

SOP 6b

해수의 pH 측정

- *m*-cresol purple 지시 염료법

1. 대상 및 적용 분야

이 분석 절차는 해수 pH를 분광 광도법(spectrophotometry)을 이용하여 총수소이온농도 척도(total hydrogen ion concentration pH scale)로 재는 방법을 기술한다. 총수소이온 농도, $[H^+]$ 는 해수 1 kg에 들어있는 몰 수로 표현된다.

2. 정의

해수의 총수소이온농도는 황산염의 기여를 포함하며 다음과 같이 정의된다.

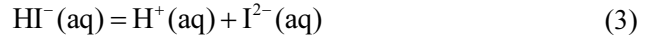
$$\begin{aligned} [H^+] &= [H^+]_F (1 + S_T / K_S) \\ &\approx [H^+]_F + [HSO_4^-] \end{aligned} \quad (1)$$

$[H^+]_F$ 는 해수에서 수소이온의 자유농도(*free concentration*)이고, S_T 는 총 황산염 농도 ($[HSO_4^-] + [SO_4^{2-}]$)이며 K_S 는 $[HSO_4^-]$ 의 산 해리상수이다. 따라서 pH는 수소이온농도의 상용대수 값의 음수로 정의된다.

$$pH = -\log_{10} \left(\frac{[H^+]}{\text{mol kg-soln}^{-1}} \right) \quad (2)$$

3. 원리

pH 값은 해수에 지시 염료(indicator dye)를 첨가하여 측정된다. *m*-cresol purple 같은 sulfonephthalein 지시약에 대한 해수의 pH에서의 관심 대상 반응은 두 번째 해리이다.



I는 해수 시료에 낮은 농도로 존재하는 지시염료를 나타낸다. 시료의 총 수소이온농도는 다음과 같이 측정된다.

$$\text{pH} = \text{p}K(\text{HI}^{-}) + \log_{10} \frac{[\text{I}^{2-}]}{[\text{HI}^{-}]} \quad (4)$$

이 방법의 원리는 지시약의 화학적 형태에 따라 완전히 다른 흡광 스펙트럼을 가진다는 사실을 이용한다. 따라서 종합된 스펙트럼에 들어있는 정보는 $[\text{I}^{2-}]/[\text{HI}^{-}]$ 를 측정하는데 이용된다.

각 파장 λ 에서 투광거리(path length) l 인 측정셀의 흡광도는 Beer-Lambert 법칙을 따른다.

$$\frac{A_{\lambda}}{l} = \varepsilon_{\lambda}(\text{HI}^{-})[\text{HI}^{-}] + \varepsilon_{\lambda}(\text{I}^{2-})[\text{I}^{2-}] + B_{\lambda} + e \quad (5)$$

B_{λ} 는 시료의 배경 흡광도에 해당하며 e 는 기기 노이즈로 발생하는 오차항이다. 소광계수(extinction coefficients)값이 주어지면: 즉 $\varepsilon_{\lambda}(\text{HI}^{-})$ 와 $\varepsilon_{\lambda}(\text{I}^{2-})$ 는 파장에 대해 측정되면, 둘 또는 그 이상 파장에서 측정된 흡광도 측정은 $[\text{I}^{2-}]/[\text{HI}^{-}]$ 비를 추정하는데 이용할 수 있다.

단지 두 파장만 사용된 경우이고 배경값이 효과적으로 제거될 수 있다면, 식 (5)는 기기오차가 없다고 가정하고 다음과 같이 재배열된다.

$$\frac{[\text{I}^{2-}]}{[\text{HI}^{-}]} = \frac{A_1 / A_2 - \varepsilon_1(\text{HI}^{-}) / \varepsilon_2(\text{HI}^{-})}{\varepsilon_1(\text{I}^{2-}) / \varepsilon_2(\text{HI}^{-}) - (A_1 / A_2) \varepsilon_2(\text{I}^{2-}) / \varepsilon_2(\text{HI}^{-})} \quad (6)$$

수 1과 2는 선택된 파장을 의미한다. 최상의 감도를 위해, 염기 (I^{2-})와 산 (HI^{-})의 최대 흡광도에 해당하는 파장이 각각 사용되었다. 여러 항 ε 는 각각 파장 1과 2에서 특정 화학종의 소광계수이다.

4. 기구

4.1 주입관

셀 입구에 넉넉하게 맞는 길이 약 40 cm인 실리콘 고무 관이 적절하다(SOP 1의 각주 1 참조).

4.2 분광광도계 측정 셀

측정 셀은 투광거리 10 cm이고 두 개의 입구와 polytetrafluoroethylene (Teflon[®]) 마개를 가진 광학용 유리로 만들어진 것이어야 한다. 한 차례에 채수된 모든 시료를 한 번에 분석할 만큼의 셀 개수가 필요하다(6절 참조).

4.3 마이크로피펫

Micropipette은 셀에 염료를 주입할 때 이용된다. 이것은 ~ 0.1 cm³ 용량에 대한 주입구(nozzle)로 이용되기 위해 입구가 좁은 Teflon[®] 튜브를 달고 있어야 한다.

4.4 고성능 분광광도계

최상의 감도와 정밀도를 위해 이중 빔(double-beam) 분광광도계가 권장된다. 그러나 고성능 단일 빔(single-beam) 기기로도 좋은 결과를 얻을 수 있다.

4.5 분광광도계 셀 용 온도 조절 시스템

10 cm 셀을 장착할 수 있는 상업적으로 제작된 온도유지 분광광도계 부품은 구하기 힘들어서 아마도 주문 제작해야 할 것이다. 온도는 반드시 0.1°C 이내로 조절되어야 한다.

4.6 측정 온도로 시료를 데우는 시스템

시료를 담은 셀을 Ziploc[®] bags 에 넣어 항온수조에서 데울 수 있지만 불편하다. 한꺼번에 약 12개 셀을 젓지 않게 담을 수 있는 항온유지 부품을 주문 제작하는 것이 좋다.

4.7 항온조(± 0.05°C)

항온수조는 4.6. 절에서 설명했듯이 셀 구획의 온도와 시스템의 온도를 유지하는데 이용된다.

5. 시약

5.1 *m*-cresol purple 용액

해수의 연직 pH 측정에 맞게 7.9 ± 0.1 pH 단위 범위 내로 조절된 아는 pH의 진한 (적어도 2 mmol dm^{-3}) 염료액이 필요하다; 이것은 *m*-cresol purple 에 대해 $A_1/A_2 \approx 1.6$ 임을 의미한다¹.

6. 시료 채취

시료를 Niskin 채수병 (또는 다른 해수 채수기)로부터 인출관을 통해 광학 셀로 직접 흘러준다. 15-20초 동안 해수를 수백 cm^3 가량 흘러 보낸 후 상층에 빈 공간이 없게 Teflon[®] 뚜껑으로 셀을 닫는다. pH 시료는 즉시 분석되어야 하므로 장기간 보관이나 저장에 관한 지침이 없다. 그러나 분석 대기 중에는 시료를 실온의 어두운 곳에 보관한다.

7. 분석 절차

7.1 $25.0^\circ\text{C} (\pm 0.1^\circ\text{C})$ 로 시료 데우기

이는 셀들을 몇 시간 동안 온도가 일정하게 유지되는 곳(4.6 절 참조)에 두면 된다.

7.2 해수 시료(셀+해수)의 흡광도 측정

셀 외부를 닦고 말린다; 셀을 분광광도계의 온도가 일정하게 유지되는 곳에 둔다. *m*-cresol purple 의 비흡수(non-absorbing) 파장 (730 nm)과 염료의 염기(I^-)와 산 (HI) 형태의 최대 흡수에 일치하는 파장들 각각 578 과 434 nm 의 3 파장에서 흡광도를 측정하고 기록한다.

7.3 셀에 염료 주입

셀 마개 하나를 열고 시료에 진한 염료($\sim 2 \text{ mmol dm}^{-3}$) 약 $0.05\text{-}0.1 \text{ cm}^3$ 을 첨가하고 마개를 막고 해수와 염료가 혼합되도록 셀을 흔든다. 필요한 염료 양은 두 흡광도 최고점 각각에서 0.4와 1.0 사이의 흡광도 피크를 만들 수 있는 정도이다.

¹ 진한 염료액의 흡광도 비는 짧은 광로(0.5 mm)를 가진 셀로 측정할 수 있다.

7.4 해수 시료(셀+해수+ 염료)의 흡광도 측정

셀을 분광광도계로 다시 옮겨서 7.2절 에 사용된 3 파장에서 흡광도를 다시 측정한다. 셀들은 바탕값(baseline)과 지시약 흡수 측정 사이에 일관성을 유지하기 위해 똑 같은 상태로 놓고 재야 한다.

8. 결과의 계산과 제시

8.1 측정된 흡광도의 보정

각각 세 파장들의 염료를 포함하여 측정된 흡광도에서 바탕값 측정(염료없이)의 흡광도를 뺀다.

그에 더해 비흡수 파장에서 측정된 흡광도는 셀 다시 씻기 오류나 기기의 변화 등²으로 발생하는 어떤 바탕값 바뀔을 감시하고 보정하는 데 이용된다. 이것은 관측된 어떤 바탕값 바뀔의 크기는 가시 광선 스펙트럼 내에서 일정하다고 가정하고 있다. 이를 위해 파장 1과 2에서의 배경값-보정 흡광도에서 측정된 바뀔을 빼주어서 각 파장에서 최종 보정된 흡광도를 구한다.

배경값 흡광도와 재졌다면 바탕값 바뀔에 대해 보정된 이들 최종 흡광도 값은 염료의 양성자 공여 정도를 나타내는 흡광도 비 A_1/A_2 를 계산하는데 쓰인다.

8.2 해수 + 염료의 pH 계산

셀 내의 해수와 염료의 pH는 다음 식으로 계산한다.

$$\text{pH} = \text{p}K_2 + \log_{10} \left(\frac{A_1 / A_2 - \epsilon_1(\text{HI}^-) / \epsilon_2(\text{HI}^-)}{\epsilon_1(\text{I}^{2-}) / \epsilon_2(\text{HI}^-) - (A_1 / A_2) \epsilon_2(\text{I}^{2-}) / \epsilon_2(\text{HI}^-)} \right) \quad (7)$$

$\text{p}K_2$ 는 HI^- 의 산 해리상수이고(총수소이온농도 단위 mol kg-soln^{-1} 로 표현됨), A_1 과 A_2 는 염기와 산 형태 각각의 흡광도 최대에 해당하는 파장에서 측정된 보정 흡광도이다. 다양한 소광계수항 ϵ 는 파장 1과 2에서 특정 화학종에 대해 측정된 값들에 각각 일치한다(표 4-7).

² 730 nm에서 바탕값 흡광도(해수만)와 시료 + 염료 흡광도 사이의 차이는 ± 0.001 보다 크면 안 된다. 만일 이 값이 초과하면, 셀을 꺼내 빛 투과창을 깨끗하게 닦고 나서 흡광도를 다시 측정한다.

표 4-7 *m*-cresol purple의 각 화학종의 소광계수 간의 비율.

$\varepsilon_1(\text{HI}^-)/\varepsilon_2(\text{HI}^-)$	0.00691
$\varepsilon_1(\text{I}^{2-})/\varepsilon_2(\text{HI}^-)$	2.2220
$\varepsilon_2(\text{I}^{2-})/\varepsilon_2(\text{HI}^-)$	0.1331

$\lambda_1 = 578 \text{ nm}; \lambda_2 = 434 \text{ nm}.$

평형상수 K_2 는 염분과 온도의 함수이며 신중한 실험실 측정으로 결정되었다³. *m*-cresol purple 에 대해,

$$\text{p}K_2 = \frac{1245.69}{(T/\text{K})} + 3.8275 + 0.00211(35 - S) \quad (8)$$

여기서 $293 \leq T/\text{K} \leq 303$ 그리고 $30 \leq S \leq 37$ 범위에 허용된다.

8.3 염료 주입으로 인한 pH 변화 보정

해수시료에 지시 염료의 첨가는 또 다른 산-염기 계가 첨가된 것이므로 pH를 교란할 것이다. 이를 최소화하기 위해 주의를 해도 (염료액 pH를 조절함으로) 최상의 pH 측정값을 얻기 위해서는 염료 첨가에 대한 보정이 요구된다.

원리적으로 pH 교란은 시료와 염료의 평형 화학에 대한 지식으로 계산될 수 있다 하더라도, 경험적으로 보정의 크기를 평가하는 것이 더 간단하다. 다른 pH값을 가진 염료를 한 벌의 해수 시료에 두 번씩 첨가하고 두번째 지시용액 첨가로 측정된 비(A_1/A_2) 변화는 첫번째 염료 첨가로 측정된 결과로 만든 (A_1/A_2)의 함수에다 최소화방법 (SOP 23 참조)을 적용해서 결정된다.

$$\frac{\Delta(A_1/A_2)}{V} = a + b(A_1/A_2) \quad (9)$$

V 는 매번 주입시킨 염료의 부피이다. 보정된 최종 흡광도 비는

$$(A_1/A_2)_{\text{corr}} = (A_1/A_2) - V[a + b(A_1/A_2)] \quad (10)$$

8.4 계산 예시

$$\begin{aligned} t &= 25^\circ\text{C} \\ S &= 35 \\ \text{p}K_2 &= 8.0056 \end{aligned}$$

³ DelValls and Dickson (1998)는 $\text{p}K_2$ 가 TRIS 완충용액 검정 오차 때문에 오차를 가지게 된다고 주장했지만 권장 보정 절차에는 이 오차를 줄이는 오류가 있을 것으로 생각된다. 이번 $\text{p}K_2$ 값은 Clayton and Byrne (1993)이 제시한 값이다.

그리고 $A_1/A_2 = 1.6$ 인 지시약 용액에 대해,

$$\frac{\Delta(A_1/A_2)}{V} = 0.125 - 0.147(A_1/A_2)$$

측정된 흡광도는:

해수: $A_{434} = 0.02433$; $A_{578} = 0.01936$; $A_{730} = 0.08365$

염료 + 해수: $A_{434} = 0.45123$; $A_{578} = 0.84574$; $A_{730} = 0.08298$

염료 첨가 후,

$$A_1/A_2 = \frac{0.84574 - 0.01936 - (0.08298 - 0.08365)}{0.45123 - 0.02433 - (0.08298 - 0.08365)} = 1.93430$$

염료가 첨가되지 않은 값에 대해 보정하면($V = 0.08 \text{ cm}^3$),

$$\begin{aligned} (A_1/A_2)_{\text{corr}} &= 1.93430 - 0.08[0.125 - 0.147(1.93430)] \\ &= 1.94705 \end{aligned} \quad (11)$$

결과적으로

$$\text{pH} = 8.0056 + \log_{10} \left(\frac{1.94705 - 0.00691}{2.2220 - 1.94705 \times 0.1331} \right) = 8.0005$$

9. 정도 보증

9.1 정도 관리의 일반적인 원리에 대해서는 3장 참조

9.2 분석 정도 관리를 위한 특별 적용

9.2.1 분광광도계 성능

사용된 기기의 분광광도계적 성능은 U.S. National Institute for Standards and Technology (NIST)에서 구할 수 있는 기준 물질을 사용하여 확인할 수 있다. SRM 2034는 분광광도계의 파장 정확성을 측정 하는 밀봉된 cuvette에 들어있는 holmium oxide 용액이다. SRM 930d는 흡광도 측정 정확성을 검증하는 일련의 흡광도 필터들이다. 이들 측정값의 속성 관리도가 관리되어야 하며, 분광광도계는 만일 허용 오차를 벗어나면 조정되어야 한다. (하지만 이번 분석 절차는 분광광도계 성능에서 작은 변화에 그리 민감하지 않다.)

더 중요한 관건은 분광계가 높은 안정성을 가지는 것이다. 이것은 시스템에 일정한 흡광도를 가진 물질들(예, SRM 930d 또는 지시염료를 포함하는 항온 상태의 완충용액) 반복 측정하고 대상 파장에서 표준 편차를 계산함으로써 확인할 수 있다.

9.2.2 정밀도

주의를 기울이면—특히 시료를 취급에 대해—0.001 pH 단위(1 SD)보다 나은 정밀도를 구현할 수 있다. 중복 분석의 결과를 범위 관리도(SOP 22)에 그려 넣도록 한다.

9.2.3 치우침(Bias)

분광광도적인 pH 측정의 치우침(bias)은 다양한 소광계수 비가 측정되는 정확도와 pK_2 값에 부여된 정확도에 좌우된다. 분광광도 측정의 중요한 장점은 만일 더 정확한 정보가 이들 매개변수에 대해 차후에 알려지면 pH 결과는 원래 자료가 가지고 있던 정밀도를 훼손하지 않고 조정될 수 있다는 것이다. 현재 예상되는 치우침은 0.005 pH 단위 보다 작다고 추정된다.

10. 참고문헌

- Byrne, R.H. and Breland, J.A. 1989. High precision multiwavelength pH determinations in seawater using cresol red. *Deep-Sea Res.* **36**: 803–810.
- Byrne, R.H., Robert-Baldo, G., Thompson, S.W. and Chen, C.T.A. 1988. Seawater pH measurements: an at-sea comparison of spectrophotometric and potentiometric methods. *Deep-Sea Res.* **35**: 1405–1410.
- Clayton, T.D. and Byrne, R.H. 1993. Spectrophotometric seawater pH measurements: total hydrogen ion concentration scale calibration of m-cresol purple and at-sea results. *Deep-Sea Res.* **40**: 2115–2129.
- DelValls, T.A. and Dickson, A.G. 1998. The pH of buffers based on 2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol ('tris') in synthetic sea water. *Deep-Sea Res.* **45**: 1541–1554.
- Dickson, A.G. 1993. The measurement of sea water pH. *Marine Chem.* **44**: 131–142.