

인산성인 분석을 위한 FIA의 제작 및 응용에 관한 연구

이재성 · 장해종 · 이수원

한국과학기술연구원 수질환경연구센터

A Study on the on the Constitution and Application of FIA for Analyzing Phosphate

Jae-Seong Rhee, Hae-Jong Jang and Su-Won Lee

Environment & Process Technology Division, Korea Institute of Science and Technology, P.O. Box 131, Cheonryangri, Seoul 130-650, Korea

FIA provides and supports high quality and production analysis and control systems for on-site water analysis and on-line monitoring for wastewater treatment. So FIA has been developed with a high quality multichannel peristaltic pump, an injection valve, a coiled reactor, and a detector such as a photometric flow cell. The analytic principle of phosphate is the colorimetric method by ascorbic acid at 690 nm of wavelength. The optimum operating conditions of FIA was observed 30 μ L of sample injection volume, 2.25 mL/min. of flow rate, 80 cm of reaction coil and 20°C of reaction temperature. Comparison with manual korean standard method was carried out to evaluate the accuracy and precision of FIA. As a result, good agreement and possibility for application to on-line monitoring of wastewater treatment process was examined.

Key words: flow injection analysis, phosphate, continuous analysis

1. 서 론

흐름주입분석방법(flow injection analysis, FIA)는 자동화 측정 및 조절 시스템에 필수적으로 갖추어야 될 측정분석기기로서 실험실장비는 물론 의약품, 식품 및 환경관련 분야에 폭넓게 활용을 하고 있다.¹⁻⁴⁾ 특히 수질분석분야에서 분광광도계를 검출기로 사용하여 질소 화합물, 인산성인, 페놀 등 발색반응을 원리로 하는 화학종 분석은 거의 모두가 FIA를 이용하여 이루어지고 있다.

오늘날 수질오염물질 중 부영양화를 일으키는 인산성인을 보면 생물성장에 필요한 필수요소로서^{5,6)} 자연수 중에는 10 μ g/L의 낮은 농도로 존재하며, 하수 중에는 4~16 mg/L 이상의 높은 농도로 존재한다.⁷⁾ 일반하수에서의 인 배출의 주원인은 합성세제, 분뇨 그리고 음식찌꺼기 등으로서 이중 합성세제가 절반 이상을 차지하고 있다.⁸⁾ 따라서 인산성인이 많이 검출되는 지역

은 생활하수 및 축사 등의 오염원이 가깝게 위치한다는 정보를 주게 된다. 그러므로 수질오염성분인 인산성인을 실시간으로 분석하여 현재 수계의 상태를 정확히 판단하여 적절한 처방을 내린다면 초기에 수질오염을 줄일 수 있을 것이다.

하지만 현재 이용되고 있는 분석방법인 습식법과 이온크로마토그래피법은 시료의 운반, 복잡한 전처리 과정 등에 따른 실험자의 숙련도에 기인하는 오차 발생이 매우 크며 분석에 필요한 시료의 양도 10 mL ~ 100 mL의 많은 양이 요구되고, 고가 장비를 구입 및 운영하는데 많은 비용이 들게 된다. 따라서 저렴한 비용으로 손쉽게 제작하여 현장에 적용시키기 쉬운 뿐만 아니라 전처리과정 없이 바로 시료를 주입하여 단시간에 많은 시료를 분석 할 수 있는 FIA법 개발이 필요하게 되었다.

따라서 본 연구에서는 FIA의 물리적인 변수, 즉 시료주입량, 흐름속도, 반응코일의 길이에 따른 인산성인

[†]To whom correspondence should be addressed.

의 분석을 위한 FIA의 최적분석조건을 확립하여 표준 분석법과 비교함으로써 FIA의 분석법을 확립하였다.

2. 실험방법

2.1. FIA 구성

본 연구에서 사용한 FIA는 Gilson사의 Minipuls 3 Peristaltic pump, Gilson사의 UV/VIS-151 UV-visible detector, 그리고 영인과학사의 D520A integrator로 구성되어 있으며 pump tubing은 Gilson사의 PVC manifold tubing(I.D.: 1.2 mm)을 사용하였으며 흐름경로와 반응코일은 Alltech사의 teflon tubing(I.D.: 0.5 mm)을 사용하였다. 시료의 주입에 사용된 장치는 Rheodyne사의 7750TPMV injection valve를 사용하였다. FIA의 구성은 Fig. 1에 나타내었다.

2.2. 시약

표준용액은 인산이수소칼륨 4.39 g을 1000 mL 탈염수에 녹여 1000 mg/L 표준저장용액을 만든 후 필요에 따라 적당한 농도(0.1~5.0 mg/L)로 묽혀 사용하였다. 분석에서 사용한 시약용액 R1인 폴리브덴산암모늄 혼합용액은 먼저 폴리브덴산암모늄 40.0 g을 정확히 달아 1000 mL 부피플라스크에 넣고 눈금까지 묽히고 안티모

닐타르타르산칼륨(antimony potassium tartrate) 3.0 g을 정확히 달아 1000 mL 부피플라스크에 넣고 눈금까지 묽혔다. 1000 mL 부피플라스크에 폴리브덴산암모늄 용액 213 g과 안티모닐타르타르산칼륨 용액 72 g을 넣고 97% 황산 64.4 g을 첨가하여 눈금까지 묽혀 사용하였다. 그리고 시약용액 R2는 아스코르브산 60 g을 1000 mL 부피플라스크에 넣고 눈금까지 묽혀 사용하였다. 또한 pH 2~8 사이에서 일정한 흡광도를 나타내므로 시료의 주입으로 인한 pH의 변화를 막기 위해 운반용액은 붕산 61.8 g과 수산화나트륨 8.0 g을 정확히 달아 1000 mL 부피플라스크에 넣고 눈금까지 묽혀 사용하였다.

2.3. FIA의 최적분석조건

인산성인 0.20 mg/L 표준용액을 반응코일 80 cm에 표준용액과 운반용액, 시약용액 1 및 2가 혼합된 전체 용액의 흐름속도 2.25 mL/min로 조절한 다음 시료루브를 20~40 μ L 범위로 10 μ L씩 변화시키면서 시료주입량에 따른 신호세기와 재현성을 조사하였고, 30 μ L 시료루브가 부착된 주입장치에 전체용액의 흐름속도를 2.25 mL/min로 조절한 다음 반응코일의 길이를 60~100 cm 범위로 20 cm씩 변화시켜 가면서 반응코일의 길이에 따른 신호세기와 재현성을 조사하였다. 또한 인산성인 0.20 mg/L 표준용액을 30 μ L 시료루브가 부착된 주입장치를 이용하여 주기적으로 80 cm 반응코일에 주입시키고 전체용액의 흐름속도를 1.50 mL/min.에서 0.75 mL/min.씩 변화시켜가면서 3.00 mL/min.까지 전체 용액의 흐름속도에 따른 신호세기와 재현성을 조사하였다. 마지막으로 반응코일의 물중탕 온도에 따른 FIA의 신호세기와 분리도에 미치는 영향을 조사하기 위해 30 μ L 시료루브가 부착된 주입장치를 이용하여 주기적으로 주입시키고 전체용액의 흐름속도를 2.25 mL/min.로 조절한 다음 반응코일 80 cm를 20~60°C까지 20 °C씩 변화시켜 가면서 반응코일의 물중탕 온도에 따른 신호세기와 재현성을 조사하였다.

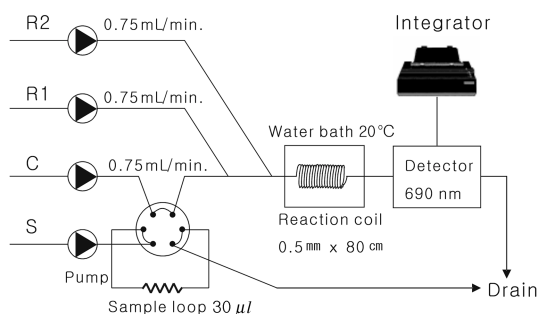


Fig. 1. Manifold diagram of FIA system for the determination of phosphate(P).

C(carrier solution) : buffer solution
flow rate : 0.75 mL/min.

R1(reagent solution 1) : ammonium molybdate, antimony potassium tartrate and sulfuric acid in water
flow rate : 0.75 mL/min.

R2(reagent solution 2) : ascorbic acid solution
flow rate : 0.75 mL/min.

S(sample) : flow rate : 0.75 mL/min.

Reaction coil : 0.50 mm(I.D.) × 80 cm(L)

Water bath temp. : 20°C

Wavelength : 690 nm, AUFS 0.050

3. 결과 및 고찰

3.1. FIA의 최적분석조건

1) 시료주입량에 따른 분리도

시료주입량을 20~40 μ L까지 10 μ L 단위로 변화시키며 각각 5회씩 검출기의 신호세기를 측정하였다. Fig. 2에 나타난 결과를 보면, 20 μ L의 경우 시료의 양

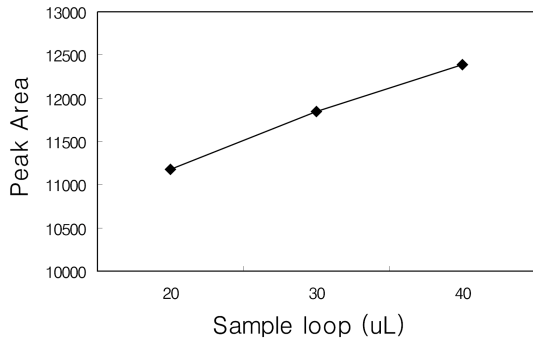


Fig. 2. FIA signals of phosphate based on the variation of injection volume.

Standard solution : 0.20 ppm
 Reagents : 0.032 M ammonium molybdate + 0.009 M antimony potassium tartrate + 1.15 M sulfuric acid / 0.32 M ascorbic acid
 Reaction coil length : 0.50 mm(I.D.) × 80 cm(L)
 Total flow rate : 2.25 mL/min.
 Wavelength : 690 nm, AUFS 0.050

이 적어서 신호가 낮게 나타난 걸 볼 수 있고 재현성이 일정치 않다. 30 μL 의 경우에는 상대적으로 높은 신호가 나타나지만 약간의 꼬리끌기 현상이 나타난 걸 볼 수 있다. 하지만 우수한 재현성을 나타내고 있다. 40 μL 의 경우에는 많은 시료량에 의해 봉우리가 완만해지고 바탕선도 높아지고 꼬리끌기 현상 또한 나타나는 걸 알 수 있다. 따라서 본 연구에서는 안정한 바탕선을 나타내면서도 신호세기가 일정하고 충분한 신호세기를 나타내는 30 μL 를 최적조건으로 결정하였다.

2) 반응코일 길이에 따른 분리도 측정

일정한 전체용액 흐름속도에서 반응코일 길이의 변화에 따르는 최적 분리 조건을 조사하고, 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 반응코일의 길이를 60~100 cm까지 20 cm 단위로 변화를 시키며 각각 5회씩 검출기의 신호세기를 측정하였다. 반응코일이 상대적으로 짧은 60 cm의 경우 신호세기의 재현성이 없을 뿐만 아니라 너무 낮은 신호세기를 보여 검출하기가 쉽지 않다. 100 cm의 경우 긴 반응코일에 의해 시료의 분산이 너무 많이 일어나 신호가 넓게 나타나는 걸 볼 수 있다. 따라서 안정한 바탕선을 나타내면서도 신호세기가 일정한 80 cm 반응코일을 최적조건으로 결정하였다.

3) 전체용액 흐름속도에 의한 영향

일정한 반응코일의 길이에서 흐름속도에 따르는 최적 분리 조건을 조사하고, 그 결과를 Fig. 4에 나타내

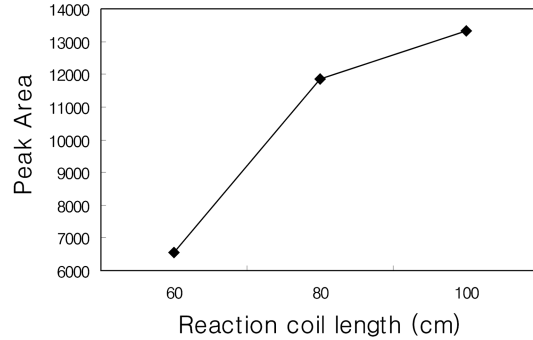


Fig. 3. FIA signals of phosphate based on the variation of reaction coil length.

Standard solution : 0.20 ppm
 Reagents : 0.032 M ammonium molybdate + 0.009 M antimony potassium tartrate + 1.15 M sulfuric acid / 0.32 M ascorbic acid
 Injection volume : 30 μL
 Total flow rate : 2.25 mL/min.
 Wavelength : 690 nm, AUFS 0.050

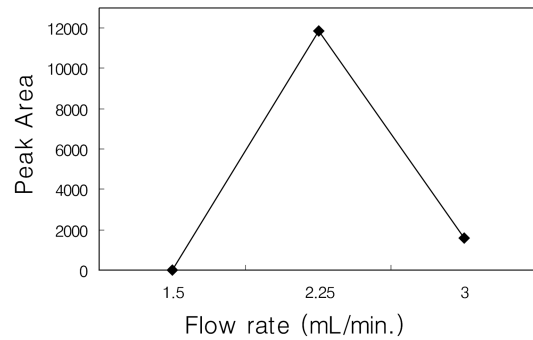


Fig. 4. FIA signals of phosphate-phosphorus based on the variation of flow rate.

Standard solution: 0.20 ppm
 Reagents: 0.032 M ammonium molybdate + 0.009 M antimony potassium tartrate + 1.15 M sulfuric acid / 0.32 M ascorbic acid
 Injection volume : 30 μL
 Reaction coil length : 0.50 mm(I.D.) × 80 cm(L)
 Wavelength : 690 nm, AUFS 0.050

었다. 전체용액 흐름속도를 1.50~3.00 mL/min.까지 0.75 mL/min.씩 증가시키며 신호세기를 측정하여 최적 흐름속도를 결정하였다. 흐름속도가 1.50 mL/min.로 너무 느린 경우는 신호세기가 현저히 낮아지는 결과를 나타내었다. 흐름속도를 3.00 mL/min.로 비교적 빠른 경우에는 반응이 완결되지 않은 상태에서 용액과 시료가 검출기를 통과하게 되므로 신호세기의 재현성이 낮아졌다. 따라서 본 연구에서는 비교적 재현성이 높고 바탕선도 안정화된 2.25 mL/min.를 최적조건으로 결정하였다.

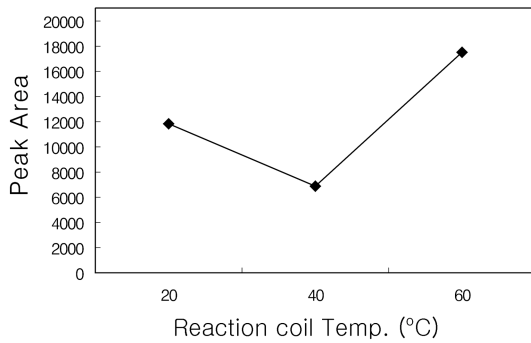


Fig. 5. FIA signals of phosphate based on the variation of reaction coil temperature.

Standard solution : 0.20 ppm
 Reagents : 0.032 M ammonium molybdate + 0.009 M antimony potassium tartrate + 1.15 M sulfuric acid / 0.32 M ascorbic acid
 Injection volume : 30 μ L
 Reaction coil length : 0.50 mm(I.D.) \times 80 cm(L)
 Total flow rate : 2.25 mL/min.
 Wavelength : 690 nm, AUFS 0.050

4) 반응온도에 따른 영향

물중탕의 온도를 20~60°C로 조절하면서 측정한 신호세기는 Fig. 5에 나타내었다. 20°C에서는 느린 반응이지만 반응코일의 내경이 작고 높은 시약농도에 의해 반응이 완결되지는 않았지만 안정적이 반응에 의한 일정한 재현성을 나타내었다. 40°C에서는 신호세기가 낮고 바탕선이 매우 증가한 것을 볼 수 있는데, 이것은 가열로 인하여 반응코일 내에서 확산이 크게 일어나 잔류하는 시료로 인한 것이다. 60°C에서는 20°C와 마찬가지로 일정한 재현성을 보이고 있지만 바탕선 증가로 인하여 많은 시료 분석 시 적합하지 않다.

3.2. 검정곡선의 작성

인산성인 0.1~5.0 mg/L의 표준용액을 위의 최적분석 조건에 맞추어 농도별로 5회씩 신호를 측정하여 Fig. 6에 나타내었고, 신호의 봉우리 면적을 평균한 값과 농도를 plot하여 작성한 검정곡선과 검정곡선의 상관관계 함수 및 상관계수는 Fig. 7에 나타내었다. 결과에서 보는 바와 같이 검정곡선의 상관계수(R^2) 값은 0.9993로서 직선관계가 대단히 잘 성립하는 것을 볼 수 있다. 아울러 각 신호의 봉우리 면적들 간의 상대표준편차(R.S.D.) 값은 0.63~8.34%로서 재현성이 우수한 결과를 나타내었고 분당 하나씩의 시료를 분석할 수 있으므로 짧은 시간에 많은 시료를 분석할 수 있다.

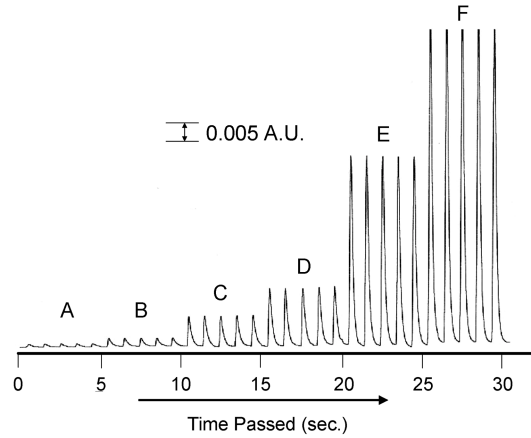


Fig. 6. FIA signals of phosphate-phosphorus standard solution.

A : 0.1 mg/L B : 0.2 mg/L C : 0.6 mg/L
 D : 1.0 mg/L E : 3.0 mg/L F : 5.0 mg/L
 Reagents : 0.032 M ammonium molybdate + 0.009 M antimony potassium tartrate + 1.15 M sulfuric acid / 0.32 M ascorbic acid
 Reaction coil length : 0.50 mm(I.D.) \times 80 cm(L)
 Total flow rate : 2.25 mL/min.
 Injection volume : 30 μ L
 Wavelength : 690 nm, AUFS 0.050

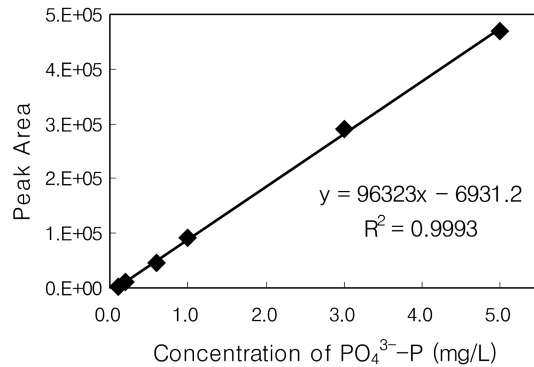


Fig. 7. Calibration curve of phosphate-phosphorus by FIA.

Reagents : 0.032 M ammonium molybdate + 0.009 M antimony potassium tartrate + 1.15 M sulfuric acid / 0.32 M ascorbic acid
 Reaction coil length : 0.50 mm(I.D.) \times 80 cm(L)
 Total flow rate : 2.25 mL/min.
 Injection volume : 30 μ L
 Wavelength : 690 nm, AUFS 0.050

3.3. FIA법과 표준분석법과의 분석결과 비교

인산성인의 경우 0.05~5.0 mg/L의 범위인 표준용액으로 측정한 흡광도와 검정곡선을 Fig. 8에 각각 나타내었다. 하수처리장에서 채수한 유출수를 FIA법과 공해공정시험법에 의해 각각 분석한 결과를 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Comparison of the analytical results between FIA and Standard method for phosphate-phosphorus concentration of wastewater treatment system. (mg/L)

Sample No.	FIA result (A)	Korean standard method (B)	{(A)/(B)}*100 (%)
1	2.03	1.94	104.6
2	2.05	2.07	99.0
3	2.13	1.94	109.8
4	1.82	1.83	99.5
5	0.28	0.31	90.3
6	0.36	0.37	97.3

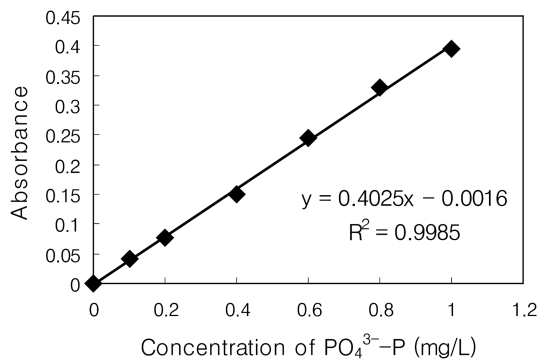


Fig. 8. Calibration curve of phosphate-phosphorus by Standard method.

Detector : Varian사 Cary 50 probe UV-Visible spectrophotometer
Cell volume : 5.00 mL
Path length : 1.00 cm
Wavelength : 660 nm

Table 1의 결과를 보면 인산성인이 유출수에서는 0.28~2.13 mg/L 사이로 측정되었다. 이와 같이 표준분석법으로 분석한 인산성인의 농도는 같은 시료를 FIA를 이용하여 측정한 결과와 90.3~109.8% 범위에서 잘 일치한다는 것을 확인할 수 있다. 따라서 다른 방법과 비교하였을 때 FIA를 이용한 인산성인의 측정결과는 잘 일치한다는 것을 확인할 수 있다.

4. 결 론

본 연구에서는 수질오염성분을 현장에서 신속, 정확하게 분석할 수 있는 FIA 장치를 구성하고 최적의 자동화 분석방법을 확립하였다. 인산성인의 분석방법으로

흡광광도법을 선택하였으며, FIA법에 의한 최적분석조건에서 검정곡선을 작성하고 검출한계를 구하였다. 또한 수처리 시스템의 유출수를 분석하고 그 결과를 표준분석법과 비교하여 FIA를 통한 실시간 분석의 우수성을 보여주었다.

1. 펌프, 시료주입장치, 반응코일, 검출장치 및 기록장치 등을 이용하여 인산성인의 자동분석을 위한 FIA 장치를 제작하였다.

2. FIA법에서의 인산성인의 검출방법으로는 흡광광도법인 아스코르브산 환원법이었다. 그리고 검출파장은 690 nm였다.

3. FIA 장치의 인산성인의 최적분석조건은 시료주입량은 30 μ L, 전체흐름속도는 2.25 mL/min.이고 반응코일의 길이와 온도는 80 cm(I.D. 0.50 mm), 20°C였다.

4. 인산성인의 검정곡선을 작성한 결과, 정량범위는 0.1~5.0 mg/L이었으며, 상관관계함수는 $Y=96323X-6931.2$ 이었다. 그리고 상관계수는 $R^2=0.9993$ 으로 매우 좋은 직선성을 보여주었고, 상대표준편차는 0.63~8.34%로 재현성이 우수한 결과를 나타내었다.

5. 수처리 시스템의 유출수를 FIA와 표준분석법으로 비교함으로써 FIA의 정확성을 확인하였다. FIA와 표준분석법은 103.4~110.2% 범위에서 잘 일치하고 있다.

참고문헌

1. 이광필, 전휘경, 이광우, *한국분석과학회*, 1995, 8(2), 23.
2. 정형근, 이대운, *대한화학회*, 1994, 34(11), 1070.
3. M. Valcarcel and M. D. Luque de Castro, 1987, *Flow Injection Analysis : Principles and Application*, John Wiley & Sons, New York, USA.
4. G. D. Clark, D. A. Whitman, G. D. Christian and J. and Růžička, *Crit. Rev. Anal. Chem.* 1990, 21(5), 357.
5. Kevin Robards, Ian D. McKelvie, Richard L. Benson, Paul J. Worsfold, Nick J. Blundell and Harry Casey, *Analytica Chimica Acta*, 1994, 287, 147.
6. C. R. Goldman & A. J. Home, 1993, *Limnology*, McGraw Hill, New York
7. Jones, E. R. and Hubbard, S. D., *JWPCF*, 1986, 58, 816.
8. Vernon L. S. and Jenkins. D., 1980, *Water Chemistry*, John-Wiley & Sons, Inc.