

光의 흡수와 방출에 따른 형광 분광법과 분자궤도법



구합본
전남대학교 전기공학과 부교수



한은미
전남대학교 화공학부 교수

1. 서 론

분광법에는 가시, 자외영역의 흡수 또는 형광 분광법, 라만산란 분광법 등 적외흡수 분광 등이 있다. 이러한 분광학적 법에는 제각기 특징이 있지만, 비파괴적이고, 미량성분 및, 정량적 검출이 가능하며 또한 시간 응답성이 높기 때문에, 반응을 리얼타임으로 따라가게 하는 것 등이 공통의 이점이다.

여기에서는 정상광 여기의 형광 분광법과 분자궤도법에 의한 계산의 가능성에 대하여 소개한다.

형광측정(형광법)은 다른 분광법과 비교해서 조작도 간편하고, 여기와 형광 스펙트럼의 정보를 쉽게 알 수 있다.

흡수 분광에서는 시료에 강도 I_0 의 광(검색광)을 조사하고, 그 투과광 강도 I 를 측정한다. 미량성분의 검출 한계는 검출광 강도의 작은 변화 $\Delta I = I_0 - I$ 와 검출광 강도의 요동 δI_0 의 균형($\delta I_0 / \Delta I$)으로 결정한다. 한편 형광법에서는 발광강도 I 를 그대로 측정하면 좋기 때문에 여기광 강도의 흔들거림에 따라 I 가 $\pm \delta I$ 변화하여도 S/N 비는 거의 영향은 없다. 흡수 분광에서 몰 흡광계수가 $10^4 M^{-1}/cm$ 인 시료를 1cm의 셀로 측정할 때, 한계는 $10^{-7} M$ 정도이다. 그런데 형광분광의 분야에서는 약 2승 정도의 희박한 시료라도 충분히 검출하고 있다. 또 간편함과 고감

도 때문에 형광측정은 미지시료의 정량, 게다가 색소 probe에 따른 미시적 환경의 탐사 등에 넓게 응용되고 있다.

2. 광의 흡수와 방출

2-1. 원자에 있어서 광의 흡수와 방출

1885년 J. J. Balmer는 수소 원자를 높은 온도로 가열할 때 관찰이 가능한 가시부의 휘선 스펙트럼이 매우 단순한 수식으로 표현 가능한 것임을 발견했다. 그러나 그 현상은 고전 역학으로 설명하는 것이 불가능했다. 1913년, N. Bohr는 정상상태간의 전자 천이라고 하는 개념을 도입하면 이 문제가 잘 정리됨을 보였다. 즉 원자 속의 전자는, 몇 개의 불연속적인 에너지 E_1, E_2, \dots, E_n 을 가진 상태(정상상태)만을 가지는 것이 가능하고(Bohr의 양자조건), 다른 정상상태 E_m, E_n 사이에서 전자가 천이 할 때만 광의 흡수와 방출이 일어난다고 가정 한 것이다. 이때에 출입하는 광의 진동수 ν 는 다음 식에서 주어진다(Bohr의 진동조건).

$$h\nu = | E_m - E_n | = \Delta E \quad (1)$$

단 h 는 planck 정수 ($6.626176 \times 10^{-34} Js$)이다. 1926년 E. Schrodinger, Bohr의 정상상태의 생각

에 물질의 파동론의 생각을 결합 시키면 전자상태를 보다 합리적으로 표현하는 기본적인 방정식 즉 파동 방정식을 유도하였다. 이 방정식은 수소원자를 비롯해, 여러 가지 문제에 적용되며, 자연의 기본 법칙으로 보여 주어도 좋을음을 확신할 수 있었다. 이 방정식을 기초로 하여 취급하는 것이 양자역학으로 불리는 학문체계로 매듭 지어진다는 것은 누구라도 알고 있을 것이다.

2-2. 분자에 있어서 광의 흡수와 방출

분자의 경우도 기본적으로는 식(1)에 바탕을 둔 천이 일어난다. 그러나 분자는 다원자계이므로 그림 1과 같이 대부분의 경우 진동이나 회전 준위가 관계하고 있다. 또 흡수나 방광의 측정은 대부분의 경우 적당한 용매 중에서 이루어진다. 수소원자의 경우는 선 스펙트럼이 얻어지는데 반해 분자의 경우는 상기와 같은 이유 때문에 대부분의 경우 대 스펙트럼을 보여준다. 그림 2의 아래 측 곡선은 전자적으로 가장 안정한 상태인 기저상태(ground state), 상층의 곡선은 전자적으로 보다 높은 에너지 여기상태(excited state)를 보이고 있다. 기저 상태의 평형 원자간 거리(그림의 r_1)와 여기상태의 평형 원자간 거리(그림의 r_2)와는 동일하지 않는 것이 보통이기 때문에, 분자에 있어서 광의 흡수가 가장 일어나기 쉬운 에너지(그림 2b의 경우, $0 \rightarrow 2$ 천이)는 광의 방출(방광)이 가장 일어나기 쉬운 에너지($0 \rightarrow 2$ 천이)와는 일반적으로 다르다. 안트라센의 흡수 스펙트럼과 방광스펙트럼을 그림 3에 나타냈다. 횡축을 파수 $\nu(\text{cm}^{-1})$ 로 하면 이것들은 $0 \rightarrow 0$ 천이를 경계로 서로 대칭 관계에 있다.

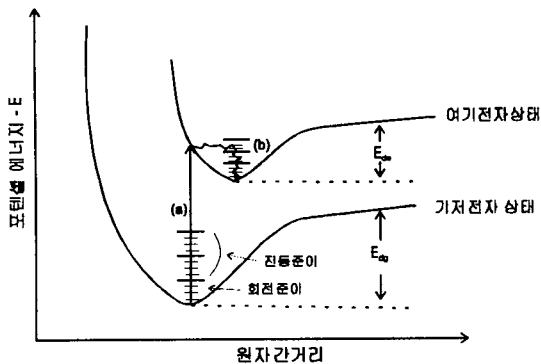


Fig. 1. Potential curve and electronic transition of 2 atom molecular.

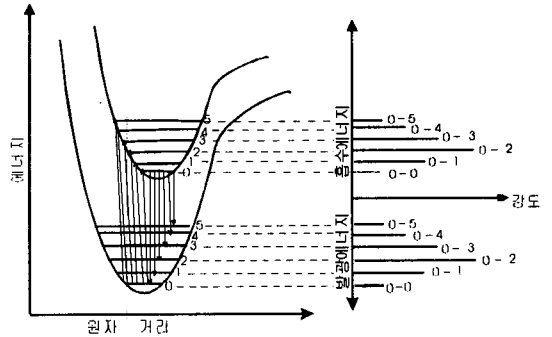


Fig. 2. Photo absorption and emission of 2 atom molecular.

3. 광 흡수 위치와 그 이론 계산

어떤 화합물이 어떠한 파장의 광을 흡수한다는 것은 양자 역학적 방법에 의해 예측하는 것이 가능하다. 분자의 전자 상태가 분자구조에 따라서 정해진다라는 것은 Schrodinger의 파동 방정식을 이해하면 알 수 있다. 그러나 다전자계에 대한 파동방정식은 수학적으로 해석하면 그 해를 얻을 수 있기 때문에 여러 가지 근사해법이 연구되고 있다. 통상 분자 궤도법이라고 하는 근사법이 이용된다. 분자궤도법은 근사 level에 따라 표 1과 같이 분류된다. 자유전자 모형(FEM)이라고 불리는 근사법은 수식적으로도 단순하지만 시아닌(CN-)류 등의 소위 결합고체가 적은 광역 폴리엔계에서는 유효성을 발휘한다^{2, 3)}. 단순 Huckel 분자 궤도법(HMO법)은 공역탄화수소를 비롯해서 보다 넓은 분자를 대상으로 하고 있다. 그러나 이들 경험적 분자 궤도법으로 불려지

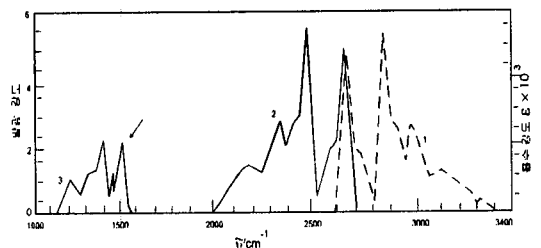


Fig. 3. Emission spectrum of anthracene.
1 : absorption 2 : fluorescence
3 : phosphorescence ← : 0-0 zone

는 근사법은 개략적이기 때문에 정성적인 계산에 한정되어 이용되는 경우가 많다.

한편 비경험적 분자 궤도법(ab initio)은 흡수 위치의 예측에 대해서도 가장 신뢰 할 수 있는 결과를 준다. 그러나 만족할 만한 결과를 얻기 위해서는 계산의 기본이 되는 기저함수의 수를 증가시킬 필요가 있고, 큰 분자에 대한 적용에는 컴퓨터 능력이라는 점에서 현 상황에서는 한계가 있다. 유기 색소의 광 흡수 예측에 대해서도 가장 유효한 분자 궤도법은 R. Pariser 과 R. G. Parr 및 R. A. Pople⁶⁾ 에 의해 개발되는 근사법(PPP법)이다⁵⁾. 마이크로 컴퓨터상에서 동작하는 실용적인 PPP법 프로그램도 발견되고 있다. 최근 PPP법의 parameter 들, 2중심 전자 반발 적분을 대략 계산하여, 이것을 재평가해서 계산의 정밀도를 높이는 방법이 西本⁶⁾에 의해 발표되고 각종의 발색계로의 응용이 검토되고 있다. PPP 법은 π 계 전자전이($\pi \rightarrow \pi^*$)만을 취급한다. 이것에 대해 CNDO⁷⁾ 법 등은, 가전자를 포함하는 분자 궤도법에서는 $n \rightarrow \pi^*$ 등도 동시에 취급할 수 있다. CNDO법, INDO 법을 천이 에너지 예측에 접합하도록 개량한 것으로서 CNDO/S⁸⁾, INDO/S⁹⁾ 법이 보고되고 있다.

표 1. 분자궤도의 분류.

방법	명칭	고려할 전자	특징·대상
경험적	FEM	π 전자	MO의 정성적 이해
	HMO	π 전자	MO의 정성적 이해
	EHMO	전자전자	결합전자분포 등
반경험적	PPP	π 전자	여기에너지
	CNDO	전자전자	쌍극자능율등
	INDO	전자전자	전자 스핀밀도등
	AM1	전자전자	평형구조등
	PM3	전자전자	평형구조등
비경험적	ab initio	전자전자	반응기구등

FEM : free electron model
 HMO : Huckel molecular orbital
 EHMO : extended HMO
 PPP : Pariser-Parr-Pople
 CNDO : complete neglect of differential overlap
 INDO : intermediate neglect of differential overlap
 AM1 : Austin model 1
 PM3 : parametric method 3
 ab initio : from the beginning 의 의미

분자 궤도법에서 구해지는 천이 에너지는 그림 4에 모식적으로 나타낸 것 같이 전자 배치간의 에너지 차로 보여지는 경우도 있지만, 보다 정확하게는 배치간 상호작용을 고찰한 전자상태간의 에너지 차로써 계산된다.

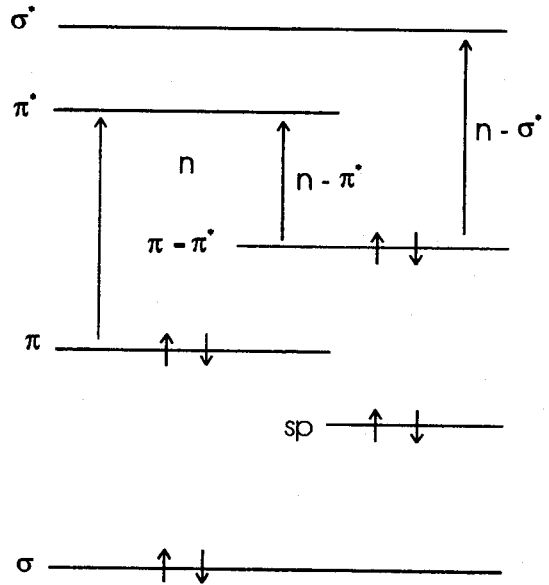


Fig. 4. Energy orbital level of formaldehyde.

4. 천이 모멘트

원자나 분자가 광을 흡수하기 위해서는 식(1)의 진동조건을 만족해야한다. 그렇지만 식(1)의 조건이 만족된다고 해서 광의 흡수(즉, 전자의 천이)가 반드시 일어난다고 말할 수는 없다. 지금 ψ_1, ψ_2 를 1개의 전자 파동함수로 그 1개의 전자에 x축 방향으로 진동하는 전장 성분을 가진 직선편광이 입사한다고 생각하면 ψ_1 부터 ψ_2 로 천이가 일어날 확률은 다음 식(2)의 양(量) M의 평방에 비례하는 것이 나타난다¹⁰⁾.

$$M = \int \psi_2(x) \psi_1 dx \quad (2)$$

단, 위 식에 있어서 e는 전자의 전하이다. 식(2)에서 나타난 양(量) M을 천이 모멘트라고 한다.

n개의 전자를 포함하는 다전자계에 있어서 전체 파

동함수 Ψ_1 부터 Ψ_2 의 상태로 천이가 일어날 때의 천이 모멘트는 x_i 를 i 번째 전자의 x 좌표로 할 때 다음 식(3)으로 표현된다.

$$M_x = \int \Psi_2 \left(e \sum_{i=1}^N x_i \right) \Psi_1 dx \quad (3)$$

같은 형태로 y 축 또는 z 축의 방향에 따른 광파에 대해서는 식(3)의 x 대신에 y 또는 z 로 쓰면 천이 모멘트 M_y 또는 M_z 가 정의된다. 일반적으로 천이 모멘트 M 은 성분을 M_x, M_y, M_z 로 하는 벡터로, 천이 확률은

$$M^2 = M_x^2 + M_y^2 + M_z^2 \quad (4)$$

에 비례한다. 두 개의 상태간에 천이가 일어나는가, 일어나지 않는가의 규칙을 선택율이라고 하지만, 그것은 천이 모멘트를 조사하면 알 수 있다. 식(3)속에서 Ψ_1, Ψ_2 는 각각 스핀궤도에 따라서 구성되고 있다. 스핀궤도는 스핀 부분과 궤도 부분을 포함하기 때문에 선택율에는 스핀에 관한 것과 궤도의 대칭성에 관한 것이 존재한다¹¹⁾.

5. 전자스핀에 기초한 선택율

분자궤도 $\phi_1, \phi_2, \dots, \phi_n$ 에 $2n$ 개의 전자가 배치된 형태를 그림 5a에 나타냈다. 이것은 더욱 안정한 배치이기 때문에 기저배치라고 부른다. 기저배치(일중항: S_0)로부터 스핀의 방향을 변화하지 않고, 더욱 낮은 공궤도에 전자가 1개 이동한 배치를, 일중항 제 1여기 배치: S_1 (그림 5b), 스핀의 방향을 변화해서(반전해서) 같은 형태로 이동한 배치를, 삼중항 제 1여기 배치: T_1 (그림 5c) 라고 한다.

회전하고 있는 팽이에는 각운동량을 유지하려는 성질이 있다. 스핀을 가진 전자를 작은 팽이 같은 것으로 생각하면, 전자는 스핀의 반전에 대해서 저항하더라도 정성적으로 이해할 수 있다. 전자 천이에 있어서도 실제 그대로, 일중항으로부터 일중항으로의 천이는 스핀 허용(allowed)이지만, 일중항으로부터 삼중항으로의 천이는 통상 스핀 금제(forbidden)이다. 그러나 자장이 존재할 때나 할로젠 등의 중원자가 존재할 때에는 스핀의 반전이 용이하게 되고, 일중항으로부터 삼중항으로의 천이도 어느 정도 가능성을 가지게 된다.

에틸렌은 그림 6의 좌표계에 배치해서 PPP분자궤도법에 의해서 천이 모멘트의 각 성분을 계산하면 M_x 의 값은 -0.958 로 되지만, M_y, M_z 의 값은 둘 다

0이 된다. 이것을 에틸렌의 $\pi \rightarrow \pi^*$ 천이는 그 분자축 방향으로 편향되어 있다고 말한다.

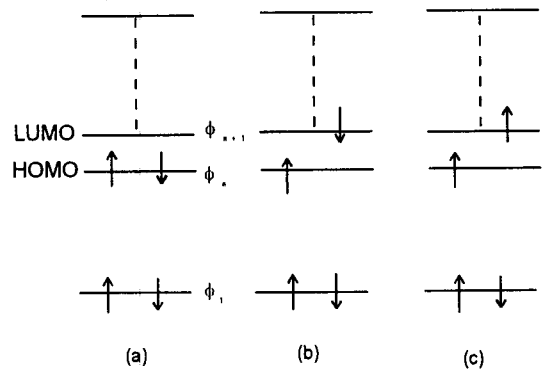


Fig. 5. Configuration of excited state. (a) S_0 (b) S_1 (c) T_1

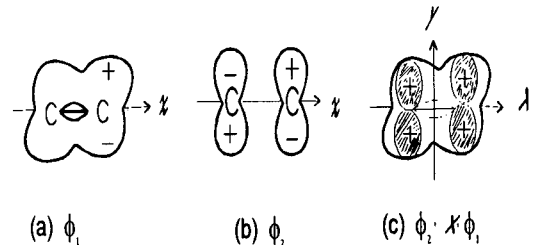


Fig. 6. Electronic state of ethylene. (a) bond orbit of ethylene (b) anti-bond orbit (c) configuration of allowed transition

6. 광 흡수의 편향과 강도

PPP 분자 궤도법에 따라 구해진 일중항 제 1전자여기가, 예를 들면 분자궤도 ϕ_u 로 부터 ϕ_v 로의 천이만을 취급하는 경우 식(4)의 각 성분은 다음 식에서 구해진다.

$$M_x = \sqrt{2} \sum_{r=1}^N C_{ru} C_{rv} x_r \quad (5)$$

$$M_y = \sqrt{2} \sum_{r=1}^N C_{ru} C_{rv} y_r \quad (6)$$

$$M_z = \sqrt{2} \sum_{r=1}^N C_{ru} C_{rv} z_r \quad (7)$$

여기서, N 은 π 원자궤도의 총수, $C_{r\mu}$, $C_{r\nu}$ 는 각각 μ 번째 또는 ν 번째의 분자 궤도에 있어서 r 번째의 π 전자 궤도의 계수이고, (x_r, y_r, z_r) 는 r 번째의 π 원자 궤도의 중심인 좌표이다.

또, 흡수대의 편향을 나타내는 방향과 α, β, γ 는

$$\alpha(M_x) = \frac{180}{\pi} \cos^{-1}(M_x/M) \quad (8)$$

$$\beta(M_y) = \frac{180}{\pi} \cos^{-1}(M_y/M) \quad (9)$$

$$\gamma(M_z) = \frac{180}{\pi} \cos^{-1}(M_z/M) \quad (10)$$

에서 구할 수 있다. 상기의 에칠렌의 경우는 $\alpha = 180^\circ$, $\beta = 90^\circ$, $\gamma = 90^\circ$ 로 된다. 가용성 무금속 Phthalocyanine 류는 유기용매 중에서 700nm 내지 670nm 부근에서 강한 흡수를 나타내는 것이 많다. 이들은 각각 Q_x, Q_y 흡수대로 불리고 있다. 그 이유는 분자궤격을 그림 7처럼 배치할 때, 각각의 흡수대가 주로 x 축 또는 y 축 방향에 편향 하고있는 것에 기초를 두고 있다. 더구나 중앙에 금속을 투입한 곳들의 흡수는 축퇴 하지만(에너지가 같게됨), 이것은 중앙 환의 대칭성이 변화하기 때문이라고 설명되고 있다. 또 Phthalocyanine의 8개의 $(-CH=)$ 를 $(-N=)$ 로 치환한 유도체에 있어서도 같은 모양의 현상이 보고되고 있다^{12, 13)}. 흡수대의 편향을 나타내는 상기의 수식을 각각 계산한 쌍극자 모멘트(dipole moment)의 값과 비교하면 소위 이색성 색소의 분자 설계를 할 때에 중요한 지침을 얻을 수 있다.

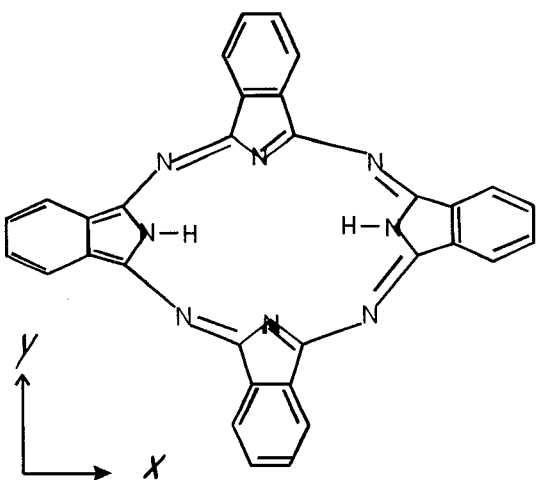


Fig. 7. Phthalocyanine and co-ordinate.

광의 흡수에 관해서도 이론적으로

$$f = 0.087532 \cdot \Delta E \cdot M^2 \quad (11)$$

되는 수를 유도할 수 있다. (단 ΔE 는 eV 단위) f 를 진동자 강도(oscillator strength)라고 한다. 제 1 여기 에너지 ΔE , 진동자 강도 f , 및 기저상태와 여기 상태의 쌍극자 모멘트의 차 계산값을 이용하면, 유기 비선형 광학재료의 분자설계를 할 때 유용한 이차의 분자 초분극율 β 의 값을 예측하는 것이 가능하다. 이 종류의 계산은 분자 궤도법으로서는 PPP⁵⁾ 외에 CNDO/S 법이나 ab initio 법 등이 이용되고 있다^{14, 15)}.

7. 형광이란?

7-1. 형광발광 기구

형광측정의 대상은 주로 방향족 또는 공역계가 발달한 공역 이중 결합계를 가진 탄화수소 및 그의 유도체이기 때문에 이곳에서는 주로 이와 같은 유기화합물의 형광에 대하여 서술한다.

가시, 자외영역(파장 180~700nm)의 광을 흡수한 분자의 거동에 대하여 생각해보자. 기저상태의 진동준위에 있는 전자가 여기 일중항 상태의 진동준위로 천이한다. 이 과정에서는 Frank-Conden 원리에 의해서 분자의 위치는 변화하지 않고 일어난다. 따라서 그림 1에 표시한 것처럼 직선(a)처럼 표시할 수 있다. 약 $10^{-13} \sim 10^{-15}$ s 정도로 대단히 빠르다고 추정하고 있다. 따라서 원자핵의 배치는 기저상태인 채로 있다. 여기상태의 분자는 불안정하고, 어떠한 과정으로 그 과잉에너지(광에너지 $h\nu$)를 방출하여 기저상태로 되돌아오거나 혹은 화학반응을 일으킨다. 이것을 총칭해서 완화라고 부른다. 이 완화과정에는 그림 8에 나타난 것과 같은 경로가 있고, 복사 완화와 무복사 완화로 나눈다. Frank-Conden(FC) 상태에서 복사 천이로서는 형광발광과정(F)이 있고, 무복사 완화에는 같은 여기전자상태 중에서 진동완화(VR), 다른 여기 일중항 상태의 진동준위 등 에너지적인 완화(내부변환 : internal conversion(IC)) 여기 3중항 상태로의 완화(계간교차 : intersystem crossing(ISC))가 있다. 또 화학반응을 일으킨 경우도 있다. 완화는 일반적으로 이것들의 경쟁과정으로 되어 있다. 형광은 복사 완화과정의 하나이고 스피인 다중도와 같은 전자상태간의 천이로 정의된다. 여기 3중항 상태간의 여기천이도 형광이라 부른다. 삼중항 상태와 일중항 상태간의 복사 천이에 따른 발

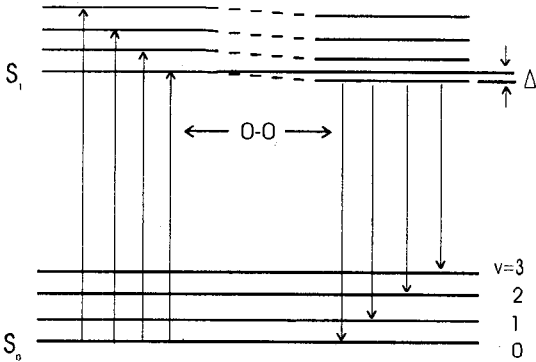


Fig. 9. Electronic transitions.
 Δ : Stokes shift

형광은 S_1 로부터 S_0 로의 천이이기 때문에, 그 천이 에너지는 S_0 로부터 S_1 으로의 흡수 측정으로부터 얻을 수 있는, 값에 일치할 것이다. 그런데 일반적으로 형광 스펙트럼의 0-0 밴드는, 흡수의 0-0 밴드 (S_0 의 $v=0$ 진동준위로부터 S_1 의 $v'=0$ 으로의 천이)와 비교해서 낮은 에너지측으로 shift하고 있다. 이것은 Stokes shift라 부르고, 이 크기로 여기상태와 기저상태의 구조(평형 핵 위치)의 틀린 정도를 알 수 있다. 흡수 스펙트럼에서 볼 수 있는 것은, 기저상태로부터 여기 일중항 FC 상태, 즉 핵 배치는 기저상태인 채로 여기상태로의 천이이다. 한편 S_1 상태에서는 S_0 와는 다른 전자배치를 가진 까닭에 안정한 평형 핵 배치도 다르다. 이것은 용매와의 상호작용에 따라서 더욱 현저하게 나타난다. 형광 스펙트럼에 나타나는 것은 안정화한 핵 배치로부터의 천이이다. 방향족 탄화수소와 같이, 골격의 강성이 높은 경우에는 Stokes shift는 작다. 또 그때에는 흡수 및 형광 스펙트럼의 진동구조(정확하게는 $\epsilon(v_{abs})/v_{abs}$ 와 $F(v_f)/v_f$)를 비교하면 서로 영상관계에 있는 것이 많다. S_1 과 S_0 의 포텐셜 곡선이 비슷하고, 동시에 평형 핵 위치가 그다지 벗어나 있지 않는 것을 의미한다. 반대로 여기상태에서 크게 구조가 변화하는 경우에는 Stokes shift도 크다. S_1 에 있어서 쌍극자 모멘트가 큰 분자의 형광을 극성 용매 중에서 측정할 때 자주 나타나는 현상이다. 이때에는 스펙트럼의 폭이 넓고, 구조도 잃게 되는 것이 많다. 이같이 여기상태 분자는 그것을 둘러싼 환경의 극성, 이온이나 수소결합형성의 존재에 민감하고, 관측되는 형광에 즉각 반영된다. 형광색소를 probe 하는 방법이 넓게 보급되고 있는 이유이다.

또 흡수 스펙트럼의 영상과 다른 형상의 형광 스펙트럼을 얻을 수 있는 것도 있다. 형광 스펙트럼에서 정보를 얻을 수 있다고 하는 것은, 아래와 같은 이유를 생각할 수 있다.

- (1) 흡수 스펙트럼으로부터 얻을 수 있는 가장 장파장 측의 밴드에 숨어서, 진짜 S_1 이 존재한다.
- (2) S_2 와 S_1 이 근접해 있고, 전자의 발광 효율이 높을 때 S_1 으로부터 열적으로 여기된 S_2 로부터의 형광도 동시에 관측된다.
- (3) 같은 모양인 경우 S_2 의 스펙트럼 shift 쪽이 크기 때문에 형광은 이쪽으로부터 나타난다.
- (4) 여기상태에 있어서 큰 구조변화가 생긴다. 혹은 여기 착체(excimer 나 exciplex)를 생성한다. 이같이 형광 스펙트럼의 측정으로부터는 분자의 여기상태의 구조뿐만 아니라 매체와의 상호작용의 모양도 알 수 있다.

8-2. 형광 여기 스펙트럼

형광 여기 스펙트럼(여기 스펙트럼이라 한다)은 형광 스펙트럼과 서로 보완적이고, 형광측정에 있어서 유효한 방법이다. 여기파장이 시료의 흡수 극대에 가깝게 되는 것에 동반해 형광 강도는 크게 되고, 흡수 극대를 지나치면 다시 감소한다. 이 스펙트럼은 형광 종류의 흡수 스펙트럼에 대응시킬 수 있다. 복수의 형광 종류가 공존하는 시료에서는 관측하는 형광 파장을 바꾸고, 여기 스펙트럼을 측정함에 따라 어떠한 흡수 스펙트럼을 가진 형광종류가 혼재해 있다는 것을 알 수 있다. 형광 여기 스펙트럼으로부터는 흡수분광과 같은 모양인 정보를 얻을 수 있지만, 그 감도는 훨씬 높다.

9. 형광 스펙트럼의 측정

9-1. 여기광원

형광 측정장치는 그림 10에 나타났다. 여기광원, 시료실 내지 검출부로 이루어져있다.

형광을 측정하기 위해서는 먼저 S_0 에 있는 분자를 그 분자가 흡수할 수 있는 광에 의해서 여기하고, S_1 상태의 분자를 생기게 한다. 여기 할 수 있는 한도에 있어서는 kasha의 규칙에 따라 형광 스펙트럼은 여기파장에 의존하지 않는다. 그 때문에 여기 광원으로는 수은등과 같은 선 스펙트럼 광원이라도 좋다. 그러나 형광 스펙트럼을 측정하고 싶은 시료를 효율 좋게 혹은 선택적으로 여기하기 위해서는 여기광의 파장을 가변 하는 것이 좋다. 그 때문에 시중에서 판매되는 형광 광도계에 있어서는 넓은 파장영역에 걸

처서 발광하는 크세논 램프를 분광해서 이용한다. 여기광의 파장순도가 높은 것이 중요하므로, 고급인 형광 광도계에서는 여기측의 분광기에는 double-monochromometer를 이용해서 2차광을 제거한다. 2차광에 대해서는 나중에 논한다. 또 관측파장을 소인해서 스펙트럼을 얻기 때문에 그 사이에 여기광 강도의 흔들거림이 있을 경우는 그 결과를 신뢰할 수 없다. 크세논 램프는 할로겐램프 등에 비해서 안정성이 떨어지기 때문에 그때에는, 여기광 강도를 모니터하고, 변동을 보상하는 회로를 함께 사용하는 것이 좋다. 최근에는 안정한 램프가 시판되고 있기 때문에, 그 같은 램프를 선택하면 더욱 좋다.

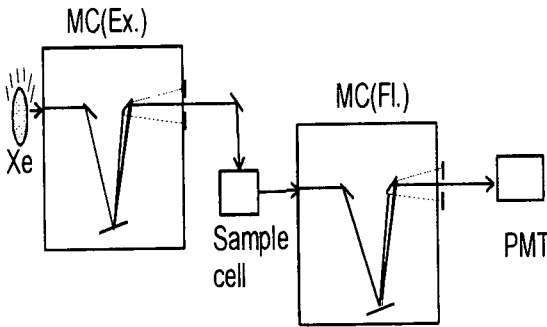


Fig. 10. Block diagram of Spectrofluorimeter.

9-2. 발광의 분광과 검출

시료의 형광은 검출측의 분광기에 따라서 파장 선택한 후, 광전자 증배관에 따라 검출된다. 검출측의 분광기의 파장을 소인함에 따라 형광 스펙트럼을 얻는다. 또 검출파장을 고정하고, 여기측 분광기의 파장을 소인하면 여기 스펙트럼을 얻을 수 있다. 광전자 증배관은 장파장 일수록 광전변환의 효율이 저하한다. 600nm이상의 형광스펙트럼을 측정하는 것에는 감도가 높은 광전자 증배관을 사용한다. 이 같은 광전자 증배관은 암전류가 높게 되어있어, 냉각해서 사용하는 것도 많다.

10. 스펙트럼의 측정

이곳에서는 표준적인 측정법에 대해서 설명한다.

10-1. 여기파장의 설정

Kasha의 법칙 때문에 여기파장의 선택에는 자유

가 있다. 대상 분자의 몰 흡광계수가 큰 밴드를 선택하면 좋다. 형광 Stokes shift가 작을 때에는, 여기광의 시료에 따른 산란이 검출기에 들어갈 우려가 있기 때문에, 여기광을 단파장 측으로 이동한다. 여러 종류의 형광이 존재할 가능성이 있을 때에는, 여기파장은 오히려 형광 스펙트럼을 측정해서 비교·검토한다. 복수의 형광이 혼재해 있으면 이것들의 특징적인 흡수파장이 예측될 것이다. 나중에는 여기파장을 그것들에 맞춰 수순에 따라 형광스펙트럼을 측정하면 좋다. 여기 스펙트럼과 형광 스펙트럼을 서로 측정하는 것에 따라 여기파장을 최적화 할 수 있다.

10-2. 시료 주변에 대해서

시료 농도에 대해서는 저농도 일수록 좋다. 1cm의 셀을 사용해서 측정함으로써, 광학 농도, 즉 여기파장에 있어서의 흡광도 ($A_{\lambda_{ex}} = \epsilon_{\lambda_{ex}} c l$)가 0.02정도, 고농도라 하더라도 0.2이하가 바람직하다. 시료 농도가 높으면 스펙트럼 일그러짐의 원인이 되는 등 여러 가지 문제가 생긴다.

Stokes shift가 작은 화학종류에서는 필연적으로 형광의 0-0 밴드는 흡수의 0-0 밴드와 중첩이 일어난다. 이 때문에 단파장 측의 형광만큼 기저상태 분자에 의한 흡수를 받는다. 이것은 재흡수 과정이라고 하고, 시료 농도가 높을수록 현저하기 때문에 시료 농도를 고농도로 해서는 안된다.

시료 농도가 지나치게 높으면 여기광은 셀의 여기측 표면 가까이에서 주로 흡수되고, 형광도 그 영역으로부터 나타난다. 광학계는 측정 셀 중앙의 형광을 검출측 분광기의 입사 슬릿에 집광하도록 설정되어 있기 때문에 검출감도가 떨어지는 것만 아니라, 정량성에 대해서도 지장을 초래하는 것도 있다. 특히 형광 관측파장을 고정하고 여기파장을 소인하는 형광 여기 스펙트럼에 있어서는 영향이 크다. 여기파장에 따라서 여기광의 침투거리는 다르고 발광영역이 파장에 따라서 변화한다.

이상의 두가지 이유 때문에 시료 농도에 대해서는 주의를 기울일 필요가 있다. 처음 측정하는 시료에 대해서는 스펙트럼의 농도 의존성을 조사해 보는 것이 바람직하다.

저농도 측정, 특히 정량 측정에 대해서도 부가되어 온 것이 있다. 색소에 따라서는 셀의 표면에 흡착하는 것이 있다. 그 흡착분 만큼 용액중의 농도는 감소한다. 검량선의 제작에 관해서는 저농도 영역에 있어서 충분히 검사하는 것이 중요하다. 자외광 여기일 때, 석영 셀이 여기광을 흡수하고 발광하는 것이 있다. 360~450nm에서 흡수가 있는 것을 알 수 있

다. 석영 셀에는 합성석영과 용융석영이 있지만 전자쪽이 단파장까지 사용할 수 있다.

불순물을 포함하고 있는 시료의 경우 가장 일반적인 현상을 그림 11에 나타냈다. 이 경우는 불순물에 의한 형광 스펙트럼에 시료의 형광이 중첩되어 있다. 이런 경우에는, 파장 WL1과 WL3의 값에서 형광분에 중첩되어 있는 사선부분(불순물에 의한 형광분)의 불순물 값을 제거하여 형광분을 계산 할 수 있다.

형광 강도가 시료의 종류에 따라서 다소 차이는 있지만, 대부분의 시료에서는 시료의 온도가 1°C 상승하면 형광강도는 1~2% 감소하며, 크기는 10%까지 감소하는 온도 의존성이 있다.

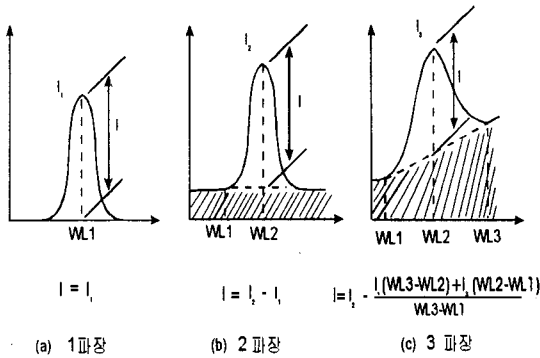


Fig. 11. Determination of wavelength.

10-3. 검출

형광법은 극히 예민하기 때문에 대상시료의 형광 이외의 발광이 혼재 할 가능성이 보통 감춰져있다. 먼저 처음에 고려할 만한 것은 여기광의 산란광 제거이다. 특히 대상 화학종류가 저농도 이거나 형광 양자수율이 작을 경우에는, 시료의 형광은 약하고 여기광의 relie 산란을 무시할 수 없다. 형광 스펙트럼 측정에서는 당연, 여기파장을 피해서 파장 소인을 행하지만 측정영역의 단파장단에 여기광의 산란이 들어가 있지 않거나 확인할 필요가 있다. 만약 산란을 인지할 수 있게 되면, 여기광을 단파장측으로 이동하고, 적당한 카트 필터(단파장측의 광을 흡수하고, 장파장측의 광을 투과한다.)를 검출부 분광기의 앞에 설치한다. 그래도 산란의 방해가 있으면 어느 정도 산란 보정의 방법을 생각하지 않으면 안된다.

자외광에서 여기하고, 장파장역까지 관측파장을 소인할 때에는 2차광의 영향이 있다. 분광기의 greyt-

ing 특성 때문에 설정 값의 1/2의 파장광이 투과한 다.

예를 들면 300nm로 여기해 있으면 600nm의 형광에 그 산란이 놓여있는 것을 볼 수 있다. 이것을 제거하기 위해서는 앞에서 논한 카트 필터가 유효하다.

또 약한 형광의 측정 중에 용매의 라만선도 나타나기도 한다. 라만선인지의 확인은 여기파장을 shift 시킬 때 같은 파수 간격만큼 shift 하는가 아닌가를 보면 된다. 통상 형광 스펙트럼과 비교해서 밴드폭이 좁기 때문에 쉽게 알아볼 수 있다. 단지 약한 형광을 측정할 때에는 광양을 아끼기 위하여 여기측, 검출측 쌍방의 분광기의 슬릿 폭을 넓게 하는 경우도 많다. 이 경우, 관측되는 라만 산란도 스펙트럼으로 되지않고, 퍼짐을 가지고 있는 것에 주의한다. 밴드폭이 넓기 때문에 형광이라고 판단해서는 안된다.

생체시료나 고분자 등에서는 산란이 크다. 또 용매 중에도 형광성의 불순물이 들어있는 것도 있다. 자외 여기 때에는 무형광성의 순용매나 셀을 사용하는 것은 당연하지만 먼저 논했던 검토를 생략해서는 안 된다.

10-4. 측정 파라미터에 대한 보정

시판되고 있는 형광 광도계를 사용할 때에 지정하는 파라미터에는 여기파장과 그 밴드폭, 관측 파장영역과 밴드 폭, 소인속도, 시정수 등이 있다. 색소분자를 대상으로 하면 먼저 밴드폭을 2~5nm, 소인속도는 60nm/분 정도, 시정수를 2초로해서 측정하면 좋다. 예리한 진동구조를 가진 스펙트럼을 얻을 수 있으면 관측파장의 밴드폭을 더욱더 좁히고, 또 소인속도 혹은 시정수를 작게 해서 측정한다. 소인속도와 시정수에는 관련이 있다. 시정수 2초는 광전자 증배관으로 부터 출력전류를 2초간 적분한다라고 생각하면 좋다. 이 2초간에 걸쳐서 소인된 파장에 대한 정보는 평균되고, 차트 상에 나타나는 스펙트럼에 있어서는 진동구조의 위치(파장) 및 강도의 참 값을 나타내지는 않는다. 이것을 피하기 위하여 상기의 설정변경을 행한다.

밴드폭을 좁게 하거나 혹은 시정수의 감소는 스펙트럼의 S/N비를 떨어뜨리는 원인이 된다. S/N비는 200이상이 되도록 하는 것이 바람직하다. 이러한 경우에는 다음과 같이 설정변경을 행한다. 어떤 구조의 스펙트럼을 깨끗하게 측정할 경우에는, 형광 관측측의 밴드폭을 넓게 해야 한다. 이것은 kasha의 규칙에 의해서 여기광의 밴드폭을 넓게 해도 무방하다. 여기광 강도를 높이면 같은 효과가 있기 때문에 발광

은 강하게 된다. 더욱더 시정수를 크게 하는 면에서 S/N비를 높이는 것이 가능하다. 단지 스펙트럼의 일그러짐을 일으키지 않도록 같은 비율로 파장 소인 속도를 늦게 한다.

상기의 설정변경은 미약한 형광을 대상으로 할 때에도 유효하다. 검출강도를 올리기 위해 광전자 증배관에 높은 전압을 걸면 필연적으로 스펙트럼에는 큰 노이즈가 걸리기 때문이다.

10-5. 표시

형광스펙트럼의 종축은 광자수 또는 그것에 비례한 양이다. 그런데 광전자 증배의 출력전류는 반드시 그렇지 않다. 분광기의 투과특성과 광전자 증배관의 광자/전자 변환효율의 쌍방에 파장 의존성이 있기 때문이다. 특히 광전변환의 효율은 낮은 에너지 즉 장파장의 광만큼 낮다. 그 때문에 감도 보정을 행할 필요가 있다. 스펙트럼은 측정장치에 고유한 것으로 되어버리고 다른 장치에서 측정된 결과와 비교하는 것이 불가능해진다. 감도 보정을 행한 스펙트럼만을 형광 스펙트럼이라 부른다. 스펙트럼을 알고 있는 표준 광원이나 표준 시료를 측정하고 관측파장의 함수로서의 보정 정수를 산출, 이것을 사용해서 시료의 스펙트럼을 보정하는 여기 및 관측의 파장 분해능, 소인속도는 시료 및 표준시료의 측정에 있어서 엄밀하게 일치해 있다. 이것은 여기 스펙트럼의 측정에 있어서도 같다. 시판되고 있는 형광 광도계에는 감도 보정 모드가 붙어있는 것도 있다. 정기적으로 보정 데이터를 갱신해 놓을 필요가 있다. 단지 약한 광 측정에서의 사용은 신중하게 하고, 반복소인에 따른 적산의 도중에서 암전류가 drift 해서 보정 불가능한

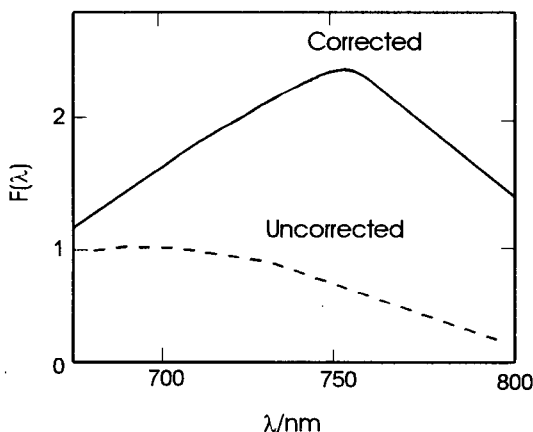


Fig. 12. Correction of fluorescence spectrum.

스펙트럼 일그러짐을 유기하는 것이다. 그림 12에 스펙트럼의 보정 예를 나타냈다.

11. 맺음말

주목할만한 형광의 특성에 대해서는 스펙트럼 이외에도 양자수율, 수명, 편광특성이 있다. 이들과 응용면에 대해서는 다음 기회에 소개하기로 한다.

참고 문헌

1. 時田澄男, “カラーケミストリー”, 丸善 (1982).
2. 時田澄男, “目で見る量子化學”, 講談社 (1987).
3. 時田澄男, 現代化學, 1990年 3月号, p. 51.
4. J. A. Pople : Trans Farad. Soc., 49, 1375 (1953).
5. 時田澄男, 松岡賢, 木原寛, “機能性色素の分子設計-PPP 分子軌道法とその活用”, 丸善 (1989).
6. K. Nishimoto, Bull. Chem. Soc. Jpn., 66, 1876 (1993).
7. 時田澄男, 富永信秀, “BASICによる分子軌道法計算入門”, 共立出版 (1987).
8. J. D. bene, H. H. Jaffe', J. Chem. Phys., 48, 1807 (1963).
9. A. D. Bacon, M. Zerner, Theoret. Chim. Acta 53, 21 (1979).
10. 時田澄男, 現代化學, 1990年 3月号, p. 51.
11. J. Fabian, H. Hartmann, “Light Absorption of Organic Colorants”, Springer (1980).
12. 時田澄男, 西久夫, 友田晴彦, 荻藤正治郎, 白石振作, 日化, 1990, 219.
13. 時田澄男, 長美樹夫, 西久夫, 第17回有機合成化學協會東支部シンポジウム (神奈川シンポジウム) 要旨集 B15 (1989).
14. 西本吉助, 高精度分子設計研究會講演會, 1997年 1月 (東京).
15. 西本吉助 “分子設計のための量子化學”, 講談社 (1989).