

## 실리카 졸-겔막을 이용한 pH 광학센서

이정민 · 이 명 · 이상학<sup>†</sup> · 김영선\* · 김창진\*\* · 이부형\*\*\*

### A pH Optosensor Based on Fluorescence from Nile Blue Encapsulated within Silica Sol-Gel Film

Jung-Min Lee, Ming Li, Sang-Hak Lee<sup>†</sup>, Young-Sun Kim\*,  
Chang-Jin Kim\*\*, and Boo-Huyng Lee\*\*\*

#### Abstract

A fiber optic pH sensor has been fabricated using nile blue entrapped in an ammonia catalyzed silica sol-gel film coated on glass substrate by dip-coating. The sensor was fixed on the end of an optical fiber. The sensor showed pH sensitivity when dipped into liquids at different pHs. Linear and reproducible responses were obtained in standard buffer solutions in the pH range 6.0~8.5, which encompasses the clinically-relevant range. The effects of interferences on the determination of pH were also investigated. The sensors were successfully applied to the determination of pH in different commercial ionic drinks.

**Key Words :** pH, optosensor, fluorescence, nile blue, sol-gel

## 1. 서 론

pH의 측정과 조절은 화학, 의학, 생명, 산업 그리고 환경분야 등에서 중요시 되어지고 있다<sup>1,2,4,5,10</sup>. 최근에는 fiber optic pH sensor를 이용한 연구가 활발히 진행되고 있다. Fiber optic pH 센서는 다른 방법들에 비해 크기가 작고, 전자기적인 주파수와 radio 주파수의 방해요인에 대하여 면역성을 가지고 있고, 파열에 대한 내구성, 넓은 감응범위, 다양한 응용범위와 적은 비용과 같은 많은 장점을 가지고 있다. Optical fiber sensor를 이루고 있는 주 성분은 pH를 감응할 수 있는 형광 시약이 고정화된 감응막이다<sup>1,5,6</sup>. 최근에는 pH를 감응할 수 있는 dye를 고정화시킨 sol-gel 기술이 연구되어지고 있다<sup>5,8,9</sup>. 이 기술에서 dye를 고정화시킨 감응막

은 상온에서 금속 알콕사이드 용액의 가수분해 반응과 축합반응을 이용하여 제조한다. Sol-gel 기술은 다른 기술에 비하여 단순하고, sol-gel 방법으로 제조된 감응막은 폴리머 막 보다 단단하고, 다른 환경 인자에 대한 저항성이 크다는 장점을 가지고 있다<sup>1,5,11-18</sup>. Optical fiber sensor는 흡광도(absorbance), 반사율(reflectance), 형광(fluorescence), 에너지 전이(energy transfer) 등과 같은 분광학적인 특성을 이용하여 pH를 측정한다. Sol-gel 막을 이용한 형광 분광법은 pH, polarity, viscosity, concentration, solvent effects, excited state molecular processes 등과 같은 다양한 물리-화학적 변수들의 효과를 연구하는데 아주 좋은 분석도구이다<sup>5,11,19</sup>.

본 연구에서는 졸-겔법을 이용하여 형광물질이 고정화된 센서를 제작하였다. 이 센서로 pH 변화에 따른 수소이온의 헤리정도에 의해 형광세기가 변화하는 원리를 이용하여 pH를 측정하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 시약과 기기

본 실험에서 형광시약으로는 nile blue chloride

경북대학교 자연과학대학 화학과(Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea)  
\*대구보건대학 치위생과(Department of Dental Hygiene, Daegu Health College, Taegu 702-722, Korea)  
\*\*대구대학교 자연과학대학 물질과학부(Division of Material Science, College of Natural Sciences, Daegu University, Taegu 712-714, Korea)  
\*\*\*창원전문대학 피부미용과(Department of Cosmetology Care, Changwon College, Changwon 641-771, Korea)

<sup>†</sup>Corresponding author: shlee@knu.ac.kr  
(Received : January 31, 2004, Accepted : February 26, 2004)

(Aldrich, USA), precursor solution의 출발물질이자 졸 겔의 골격형성을 위한 물질로는 tetraethyl orthosilicate(98%, Aldrich, USA), 산성촉매제로 HCl(Duksan, Korea), 균질용액을 제조하기 위해 ethyl alcohol(Duksan, Korea), 가수분해를 시키기 위해서는 Millipore사(Bedford, MA, USA)의 Milli-Q water system으로 얻은 탈이온수가 사용되었으며, pH를 측정하기 위한 buffer solution으로는  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 와  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ (Merck, Germany)가 사용되었다. 본 실험에서는 형광을 측정하기 위해 450W Xe Lamp를 광원으로 사용하였으며 흐름셀에 시료의 주입과 배출을 위해서 연동펌프(Ismatec, Model 404 and MS-4 Reglo/6-100, Switzerland)를 이용하였다. 본 실험에서 사용한 두 개의 연동펌프 중 첫 번째 연동펌프는 각 pH별로 phosphate buffer를 흐름셀(사면이 투명한 1 cm 석영 셀)에 자동으로 운반하는 데에 이용하고, 두 번째 연동펌프는 용액의 배출에 이용하였다. 연동펌프를 통해 주입된 용액은 흐름셀에서 졸-겔 방법으로 고정화시킨 nile blue를 coating한 slide glass와 반응하고, 이 때 방출되는 형광은 광섬유다발(Oriel, Model 77800, USA)을 거치도록 하여 발광 검출기(emission detector)인 PMT(Hamamatsu사, Model R928, Bridgewater, NJ, USA)를 사용하여 시료의 형광을 측정하였다.

2.2. 센서 제작

본 연구에서는 졸-겔을 만들기 위해 vial에 precursor solution의 출발물질로 tetraethyl orthosilicate(TEOS)와 가수분해를 위해  $\text{H}_2\text{O}$ 를 넣었다. TEOS의 경우 가수분해 속도가 매우 느리므로 산 촉매제로 HCl을 넣어 pH 2로 고정시켰으며, 균질용액을 제조하기 위해 ethyl

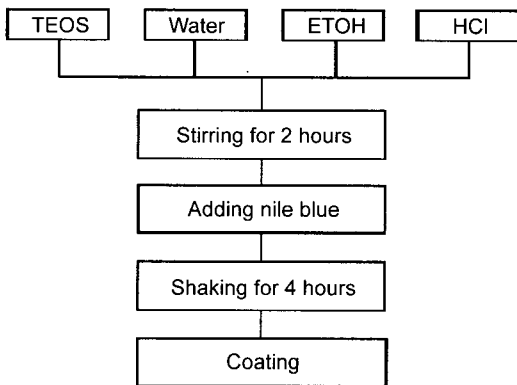


그림 1. pH 센서를 제조하기 위한 순서도  
 Fig. 1. Flow chart for preparation of pH sensor using nile blue encapsulated in a silica sol-gel film.

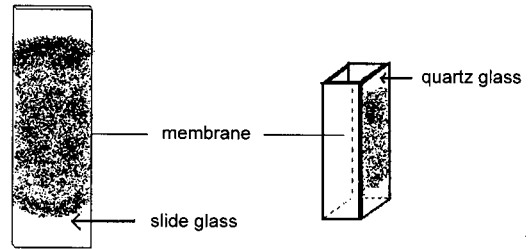


그림 2. 유리에 코팅된 막의 개략도  
 Fig. 2. Schematic view of the optode membrane coated on a slide glass.

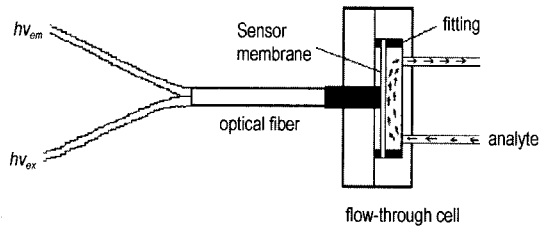


그림 3. pH 감응막을 사용한 pH의 광학적 측정 개략도  
 Fig. 3. Schematic view of the optical arrangement for measuring pH using a pH responsive membrane installed in a flow-through cell.

alcohol을 넣고 교반기와 magnetic bar를 사용하여 약 2시간 동안 혼합하였다. 그림 1에는 TEOS 졸의 제조 및 형광시약 고정화 과정을 나타내었다. 그림 1에 정리한 방법으로 제조한 졸과 형광시약인 0.1 mM의 nile blue를 1:1 비율로 vial에 넣고 교반기와 magnetic bar를 사용하여 2시간 동안 혼합하였다. 겔화가 이루어지면 sol-gel 용액을 미리 세척하여 70°C에서 건조한 slide glass에 dip-coating하였다(그림 2). 코팅된 slide glass를 상온에서 4~5일 동안 건조하여 pH 감응막을 제조하였으며, 그림 3에서 보는바와 같은 방법으로 연동펌프를 사용하여 시료를 주입하여 시료와 nile blue가 코팅된 pH 감응막과의 반응으로 인해 방출되는 형광을 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 졸-겔 막의 감응특성

석영셀에 감응막을 고정화시킨 후 감응막의 형광 스펙트럼을 측정하기 위하여 fiber optics bundle을 감응막이 고정되어 있는 석영 셀에 연결하여 측정된 결과를 그림 4에 나타내었다. 그림 4에서 볼 수 있듯이 졸-겔막의 들뜸 파장을 637.0 nm에 고정시키고 방출 파장을 650.0 nm에서 675.0 nm까지 변화시켜 가면서

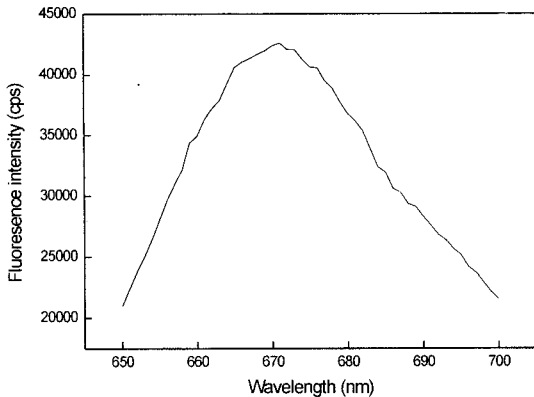


그림 4. pH solution 존재 하에서의 Nile blue의 형광스펙트럼

Fig. 4. Fluorescence spectra of Nile blue ( $\lambda_{ex}$ , 637.0 nm) in pH solution: 0.1 mM Nile blue entrapped in a silica sol-gel film.

표 1. 졸-겔 혼합물의 조성

Table 1. Compositions of sol-gel mixtures

Sample name	Molar ratio (pH 2)		
	TEOS	EtOH	H <sub>2</sub> O
S 1	1	8	15
S 2	1	8	4
S 3	1	4	20
S 4	1	4	15
S 5	1	4	12
S 6	1	4	4
S 7	1	4	1
S 8	1	1	20
S 9	1	1	15
S 10	1	1	4

측정한 결과 졸-겔 막의 방출 파장이 663.0 nm에서 나타났다.

### 3.2. 조성비에 대한 영향

졸-겔막의 감응특성에 영향을 미치는 졸-겔 용액의 조성비에 대한 영향을 연구하였다. 그리고 각각의 조성비는 표 1에 나타내었다. 각각의 조성비를 변화시켜가며 S 1에서 S 10까지 10가지 종류의 sol-gel 막을 제조하였다. 10가지의 졸-겔 막을 각각 dip-coating 시킨 후, 감응특성을 조사해본 결과 S 7이 균열이 발생하지 않고 투명한 유리상태의 졸-겔 막을 형성하였으며 다른 sample들에 비해 감응특성이 제일 좋았다. 따라서 이후 실험에서는 S 7의 sol-gel막을 이용하여 pH를 측정하였다.

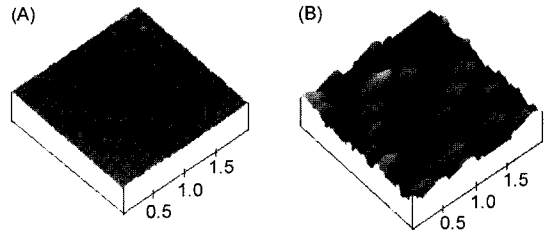


그림 5. 실리카 필름의 표면도

Fig. 5. The AFM patterns of the surface morphologies of the silica films; (A), slide glass and (B), Nile blue entrapped in a silica sol-gel film.

### 3.3. 졸-겔 막의 표면도

앞에서 조사한 졸-겔의 최적 조성비로 졸을 만든 후 만든 졸에 형광시약인 0.1 mM Nile blue를 2시간 동안 교반기로 혼합한 후 slide glass에 코팅하고 상온에서 4일 동안 건조하여 제조한 감응막의 표면상태를 알아보기 위하여 AFM(Atomic Force Microscopy)을 측정하였다. 이 결과는 그림 5에 나타내었다. 그림 5에서 볼 수 있듯이 감응막이 비교적 잘 코팅되었다는 것을 알 수 있었다. 10번 반복실험을 해 본 결과 slide glass에 코팅된 감응막의 표면은 거의 변화가 없었다.

### 3.4. 졸-겔 막의 두께에 대한 영향

본 실험에서는 앞에서 조사한 졸-겔의 최적 조성비로 졸을 만든 후 이 졸에 형광시약인 0.1 mM Nile blue를 2시간 동안 교반기로 혼합한 후 slide glass에 dip-coating하고 상온에서 4일 동안 건조하여 제조한 감응막의 두께에 따른 형광세기를 알아보기 위하여 SEM(Scanning Electron Micrography)을 이용하여 막두께를 측정하였다. 측정한 결과는 그림 6에 나타내었다. 그림 6에서 볼 수 있듯이 최적 조성비에서 만들어진 감응막의 두께는 17.50  $\mu\text{m}$ 이었으며 10번의 반복실험을 행한 후에도 같은 결과를 나타내었다.

### 3.5. 방해이온의 영향

실제 시료의 pH 측정에 적용하고자 할 때 본 실험에서 제조한 센서를 방해할 수 있는 여러 이온들의 영향을 조사하였다. 최적 졸-겔 조성비로 제작한 pH 센서를 pH 측정 가능한 범위에서 센서의 감도에 영향을 주는 방해 이온의 영향을 조사하였다. 그림 7에서 보는 바와 같이 조사 대상은 우리가 마시는 물 속에 주로 존재하는 이온들인 K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, F<sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup> 이온들이다. F<sup>-</sup>와 Ca<sup>2+</sup> 이온 외에는 pH의 측정에 방해를 일으키지 않았다.

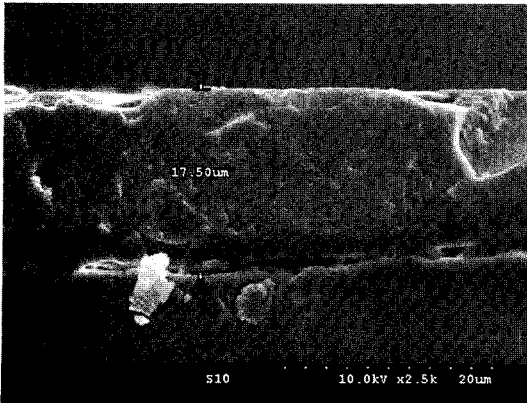


그림 6. 졸-겔 필름의 SEM 사진  
Fig. 6. SEM photographs of the sol-gel film.

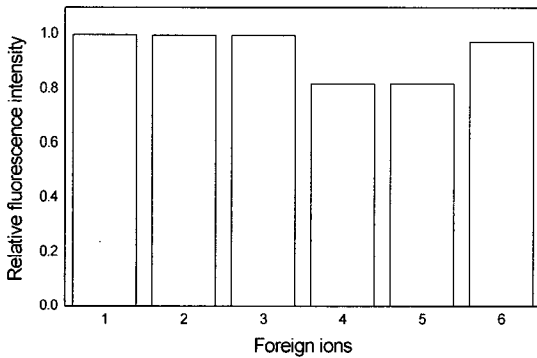


그림 7. pH 광학센서를 사용하여 측정하기 위한 형광세기에 따른 방해이온들의 효과  
Fig. 7. Effects of foreign ions(1, blank; 2,  $\text{Cl}^-$ ; 3,  $\text{Na}^+$ ; 4,  $\text{F}^-$ ; 5,  $\text{Ca}^{2+}$ ; 6,  $\text{K}^+$ ) on fluorescence intensity for measurement of pH using an optical pH sensor: Nile blue, 0.1 mM;  $\lambda_{\text{ex}}$ , 637.0 nm;  $\lambda_{\text{em}}$ , 663.0 nm.

### 3.6. 검정곡선

본 실험에서는 앞에서 조사한 졸-겔 최적 실험 조건 하에서 졸-겔 안에 0.1 mM의 형광 시약 Nile blue를 고정시키고 slide glass에 coating한 후 건조시켜 pH 감응막을 제조하였다. 또 완충 용액의 pH를 변화시키면서 막의 형광 세기의 변화를 측정하였다. 각 pH에 따른 형광 세기를 측정하기 위하여 phosphate buffer를 사용하였으며 들뜸 파장은 637.0 nm로 고정시키고 방출 파장은 663.0 nm로 고정시켜 형광 세기를 측정하였다. 측정된 결과는 그림 8에 나타내었다. 본 실험에서 pH 5.6에서 pH 9.2까지 측정해본 결과 pH 5.4에서 pH 6.0까지의 범위에서는 pH에 따라 센서의 감응세기가 거의 일정하였으며 그림 8에서 보듯이 pH 6.0에서 pH

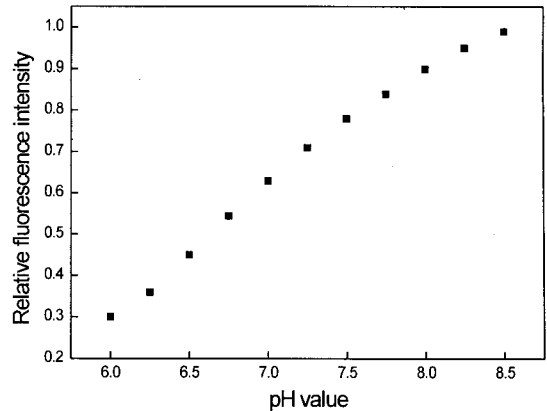


그림 8. pH 광학센서의 검정곡선  
Fig. 8. Calibration curve of the optical pH sensor.

8.5까지의 범위에서는 pH의 증가함에 따라 감응세기가 선형적으로 증가하는 특성을 보였다. 그리고 pH 8.5에서 pH 9.2까지의 범위에서는 pH의 변화에 따라 감응세기가 거의 일정하였다. 따라서 위의 결과에 따라 본 실험에서 사용된 pH센서의 측정가능한 범위는 pH 6.0에서 pH 8.5까지라는 것을 알 수가 있다. 본 실험에서는 10번의 반복실험을 행하였으며 상대표준편차는 1.3%였다. 측정이 끝난 후 다음측정을 진행하기 전에 기억 효과를 줄이기 위하여 증류수로 3회 세척하였다. 측정 가능한 pH 범위는 pH 6.0~8.5였다. 이 범위에서 직선성이 성립하였으며 상관 계수는 0.9984이었다.

## 4. 결 론

본 실험에서는 졸-겔 방법을 이용하여 제작한 pH센서를 이용하여 형광 분광법으로 용액 중의 pH를 측정하는 방법에 대하여 연구하였다. 검출 가능한 pH 범위는 pH 6.0~8.5였으며 직선의 상관 계수는 0.9984이었다. 이때 들뜸 파장과 방출 파장은 각각 637.0 nm, 663.0 nm로 고정하였다. pH 센서를 제작하기 위한 졸-겔막의 출발 물질로는 TEOS를 사용하였다. 졸-겔막을 만들기 위한 TEOS,  $\text{H}_2\text{O}$ , EtOH의 최적 조성비는 1 : 1 : 4 (molar ratio)이었고, 최적 pH는 2였다. 본 연구에서 개발된 방법을 실제 시료의 pH 측정에 적용하고자 할 때에 측정 결과에 미치는 방해 이온의 효과를 조사하였다. 본 연구에서 조사한 방해 이온 대상 물질은 수용수에 주로 포함된  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  및  $\text{Cl}^-$  이온이었다.  $\text{F}^-$ 와  $\text{Ca}^{2+}$  이온들 외에는 pH 센서의 측정에 방해 일으키지 않았다.

## 감사의 글

이 연구는 2003년도 대구대학교 학술연구비에 의하여 지원되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고 문헌

- [1] N. K. Sharma and B. D. Gupta, "Fabrication and characterization of pH sensor based on side polished single mode optical fiber", *Optics Communications*, vol. 216, pp. 299-303, 2003.
- [2] A. Safavi and M. Bagheri, "Novel optical pH sensor for high and low pH values", *Sensors and Actuators B*, vol. 90, pp. 143-150, 2003.
- [3] S. A. Grant, K. Bettencourt, P. Krulevitch, J. Hamilton, and R. Glass, "In vitro and in vivo measurements of fiber optic and electrochemical sensors to monitor brain tissue pH", *Sensors and Actuators B*, vol. 72, pp. 174-179, 2001.
- [4] C. Malins, H. G. Glever, T. E. Keyes, J. G. Vos, W. J. Dressick, and B. D. MacCraith, "Sol-gel immobilized ruthenium(II) polypyridyl complexes as chemical transducers for optical pH sensing", *Sensors and Actuators B*, vol. 67, pp. 89-95, 2000.
- [5] B. D. Gupta and S. Sharma, "A long -range fiber optic pH sensor prepared by dye doped sol-gel immobilization technique", *Optics Communications*, vol. 154, pp. 282-284 1998.
- [6] S. A. Grant and R. S. Glass, "A sol-gel based fiber optic sensor for local blood pH measurements", *Sensors and Actuators B*, vol. 45, pp. 35-42, 1997.
- [7] L. M. Shamansky, M. Yang, M. Olteanu, and E. L. Chronister, "A spectroscopic study of the pH sensor response of fluorecein doped silica and aluminosilica sol-gel glasses", *Materials Letters*, vol. 26, pp. 113-120, 1996.
- [8] S. T. Lee, B. Aneeshkumar, P. Radhakrishnan, C. P. G. Vallabhan, and V. P. N. Nampoori, "A microbent fiber optic pH sensor", *Optics Communications*, vol. 205, pp. 253-256, 2002.
- [9] G. E. Badini, K. T. V. Grattan, A. C. C. Tseung, and A. W. Palmer, "Sol-gel properties for fiber optic sensor applications", *Optical Fiber Technology*, vol. 2, pp. 378-386, 1996.
- [10] J. Lin and D. Liu, "An optical pH sensor with a linear response over a broad range", *Analytica Chimica Acta*, vol. 408, pp. 49-55, 2000.
- [11] N. K. Chaudhury, R. Bhardwaj, and B. M. Murari, "Fluorescence spectroscopic study to characterize and monitor TEOS based sol-gel process for development of optical biosensors", *Current Applied Physics*, vol. 3, pp. 177-184, 2003.
- [12] K. Ertekin, C. Karapire, S. Alp, B. Yenigull, and S. Icli, "Photophysical and photochemical characteristics of an azlactone dye in sol-gel matrix; a new fluorescent pH indicator", *Dyes and Pigments*, vol. 56, pp. 125-133, 2003.
- [13] B. D. Gupta and N. K. Sharma, "Fabrication and characterization of U-shaped fiber-optic pH probes", *Sensors and Actuators B*, vol. 82, pp. 89-93, 2002.
- [14] J. Rayss and G. Sudolski, "Ion adsorption in the porous sol-gel silica layer in the fibre optic pH sensor", *Sensors and Actuators B*, vol. 87, pp. 397-405, 2002.
- [15] O. B. Miled, H. B. Ouada, and J. Livage, "pH sensor based on a detection sol-gel layer onto optical fiber", *Materials Science and Engineering C*, vol. 21, pp. 183-188, 2002.
- [16] M. Lechna, I. Holowacz, A. Ulatowska, and H. Podbielska, "Optical properties of sol-gel coatings for fiber optic sensors", *Surface and Coatings Technology*, vol. 151-152, pp. 299-302, 2002.
- [17] M. Cajlakovic, A. Lobnik, and T. Werner, "Stability of new optical pH sensing material based on cross-linked poly(vinyl alcohol) copolymer", *Analytica Chimica Acta*, vol. 455, pp. 207-213, 2002.
- [18] S. Lopez, A. Senz, and H. E. Gsponer, "Luminescent properties of Tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) in sol-gel-processed dip-coated thin films", *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 246, pp. 122-128, 2002.
- [19] P. A. Wallace, M. Campbell, Y. Yang, A. S. Holmes-Smith, and M. Uttamal, "A distributed optical fibre fluorosensor for pH measurement", *Journal of Luminescence*, vol. 72-74, pp. 1017-1019, 1997.

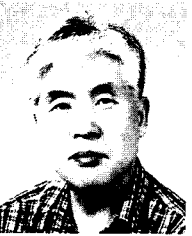


이 정 민 (Jung Min Lee)

- 2001년 2월 가야대학교 세라믹공학과 졸업(공학사)
- 2003년 2월 경북대학교 화학과 졸업(이학석사)
- 2003년 3월 현재 경북대학교 화학과 박사과정 재학중
- 주관심분야 : 화학 및 바이오센서

이 명 (Ming Li)

- 1988년 7월 김립대학 화학과 졸업(이학사)
- 1988년 8월 ~ 1993년 5월 연변 FRP 제조회사
- 1993년 5월 ~ 1998년 8월 연변 제약회사
- 2000년 8월 경북대학교 화학과 졸업(이학석사)
- 2002년 8월 경북대학교 화학과(박사수료)
- 주관심분야 : 화학 및 바이오센서



이 상 학 (Sang Hak Lee)

- 1973년 2월 경북대학교 화학과 졸업(이학사)
- 1979년 9월 ~ 1985년 12월 Teaching Assistant, University of Saskatchewan, Canada
- 1985년 12월 University of Saskatchewan (Ph.D)
- 1986년 1월 ~ 1988년 10월 Postdoctoral Fellow, University of Saskatchewan
- 1988년 11월 ~ 1989년 7월 Research Associate, University of Illinois, U.S.A.
- 1990년 8월 ~ 1993년 2월 한국자원연구소 분석연구부 선임연구원
- 1993년 3월 현재 경북대학교 자연과학대학 화학과 교수
- 주관심분야 : 화학 및 바이오센서, 한약 재료 및 임상시료 분석법 연구

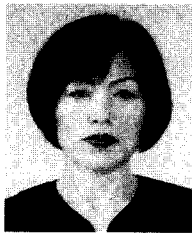


김 영 선 (Young Sun Kim)

- 1996년 3월 현재 대구보건대학 치위생과 교수
- 1998년 8월 대구카톨릭대학교 보건대학원 졸업(석사)
- 2002년 3월 현재 경북대학교 센서공학과 박사과정 재학중
- 주관심분야 : 화학 및 바이오센서

김 창 진 (Chang Jin Kim)

- 1973년 2월 경북대학교(이학사)
- 1975년 2월 경북대학교 대학원(이학석사)
- 1985 ~ 1995년 일본 동북대, 동경대 객원연구원
- 1992년 2월 계명대학교(이학박사)
- 1991년 4월 ~ 1992년 8월 한국전자통신연구소 기초기술연구부(선임연구원)
- 1979년 3월 현재 대구대학교 화학과(교수)



이 부 형 (Boo Hyeong Lee)

- 2000년 8월 경산대학교 생물학과 졸업(이학사)
- 2002년 8월 대구카톨릭대학교 보건과학대학원 졸업(석사)
- 2003년 3월 현재 경북대학교 센서공학과 박사과정 재학중