

ORIGINAL ARTICLE

## 강산성 용액의 pH를 측정할 수 있는 미셀기반의 형광센서 개발

이정무 · 이성호\*

대구대학교 화학 · 응용화학과

### Self-assembled Micelle-based Fluorescence Sensor for Extremely Acidic pH Range

Jeongmoo Lee, Seung Ho Lee\*

Department of Chemistry, Daegu University, Gyeongsan 38453, Korea

#### Abstract

In this study, an effective fluorescence pH sensor based on conjugated polyelectrolyte micelles (CPMs) was devised for detecting extremely acidic conditions. An amphiphilic coumarin derivative (CC12-N), a building block, was prepared, into which an ionizable amino group, aryl amine, was incorporated as a potential hydrophilic moiety. This monomer displays self-assembled micelle formation in extremely acidic pH ranges, giving a hydrophobic  $\pi$ -extended conjugated system at the inner part and hydrophilic functionality at the periphery, resulting in efficient fluorescence intensity enhancement. This new micelle-based fluorescence provides an efficient sensing platform for detecting very low pH values in the presence of competing substances.

**Key words** : pH Sensors, Micelles, Self-assembly

#### 1. 서론

수소이온 농도(pH)는 식품생산, 의료진단, 생명과학 및 환경분석 등의 다양한 분야에서 중요한 매개변수로 이용되기 때문에 pH를 정확하게 측정하는 것은 매우 중요하다(Han and Burgess, 2010; Li et al., 2014). 따라서 지금까지 정확한 pH측정을 위하여 많은 연구가 수행되어 왔으며, 그 중이 대부분은 질병의 진단 및 치료를 위하여 약산성에서부터 약염기성까지의 pH 영역(pH4-9)을 대상으로 하였다(Yang et al., 2012; Chao et al., 2015; Tong et al., 2017). 최근에는 극한의 산성(pH<3)

에서 살아가는 호산성 균을 이용한 중금속오염 정화 및 미생물제련(Microbial leaching)과 같은 친환경 사업이 진행됨에 따라 강산성 영역의 pH 측정에 대한 많은 관심이 쏟아지고 있다(Sharma et al., 2016). 특히, 석유공업 및 광업 분야에서 황 순환(Sulfur cycle)에 의해 야기되는 공정 장치의 부식, 산성 광산 배수 등의 산업적, 환경적 문제를 해결하기 위해 강산성 조건 하에서 작동하는 pH 센서의 개발이 요구되고 있다(Ayangbenro et al., 2018).

pH 측정을 위해 사용되는 방법으로는 핵자기 공명(Nuclear magnetic resonance)(Chien and Bleam,

Received 19 May, 2020; Revised 4 June, 2020;

Accepted 11 June, 2020

\*Corresponding author: Seung Ho Lee, Department of Chemistry, Daegu University, Gyeongsan 38453, Korea  
Phone : +82-53-850-6444  
E-mail : slee@daegu.ac.kr

The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.  
© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

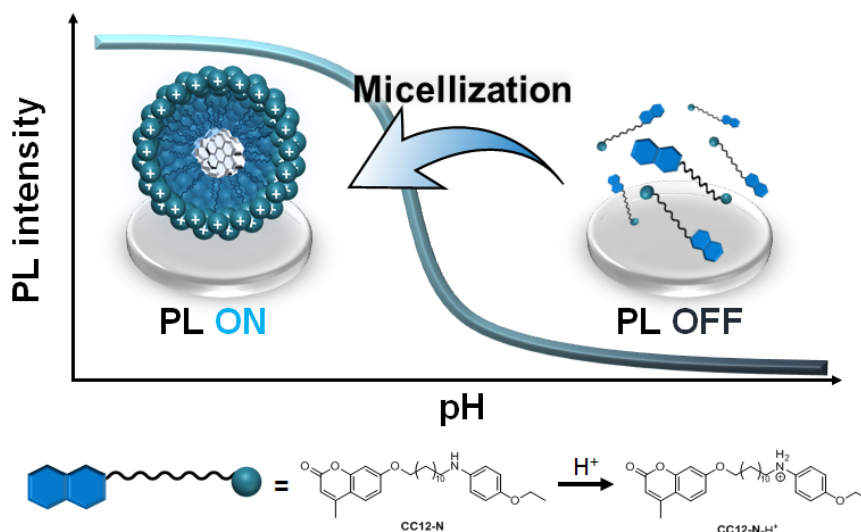


Fig. 1. Structure of ionizable building block CC12-N and schematic illustration of its response to pH changes.

1998), 전기 화학적 측정법(Wipf et al., 2000) 그리고 흡수 분광법(Shi et al., 2014), 형광 분광법(Fluorescence spectroscopy) 등이 있다. 이들 방법 중 형광 화학센서는 비침습적이며 높은 민감도 및 선택성, 빠른 응답 속도, 손쉬운 사용법 등의 장점들로 많은 주목을 받고 있다(Chao et al. 2017; Wu et al., 2018). 특히, 형광 pH 프로브를 이용한 실시간 모니터링 시스템은 생태계에 심각한 문제를 초래하는 오염물질의 관리나 공정 시스템의 관리 및 제어를 위한 강력한 기술 중 하나이다(Wencel et al., 2010). 그러나 지금까지 개발된 많은 형광센서들은 강한 산성에 노출되었을 때 수소이온으로 전하이동이 일어나는 성질로 인하여 강산성 영역에서 그 기능을 발휘하지 못하거나 형광이 소광(turn-off)되는 등의 제한적인 기능을 나타내었다. 따라서 강산성 조건에서 pH를 효율적으로 감지할 수 있는 발광(turn-on) 기반의 형광센서의 개발이 필요한 실정이다.

본 연구에서는 강산성 조건에서 미셀을 형성하여 강한 형광을 나타내는 새로운 화학센서를 개발하였다. Fig. 1에서 나타내듯이 coumarin(쿠마린)이 부착된 alkyl chain(알킬사슬) 말단에 강산성 조건에서 수소이온과 결합하여 친수성 성질을 나타낼 수 있는 방향족 아민을 접목시켜 화합물 CC12-N을 합성하였다. 화합물 CC12-N은 강산성 용액에서 양친매성 특성을 나타내며 자기조립

을 통해 미셀을 형성한다. 본 논문에서는 pH 변화에 따른 화합물 CC12-N의 구조적 특성 변화를 관찰하고 이에 따른 형광변화를 통해 매우 낮은 pH ( $\text{pH} < 2$ )에서 수소이온을 효과적으로 검출하는지를 확인하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 재료 및 기기

#### 2.1.1. 실험 재료

7-Hydroxy-4-methylcoumarin, 1,12-dibromododecane, 4-ethoxyaniline, potassium carbonate, acetonitrile, boric acid, phosphoric acid, acetic acid, sodium hydroxide, hydrochloric acid, n-hexane, ethyl acetate, 1,2-dichloromethane, dimethyl sulfoxide, chloroform- $d_6$ 은 Aldrich, TCI, Acros, 덕산(주)에서 각각 구입하였다.

#### 2.1.2. 실험 기기

NMR 기기는 Bruker 사의 AVANCE III 500을 사용하였으며,  $^1\text{H-NMR}$ 은 500 MHz에서,  $^{13}\text{C-NMR}$ 은 125 MHz에서 측정하였다. 각 신호의 화학적 이동(chemical shift)은 TMS(tetramethylsilane)를 내부기준 물질로 한  $\text{CDCl}_3$ 를 이용하여  $\delta$  (ppm) 단위로 표시

하였다(multiplicity: s=singlet, d=doublet, t=triplet, q=quartet, m=multiplet). 형광 스펙트럼은 Shimadzu 사의 fluorometer RF-6000을 사용하여 측정하였다. 형성된 마이셀의 모양 및 크기는 HITACHI사의 Transmission Electron Microscope HT7700을 이용하여 측정하였으며, 시료는 carbon-coated TEM copper grid 위에 시료 용액 다섯 방울을 떨어뜨린 후 진공 건조시켜 준비하였다. 마이셀의 크기분포는 Malvern사의 Zetasizer Nano S90를 사용하여 측정하였다.

## 2.2. 실험방법

### 2.2.1. 화합물 CC12-Br의 합성방법

아르곤하에서 7-hydroxy-4-methylcoumarin(1.00 g, 5.68 mmol)와  $K_2CO_3$ (2.35 g, 17.03 mmol)를 Acetonitrile 40 mL에 녹여 넣은 후 교반한다. 1,12-Dibromododecane (2.05 g, 6.24 mmol)을 용액에 서서히 적가한 후 80°C로 24시간 동안 환류 교반한다. 반응이 완결되면 실온으로 냉각시킨 후 회전 증발기를 이용하여 용매를 제거한다. 혼합물에 1,2-dichloromethane(100 mL)와 10% 묽은 염산(100 mL)을 넣고 유기층을 분리한다. 유기층을 증류수(100 mL)로 두번 더 씻어 준다. 유기층을 분리하여 무수  $MgSO_4$ 을 넣어 수분을 제거한 후 거름종이를 이용하여 여과한다. 회전 증발기를 이용하여 여과액의 용매를 제거한다. ethyl acetate:hexane(1:5)의 전개용매를 컬럼크로마토그래피에 사용하여 흰색 고체의 CC12-Br을 얻었다. Yield: 79%;  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  : 7.49 (d, 1H), 6.86, 6.84 (dd, 1H), 6.81 (d, 1H), 6.13 (s, 1H), 4.01 (t, 2H), 3.41 (t, 2H), 2.39 (d, 3H), 1.88 - 1.78 (dq, 4H), 1.49 - 1.28 (m, 16H) ppm;  $^{13}C$ -NMR (125 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  : 162.42, 161.50, 155.51, 152.67, 125.59, 112.85, 112.06, 101.53, 68.79, 34.15, 32.99, 29.49, 28.61, 26.10, 18.79 ppm.

### 2.2.2. 화합물 CC12-N의 합성방법

아르곤하에서 4-Ethoxyaniline(0.11g, 0.78 mmol)와  $K_2CO_3$ (0.12 g, 0.85 mmol)를 Acetonitrile 10 mL에 녹여 넣은 후 교반한다. CC12-Br(0.30 g, 0.71 mmol)을 용액에 서서히 적가한 후 80°C로 24시간 동안 환류 교반한다. 반응이 완결되면 실온으로 냉각시킨 후 회전 증발기를 이용하여 용매를 제거한다. 혼합물에 1,2-dichloromethane(100 mL)와 증류수(100 mL)을

넣고 유기층을 분리한다. 유기층을 증류수(100 mL)로 두번 더 씻어 준다. 유기층을 분리하여 무수  $MgSO_4$ 을 넣어 수분을 제거한 후 거름종이를 이용하여 여과한다. 회전 증발기를 이용하여 여과액의 용매를 제거한다. 1,2-dichloromethane의 전개용매를 컬럼크로마토그래피에 사용하여 갈색 고체의 CC12-N을 얻었다. Yield: 74%;  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  : 7.47 (d, 1H), 6.86, 6.84 (dd, 1H), 6.81 (d, 1H), 6.78, 6.76 (dt, 2H), 6.57, 6.56 (dt, 2H), 6.13 (sd, 1H), 4.01 (t, 2H), 3.96 (q, 2H), 3.05 (t, 2H), 2.39 (s, 3H), 1.81 (quin, 2H), 1.60 (quin, 4H), 1.46 (quin, 2H), 1.37 (t, 5H), 1.33 - 1.24 (brm, 12H) ppm;  $^{13}C$ -NMR (125 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  : 162.27, 161.37, 155.35, 152.56, 151.26, 142.87, 125.45, 115.85, 114.02, 113.42, 112.70, 111.84, 101.37, 68.64, 64.19, 45.06, 29.72, 29.58, 29.56, 29.54, 29.52, 29.47, 29.33, 28.99, 27.21, 25.96, 18.65, 15.04 ppm.

### 2.2.3. 분광학적 측정 및 용액제조 방법

화합물 CC12-N을 DMSO에 녹여  $5.0 \times 10^{-3}$  M 저장 용액(stock solution)을 만든 후 서로 다른 pH의 Britton Robinson 완충용액으로 희석하여  $1.0 \times 10^{-6}$  M의 용액을 제조하였다. 다양한 금속 염화물 ( $Li^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ , 그리고  $Fe^{3+}$ )은 증류수에 녹여 각각 0.12 M 저장 용액을 만들어 사용하였다. CC12-N과 금속 염화물 저장 용액을 Britton Robinson 완충용액 (pH 1.85, pH 4.00)으로 희석하여 각각  $1.0 \times 10^{-6}$  M와  $2.0 \times 10^{-4}$  M의 농도로 혼합용액을 제조하였다. Britton Robinson 완충용액은  $4.0 \times 10^{-3}$  mM의 boric acid, acetic acid, phosphoric acid를 혼합한 수용액에 묽은 hydrochloric acid 또는 sodium hydroxide를 이용하여 pH를 조절하여 제조하였다. 모든 분광학적 측정은 320 nm에서 여기하여 관찰하였으며, 25°C 상온에서 수행되었다.

## 3. 실험 결과 및 토의

### 3.1. 합성

쿠마린 유도체를 출발물질로 하여 두 단계 반응으로 화합물 CC12-N을 합성하였다. 먼저, 소수성 알킬 사슬인

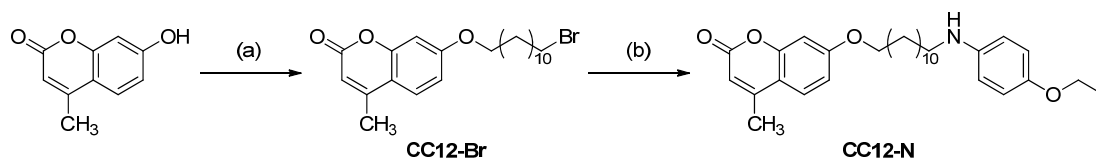


Fig. 2. Synthesis of CC12-N. (a) 1,2-dibromododecane,  $K_2CO_3$ ,  $CH_3CN$ ,  $80^\circ C$ ; (b) 4-ethoxyaniline,  $K_2CO_3$ ,  $CH_3CN$ ,  $80^\circ C$ .

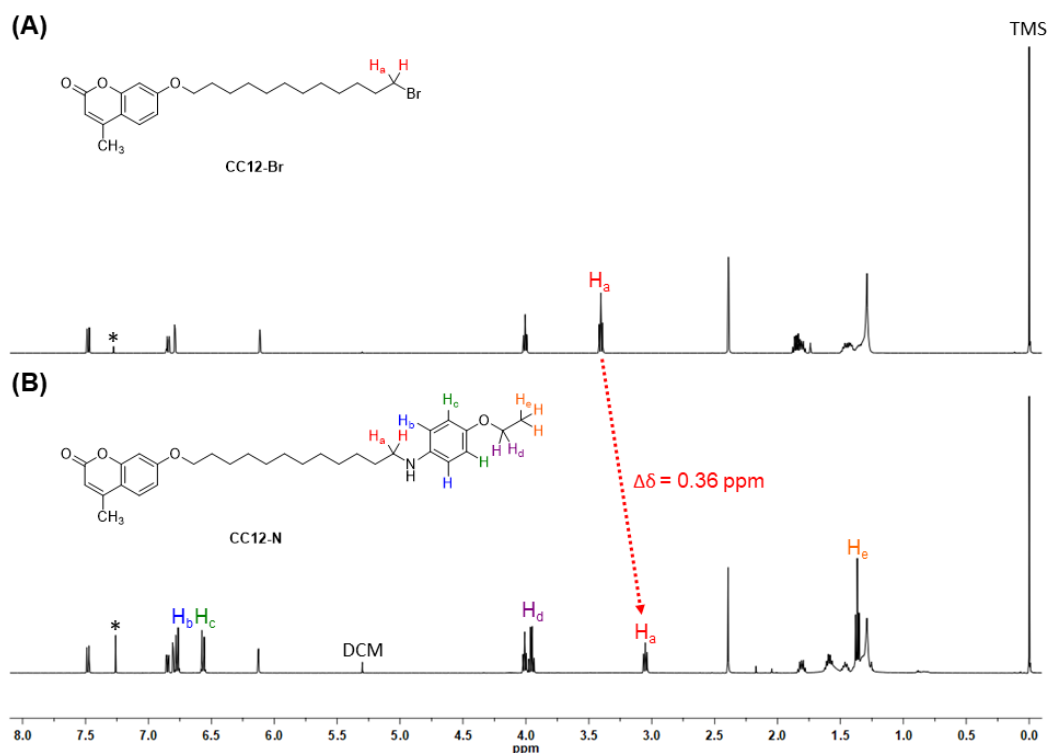


Fig. 3.  $^1H$ -NMR spectra of (A) CC12-Br and (B) CC12-N. \* denotes chloroform.

1,12-dibromododecane의 한쪽 끝에 형광체인 7-hydroxy-4-methylcoumarin을 접목한 화합물 CC12-Br을 합성하였다(Jung et al., 2019). 화합물 CC12-Br의 다른 한쪽 끝은 강산성 조건에서 수소이온이 접목될 수 있는 방향족 아민인 4-ethoxyaniline을 접목시켜 화합물 CC12-N을 합성하였다. 각 화합물은  $^1H$ -NMR 및  $^{13}C$ -NMR을 이용하여 합성 여부를 확인하였다. Fig. 3에서 나타내듯이 화합물 CC12-Br의  $^1H$ -NMR 스펙트럼에서는 쿠마린 유도체와 알킬 사슬에 해당하는 피크가  $\delta$  6.11-7.49 ppm와  $\delta$  1.46-4.02 ppm에서 각각 수소의 개

수에 맞게 정량적으로 관찰되었다. 이 화합물 CC12-Br에 4-ethoxyaniline 작용기를 접목시킨 결과 벤젠고리의  $H_b$ 와  $H_c$  수소에 해당하는 피크가  $\delta$  6.76 ppm과  $\delta$  6.58 ppm에서 doublet/doublet으로 각각 나타났으며, ethoxy의  $CH_2$ 와  $CH_3$ 에 해당하는 피크는  $H_d = \delta$  3.95 ppm에서 quartet으로,  $H_e = \delta$  1.57 ppm에서 triplet으로 각각 관찰되었다. 또한, 이탈기인 Br 작용기가 떨어져 나가고 4-ethoxyaniline이 알킬사슬에 접목되면서  $H_a$ 의 피크는 약 0.36 ppm up-field 이동하였다. 이것은 상대적으로 낮은 전기음성도를 갖는 질소의 영향으로 높은 전기

음성도를 갖는 Br의 경우보다 H<sub>a</sub>에서 shielding 효과가 일어났기 때문에 판단된다. 따라서 이러한 <sup>1</sup>H-NMR의 결과를 바탕으로 CC12-N이 성공적으로 합성되었음을 확인할 수 있었다.

### 3.2. pH 센싱

#### 3.2.1. pH 변화에 따른 형광 특성

pH 변화에 따른 화합물 CC12-N의 형광 변화를 통해 수소이온에 대한 감응성을 측정하였다. Fig. 4A와 4B에서 나타내듯이 화합물 CC12-N은 약산성 영역인 pH=3.5부터 염기성인 pH=12.0 사이에서 매우 약한 형광을 나타내었다. pH가 감소(pH<3.5)함에 따라 형광이 증가하여 pH=2.40 보다 낮은 영역에서는 강한 형광이 유지되었다. 상대적으로 높은 pH 영역(pH>3.60)에서는 화합물 CC12-N의 아민 비공유 전자쌍으로부터 쿠마린 유도체로의 photo-induced electron transfer(PET) 효과에 의해 형광이 소광되지만 낮은 pH 영역(pH<2.40)에서 CC12-N의 아민은 수소이온에 의해 암모늄 이온으로 전환되어 PET 효과가 억제되기 때문에 형광이 증가한 것으로 판단된다. 또한, 지극히 낮은 pH (pH<2.40) 영역에서만 형광이 증가한 이유에 대해서는 CC12-N에서 방향족 아민의 낮은 염기도로 인하여 약산성 영역인 pH=2.5~6.0에서조차도 수소이온과 결합을 형성하지 않았기 때문이다. Fig. 4C는 화합물 CC12-N의 pH 전 영역에서의 가시적인 형광 변화를 나타낸다. 형광 사진에서 나타내듯이  $1.0 \times 10^{-6}$  M의 화합물 CC12-N은 pH=3.9~12.0 사이에서는 소광된 형광을 나타내는 반면에 pH=1.85에서는 푸른색의 강한 형광을 나타내는 것으로 강산성 용액을 가시적으로 관찰할 수 있음을 입증하였다.

#### 3.2.2. 수소이온에 대한 선택성(Selectivity) 실험

수용 액상에서 화합물 CC12-N의 수소이온에 대한 선택성을 알아보기 위해 다양한 금속이온 존재하에 형광 스펙트럼을 측정하였다. Fig. 5에서 나타내듯이 자연계에서 산도 검출 시 방해 요소가 될 수 있는 다양한 금속 이온들(L<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, 그리고 Fe<sup>3+</sup>)이 포함된 수용액에서 화합물 CC12-N( $1.0 \times 10^{-6}$  M)의 형광 변화를 측정하였다. 관찰 결과 pH=4.0에서는 형광이 증가하지 않지만 pH=1.85에서는 형광이 효과적으로

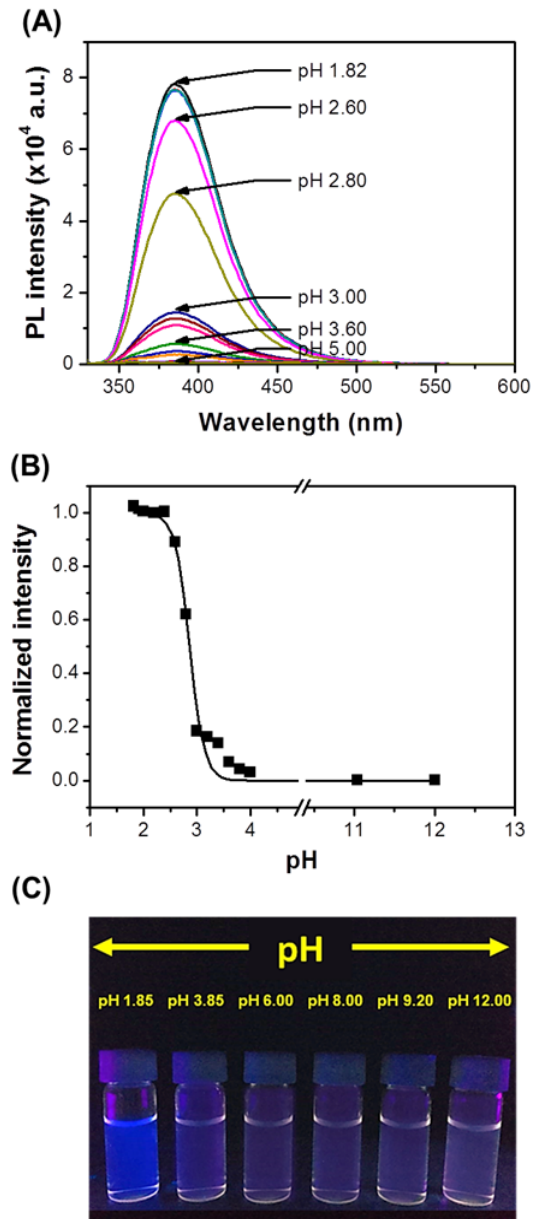
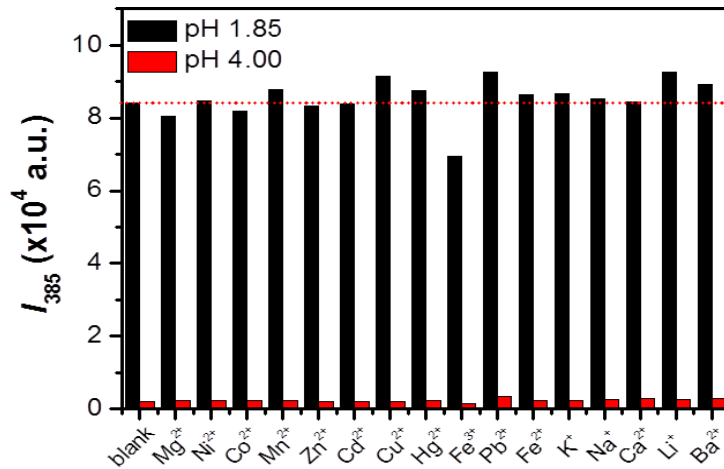
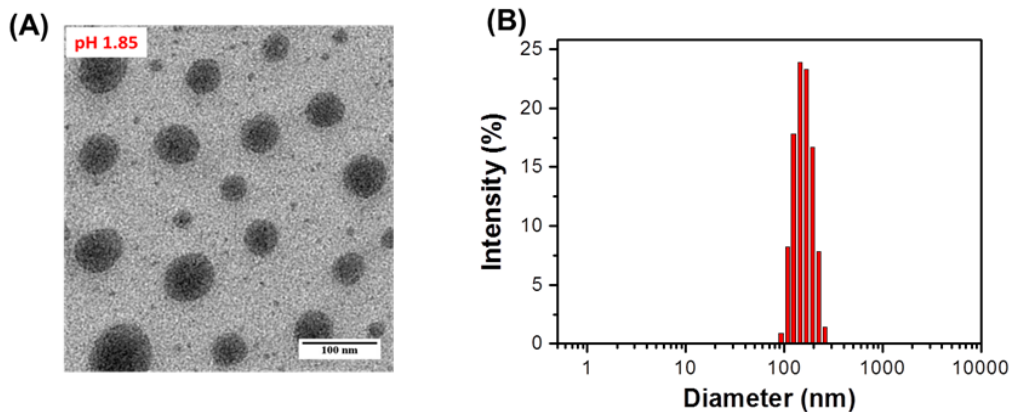


Fig. 4. (A) Fluorescence spectra of CC12-N ( $1.0 \times 10^{-6}$  M) in Britton-Robinson buffer solution with different pH values. (B) Plot of its fluorescence intensity changes as a function of pH. (C) Fluorescence color changes of CC12-N at various pH values. Excitation at 320 nm, fluorescence intensity was monitored at 385 nm.



**Fig. 5.** Fluorescence intensity changes of CC12-N ( $1.0 \times 10^{-6}$  M) in Britton-Robinson buffer solution at pH 1.85 (black bar) and 4.00 (red bar) in the presence of various metal ions ( $2.0 \times 10^{-4}$  M). Excitation at 320 nm, fluorescence intensity was monitored at 385 nm.



**Fig. 6.** (A) TEM image and (B) hydrodynamic radii obtained from DLS for CC12-N in Britton-Robinson buffer solution at pH 1.85.

증가하였다. 이러한 형광증가는 금속이온을 첨가하지 않은 경우와 매우 유사한 형광 세기를 나타낸 것으로 보아 방해 요소 존재하에서도 화합물 CC12-N의 산도 검출능력이 매우 우수하다는 것이 입증되었다.

### 3.3. 강산성 조건에서의 구조적 특성

화합물 CC12-N의 수용액에서의 구조적 특성을 투과전자현미경(Transmission Electron Microscope: TEM)과 동적광산란법(Dynamic Light Scattering: DLS)을 이

용하여 분석하였다. 투과전자현미경 이미지는 pH=1.85에서 화합물 CC12-N의 수용액을 carbon-coated copper grid에 분포하여 측정하였다(Fig. 6A). 투과전자현미경 이미지를 통해 화합물 CC12-N은 강한 산성 조건에서 구형의 응집체를 형성함을 확인할 수 있었으며, 응집체의 평균 크기는 대략 72 nm를 나타냈다. 동적광산란법은 수용액 상에서 화합물의 응집 현상에 따른 입자 크기의 분포에 대한 정보를 제공한다. pH=1.85에서



화합물 CC12-N 수용액을 측정할 결과 평균 156 nm를 나타내지만 pH>4.0 에서는 크기에 대한 어떠한 결과도 관찰할 수 없었다(Fig. 6B). 이 결과는 화합물 CC12-N은 pH<4.0 수용액에서 아민과 수소이온과의 결합을 통해 형성된 CC12-N-H<sup>+</sup>의 양친매성 특성이 자가조립(self-assembly)을 유도하여 응집체를 형성한다는 것을 의미한다(Fig. 1).

### 3.4. 광 안정성(Photostability)

화합물 CC12-N의 광 안정성을 산성 조건인 pH=1.85, 2.70, 4.00에서 30분 동안 측정하여 평가하였다. Fig. 7에서 나타내듯이 pH 1.85에서 30분 후의 형광 세기는 처음과 비교하여 약 20%의 감소가 관찰될 뿐 산성 조건에서의 형광 세기는 비교적 일정하게 나타남을 관찰할 수 있었다. 이러한 결과는 강산성 조건에서도 화합물 CC12-N은 비교적 높은 광 안정성을 유지한다는 것을 입증한다. 이러한 안정성은 양친매성의 CC12-N-H<sup>+</sup>가 형성하는 미셀 내부에는 소수성인 쿠마린과 알킬 사슬이 위치하며 친수성인 ammonium(암모늄)에 의해 둘러싸인 구조를 나타냄으로써 외부의 강한 산화성(산성) 물질로부터 내부의 형광체가 안정적으로 존재할 수 있기 때문이라고 판단된다. 많은 유기물 기반의 화학 센서들이 강산성 조건뿐만 아니라 심지어 수용액 상태에서도 매우 낮은 형광 세기와 낮은 광 안정성을 나타내는 것에 비해 화합물 CC12-N은 그 구조적 특성으로 인하여 매우 높

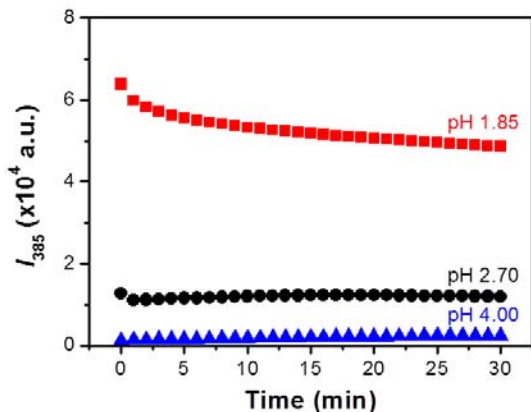


Fig. 7. Time course of fluorescence intensity of CC12-N ( $1.0 \times 10^{-6}$  M) in Britton-Robinson buffer solution at pH 1.85, 2.70 and 4.00. Excitation at 320 nm, fluorescence intensity was monitored at 385 nm.

은 산성 조건에서도 높은 형광 세기를 나타내고 그 안정성이 유지된다는 점에서 이 센서의 우수성이 입증되었다.

## 4. 결론

본 연구에서는 강산의 pH를 효율적으로 측정할 수 있는 미셀 기반의 형광센서 화합물 CC12-N을 개발하였다. 수소이온 수용체로서 약한 염기성을 나타내는 방향족 아민을 도입하여 강한 산성 조건(pH<2.40)에서만 미셀을 형성하게 함으로써 매우 낮은 pH만을 선택적으로 검출하는 데 성공하였다. 산성 조건에서 화합물 CC12-N의 양친매화에 의한 미셀 형성으로 인하여 강한 산성 조건에서도 높은 형광 및 광 안정성을 유지할 수 있었다. 화합물 CC12-N의 pH<2.40에서의 효율적인 검출능력과 높은 안정성은 다양한 경쟁 물질이 존재하는 실질적인 조건에서 극한의 pH를 측정하는 데 효과적으로 응용될 수 있을 것이라 생각된다.

## 감사의 글

이 논문은 2019년 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2019R1I1A3A01058982).

## REFERENCES

- Ayangbenro, A. S., Olanrewaju, O. S., Babalola, O. O., 2018, Sulfate-reducing bacteria as an effective tool for sustainable acid mine bioremediation, *Frontiers in microbiology*, 9, 1986.
- Chao, J., Liu, Y., Sun, J., Fan, L., Zhang, Y., Tong, H., Li, Z., 2015, A Ratiometric pH probe for intracellular pH imaging, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 221, 427-433.
- Chao, J., Song, K., Wang, H., Li, Z., Zhang, Y., Yin, C., Huo, F., Wang, J., Zhang, T., 2017, A Colorimetric and fluorescent pH probe for imaging in *E. coli* cells, *RSC Adv.*, 7, 964-970.
- Chien, Y. Y., Bleam, W. F., 1998, Two-Dimensional NOESY Nuclear Magnetic Resonance Study of pH-Dependent Changes in Humic Acid Conformation in Aqueous Solution, *Environ. Sci. Technol.*, 32, 3653-3658.
- Gotor, R., Ashokkumar, P., Hecht, M., Keil, K., Rurack, K.,

- 2017, Optical pH Sensor Covering the Range from pH 0–14 Compatible with Mobile-Device Readout and Based on a Set of Rationally Designed Indicator Dyes, *Anal. Chem.*, 89, 8437-8444.
- Han, J., Burgess, K., 2010, Fluorescent indicators for intracellular pH, *Chem. Rev.*, 110, 2709-2728.
- Jung, S., Park, T. E., Lee, S. H., 2019, A Self-assembled conjugated micelle with improved sensitivity for monitoring alkaline phosphatase activity, *Tetrahedron*, 60, 2022-2025.
- Li, X., Gao, X., Shi, W., Ma, H., 2013, Design strategies for water-soluble small molecular chromogenic and fluorogenic probes, *Chem. Rev.*, 114, 590-659.
- Sharma, A., Parashar, D., Satyanarayana, T., 2016, Acidophilic microbes: biology and applications. In *Biotechnology of Extremophiles*, Springer, Cham., 215-241.
- Shi, W., Li, X., Ma, H., 2014, Fluorescent probes and nanoparticles for intracellular sensing of pH values, *Methods Appl. Fluoresc.*, 2, 042001.
- Tong, Z. X., Liu, W., Huang, H., Chen, H. Z., Liu, X. J., Kuang, Y. Q., Jiang, J. H., 2017, A Ratiometric fluorescent pH probe based on keto-enol tautomerization for imaging of living cells in extreme acidity, *Analyst*, 142, 3906-3912.
- Wencel, D., Moore, J. P., Stevenson, N., McDonagh, C., 2010, Ratiometric fluorescence-based dissolved carbon dioxide sensor for use in environmental monitoring applications, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 398, 1899-1907.
- Wipf, D. O., Ge, F., Spaine, T. W., Baur, J. E., 2000, Microscopic Measurement of pH with Iridium Oxide Microelectrodes, *Anal. Chem.*, 72, 4921-4927.
- Wu, Y. C., You, J. Y., Jiang, K., Wu, H. Q., Xiong, J. F., Wang, Z. Y., 2018, Novel benzimidazole-based ratiometric fluorescent probes for acidic pH, *Dyes and Pigments*, 149, 1-7.
- Yang, M., Song, Y., Zhang, M., Shixian, L., Hao, Z., Liang, Y., Zhang, D., Chen, P. R., 2012, Converting a Solvatochromic Fluorophore into a Protein-Based pH Indicator for Extreme Acidity, *Angewandte Chemie International Edition*, 51, 7674-7679.

- 
- Graduate student. Jeong-Moo Lee  
Department of Chemistry, Daegu University  
loz1737@gmail.com
  - Professor. Seoung-Ho Lee  
Department of Chemistry, Daegu University  
slee@daegu.ac.kr