>3</sup> 화학구조에 따른 분류에 의하면 아조, 안스라퀴논, 스틸벤, 프탈로시아닌 그리고 인디고계의 염료로 분류되고, 염색성 혹은 물성에 의하면 하나 이상의 산성기를 포함하는 산성염료, 하나 이상의 아미노기 혹은 암모늄기를 포함하는 염기성 염료, 섬유상에서 디아조커플링 반응에 의하여 수용액에 녹지않는 아조염을 형성하는 아조염 염료, 직접 염착되는 음이온성의 직접 염료, 대부분이 비이온성으로 물에 녹지않는 분산 염료, 섬유와 공유결합을 하는 반응성 염료, 환원체에 의하여 수용성 Leuco 염료로 염착한 후 산화시키는 Vat 염료 그리고 형광성질을 이용한 형광증백제 등으로 구분된다. 안료에는 크게 보아 백색안료와 유채색 안료가 있으며, 비교적 색강도가 좋은 유기 안료와 내후성, 은폐력 등이 좋으나 다소 독성문제가 있는 무기 안료로 도 구분된다.

이러한 색소, 특히 염료에 대한 연구는 우리나라 총 수출의 상당부분을 점하는 섬유산업의 부수산업의 형태로 출발하여 이제는 매우 다양한 염료제조 기술을 보유하여 세계 염료 시장의 3%~4%를 점하는 수준에까지 발전하였으나 발색단의 다양화, 고급화 등을 통하여 내후성, 내광성, 견뢰도 등이 높으며 단위 분자당 높은 색세기를 보이는 고부가형의 염료의 개발에 더욱 많은 연구가 진행되어야 할 것이다. 동일 C.I.의 염료는 주 염료성분이 같으면 동일한 색상을 보이거나 내광제, 분산제 및 용제의 종류, 입자의 크기 그리고 복합기술 등에 의하여 서로 다른 물성을 나타내므로 주성분 및 기타의 부가물에 대한 연구 또한 매우 중요한 의미를 지닌다 할 수 있다. 한편 이러한 염료

의 제조 및 염색과정에서 발생하는 산업체 및 공장폐수는 전문적인 처리과정을 거치지 않으면 심각한 수질오염을 유발하여 이에대한 연구가 매우 시급한 실정이다.

이러한 염료 혹은 염색에 의한 환경오염과 폐수문제를 해결하기 위해서는 공장폐수 등에 존재하는 잔류 염료성분에 대한 좋은 선택성과 감도의 정성 및 정량분석이 대단히 중요하며 이러한 분석기술의 확립은 나아가 몇 가지 이상의 복합물질로 배합된 염료의 성분확인에도 이용될 수 있으므로 염료성분의 직접개발은 물론 성분이 확인되지 않은 수입염료에 수입대체품 개발에 대한 기초 기술로 활용 가능하여 다양한 활용성을 기대할 수 있을 것이다.

염료에 대한 분석법 연구는 염료의 개발과정과 더불어 꾸준히 발전되어 왔으며, 최근에는 이에 대한 다양한 연구가 여러 연구진에 의하여 활발히 진행되고 있다.<sup>4,19</sup> 현재까지 많이 이용되는 분석법으로는 고체 시료에 직접응용이 가능한 방법으로 nitroso, nitro, monoazo, diazo compound 등에 이용되고 있는 X-ray Powder Diffraction Method,<sup>4,7</sup> 화학적 구조 규명에 이용되는 Solid State NMR Spectroscopy,<sup>4,5,8,9</sup> 주로 chromophore의 구조 확인에 많이 이용되는 Near IR Spectroscopy,<sup>4,5,10-12</sup> 색소의 구조 분석뿐만 아니라 물리화학적 변화에 대한 연구에도 많이 이용되는 Emission Spectroscopy<sup>5,13-15</sup> 등이 있다. 언급한 분석법이 분자량이 크고 휘발성이 작은 색소에 많이 응용되는 것과는 달리 휘발성이 비교적 큰 물질은 최근의 hyphenation 기술의 발달에 힘입어 GC/MS<sup>4,5,16,17</sup>를 이용한 분석이 널리 이용되고 있으며 비교적 휘발성이 작거나 열에 불안정한 시료의 경우 FAB(혹은 SIMS)법이나 Desorption법을 이용한 Mass Spectrometry<sup>18,19</sup> 법 등을 이용한다. 그러나 최근의 많은 연구 결과에도 불구하고 위의 방법들은 분석장비의 고가성과 더불어 고체시료나 혹은 휘발성이 비교적 큰 시료만을 분석할 수 있으며 각 방법의 제한적 요인으로 인한 여러 가지 방해요인등 여러 가지 단점을 내포하고 있다. 특히 대부분의 염료성분이 극성이 매우 높거나 이온성인 관능기로 인하여 수용액에 잘 녹으며, 이러한 염료성분의 경우 유기용매에 의한 추출효율도 매우 낮아 제품개발 및 오수나 폐수 분석과 같은 특수한 경우에 사용할 수 있는 고감도의 분석법의 필요성이 대두되었다.

본 연구에서는 capillary electrophoresis의 일종인 micellar electrokinetic capillary chromatography(MECC)

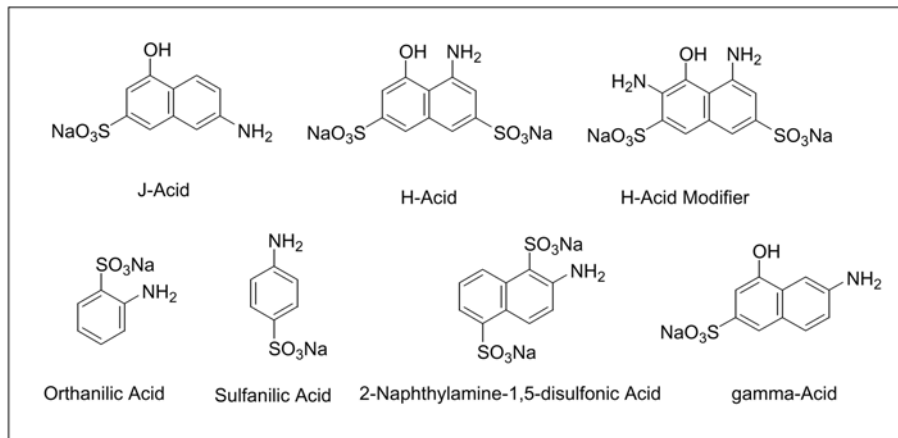


Fig. 1. Chemical structures of diazo and coupling components of the azo dyes.

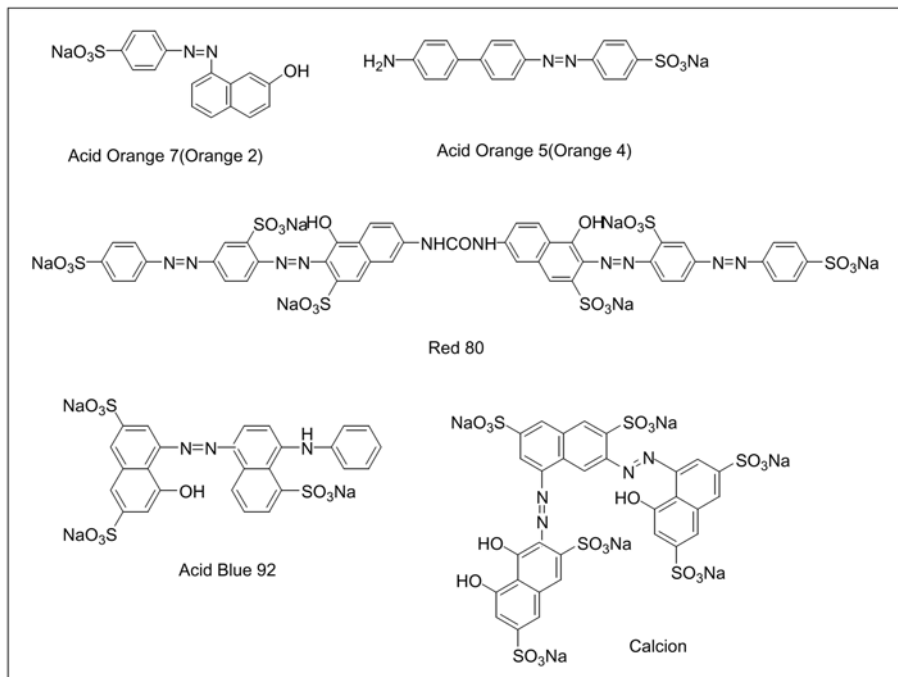


Fig. 2. Chemical structures of azo dyes used for the separation and reduction.

법<sup>20</sup>과 Ion-Pairing을 이용한 고성능 액체 크로마토그래피법<sup>21</sup>을 이용하여 H-acid, J-acid, 그리고  $\gamma$ -acid 등의 디아조 성분(Fig. 1 참조)과 그 성분을 이용하여 합성된 몇 가지 디아조계 산성염료와 직접염료 및 calcion(Fig. 2 참조)과 디아조 염료의 환원반응을 통하여 얻은 디아조 성분에 대한 분석법을 연구하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 시약 및 기기

시료의 분석에 이용한 모세관 전기영동 장치는 Waters 사의 Capillary Ion Analyzer를, 분리에 사용한 column은 Waters 사의 AccuSep column(50  $\mu\text{m} \times 60$  cm : effective length 52.5 cm)를 사용하였고 시료의 검

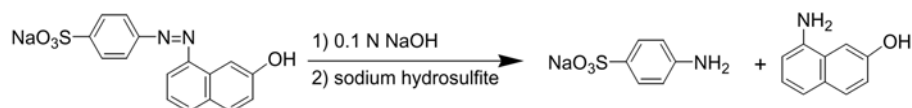


Fig. 3. Reduction of the Acid Orange 7. Final products are sulfanilic acid and naphthalene derivative.

출은 185 nm 혹은 254 nm에서 수행하였다. 한편 UV/VIS 스펙트럼은 Shimadzu 사의 spectrophotometer (UV-1601PC)를 사용하여 각 염료 0.003~0.005 g을 초순수에 녹여 얻었다. Ion-Pair 크로마토그래피에 사용된 기기는 Shimadzu 사의 Shim-Pack CLC-ODS(15 cm) column을 사용하였으며 흐름속도와 혼합비는 LC-10AD pump 2대를 이용하여 조절하였으며, 이 때 검출기는 photodiode array가 장착된 UV detector (SPD-M10A)를 사용하였으며 240 nm에서의 신호를 이용하여 크로마토그램을 나타내었다.

완충용액 조제를 위한 시약은 tetrabutylammonium hydrogen sulfate(98%, Janssen), dipotassium hydrophosphate(GP급, Kanto Chemical), 2-propanol(HPLC급, EM Science), sodium tetraborate(1급, Shinyo Pure Chemical), sodium dodecyl sulfate(EP, Aldrich), boric acid(EP, Aldrich) 등을 사용하였는데 모두 EM Science의 초순수(HPLC급)를 이용하여 조제하였다. 한편 환원반응에 이용된 시약은 sodium hydrosulfite(Kanto Chemical)과 charcoal(EP급, Yakuri)등이다. Fig. 1과 Fig. 2에 분석에 사용된 디아조 성분 혹은 커플링 성분과 염료의 구조를 나타내었는데 이들 중 C.I. Acid Orange 7(C.I. 15510)은 Sigma(content: 75%), C.I. Acid Orange 5(C.I. 13080)은 Fluka(content: 95%), C.I. Acid Blue 9 2(C.I. 13390, content: 40%) 그리고 Calcion은 Aldrich 제품을 구입하여 정제하지 않고 사용하였다.

## 2.2. Ion-Pair 크로마토그래피용 완충용액의 제조

음이온성 염료의 counter ion인 tetrabutylammonium hydrogen sulfate를 0.005 M 2 l 용액 제조에 알맞은 양을 취하여 약 1 l의 초순수에 녹인 후 0.1 M dipotassium hydrogen phosphate를 가하여 pH 6.5에 유지한 후 초순수를 이용하여 2 l로 묽힌다. Organic modifier인 2-propanol의 비는 pump를 이용하여 환원 용액의 분석에는 14% 그리고 염료 혼합용액의 분석에는 20%로 유지하였고 flow rate는 1.5 ml/min 혹은 2.0 ml/min으로 유지하였으며 이들 조건은 각 크로마토그램 상에 표시하였다.

## 2.3. 모세관 전기영동용 완충용액의 제조

Sodium dodecyl sulfate 10.865 g과 sodium tetraborate 1.525 g을 취하여 100 ml의 초순수에 녹인 용액을 40 mM boric acid로 pH 8.9가 될 때까지 적정하였다. 이때 각 성분의 최종 농도는 각각 12, 16, 20 mM 이었다.

## 2.4. 염료의 환원

Fig. 2과 Fig. 3에 나타낸 디아조계 염료의 환원은 이미 발표된 방법<sup>22,23</sup>을 약간 수정하여 수행하였다. 요약하면, 약  $4.3 \times 10^{-5}$  mole의 염료를 취하여 three-neck flask에 넣고 초순수 2 ml와 0.1N NaOH 용액 3 ml를 가한 후 stirring하여 녹인다. 이 용액을 가열하여 약 55°C 정도로 유지하고 sodium hydrosulfite 약  $8.6 \times 10^{-5}$  mole을 가하고 1시간 정도 가열하여 환류상태를 유지한다. 환원된 용액은 약 30분간 상온에서 방치한 후 ice bath에서 30분간 냉각시킨 후 유기물 제거를 위하여 2~3 g 정도의 charcoal을 가하고 20분간 stirring한 후 filter하여 여액을 다음 분석에 이용하였다.

## 3. 결과 및 고찰

앞에서 언급한 바와 같이 아조염료는 방향족 아민류를 디아조화(diazotization) 해서 얻는 디아조 화합물인 디아조 성분과 페놀(phenol)류, 나프톨(naphthol)류, 아닐린(anilin)류, 나프틸아민(naphthylamine)류, 그리고 활성 메틸렌 화합물 등의 커플링 성분을 결합 시켜서 제조한다. 아조염료는 염색 혹은 착색과정 중에서 혹은 염색과정 후의 반복되는 세탁 등의 과정에서 분해되어 방향족 아민류의 화합물이 생성되는데, Fig. 3에 아조염료 중의 하나인 Acid Orange 7이 분해되어 생성되는 sulfanilic acid와 나프탈렌계의 분해물질을 나타내었다. 이들 분해물질은 인체에 접촉하게 될 경우 피부염이나 암을 유발시키는 것으로 알려져 있는 등 독성이 매우 강하다. 따라서 이러한 독성으로 인한 다양한 규제에 효과적으로 대응하기 위하여 분해물질에 대한 정량적인 분석이 매우 중요하다.

염료 Acid Orange 7, Acid Orange 5 그리고 Direct Red 80의 혼합용액(크로마토그램 A)과 각 염료의 환원반응 용액(크로마토그램 B)의 크로마토그램을 Fig. 4에 나타내었다. 이들 크로마토그램은 역상 Ion-Pair 크로마토그래피법을 이용하여 분석하였는데, 이 방법은 전체적 혹은 부분적으로 해리된 이온시료나 극성이 매우 높은 시료의 분리에 이용되는 역상 크로마토그래피의 일종이다.<sup>24</sup> 역상 Ion-Pair 크로마토그래피에 이용되는 이동상으로 메탄올, 프로판올과 같은 알콜용매나 아세트니트릴 같은 약간의 유기용매와 분석 대상 이온과 반대전하를 띠는 counter ion을 포함하는 수용액이 많이 이용되며 일정한 pH를 유지하기 위하여 완충용액을 사용하는 것이 보통이다. 본 연구에서는 tetrabutylammonium hydrogen sulfate 이온을 포함한 완충용액(flow rate 1.5 ml/min, pH 6.5)을 이용하여 얻었는데, Fig. 4에서 보는 바와 같이 Acid Orange 7의 경우 main peak 없이 최소한 3가지 물질의 혼합형태(크로마토그램 A의 peak 1, 2, 3)임을 알 수 있었으며, Acid Orange 5(크로마토그램 A의 peak 4)와 Direct Red 80(크로마토그램 A의 peak 5)와의 혼합용액에서 완전한 분리가 가능하며 Direct Red 80의 peak width는 상대적으로 매우 넓은 것으로 미루어 염료 Direct Red 80은 C18 column의 정지상과 상당한 interaction

을 함을 알 수 있었다.

성분이 알려지지 않은 미지 염료의 디아조 혹은 커플링 성분 확인 가능성을 알아보기 위하여 주어진 각 염료를 환원한 후 환원 용액에 대하여 비슷한 방법으로 얻은 크로마토그램을 얻었다. 각 환원 용액의 크로마토그램(각각 크로마토그램 B의 b, c, d)을 이들 염료의 환원 부산물인 sulfanilic acid 표준용액의 크로마토그램(크로마토그램 B의 a)과 비교하여 나타낸 Fig. 4의 B에 의하면 각 용액의 경우 retention time 약 2.2 min에서 main peak를 보이며 이들 peak들은 sulfanilic acid 표준용액의 peak(peak 6)와 일치함을 볼 수 있고, 본 실험실에서의 예비실험에 의하면 Ion-Pair 액체 크로마토그래피법에 의하여 H-acid, J-acid,  $\gamma$ -acid, orthanilic acid, sulfanilic acid, 2-naphthylamine-1,5-disulfonic acid의 혼합용액은 7% 2-propanol의 완충용액 하에서 완전한 분리가 가능함(data는 나타나지 않음)에 비추어 미지의 염료에 대한 디아조 혹은 커플링 성분 분석은 최소한 주어진 여섯 가지 성분에 대하여 액체 크로마토그래피법으로 가능함을 알 수 있었다.

한편 Acid Orange 7과 Acid Orange 5와는 달리 Direct Red 80의 경우 세가지 서로 다른 음이온 환원 생성물이 기대되는데 크로마토그램(B의 d)의 retention time 약 5~6 min에서의 이중 peak가 다른 두 성분의 peak로 추정되나 기타의 불순물일 가능성을 배제할 수 없다. 또한 크로마토그램 A와 B의 organic modifier의 조성이 다르며 이미 언급한 바와 같이 일반적으로 organic modifier의 조성이 증가할수록 elution power가 증가하는 사실에 비추어 14%의 2-propanol을 사용할 때 크로마토그램 A의 retention time은 상당히 증가하므로 염료와 그 환원물의 분리도 비교적 좋은 분리를 보일 것이다.

언급한 Acid Orange 7(electropherogram A의 b의 peak 7), Acid Orange 5(electropherogram A의 b의 peak 8) 그리고 Direct Red 80(electropherogram A의 b의 peak 9)의 혼합 용액의 electropherogram을 각 염료의 환원 용액(각각 electropherogram B의 a, b, c)에 대한 electropherogram과 비교하여 Fig. 5에 나타내었다. Ion-Pair 액체 크로마토그래피에서와는 달리 각 electropherogram은 이론단수(N)가  $\sim 1 \times 10^5$  이상인 좋은 분리를 보임을 알 수 있으며 이와는 반대로 Acid Orange 7(peak 7), Acid Orange 5(peak 8)과 비교하여 Direct Red 80(peak 9)의 경우 capillary의 벽면과의 강한 interaction으로 인한 fronting 현상 등은 액체 크로

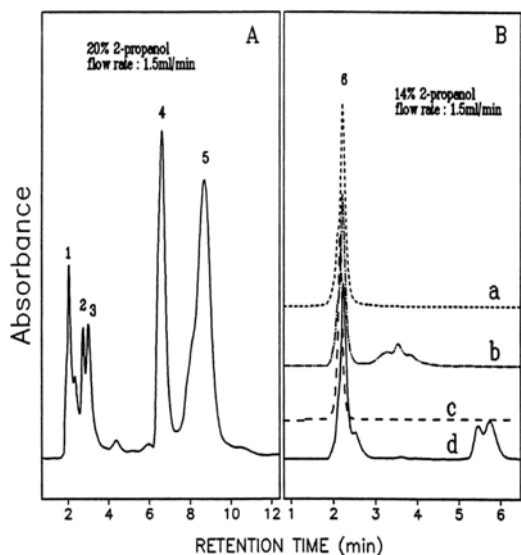


Fig. 4. Chromatogram of azo dye mixture(A) is compared with those of reduced Acid Orange 7(b in B), Acid Orange 5(c in B) and Direct Red 80(d in B). Chromatogram a in B of standard sulfanilic acid is also shown for the comparison.

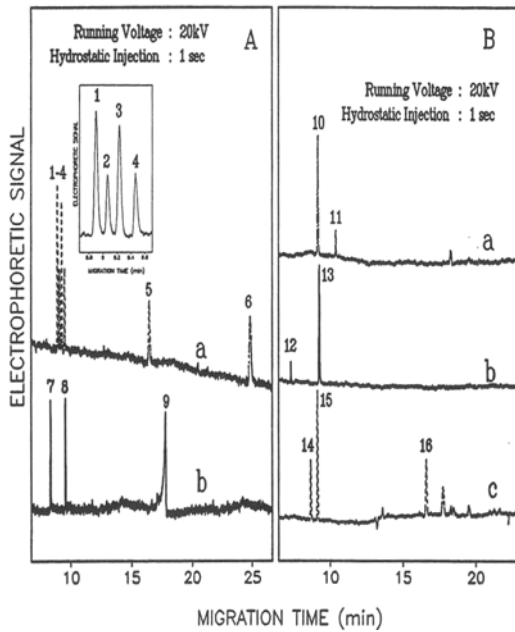


Fig. 5. Electropherogram of the mixture(b of A) of Acid Orange 7, Acid Orange 5 and Direct Red 80 is compared with those of reduced Acid Orange 7(b in B), Acid Orange 5(c in B) and Direct Red 80(d in B). Electropherogram of a in A was obtained from the mixture of 6 diazo components of the azo dye.

마토그래피에서와 같은 현상이다. 각 염료의 환원 용액에 대한 electropherogram을 B의 a, b, c에 나타내었는데, 혼합용액의 경우와 마찬가지로 모든 용액에서 sulfanilic acid가 주성분으로 peak width가 매우 좁은 peak(peak 10, 13, 15)로 나타남을 볼 수 있었다. Acid Orange 7과 Acid Orange 5을 환원하면 sulfanilic acid 한 성분만을 이온으로 얻을 수 있으므로 peak 11, 12 등은 불순물이나 중성의 부산물로 판단되며 Direct Red 80의 경우 sulfanilic acid peak와 더불어 peak 14, 16 등이 관찰되며 이들은 다른 두 가지 이온 성분으로 판단되나 표준물질의 미비로 더 이상의 확인은 하지 못하였다. 액체 크로마토그래피에서와 같이 sulfanilic acid(peak 1),  $\gamma$ -acid(peak 2), orthanilic acid(peak 3), J-acid(peak 4), 2-naphthylamine-1,5-disulfonic acid(peak 5) 그리고 H-acid(peak 6)의 혼합용액에 electropherogram을 Fig. 5의 A의 a에 나타내었는데 이들의 경우 특히 이론단수가  $\sim 2 \times 10^5$  이상을 보이는 등 대단히 좋은 분리능을 얻을 수 있었으며 이 점으로 미루어 더 많은 디아조 혹은 커플링 성분의 혼합용액의 분리도 가능하리라 판단된다. 전체적으로 모세

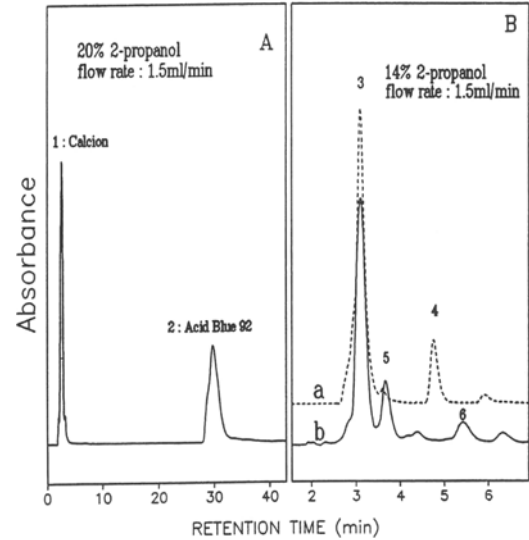


Fig. 6. Chromatogram of the mixture of Acid Blue 92 and Calcion is compared with those of reduced Acid Blue 92(a in B) and Calcion(b in B).

관 전기영동 장치는 Ion-Pair 액체 크로마토그래피에 비하여 향상된 감도(환원 용액에서의 더 많은 peak를 보이는등)와 높은 분리능을 가지는 것으로 판단된다.

Acid Blue 92와 Calcion의 혼합용액에 대한 크로마토그램(Fig. 6의 A)과 electropherogram(Fig. 7의 A) 그리고 각 염료의 환원 용액에 대한 크로마토그램(Fig. 6의 B)과 electropherogram(Fig. 7의 B)을 비교하여 Fig. 6과 7에 나타내었다. Fig. 6의 A에서 보는 바와 같이 Calcion의 peak width에 비하여 Acid Blue 92의 더 많은 polar functional group이 존재함에도 불구하고 매우 넓은 띠 너비를 보였으나 두 시료의 완전한 분리에는 영향을 미치지 않았다. Fig. 6의 B에 나타낸 Acid Blue 92(B의 a)와 Calcion (B의 b)의 환원 용액에 대한 크로마토그램 모두에서 peak 3가 주 성분으로 이는 표준용액과 비교한 결과 H-acid였으며 이는 각 염료의 환원 물질로 기대되는 H-acid와 일치하였으며 peak 4, 5 등은 그외의 환원 물질 혹은 불순물 등으로 판단되나 더 이상의 확인은 하지 않았다.

액체 크로마토그래피에서와는 달리 두 염료의 혼합용액의 electropherogram(Fig. 7의 A)은 상대적으로 좁은 띠 너비의 peak를 나타내며 전자의 경우 Calcion의 elusion이 빠른 것에 비하여 후자에서는 Acid Blue 92가 Calcion에 앞서 elusion 되었으며 또한 Calcion의 경우 단일 물질이 아닌 적어도 네가지 이상의 복합물

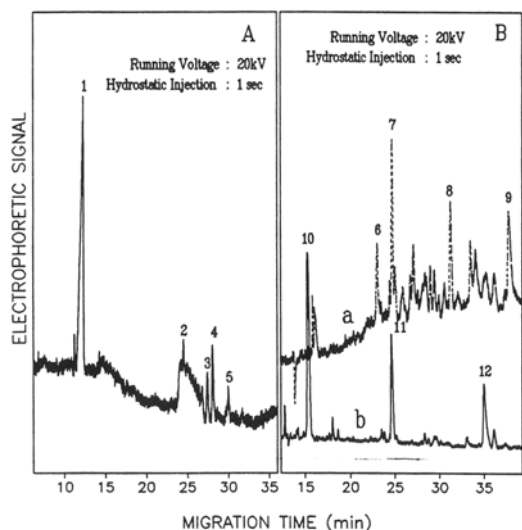


Fig. 7. Electropherogram of the mixture(A) of Calcion and Acid Blue 92 is compared with those of reduced Calcion(a in B) and Acid Blue 92(b in B).

임을 알 수 있었다. Calcion(B의 a)과 Acid Blue 92(B의 b)의 환원 용액의 electropherogram은 모두 예측한 바와 같이 H-acid(peak 7과 peak 11)에서 기인하는 peak가 강한 intensity로 나타나고 있으며 peak 6, 8, 9 중의 적어도 2개 그리고 peak 10, 12 중의 적어도 1개가 각 물질의 또 다른 환원 이온 성분인 것으로 판단되며 그외에도 각 염료성분이 환원 용액에 미량으로 존재하는 것으로 판단된다.

Fig. 8에 환원하면 각각 sulfanilic acid, 2-naphthylamine-1,5-disulfonic acid 그리고 H-acid의 디아조 혹은 커플링 성분을 만드는 Acid Orange 7, Reactive Orange 4 그리고 Acid Blue 92의 혼합용액(Fig. 8의 A)과 혼합용액을 환원한 후의 electropherogram을 나타내었다. 위의 세 가지 성분이 잘 분리된 electropherogram(Fig. 8의 A)에서 보는 바와 같이 Acid Orange 7(peak 1)과 Reactive Orange 4(peak 2)의 경우 Fig. 5의 A에서 언급한 바와 같이 매우 좁은 띠 너비의 peak를 나타내며 Fig. 7의 A에서와 같이 Acid Blue 92 (peak 3)는 상대적으로 넓은 띠 너비의 peak를 보였으며 peak 4는 Reactive Orange 4의 불순물이다. 이들을 혼합한 용액을 환원한 후 얻은 electropherogram은 매우 많은 peak들을 보였는데 이는 각 염료를 환원한 후의 electropherogram(즉 Fig. 5의 B의 a, Fig. 7의 B의 b)을 모두 합한 것과 매우 유사하여 sulfanilic acid(peak 6), 2-naphthylamine-1,5-disulfonic

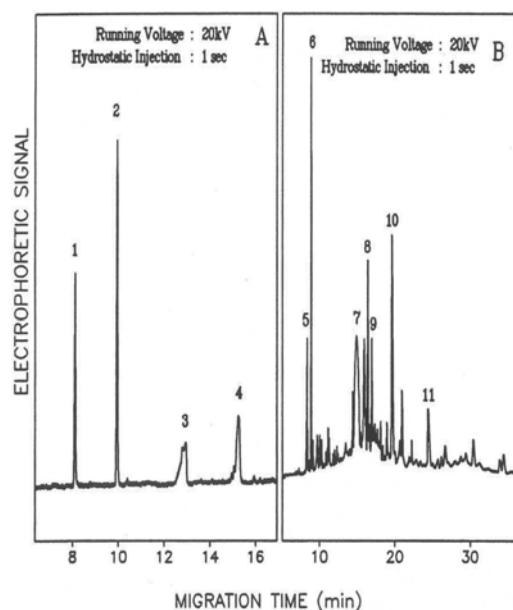


Fig. 8. Electropherogram of the mixture(A) of Acid Orange 7, Reactive Orange 4 and Acid Blue 92 is compared with the electropherogram obtained from the reduced mixture of same dyes.

acid(peak 8) 그리고 H-acid(peak 11) 등을 보였고 peak 5는 잔류한 Acid Orange 7, peak 7과 9는 Reactive Orange 4의 환원용액에서 그리고 peak 10은 Acid Blue 92의 환원용액에서 기인하는 것으로 확인할 수 있었다.

#### 4. 결 론

Diazotization 반응과 diazo-coupling 반응 등의 합성 기술의 개발과 더불어 19C 말부터 다양한 형태의 아조염료들이 합성되었는데, 특히 H-acid,  $\gamma$ -acid, Chicago acid, J-acid 그리고 K-acid 등의 naphthol sulfonic acid 군을 디아조 성분 혹은 커플링 성분으로 이용한 아조염료의 합성이 광범위하게 연구되어 왔다. 본 연구에서는 Ion-Paring을 이용한 고성능 액체 크로마토그래피법과 aminoacid, nucleic acid 등 전하를 갖는 biomolecule들의 분리에서 발전된 후, 최근에는 금속 이온과 같은 작은 이온은 물론 전하를 포함하지 않는 중성의 유기물질의 분리에 이르기까지 대단히 넓은 응용범위를 갖는 MECC 법을 이용하여 H-acid, J-acid,  $\gamma$ -acid, orthonilic acid, sulfanilic acid, 2-naphthylamine-1,5-disulfonic acid 등의 디아조 혹은 커플링 성분을 완전히 분리할 수 있었으며, Acid Orange 7,

Acid Orange 5, Acid Blue 92 등의 산성염료와 Direct Red 80 등의 직접염료 그리고 Calcion에 대한 완전한 분리를 얻었고, 특히 각 염료의 환원용액을 염료에 사용된 디아조 성분의 표준물질과 비교 분석한 결과 사용한 각 염료의 디아조 혹은 커플링 성분을 완벽하게 분석할 수 있음을 알 수 있었다. 이러한 결과를 바탕으로 Ion-Pair 크로마토그래피법과 모세관 전기영동법은 미지의 염료에 대한 성분확인 및 디아조 혹은 커플링 성분분석에 응용할 수 있음을 보였다.

한편 Ion-Pair 액체 크로마토그래피법은 모세관 전기영동법에 비하여 상대적으로 넓은 띠 너비를 보이는 등 여러 가지 제약에도 불구하고 정립된 이론을 바탕으로 많이 보급된 액체 크로마토그래피를 이용하므로 실험자가 쉽게 접근할 수 있다는 점에서 더 많은 염료분석에의 응용이 기대되며 모세관 전기영동법은 매우 높은 이론단수와 고분해능으로 인하여 복잡한 염료혼합물 분석에의 응용성이 기대된다.

고부가가치의 다양한 염료의 개발과 더불어 이와 같은 고감도와 높은 선택성을 지니는 염료 분석법의 개발은 몇 가지 이상의 복합물질로 배합된 염료의 성분확인에도 이용될 수 있으므로 염료성분의 직접개발은 물론 성분이 확인되지 않은 수입염료에 수입대체 품 개발에 대한 기초기술로 활용 가능하여 매우 중요한 기초 기술로서 다양한 활용성을 기대할 수 있을 것이다.

## 감사의 글

본 연구는 2003학년도 숙명여자대학교 교비연구비의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. H. Zollinger, *Color Chemistry. Syntheses, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments*; VCH: Weinheim (1991).
2. H. Zollinger, *Diazo Chemistry I*; VCH: Weinheim (1994).
3. 오세화, 황인상, 김재필, 노덕길, 오인환, 임용진 화학세계, **34**, 746(1994).
4. K. Ed. Venkataraman, *The Analytical Chemistry of Synthetic Dyes*; Wiley-Interscience: New York (1977).
5. A. T. Peters and H. S. Eds. Freeman, *Analytical Chemistry of Synthetic Colorants*; Chapman & Hall: London (1995).
6. A. Whitaker, *J. Soc. Dyers Colourists*, **102**, 66 (1986).
7. I. Schnopper, J. O. Broussard and C. K. LaForgia, *Anal. Chem.*, **31**, 1542 (1959).
8. A. Lycka and J. In. Jirman, *Color Chemistry*; A. T. Peters, H.S. Eds. Freeman, Elsevier, London, Ch10.
9. A. M. Chippendale, M. A. Mathias, R.K. Harris, K. J. Packer and B. J. Say, *J. Chem. Soc., Perkin Tr. II*, 1031 (1981).
10. J. Griffiths, *Colour and Constitution of Organic Molecules*; Academic Press: London, p240 (1976).
11. J. Fabian and H. Hartmann, *Light Absorption of Organic Colorants*; Springer-Verlag: Berlin (1980).
12. K. A. Bello and J. Griffiths, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1986, 1639 (1986).
13. J. R. Ed. Lakowicz, *Topics in Fluorescence Spectroscopy*; Plenum Press: New York, Vol 1 (1991).
14. B. M. Krasovitskii and B. M. Bolotin, *Organic Luminescent Materials*; VCH: Weinheim (1988).
15. G. G. Guibault, *Practical Fluorescence and Theory*; Dekker: New York (1973).
16. T. L. Youngless, J.T. Swansinger, Dd. A. Danner and M. Greco, *Anal. Chem.*, **57**, 1894 (1985).
17. L. Havlickova, A. Kolonicny, A. Lycka, J. Jirman and I. Kolb, *Dyes and Pigments*, **10**, 1 (1988).
18. J. Sokolowska-Gajda and H. S. Freeman, *Dyes and Pigments*, **14**, 35 (1990).
19. H. D. Beckey, *Principles of Field Ionization and Field Desorption Mass Spectrometry*; Pergamon Press: New York (1977).
20. S. M. Burkinshaw, D. Hinks and D. M. Lewis, *J. Chromatogr.*, **640**, 413 (1993).
21. H. T. McKone and K. Ivie, *J. Chem. Educ.*, **57**, 321 (1980).
22. L. F. Fieser, *Org. Syn.* Vol II, 35 (1943).
23. L. F. Fieser, *Org. Syn.* Vol II, 39 (1943).
24. M. T. W. and Ed. Hearn, *Ion Pair Chromatography*; Marc4el Dekker: New York (1985).