

중금속 흡광도 측정에서 탁도 보정 기법의 적용

김리윤¹ · 박선구² · 엄인용^{1†}

¹대구가톨릭대학교 응용화학과, ²비엘프로세스(주)

Application of Two-wavelength Absorbance Photometry in Turbid Water Samples

Ra Yun Kim¹, Sun Ku Park², and In-Yong Eom^{1†}

¹Department of Applied Chemistry, Daegu Catholic University, Gyeongsan-si, Gyeongbuk, Rep. of Korea 38430

²BL Process, Anyang-si, Gyeonggi-do, Rep. of Korea 14057

Received December 12, 2019 / Revised February 26, 2020 / Accepted March 1, 2020

Abstract: As turbidity can cause errors in measurements when absorbance photometry is used to determine the concentrations of heavy metal ions in real water samples (such as discharged water and industrially process water), fine solid particles should be removed during the sampling and/or sample preparation. However, complete removal is not always possible, and when an absorbance measurement needs to be carried out on a sample that is still turbid, a proper compensation method should be applied. In this short communication, accuracy was improved by means of a simple two-wavelength photometric method when absorbance was used to determine the concentrations of metal ions in samples of turbid water. The absorbance error decreased from 62.4~488% to 5.13~20.3% after the compensation method was applied.

Key words: Heavy metal, Absorbance, Turbidity, Two-wavelength photometry

1. 서 론

산업발달에 따른 유기 오염물질의 대량 유입과 그에 따른 하천의 자정정화능력 저하로 수질오염이 증가하고 있다. 다양한 수질오염물질 중 수은, 납, 비소, 카드뮴, 크롬, 구리와 같은 중금속은 폐수, 하수, 공업용수와 채광 작업의 결과로 하천유역으로 유입되고 있는데, 생물축적(bioaccumulation) 정도가 크고 인체 흡입 시 그 유해성과 위해성이 매우 높아 상시적으로 모니터링 할 필요가 있다.^{1,2)} 수질시료에 포함된 중금속의 분석에 널리 사용되는 방법 중의 하나는 분광광도계를 이용한 분석법이다. 형광법(fluorometry)과 흡광법(absorption photometry)은 분광분석법의 대표적인 예이며 이중 킬레이트(chelate) 화합물과 금속이온과의 반응의 결과 생성된 금속-킬레이트 착물의 흡광도를 측정하

여 해당 금속 이온을 정량하는 흡광법은 검출 기기의 단순성과 손쉬운 작동법으로 인해 수질 내 중금속의 분석에 많이 이용되고 있다.³⁻⁶⁾

탁도(turbidity)는 물이 여러 부유물질에 의해 흐려진 정도 즉, 탁한 정도를 측정하는 것으로 수질 중의 오염물질(유기물)을 측정하는 가장 기본적인 항목이다. 즉, 부유물질이 많을수록 탁도는 높아지게 된다. 높은 탁도를 보이는 물속의 부유물질은 물속으로 투입되는 햇빛을 흡수하여 수온을 높이거나 햇빛을 산란시키기도 하여 수중 생물의 광합성(photosynthesis)을 방해하여 결론적으로 수중 산소량을 감소시키기도 한다.⁷⁾ 수중 생태계에 막대한 영향을 미치는 탁도는 흡광 분석에도 영향을 미친다. 즉, 흡광 측정에서 사용되는 광원을 산란시켜 검출기에 도달하는 빛의 양을 감소시킴으로써 결과적으로 측정되는 흡광도의 값을 높게 되고 이는 흡

[†]To whom correspondence should be addressed.

광도에 의한 중금속의 정량 시 중금속의 농도를 원래 값보다 높게 읽게 하는 원인이 될 수 있다. 최악의 시나리오는 탁도가 너무 높아서 상대적으로 낮은 농도의 중금속을 흡광도법으로 측정하지 못하는 경우이다.

일반적으로 부유물질로 인하여 측정값의 신뢰도가 현저하게 저하될 우려가 있는 시료, 예를 들면 하수처리장의 방류수 속의 중금속을 금속-킬레이트 착물 형성을 통한 흡광도 측정을 통해 정량 분석을 수행하기 전에 시료와 반응하지 않고 측정농도에 영향이 주지 않는 경우 100 μm 이상의 필터를 부착할 수 있다.⁸⁾ 그러나 사용하는 filter size보다 작은 입자의 경우까지 완벽하게 제거하기는 힘들다. 또한, pH 조절, 액-액 추출 등과 같은 전처리과정이나 착물 형성반응 과정에서 2차 탁도가 발생할 수도 있다. 따라서, 전처리 과정에서 미세입자들이 완벽히 제거되지 않은 상황에서는 최종적으로 흡광도를 측정할 때 탁도를 보정하는 것이 매우 중요하다.

본 단보에서는 탁한 시료에서의 흡광도 측정 시 발생하는 오차율을 두 파장을 이용한 흡광도법⁹⁾을 통해 보정할 수 있음을 확인하였다. 탁한 수시료 속의 금속 이온을 진콘 시약과의 반응을 통해 푸른색 금속-진콘 착물을 생성 후 상업용 분광광도계를 사용하여 흡광 스펙트럼을 얻은 후, 630 nm 파장은 푸른색의 금속-진콘 착물의 흡광도를 측정하는데 사용하였으며, 880 nm 파장은 탁한 시료의 흡광도(즉, 흡광도 단위로 측정된 탁도에 해당함)를 측정하는데 사용하였다. 탁도에 의해 증가된 흡광도 값은 630 nm에서 측정된 흡광도 (분석물질과 탁도에 의한 총 흡광도 측정)에서 탁도에 의해 유발된 흡광도 값을 빼주는 간단한 방법을 통해 낮출 수 있음을 확인하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약의 준비 및 실험조건

구리 표준용액은 황산구리 오수화물($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 대정화학, 한국)을 이용하여 구리 농도가 1000 mg/L이 되도록 100 mL로 제조 한 후 분석하고자 하는 농도가 되도록 희석하여 사용하였으며 진콘용액(Zincon monosodium salt, Alfa Aesar, 미국)은 0.02 M 수산화나트륨(Merck, 미국)을 용매로 하여 1.40×10^{-4} M의 농도가 되도록 제조하였다. 발색 반응 시 pH를 맞추기 위해 pH 5 완충용액을 사용하였는데 이 완충 용액은 30% 에탄올 용액(Merck, 미국)에 아세트산 나트륨(CH_3COONa ,

Alfa Aesar, 미국)이 최종적으로 0.2 M이 되도록 넣어 준 후 아세트산(CH_3COOH , 삼진화학, 한국)을 이용해 pH 5로 맞춰주었다. 탁도 유발 물질로 사용된 우유(시판용 white whole milk)는 초순수를 이용해 100배 묽힌 후 필요한 탁도 비율에 따라 초순수를 사용하여 묽힌 후 사용하였다. 진콘 시약과 금속 이온의 반응 조건은 금속 용액 2 mL, 우유 0.8 mL, 완충용액 1 mL, 진콘 1 mL 순으로 바이알에 넣은 후 혼합하여 자외선/가시선 분광광도계(UV-1800, SHIMADZU, 일본)와 표준 1 cm 석영 큐벳(10 mm standard, HELIMA, 독일)을 이용해 흡수 스펙트럼을 얻은 후 해당 파장에서의 흡광도 값을 수치 해석에 이용하였다.

2.2. 탁도의 보정

시료 중 전처리 과정에서 완벽하게 제거되지 못했거나 pH 조절 등을 통한 2차 탁도가 발생할 수 있다. 예를 들어 진콘은 낮은 pH 환경에서는 용해도가 감소하여 일부 석출될 수도 있다.⁴⁾ 탁도는 흡광도에 영향을 주므로 측정의 정확도와 정밀도를 높이기 위해서는 보정이 필요하다. 특정 파장에서 어떤 시료의 총흡광도(A_{total})는 개별 흡광도의 선형 합이다. 만약 시료 내에 어떤 파장의 빛을 흡수하는 두 가지 화학종이 있다면 해당파장에서 측정의 그 시료의 총흡광도(A_{total}) 첫 번째 화학종의 흡광도($A_{\text{화학종1}}$)와 두 번째 화학종의 흡광도($A_{\text{화학종2}}$)의 선형 합이다.¹⁰⁾

탁도계는 주로 입사광과 검출기의 각도가 $90^\circ \pm 30^\circ$ 를 초과하지 않는다.¹¹⁾ 즉, 주로 90° 각도에서 미세입자에 산란된 빛의 양을 탁도(단위 NTU)로 환산하여 나타낸다. 만약 검출기를 입사광과 일직선상에 마주보게 위치시키면 미세입자가 없을 때보다 있을 때 입사광의 세기는 감소하고 미세입자가 많을 때 즉 시료가 탁해 질수록 그 감소정도는 증가할 것이다. 이 현상은 마치 특정 파장에서 빛을 흡수하는 화학종의 농도가 증가할수록 측정되는 빛의 세기가 지수적으로 감소하고 흡광도는 선형적으로 증가하는 Beer's의 법칙과 유사하다. 결론적으로 시료의 탁한 정도를 흡광도 단위(AU)로도 측정이 가능하다. 만약 λ_1 에서 Beer의 법칙을 만족하는 금속-진콘 착물이 포함된 탁한 용액의 흡광도를 측정한다면, λ_1 에서 이 시료의 흡광도(A_{λ_1})는 금속-진콘 착물의 흡광도($A_{\text{착물}, \lambda_1}$)와 미세부유물질의 산란에 의해 유발된 즉, 탁도에 의한 흡광도($A_{\text{탁도}, \lambda_1}$)의 선형 합으로 얻어지게 된다. 만약 같은 시료를 금속-진콘 착물이 흡수하지 않는 λ_2 에서 흡광도를 측정한다면, λ_2 파장에서의

착물에 의한 흡광도 ($A_{\text{착물},\lambda_2}$)는 0이므로 이 시료의 흡광도(A_{λ_2})는 탁도에 의한 흡광도($A_{\text{탁도},\lambda_2}$)와 같다. λ_2 에서 측정된 탁도에 의한 흡광도($A_{\text{탁도},\lambda_2}$)와 λ_1 에서 측정된 탁도에 의한 흡광도($A_{\text{탁도},\lambda_1}$) 사이의 관계식을 알아내면 λ_1 에서 측정된 시료의 흡광도(A_{λ_1})에서 탁도에 의한 흡광도($A_{\text{탁도},\lambda_1}$)를 보정한 흡광도 ($A_{\text{보정}}$)를 얻을 수 있다. 만약 환산인자, F 를 흡광도($A_{\text{탁도},\lambda_1}$)를 흡광도($A_{\text{탁도},\lambda_2}$)로 나누어 준 값으로 정의한다면 금속-진콘 착물만의 흡광도($A_{\text{착물},\lambda_1}$)는 λ_2 에서 측정된 흡광도($A_{\text{탁도},\lambda_2}$)에 환산인자 F 를 곱한 수치를 λ_1 에서 빼줌으로써 얻을 수 있다. 즉, $A_{\text{보정}}$ 값은 $\{A_{\lambda_1} - F \times A_{\text{탁도},\lambda_2}\}$ 로 얻어지며 이는 곧 $A_{\text{착물},\lambda_1}$ 과 동일한 값으로 탁도가 보정된 보다 정확한 금속-착물만의 흡광도 값이 된다.

3. 결과 및 고찰

3.1. λ_1 과 λ_2 의 결정

아래 Fig. 1은 진콘 시약, 구리-진콘 착물과 500배로 묽힌 우유 용액의 흡수 스펙트럼을 보여주고 있다. 진콘 시약의 흡수 스펙트럼은 468 nm에서 최대를 나타내고 금속-진콘 착물의 흡수 스펙트럼과는 붉은색 파장 영역에서 일부 겹친다. 진콘 시약의 흡수 스펙트럼과는 최대한 많이 겹치지 않으면서 구리-진콘 착물 ($\lambda_{\text{max,구리}} = 601.5 \text{ nm}$)의 흡수 스펙트럼의 최대 흡수 파장과는 가급적 일치하는 파장을 선택해야 구리의 정량에 유리하다. 따라서, $\lambda_{\text{max,구리}}$ 에 가까운 630 nm를 금속-진콘 착물의 흡광도 측정하기 위한 파장(λ_1)으로 선택하였다. 탁도에 의해 유발되는 흡광도의 측정을 위해서는 분석 대상 물질(금속-진콘 착물)은 물론 바탕용액에 의한 흡

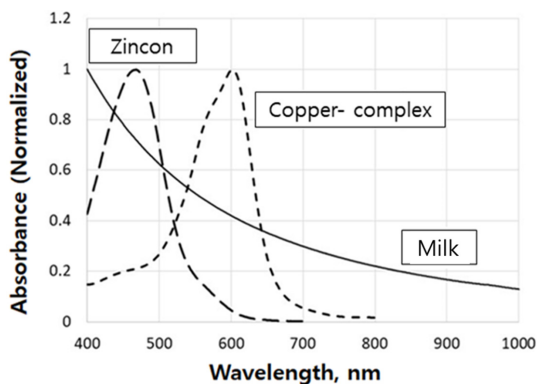


Fig. 1. Absorption spectra of Zincon, copper-Zincon complex, and whole milk (diluted 500 times). Displayed after normalization.

수가 일어나지 않는 파장을 선택하여야 한다. 금속과 결합하는 대부분의 유기 리간드는 자외선 영역에서 흡수가 일어나고 색깔을 띤 금속-착물들은 대부분의 가시선 영역대의 빛을 흡수한다. 따라서, 탁도 측정용 파장은 대략 800 nm 이후의 파장 중 하나를 선택하는 것이 좋다. 본 연구에서는 880 nm를 탁도를 보정하기 위한 파장(λ_2)으로 선택하였는데, 그 이유는 추후 880 nm 발광다이오드를 광원으로 하는 탁도 보정 기능을 가진 흡광도 측정기기를 개발하는데 활용하기 위함이다.

3.2. F 의 결정

λ_2 (880 nm)에서 측정된 탁도에 의한 흡광도($A_{\text{탁도},\lambda_2}$)를 λ_1 (630 nm)에서 측정된 탁도에 의한 흡광도($A_{\text{탁도},\lambda_1}$)로 환산하여 주기위해 먼저 두 파장에서 탁도 변화에 따른 흡광도 변화 곡선, 즉, 탁도 검정곡선을 구하여야 한다 (Figure 2). 상대적인 탁도를 유발하기 위해 시중에서 구입한 흰 우유를 1/1000, 1/500, 1/100로 묽힌 용액을 사용하였다. 두 파장 모두 원점을 지나는 상관 계수가 매우 높은 검정곡선이 얻어졌다. 환산인자 F 는 두 검정곡선의 기울기의 비(ratio)로 결정할 수 있다. 즉, $F = m_{\lambda_1}/m_{\lambda_2} = 101.3/48.4 = 2.09$.

탁도는 입자의 크기, 모양 및 색상에 따라 그 값이 크게 변한다. 따라서 흰 우유 용액의 매트릭스를 변화시켜 그 형상에 변화를 주었을 때 F 값이 어떻게 변하는지 확인하여 보았다 (Table 1). 두 파장에서의 절대 흡광도 값은 흰 우유의 pH 조건이나 매트릭스가 변함에 따라 해당 파장에서의 절대 흡광도 값은 변화가 %RSD가 33~39%로 매우 크게 변하는 반면 F 값은 7.1% RSD

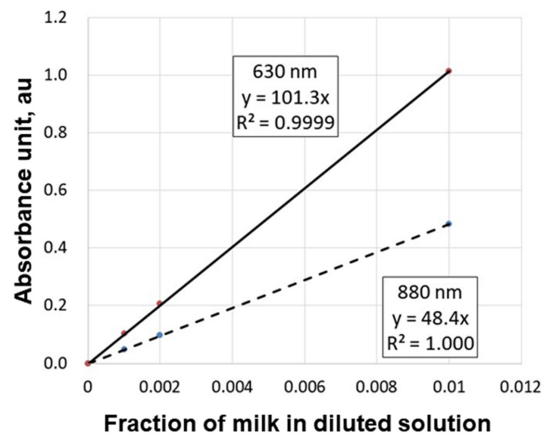


Fig. 2. Turbidity calibration lines measured at λ_1 (630 nm) and λ_2 (880 nm), which were used to calculate conversion factor, F .

Table 1. Conversion factors (F) obtained at different conditions

	Milk only	Milk at pH=5	Milk with Zincon	Milk with Zincon at pH = 5	Average (%RSD)
$A_{\text{Turbidity},630}$	0.468	0.675	0.290	0.466	0.475 ± 0.16 (33%)
$A_{\text{Turbidity},880}$	0.220	0.357	0.132	0.239	0.237 ± 0.09 (39%)
Conversion factor, F	2.13	1.89	2.20	1.95	2.04 ± 0.14 (7%)

로 상대적으로 안정적임을 알 수 있다. 이를 통해 흡광도법에서 두 파장을 이용한 탁도 보정 기법이 매우 유용함을 확인할 수 있다. 본 연구에서는 흰 우유를 단순 탁도 유발 물질로 활용하였다. 실제 시료 용액에서 탁도 유발 물질의 성질은 우유와는 매우 달라질 수도 있다. 이때 실제 시료에 포함된 탁도 유발 물질을 이용하여 (즉, 원 시료 용액을 이용하여) 위와 유사한 사전 실험을 통해 실제시료에 맞는 F 값을 구하여 탁도 보정에 사용하는 것이 필요하다.

3.3. 탁도 검정 결과

630 nm을 λ_1 으로 880 nm를 λ_2 로 결정하여 실험을 진행하였으므로 630 nm에서 시료용액(흰 우유 입자에 의해 유발된 용액 속의 구리-진콘 착물 용액)의 흡광도, A_{630} 를 보정하기 위해서는 $\{A_{\text{보정}} = A_{630} - F \cdot A_{\text{탁도},880}\}$ 식을 사용하여야 한다. Table 2는 이 식을 사용하여 탁도를 보정하기 전과 후 오차율을 표시한 표이다. 탁도를 보정하기 전의 오차율은 62.4~488%이었으나 보정 후 오차율은 최대 20.3%를 넘지 않아 효과적으로 탁도를 보정할 수 있음을 확인하였다. 흡광도는 탁도가 높을수록 구리이온의 농도가 낮을수록 탁도의 영향을 더 크게 받음을 확인할 수 있다. 이는 시료 전처리 과정을 통해 원시료의 미세부유물질을 모두 제거하고 흡광도를 측정해야하며, 어떤 연유에서나 탁도가 미세하게 남아있는 경우 이러한 보정 기술을 사용하여 흡광도 측정에서의 정확도를 높일 필요가 있음을 암시한다. 제시

된 탁도 보정 기술이 약 500 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서는 안정적으로 활용이 가능할 것으로 확인되었다. 그러나 탁도가 매우 높은 시료의 경우에는 화합물의 농도가 높다 하여도 원 시료의 흡광도 수치(raw data)의 정밀도가 매우 낮아지므로 본 보정 기술을 적용하기에는 매우 제한적일 것으로 보인다.

4. 결 론

630 nm와 880 nm의 두 파장에서 시료(탁한 시료 속의 푸른색 금속-진콘 착물)의 흡광도를 측정 후 간단한 보정식 $\{A_{\text{보정}} = A_{630} - F \cdot A_{\text{탁도},880}\}$ 을 사용하여 보정 흡광도를 구하였다. 보정전후의 오차율을 비교하여 보정 후에 오차율이 수십 배 낮아짐을 확인하였다. 일반적인 탁도 보정은 원시료의 전처리 후 착물 형성을 투입하기 전의 흡광도를 미리 측정 후 순차적으로 측정된 흡광도에서 이 수치를 빼주는 방식으로 이루어지는데, 원시료의 탁한 정도에 따라 전처리 효율이 달라지거나 2차 탁도가 발생할 경우 보정에 한계가 있을 수 있다. 반면 본 단보에 제시된 보정 기법은 순차 보정 기법이 아닌 두 파장에서의 동시 흡광 분광법을 통해 탁도 보정을 수행하는 보다 간단한 기술로 분석 절차를 간소화 할 수 있을 뿐만 아니라 정확도를 높일 수 있는 흡광도 측정 기법이라고 할 수 있다. 제시된 시험법을 실제 환경시료에 적용하기 위해서는 실제 시료의 탁도 유발 물질의 성질을 보다 정확하게 반영한

Table 2. Comparison of errors before and after absorbance compensation of the copper-Zincon complex in turbid samples.

Relative turbidity	1/500		1/2000	
Copper, $\mu\text{g/L}$	1000	500	1000	500
A_{630} , au	0.465	0.400	0.190	0.135
$A_{\text{Turbidity},880}$	0.158	0.152	0.0320	0.0300
$A_{\text{Turbidity},630}$	0.331	0.318	0.0670	0.0628
$A_{\text{Corrected}}$	0.134	0.0818	0.123	0.0722
$A_{\text{Cu-complex},630}$	0.127	0.0680	0.117	0.0610
Error(B), %	266	488	62.4	121
Error(A), %	5.51	20.3	5.13	18.4

Error(B): Calculated absorbance error Before turbidity compensation of A_{630} . Error(B) = $100 \times \{(A_{630} - A_{\text{Cu-complex},630}) \div A_{\text{Cu-complex},630}\}$
 Error(A): Calculated absorbance error After turbidity compensation of A_{630} . Error(A) = $100 \times \{(A_{\text{Corrected}} - A_{\text{Cu-complex},630}) \div A_{\text{Cu-complex},630}\}$

보정 계수 F 를 산출하는 것이 가장 중요한 요인이 될 것이다.

감사의 글

본 연구는 환경부 글로벌담 환경기술개발사업(그린페트를 측정기술개발사업단)의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다(2018001840001).

참고문헌

1. Z. Li, Z. Ma, T. J. Kuijp, Z. Yuan, and L. Huang, "A review of soil heavy metal pollution from mines in China: Pollution and health risk assessment", *Science of The Total Environment*, **2014**, 468-469, 843-853.
2. M. Li, R. Cao, A. Nilghaz, L. Guan, X. Zhang, and W. Shen, "Periodic-Table-Style" Paper Device for Monitoring Heavy Metals in Water", *Analytical Chemistry*, **2015**, 87, 2555-2559.
3. G. L. Xie, H. Yu, M. H. Deng, X. L. Zhao, and P. Yu, "A colorimetric microfluidic sensor made by a simple instrumental-free prototyping process for sensitive quantitation of copper", *Chemical Papers*, **2019**, 73, 1509-1517.
4. P. Richter, M. I. Torala, A. E. Tapiab, and E. Fuenzalida. "Flow Injection Photometric Determination of Zinc and Copper With Zincon Based on the Variation of the Stability of the Complexes With pH", *Analyst*, **1997**, 122, 1045-1048.
5. P. Rumori and V. Cerdà. "Reversed flow injection and sandwich sequential injection methods for the spectrophotometric determination of copper(II) with cuprizone", *Analytica Chimica Acta*, **2003**, 486, 227-235.
6. M. T. Islam and M. J. Ahmed, "A Simple Spectrophotometric Method for the Trace Determination of Zinc in Some Real, Environmental, Biological, Pharmaceutical, Milk and Soil Samples Using 5,7- Dibromo-8-hydroxyquinoline", *Pak. J. Anal. Environ. Chem.*, **2013**, 14, 1-15.
7. G. J. Telesnicki and W. M. Goldberg, "Effects of Turbidity on the Photosynthesis and Respiration of Two South Florida Reef Coral Species", *Bulletin of Marine Science*, **2014**, 57, 527-539.
8. 환경부, 한국환경공단, "수질관리 선진·과학화를 위한 수질TMS 설치·운영 업무편람", **2012**, 54.
9. H. M. Loftly, S. S. Saleh, N. Y. Hassan, and H. Salem, "Novel two wavelength spectrophotometric method for simultaneous determination of binary mixtures severely overlapping spectra", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **2015**, 136, 1786-1796.
10. P. K. Dasgupta, I. Y. Eom, K. J. Morris, and J. Li, "Light emitting diode-based detectors Absorbance, fluorescence and spectroelectrochemical measurements in a planar flow-through cell", *Analytica Chimica Acta*, **2003**, 500, 337-364.
11. 한원식, 김소영, 홍태기, "환경물 시료의 휴대용 탁도 측정 장치 개발", *한국환경분석학회지*, **2010**, 13, 54-57.