

Sodium Dodecyl Sulfate 수용액에서 Thiazine계 색소들의 회합현상에 관한 연구

崔虎燮 · 金興斗[†]

군산대학교 자연과학대학 화학과

[†]군산전문대학 임상병리과

(1995. 10. 26 접수)

The Studies on Aggregation of Thiazine Dyes in Aqueous Solution of Sodium Dodecyl Sulfate

Ho-Soeb Choi and Heung-Tu Kim[†]

Department of Chemistry, Kunsan National University, Kunsan 570-360, Korea

[†]Department of Clinical Pathology, Kunsan Junior College, Kusan 573-110, Korea

(Received October 26, 1995)

Thiazine계 색소를 비롯한 여러 종류의 양이온 유기색소들이 나타내는 분광학적 특징인 metachromasy 현상은 순수한 수용액에서 나타나는 경우와 이물질의 첨가에 의해서 나타나는 경우의 두 가지가 있다. 특히 고분자 전해질 및 생체 고분자물질 등을 첨가하였을 때 나타나는 metachromasy 현상은 과거 수십년 동안 흡수 분광학적으로 연구되었다.¹⁻⁵ 고분자 전해질의 첨가에 의해서 나타나는 metachromasy는 Bradley와 Wolf의 stacking 이론으로 잘 설명되며, stacking tendency를 이용하여 고분자 전해질과 색소분자 간의 stacking 효과를 정량적으로 설명할 수 있다.⁶ 근래에는 계면활성제의 존재하에서 색소분자의 회합현상에 대한 연구가 흡수 및 형광 분광학적으로 활발히 연구되고 있다. 전보⁷에서 CMC보다 낮은 농도의 SDS(sodium dodecyl sulfate)의 존재하에서 acridine계 색소 거동을 Robinson⁸과 Vitagliano⁹가 제안한 색소분자(*i*) 주위에 계면활성제분자(*j*)가 결합한 회합체(A_{ij})에 색소분자(*D*)나 계면활성제 monomer 분자(*S*)가 첨가되는 반응 모델을 이용하여 SDS 존재하에서 acridine계 색소의 회합상수인 K_D 와 K_S 를 구하여 이 값들을 이용하여 자유에너지를 계산하여 회합효과를 정량적으로 고찰한 바 있다. 본 연구의 목적은 전보의 모델을 thia-

zine계 색소인 thionine(TH), methylene blue(MB) 및 toluidine blue(TB)에서도 전보의 모델이 잘 적용되며, 이 모델로부터 SDS-TH, SDS-TB 및 SDS-MB계의 색소분자들의 회합평형상수(K_D)를 구하며 구한 K_D 값을 이용하여 자유에너지(free energy)를 계산하여 색소분자의 회합효과를 정량적으로 고찰하는데 있으며 또한 여러 온도에서의 평형상수와 자유에너지를 구하여 계면활성제 존재하에서 회합체 형성시 농도와 온도변화 그리고 형광강도 세기의 변화양상을 제시하고자 한다. Quinoneimines계열의 thiazine dye들은 450~700 nm의 파장범위에서 흡수현상을 보이며, 생체조직의 염색 및 염료공업 그리고 사진 공업 등에 유용하게 사용되고 있다.^{10,11}

본 연구에서 사용한 TH, TB, MB 및 SDS는 Aldrich사 및 Sigma사에서 구입하여 더 이상 정제하지 않고 사용하였다. 흡수 spectra 및 형광 spectra의 측정에는 Gilford사의 UV/visible spectrophotometer와 KONTRON사의 SFM25 spectrofluorimeter를 사용하여 측정하였다. 형광 측정시 온도조절은 EYELA water bath SB-9를 사용하였고 형광측정시 여기 파장은 흡수 spectra에서 발견된 등흡광점을 이용하였다. 모든 실험에 사용된 SDS의 농도는 사용한 모델이 형광소광을 근거로 하여 K_D 값을 얻기

때문에 형광소광 현상이 발생하는 SDS의 농도범위를 선택하여 실험하였다. 형광소광 현상은 SDS의 농도가 매우 묽은 경우(CMC 이하의 농도) 나타났으며, SDS의 농도가 CMC부근에 도달하면 형광강도 세기의 증가현상이 나타났다. 따라서 SDS의 농도가 CMC보다 높은 농도인 경우는 고려하지 않았다.

Fig. 1은 25 °C에서 $[TB]=1.0 \times 10^{-5}$ M의 수용액에 여러가지 농도의 SDS를 첨가했을 때의 TB의 흡수 spectra 변화를 나타낸 것이다. 매우 묽은 농도의 TB용액에서 관찰되는 최대 흡수대($\lambda_{max}=630$

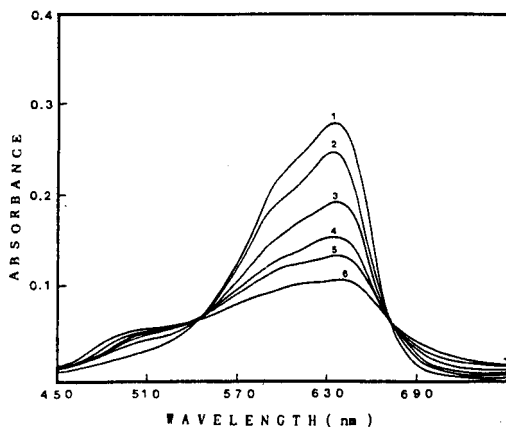


Fig. 1. The spectra of toluidine blue (1×10^{-5} M) in the presence of sodium dodecyl sulfate; (1) 0 M, (2) 3×10^{-5} M, (3) 9×10^{-5} M, (4) 1.6×10^{-4} M, (5) 2.5×10^{-4} M, (6) 5.2×10^{-4} M.

nm)의 흡수강도는 SDS의 농도가 증가함에 따라 감소하는 동시에 이보다 훨씬 단파장 위치에서 새로운 흡수대가 나타나는 것을 관찰할 수 있으며, 545 nm에서 등흡광점이 관찰된다. TH 및 MB의 흡수 spectra의 변화 양상 또한 TB와 유사하였으나, TH는 SDS의 농도변화에 따라서 장파장 영역(약 597 nm)에서 흡수대가 관찰되었다. 색소-계면활성제에서 나타나는 흡수 spectra의 특성적 변화는 색소분자와 계면활성제 분자간의 정전기적 상호작용에 의한 색소-계면활성제 착화합물의 형성에 의한 색소분자들의 회합현상으로 알려져 있으며^{6,12} 회합된 색소분들의 기하학적 공간 배열에 따라서 단파장쪽으로 이동된 흡수대와 장파장쪽으로 이동된 흡수대가 나타나는 것으로 알려져 있다.^{13,14}

Fig. 2에서 A, B, C, D, E는 10, 25, 40, 55 및 70 °C에서 SDS를 농도별로 첨가하여 얻은 TB의 형광 spectra의 변화를 각각 나타낸 것이며 SDS의 농도를 증가시켰을 때의 형광강도 세기는 10 °C에서보다 점차 높은 온도 일수록 증가하였으며 순수한 색소만의 형광강도세기도 55 °C 이상에서는 증가하였다. 즉 SDS의 농도 증가에 따라서 모든 온도에서 형광소광 현상이 관찰되며, 형광소광 정도가 온도에 따라서 조금씩 다른 것을 관찰할 수 있다. 계면활성제 존재하에서 나타나는 형광소광은 색소분자의 회합과 착화합물의 형성에 의한 것으로 알려져 있으며¹⁵ 이

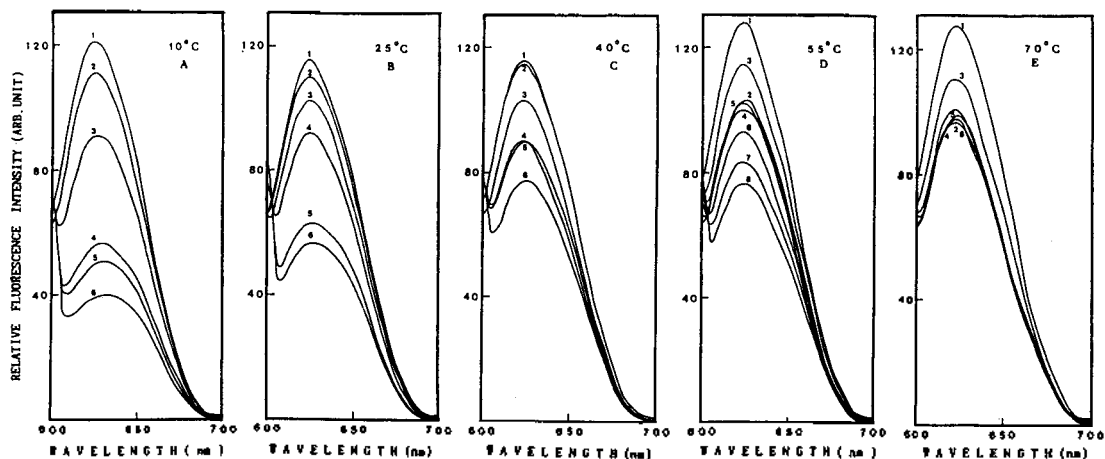


Fig. 2. Change of the relative fluorescence intensities of toluidine blue at 10 °C (A), 25 °C (B), 40 °C (C), 55 °C (D) and 70 °C (E) upon addition of sodium dodecyl sulfate; (1) 0 M, (2) 3×10^{-5} M, (3) 9×10^{-5} M, (4) 1.6×10^{-4} M, (5) 2.5×10^{-4} M, (6) 3.2×10^{-4} M.

Table 1. Equilibrium constant for dye aggregation in the presence of SDS at several temperatures

System	Equilibrium constant									
	10 °C		25 °C		40 °C		55 °C		70 °C	
	$K_D \times 10^4$	$K_S \times 10^3$	$K_D \times 10^4$	$K_S \times 10^3$	$K_D \times 10^4$	$K_S \times 10^3$	$K_D \times 10^4$	$K_S \times 10^3$	$K_D \times 10^4$	$K_S \times 10^3$
TH-SDS	6.8	2.0	5.0	2.3	3.5	3.9	2.8	3.1	2.2	2.4
MB-SDS	18	0.7	15	0.5	10	0.58	8	0.28	7.0	0.32
TB-SDS	5.6	1.1	2.2	1.7	1.9	0.78	1.8	0.80	1.6	0.82

Table 2. Free energy for dye aggregation in the presence of SDS at several temperatures

System	Free energies (kcal/mole)									
	10 °C		25 °C		40 °C		55 °C		70 °C	
	$-\Delta G_D$	$-\Delta G_S$	$-\Delta G_D$	$-\Delta G_S$	$-\Delta G_D$	$-\Delta G_S$	$-\Delta G_D$	$-\Delta G_S$	$-\Delta G_D$	$-\Delta G_S$
TH-SDS	6.589	4.495	6.407	4.570	5.994	4.889	5.802	4.760	5.921	4.596
MB-SDS	7.165	3.935	7.057	3.680	6.817	3.768	6.685	3.336	6.606	3.415
TB-SDS	6.474	4.147	5.921	4.397	5.847	3.943	5.934	3.958	5.732	3.896

와 같은 현상을 정량적으로 고찰하기 위해서 전보⁷에서 보고한 평형상수 계산 방법에 의해서 각각의 온도에서 평형상수를 구하여 Table 1에 보였으며 이 값들을 이용하여 계산한 자유에너지 값을 Table 2에 제시하였다.

계산된 상수의 값들을 전체온도에서 살펴보면 TB-SDS계의 K_D 값이 전반적으로 가장 낮게 나타나고 MB-SDS계의 값이 가장 크게 나타나고 있다. 이러한 결과부터 MB는 SDS의 존재하에서 회합효과가 상대적으로 크고, TB는 상대적으로 회합효과가 적음을 나타내는 것으로 볼 수 있으며 이것은 색소분자들의 구조적 특성에 의한 것으로 사료된다. 한편 온도의 증가에 따라서 K_D 값의 감소현상이 TH, TB 및 MB에서 관찰된다. 이와 같은 현상은 온도의 상승에 기인한 분자 운동의 활성화가 색소-계면활성제계의 분자회합을 저해하는 동시에 색소분자의 회합효과를 감소시키는 까닭으로 설명된다. 순수한 수용액에서 나타나는 색소분자의 회합효과는 온도의 증가에 따라서 감소하는 것으로 알려져 있으며^{16,17} 계면활성제의 존재하에서도 온도 증가에 따라서 색소분자의 회합효과가 감소될 것으로 기대된다. 결론적으로, 전보에서 사용한 모델이 TH-SDS, TB-SDS 및 MB-SDS계에서 잘 적용되며, K_D 값의 비교결과 색소분자의 회합효과는 MB>TH>TB 순으로 증가

하고 $-\Delta G_D$ 값은 MB보다 TH, TB가 높게 나왔으며 TH, TB 및 MB의 색소분자의 회합효과는 온도 증가에 따라서 감소하였으나, 이 회합효과는 어느 온도에서나 MB>TH>TB 순서임을 알 수 있었다.

인 용 문 헌

1. Michaelis, L.; Granick, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1945**, *69*, 1212.
2. Sheppard, L. E. *Rev. Mod. Phys.* **1942**, *14*, 303.
3. Rabinowitch, E.; Epstein, L. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, *63*, 69.
4. Fujimoto, B.; Clendenning, S.; Delrow, J. B.; Heath, P. J.; Schurr, M. J. *Phys. Chem.* **1994**, *98*, 6633.
5. Tanford, C. T. *J. Phys. Chem.* **1972**, *76*, 3020.
6. Bradley, D. F.; Wolf, M. K. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **1959**, *45*, 945.
7. Choi, H. S.; Kim, H. T. *J. Korean Chem. Soc.* **1995**, *39*, 143-149.
8. Robinson, B. H.; Loeffler, A.; Schwarz, G. J. *Chem. Soc.; Faraday Trans.* **1973**, *69*, 56.
9. Vitagliano, V. In *Aggregation Processes in Solution*; Wyn-Jones, E., Gormally, J. Eds.; Elsevier: Amsterdam, 1983; p 271.
10. Fujita, S. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 177.
11. Shimura, M.; Shakushiro, K.; Y. Shimura, J. *Appl.*

- Electrochem.* **1986**, *16*, 638.
12. Yamaoka, K.; Takatsuki, M.; Yaguchi, Y.; Miura, M. *ibid.* **1974**, *47*, 611.
13. Ghosh, A. K.; Mukerjee, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 6408.
14. Rohatgi, K. K.; Singhal, J. *J. Phys. Chem. Soc.* **1966**, *70*, 1695.
15. Sato, H.; Kawasaki, M.; Kasatani, K. *J. Photochem.* **1981**, *17*, 243.
16. Lemin, D. R.; Vikerstaff, T. *Trans. Faraday Soc.* **1947**, *43*, 491.
17. Selwyn, J. E.; Steinfeld, J. I. *ibid.* **1972**, *76*, 762.