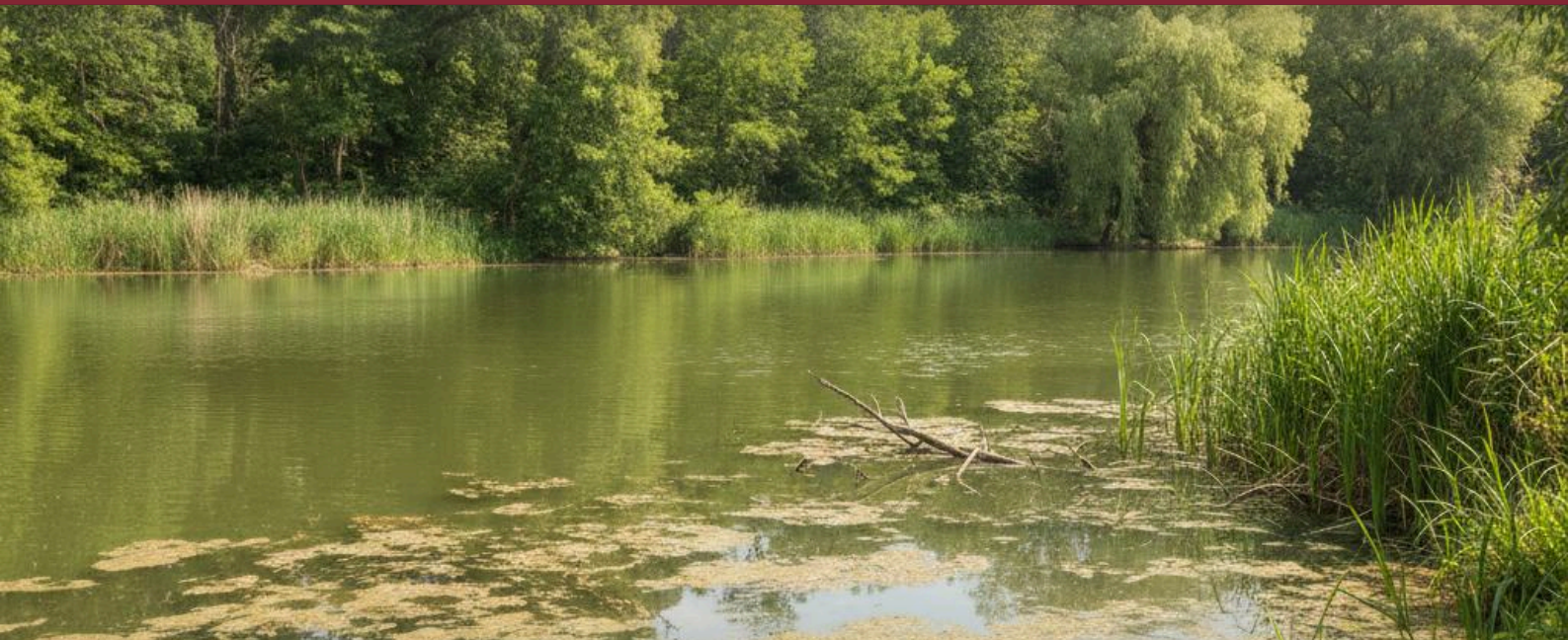


Alpha UV-Vis 분광광도계를 이용한 SM4500-P E. Method 기반 인산염 정량 분석



개요

인산염(Phosphate)은 하·폐수 처리, 정수시설 운영, 농업·비료 산업, 상수원 모니터링 등 다양한 환경 및 공정 분야에서 핵심적인 수질 지표로 활용된다. 특히 인(P, Phosphorus as P)의 정량 분석은 수계 부영양화(Eutrophication) 방지, 공정 안정성 확보, 법적 수질 기준 준수와 같이 환경 관리 전반에서 중요한 역할을 한다.

본 노트에서는 널리 사용되는 인산염 분석 방법인 SM4500-P E. Ascorbic Acid Method를 적용하였다. 이 방법은 몰리브덴산-안티몬 복합체를 형성한 뒤 아스코르빈산 환원 반응을 통해 생성되는 몰리브덴 청색(Molybdenum Blue)의 흡광도를 880 nm에서 측정하여 인 농도를 정량하는 절차이다. 한국 환경부의 수질오염공정시험기준 ES04360.2c 또한 동일한 원리를 기반으로 하며, 분석 농도 범위에 따라 50 mm 롱패스 큐벳(0.01-0.25 mg P/L)과 10 mm 큐벳(0.15-1.30 mg P/L)의 사용을 구분하고 있다.

국내 분석장비 산업을 선도하는 케이랩 주식회사, 연구 및 제조까지 전 과정을 한 곳에서 책임지는 국내의 유일한 전문 연구·제조 기업입니다.

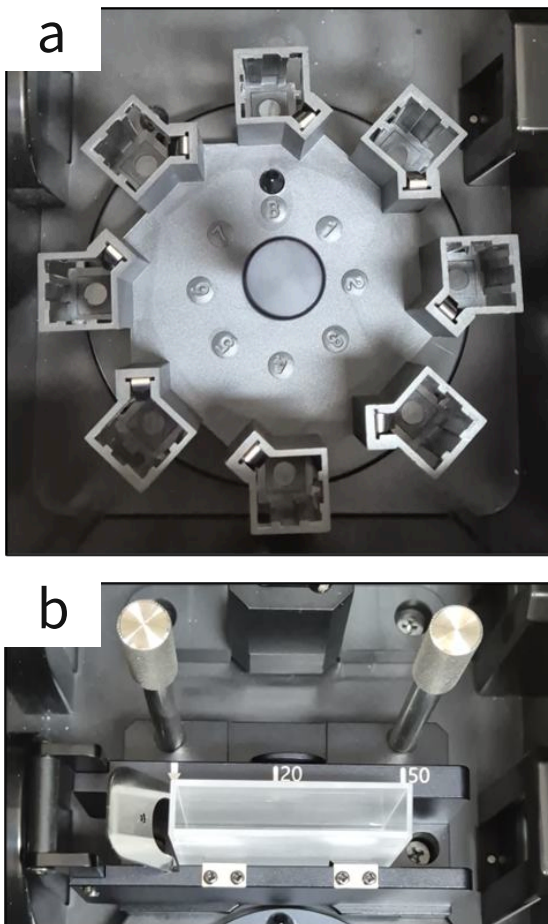
주소
(34014) 대전광역시 유성구 테크노 2로 94-23

홈페이지
www.klab.im

전화번호
042-932-7586

문의
info@klab.im

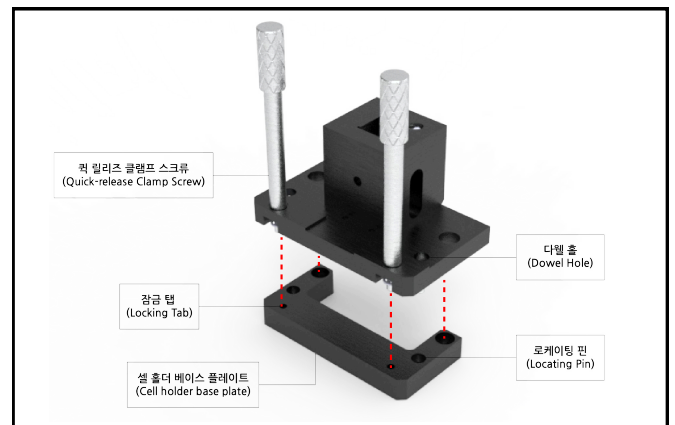
담당자 이메일
mint5135@klab.im



[그림 1]. (a) Multi Cell Holder - 10 mm 큐벳용 기본 홀더로 8개의 셀 슬롯을 제공해 반복 측정 시 유리하다.

(b) Long-path Cell Holder - 50 mm 큐벳을 포함한 다양한 롱패스 셀을 수용하도록 설계된 홀더로, 장착 시 기준 위치에 반복적으로 맞물려 안정적인 광축 정렬을 유지한다.

Alpha UV-Vis 분광광도계는 다양한 길이의 큐벳을 사용하기 위해 교체형 셀 홀더 구조를 사용하고 있으며, 홀더 장착 시 광학 경로가 변하지 않는 정렬 안정성이 중요하다. 이를 위해 셀 홀더 베이스 플레이트(Cell Holder Base Plate), 로케이팅 핀(Locating Pin), 다웰 홀(Dowel Hole), 잠금 탭(Locking Tab)으로 구성된 정렬 구조를 적용해 홀더가 기계적 기준점에 자동으로 맞물리도록 설계하였다. 이 구조는 홀더 교체 또는 재장착 시에도 동일한 광축을 반복적으로 유지하여, 10 mm와 50 mm 큐벳 등 서로 다른 길이의 셀을 사용할 때에도 일관된 측정 환경을 제공한다.



[그림 2]. Alpha UV-Vis 분광광도계의 셀 홀더 정렬 구조 (Alignment Retention Mechanism) - 베이스 플레이트, 로케이팅 핀, 다웰 홀, 잠금 탭, 퀵 릴리즈 클램프 스크류가 결합된 구조로, 홀더의 반복 장착 시 위치 편차를 최소화한다.

또한 Alpha는 Tool-Free Modular Cell Holder System을 제공하여 10 mm 표준 셀, 50 mm 롱패스 셀, micro cuvette, round cell 등 다양한 셀 홀더 액세서리를 공구 없이 빠르게 교체할 수 있다. 이러한 모듈형 구조는 인산염 분석처럼 농도 조건에 따라 큐벳 형식을 달리 적용해야 하는 환경에서 실험 준비 시간을 줄이고, 셀 홀더 교체 후에도 안정적인 측정 조건을 유지할 수 있도록 돕는다.



[그림 3]. Alpha UV-Vis 분광광도계의 셀 홀더 교체 모습 - Alpha는 공구 없이 홀더를 분리·결합할 수 있도록 설계되어 있으며, 교체 시에도 기계적 기준점이 유지되도록 제작되어 있다.

본 연구에서는 Alpha의 이러한 기구적·광학적 구조를 기반으로, SM4500-P E. Ascorbic Acid Method가 요구하는 두 농도 범위(0.01-0.25 mg P/L, 0.15-1.30 mg P/L)에 대해 표준곡선을 작성하고 선형성(Linearity)을 평가하였다.

샘플 및 실험 방법

표준 원액(Stock Solution) 제조

Potassium phosphate monobasic anhydrous (KH_2PO_4) 0.439 g을 정밀 저울로 정확히 칭량한 후 증류수에 용해하고, 100 mL 용량 플라스크에 정용하였다. 이 조건은 인(P) 기준, 1,000 mg P/L 표준원액(Stock Solution)을 제조하기 위한 것으로, 이후 단계별 표준용액 조제에 사용하였다.

농도별 표준용액(Standard Solutions) 제조

분석에 사용되는 큐벳의 광경로 길이에 따라 두 가지 농도 범위의 표준용액 세트를 준비하였다.

50 mm 롱패스 큐벳용

- 적용 농도 범위: 0.01-0.25 mg P/L
- 제조 농도: 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 mg P/L

10 mm 큐벳용

- 적용 농도 범위: 0.15-1.30 mg P/L
- 제조 농도: 0.15, 0.30, 0.60, 1.00, 1.30 mg P/L

모든 표준용액은 1,000 mg P/L 표준원액을 단계적으로 희석하여 조제하였다.

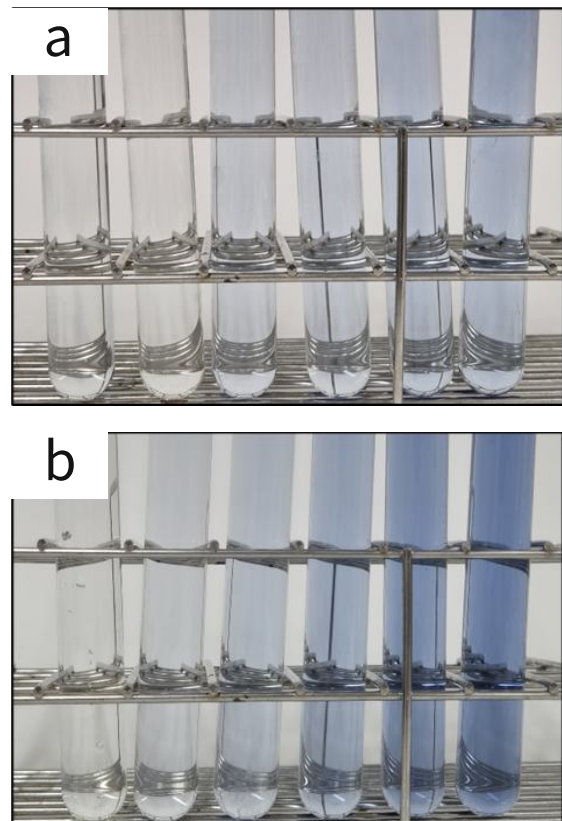
시약 준비

주석칼륨주석산염(antimony potassium tartrate) 용액은 1.3715 g을 증류수에 용해한 후, 최종 부피를 400 mL로 맞추어 제조하였다. 몰리브덴산암모늄(ammonium molybdate) 용액은 20 g을 증류수에 용해하여 500 mL로 정용하였으며, 아스코르빈산(ascorbic acid) 용액은 1.76 g을 증류수에 용해하여 100 mL로 조제하였다.

Combined Reagent는 사용 직전에 제조하였으며, 5N 황산 50 mL, 주석칼륨주석산염 용액 5 mL, 몰리브덴산암모늄 용액 15 mL, 아스코르빈산 용액 30 mL를 순서대로 혼합하여 총 100 mL로 조성하였다. 혼합된 용액은 충분한 균일성을 확보하기 위해 가볍게 교반하였다.

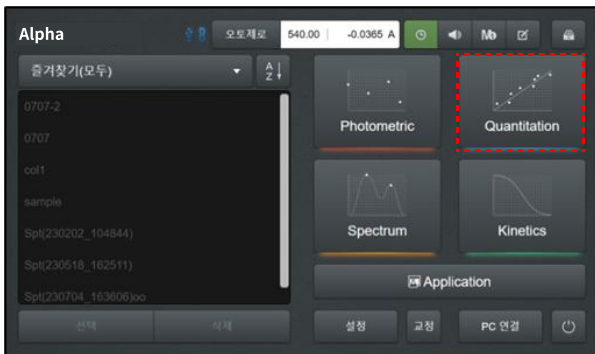
실험 절차

- ① 본 실험에서는 전체 반응 부피를 1/4로 축소하여 진행하였다. 각 농도의 표준용액과 Blank 용도로 사용되는 증류수를 각각 12.5 mL씩 취하고, 여기에 Combined Reagent 2 mL를 첨가하여 충분히 혼합하였다. 혼합된 용액은 약 10분간 실온에서 반응시켰다.



[그림 4]. (a) 50 mm 롱패스 큐벳용 농도 구간(0.01-0.25 mg P/L), (b) 10 mm 큐벳용 농도 구간(0.15-1.30 mg P/L)

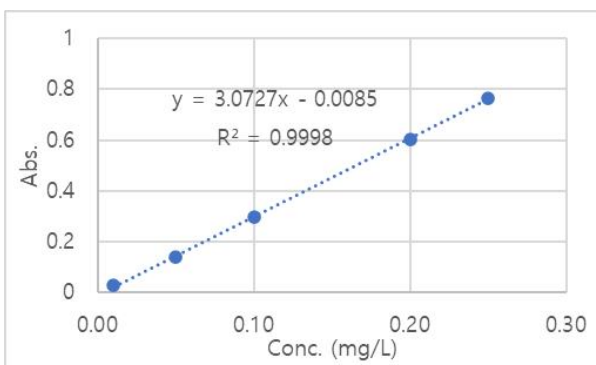
② 반응이 완료된 용액을 지정된 큐벳(10 mm 또는 50 mm)에 옮겨 담은 후, Alpha UV-Vis 분광광도계의 [Quantitation] 모드에서 880 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.



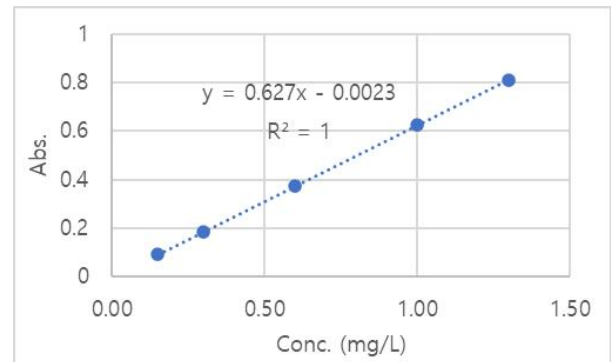
[그림 5]. Alpha UV-Vis 분광광도계의 메인 UI 화면 - 본 연구에선 [Quantitation] 모드를 선택하여 SM4500-P E. Ascorbic Acid Method 기반의 인산염 농도 분석을 수행하였다.

결과

Alpha UV-Vis 분광광도계를 이용하여 두 농도 범위 (0.01-0.25 mg P/L, 0.15-1.30 mg P/L)에 대해 표준곡선을 작성한 결과, 두 구간 모두에서 결정계수(R^2)가 0.999 이상으로 나타났다. 각 농도 조건에서 측정된 흡광도 값은 농도 증가에 따라 선형적으로 증가했으며, 작성된 표준곡선은 직선 관계를 유지하였다.



[그림 6]. (0.01-0.25 mg P/L) 구간의 표준곡선



[그림 7]. (0.15-1.30 mg P/L) 구간의 표준곡선

결론

Alpha는 멀티셀 홀더와 롱패스 셀 홀더를 통해 SM4500-P E. Ascorbic Acid Method에서 요구되는 10 mm 및 50 mm 큐벳 조건을 모두 지원하여, 인산염의 농도 범위에 따라 적절한 측정 환경을 제공한다. 본 연구에서 작성한 두 농도 구간의 표준곡선은 모두 R^2 값이 0.999 이상의 선형성을 보였으며, 이는 Alpha가 두 큐벳 조건에서 해당 분석법의 표준곡선 구축에 필요한 측정 재현성과 직선성을 충족함을 확인한 결과이다.

*참고문헌(자료출처):

- American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 23rd ed., 2017, pp. 4-156 - 4-165.