

## 과산화수소/자외선/산소 처리를 이용한 베르베린 염료 및 염직물의 퇴화거동 연구

안 춘 순<sup>†</sup>

인천대학교 패션산업학과

### Study on the Degradation Behavior of Berberine Dye and Berberine Dyed Silk using Hydrogen Peroxide/UV/Oxygen Treatment

Cheunsoon Ahn<sup>†</sup>

Dept. of Fashion Industry, University of Incheon

(2011. 12. 28. 접수일 : 2012. 2. 21. 수정완료일 : 2012. 4. 2. 게재확정일)

#### Abstract

This study examined the degradation behavior of SB(standard berberine) dye and SB dyed silk using HPLC-MS instrument after degradation in the hydrogen peroxide/ultraviolet ray radiation/oxygen system up to 9 days and 40 hours respectively. In the degraded samples, berberine was detected at 5.2 min in the SB dye and 5.3 min in the SB dyed silk with its molecular ion=336 and the UV spectra of quaternary alkaloid. Degradation product 3(m/z=102) newly appeared after 5 day degradation treatment with continued increase till the end of degradation treatment. The amount of berberine in the degraded dye decreased with degradation progression. In the silk dyeings, berberine was detected only up to 21 hour degradation sample. The amount of berberine decreased dramatically during the first 6 hours of degradation treatment. The CIELAB color measurement of the silk dyeings showed dramatic change in the b\* value, near zero in the 40 hour degraded silk. CIELAB and Munsell color measurements were in agreement with the HPLC-MS results of the dyed silk in the change of berberine content that the degraded silk became white and lost yellow color.

*Keywords: berberine(베르베린), degradation(퇴화), Phellodendron bark(황백), HPLC-MS(고속 액체 크로마토  
그래피 질량분석), color measurement(측색)*

#### I . Introduction

본 연구는 출토복식의 염료성분 판정을 위한 장기적인 프로젝트의 일환으로서, 황백의 주 염료성분인 베르베린의 표준염료를 실험실 조건에서 퇴화

시킨 후 HPLC-MS를 이용해 분석하여 그 퇴화거동과 퇴화물을 조사하는데 목적을 두었다. 또한 베르베린 표준염료로 염색한 견직물을 베르베린 표준염료와 같은 조건으로 퇴화시킨 후, 그 퇴화거동 및 색상변화를 베르베린 표준염료의 퇴화거동과 비교하여 출토복식의 염료판정을 위한 기초자료로 활용

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(No.: 2011-0003847).

<sup>†</sup> 교신저자 E-mail : cssong@incheon.ac.kr

하고자 하였다.

국내에서 발굴되는 출토복식은 주로 17세기 말~18세기 경 상류층 사대부가의 유물(Park, 1998)로서, 발굴 당시에 고유색의 식별이 다소 가능하더라도 유물 회수와 보존처리 과정에서 심하게 갈변되어 고유색을 식별하는 것이 불가능해진다(Ahn, 2006). 현재, 국내 박물관에서는 출토복식이 발굴된 뒤에 주로 수세 등의 보존처리 과정을 거쳐 유물의 장기 보관 및 전시를 준비하고 있는데, 발굴되는 대부분의 복식유물이 천연염료로 염색한 19C 이전의 유물들임을 감안할 때 보존처리에 따른 추가적인 유물의 퇴색이 우려된다. 이를 최소화할 수 있는 한 방안으로서 유물에 사용된 염료를 판별하여 각 염료에 적합한 보존처리 과정을 도입하는 것이 필요하다.

과거 우리나라에서 사용되었던 천연염료들은 대부분 식물성 염료로서, 식물 원료에 함유되어 있는 색소에 의해 염료 고유의 색상을 발현한다. 출토복식이 퇴색된 데에는 여러 가지 경로가 있겠으나, 가장 주된 요인으로서 매장 환경 내의 미생물에 의한 천연염료의 화학적 변질을 들 수 있다. 즉, 산화작용 등의 퇴화에 의해 염료는 본래의 분자구조를 잃게 되며 퇴화 기간 혹은 정도에 따라 분자구조를 유지하는 염료의 수가 감소할 것으로 추측된다. 이와 관련하여 선행연구에서는 천연염료의 주색소 성분의 함량이 염료의 퇴화에 의해 달라지거나 감소한다는 것을 확인하였다(Ahn & Obendorf, 2004; Ahn & Obendorf, 2007).

복식유물의 고유색 판정을 목적으로 지금까지 국외에서 발표된 연구들을 보면 크게 자외·가시광선 분광분석, 푸리에 변환 적외선 분광분석 등 색소추출액의 분광학적 특성을 바탕으로 표준시료와 비교분석한 것들과 thin layer chromatography(TLC) (Schweppe, 1989), GC-MS(Grosjean, Whitmore, Moor, Cass, & Druzik, 1988), HPLC(Wouters, 1985), HPLC-DAD-MS(Berghe, Gleba, & Mannering, 2009; Petrovicu, Albu, & Medvedovici, 2009; Zhang, Boytner, Cabera, & Larsen, 2007; Ahn, Zeng, & Obendorf, in print) 등 색소추출액의 성분에 따른 분리저동을 바탕으로 비교분석한 것들이 있으며, TOF-SIMS와 MALDI-TOF와 같이 시료 표면의 ion sputtering에 의한 molecular

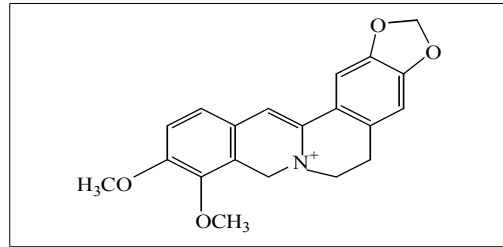
ion의 검출로 염료를 분석한 것들(Lee et al., 2008)이 있다. 이 중 HPLC-DAD-MS법은 시료의 자외선 및 가시광선 영역의 최대흡수 파장과 ESI(Electrospray ionization)와 APCI(Atmospheric pressure chemical ionization) 질량분석법의 음이온 모드(negative ion mode) 혹은 양이온 모드(positive ion mode)를 이용해 시료의 molecular ion을 검출하는 방법으로서, 가장 널리 성공적으로 이용되고 있다. HPLC-MS를 활용한 연구로 다음과 같은 연구들을 들 수 있다. Zhang et al.(2007)은 페루 북쪽에서 발굴된 A.D. 1050~1200년경의 pre-Columbian 시대 유물을 HPLC-DAD-MS로 분석하여 노란색을 띠는 염료를 중심으로 염료 판정을 하였다. Berghe et al.(2009)은 500 B.C.에서 A.D. 400년에 이르는 스칸디나비아 반도 토탄지역의 선사시대 유물을 HPLC-DAD-MS법으로 분석하여 유물들이 낙화생의 함유물인 luteolin, 과일에 포함된 flavonoid류인 apigenin, 과일, 야채에 함유되어 있는 ellagic acid 등 세 가지 염료로 염색되어 있음을 확인하였다. Ahn et al.(in print)은 17세기 조선시대 복식유물 20여점을 HPLC-DAD-MS로 분석하여 3점이 황백으로 염색되었음을 berberine과 palmatine의 검출로 확인하였다.

본 연구에서는 천연 식물성 염료 중 황백의 주색소 성분 berberine에 대해 과산화수소/자외선/산소(이하 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV/O<sub>2</sub>로 표기) 처리를 이용해 실험실 퇴화 환경을 모의 조작함으로써 berberine 염료의 퇴화저동을 조사하였으며, 퇴화물질의 분석에는 고속 액체 크로마토그래피 질량분석법(이하 HPLC-MS로 표기)을 활용하였다. 황백으로부터 추출한 염료와 SD 염료에 대해 100℃ 오븐법 및 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV/O<sub>2</sub> 처리로 퇴화시킨 시료를 GC-MS법으로 분석한 선행연구에서는 퇴화시간 경과에 따라 berberine 함량이 변화하고, isobenzofuran-1,3-dione,4,5-dimethoxy- (분자량: 208)와 1,3-dioxolo[4,5-g]isquinolin-5(6H)-one (분자량: 191)와 같은 퇴화물의 검출량이 증가하는 것을 확인하였다(Ahn, 2009; Ahn, 2010). 그러나 GC-MS 분석법의 경우, 극미량 성분의 검출이 가능하여 분자량이 작은 퇴화물질의 분석에는 용이한 반면, berberine 분자를 molecular ion 상태로 검출하기 어려운 점이 있었다(Ahn, 2009; Ahn, 2010). HPLC-MS 분석법은 염료와 같이 수용성이며 중간 크기의 질량을

갖는 물질에 대해 우수한 검출력과 편리성을 동시에 지니므로 본 연구에서는 HPLC-MS 분석을 활용하여 SD 염료의 퇴화거동과 SD 염료로 염색한 견직물의 퇴화거동을 조사하고자 한다. 본 논문에서는 용어의 혼돈을 피하기 위해 실험을 위해 구입한 표준염료 베르베린을 지칭할 때는 SD(standard dye)로 표기하고, 황벽에 포함된 색소 화합물로서의 berberine 및 HPLC-MS로 검출되는 berberine 화합물을 지칭할 때에는 영문으로 'berberine'으로 표기하였다.

## II. Theoretical Background

황벽은 운향과(Rutaceae)에 속하는 낙엽활엽교목으로서, 학명이 *Phellodendron amurense* Rupr. 혹은 *Phellodendron chinense* Rupr.인 종자가 널리 알려져 있으며, 이들 종자의 일반명칭은 각각 amur cork tree와 Chinese cork tree이다(Hu, Su, Sze, Ye, & Tong, 2010; Read & Zasada, 2008). 황벽은 한국, 중국, 일본 등 아시아 지역에 널리 분포하고 있는데, *Phellodendron amurense* Rupr.은 원산지가 한국으로 알려져 있으며, *Phellodendron chinense* Rupr.은 중국이 원산지인 것으로 알려져 있다(Chan, Chu, Mok, & Chau, 2007; Hu et al., 2010). 황벽의 나무 껍질을 말린 것을 황백(*Phellodendron bark*)이라 부르며, 예로부터 아시아 각지에서 민간 의약품의 원료로 사용되었다(Drasar & Moravcova, 2004). 황벽에는 berberine, palmatine, jatrorrhizine, coptisine 등 수종의 4차 혹은 3차의 protoberberine 계 염기(alkaloid)가 존재하는 것으로 알려져 있다(Hu et al., 2010). 이들은 향미생물성, 항염증성, 내충성 등의 기능을 갖고 있어, 전통 의학학 분야에서 중요한 성분으로 연구되고 있다(Lee, Eom, & Eom, 1999; Lee et al., 2007; Li, Wang, & Yan, 2007; Suto et al., 1997). 황벽에 함유되어 있는 성분 중 함유량이 가장 많은 것은 berberine이며(Lee et al., 1999; Li et al., 2007), palmatine, jatrorrhizine 등도 주요한 4차 염기물질(quaternary alkaloid)로 알려져 있다. 본 논문에서 다루고자 하는 berberine( $[C_{20}H_{18}NO_4]^+$ , 분자량=336)은 노란색 결정으로서 황벽나무의 내피에 함유되어 있고, alkaloid 계의 황색색소에 속한다(Hu et al., 2010;



<Fig. 1> Structure of berberine.

Li, et al., 2009)(Fig. 1). Berberine은 천연 색소 중 유일하게 염기성 염료로서, 분자구조가 갖고 있는 양이온성 질소원자로 인해 향미생물성, 내충성, 방취 성능을 지니며, 단백질 섬유에 대해 강한 친화력을 갖고 있어 기능성 천연 염료성분으로서도 주목을 받고 있다(Kim, Yoon, Lim, & Son, 2003).

출토복식에서 관찰되는 손상 중에서 가장 눈에 띄는 현상 중 하나는 심한 변퇴색인데, 푸른색이 남아 있는 일부 유물의 경우를 제외하고 대부분의 출토복식은 갈변되어 고유색을 식별하는 것이 불가능하다(Ahn, 2006; Berghe et al., 2009; Choo & Lee, 2002). 출토복식에 색상이 남아 있는 경우에는 그 색상을 토대로 몇 가지 가능한 천연염료로 압축하여 분석을 시행할 수 있겠으나(Wouters, 1985), 심한 퇴색과 땅 속 유기물로 인한 얼룩에 의해 고유 색상을 식별하기 어려운 경우에는 염료판정에 필요한 대조구 천연염료를 선정하는 것이 어렵다. 또한 장기간에 걸친 관 속의 매장환경을 실험실 환경에서 시뮬레이트한다는 것은 매우 어려운 일이다. Needles, Cassman, and Collins(1986)는 alizarin 등의 천연염료로 양모와 실크를 염색한 후 땅 속 2.5cm 아래에 14일간 묻은 후 색상과 강도 변화를 연구하였는데, 그 결과 모든 염료의 색이 어둡게 변색되었다고 보고하였다. Peacock(1996)은 색상 변화와는 관련이 없지만, 직물을 땅 속에 묻고 직물의 퇴화하는 정도를 관찰하였다. Lee, Hong, Kim, and Bae(2001)는 소목, 황벽, 자초로 면과 견을 염색한 후 공기 중, 물 속, 땅 속에 각각 1년 정도 보관하여 색 및 물성 변화를 조사하였는데, 황벽으로 염색한 면직물은 공기와 물 속 보관에 의해서는 변화가 없었으나 땅 속 보관 후 명도가 저하하였고, 견직물은 모든 경우 색이 어두워졌다고 보고하였다. 직물의 땅에 묻

는 방법은 복식유물의 매장환경을 시뮬레이트할 수 있는 좋은 방법으로 보이지만, 실제로 이와 같은 매장은 시신과 함께 묻혀 있는 관 속의 매장환경과 전혀 다르며, 매장 기간 또한 수백 년간의 매장 기간을 대체하기 어렵다.

폐수처리 연구분야에서는 하천으로 염색폐수를 안전하게 방출하기 위해 박테리아를 이용한 염색폐수의 생물학적 분해이론이 활발하게 연구되고 있다. 관련 연구들에 의하면 *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*와 같은 white-rot fungi(Jarosz-Wilkolazka, Kochmanska-Rdest, Malarczyk, Wardas, & Leonowicz, 2002; Peralta-Zamora et al., 1999; Young & Yu, 1997), *G. candidum*(Kim, Ishikawa, Hirai, & Shoda, 1995), 그리고 *Trametes modesta*(Nyanhongo et al. 2002)는 염색폐수를 분해시키거나 퇴색시키는데 효과적이라고 하며, 그 원리는 이들 미생물이 생체 밖에서 lignin peroxidase나 manganese peroxidase와 같은 과산화수소계 효소를 생산하기 때문이라고 한다. 따라서 토양 중에 이들과 같은 미생물이 존재한다면, 토양 중에서 과산화수소가 발생할 것으로 예측할 수 있다.

한편, Scheck and Frimmel(1995)은 미생물 대사가 아니라도 토양 중에서 과산화수소의 발생이 가능함을 설명하였는데, 토양 중의 휴민산 물질이 환원하면 수퍼산소 라디칼을 발생하며, 이것은 토양 중의 물과 반응하여 과산화수소나 산소를 발생시킨다고 한다.

Reduction of humic substance  $\rightarrow O_2 \cdot^-$

$H^+ + O_2 \cdot^- \rightarrow HO_2 \cdot$

$HO_2 \cdot + HO_2 \cdot \rightarrow O_2 + H_2O_2$  (Scheck, & Frimmel, 1995)

Scheck and Frimmel(1995)의 이론은 Cooper and Lean(1989)에 의해 증명되었는데, 이들은 북아메리카 호수를 관찰한 결과, 맑은 날 호수의 과산화수소 농도가  $400(200) \times 10^{-9} M$ 이라고 보고하였다. 폐수처리와 관련된 산업 혹은 학문 분야에서는 박테리아가 방출하는 페록시니아아제(peroxidase)류 효소에 의한 염색폐수의 생물학적 분해를 응용하여 박테리아 대신 과산화수소를 이용해 공기 중에서 자외선을 조사하여 폐수를 분해하고 있으며, 때로는 과산

화수소와 자외선 외에  $TiO_2$ 를 함께 사용하기도 한다. 이와 같은 방법을 폐수처리 분야에서는  $H_2O_2/UV/O_2$ (Colonna, Caronna, & Marcandalli, 1999; Ince, 1999)법 혹은  $H_2O_2/UV/TiO_2$ (Liu, Wu, & Zhao, 1999)법이라고 부르고 있다.

Scheck and Frimmel(1995)의 이론으로 미루어 볼 때 출토복식이 수백 년간의 매장되어 있던 환경 중에는 미생물 대사 혹은 지하수에 의한 과산화수소의 발생이 가능했을 것으로 가정할 수 있다. 복식유물은 매장환경 안에서 발생한 과산화수소와 장기간 동안 접촉 혹은 결합 상태에 있었을 것이며 발굴작업에 의해 대기에 노출되면 자외선과 작용하여 hydroxy radical( $HO \cdot$ )이 발생하여 유물의 탈색을 유도하는 것으로 추측된다. 이와 같은 환경은 실험실 환경에서  $H_2O_2/UV/O_2$ 법 혹은  $H_2O_2/UV/TiO_2$ 법을 이용해 시뮬레이트할 수 있을 것으로 판단된다(Ahn & Obendorf, 2004; Ahn & Obendorf, 2007). 본 연구에서는 출토복식의 매장과 유사한 효과를 인위적으로 조작하기 위해  $H_2O_2/UV/O_2$  처리를 도입하여 SD 염료에 대해 퇴화실험을 진행하였고, 아울러 SD 염료로 염색한 견직물을 동일 조건으로 퇴화시킨 후 각각을 HPLC-MS로 분석하여 퇴화과정과 퇴화물질을 조사하였다.

### III. Research Method

#### 1. Material

SD 염료는 berberine chloride를 Sigma Aldrich (Milwaukee, WI, USA)에서 구입하여 사용하였다. 메탄올(HPLC급)은 Acros Organics(Morris Plains, NJ, USA), acetonitrile(HPLC급)은 EMD Chemicals(Gibbstown, NJ, USA), formic acid(ACS analytical reagent급)와 HPLC water(Chrom AR급)는 Mallinckrodt Baker(Phillipsburg, NJ, USA), 30%  $H_2O_2$ (AR select grade)는 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA), 염산(36.5~38 wt %, ACS grade)은 VWR Inc.(West Chester, PA, USA), NaOH는 Mallinckrodt Chemicals(Phillipsburg, NJ, USA), 백반 매염제(Potassium aluminum sulfate,  $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ )는 Shinyo Pure Chemicals(Osaka, Japan)에서 구입하였다. HPLC-MS 시료제작에는 유리섬유가 강화된  $0.45\mu m$  syringe filter(Alltech, Deerfield,

IL, USA)를 사용하였다. 견직물은 KS K0905 규격 물을 한국의류시험연구원(KATRI)에서 구입하였다. 염색에는 Barnstead Nanopure System을 갖춘 Corning Mega-pure MP(Millipore, Bedford, MA, USA)로 증류한 물(deionized water)을 사용하였다.

## 2. Experimental

### 1) Preparation and degradation of SD dye

SD 0.1g을 100mL의 메탄올에 용해하여 표준염료를 제조하였다. 전체 퇴화시간을 0~9일로 하고, 시료 vial(Fisher Scientific, 25mm×95mm)을 1 vial/day로 준비한 후 각 vial에 2mL의 표준염료를 주입하였다. 같은 vial에 다시 0.5mL의 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 수용액을 혼합한 후 365nm의 UV lamp 아래 염액의 액면과 lamp와의 거리가 약 9.3cm로 유지되고, 수직으로 조사되도록 장치하였다. 이 때 0 day 시료는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV 처리를 하지 않은 control 시료이다. 1~9일간 퇴화시간이 경과한 시료는 여과(0.45µm syringe filter)하고, 1mL를 취해 4배 희석한 후 HPLC 분석용 시료를 준비하였다.

### 2) Dyeing and degradation of silk fabric

염색은 약 2g 견직물로 진행하였으며, SD 2% owf 농도, 액비 30배로 하여 증류수로 염액을 제조하였다. SD를 사용한 염색에서는 매염제를 사용하지 않는 경우도 많으나(Lee et al., 2001), 본 연구에서는 Lee, Hwang, Jung, Do, and Kim(2010)에 따라 매염제를 사용하여 염색하였다. 견직물을 10% o.w.f의 매염제(Potassium aluminum sulfate)와 함께 액비 30배의 증류수에 넣고, 60℃에서 1시간 동안 선매염한 후, SD 염액에서 1시간 동안 60℃로 염색하였다. 새로운 매염제로 2차 매염한 후 앞서 사용한 염액으로 2차 염색하고 흐르는 물로 깨끗이 행군 후 증류수로 마무리 행군하였다. SD로 염색한 견직물에서 2.5cm×6cm 크기로 4장의 시료를 취해 각각 0시간(control), 6시간, 21시간, 40시간 퇴화 시료로 레이블하였다. H<sub>2</sub>O:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 9:1 v/v로 하여 만든 혼합액 20mL를 vial(Fisher Scientific, 25mm×95mm)에 넣고 여기에 앞서 준비한 견직물 시료(6~40시간)를 vial 당 한 장씩 투입하여 액에 잠기도록 하였다.

준비된 vial을 365nm의 UV lamp 아래 염액의 액면과 lamp와의 거리가 약 9.3cm로 유지되고, 수직으로 조사되도록 장치하였다. 퇴화시간이 경과한 후에는 vial로부터 시료를 꺼내 흐르는 수돗물과 증류수로 세척하고 자연건조하였다.

### 3) Extraction of dye from dyed silk fabric

Berghe et al.(2009)과 Wouters(1985)의 HCl/methanol/water 2:1:1 v/v/v 용매법을 다소 변경하여 SD로 염색한 견직물로부터 염료를 추출하였다. HCl/methanol/water 2:1:1 v/v/v 용매를 준비해 400µL를 취한 후 20mL 비이커에 넣고 여기에 염색한 직물 0.5~0.8mg을 넣었다. 비이커를 105℃ 오븐에 15분간 방치한 후 즉시 찬물로 식히고 NaOH를 넣은 진공 데시케이터 안에서 수분을 완전히 증발시켰다. 수분이 증발한 비이커에 1.1mL methanol을 넣어 염료를 추출하고, 여과(0.45µm syringe filter)한 후 HPLC 분석용 시료를 준비하였다.

## 3. Analysis

### 1) HPLC-MS analysis

고속액체크로마토그래피 질량분석기(HPLC-MS)는 자동 샘플주입장치(autosampler), binary gradient pump, DAD(diode-array detector), single quadrupole mass analyzer mass selective detector(MSD)가 장착된 Agilent 1200 Series Binary LC system(Foster City, CA, USA)을 사용하였으며, 질량분석기(MSD)는 multi-mode source atmospheric pressure chemical ionization (APCI)을 positive ionization mode로 하여 분석을 실시하였다. LC 분리는 stainless steel의 C<sub>18</sub> column (150mm×4.6mm, 입자크기 5µm)을 사용하여, gradient cycle(1mL/min)의 이동상(mobile phase)을 용매 A (acetonitrile)와 용매 B(0.5% formic acid in water)로 하고, 분석의 처음에 용매 B를 90%로 시작하여 5.7분까지 20%로 낮춘 다음 10분까지 61%로 높인 후 그 비율로 최종시간인 15분까지 유지하였다. 선행 연구에 따라 DAD의 검출 파장은 275nm로 하였으며, 분석의 범위는 190~400nm로 하였다(Petrovicu et al., 2010). 질량분석기(MSD)의 컬럼 온도는 25℃, drying gas(N<sub>2</sub>)의 온도를 350℃, vaporizer를 230℃,

gas flow를 12.1L/min, nebulizer pressure를 40psi, capillary voltage를 3kV positive mode로, fragmentor voltage는 160V로 하였다(Hua et al., 2007).

## 2) Color measurement of dyed silk fabric

분광측색계(JS-555, Color Techno System, Co. Ltd., Japan)를 이용해 SD 염료와 황벽 추출염료로 염색한 견직물을 측색하여 L\*a\*b\*값 및 H, V/C 값을 구하고 최대흡수파장에서의 표면 반사율 값으로 Kubelka-Munk 식을 이용해 K/S값을 구해 염착량을 확인하였다(Jung et al., 1997).

## IV. Results

### 1. Results of HPLC-MS analysis of SD dye

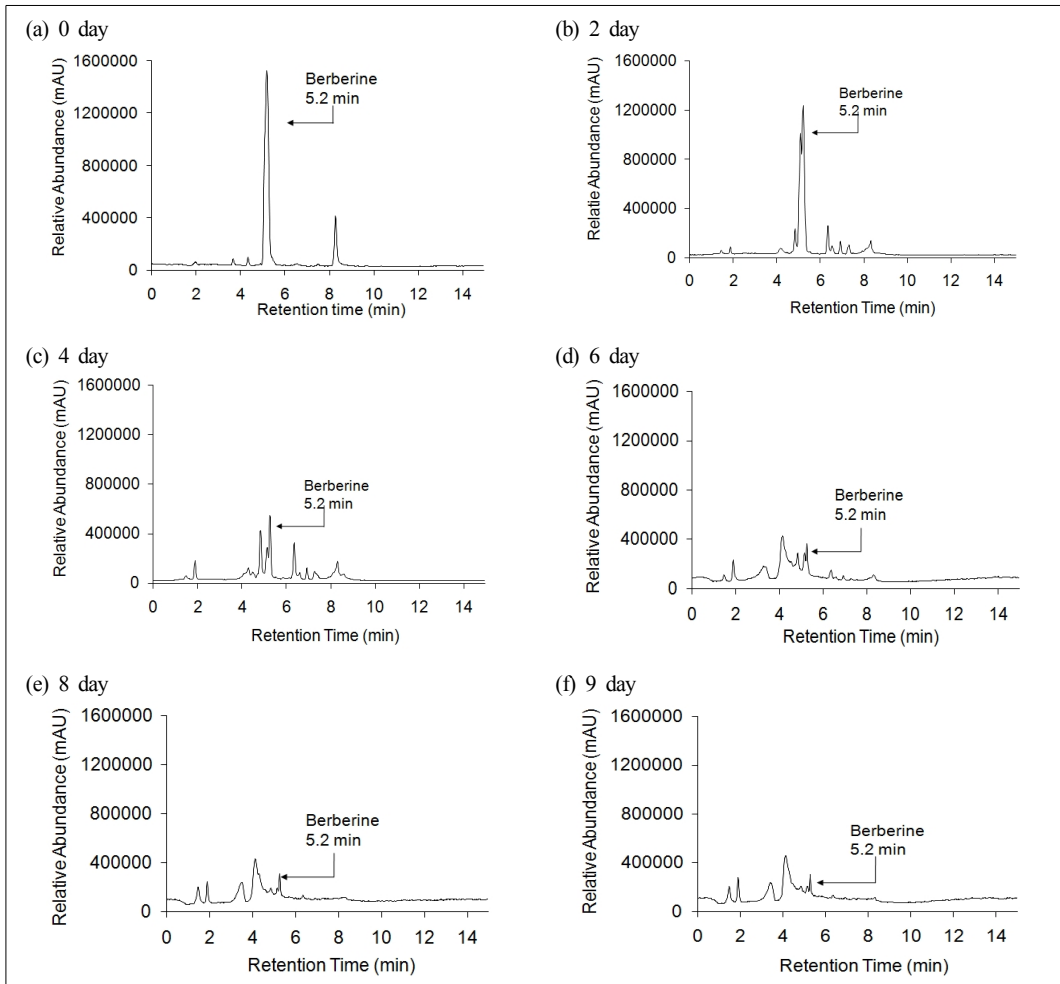
퇴화처리하지 않은 SD 염료에 대한 HPLC-MS 분석 결과는 선행연구에서 보고한 바와 같다(Ahn, 2011). 표준염료에서는 머무름 시간(retention time, r.t.)이 5.2분일 때 berberine 피크가 나타났으며, 8.3분에 불순물로 보이는 작은 피크(unknown 1)가 나타났는데, HPLC 기기에 장착된 diode array detector (DAD)의 분석 결과, berberine은 4차 염기(quaternary alkaloid)의 UV 스펙트럼을 나타내었으며, 8.3분 피크는 3차 염기(tertiary alkaloid)의 UV 스펙트럼을 나타내었다(Hu et al., 2010). HPLC 기기에 장착된 질량분석기(이하 MSD) 분석 결과, 5.2분 피크는 molecular ion이 336m/z로서, berberine ( $[C_{20}H_{18}NO_4]^+$ )의 분자량과 일치함을 확인하였다 (Hu et al., 2010; Li et al., 2009). MSD 분석 결과, 8.3분의 피크는 molecular ion이 149로 나타났는데, DAD UV 스펙트럼 결과 이 피크의 성분은 berberine과 달리 3차 염기임을 알 수 있었으며, 표준염료 내 존재하는 미량의 불순물일 것으로 추측되었다(Ahn, 2011; Ahn et al., in print). GC-MS로 분석한 선행연구(Ahn, 2010)에서 berberine 대신 dihydroberberine(분자량=337)이 검출된 반면, 본 연구에서는 berberine이 molecular ion(분자량 336) 상태로 검출되었으며, 이에 따라 퇴화한 시료들 전반에서 berberine을 molecular ion으로 확인할 수 있으며, 따라서 HPLC-MS의 경우 GC-MS보다 결과 해석이 용이함을 알 수 있다.

### 2. Results of HPLC-MS analysis of SD dye of different degradation times

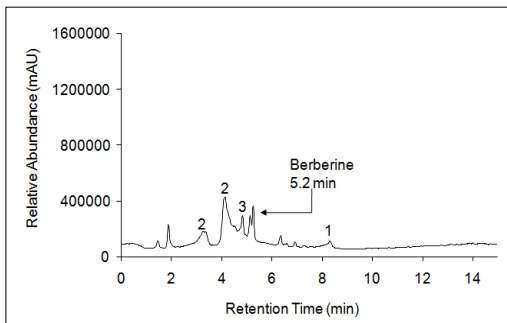
〈Fig. 2〉는 SD 염료를  $H_2O_2/UV/O_2$  조건 하에서 1~9일간 방치한 후, 각 시료를 HPLC-MS로 분석한 결과를 나타낸다. 지면 관계상 2, 4, 6, 8, 9일 퇴화시료의 크로마토그램만 수록하였다. 각 크로마토그램의 5.2분 피크는 MSD 분석에 의해 molecular ion이 336인 berberine으로 확인되었다. 퇴화시간의 경과에 따라 berberine peak의 강도가 점차 낮아지고 있는 것을 확인할 수 있었으며, 동시에 퇴화물질로 추정되는 피크들이 생성되는 것을 볼 수 있었다.

〈Fig. 3〉은 SD 염료를 6일간 퇴화시킨 시료의 크로마토그램으로서, 생성된 주요 피크의 MSD 분석 결과는 〈Table 1〉에 나타내었다. MSD 분석 결과, 5.2분에 검출된 화합물은 molecular ion이 336으로서 berberine으로 확인되었다. 8.3분에 검출된 화합물은 molecular ion이 149로서 퇴화 전 SD 염료에서 검출된 미량의 불순물과 동일한 물질로 추정되었다(unknown 1). 3.1분에 나타난 피크와 4.2분에 나타난 피크는 SD 염료의 퇴화과정에서 새롭게 생성된 물질로서, MSD 분석결과, 두 피크 모두 molecular ion이 102이었으며, 동일한 물질로 추정되었다(unknown 2). 4.9분대에 또 다른 화합물이 검출되었으며, MSD 분석에 의해 이 화합물의 molecular ion은 192로 확인되었다(unknown 3). 위 결과로 미루어 볼 때 unknown 2와 3은 berberine의 퇴화로 생성되는 퇴화물질인 것으로 추정되며  $H_2O_2/UV/O_2$  GC-MS를 이용해 황벽 추출염료와 SD 염료의 퇴화물을 조사한 선행연구에 따라 unknown 3은 1,3-dioxolo[4,5-g]isoquinolin-5(6H)-one,7,8-dihydro일 가능성이 있는 것으로 보인다(Ahn, 2009; Ahn, 2010). Unknown 2, 3과 SD 염료의 불순물인 unknown 1의 판정을 위해서는 문헌고찰과 더불어 예상되는 화합물의 표준물에 대한 HPLC-MS 분석 등 차후의 심도 있는 연구가 수반되어야 할 것으로 사료된다.

〈Fig. 4〉는 퇴화시간에 따른 berberine과 3개 퇴화물(unknowns)의 함량 변화를 HPLC 크로마토그램에 나타난 total ion으로 나타낸 그림이다. 퇴화가 시작됨에 따라 berberine 함량은 급격히 감소하기



<Fig. 2> Change in HPLC chromatograms of SD dye with degradation progression.

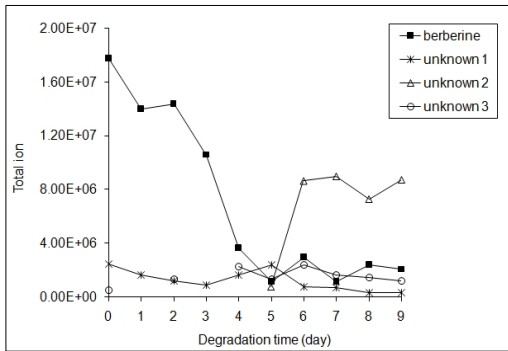


<Fig. 3> HPLC chromatogram of the 6 day degradation sample of SD dye. Numbers denote the three unknown compounds.

<Table 1> MSD results of the three unknown products detected in the 6 day degradation sample of SD dye

Unknown No.	Retention time (min)	MSD molecular ion
1	8.3	149
2	3.1 and 4.2	102
3	4.9	192

시작하여 5일째 시료에서 최소량을 보였으며, 이후부터는 소폭의 증감을 계속하였다. 5일째 시료의 berberine 함량은 퇴화 전 시료의 6%에 불과하였다. Unknown 1(m/z=149)은 SD 염료에 포함된 불



<Fig. 4> Change in total ion of berberine and the three degradation products detected in the degraded samples of SD dye.

순물로 추정되는 화합물로서 6일째 시료에서 다소 증가한 현상을 보였으나, 대체로 퇴화시간의 경과와 함께 감소하는 경향을 보였다. Berberine의 검출량과 비교할 때 Unknown 1은 퇴화 전 SD 염료의 berberine 검출량의 약 13%에 해당되었으며, 9일 퇴화시료에서는 SD 염료의 약 16%가 검출됨으로써 전체적으로 berberine에 대한 상대적인 검출량은 큰 차이를 보이지 않았다. 퇴화시간 경과에 따라 검출된 화합물 중 가장 주목할 만한 화합물은 unknown 2(m/z=102)인데, unknown 2는 퇴화 전 SD 염료와 초기 퇴화시료에서는 검출되지 않았으나 퇴화 5일째부터 검출되기 시작하여 6일 퇴화시료에서 급격히 증가하였다. 퇴화 종료 시점에서 unknown 2의 검출량은 berberine 검출량의 약 4배에 달하였다. Unknown 3(m/z=192)의 경우 퇴화 전 시료에서도 소량 검출되었는데, 4일 퇴화시료부터는 지속적으로 검출되어 퇴화시간 종료 시점에서 berberine 검출량의 57%에 달하였다.

3. Results of HPLC-MS analysis of SD dyed silk

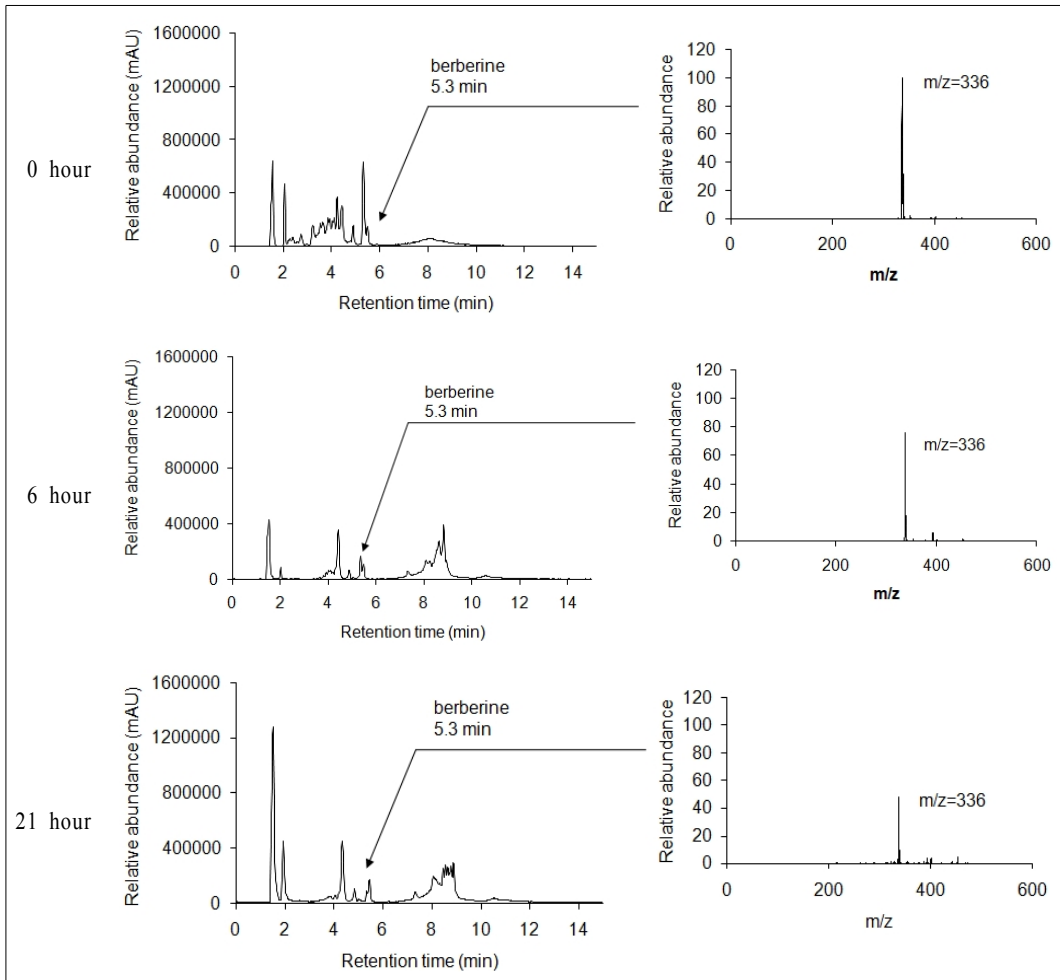
SD 염료로 염색한 견직물을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV/O<sub>2</sub> 조건에서 6, 21, 40시간 퇴화처리한 결과, 21시간 경과 후부터 시료가 거의 흰색으로 변화하는 것을 눈으로 확인할 수 있었다. <Fig. 5>는 SD 염료로 염색한 견직물을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV/O<sub>2</sub> 조건에서 21시간까지 퇴화시킨 후 직물로부터 염료를 추출하여 추출물에 대해

HPLC-MS 분석을 실시한 결과이다. 퇴화 전 견직물에서는 berberine이 5.3분에 검출되었으며, 6시간과 21시간 동안 퇴화시킨 견직물에서도 동일한 머무름 시간인 5.3분에 검출되었다. 40시간 퇴화시료에서는 berberine이 검출되지 않았다. SD 염료의 HPLC-MS 분석에서 berberine 성분이 5.2분에 검출된 것과 비교할 때 염색한 직물의 berberine 피크는 머무름 시간이 다소 이동한 것을 볼 수 있다. 이는 표준염료의 퇴화시료를 분석한 시기와 염색한 직물의 퇴화시료를 분석한 시기에 차이가 있기 때문인데, 실험 진행 중에 MSD의 질소가스 누출 가능성을 체크하기 위해 HPLC-MS 기계의 세팅을 새로 하면서 머무름 시간의 차이가 발생하게 되었다.

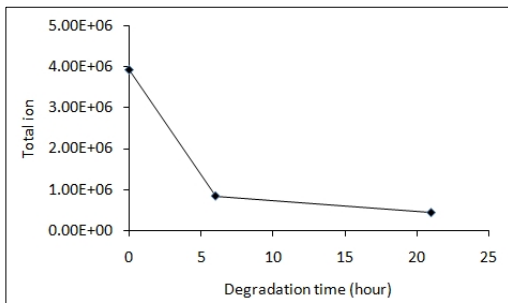
SD 염료로 염색한 견직물을 21시간까지 퇴화처리한 후 추출물을 HPLC-MS로 분석하여 퇴화시간에 따른 berberine 함량의 변화를 조사하였다 (Fig. 6). 퇴화 전 시료에 비해 퇴화 시료의 berberine 함량은 현저히 줄어들었으며, 초기 6시간 동안 berberine의 함량이 급격히 감소한 것을 관찰할 수 있었다. 6시간 퇴화 시료의 berberine 함량은 퇴화 전 시료 berberine 함량의 약 21%였으며, 21시간 퇴화 시료의 berberine 함량은 퇴화 전 시료의 11%에 불과하였다. 40시간 시료에서 berberine이 검출되지 않은 것은 berberine이 초기 퇴화시간 동안 급격히 감소한 데 기인하는 것으로 판단된다.

SD 염료로 염색한 견직물을 40시간까지 퇴화시킨 후 각 퇴화시료를 측정해 본 결과는 <Table 2>와 같다. <Table 2>의 CIELAB 측색 값에서 가장 두드러진 점은 퇴화시간이 경과함에 따라 b\*값이 변화한 양상이다. 퇴화 전 시료는 b\*값이 74.64로서 강한 노란빛을 보이나, 퇴화시간이 경과함에 따라 b\*값이 급격히 감소하여 40시간 퇴화시료의 b\*값은 19.90로 노란빛이 크게 감소하였음을 알 수 있다. 특히 40시간 퇴화시료의 L\*값이 90 이상이고 a\*값이 -0.80인 것을 볼 때 40시간 퇴화시료는 거의 흰빛을 띠게 된 것을 확인할 수 있다. 이와 같은 색의 변화는 Munsell 표색계 값으로도 확인되는 데, 퇴화 전 시료의 색상은 7.79Y, 6시간 퇴화시료의 색상은 7.01Y로서 노란색 계열로 나타난 반면, 21시간 및 40시간 퇴화시료에서는 유효한 색상(H)과 채도





<Fig. 5> HPLC chromatograms of the methanol extracts of dyed silk after 6 hours and 21 hours of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV/O<sub>2</sub> degradation (left) and the MS spectra of the berberine peaks (right).



<Fig. 6> Change in total ion of berberine peak in the degraded samples of SD dyed silk samples.

(C)가 측정되지 않았다. 21시간 및 40시간 퇴화시료의 명도(V)가 9 이상이므로 21시간 및 40시간 퇴화시료는 흰색에 가까운 무채색 계열에 가까워진 것으로 추측할 수 있다. 색차(ΔE)값에 있어서도 특히 40시간 퇴화시료는 ΔE가 54.40으로서 매우 큰 색의 차이가 발생하였음을 알 수 있다. 퇴화 전 시료와 40시간까지 퇴화처리한 시료 모두 420nm에서 최대흡수가 일어났으며, 최대흡수파장에서의 K/S값은 퇴화 전 시료가 7.05이고, 퇴화시간 경과에 따라 K/S값이 급격히 감소하여 40시간 시료는 0.37로서 염착이 크게 감소한 것을 알 수 있다.

<Table 2> Color change of SD dyed silk with degradation progression

Degradation	L*	a*	b*	△E	H	V	C	K/S(420nm)
None	85.97	-6.99	74.64		7.79 Y	8.48	10.63	7.05
6 hours	89.85	-4.57	58.44	15.78	7.01 Y	8.87	8.39	3.13
21 hours	92.23	-3.34	42.35	31.74	0	9.12	0	1.13
40 hours	91.16	-0.80	19.90	54.40	0	9.01	0	0.37

이상의 측색결과는 SD 염료로 염색한 직물을 육안으로 관찰한 결과와 같으며, 염색한 직물의 HPLC-MS 분석 결과와도 일치한다. 퇴화시간 경과에 따라 b\*값이 감소하고, 흰색에 가깝게 변화한 것은 염색한 시료의 berberine 함량이 감소한 것과 직접적인 관련이 있으며, 특히 40시간 퇴화시료에서 이 현상이 두드러지는 것을 확인할 수 있다.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV/O<sub>2</sub>법으로 퇴화시킨 SD 염료와 SD 염직물에 대한 HPLC-MS 분석 결과를 염색한 직물의 측색결과와 비교할 때, 퇴화처리 후 SD 염직물이 노란 색상을 잃고 흰색에 가깝게 변화하는 것은 berberine 성분이 감소하기 때문인 것으로 판단된다. 또한 SD 염료의 퇴화거동에서 관찰된 바와 같이 퇴화가 진행됨에 따라 퇴화물이 생성하는 데에도 기인하는 것으로 추측된다. 퇴화물에 의한 영향을 확인하기 위해서는 차후의 연구에서 berberine 퇴화에 의해 생성되는 물질의 성분과 각각의 색상을 확인할 필요가 있다. 울금의 퇴화거동을 조사한 연구에서는 vanillic acid와 vanillin, feruloylmethane 등이 퇴화물로 조사되었으며(Ahn & Obendorf, 2007; Grosjean et al., 1988; Wang et al., 1997), 알리자린 염료의 퇴화거동에 대한 연구에서는 phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)와 benzoic acid가 퇴화물로 보고된(Ahn & Obendorf, 2004) 반면 황벽과 SD 염료의 퇴화과정에서 생성되는 물질에 대해서는 1,3-dioxolo[4,5-g] isoquinolin-5(6H)-one,7,8-dihydro를 시사한 기초적인 연구(Ahn, 2009; Ahn, 2010)가 있다. 그러나 Ahn(2009)과 Ahn(2010)을 포함하여 위 연구는 모두 GC-MS를 사용한 연구이며, HPLC-MS 방법으로 퇴화물을 조사한 연구는 없는 실정이므로 본 연구에서 HPLC-MS로 검출된 퇴화물질에 대해 보다 심도 있는 연구를 진행할 필요가 있다고 사료된다. 또한 염액에서 발생한 퇴화물이 염색한 직물에서도 발생하는지의 여부도 조사할 필요가 있겠다. 본

연구에서 진행한 HPLC-MS 분석에서는 염액의 퇴화물이 염색한 직물에서 확인되지 않았다.

## V. Conclusion and Recommendations

본 연구는 출토복식의 염료성분 판정을 위한 장기적인 프로젝트의 일환으로서, 황벽의 주 염료성분인 SD 염료와 염색한 직물을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV/O<sub>2</sub> 조건으로 퇴화시킨 후 HPLC-MS를 이용해 분석하여, 그 퇴화거동과 퇴화물을 조사하는 데 목적을 두었다. SD 염료의 berberine 성분은 퇴화시간 경과에 따라 급격히 감소하였으며, SD 염료로 염색한 견직물에서도 같은 양상이 관찰되었다. SD 염료로 염색한 직물은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV/O<sub>2</sub> 조건으로 40시간을 처리한 후에 이미 berberine 성분이 검출되지 않았으며, 직물의 측색 결과, 노란빛을 잃고 흰색에 가까운 무채색으로 변화한 것을 알 수 있었다. 퇴화에 따른 직물의 색상변화는 berberine 성분이 소실되었기 때문인 것으로 판단되며, 퇴화가 진행됨에 따라 새롭게 생성된 퇴화물도 영향을 미쳤을 것으로 추측된다. 마찬가지로 심하게 퇴색되어 고유색을 잃어버린 출토복식의 경우에도 본래 색소가 거의 소멸되었기 때문에 일반적으로 알려진 천연염료의 분자구조를 바탕으로 염료판정을 하기에는 어려움이 따를 것이다. 따라서 각 염료의 퇴화거동을 조사하여 고유 색소의 산화 등으로 생성되는 물질을 파악함으로써 생성된 퇴화물질을 지문화합물로 사용해 출토복식의 염료 판정에 이용하는 것이 가능할 것이다.

## References

Ahn, C.(2006). 영암군 금정면 탐진최씨 출토복식 분석[Analysis of exhumed textiles of Tamjin Choi

- of Kumjungmyeon, Youngamgoon]. In Ewha Womans University Museum (Ed.), *최원립 장군 묘 출토복식을 통해 본 17세기 조선 무관의 차림새*[*The 17th-century Joseon military attire excavated from the tomb of General Choi Won-Lip*] (pp. 206-222). Seoul: Minsokwon.
- Ahn, C.(2009). Examination of berberine dye using GC-MS after selective degradation treatments. *Journal of the Korean Society of Clothing and Textiles*, 33(12), 2002-2010.
- Ahn, C.(2010). GC-MS analysis of amur cork tree extract and its degradation products. *Journal of the Korean Society of Clothing and Textiles*, 34(6), 1042-1052.
- Ahn, C.(2011). Analysis of dye extracted from *Phellodendron* bark using liquid chromatography. *Journal of the Korean Society of Clothing and Textiles*, 35(12), in print.
- Ahn, C., & Obendorf, S. K.(2004). Dyes on archaeological textiles: Analyzing alizarin and its degradation products. *Textiles Research Journal*, 74(11), 949-954.
- Ahn, C., & Obendorf, S. K.(2007). GC-MS analysis of curcumin dye after selective degradation treatment. *Fibers and Polymers*, 8(3), 278-283.
- Ahn, C., Zeng, X., & Obendorf, S. K.(in print). Analysis of dye extracted from *Phellodendron* bark and its identification in archaeological textiles. *Textile Research Journal*.
- Berghe, I. V., Gleba, M., & Mannering, U.(2009). Towards the identification of dyestuffs in early Iron Age Scandinavian peat bog textiles. *Journal of Archaeological Science*, 36(9), 1910-1921.
- Chan, C. O., Chu, C. C., Mok, D. K. W., & Chau, F. T.(2007). Analysis of berberine and total alkaloid content in Cortex *Phellodendri* by near infrared spectroscopy (NIRS) compared with high-performance liquid chromatography coupled with ultraviolet spectrometric detection. *Analytica Chimica Acta*, 592(2), 121-131.
- Choo, C. K. K., & Lee, Y. E.(2002). Analysis of dyeings produced by traditional Korean methods using colorants from plant extracts. *Coloration Technology*, 118(1), 35-45.
- Colonna, G. M., Caronna, T., Marcandalli, B.(1999). Oxidative degradation of dyes by ultraviolet radiation in the presence of hydrogen peroxide. *Dyes and Pigments*, 41(3), 211-220.
- Cooper, W. J., & Lean, D. R. S.(1989). Hydrogen peroxide concentration in a northern lake: Photochemical formation and diel variability. *Environmental Science & Technology*, 23(11), 1425-1428.
- Drasar, P., & Moravcova, J.(2004). Recent advances in analysis of Chinese medical plants and traditional medicines. *Journal of Chromatography B*, 812(1/2), 3-21.
- Grosjean, D., Whitmore, P. M., Moor, P. D., Cass, G. R., & Druzik, J. R.(1988). Ozone fading of organic colorants: Products and mechanism of the reaction of ozone with curcumin. *Environmental Science and Technology*, 22(11), 1357-1361.
- Hu, Y. M., Su, G. H., Sze, S. C. W., Ye, W., & Tong, Y.(2010). Quality assessment of Cortex *Phellodendri* by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry. *Biomedical Chromatography*, 24(4), 438-453.
- Hua, W., Ding, L., Chen, Y., Gong, C. B., He, J., & Xu, G.(2007). Determination of berberine in human plasma by liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 44(4), 931-937.
- Ince, N. H.(1999). Critical effect of hydrogen peroxide in photochemical dye degradation. *Water Research*, 33(4), 1080-1084.
- Jarosz-Wilkolazka, A., Kochmanska-Rdest, J., Malarczyk, E., Wardas, W., & Leonowicz, A.(2002). Fungi and their ability to decolourize azo and anthraquinonic dyes. *Enzyme and Microbial Technology*, 30(4), 566-572.
- Jung, W. K., Chang, D. S., Seol, B. Y., Park, S. J., Cho, I. S., & Cho, K. M.(1997). *염색학*[*Studies on dyeing*]. Seoul: Hyungseul Publishing Co.

- Kim, S. J., Ishikawa, K., Hirai, M., & Shoda, M. (1995). Characteristics of a newly isolated fungus, *Geotrichum candidum* Dec1, which decolorizes various dyes. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 79(6), 601-607.
- Kim, T. K., Yoon, S. H., Lim, Y. J., & Son, Y. A. (2003). Dyeability improvement of berberine colorant by electrostatic attractive force of a reactive anionic agent. *Journal of the Korean Society of Dyers and Finishers*, 158(6), 47-54.
- Lee, H. S., Eom, Y. E., & Eom, D. O. (1999). Narrowbore high performance liquid chromatography of berberine and palmatine in crude drugs and pharmaceuticals with ion-pair extraction using cobalt thiocyanate reagent. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 21(1), 59-63.
- Lee, J. G., Choi, J. Y., Oh, J. S., Jung, H. W., Choi, E. H., Lee, H. S., Kim, J. A., Chang, T. S., Son, J. K., & Lee, S. H. (2007). Isolation of melamin biosynthesis inhibitory compounds from the *Phellodendri* Cortex. *Korean Journal of Pharmacognosy*, 38(4), 387-393.
- Lee, M. S., Hong, M. K., Kim, E. K., & Bae, S. W. (2001). Effect of storage conditions on the color and the mechanical properties of fabrics dyed with natural dyes. *Journal of the Korean Society of Clothing and Textiles*, 25(3), 617-628.
- Lee, Y. H., Hwang, E. K., Jung, Y. J., Do, S. K., & Kim, H. D. (2010). Dyeing and deodorizing properties of cotton, silk, wool fabrics dyed with Amur Corktree, *Dryopteris crassirhizoma*, *Chrysanthemum boreale*, *Artemisia* extracts. *Journal of Applied Polymer Science*, 115(4), 2246-2253.
- Lee, Y., Lee, J., Kim, Y., Choi, S., Ham, S. W., & Kim, K. J. (2008). Investigation of natural dyes and ancient textiles from Korea using TOF-SIMS. *Applied Surface Science*, 255, 1033-1036.
- Li, X., Liu, H., Li, J., Zhao, X., Wang, S., & Zheng, X. (2009). Simultaneous determination of berberine and palmatine in rabbit plasma by LC-MS-MS and its application in pharmacokinetic study after oral administration of coptidis and coptidis-gardeniae couple extract. *Chromatographia*, 70(7/8), 1113-1119.
- Li, X., Wang, Y., & Yan, X. (2007). Effects of water stress on berberine, jatrorrhizine and palmatine contents in amur corktree seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 27(1), 58-64.
- Liu, G., Wu, T., & Zhao, J. (1999). Photoassisted degradation of dye pollutants. Irreversible degradation of alizarin red under visible light radiation in air-equilibrated aqueous TiO<sub>2</sub> dispersions. *Environmental Science and Technology*, 33(12), 2081-2087.
- Nyanhongo, G. S., Gomes, J., Gubitza, G. M., Zvauya, R., Read, J., & Steiner, W. (2002). Decolorization of textile dyes by laccases from a newly isolated strain of *Trametes modesta*. *Water Research*, 36(2), 1449-1456.
- Needles, H. L., & Nowak, K. C. J. (1989). Heat-induced aging of linen. In S. H. Zeronian & H. L. Needles (Eds), *Historic textile and paper materials II: Conservation and characterization*, ACS Symposium series 410 (pp. 159-167). Washington, DC: American Chemical Society.
- Park, S. S. (1998). 파주 금릉리 출토 경주정씨 유물 소고 [Study on the textiles of Kyungju Chung family excavated from Kumreungri Pajoo]. *한국복식* [Korean Costume], 16, 31-89.
- Peacock, E. E. (1996). Biodegradation and characterization of water-degraded archaeological textiles created for conservation research. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 38(1), 49-59.
- Peralta-Zamora, P., Kunz Moraes, S. G. de., Perlegrini, R., Moleiro, P. C., Reyes, J., & Duran, N. (1999). Degradation of reactive dyes. I. Comparative study of ozonation, enzymatic and photochemical processes. *Chemosphere*, 38(4), 835-852.
- Petrovicu, I., Albu, F., & Medvedovici, A. (2010). LC/MS and LC/MS/MS based protocol for identification of dyes in historic textiles. *Microchemical*

- Journal*, 95(2), 247-254.
- Read, R. A., & Zasada, J. C.(2008). *Phellodendron amurense* Rupr.: Amur corktree. In Bonner Franklin T., Karrfalt, Robert P. (Eds.), *The woody plant seed manual, agric. handbook No. 727* (pp. 783-785). Washington, DC: US Department of Agriculture, Forest Service.
- Scheck, C. K., & Frimmel, F. H.(1995). Degradation of phenol and salicylic acid by ultraviolet radiation/hydrogen peroxide/oxygen. *Water Research*, 29(10), 2346-2352.
- Schwepe, H.(1989). Identification of red madder and insect dyes by thin-layer chromatography. In *ACS Symposium Series 410*, S. H. Zeronian and H. L. Needles, Eds., American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 188-219.
- Suto, K., Kakinuma, S., Ito, Y., Sagara, K., Iwasaki, H., & Itokawa, H.(1997). Determination of berberine and palmatine in *Phellodendri Cortex* using ion-pair supercritical fluid chromatography on-line coupled with ion-pair supercritical fluid extraction by on-column trapping. *Journal of Chromatography A*, 786(2), 371-376.
- Wang, Y. J., Pan, M. H., Cheng, A. L., Lin, L. I., Ho, Y. S., Hsieh, C. Y., & Lin, J. K.(1997). Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 15(12), 1867-1876.
- Wouters, J.(1985). High performance liquid chromatography of anthraquinones: Analysis of plant and insect extracts and dyed textiles. *Studies in Conservation*, 30(3), 119-128.
- Young, L., & Yu, J.(1997). Ligninase-catalysed decolorization of synthetic dyes. *Water Research*, 31(5), 1187-1193.
- Zhang, X., Boytner, R., Cabrera, J. L., & Laursen, R. (2007). Identification of yellow dye types in Pre-Columbian Andean textiles. *Analytical Chemistry*, 79, 1575-1582.