Printed in the Republic of Korea
ANALYTICAL SCIENCE & TECHNOLOGY
Vol. 28, No. 4, 255-259, 2015
http://dx.doi.org/10.5806/AST.2015.28.4.255

Note
(단신)

Spectrofluorimetric determination of trace Co(II) in aqueous samples with quinalizarin-β-cyclodextrin inclusion complex

Hyeon Jung Baek and Hee-Seon Choi★

Department of Chemistry, The University of Suwon, San 2-2, Wau-ri, Bongdam-eup, Hwaseong-si, Gyeonggi-do 445-743, Korea

(Received July 7, 2015; Revised August 8, 2015; Accepted August 8, 2015)

Quinalizarin-β-cyclodextrin 내포 착물을 이용한 수용액 시료의 흔적량 Co(Ⅱ)의 분광형광법 정량

백현정 · 최희선★

수원대학교 자연과학대학 화학과

(2015. 7. 7. 접수, 2015. 8. 8. 수정, 2015. 8. 8. 승인)

Abstract: A technique on the determination of Co(II) in aqueous samples with quinalizarin-β-cyclodextrin inclusion complex was developed. The conditions such as pH of the sample solution, the concentration of quinalizarin and the concentration of β-CD were optimized to 11.3(±0.2), 1.2×10^{-6} M and 8.0×10^{-6} M, respectively. Under these optimum conditions, the calibration curve of Co(II) was obtained over concentration range of 5.0×10^{-9} ~ 1.2×10^{-7} M. The detection limit was 4.2×10^{-9} M (0.25 ng/mL). For validating this proposed technique, aqueous samples(stream water, reservoir water and tap water) were used. Recovery yields of 95~105% were obtained. The relative standard deviation(%) in aqueous samples were less than 7.0%. Based on experimental results, it is proposed that this technique can be applied to the practical determination of Co(II).

Key words: Co(II) determination, quinalizarin, β-cyclodextrin, spectrofluorimetry

1. 서 론

중금속은 매우 적은 양이라도 동식물의 생장에 큰 영향을 주기 때문에 자연 환경에 흔적량으로 존재하는 이들을 정량하는데 많은 관심을 가지고 있다. 이중 코발트는 암석, 토양, 물, 식물 및 동물 등에 존재하며[1] 특히 생체 내에서 매우 중요한 역할을 하는 비타민 B_{12}의 주요 구성성분이기도 하다. 코발트가 부족하면 악성 빈혈을 일으키고, 신경 계통과 면역 체계에 영향을 줄 수도 있으며,[2] 반면에 과량으로 섭취하게 되면 혈관이 확장되고, 폐질환이 생기고, 메스껍거나, 구토를 일으킬 수도 있다.[3]

★ Corresponding author
Phone : +82-(0)31-220-2152 Fax : +82-(0)31-222-9385
E-mail : choihs@suwon.ac.kr

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.

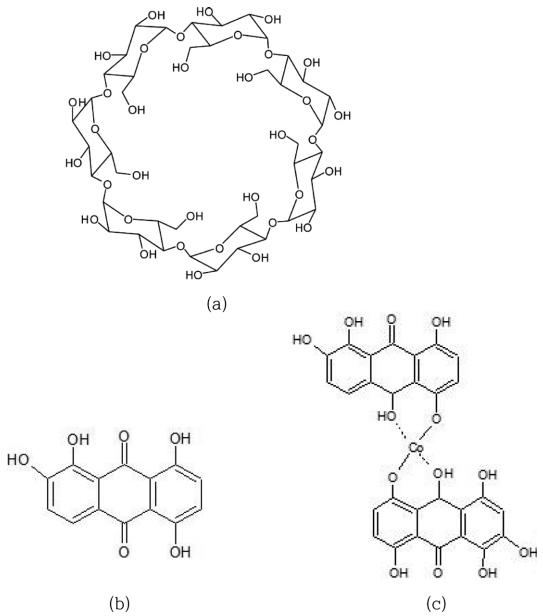

Fig. 1. Molecular structures of (a) β-cyclodextrin, (b) quinalizarin, and (c) expected Co(quinalizarin)$_2$ complex.

코발트를 정량할 때에는 ICP-MS,[4] 형광분광법,[5] ICP-AES,[6] 펄스차이 전압전류법,[7] 산화전극 벗김법,[8] 그리고 전열 원자흡수분광법[9] 등의 여러 방법들이 이용되고 있다. 이 방법들 중 ICP-MS, 산화전극 벗김법 및 전열 원자흡수분광법 등은 ng/mL (~10^{-8} M) 농도 수준의 흔적량 Co(II)를 직접 정량할 수 있다. 그러나 어떤 방법은 기기의 가격도 비싸고 높은 유지비가 들거나 인체에 해로운 수은을 사용하여야 하거나 또는 다루기가 복잡하고 분석시간도 오래 걸리고 정밀도도 비교적 좋지 않기 때문에 일반적인 실험실에서는 사용하기가 쉽지 않다. 따라서 환경 시료에 들어있는 흔적량 Co(II)를 쉽게 정량할 수 있는 간단하면서도 감도가 좋은 또다른 방법이 필요하게 되었다.

본 연구에서는 Co(II)와 형광물질인 착화제 quinalizarin(QA)(*Fig*. 1(b))에 의해 만들어진 Co(QA)$_2$ 착물[10] (*Fig*. 1(c))이 β-cyclodextrin(β-CD)(*Fig*. 1(a))에 내포되는 착물을 만들게 하므로서 분광형광법으로 Co(II)를 정량하는 방법에 대해 연구하였다. β-CD의 구멍 내부는 OH 작용기를 가지고 있지만 구멍 외부에 비해 소수성[11]이므로 OH 작용기를 가지고 있는 소수성 QA이 β-CD의 구멍에 들어가 내포 착물을 만들면서 QA의 형광 세기가 증가한다. 여기에 분석물인 Co(II)을 첨가하면 QA와 착물을 형성한 후 β-CD에 내포되면서 Co(II)의 농도가 증가함에 따라 형광의 세기가 비례적으로 더 크게 증가하는데 이 현상을 이용하여 Co(II)를 정량하는 방법에 대해 연구하였다.

2. 실험 방법

2.1. 시약과 용액

Cobalt(II) chloride hexahydrate(Sigma Co., USA)는 1.0×10^{-5} M 저장용액을, β-cyclodextrin는 5.0×10^{-4} M 저장용액을, quinalizarin(Fluka Co., Switzerland)은 50% 메탄올에 용해시켜 1.0×10^{-4} M 저장용액을 각각 만들어 필요할 때 마다 적절한 농도로 묽혀서 사용하였다. 시료용액 및 표준용액의 pH는 0.01 M NaOH 용액을 이용하여 조절하였다. 그 외에도 방해 효과를 조사하기 위해 사용된 모든 시약들은 분석급 시약을 정제하지 않고 그대로 사용하였다. 탈이온수는 초순수 장치(Ultra 370 series, 영린기기, 대한민국)를 이용하여 만든 것을 사용하였다.

2.2. 기기 및 실험조건

분광형광계로는 미국 PerkinElmer 사의 LS 55 Fluorescence spectrometer를 사용하였고, 들뜸 파장은 332 nm, 방출(형광) 파장은 661 nm이었으며, 스펙트럼 띠나비는 모두 10 nm로 하여 측정하였다. 시료 용기는 사면이 투명한 1.0 cm 석영 셀을 사용하였다. 시료 용액에 질소 기체를 불어넣어 용존 산소의 유무에 따른 형광 세기의 변화를 관찰한 결과 차이가 발생하지 않았기 때문에 시료용액과 표준용액에 질소 기체를 불어넣지 않고 형광 세기를 측정하였다. pH를 측정하기 위해서는 HANNA instruments의 HI 2210 pH meter를 사용하였고, 환경 시료에 들어있는 부유 물질과 입자성 물질을 거르기 위해 EYELA의 A-1000S Aspirator를 이용하였다.

2.3. Co(Ⅱ)를 정량하기 위한 검정곡선

8 개의 20.0 mL 부피 플라스크에 각각 Co(II) 농도를 5.0×10^{-9}~1.2×10^{-7} M 되도록 취하였고 각각에 QA 농도가 1.2×10^{-6} M, β-CD 농도가 8.0×10^{-6} M 되게 하고, 0.01 M NaOH 용액 2.0 mL를 가하여 용액의 pH를 11.3(±0.2) 정도가 되도록 한 후 탈이온수로 표선까지 묽혀 형광 세기를 측정하였다. 환경 시료 분석에 이용하는 검정곡선은 Co(II)를 첨가하여 생성된 Co(QA)$_2$ 착물을 내포한 Co(QA)$_2$-β-CD 내포 착물의 형광 세기(F2)와 Co(II)가 없을 때의 QA-β-CD 내포

착물의 형광 세기(F1)의 차이(ΔF=F2-F1)를 Co(II)의 몰농도(M)에 대해 도시하여 얻었다. 바탕용액은 Co(II)와 QA를 제외하고 나머지 시약들은 똑같은 양을 가하여 만들었으며 이의 형광 세기를 측정하여 바탕보정에 사용하였다.

2.4. 환경 실험시료 만들기

환경 시료로는 하천수(황구지천, 화성시), 저수지물(보통리, 화성시), 수돗물(화성시)를 각각 거름종이와 감압 거름장치를 이용하여 부유되어 있는 큰 입자들을 제거한 후 사용하였다.

환경 시료내의 Co(II)를 정량하기 위해 각 시료 마다 5 개의 20.0 mL 부피 플라스크를 준비하고 각각에 강물과 저수지물은 5.0 mL씩을 그리고 수돗물은 10.0 mL씩 취하고, 각각 모두에 QA 농도가 1.2×10^{-6} M, β-CD 농도가 8.0×10^{-6} M 되도록 하고, pH 11.3(±0.2) 정도가 되도록 0.01 M NaOH 용액을 2.0 mL를 가한 후 증류수로 표선까지 묽힌 후 형광 세기를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. Quinalizarin-β-cyclodextrin의 형광 스펙트럼

Fig. 2에서는 QA(a), QA-β-CD 내포 착물(b), 그리고 $Co(QA)_2$-β-CD 내포 착물(c)의 형광 스펙트럼을 보여주고 있다. 1.2×10^{-6} MQA에 대해서 β-CD가 8.0×10^{-6} M 농도로 존재하면 QA와 β-CD 간의 내포 착물이 형성되기 때문에 형광의 세기가 증가한다. 이는 QA가 β-CD와 내포 착물을 만들면서 QA 분자내의 회전 및 진동운동이 자유롭지 못해 내부전환이 잘 일어나지 않아서 형광 세기가 증가한 것으로 보인다. 그리고 1.2×10^{-6} M QA과 8.0×10^{-6} M β-CD가 포함된 용액에 8.0×10^{-8} M Co(II)를 첨가하여 $Co(QA)_2$-β-CD 내포 착물을 만들면 QA의 분자구조가 더 단단하게 되어 마찬가지로 내부전환이 잘 일어나지 않아 형광의 세기가 더 크게 증가하는 것으로 보인다.

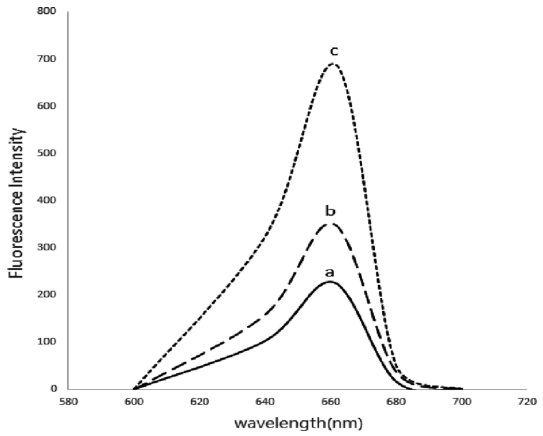

Fig. 2. Fluorescence emission spectra of (a) quinalizarin, (b) quinalizarin-β-cyclodextrin inclusion complex and (c) $Co(quinalizarin)_2$-β-cyclodextrin inclusion complex.

3.2. 최적 조건

$Co(QA)_2$ 착물을 잘 만들고 $Co(QA)_2$-β-CD 내포 착물을 잘 형성하여 형광 세기를 가장 크게 증가시키는 pH를 조사하였더니 pH 11~12 였다. QA(*Fig*. 1(b))이 산성 용액에서 형광을 잘 발생하지 않는 것은 QA내의 산소에 H^+가 첨가되어 양이온을 만들거나 OH 작용기에서 H가 잘 떨어지지 않아 Co(II)와 착물을 잘 만들지도 못하며, 구멍 내부가 소수성인 β-CD와도 내포착물을 잘 만들지 못하기 때문일 것이다. 그러나 염기성 용액에서 형광을 잘 발하는 것은 QA이 주로 중성 분자로 존재하여 β-CD의 구멍속의 OH 작용기와 수소 결합 등의 상호작용으로 내포 착물을 잘 만들며 또한 QA내의 OH의 H가 비교적 쉽게 Co(II)로 치환되어 만들어진 $Co(QA)_2$ 중성 착물이 β-CD와 상호작용을 더 잘 하기 때문일 것이다. 용액의 pH를 11.3(±0.2)로 맞추는 데는 0.01 M NaOH 2.0 mL를 가하여 조절하였다. 이때 용액의 pH를 편리하고 안정하게 조절하기 위해 Na_2HPO_4와 Na_3PO_4 완충용액을 사용해 보았으나 $Co(QA)_2$-β-CD의 형광 세기가 재현성 있게 측정되지 않아 완충용액을 사용하지 않았다.

Co(II)가 QA와 결합하여 $Co(QA)_2$ 착물을 잘 형성하고 이 착물이 β-CD와 내포 착물을 잘 만들어 최대의 형광 세기를 얻을 수 있는 QA와 β-CD의 최적의 농도에 대해 조사해 보았다. pH 11.3(±0.2)에서 Co(II)의 농도가 8×10^{-8} M이고 β-CD의 농도가 8.0×10^{-6} M 일 때 QA의 농도는 1.0×10^{-6} M 이상 일 때 형광의

Table 1. Tolerance limit[a] on concomitant ions in 8×10^{-8} M Co(II) solution

Mole ratio	Ions
300	Na^+, K^+, Ca^{2+}, NH^+, SCN^-, CH_3COO^-
100	CN^-
50	CrO_4^{2-}, Fe^{3+}
30	Mg^{2+}
10	Ni^{2+}

[a]Tolerance limit is the maximum concentration in which there is less than 5% effect on fluorescence intensity.

세기가 가장 높았고 일정하였다. 따라서 QA 농도를 1.2×10^{-6} M로 최적화하였다. β-CD의 농도가 높을수록 $Co(QA)_2$와 내포 착물을 많이 만들게 되므로 QA 보다는 과량을 넣어주어야 하는데 Co(II)의 농도가 8×10^{-8} M이고, QA의 농도가 1.2×10^{-6} M 일 때 β-CD는 8.0×10^{-6} M에서 가장 형광 세기가 컸었고 그 이상의 농도가 되어도 형광의 세기는 거의 변화가 없었다.

Co(II)와 QA가 착물을 이루고 $Co(QA)_2$-β-CD 내포 착물을 안정하게 형성하는데 시간이 필요하였다. 최적 조건에서 0분부터 60분까지의 반응 시간에 따른 형광 세기를 측정하였다. 용액을 만든 직후에는 형광의 세기가 재현성이 없었으나 20분 이후에서는 거의 일정한 세기를 나타내었으므로 용액을 만든 후 20~30분 정도에 측정하였다.

3.3. 방해효과

분석물인 Co(II)와 착물을 잘 형성하는 착화제, 형광시약인 QA와 결합을 잘 하리라고 예상되는 금속 양이온들 그리고 환경 시료에 존재하리라고 예상되는 여러 이온들에 의한 방해효과를 조사하여 이를 *Table* 1에 나타내었다. 방해이온 효과를 알아보기 위해 위에서 제시한 최적 조건으로 맞춘 8.0×10^{-8} M Co(II) 용액에서 여러 화학종들을 Co(II)의 몰수에 비해 10, 30, 50, 100, 300 배로 넣어주고 형광 세기를 측정하였다. Ni(II)과 Mg(II)과 같은 이온이 다른 이온들에 비해 다소 방해를 하였는데 이는 염기성 용액에서 QA와 착물을 만들기 때문일 것이다.

3.4. 환경 시료에의 응용

최적조건에서 실험과정(2.3절)에서 설명한 대로 Co(II)의 검정곡선을 얻었으며(*Fig.* 3) 이의 성능계수

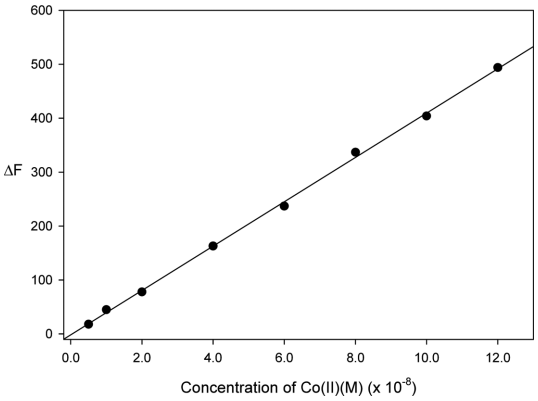

Fig. 3. Calibration curve of Co(II) at 1.2×10^{-6} M quinalizarin, 8.0×10^{-6} M β-CD and pH=11.3(±0.2).

Table 2. Figures of merits for calibration curve of Co(II)

Linear range	5.0×10^{-9}~1.2×10^{-7} M
Regression equation	$y = 4.1\times10^{9}x-1.5$
Correlation coefficient(R^2)	0.9941
Detection limit	4.2×10^{-9} M (0.25 ng/mL)
Quantitation limit	1.4×10^{-8} M (0.83 ng/mL)

를 *Table* 2에 적어 놓았다. Co(II)의 직선 농도 범위는 5.0×10^{-9}~1.2×10^{-7} M 이었으며, 이의 상관계수(R^2)는 0.9941로서 좋은 직선성을 보였다. 검출한계는 바탕의 평균신호에 바탕신호의 표준편차의 3배를 더한 신호값을 나타내는 농도인데 25개의 바탕용액의 신호와 검정곡선의 기울기로부터 얻어진 검출한계는[12] 4.2×10^{-9} M (0.25 ng/mL) 이었다.

본 실험에서 얻은 분석 방법으로 환경 시료 속에 들어있는 Co(II)를 정량하기 위해 하천수, 저수지 물,

Table 3 Analytical data of Co(II) in real samples

Real samples	Spiked(M)	Measured(M)[a]	% RSD	Recovery(%)
Stream water	0	1.46×10^{-7}	6.2	
	2.00×10^{-8}	1.67×10^{-7}	4.8	105
	4.00×10^{-8}	1.84×10^{-7}	4.3	95
Reservoir water	0	1.75×10^{-7}	5.7	
	2.00×10^{-8}	1.94×10^{-7}	4.8	95
	4.00×10^{-8}	2.13×10^{-7}	4.9	95
Tap water	0	4.23×10^{-8}	6.7	
	2.00×10^{-8}	6.17×10^{-8}	6.6	97
	4.00×10^{-8}	8.06×10^{-8}	5.3	96

[a] The mean value were obtained from five replicated samples.

수돗물을 사용하였다. 이에 대한 결과를 *Table* 3에 나타내었다. Co(II)의 농도가 수돗물 보다 강물과 저수지물에 3~4 배 정도 더 포함되어 있음을 알 수 있었다. 이 제시된 분석 방법의 신뢰도를 얻기 위해 환경시료에 표준물을 2.0×10^{-8} M, 4.0×10^{-8} M 더 첨가한 후 회수율을 구하여 본 결과 모두 95% 이상의 좋은 회수율을 얻을 수 있었다. 또 이 회수율로부터 이 시료들에 들어있는 매트릭스에 의한 방해는 거의 없는 것으로 예상되었다. 이 실험에서의 상대표준편차는 7% 이하로 흔적량 농도인데도 불구하고 비교적 좋은 정밀도를 보였다.

4. 결 론

Co(quinalizarin)$_2$-β-cyclodextrin 내포 착물을 이용하여 자연수 중에 들어있는 Co(II)를 분광형광법으로 비교적 간단하게 정량할 수 있었다. 측정 농도 범위는 5.0×10^{-9}~1.2×10^{-7} M이고, 검출한계는 4.2×10^{-9} M(0.25 ng/mL)이고, 측정값의 % 상대오차는 7% 이하이었다.

References

1. V. A. Lemos, R. S. da Franca and B. O. Moreira, *Sep. Purif. Technol*., **54**(3), 349-354 (2007).
2. M. C. Talio, M. Alesso, M. G. Acosta, M. Acosta and L. P. Fernandez, *Talanta*, **127**, 244-249 (2014).
3. H. B. Singh, N. K. Agnihotri and V. K. Singh, *Talanta*, **48**(3), 623-631 (1999).
4. K. Lee, Y. Muraoka, M. Oshima and S. Motomizu, *Anal. Sci*., **20**(1), 183-187 (2004).
5. F. Monteil-Rivera and Dumonceau, *J. Anal. Bioanal. Chem*., **374**(6), 1105-1112 (2002).
6. A. Llander and A. M. Vaisanen, *Anal. Chim. Acta*, **602**(2), 195-201 (2007).
7. Z. Bae, Y. Park, S. Lee, W. Jeon and H. Chang, *Bull. Korean Chem. Soc*., **17**(11), 995-999 (1996).
8. X. Lu, Z. Wang, Z. Geng, J. Kang and J. Gao, *Talanta*, **52**(3), 411-416 (2000).
9. N. Oleszczuk, J. T. Castro, M. M. Silva, M. Korn, B. Weltz and M. G. Vale, Talanta, **73**(5), 862-869 (2007).
10. S. A. Shaker, H. A. Mohammed and A. Ali Salih, Aust. J. Basic & Applied Sciences, **4**(10), 5178-5183 (2010).
11. X. Zhu, J. Sun and J. Wu, *Talanta*, 72(1), 237-242 (2007).
12. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler and S. R. Crouch, “Fundamentals of Analytical Chemistry”, 8th ed., 158, Thomson Brooks/Cole, U.S.A. 2004.