

薄層 chromatography 의 吸着劑로서 國內產 活性白土
및 硅藻土의 利用에 關한 研究(第一報)

—— 食用 tar 色素의 分離分析 ——

金炳淳 · 池奉昊

東義專門學校

The Use of Activated Clay and Kieserguhr as a TLC Adsorbent(I)

—— Analysis of Tar Food Colorants ——

Byung-Soon Kim · Bong-Ho Chee

Dong Eui Junior College

Abstract

An investigation of certain tar food colorants required a relatively inexpensive TLC adsorbent to be used in preparative thin-layer chromatography procedure.

As will be shown activated clay and Kieselguhr has excellent physical characteristics for TLC applications, is easily applied, and is good for analytical work as well as showing good separator capabilities with selected groups of compounds.

In addition to its usefulness its economical price suggested this article.

緒 言

이용하여 chlorophyll 의 分離에 성공한 후 chromatography 가 分析化學 分野에 이용되어 混合物의 分離分析에 이바지한 바 크다고 볼 수 있다.

Tswett 가 1906 年에 column chromatography 를

특히 薄層 chromatography 를 Kirchner, Miller

等¹⁾은(1954) chromatostrip 라 소개하였고, Reitsem²⁾(1954)는 chromatoplate라 소개하였으며, Egon Stahl³⁾(1973)이 薄層製作裝置, 操作法, 吸着劑 등에 관하여 精密한 實驗을 하여 薄層 chromatography 法의 實驗方法을 確立한 이후 thin layer chromatography 라 稱하여졌으며, 微量의 試料로 短時間에 混合物質의 分離分析이 가능하여 요즘을 널리 이용되고 있다.

이러한 薄層 chromatography 에 있어서 吸着劑의 選擇은 展開溶媒의 선택과 함께 混合物質의 分離能에 큰 影響을 준다는 것은 잘 알려져 있는 事實이다.

薄層 chromatography 에 주로 많이 사용되고 있는 吸着劑로는 silicagel^{4), 6)}, alumina^{5) ~ 7)}, 硅藻土^{7), 8)} carbon⁹⁾ 등 多樣한 물질을 試料의 種類에 따라 選擇 사용하고 있으나 이들 대부분이 우리 나라에서는 薄層 chromatography 用으로는 生産되고 있지 않기 때문에 高價인 外國産에 의존하고 있는 實情이며 著者 등은 이것에 대하여 國內에서 쉽게 구할 수 있는 硅藻土와 活性白土를 이용하여 食品에서 흔히 應用되고 있는 tar 色素의 分離分析에 사용하였던 바 좋은 結果를 얻었기에 報告하고자 한다.

實 驗

1. 實驗裝置 및 試藥

本 實驗에서 사용한 applicator set 로는 英國 Shandan 製 UNOPLAN 을 사용하였으며, 吸着劑로 硅藻土는 韓國硅藻土工業株式會社製와 活性白土는 盛進産業株式會社製의 ST 500 을 300~320 mesh 程度로 사용하였으며 그 成分分析表는 Table 1 과 같다.

Table 1. Components of adsorbents

constituents	contents (weight %)				
	kieser-guhr	activated-clay			
		st. 500	st. 300	sa. 200	sa. 300
SiO ₂	88.1	68.6	65.6	62.4	75.8
Al ₂ O ₃	4.8	18.8	19.0	27.8	10.2
Fe ₂ O ₃	1.0	0.8	0.9	1.8	3.8
CaO	0.9	2.0	2.0	2.2	3.4
MgO	0.5	—	—	—	—
Na ₂ O	—	—	—	—	—
Ig-Loss	6.5	15.0	15.0	12.0	5.5

溶媒로 사용된 chloroform, methanol, benzene, n-butanol, absolute ethanol, glycial acetic acid, pyridine 등은 日製特級을 사용하였다.

標準 tar 色素로는 日本 三榮化學製의 食用色素 黃色一號外 17種을 사용하였다.

2. 操作法 (procedures)

1) 薄層의 製作

一定量의 吸着劑를 乳鉢에 취하여 약 2 倍量의 軟化溶媒를 가하여 잘 軟化混合한 후 20 cm×20 cm 및 10 cm×20 cm 의 유리판 위에 0.5 mm 두께의 薄層을 製作하였다.

2) 薄層의 乾燥 및 活性化

1)에서 말한 방법에 의하여 製作한 薄層版을 室溫에서 風乾, 風乾後 110°C 에서 1 시간 活性化 및 110°C 에서 1 시간 活性化 시킨 後 desicator 중에서 1 日間 放置의 세가지 방법을 행하였다.

3) 試料의 塗布

1) 및 2)에서 製作된 乾燥薄層版에 10 μl 용 microsyringe 를 사용하여 2 μl 씩 spot 하였다.

4) 展 開

縦型의 角型 展開槽를 이용하여 上昇法으로 展開 거리 약 10~15 cm 되게 展開하였다.

結果 및 考察

1. 軟化溶媒의 選擇

薄層製作의 容易性, 製作된 薄層版의 良好性 등을 고려하여 蒸溜水 단독 使用時와 蒸溜水와 methanol 을 適當比로 混合한 것 및 methanol 을 단독 사용하여 軟化시켜 앞의 操作法에 따라 實驗한 結果는 다음과 같다.

蒸溜水 單獨使用 및 蒸溜水-methanol 의 3:2 混合使用時는 乾燥速度가 느렸으며 특히 薄層版의 製作時에 吸着劑로 活性白土 單獨 또는 活性白土의 量이 硅藻土에 비해 多量混合 되었을 때는 薄層面에 微細한 龜裂이 생겨 展開中 薄層版의 脫落이 일어났다.

methanol 單獨使用時 및 蒸溜水-methanol 2:3 混合使用時는 乾燥速度가 迅速하고 좋았으나 吸着劑를 硅藻土 단독 또는 硅藻土의 量이 活性白土에 비해 多量混合 되었을 때는 薄層製作 乾燥後 試料를 薄層版에 spot 했을 때 試料가 많이 飛어나는 傾向이 있었으며, 軟化溶媒로 蒸溜水-methanol 1:1 의 同量

混合 使用時가 가장 사용하기 適合하였다.

2. 矽藻土와 活性白土의 混合比

本 實驗에서 最適의 吸着劑를 찾기 위하여 矽藻土 단독, 矽藻土와 活性白土를 適當比로 混合한 것 및 活性白土 단독으로 實驗한 結果는 Table 2와 같다.

Table 2에서 보는 바와 같이 矽藻土 單獨使用時는 各成分의 選擇性이 없이 展開溶媒와 같이 긴 tail

을 보이며 展開되었고, 矽藻土가 活性白土에 비하여 多量混合되었을 경우는 Rf 値가 크게 나타나며 分離能이 좋지 않았다. 또 矽藻土가 活性白土에 비하여 少量混合時는 Rf 値가 너무 작게 나타나며 역시 분리능이 좋지 않았다.

여기서 活性白土와 矽藻土가 同量混合 되었을 때가 가장 結果가 좋았다.

Table 2. Rf values of selected colorants on different adsorbent system in same solvent system

colorants	commercial name	adsorbents (Kieserguhr : activated clay)		
		3 : 2	1 : 1	2 : 3
식용색소 황색 1 호	Naphthol yellows	0.84	0.73	0.54
식용색소 황색 3 호	Yellow AB	0.89	0.82	0.63
식용색소 황색 4 호	Yellow OB	0.53	0.59	0.42
식용색소 황색 5 호	Tartrazine	0.75	0.67	0.48
식용색소 적색 1 호	Ponceau 3 R	0.75	0.62	0.47
식용색소 적색 2 호	Amaranth	0.58	0.33	0.44
식용색소 적색 3 호	Erythrosine	0.97	0.91	0.69
식용색소 적색 4 호	Poceau SX	0.72	0.57	0.43
식용색소 적색 102 호	New coccine	0.63	0.42	0.32
식용색소 적색 104 호	Phroxine	0.93	0.85	0.60
식용색소 적색 105 호	Rose bengale	0.99	0.95	0.72
식용색소 적색 106 호	Acid red	0.50	0.23	0.17
식용색소 청색 1 호	Brilliant blue	0.53	0.12	0.12
식용색소 청색 2 호	Indigo tine	0.85	0.74	0.56
식용색소 녹색 1 호	Guinea green B	0.23	0.05	0.03
식용색소 청색 2 호	Light green SF	0.12	0.03	0.03
식용색소 청색 3 호	Fast green FCF	0.08	0.02	0.02
식용색소 자색 1 호	Wool violet 5 BN	0.05	0.02	0.02

solvent system; n-butanol : glacial acetic acid : absolute ethanol (2 : 1 : 6)

3. 乾燥 및 活性條件

最適分離條件을 얻기 위하여 앞의 操作法에 따라 薄層을 乾燥 및 活性化 시켜 實驗한 結果는 Table 3과 같다.

Table 3에서 보는 바와 같이 加熱活性化를 시키지 않고 室溫에서 風乾하여 그대로 사용한 것이 좋은 結果를 보였다.

4. 展開溶媒의 選擇

本 實驗에서 最良의 展開溶媒를 選擇하기 위하여

數種의 溶媒를 混合하여 實驗한 結果는 Table 4와 같다.

Table 4에서 보는 바와 같이 水分이 含有된 展開溶媒의 경우 薄層版의 脫落이 쉽게 일어나 使用이 不可하였으며, 本實驗에서 最適展開溶媒로는 n-butanol과 glacial acetic acid 및 absolute ethanol을 2 : 1 : 5의 비율로 混合된 水分이 含有되지 않은 溶媒이었다.

Table 3. Rf Values of selected colorants on Kieserguhr-clay plate under Different Surface conditions

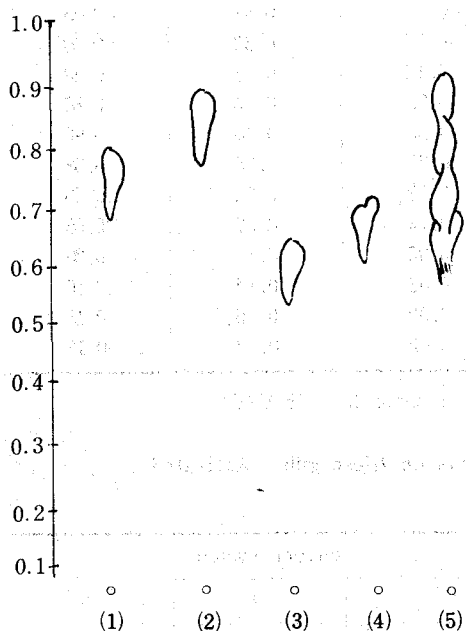
colorants	commercial name	condition of plate		
		air dried	activated at 110°C for 1 hr	activated at 110°C for 1 hr after 1 day old
식용색소 황색 1 호	Naphthol yellow B	0.73	0.69	0.67
식용색소 황색 3 호	Yellow AB	0.82	0.77	0.77
식용색소 황색 4 호	Yellow OB	0.59	0.60	0.61
식용색소 황색 5 호	Tartrazine	0.67	0.66	0.61
식용색소 적색 1 호	Ponceau 3 R	0.62	0.63	0.62
식용색소 적색 2 호	Amaranth	0.33	0.41	0.43
식용색소 적색 3 호	Erythrosine	0.91	0.87	0.85
식용색소 적색 4 호	Ponceau SX	0.57	0.60	0.59
식용색소 적색 102 호	New coccine	0.42	0.47	0.48
식용색소 적색 104 호	Rose Bengale	0.85	0.82	0.80
식용색소 적색 105 호	Acid Red	0.95	0.90	0.90
식용색소 적색 106 호	Acid Red	0.23	0.33	0.38
식용색소 청색 1 호	Brilliant blue	0.12	0.22	0.25
식용색소 청색 2 호	Indigotine	0.74	0.67	0.65
식용색소 녹색 1 호	Guinea green B	0.05	0.12	0.08
식용색소 청색 2 호	Light green SF	0.03	0.12	0.10
식용색소 청색 3 호	Fast green FCF	0.02	0.15	0.13
식용색소 자색 1 호	Wool violet 5 BN	0.02	0.12	0.13

solvent system ; n-butanol : glacial acetic acid : absolute ethanol (2 : 1 : 5 V/V)

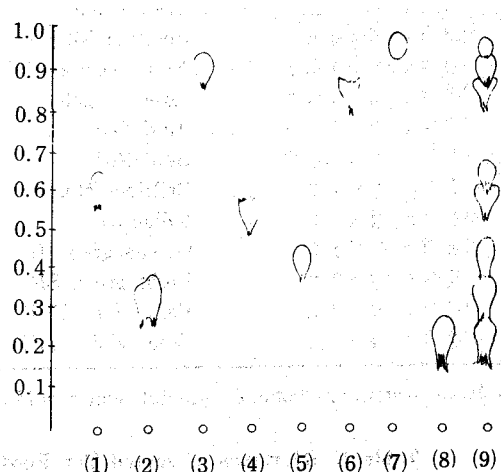
Table 4. Rf values of selected Tar Food colorants on Kieserguhr- Activated Clay in various solvent systems

colorants	commercial name	solvent system		
		1	2	3
식용색소 황색 1 호	Naphthol yellows	0.73	0.68	0.58
식용색소 황색 3 호	Yellow AB	0.82	0.75	0.72
식용색소 황색 4 호	Yellow OB	0.59	0.50	0.47
식용색소 황색 5 호	Tartrazine	0.67	0.63	0.52
식용색소 적색 1 호	Ponceau 3 R	0.62	0.46	0.48
식용색소 적색 2 호	Amarance	0.33	0.34	0.38
식용색소 적색 3 호	Erythrosine	0.91	0.70	0.69
식용색소 적색 4 호	Ponceau SX	0.57	0.49	0.50
식용색소 적색 102 호	New Coccine	0.42	0.38	0.37
식용색소 적색 104 호	Phloxine	0.85	0.60	0.65
식용색소 적색 105 호	Rose bengale	0.95	0.77	0.69
식용색소 적색 106 호	Acid red	0.23	0.24	0.27
식용색소 청색 1 호	Brilliant blue	0.12	0.12	0.22
식용색소 청색 2 호	Indigotine	0.74	0.58	0.68
식용색소 녹색 1 호	Guinea green	0.05	0.05	0.12
식용색소 청색 2 호	Light green SF	0.04	0.02	0.02
식용색소 청색 3 호	Fast Green FCF g	0.02	0.02	0.03
식용색소 자색 1 호	Wool violet 5 BN	0.02	0.02	0.03

- 1 : n-Butanol + Glacial Acetic Acid + Absolute Ethanol (20+10+50)
- 2 : n-Butanol + Glacial Acetic Acid + Absolute Ethanol (40+10+50)
- 3 : n-Butanol + Glacial Acetic Acid + n-propanol (40+40+20)
- * 4 : Chloroform + Methanol (90+10)
- * 5 : Benzene + Methanol (90+10)
- * 6 : n-Butanol + Glacial Acetic Acid + Water (40+10+50)
- * 7 : n-Butanol + Formic Acid (80+20)
- * 8 : n-Butanol + Pyridine + Water (50+30+ 0)
- * Easily flaked off



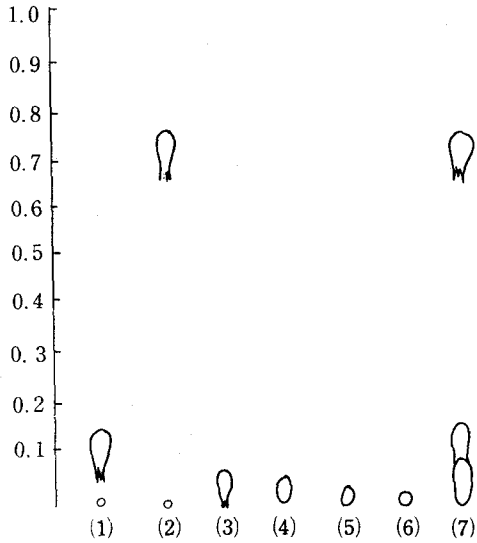
- (1) food colorant yellow No. 1
- (2) food colorant yellow No. 3
- (3) food colorant yellow No. 4
- (4) food colorant yellow No. 5
- (5) mixture of (1) (2) (3) (4)



- (1) food colorant red No. 1
- (2) food colorant red No. 2
- (3) food colorant red No. 3
- (4) food colorant red No. 4
- (5) food colorant red No. 102
- (6) food colorant red No. 104
- (7) food colorant red No. 105
- (8) food colorant red No. 106
- (9) mixture of (1) ~ (8)

Fig. 1. Selected colorants (yellow series) on kieserite-activated clay (1 : 1 W/W) in n-butanol-glacial acetic acid-absolute ethanol (2 : 1 : 5 V/V) (air dried) air

Fig. 2. Selected colorants (red series) on kieserite-activated clay (1 : 1 W/W) in n-butanol-glacial acetic acid-absolute ethanol (2 : 1 : 5 V/V) (air dried)



- (1) food colorant blue No. 1
- (2) food colorant blue No. 2
- (3) food colorant green No. 1
- (4) food colorant green No. 2
- (5) food colorant green No. 3
- (6) food colorant violet No. 1
- (7) mixture of (1)~(6)

Fig. 3. Selected colorants on kieserguhr-activated clay (1 : 1 W/W) in n-butanol-glacial acetic acid-absolute ethanol (2 : 1 : 5 V/V) (air dried)

結 論

이상의 實驗으로 구하기 쉽고 廉價인 國內産의 活

性白土와 硅藻土가 食用 tar 色素 分離分析用 薄層 chromatography 吸着劑로 사용될 수 있음을 알았으며, 이때의 最適條件은 다음과 같다.

1. 軟化溶媒로는 물이나 methanol 의 同量 混合時가 가장 좋았다.
2. 吸着劑로는 硅藻土와 活性白土를 1 : 1 로 混合하여 사용할 때가 가장 좋았다.
3. 展開溶媒로는 水分이 함유되지 않은 溶媒를 사용해야 하며 n-butanol+glacial acetic acid+absolute alcohol (2 : 1 : 5)일 때가 가장 좋았다.
4. 薄層版의 乾燥條件으로는 室溫에서 風乾하여서 사용한 것이 活性化 시킨 것보다 分離能이 좋았다.

References

- 1) J. M. Miller, J. G. Kirchner : Anal. Chem., 26, 2002 (1954)
- 2) R. H. Reistma : Anal. Chem., 26, 960 (1954)
- 3) Egon Stahl : Thin-Layer Chromatography, p. 27 (1973)
- 4) F. C. den Boer : Anal. Chem., 205, 308 (1964)
- 5) G. H. Giles : Chromatography, Chap. 4 (1954)
- 6) H. Brockman, H. Muxfeldt : Z. Chem. Ber., 91, 1242 (1958)
- 7) J. Vaedke, A. Gajewska, A. Czarkoka : J. Chromatog., 12, 208 (1963)
- 8) J. W. Copius-Peereboom, H. W. Beeks : J. Chromatog., 17, 99 (1965)
- 9) T. F. Brodasky : Anal. Chem., 35, 343 (1963)