

동시화 형광분광법에 의한 fluorene과 anthracene의 동시정량

이상학* · 한영지 · 손범목 · 최종하* · 김창진**

경북대학교 자연과학대학 화학과, *안동대학교 화학과, **대구대학교 화학과
(2002. 2. 14 접수)

Simultaneous Determination of Fluorene and Anthracene by Synchronous Spectrofluometry

Sang Hak Lee*, Yung Ji Han, Bum Mok Son, Jong Ha Choi* and Chang Jin Kim**

Department of Chemistry, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

*Department of Chemistry, Andong National University, Andong 760-749, Korea

**Department of Chemistry, Taegu University, Kyungsan 712-714, Korea

(Received Feb. 14, 2002)

요 약 : 수용액 중의 fluorene 과 anthracene을 동시화 형광분광법을 이용하여 동시에 정량하는 방법에 대하여 연구하였다. 두 화합물 용액에서의 형광특성을 조사하였고, 화합물 혼합용액을 이용하여 동시화 형광스펙트럼을 측정할 때에 파장차이 ($\Delta\lambda$)가 봉우리의 분리에 미치는 영향을 조사한 결과 $\Delta\lambda$ 가 50 nm일 때 가장 좋은 봉우리의 분리가 일어났다. 혼합 수용액으로 최적 $\Delta\lambda$ 에서 동시화 형광스펙트럼을 측정하여 검정곡선을 작성하였을 때 fluorene의 경우에는 5.0×10^{-8} M에서 1.0×10^{-3} M, anthracene의 경우에는 5.0×10^{-8} M에서 1.0×10^{-3} M까지 직선범위가 성립하였다. Fluorene과 anthracene의 검출한계는 각각 3.0×10^{-9} M과 7.0×10^{-9} M이었다.

Abstract : A method to determine simultaneously fluorene and anthracene in aqueous solution by synchronous fluorescence spectrometry has been studied. The emission characteristics and optimum wavelength interval ($\Delta\lambda$) for synchronous spectra of fluorene and anthracene in aqueous solution were investigated. The optimum wavelength interval ($\Delta\lambda$) was found to be 50 nm. The calibration curve for fluorene and anthracene in the synthetic mixture solution of both compounds was linear over the range from 5.0×10^{-8} M to 1.0×10^{-3} M and from 5.0×10^{-8} M to 1.0×10^{-3} M for fluorene and anthracene, respectively. The detection limit was 3.0×10^{-9} M and 7.0×10^{-9} M, for fluorene and anthracene, respectively under the optimal wavelength interval.

Key words : fluorene, anthracene, synchronous fluorescence spectrometry, polycyclic aromatic hydrocarbon

1. 서 론

여러 고리 방향족 탄화수소 (polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH)는 극성이 없고 지방에 용해되는 성질을 가진 물질로서 피부, 폐 또는 소화관을 통하여 흡수될 수 있는 환경공해 물질이다.¹ 이는 천연 유기물이나 합성 유기물의 불완전 연소나 열분해에 의하여 생성되는데, 대기,

★ Corresponding author
Phone : +82+(0)53-950-5338 Fax : +82+(0)53-950-6330
E-mail : shlee@knu.ac.kr

토양,² 지표수, 지하수,^{3,4,5} 퇴적물, 식물, 동물이나 동물의 배설물⁶ 중에 분포하는 것으로 알려져 있다. 또한 동물 실험결과와 역학적 연구결과 발암성과 돌연변이성이 강한 물질로 보고되고 있다.^{7,8,9} 그리고 이것은 주요 도시 대기 오염물질 중의 하나인 대기 부유분진의 형태로 함유되어 있어서 호흡에 의해 사람들의 폐에 흡입되어 폐암 등을 유발하는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 PAHs는 자동차 배기가스, 석유 정제업, 고순도 가스제조업, 목재산업 등에서 유발되고, 특히 정유공장에서 코크스, 콜탈 피치, 크레오소오트, 중유 등을 고온에서 취급될 때 많이 생겨난다.¹⁰⁻¹² PAH의 종류는 200여 가지가 알려져 있는데, 대표적인 것은 pyrene, benzo(a)pyrene, benzo(a)anthracene, chrysene 등 17종이 있다. 코크스 제조, 일차 알루미늄 생산, 목재처리, 도로포장, 지붕 도료처리 작업에 종사하는 직업을 가진 사람들에게 PAH가 많이 노출되어 있으며, 일반인들은 음식물이나 흡연이 PAH 흡입의 주요원인이 되고 있다. PAHs는 피부, 폐 또는 소화관을 통해서 흡수되어 모든 조직으로 분포되는데, 특히 지방농도가 높은 기관에 집중되어 조직에 독성을 일으키고 신장 및 간에 변성변화를 유발한다. 또한, PAHs가 포함되어 있는 타르를 피부에 바르면 유두종과 피부암을 국소적으로 일으킬 수 있으며,¹³ 폐와 신장조직에는 DNA 체계에 장애를 유발할 수도 있다. 특히, 코크스 생산 현장에서 PAH에 노출된 근로자들에게 폐암과 피부암을 일으킨다는 사실이 역학적인 연구결과로 알려져 있으며,¹⁴ 동물실험 결과 콜타르 흡수에 발암성이 있는 PAHs를 많이 함유하고 있는 것으로 알려져 있다.^{10,15} 이들 중에서 chrysene, benzo(a)anthracene, benzo(b)fluoranthene, benzo(a)pyrene, dibenzo(a,h)anthracene 등은 미국 정부 산업위생 전문가 협의회(american conference of governmental industrial hygienist, ACGIH)에서 A2 물질, 즉 사람에게 발암이 의심되는 물질로 분류하여 관리하고 있다. 또한 PAH가 발생하는 알루미늄 생산공장에서 폐암과 방광암을 일으킨다는 것이 보고된 바 있다.¹⁶

PAH는 대부분 호흡기를 통하여 인체에 흡입되기 때문에 이로 인한 건강 문제를 예방하기 위하여 호흡기 보호조치가 가장 이상적인 것으로 생각되어 왔으며, 지금에 와서도 대부분의 나라에서 호흡기만을 보호하는 조치를 취하고 있는 실정이다. 그러나, 많은 화학물질들이 독성 작용을 일으킬 정도로 피부를 통하여 흡수될 수 있다는 증거가 늘어나고 있고, 공기중

농도가 법적 허용기준치 이내임에도 불구하고 피부 흡수를 통하여 총 흡입량이 증가되어 문제가 일어날 수 있다고 알려져 있다.¹⁷ 특히, 산업 현장에서 PAH에 의한 근로자들의 피부오염은 오염된 공기와의 접촉이나 작업복 내의, 장비의 오염된 표면과 접촉함으로써 발생할 수도 있다. PAH는 낮은 농도에서도 독성이 강하며 그 중 많은 물질이 발암 물질들로 알려져 있기 때문에 PAH를 분석하고 조사하는 것은 아주 중요하며, 새롭고 빠른 분석 방법의 발전이 필요하다.

지금까지 방향족 탄화수소의 측정법에 대한 많은 연구가 있었다. 대부분의 경우 다량의 독성 유기용매를 사용하여 추출 및 처리시간이 긴 Soxhlet법이나 유기용매 초음파 추출법을 이용하여 추출한 후 농축하고 복잡한 전처리 과정을 거쳐 HPLC/Fluorescence¹⁸ 또는 GC/FID를 이용하여 정량하는 방법을 사용하고 있다.¹⁹⁻²³ PAHs의 분석과 관련하여 GC/MS를 사용하기도 하나, 지금까지는 정량보다 각 PAHs의 확인에 주로 사용되어 왔다.^{24,25} 이와 같이 기존의 PAH 측정법은 다량의 유기용매를 사용하며 분석시간이 길고, 분석방법이 복잡하여, 새로운 분석방법의 필요성이 높아지고 있다. 분광학적인 방법들 중에서 형광분광법은 고유한 형광을 갖는 몇 가지 혼합물을 분석하는데 적합하다. 형광분광법은 들뜨기 스펙트럼, 방출 스펙트럼 및 동시화 형광스펙트럼 측정과 같은 측정법을 이용하면 선택성 및 감도를 증가시킬 수 있다. PAH는 강한 형광을 갖기 때문에 발광법을 연구하는데 유익한 혼합물이다. 그러나, PAH의 방출파장을 조사하면 넓게 겹치는 띠를 가지고 있어서 혼합물 분석에는 한계가 있다. 이러한 단점을 보완하기 위하여 동시화 형광분광법(synchronous spectrofluometry)이 처음 연구되었다. 들뜨기 과정과 방출과정의 일정한 파장차이를 유지하면서 들뜸 단색화장치와 방출 단색화장치를 같이 조사하면서 형광신호를 얻을 수 있다. 동시화 형광분광법을 사용하면 들뜨기 스펙트럼보다 좁은 피크를 가지고 있어 선택성과 분해능이 증가한다. 따라서, 형광 스펙트럼의 중첩으로 인하여 분석이 어려운 화합물들을 동시에 분석할 수 있다. 이러한 장점들 때문에 PAH 혼합물 분석에 동시화 형광분광법을 이용하려는 연구가 많이 이루어지고 있다.²⁶

본 연구에서는 fluorene과 anthracene 혼합물을 동시에 분석하기 위하여 fluorene과 anthracene의 들뜨기 스펙트럼과 방출 스펙트럼을 조사하였고, 각각의 최적의

파장 차이를 결정하여 동시화 형광스펙트럼을 얻었다. 또한, fluorene과 anthracene의 혼합물에서 최적의 파장 차이를 결정하였고, 이 조건에서 동시화 형광스펙트럼들을 측정된 후에 검정곡선을 작성하여 검출한계를 조사하였다.

들뜨기 스펙트럼, 방출 스펙트럼, 동시화 형광 스펙트럼을 얻기 위해 파장을 바꾸어 가면서 스펙트럼을 얻었다. 혼합물을 동시 정량하기 위해서는 두 단색화장치를 일정한 파장 차이를 두고 주사하여 최적의 파장을 선택하여 동시화 형광 스펙트럼을 얻었다.

2. 실험

3. 결과 및 고찰

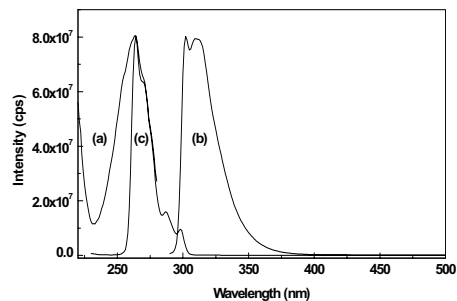
2.1 시약 및 기기

PAH들은 모두 Supelco사로부터 구입하였다. 표준용액은 25.0 mL 용량플라스크에 1.0×10^{-3} M이 되도록 에탄올에 묽혀서 제조하였다. 증류수는 Millipore사 (Bedford, MA, USA)의 Milli-Q water system을 이용해 얻은 $1 \mu\text{S}/\text{cm}$ 이하의 전도도를 가진 탈이온수를 사용하였으며, PAH는 매일 실험 전에 제조하여 사용하였고, 모든 용액은 실험 직전에 적당한 농도로 묽혀서 사용하였다.

3.1 들뜨기 스펙트럼, 방출 스펙트럼 및 동시화 형광스펙트럼

수용액에서 fluorene의 최적 들뜨기 파장을 선택하기 위하여 fluorene의 들뜨기 스펙트럼을 측정하였다. 방출파장을 310 nm에 고정하고, 들뜨기 파장을 200 - 350 nm 까지 주사하여 측정된 1×10^{-4} M fluorene의 들뜨기 스펙트럼을 Fig. 1 (a)에 나타내었고, 들뜨기 스펙트럼에서 가장 큰 흡수세기를 나타내는 264 nm에서 들뜨게 하여 얻은 방출 스펙트럼을 Fig. 1 (b)에 나타내었다. 방출 스펙트럼은 310 nm에서 가장 큰 방출세기를 나타내었다. $\Delta\lambda$ 를 30 nm, 46 nm, 70 nm, 90 nm, 110 nm로 바꾸어 가면서 측정된 동시화 형광스펙트럼들 중에서 방출세기가 크고, 봉우리의 분리가 가장 잘되었을 때에는 $\Delta\lambda$ 가 46 nm일 때이며, 이 스펙트럼을 Fig. 1 (c)에 나타내었다. Fig. 1 (c)에서 볼 수 있듯이 $\Delta\lambda$ 가 46 nm 일 때 264 nm에서 가장 큰 방출세기를 나타내었고, 동시화 형광 스펙트럼이 방출 스펙트럼 보다 봉우리의 폭이 작다는 것을 알았다.

본 실험에서 SPEX사 (Edison, NJ, USA)에서 제작된 model FL111 Spectrofluorimeter를 사용하였다. 광원으로는 450 W Xe Lamp, 기준검출기 (reference detector)로는 silicon diode, 시료의 형광을 측정하는 발광검출기 (emission detector)로는 Hamamatsu사 (Bridgewater, NJ, USA)의 model R928 PMT를 사용하였다. 모든 장치는 DM 3000에 의해 제어되며, 시료 측정 시에 기준검출기에는 400 V, 발광검출기에는 900 V의 전압이 걸리도록 하였다. Increment와 integration time은 각각 1 nm와 1 sec로 하였고, 보정된 스펙트럼을 얻기 위해 acquisition mode를 signal/reference로 선택하였다. 들뜸 단색화장치 (excitation monochromator)와 방출 단색화장치 (emission monochromator)의 입, 출구에 너비 0.5 mm의 슬릿을 사용하였고, 시료의 형광을 측정하기 위한 형광 셀 (cell)로는 사면이 투명한 1 cm 석영 셀을 사용했다. 방출세기는 입사 빛의 90도 각도에서 측정하였다.



시료의 pH를 측정하기 위해서 Mettler사 (Schwerzenbach, Switzerland) model MA235 pH/Ion analyzer를 사용하였다.

Fig. 1. Excitation (a), emission (b) and synchronous ($\Delta\lambda = 46$ nm) (c) spectra of fluorene in aqueous solution: [fluorene] = 1.0×10^{-5} M.

2.2 실험과정

Fluorene과 anthracene의 들뜨기 스펙트럼과 방출 스펙트럼을 측정하기 위하여 1×1 cm 석영 셀에 넣고,

수용액 상태에서 anthracene의 최적 들뜨기 파장을 선택하기 위하여 anthracene의 들뜨기 스펙트럼을 측정하였다. 방출파장을 418 nm에 고정하고 측정한 1×10^{-4} M anthracene의 들뜨기 스펙트럼을 Fig. 2 (a)에 나타내었고, 들뜨기 스펙트럼에서 가장 큰 흡수세기를 나타내는 217 nm에서 들뜨게 하여 얻은 방출 스펙트럼을 Fig. 2 (b)에 나타내었다. Fig. 2 (b)에서 볼 수 있듯이 방출 스펙트럼은 418 nm에서 가장 큰 방출세기를 나타내었다. 들뜸 단색화장치와 방출 단색화장치의 파장 차이 ($\Delta\lambda$)를 30 nm, 50 nm, 70 nm, 90 nm, 110 nm, 132 nm로 바꾸어 가면서 측정된 동시화 형광스펙트럼들 중에서 방출세기가 크고, 봉우리의 분리가 가장 잘 되었을 때는 $\Delta\lambda$ 가 132 nm일 때이며, 이 동시화 형광 스펙트럼을 Fig. 2 (c)에 나타내었다. Fig. 2 (c)에서 볼 수 있듯이 $\Delta\lambda$ 가 132 nm일 때 251 nm에서 가장 큰 방출세기를 나타내었고, 동시화 형광스펙트럼이 방출 스펙트럼 보다 봉우리의 폭이 작다는 것을 알았다.

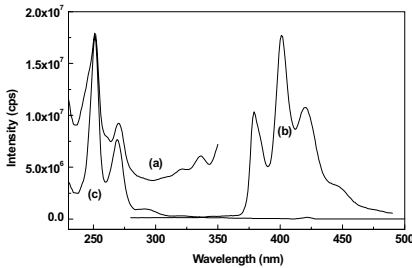


Fig. 2. Excitation (a), emission (b) and synchronous ($\Delta\lambda = 132$ nm) (c) spectra of anthracene in aqueous solution: [anthracene] = 1.0×10^{-5} M.

수용액 상태에서 fluorene과 anthracene의 들뜨기 스펙트럼과 방출 스펙트럼 및 최적의 $\Delta\lambda$ 를 갖는 동시화 형광스펙트럼을 Table 1에 종합하였다.

Table 1. Emission characteristics and optimum wavelength interval ($\Delta\lambda$) for synchronous spectra of fluorene and anthracene in aqueous solution, respectively

PAH	M.W.	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)
Fluorene	166.22	264/310	46
Anthracene	178.23	251/418	132

3.2 Anthracene과 fluorene 혼합물의 동시화 형광 스펙트럼

수용액 상태에서 anthracene과 fluorene의 들뜨기 스펙트럼과 방출 스펙트럼 및 동시화 형광스펙트럼을 조사한 것을 바탕으로 하여 1×10^{-3} M anthracene, 1×10^{-3} M fluorene 혼합물 용액을 이용하여 $\Delta\lambda$ 를 변화시키면서 동시화 형광 스펙트럼을 측정하여 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. Fig. 3에서 $\Delta\lambda$ 가 10 nm 일 때는 봉우리가 나타나지 않았고, $\Delta\lambda$ 가 30 nm 일 때는 봉우리의 세기는 가장 세게 나타났지만 봉우리가 분리되지 않았다. $\Delta\lambda$ 가 50 nm일 때가 anthracene과 fluorene의 봉우리가 분리되었으며, 봉우리가 분리된 것들 중에서 방출세기가 가장 컸다. $\Delta\lambda$ 가 50 nm 일 때 fluorene은 260 nm, anthracene은 277 nm에서 봉우리가 분리되어 나타났다. 따라서, 검정곡선을 얻을 때 이용한 $\Delta\lambda$ 는 50 nm로 하였다.

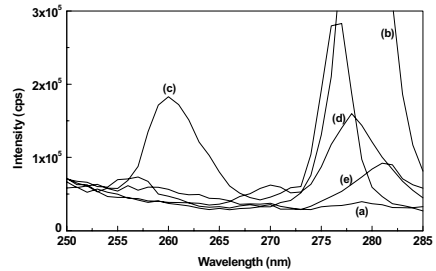


Fig. 3. Synchronous spectra of synthetic mixture solution of anthracene and fluorene using different $\Delta\lambda$ s: (a), 10 nm; (b), 30 nm; (c), 50 nm; (d), 70 nm; (e), 90 nm; concentration of each PAH, 1.0×10^{-3} M.

3.3 Anthracene과 fluorene 혼합물의 검정곡선

수용액 상태의 anthracene과 fluorene 혼합물에서 $\Delta\lambda$ 를 50 nm로 고정하고, anthracene과 fluorene의 농도를 변화시키면서 동시화 형광 스펙트럼을 측정하였고, 측정된 동시화 형광 스펙트럼을 이용하여 검정곡선을 얻었다. Fluorene의 검정곡선을 얻기 위한 혼합용액은 anthracene의 농도를 1.0×10^{-4} M로 고정하고, fluorene의 농도를 5.0×10^{-8} M- 1.0×10^{-2} M로 변화시켜서 만들었고, 이 용액들을 이용하여 동시화 형광 스펙트럼을 측

정하여 검정곡선을 작성하였고, 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다. Fluorene의 검정곡선에서 직선성이 성립하는 범위는 5.0×10^{-8} M ~ 1.0×10^{-3} M이었으며, 직선의 상관계수는 0.998 이었고, 검출한계는 3.0×10^{-9} M 이었다.

Anthracene의 검정곡선을 얻기 위하여 fluorene의 농도를 1.0×10^{-4} M로 고정하고, anthracene의 농도는 5.0×10^{-8} M- 1.0×10^{-2} M로 변화시켜서 혼합용액을 제조하였다. 이 용액들을 이용하여 동시화 형광스펙트럼을 측정하여 검정곡선을 작성하였고, 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다. Anthracene의 검정곡선에서 직선성이 성립하는 범위는 5.0×10^{-8} M ~ 1.0×10^{-3} M이었으며 직선의 상관계수는 0.999 이었고, 검출한계는 7.0×10^{-9} M 이었다.

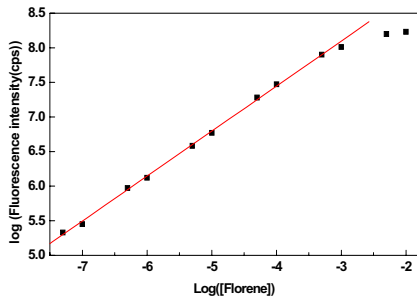


Fig. 4. Calibration curves for fluorene in synthetic mixture solution: [fluorene] = 1.0×10^{-3} M ~ 1.0×10^{-8} M, [anthracene] = 1.0×10^{-4} M.

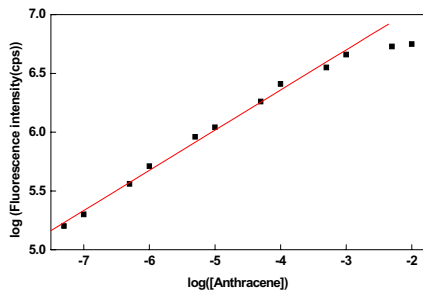


Fig. 5. Calibration curves for anthracene in synthetic mixture solution: [anthracene] = 1.0×10^{-3} M ~ 1.0×10^{-8} M, [fluorene] = 1.0×10^{-4} M.

4. 결론

본 연구에서는 동시화 형광분광법으로 fluorene과 anthracene을 동시에 정량하는 방법에 대하여 연구하였다. Fluorene과 anthracene의 동시화 형광스펙트럼을 조사한 결과 anthracene의 최적 $\Delta\lambda$ 는 132 nm이었고, fluorene의 $\Delta\lambda$ 는 46 nm이었다. 수용액 상태의 fluorene 과 anthracene 혼합용액의 동시화 형광스펙트럼을 측정하였을 때에 fluorene과 anthracene의 봉우리가 분리되면서 가장 높은 형광세기를 나타내는 $\Delta\lambda$ 는 50 nm 이었으며, 이 조건에서 얻은 fluorene의 검정곡선의 상관계수는 0.998이었고, 검출한계는 3.0×10^{-9} M 이었다. 또한, anthracene의 검정곡선의 상관 계수는 0.999이었고, 검출한계는 7.0×10^{-9} M 이었다.

감사의 글

이 연구는 2001년도 대구대학교 연구비에 의하여 지원되었으며 이에 감사 드립니다.

참고 문헌

1. P. L. Williams and J. L. Burson, "Industrial Toxicology", 238, Van Nostrand Reinhold Company Inc., New York, U.S.A. 1985.
2. A. Eschenbach, M. Kastner, R. Bierl, G. Schaefer and B. Mahro, *Chemosphere*, **28**, 683(1994).
3. A. Saber, G. Morel, L. Paturel, J. Jarosz, M. Martin-Bouyer and M. Vial, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **399**, 716(1991).
4. Trapido, J. Veressinina and R. Munter, *Ozone Sci. Eng.*, **16**, 475(1994).
5. Maier. M. Maier, B. Lloyd and I. P. Toms, *Ozone Sci. Eng.*, **18**, 517(1997).
6. K. Kregel-Rothensee, *BioEngineering*, **9**, 13(1993).
7. A. Bjorseth and T. Ramdahl, "Handbook of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons", vol. 2, Marcel Dekker, New York, U.S.A. 1985.
8. E. P. Jack, "Industrial Health", 2nd Ed., 161-172, ACGIH Inc., Cincinnati, Ohio, U.S.A., 1994.
9. I. G. Karanassios, V. I. Georgakilas, E. S. Lahaniatis and G. A. Piliadis, *Fresenius Environ. Bull.*, **3**,

- 511(1994).
10. D. A. Cirovic, R. G. Brereton, P. T. Walsh, J. A. Ellowood and E. Scobbie, *Analyst*, **121**, 575(1996).
 11. J. R. Kershaw, *Fuel*, **75**, 722(1996).
 12. F. J. Beltran, G. Ovejero, J. M. Encinar and J. Rivas, *Ind. Eng. Chem.*, **34**, 1596(1995).
 13. H. Nick, J. P. Hughes and L. F. Michael, "Chemical hazards of the workplace", 159-161, J. B. Lippincott company, Philadelphia, U.S.A., 1998.
 14. J. W. Lloyd, J. F. E. Ludia, C. K. Redmond and P. B. Geiser, *J. Occup. Med.*, **12**, 151(1970).
 15. "American Conference of Governmental Industrial Hygienist, Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices", 17-64, ACGIH Inc., Cincinnati, Ohio, U.S.A., 1995.
 16. G. W. Gibbs, *J. Occup. Med.*, **27**, 761(1985).
 17. J. Kandus, V. Masek and Z. Jach, "Determination of the content of benzo(a)pyrene of workers clothes and underclothing in a pitch manufacturing plant", Vol. 22, 138-141, Zentralbl, Arbeitsmed, 1972.
 18. C. G. Pinto, J. L. P. Pavón and B. M. Cordero, *Anal. Chem.*, **66**, 874(1994).
 19. C. H. Risner and J. M. Conner, *J. Liq. Chromatogr.*, **14**, 437(1991).
 20. R. Niles and Y. L. Tan, *Anal. Chim. Acta*, **53**, 221(1989).
 21. D. R. Choudhury and B. Bush, *Anal. Chem.*, **53**, 1351(1981).
 22. C. Golden and E. Sawicki, *Anal. Letter*, **A11**, 1051(1978).
 23. W. E. May and S. A. Wise, *Anal. Chem.*, **56**, 225(1984).
 24. M. L. Lee and B. W. Wright, *J. Chromatogr. Sci.*, **18**, 345(1980).
 25. J. Dacrs, J. M. Bayona, C. Roux and J. Albaigés, *Environ. Sci. Techol.*, **31**, 682(1997).
 26. J. J. Satana Rodriguez, J. Hernandez Garcia, M. M. Beral Suarez and A. Bermejo Martin-Lazaro, *Analyst*, **118**, 917(1993).