

## 산성 용액의 pH를 감지할 수 있는 형광 센서막

민재영 · 김형진\*

전남대학교 공과대학 화학공학부  
(접수 2020. 1. 7; 게재확정 2020. 2. 8)

### A Fluorescent Sensor Film for Detecting pH of Acidic Solutions

Jae Young Min and Hyung Jin Kim\*

School of Chemical Engineering, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

\*E-mail: hyungkim@chonnam.ac.kr

(Received January 7, 2020; Accepted February 8, 2020)

**요약.** 산성 영역에서 작동하는 고감도 형광 pH 센서막을 제조하기 위하여 실란화된 유리 표면 상에 push-pull 공액 염료 (DCMP)를 공유결합에 의해 고정화하였다. DCMP 유도체(DCMA), 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) 및 triethylene glycol dimethacrylate의 혼합물을 광개시 공중합하여 pH 감응성 형광센서막을 제조하였다. 분광학적 측정 결과, pH 2.0–5.0 사이에서 pH가 증가함에 따라 센서막의 흡광도가 증가하였으며, 같은 pH 범위에서 pH 증가에 따라 센서막의 형광 세기도 약 50배 정도 증가하였다. 산성 조건에서 pH 변화에 대한 센서막의 감응은 가역적이고 재현성이 우수하였다. 또한 센서막은 20–50초 사이의 비교적 짧은 감응 시간과 여러 금속이온 존재에서 수소 이온에 대해 높은 선택성을 나타내었다.

**주제어:** 밀고 당기기 공액 염료, pH 센서막, 형광 센서막, 낮은 pH, 광 공중합

**ABSTRACT.** A push-pull conjugated dye (DCMP) was covalently immobilized on a silanized glass surface to produce a high sensitivity pH sensor film for operating in the acidic region. A pH-sensitive sensor film was prepared by photo-initiating copolymerization of a modified DCMP (DCMA), 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and triethylene glycol dimethacrylate on the silanized glass surface. The absorbance of the sensor film increased with increasing pH between pH 2.0 and 5.0, and the fluorescence intensity of the film also increased about 50 times with increasing pH in the same pH range. The sensor film was reversible and reproducible under acidic conditions. The sensor film showed a relatively short response time between 20–50 seconds and high selectivity for proton in the presence of various metal ions.

**Key words:** Push-pull conjugated dye, pH sensor film, Fluorescent sensor film, Low pH, Photo-copolymerization

## 서론

pH 측정은 생물학적 또는 화학적 분석, 환경 모니터링, 생물 또는 화학 공정 제어 등을 포함한 다양한 산업 분야에서 널리 사용되는 중요한 기술이다. 특정 염료의 흡광 또는 발광 변화에 의해 pH를 측정하는 광학적 pH 측정 방법은 유리 전극을 사용하는 종래의 전위차법에 비하여 빠른 응답 시간, 높은 감도, 전극을 사용하지 않음으로 인한 전기적 충격이나 감전으로부터의 안전성, 그리고 기준 전극이 필요치 않는 점과 같은 여러 가지 장점을 갖고 있다.<sup>1,2</sup> 따라서 이러한 광학적 pH 측정법에 사용할 수 있는 형광 pH 센서의 개발이 최근 많이 이루어지고 있다. 특히 염료를 고체상 지지체에 고정시켜 견고한 광학 pH 센서막을 제조하는 것은 더욱 중요하다. 왜냐하면 이러한 광학센서막은 반복 사용이 가능하고 시료가 염료에 의해 오염되는 것을

방지 할 뿐만 아니라 시료의 pH를 실시간 모니터링 할 수 있는 수단을 제공할 수 있기 때문이다. 즉, 광학센서막 기술을 광섬유 말단에 적용할 경우 광섬유 pH 센서를 제작할 수 있으므로 원격 및 실시간 pH 감지가 가능해지며 광섬유에 의한 프로브 크기의 소형화와 유연성 등으로부터 유래되는 추가적인 이점을 얻을 수 있다.

광섬유를 활용한 pH 감지장치에 사용하기 위해서는 광섬유 말단에 코팅 할 수 있는 고체 매트릭스와 염료 분자를 매트릭스에 고정화하는 기술이 필요하다. 이와 관련하여 지금까지 pH 측정을 위한 염료가 고정화된 다양한 센서막이 개발되었다.<sup>3–9</sup> 그러나 이들 대부분은 생물학적 응용에 요구되는 중성 pH 값을 결정하는데 필요한 pH 범위(5–9)에서 작동 가능하지만, 낮은 pH 값(pH < 5)에서 민감한 광학 센서막은 그다지 많이 알려져 있지 않다.<sup>10–12</sup> 산성 영역에서 작동하는 센서막은 일부 산성 매체(예컨대 인간의 위장

또는 산성 물질로 오염될 수 있는 산업 환경 등의 pH 모니터링에 널리 활용될 수 있다. 따라서 산성 영역의 pH 값에 감응하는 광학센서막의 개발은 여전히 흥미로운 연구 분야이다.

센서막의 감응 pH 범위는 일반적으로 막 내에 포함된 염료에 의해 결정되며, pH 변화에 대한 센서막의 민감성, 감응 시간 및 재현성은 주로 분석 대상 물질에 대한 막의 투과성, 빛 투과성, 화학적 안정성 등과 같은 고체 매트릭스의 특성에 주로 의존한다. 따라서, 적절한 염료와 고체 매트릭스의 선택을 통하여 특정 영역의 pH에 선택적으로 감응하는 센서막을 개발할 수 있다. 현재까지 acetyl cellulose,<sup>13,14</sup> agarose,<sup>15</sup> poly(2-hydroxyethyl methacrylate),<sup>16,17</sup> poly(vinyl chloride),<sup>18</sup> poly(vinyl alcohol)<sup>19</sup> 등의 다양한 polymer matrix 가 pH 센서막에 활용된 예가 보고되어 있다.

최근에 우리는 일종의 push-pull 공액 염료(DCMP, Scheme 1)가 pH 2.0–7.0의 범위에서 internal charge transfer process (ICT)에 의해서 pH 센서 기능을 나타냄을 발표한 바 있다.<sup>20</sup> 산성 용액에서 반복해서 사용할 수 있는 pH 민감성 센서막을 개발하기 위한 연구의 일환으로, pH 민감성 염료로서 DCMP를 선택하고 고체 매트릭스로서 HEMA를 기반으로 하는 공중합체를 이용하여 광학 pH 센서막을 개발하고자 하였다.

본 논문에서는 산성 조건에서 작동하는 형광센서막의 제조법과 그것의 pH 감지 특성을 보고하고자 한다.

## 실 험

### 시약 및 기기

시약과 용매는 Sigma-Aldrich Korea와 Tokyo Chemical Industry Co.에서 구입하였고, 1,2-dimethoxyethane(DME)은 Na과 benzophenone을, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>는 CaH를 넣고 증류한 후 사용하였다. EtOAc와 n-hexane은 단순증류하여 사용하였고 그 외 용매는 정제 없이 사용하였다.

핵자기공명 분석은 AVANCE III HD 400 spectrometer (Bruker, USA)을 사용하였고, 용매로 CDCl<sub>3</sub>를 사용하였다. High Resolution Mass spectra는 JMS-T200GC AccuTOF mass spectrometer(Jeol, Japan)를 사용하여 얻었다.

적외선 분광분석은 FTIR-8300(Shimadzu, Japan)으로 측정하였으며, UV-Vis 및 형광분석은 Dual-FL fluorescence spectrophotometer(HORIBA, Japan)를 사용하였다.

녹는점은 MEL-TEMP II(Laboratory Devices Inc. USA)을 사용하여 측정하였으며 보정 하지 않았다. pH 미터는 Model 420A(Orion, USA)를 사용하였다.

### 형광 염료의 유도체화(화합물 DCMA의 합성)

질소 기류 하에서 화합물 DCMP(401 mg, 0.83 mmol)과

acryloyl chloride(113 mg, 1.25 mmol)을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3 mL)에 녹인 용액에 Et<sub>3</sub>N(3 drops)을 넣고 상온에서 3시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 증류하여 제거하고 남은 잔류물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피(EtOAc : n-hexane = 1 : 1)로 정제하여 붉은색의 고체 화합물 DCMA(358 mg, 수율 80%)을 얻었다. 용점 163–166°C; <sup>1</sup>H NMR δ 1.20 [t, 6H, J=7.2 Hz, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], 3.41 [q, 4H, J=7.2 Hz, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], 3.52 (m, 4H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCO), 4.15 (t, 2H, J = 5.4 Hz, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 4.22 (t, 2H, J=4.5 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCO), 5.88 (dd, 1H, J = 10.4, 1.6 Hz, COCH=CH<sub>2</sub>), 6.08 (dd, 1H, J = 17.6, 10.4 Hz, COCH=CH<sub>2</sub>), 6.39 (dd, 1H, J = 17.6, 1.6 Hz, COCH=CH<sub>2</sub>), 6.66 (d, 2H, J = 8.8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), 6.69 (d, 1H, J = 2.4 Hz, pyridine), 6.86 (d, 1H, J = 15.6 Hz, CH=CH-Ar), 7.09 (d, 1H, J = 2.4 Hz, pyridine), 7.19 (d, 1H, J = 15.6 Hz, CH=CHAr), 7.39 (d, 2H, J = 8.8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), 7.33–7.36 (m, 2H, Ph), 7.48–7.51(m, 3H, Ph); HRMS for C<sub>33</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: calcd 534.2625, found 534.2628.

### 센서막의 제조

유리판(1.25×2.5 cm)을 3% HF 용액과 10% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액에 순차적으로 20분씩 담근 후 증류수로 세척하고 상온에서 1시간 건조시켜 표면을 활성화시켰다. 유리 표면을 실란화(silanized)하기 위하여 HOAc/NaOAc 완충용액(pH 3.7, 10 ml)과 3-(trimethoxysilyl)propyl methacrylate(TSPM, 0.2 ml)를 혼합한 용액을 상온에서 30분간 교반 후 유리판을 2시간 동안 담가 두었다. 그 후 유리판을 증류수로 충분히 세척하고 상온에서 1시간 건조시켰다. 센서막을 제조하기 위하여, DCMA(1.0 mmol)와 HEMA(600.0 mmol), triethylene glycol dimethacrylate(9.5 mmol), triethanol amine(19.0 mmol), 2-hydroxy-2-methyl-1-phenyl-1-propane(24.5 mmol)의 혼합물을 상온에서 1시간 교반 후, 테플론 판 위에 얇게 도포하였다. 실란화 된 유리판을 액체 층 위에 올려 놓고 UV (254 nm, 25 W)로 약 2시간 동안 쬐어주었다. 마지막으로 염료가 고정화된 유리판을 MeOH과 증류수로 충분히 씻어내어 pH 센서막을 얻었다.

### 분광학적 측정

유리판상에 고정된 센서막을 플라스틱 셀(1×1×4 cm)에 고정시켜 미리 제조한 완충 용액 3 mL씩 넣어 센서막의 흡광 및 발광을 분광광도계로 측정하였다. 2 M NaOAc용액과 2 M HOAc용액을 섞어 pH 3.2의 완충용액을 제조한 후, 여기에 진한 염산 또는 NaOH 용액(5 M)을 조금씩 첨가하여 원하는 pH로 조정하여 시료 용액으로 사용하였다.

센서막의 재현성 측정을 위해 플라스틱 셀(1×1×4 cm)에 센서막을 대각선으로 고정시켜 놓고 완충용액이 들어오고

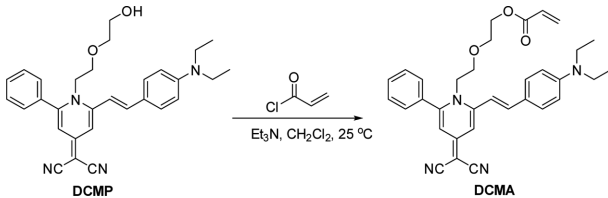
나가기 위한 관을 연결하여 flow cell을 제작 하였다. 이 flow cell을 연동펌프에 연결한 후 pH 1.07, 2.48, 3.05의 완충 용액을 번갈아 2분간씩 공급하면서 센서막으로부터 방출되는 형광 세기의 변화를 측정하였다. 용액의 유속은 30 mL/min 이고 3000 초 동안 실험을 진행하였다.

## 결과 및 고찰

### 염료의 유도체화 및 센서막 제조

형광 염료(DCMP)를 유리판에 공유결합에 의해 고정화 하기 위하여 우선 acryloyl기가 결합된 화합물 DCMP를 Scheme 1에 나타낸 바와 같이 합성하였다. 즉, DCMP를 triethyl amine 존재 하에 당량의 acryloyl chloride로 처리하여 염료 DCMA를 높은 수율로 얻었다.

광개시제의 존재 하에서 염료 DCMA, HEMA, triethylene



Scheme 1. Synthetic route for dye DCMA.

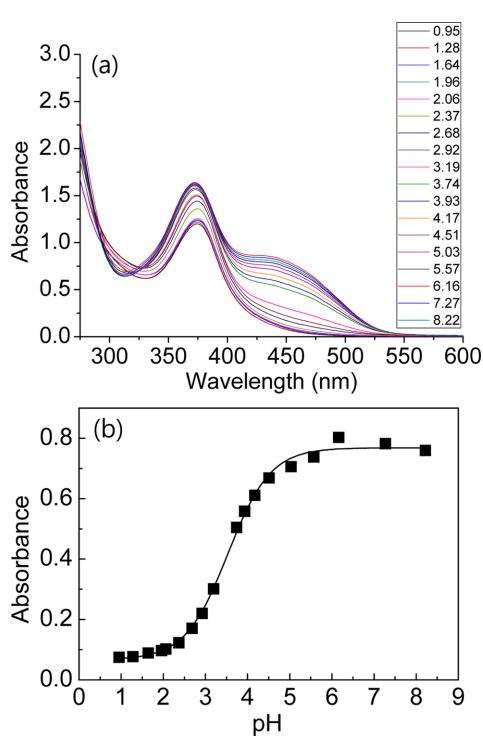


Figure 1. (a) Absorption spectra of the sensor film in different pH buffer solutions. (b) pH-dependent absorbance of the sensor film at 450 nm.

glycol dimethacrylate 및 광개시제의 혼합물을 자외선으로 조사하여 공중합시키면 실릴기로 개질된 유리 지지체 표면에 DCMA가 공유결합으로 고정화된 안정한 센서막이 형성되었다. 일반적으로 HEMA계 중합체는 친수성을 지니고 있기 때문에 수용액의 pH에 민감한 막을 제조하는데 유용하다. 주사 전자 현미경으로 측정한 결과 제조된 센서막의 두께는 약 20  $\mu\text{m}$  이었다.

### pH 감지 특성

다양한 pH 값에서 센서막의 흡수 및 방출 스펙트럼의 변화를 관찰하기 위해, 센서막을 상이한 pH 값을 갖는 완충 용액과 접촉시켰다. Fig. 1(a)에 나타낸 바와 같이, 막은 산성 조건에서 335 nm에서 등방점이 있으며 DCMP의 흡수 스펙트럼과 매우 유사한 경향을 보여주었다. pH 변화에 따른 흡광도의 변화는 450 nm 부근에서 상대적으로 크게 나타났다. 그러한 흡광도 변화를 Fig. 1(b)에 도시하였으며 센서막의 감응 범위는 대략 pH 2.5-4.0의 산성 범위에 있음을 보여주었다.

다양한 pH값에서 센서막의 형광 스펙트럼의 변화는 Fig. 2에 나타내었다. 센서막에 435 nm의 빛을 조사했을 때 568 nm 부근에서 강한 형광이 관찰되었다(Fig. 2(a)). 용액의 pH가 증가함에 따라 형광세기도 함께 증가하였으며 pH

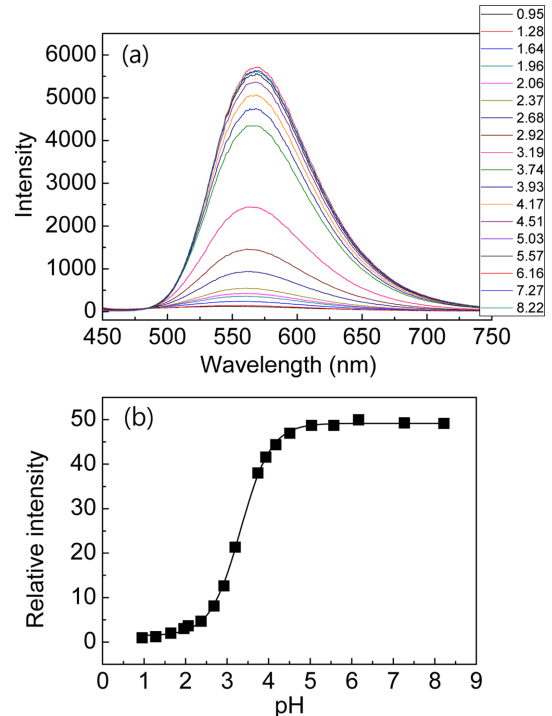
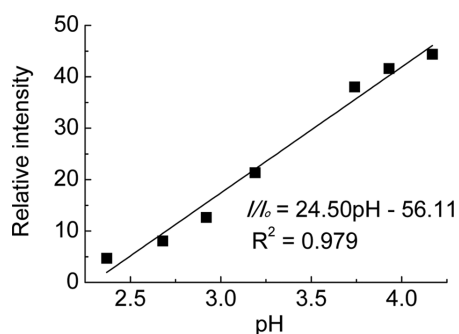


Figure 2. (a) Fluorescence spectra ( $\lambda_{\text{ex}}$  435 nm) of the sensor film with pH changes. (b) Change in the relative emission intensity ( $I/I_0$ ) at 568 nm as a function of pH.  $I_0$  is the intensity of the film at pH 0.95.



**Figure 3.** Linear calibration for the relative intensity of the sensor film from pH 2.37 to 4.17.

2.0에서 pH 5.0으로 증가할 때 센서막의 형광세기는 약 50배 정도 증가하였다(Fig. 2(b)). pH 변화에 따른 센서막의 상대적 형광 세기를 나타낸 그래프(Fig. 3(b))에 나타난 바와 같이 센서막은 pH 2.0–5.0 부근의 산성 영역에서 유용하게 사용될 수 있음을 보여 주었다.

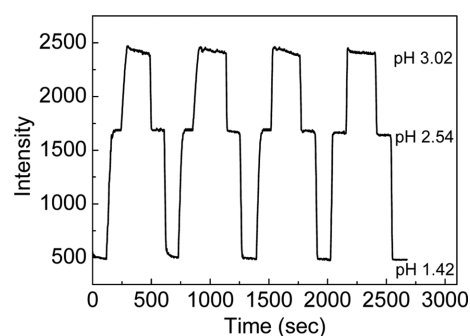
Fig. 3은 감응 pH 영역에서 적용할 수 있는 선형 교정 곡선을 나타낸 것이다. 이러한 직선 관계식은 센서의 실제 사용에 있어서 편리성을 제공한다. 따라서 실험 결과를 토대로 pH 2.37에서 4.17의 범위에서 직선식으로 나타낼 경우 다음 식으로 표현되며 실험결과와 잘 일치함( $R^2 = 0.979$ )을 보여주었다.

$$I/I_0 = 24.50\text{pH} - 56.11, R^2 = 0.979.$$

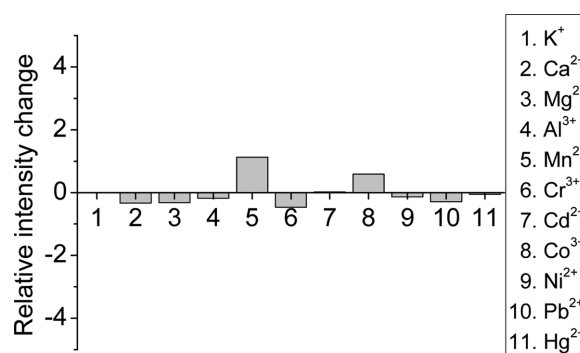
### 센서막의 재현성과 응답시간

pH 변화에 대한 센서막의 형광 반응이 가역성 및 재현성을 갖는지 여부는 센서막의 반복사용 가능 여부와 더불어 센서막의 성능을 좌우하는 중요한 판단 기준이 된다. 이를 평가하기 위하여 pH 1.42, 2.54 및 3.02의 완충용액의 연속적인 흐름에 센서막을 노출시키면서 형광 방출을 모니터링 하였다. pH 변화에 따른 시간의 함수로서 센서막의 형광 세기를 Fig. 4에 나타내었다. 5회( $n = 5$ ) 측정 값의 상대 표준 편차는 pH 1.42의 경우 2.76%, pH 2.54의 경우 1.04%( $n = 8$ ), pH 3.02의 경우 0.77%( $n = 4$ )인 것으로 계산되었다. 또한 pH 1.42, 2.54 및 3.02에 대한 평균 형광 강도의 신뢰 구간은 각각  $493.4 \pm 1.6$ ,  $1673.3 \pm 1.8$  및  $2418.8 \pm 1.8$ 인 것으로 계산되었다( $P = 0.95$ ).

이러한 결과로부터, 본 연구에서 개발된 센서막은 산성 용액에서 반복 사용이 가능하며 재현성이 우수하다고 말할 수 있다. 이 결과를 자세히 들여다 보면 센서막은 작동 가능한 반응 시간을 가졌다는 것을 알 수 있다. 즉, pH가 1.42에서 2.54로 증가할 때와 pH가 2.54에서 3.02로 증가한 경우 38초 만에 막의 형광 세기는 정상 상태 신호의 95%에 도달하였다. pH가 각각 3.02에서 2.54로, 2.54에서 1.42로



**Figure 4.** Response curve of the sensor film for alternative changes in pH ( $\lambda_{\text{ex}}$  435 nm,  $\lambda_{\text{em}}$  568 nm). The measurements were performed in a continuous flow cell.



**Figure 5.** Effects of various metal ions on the response of the sensor film ( $\lambda_{\text{ex}}$  435 nm,  $\lambda_{\text{em}}$  568 nm). The relative intensity is  $(I - I_0)/I_0$ , where  $I$  and  $I_0$  are the emission intensities of the film in contact with pH 2.70 buffer solutions with and without the various metal ions ( $2.5 \times 10^{-5}$  M), respectively.

감소했을 경우에는 형광 세기는 20초 및 52초에 각각 정상 상태 신호의 95% 수준에 도달하였다. 이러한 결과는, 센서막이 1분 이내에 시료 용액과 평형을 이루기 때문에 실시간 모니터링을 위한 대부분의 실제 적용 요건을 충족시킨다는 것을 보여준다.

### 센서막의 선택성

일부 금속 이온은 염료 분자의 질소 또는 산소 원자에 결합함으로써 센서막이 수소이온과 반응하는 것을 방해할 수 있다. 따라서, 센서막의 반응에 대한 금속 이온의 간섭 여부를 조사하기 위하여, 특정 금속 이온을 함유하는 완충 용액(pH 2.70) 11종을 제조한 후, 해당 용액 내에서 센서막의 형광세기를 각각 관찰하였다. Fig. 5에 나타난 바와 같이  $\text{Mn}^{2+}$  이온은 센서막의 상대적 형광세기를 1.1% 정도 증가시켰으나 그 외 대부분의 금속 이온들은 0.5% 미만의 매우 적은 영향을 끼치는데 그쳤다. 따라서 본 센서막은 여러 가지 금속 양이온 존재에서도 수소 이온에만 선택적으로 반응함을 보여 주었다.

## 결 론

우리는 acryloyl기를 갖는 push-pull 공액 염료 DCMA를 합성하였고, 실란화 된 유리 표면 상에 DCMA를 HEMA 및 triethylene glycol dimethacrylate의 혼합물과의 광개시 공중합에 의해 수소 이온에 선택적으로 감응하는 형광 센서막을 제조 하였다. 센서막은 ICT 염료의 특성을 나타내는 흡수 스펙트럼을 보여주었고, 435 nm의 파장을 흡수하여 568 nm 부근에서 강한 형광을 나타내었다. 센서막은 pH 변화에 대해 흡광 변화가 일어 났으며, pH 2.0-5.0 사이에서 pH가 증가함에 따라 흡광도가 증가하였다. 또한 같은 pH 범위에서 pH 증가에 따라 센서막의 형광 세기도 약 50배 정도 증가하였으며, pH 2.37에서 4.17의 범위에서 pH 변화에 대해 우수한 선형 반응을 나타냈다. 센서막은 산성 조건에서 반복 측정에서도 가역적이고 재현성이 우수하였다. 또한 센서막은 작동 가능한 감응 시간 및 수소 이온에 대한 높은 선택성을 가졌다. 이러한 결과로부터 본 연구의 센서막은 산성 조건에서 pH 측정에 충분히 활용될 수 있음을 보여 주었다.

**Acknowledgments.** This study was financially supported by Chonnam National University (Grant number 2016-2717).

## REFERENCES

1. Qi, J.; Liu, D.; Liu, X.; Guan, S.; Shi, F.; Chang, H.; He, H.; Yang, G. *Anal. Chem.* **2015**, *87*, 5897.
2. Wang, X. Y.; Huang, D. W.; Niu, C. G.; Guo, L. J.; Cui, J. J.; Hu, L. Y.; Zeng, G. M. *Sens. Actuators B* **2016**, *234*, 593.
3. Li, Z. Z.; Niu, C. G.; Zeng, G. M.; Liu, Y. G.; Gao, P. F.; Huang, G. H.; Mao, Y. A. *Sens. Actuators B* **2006**, *114*, 308.
4. Ge, Y.; Zhu, J.; Zhao, W.; Qin, Y. *Sens. Actuators B* **2012**, *166-167*, 480.
5. Duong, H. D.; Sohn, O. J.; Lam, H. T.; Rhee, J. I. *Microchem. J.* **2006**, *84*, 50.
6. Wencel, D.; MacCraith, B. D.; McDonagh, C. *Sens. Actuators B* **2009**, *139*, 208.
7. Cajlakovic, M.; Lobnik, A.; Werner, T. *Anal. Chim. Acta* **2002**, *455*, 207.
8. Derinkuyu, S.; Ertekin, K.; Oter, O.; Denizalti, S.; Cetinkaya, E. *Anal. Chim. Acta* **2007**, *588*, 42.
9. Nivens, D. A.; Schiza, M. V.; Angel, S. M. *Talanta* **2002**, *58*, 543.
10. Hashemi, P.; Abolghasemi, M. M. *Sens. Actuators B* **2006**, *115*, 49.
11. Ma, Q. J.; Li, H. P.; Yang, F.; Zhang, J.; Wu, X. F.; Bai, Y.; Li, X. F. *Sens. Actuators B* **2012**, *166-167*, 68.
12. Kim, D. Y.; Kim, H.; Kim, H. J. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2015**, *36*, 473.
13. Safavi, A.; Bagheri, M. *Sens. Actuators B* **2003**, *90*, 143.
14. Safavi, A.; Sadeghi, M. *Spectrochim. Acta Part A* **2007**, *66*, 575.
15. Hashemi, P.; Zarjani, R. A. *Sens. Actuators B* **2008**, *135*, 112.
16. Lim, H. K.; Kim, H. J. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2019**, *40*, 586.
17. Kim, D. Y.; Kim, H. J. *Sens. Actuators B* **2015**, *206*, 508.
18. Derinkuyu, S.; Ertekin, K.; Oter, O.; Denizalti, S.; Cetinkaya, E. *Anal. Chim. Acta* **2007**, *588*, 42.
19. Cajlakovic, M.; Lobnik, A.; Werner, T. *Anal. Chim. Acta* **2002**, *455*, 207.
20. Kim, Y. H.; Kim, H.; Kim, H. J. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2016**, *37*, 494.