

Spectrofluorimetric determination of free cyanide ion with fluorescent safranine-O

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 May 14, 2012; Revised May 31, 2012; Accepted June 4, 2012)

형광시약 Safranine-O를 이용한 유리 시안화 이온의 분광형광법 정량

최 희 선*

수원대학교 화학과

(2012. 5. 14. 접수, 2012. 5. 31. 수정, 2012. 6. 4. 승인)

Abstract: A spectrofluorimetric method has been developed for the determination of free CN^- in real samples with fluorescent safranine-O. When safranine-O interacts electrostatically with CN^- , the fluorescent intensity of safranine-O is decreased. Several experimental conditions such as pH of the sample solution and the amount of safranine-O were optimized. Ag^+ interfered higher than any other ions. Interference of Ag^+ could be disregarded because Ag^+ was scarcely contained or mostly complexed with CN^- in selected real samples. With this proposed method, the linear range of CN^- was from 5.0 to 110 ng/mL and the detection limit of CN^- was 2.9 ng/mL. For validating this technique, real samples (Cu, Ag, Au electroplating wastewater, and untreated wastewater in university and in sewage treatment plant) were used. Recovery yields of 91.5%~106.0% were obtained. Based on experimental results, it is proposed that this technique can be applied to the practical determination of free CN^- .

Key words: CN^- ion, safranine-O, spectrofluorimetry, electroplating wastewater.

1. 서 론

CN^- 이온은 도금 공정 또는 금속 제련 공정에서 나오는 폐수에 비교적 많이 들어있으며, 일반적인 폐수에는 보통 ng/mL 내지 $\mu\text{g/mL}$ 수준의 양이 들어있다.¹ CN^- 은 인체 대사과정에서 중요한 역할을 하는 금속이

온들과 CN 착물을 만들어 이 금속이온들이 정상적인 역할을 하지 못하게 하므로 환경적인 면에서 큰 관심을 갖게 되었다. 따라서 수용액 시료 중에 용해되어 있는 낮은 농도의 CN^- 을 정량하는 여러 방법이 개발되었는데 여기에는 분광광도법,^{2,3} 인광법,⁴ 흡착 벗김법,⁵ 화학발광법,⁶ 플라로그래피,⁷ 모세관 전기이동,⁸ 펄스차

★ Corresponding author

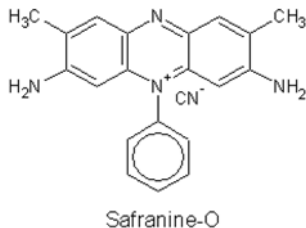
Phone : +82-(0)31-220-2152 Fax : +82-(0)31-220-2520

E-mail : choihs@suwon.ac.kr

이 전압전류법,⁹ 전위차법,¹⁰ 원자흡수분광법,¹¹ 분광형광법,¹² 등이 있다. 이 분석법들은 각각 좋은 장점을 가지고 있기는 하지만, 실험과정이 세심한 주의를 기울여야 하거나, 사용되는 시약이 안정성이 없거나, 분석비용이 많이 들거나, 분석시간이 길거나, 또는 선택성이 부족하다는 등의 단점을 가지고 있기도 하다. 그러므로 본 연구에서는 감도와 선택성이 좋고 쉽고 간단하게 측정할 수 있는 분광형광법을 이용하였다.

형광시약인 safranin-O는 생물학적 연구,¹³ 태양에너지,¹⁴ 광중합반응,¹⁵ 그리고 분석 연구¹⁶ 에도 이용되고 있다. safranin-O는 CN⁻가 들어있는 용액에서 형광의 세기가 감소하는 현상을 관찰할 수 있었는데 이는 safranin-O가 +전하를 띠고 있으므로 분석물인 CN⁻와 정전기적 상호작용을 잘 하기 때문일 것이다.

본 연구에서는 Cu, Ag, Au 도금 폐액 그리고 대학 및 하수처리장의 처리되지 않은 폐수에 들어있는 CN⁻ 이온을 형광시약인 safranin-O를 이용하여 분광형광법으로 간단하고 감도높게 정량할 수 있는 방법을 개발하였다.



2. 실험방법

2.1. 시약과 용액

KCN(Aldrich co., U.S.A)과 Safranin-O(Aldrich co., U.S.A.) 등과 같은 모든 시약들은 분석용급을 사용하였다. CN⁻ 표준용액은 1000 µg/mL 저장용액을 그리고 Safranin-O 용액은 0.01 M 저장용액을 이용하여 만들었다. 방해효과를 알아보기 위해 사용된 모든 시약 용액은 0.01 M 저장용액을 만들어 사용하였다. pH 11.0 완충용액은 0.5 M Na₂HPO₄와 0.1 M NaOH를 적절한 양을 혼합한 후 pH 미터를 이용하여 만들었다. 실험에 사용된 탈이온수는 Barnstead cartridge 이온화 시스템(Barnstead co., U.S.A.)를 이용하여 만들었다.

2.2. 기기 및 실험조건

형광시약 safranin-O의 형광 세기를 측정하기 위해 Hitachi 사(Japan)의 F-2000 형광분광계를 사용하였다. 들뜸 파장과 형광 파장을 각각 518 nm와 576 nm로

고정시켜 놓고 형광의 세기를 측정하였으며, 들뜸 스펙트럼과 형광 스펙트럼의 유효 띠나비는 모두 10 nm이었다. Bantex 모델 300A 디지털 pH 미터를 사용하여 완충용액을 만들거나 실험과정 중의 분석용액의 pH를 조절하였다.

2.3. 분석시료 만들기

Cu, Ag, Au 도금 폐액 시료는 유리필터(1-G-4)로 거른 후 이를 탈이온수로 10⁻⁶배 묽혀 분석시료로 사용하였다. 또한 대학 및 하수처리장의 처리하지 않은 폐수는 부유되어 있는 유기물은 제거하고 거름종이(Whatman No. 42)로 거른 후 이를 직접 분석시료로 사용하였다.

2.4. CN⁻ 검정곡선

여러 개의 10 mL 부피플라스크 각각에 6.0 × 10⁻⁵ M safranin-O 용액 1.0 mL를 취하고, CN⁻는 농도범위가 5.0~110 ng/mL가 되도록 넣어주었다. 그다음 pH 11.0 완충용액을 3.0 mL 취하고 탈이온수로 표선까지 묽힌 후 형광세기를 측정하였다.

2.5. 실제 시료 내의 CN⁻ 정량

9개의 10 mL 부피 플라스크에 6.0 × 10⁻⁵ M safranin-O 용액 1.0 mL를 취하고, 2.3에서 만든 분석시료를 3.0 mL 취하였다. 그다음 pH 11.0 완충용액을 3.0 mL 취하고 탈이온수로 표선까지 묽힌 후 형광세기를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 최적조건

형광시약 safranin-O와 분석물 CN⁻가 상호작용하는 정도가 pH에 따라 달라지므로 인해 형광세기에도 영향을 주리라고 예상되어 pH의 영향에 대해 조사해보았다. Safranin-O의 농도는 6.0 × 10⁻⁶ M 그리고 CN⁻의 농도는 40.0 ng/mL가 되게 하고, pH를 완충용액으로 5.0 부터 12.0 까지 변화시키면서 safranin-O의 형광세기를 측정하여 Fig. 1에 나타내었다. pH 11.0일 때 형광의 세기가 가장 많이 감소되었다. 이보다 낮은 pH에서는 형광세기가 더 적게 감소되었는데 이는 CN⁻가 H⁺와 반응하여 더 많이 HCN으로 존재하게 되어 safranin-O와 효과적으로 상호작용하지 못하였기 때문일 것이다.

CN⁻의 농도가 ng/mL 수준일 때 형광시약 safranin-

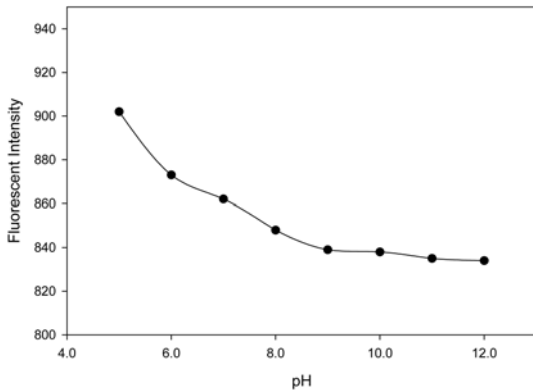


Fig. 1. Effect of the pH on the fluorescent intensity at [Safranine-O] = 6.0×10^{-6} M and $[CN^-] = 40.0$ ng/mL.

O의 농도에 따라 형광세기가 어떻게 달라지는지에 대해 알아보았다. CN^- 의 농도를 40.0 ng/mL로 그리고 pH를 11.0으로 고정시키고, safranine-O의 농도를 1.0×10^{-6} M 부터 1.0×10^{-5} M 까지 변화시킨 후 형광을 측정하여 본 결과 6.0×10^{-6} M 일 때 형광세기의 감소 정도가 가장 컸었다.

계면활성제를 이용하여 만든 미셀 매질 내에서는 점성도가 증가함으로 인해 외부전환 효과가 작아져 safranine-O의 형광세기 감소효과가 작아질 것이라고 예상되지만, 오히려 미셀 내의 비극성 부분에서 safranine-O와 CN^- 의 상호작용이 더 효과적으로 일어나 형광세기 감소효과가 더 커질 것이라고도 예상된다. 따라서 계면활성제로 음이온성인 sodium dodecylsulfate, 양이온성인 cetyltrimethylammonium bromide, 그리고 비이온성인 tween 80을 이용한 미셀 매질에서 형광세기 감소효과가 어떻게 되는지를 알아보고, 계면활성제를 넣지 않은 용액과 비교해 보았다. 계면활성제가 들어 있을 때나 들어있지 않을 때나 형광세기의 감소 정도가 거의 차이 없는 것으로 나타나 계면활성제를 넣지 않고 실험하였다.

시료 용액에 산소가 들어있으면 계간전기로 인해 또는 산화반응으로 인해 형광의 세기가 감소할 수도 있는데 이의 영향에 대해 알아보았다. 산소를 제거하기 위해 N_2 기체를 주입하였을 때와 주입하지 않았을 때의 형광 세기의 감소 정도를 알아보았는데 차이가 거의 없었으므로 시료에 질소 기체를 주입하지 않고 형광세기를 측정하였다.

3.2. 방해효과

분석물인 CN^- 와 착물을 잘 형성하는 금속이온들,

Table 1. Tolerance limit^a of interfering species for the determination of CN^- (40.0 ng/mL) in 6.0×10^{-6} M safranine-O solution

Mole ratio ^b	Interfering species
200	F^- , Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- , NO_2^- , Br^- , I^- , $S_2O_3^{2-}$, Mg^{2+} , K^+ , Na^+
100	Ca^{2+} , Zn^{2+}
50	Cd^{2+}
30	Ni^{2+} , Hg^{2+} , Fe^{3+}
10	Cu^{2+}
3	Ag^+

^aTolerance limit is the maximum concentration in which there is less than 3% effect on fluorescent intensity.

^bMole ratio of interfering species to CN^- .

형광시약인 safranine-O와 상호작용을 잘 하리라고 예상되는 음이온들 그리고 실제 시료에 존재하리라고 예상되는 여러 이온들에 의한 방해효과를 조사하여 이를 Table 1에 나타내었다. 방해이온 효과를 알아보기 위해 위에서 제시한 최적 조건으로 맞춘 40.0 ng/mL CN^- 용액에서 여러 화학종들을 CN^- 의 몰수에 비해 0.3, 0.5, 1, 3, 5, 10, 30, 50, 100, 200배로 넣어주고 safranine-O의 형광 세기를 측정하였다. Ag^+ 가 다른 이온들에 비해 비교적 크게 방해할 하였는데 이는 유리 CN^- 와 결합을 잘 하기 때문일 것이다. 그러나 CN^- 와 반응을 잘 하는 다른 여러 금속들도 방해할 것으로 예상은 했지만 방해가 거의 일어나지 않았는데, 이는 완충용액에 들어있는 높은 농도의 PO_4^{3-} 이온으로 인해 양이온들이 CN^- 보다 PO_4^{3-} 와 더 잘 결합하였기 때문일 것이다. 이에 비해 Ag^+ 가 이들 중에서도 비교적 방해효과가 컸던 것은 Ag^+ 가 PO_4^{3-} 와 반응하는 평형상수($1/K_{sp}(Ag_3PO_4)$)가 비교적 다른 것에 비해 작기 때문일 것이다. 대부분의 실제 시료에는 Ag^+ 가 거의 들어있지 않고, Ag 도금 폐액에서도 대부분 Ag^+ 가 이미 $Ag(CN)_2^-$ 로 착물로 존재하기 때문에 거의 방해가 없을 것으로 예상된다.

3.3. 실제 시료에의 응용

2.4 검정곡선에서 보여준 방법으로 CN^- 의 검정곡선을 그렸으며(Fig. 2) 이의 성능계수를 Table 2에 적어 놓았다. 검출한계와 직선성이 매우 좋은 것으로 나타났다. 본 분석방법을 이용하여 실제시료인 Cu, Ag, Au의 도금 폐액 그리고 학교 및 하수처리장의 처리되지 않은 폐수에 들어있는 유리 CN^- 농도를 검정곡선을 이용하여 측정하였고, 그 결과를 Table 3에 나타내었다. 이 시료들에 표준물을 일정 농도 첨가한 후 측

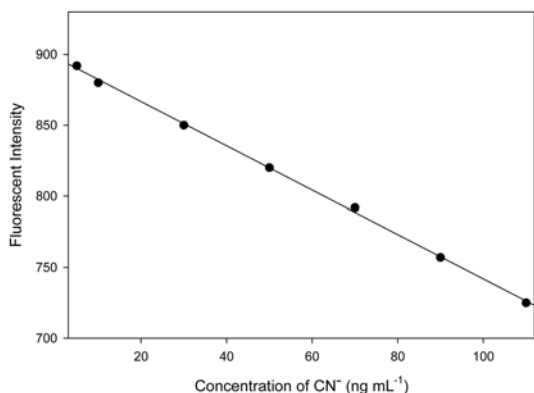


Fig. 2. Calibration curve of CN⁻ at [Safranine-O] = 6.0 × 10⁻⁶ M and pH = 11.0.

Table 2. Figures of merit for calibration curve of CN⁻

Linear range (ng/mL)	5.0~110
Regression equation	-1.59 (± 0.06) x + 900.74 (x unit = ng/mL)
Correlation coefficient (R ²)	0.9947
Detection limit	2.9 ng/mL (= 1.12 × 10 ⁻⁷ M CN ⁻)

Table 3. Determination and recovery yields of CN⁻ in real samples

Samples	Spiked (ng/mL)	Found (ng/mL) ^a ($\bar{x} \pm s$)	Recovery Yield(%)
Cu electroplating wastewater	0.0	14.6(± 0.7)	
	20.0	35.8(± 1.6)	106.0
	40.0	52.6(± 2.7)	95.0
Ag electroplating wastewater	0.0	19.7(± 0.7)	
	20.0	38.1(± 1.7)	92.0
	40.0	56.3(± 2.9)	91.5
Au electroplating wastewater	0.0	16.5(± 0.6)	
	20.0	35.9(± 1.3)	97.0
	40.0	53.6(± 2.5)	92.8
Untreated wastewater in university	0.00	14.7(± 1.0)	
	20.0	35.0(± 1.8)	101.5
	40.0	52.7(± 3.1)	95.0
Untreated wastewater in sewage treatment plant	0.00	16.6(± 0.8)	
	20.0	34.9(± 1.6)	91.5
	40.0	54.4(± 2.6)	94.5

^aThe mean values were obtained from nine replicate samples.

정한 회수율은 91.5~106% 이었으며, 상대 표준편차는 6.0% 이내로 비교적 재현성있는 결과를 얻을 수 있었다. 따라서 이 분석방법은 실제 시료에 들어있는 ng/

mL 수준의 유리 CN⁻를 정량하는데 이용할 수 있을 것이다.

4. 결 론

유리 CN⁻가 들어있는 시료에 일정량의 형광시약 safranine-O를 가하여 분광형광법으로 CN⁻를 정량할 수 있는 방법을 개발하였다. 본 실험을 이용하여 실제 시료인 Cu, Ag, Au 도금 폐액과 학교 및 하수처리장의 처리되지 않은 폐수에 들어있는 CN⁻를 ng/mL 까지도 정량할 수 있었다.

참고문헌

1. C. N Sawyer, P. L. McCarty, G. F. Parkin, 'Chemistry for Environmental Engineering', 4th ed., 637, McGraw-Hill, New York, U.S.A. 1996.
2. D. Cacace, H. Ashbaugh, N. Kouri, S. Bledsoe, S. Lancaster and S. Chalk, *Anal. Chim. Acta*, **589**, 137-141 (2007).
3. S. Abbasi, R. Valinezhad and H Khani, *Spectrochim. Acta A*, **77**, 112-116 (2010).
4. M. T. Fernandez-Argelles, J. M. Costa-Fernandez, R. Pereiro and A. Sanz-Medel, *Anal. Chim. Acta*, **491**, 27-35 (2003).
5. A. Safavi, N. Maleki and H. R. Shahbaazi, *Anal. Chim. Acta*, **503**, 213-221 (2004).
6. J. Lv, Z. Zhang, J. Li and L. Luo, *Forensic Sci. Int.*, **148**, 15-19 (2005).
7. P. C. do Nascimento, Denise Bohrer and L. M. de Carvalho, *Talanta*, **48**, 341-346 (1999).
8. K. Papeovand Z. Glatz, *J. Chromatogr. A*, **1120**, 268-272 (2006).
9. J. M. G. LaFuente, F. F. Martinez, J. A. V. Perz, S. F. Fernandez and A. Sanz-Medel, *Anal. Chim. Acta*, **410**, 135-142 (2000).
10. B. Vallejo-Pecharromm and M. D. Luque de Castro, *Analyst*, **127**, 267-270 (2002).
11. V. L. Gmez and J. M. Calatayud, *Analyst*, **123**, 2103-2107 (1998).
12. D. L. Recalde-Ruiz, E. Andrs-Garcia and M. E. Diaz-Garcia, *Analyst*, **125**, 2100-2105 (2000).
13. A. A. Ensafi and A. Kazemzadeh, *Microchem. J.*, **72**, 193-199 (2002).

14. Z. Cao, X. He, Z. Gao and L. Peng, *Talanta*, **49**, 377-383 (1999).
15. G. D. Sharma, S. K. Sharma and M. S. Roy, *Mater. Sci. Eng. B*, **100**, 13-17 (2003).
16. M. L. Gmez, V. Avila, H. A. Montejano and C. M. Previtali, *Polymer*, **44**, 2875-2881 (2003).