

물 불소 함량 정량화를 위한 SPADNS 비색 분석법

Agilent Cary 60 UV-Vis 분광 광도계를 통한 편리하고
정밀한 농도 측정



저자

Rogelio García 및
Geethika Weragoda
Agilent Technologies, Inc.

개요

SPADNS 비색 분석법에 설명된 대로 Agilent Cary 60 UV-Vis 분광 광도계를 적용하여 물의 불소 함량을 정량화하였습니다. Agilent Cary WinUV 소프트웨어의 농도 모듈로 단일 파장 흡광도 측정 및 데이터 분석을 실시하여 시간이 많이 드는 데이터 처리 절차를 간소화했습니다. 검량선은 0~1.4mg/L 사이에서 분석 범위가 선형이며, 이를 물 시료 분석에 사용할 수 있습니다.

서론

불소 이온은 물에서 자연적으로 발견됩니다. 지표수와 지하수 모두 불소 화합물을 포함한 암석과 토양의 풍화로 인해 자연적으로 발생하는 불소를 함유하고 있습니다. 2011년 세계보건기구(WHO)는 불소의 안전 한계치를 0.5~1.5mg/mL로 제안했으며, 정확한 레벨은 기후, 환경 및 기타 불소 공급원에 따라 달라집니다.¹ 불소는 세계 각국의 여러 공공 식수원에 일반적으로 첨가됩니다. 식수의 불소 함량을 조절하는 작업을 불소화(fluoridation)라고 하며 지역사회에 불소를 비용 대비 높은 효율로 전달하는 방법으로 인정받고 있습니다. 일부 지하수와 천연 온천은 자연적으로 높은 수준의 불소를 함유할 수 있습니다. 과도한 양의 불소에 장기간 노출되면 불소증, 암, 뇌 발달 장애 등 건강에 여러 모로 악영향을 받을 수도 있습니다.² 따라서 식수의 정확한 불소 함량 측정은 중요한 공중 보건 조치로 그 관심도가 높아지고 있습니다.

미국환경보호국(EPA) 기준 분석법인 Standard Method 4500-F에는 물의 불소 함량을 정량화하는 분석법이 다수 설명되어 있습니다. 이 중에서 선형 분석 범위가 0~1.4mg/L인 SPADNS 비색 분석법(분석법 D)이 가장 많이 쓰이는 것으로 인정받고 있습니다. 그러나 비선형 검량을 사용하면 분석 범위를 최대 3.5mg/L까지 확장할 수 있습니다. 산성 조건에서 지르코늄-

SPADNS 염료는 불소 이온에 의해 해리되어 무색의 복합 음이온(ZrF_6^{2-})과 황색 SPADNS를 생성하는데, 이로 인해 염료의 적색이 변색(표백)됩니다. 이 변색 반응은 570nm에서 UV-Vis 분광법으로 모니터링할 수 있습니다. 변색은 불소 이온의 함수이며 불소 농도에 정비례하기 때문에 물의 불소 함량을 정량화하는 데 이용합니다. 상응하는 정량 분석법은 불소 농도가 다른 여러 표준 불소 시료에 대해 570nm에서 얻은 흡광도 측정값을 기준으로 플롯된 표준 검량선을 이용하여 만듭니다.

본 응용 자료에서는 **Agilent Cary 60 UV-Vis 분광 광도계**와 **Agilent Cary WinUV 소프트웨어**의 Concentration 모듈을 사용하여 SPADNS 비색 분석법에 따라 물의 불소 함량을 정량화하는 분석법을 만들었습니다. 미지의 시료를 분석할 때 이 소프트웨어가 검량선을 자동으로 사용하여 시료 농도를 계산 및 보고하므로 시간 소모적인 데이터 처리 절차가 줄어듭니다. Cary WinUV 소프트웨어는 분석 요구에 맞게 조정하고 UV-Vis 측정을 단순화할 수 있어 더 짧은 시간에 더 많은 작업을 수행할 수 있습니다. Cary WinUV 소프트웨어에는 데이터 수집, 분석, 저장 및 표시를 위한 강력한 기능과 간단한 분석법이 포함되어 있으며 이로 인해 복잡성이 줄어드는 효과가 있습니다. 또한 정성 파장 스캔 또는 판독, 농도 분석, 효소 동역학 등 다양한 응용 분야를 처리하도록 설계된 다양한 모듈이 포함되어 있습니다.



그림 1. Agilent Cary 60 UV-Vis 분광 광도계.

실험

기기

본 연구에서는 Cary 60 UV-Vis 분광 광도계와 석영 소재의 10mm 경로 길이 셀을 사용했습니다. 데이터 수집에는 Cary WinUV 소프트웨어 버전 5.1.3.1042의 Concentration 모듈을 사용했습니다. 단일 파장 흡광도 측정은 표 1에 주어진 파라미터를 사용하고 각 시료에 대해 3회 반복하여 570nm에서 수집되었으며 해당 검량선은 소프트웨어에 의해 자동으로 생성되었습니다. 검량선의 피팅 유형과 최소 R²(피팅 품질을 나타내는 척도)는 작업자가 설정할 수 있습니다.

표 1. 실험 파라미터

파라미터	설정
Wavelength (nm)	570
신호 평균 시간(s)	0.1
반복 횟수	3
피팅 유형	선형
최소 R ²	0.95000

재료 및 시료 전처리

- **지르코닐산 시약:** 133.0mg의 ZrOCl₂ · 8H₂O를 25mL 증류수에 녹였습니다. HCl 산 농축액 350mL를 첨가하고 증류수로 최대 500mL까지 희석했습니다.
- **SPADNS 용액:** SPADNS 958.0mg을 증류수에 녹이고 증류수로 500 mL까지 희석하여 적색 용액을 만들었습니다. 햇빛으로부터 보호하기 위해 용액을 갈색 병에 보관했습니다.
- **산성 지르코닐-SPADNS 시약:** 동량의 SPADNS 용액과 지르코닐산 시약을 혼합하여 적색 용액을 만들었습니다.
- **기준 용액:** SPADNS 용액 10mL를 증류수로 100mL까지 희석했습니다. HCl 농축액 7mL를 증류수를 이용해 10mL로 희석했습니다. 그런 다음 10mL의 산성 용액을 앞서 희석한 SPADNS 용액에 첨가했습니다. 제조된 용액을 혼합하여 분광 광도계의 기준점(0)을 조정하는 데 사용했습니다.
- **검량선용 표준 불소 용액:** 불소 이온은 유리를 부식시키기 때문에 표준 불소 용액은 모두 폴리에틸렌 플라스크에 준비하고 폴리에틸렌 병에 보관했습니다.

- **불소 원액:** 무수 불화나트륨 221.0mg을 증류수에 녹이고 증류수(100mg/L)를 이용해 1,000mL로 희석했습니다.
- **불소 표준 용액:** 불소 원액 100mL를 증류수(10mg/L)를 이용해 1,000mL로 희석했습니다.
- **불소 표준 용액:** 적당량의 표준 불소 용액을 증류수를 이용해 50mL로 희석하여 각각 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4mg/L 농도로 표준 불소 용액을 준비했습니다. 각 표준 용액에 산성 지르코닐-SPADNS 혼합액 10mL를 넣고 잘 섞어 광도 측정용 유색 용액을 준비했습니다.

불소 정량 분석법 생성

Cary WinUV 소프트웨어 내에서 제공하는 Concentration 모듈로 불소 정량화 분석법을 만들었습니다. 분석법 설정은 다음 두 단계로 합니다. 즉 (1) 표준 시료를 측정하는 분석법을 만듭니다. (2) 표준 용액을 측정하고 시료 분석을 위한 정량 분석법을 만듭니다.

1. 표준 시료를 측정하는 분석법을 만듭니다.

Cary WinUV Concentration 모듈에서 분석법을 생성하는 과정은 빠르고 간편하며 그림 2와 같이 다음의 몇 가지 간단한 단계만 거치면 됩니다.

- Concentration 모듈을 열고 **설정** 탭을 클릭하여 기기 설정 창을 엽니다.
- Cary 탭에서 파장 옵션에 단일 파장 측정을 위한 파장 (이 예에서는 570nm)을 입력합니다.
- 반복** 또는 **시료/표준물질 평균화**로 각 표준물질에 필요한 반복 횟수를 입력합니다. 이 예에서는 각 표준 용액에 대한 데이터를 세 번 반복하여 수집했습니다.
- 표준 섹션에서 표준 시료의 농도를 오름차순으로 입력하고 **피팅 유형**을 선택합니다. 이 예에서 피팅 유형은 농도 범위 0~1.4mg/L에 대해 선형을 선택하였습니다.

참고: SPADNS 비색 분석법이 제공하는 선형 분석 범위는 0~1.4mg/L입니다. 그러나 비선형 보정을 이용하면 농도 범위를 최대 3.5mg/L까지 확장할 수 있습니다. 확장된 농도 범위에 대해 피팅 유형을 "2차"로 선택하기만 하면 됩니다.

- 이제 소프트웨어와 기기 준비를 모두 마쳤습니다. **시작** 버튼을 클릭하여 표준 용액 측정을 시작합니다.

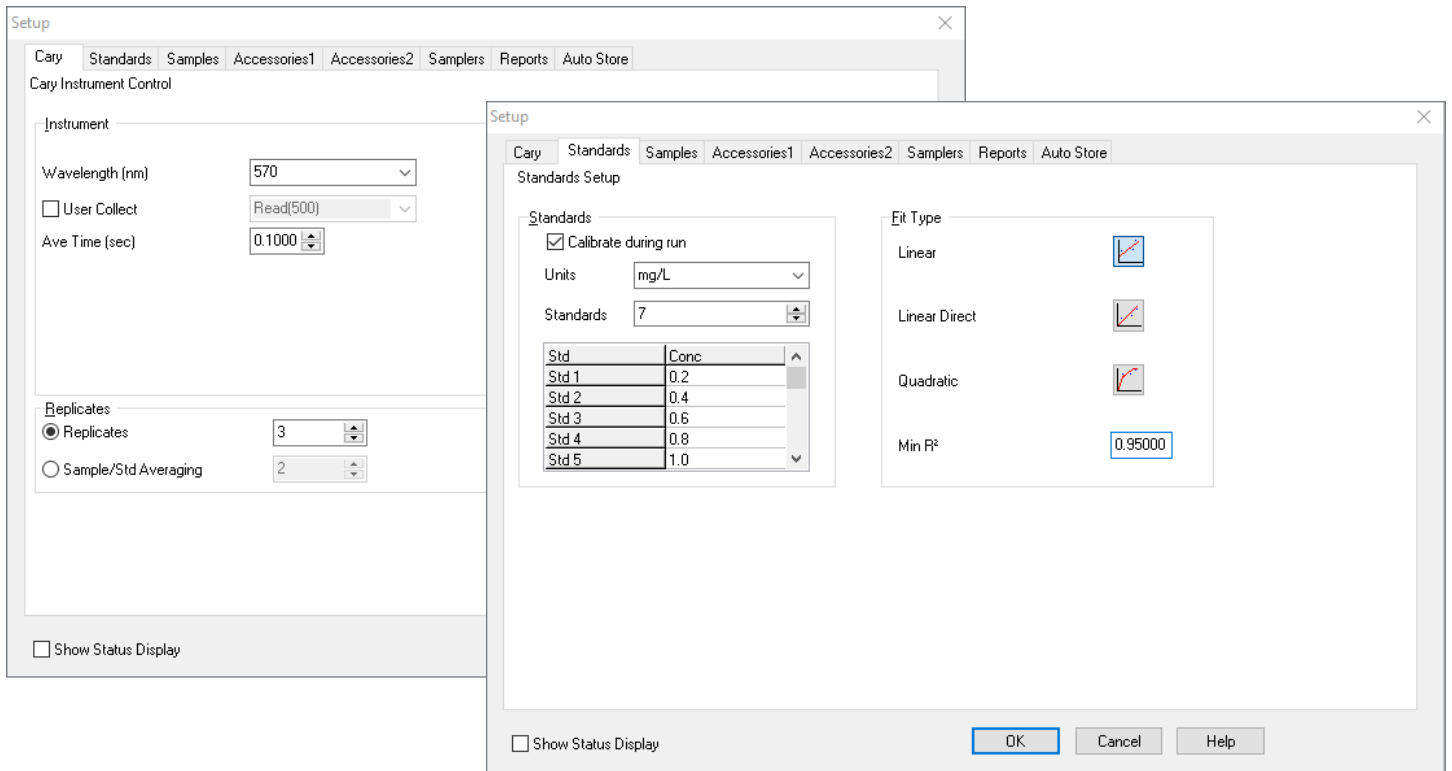


그림 2. Agilent Cary WinUV 소프트웨어의 Concentration 모듈을 사용하여 데이터를 수집 및 분석하기 위한 기기 설정.

2. 표준 용액을 측정하고 정량화 분석법을 만듭니다.

시작 버튼을 클릭하고 소프트웨어 지침에 따라 분석을 시작합니다. 먼저, 기준 용액을 사용하여 Cary UV-Vis 분광 광도계 흡광도를 0으로 설정했습니다. 그런 다음 Cary WinUV 소프트웨어의 시료 로딩 지침에 따라 표준물질 시료에 대한 단일 파장 흡광도 측정값을 570nm에서 수집했습니다. 데이터 수집 후, 소프트웨어가 해당 검량선과 농도 분석 보고서를 자동으로 생성하였습니다(그림 3A). 음의 기울기가 0.1872이고 상관 계수(R^2)가 0.9993인 선형

검량선을 0~1.4mg/mL의 농도 범위에서 도출하였습니다. 농도 분석 보고서는 시료 농도, 평균 흡광도, 검량 수식 및 상관 계수와 같은 검량 데이터로 구성됩니다. 또한, 보고서에 각 시료의 흡광도 측정값에 대한 표준편차(SD)와 백분율 상대 표준편차(%RSD)가 제공되므로 데이터를 분석하기가 쉽습니다(그림 3B). 결과 보고서는 원하는 글꼴 크기, 색상 및 글꼴 유형으로 사용자가 지정할 수 있습니다. 불소 정량 분석법이 소프트웨어에 저장되므로 시료 분석에 재사용할 수 있습니다.

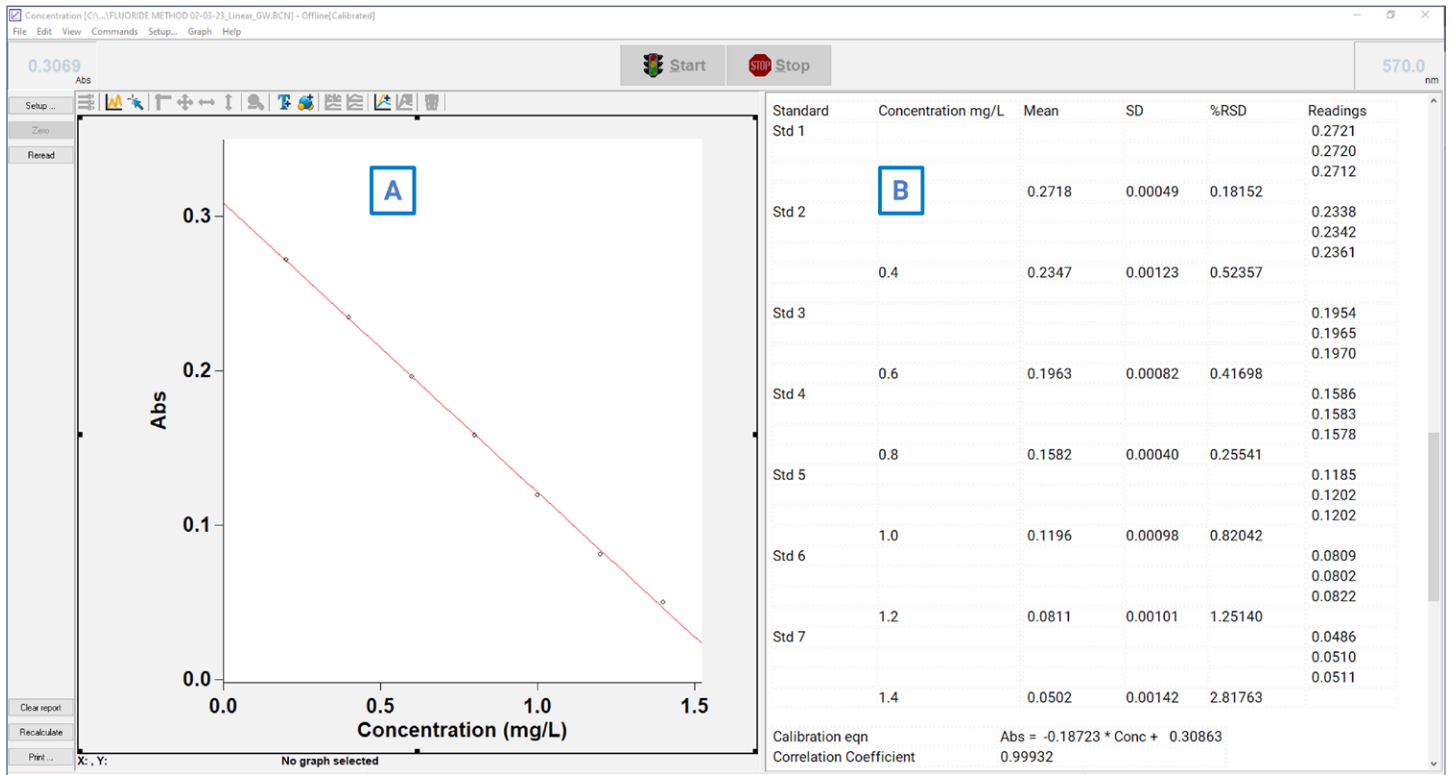


그림 3. 검량선과 농도 분석 보고서는 Agilent Cary WinUV 소프트웨어에서 자동으로 생성합니다.

3. 정량화 분석법으로 시료를 분석합니다.

이전 섹션에서 설명한 대로 정량화 분석법이 설정되면 미지의 시료를 분석하는 데 몇 초 밖에 걸리지 않습니다. 실제 어떻게 적용되는지 보여주기 위해 알려진 농도(0.5 및 0.7mg/L)의 불소 시료를 내부적으로 준비하여 분석했습니다. 570nm에서 단일 파장 흡수 측정(3회 반복) 후, 소프트웨어가 자동으로 검량선을 적용하고 각 시료의 불소 농도를 계산했습니다. 소프트웨어에서 생성된 결과 보고서에는 시료 농도, 각 스캔의 흡수 값, 평균 흡광도 및 상대 표준편차 정보가 수록됩니다(그림 4).

Sample	Concentration mg/L	Mean	SD	%RSD	Readings
Sample 1	0.7	0.1790	0.00051	0.28663	0.1786
					0.1796
					0.1789
Sample 2	0.7	0.1794	0.00057	0.31690	0.1799
					0.1788
					0.1796
Sample 3	0.5	0.2165	0.00111	0.51080	0.2164
					0.2177
					0.2155

그림 4. Agilent Cary WinUV 소프트웨어에 의해 자동으로 생성된 농도 분석 보고서의 예.

SPADNS 비색 분석법을 사용하여 물 시료 분석

이전 섹션에서 설명한 단계를 거쳐 간섭 이온이 없는 물 시료에 대한 분석을 수행할 수 있습니다.

시료 전처리: 간섭 이온은 오류를 일으키며 EPA Method 340-1에 설명된 대로 증류하여 제거할 수 있습니다. 물 시료에 잔류 염소가 들어 있다면 NaAsO₂ 5.0g을 용해하고 증류수를 이용해 1,000mL로 희석하여 준비한 NaAsO₂ 용액 한 방울(0.05mL)을 첨가하여 제거할 수 있습니다.

산성 지르코닐-SPADNS 혼합 용액 10mL를 물 50mL(간섭 이온 없음)에 첨가하고 잘 섞어 분석을 위한 붉은색 용액을 얻습니다. 이전 섹션에서 설명한 정량화 분석법을 사용하여 570nm에서 물 시료의 단일 파장 흡광도 측정값을 수집합니다. 데이터 수집 후, 소프트웨어가 자동으로 검량선을 사용하여 시료 농도를 계산하고 보고합니다. 시료 흡광도가 검량선의 분석 범위(0~1.4mg/L)를 벗어나면 시료를 희석하여 분석을 반복합니다.

결론

Agilent Cary 60 UV-Vis 분광 광도계와 Agilent Cary WinUV 소프트웨어는 SPADNS 비색 분석법에 설명된 바와 같이 물의 불소 함량을 쉽고 편리하게 정량화할 수 있는 플랫폼입니다. 불소 정량 분석법은 Agilent Cary WinUV Concentration 모듈로 생성했습니다. 소프트웨어 설정은 빠르고 쉬우며 간단히 몇 단계만 거치면 됩니다. SPADNS 비색 분석법은 선형 분석 범위가 0~1.4mg/L입니다. Cary WinUV Concentration 모듈에서 생성된 정량화 분석법은 물 시료 분석에 직접 적용할 수 있습니다. 이 소프트웨어는 시료 농도를 자동으로 계산 및 보고하여 시간이 많이 드는 데이터 처리 절차를 간소화합니다.

참고 문헌

1. Guidelines for Drinking-Water Quality, 4th Edition WHO, **2011**.
2. Shahroom, N. B.; Mani, G.; Ramakrishnan, M. Interventions in Management of Dental Fluorosis, an Endemic Disease: A Systematic Review. *J. Family Med. Prim. Care* **2019**, *8(10)*, 3108.
3. Standard Methods 4500-F- A, B and D. Determination of Fluoride F- Spectrophotometric Method; Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd Edition, American Public Health Association.

추가 정보

- Agilent Cary 60 UV-Vis 분광 광도계
- Agilent Cary WinUV 소프트웨어
- 실험실의 요구에 가장 적합한 Agilent UV-Vis 알아보기
- Agilent UV-Vis 분광 광도계 사용 및 응용
- Agilent UV-Vis 분광기 및 분광 광도계 FAQ

www.agilent.com

DE26463005

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2023
2023년 10월 24일 한국에서 발행
5994-6187KO

한국에질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com