

# pH 표준완충용액의 유효기간에 미치는 온도의 영향

## The effect of temperature on storage period in pH standard buffer solution

조영호, 이계원(건양대학교)

### 차 례

1. 서론
2. 기기 및 시약
3. 실험방법
4. 결론

■ keyword : | pH 표준완충용액, 온도, 상관성, 유효기간 |

## 1. 서론

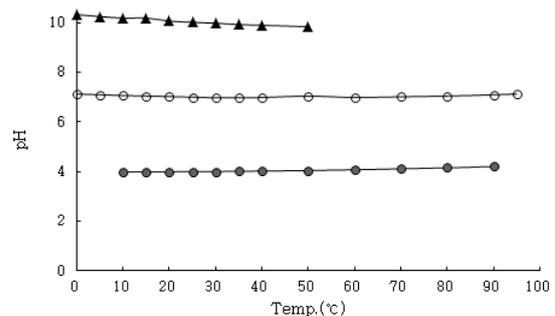
모든 용액은 용액의 산성도를 가늠하는 척도인 pH에 따라  $H^+$ 와  $OH^-$  농도가 동일하면 중성,  $H^+$  농도가 높으면 산성,  $OH^-$  농도가 높으면 알칼리성으로 구분한다. 용액의 수소이온농도는 매우 낮은 값이기 때문에 다음과 같이 수소이온 농도의 역수에 상용로그를 취하거나 상용로그를 취한 값에 마이너스를 붙인 pH라는 용어를 도입해 간단한 숫자로 나타내고 있다[1,2].

$$pH = \log_{10}(1/[H^+]) = -\log_{10}[H^+]$$

이러한 pH는 대략의 액성을 알기 위해서는 pH 시험지를 그리고 구체적인 값을 얻기 위해서는 pH 측정기를 이용하여 간단하게 측정할 수 있다.

일반적으로 pH 측정기를 사용하는 경우 측정되는 pH의 정확도는 교정(Calibration)에 따라 큰 영향을 받으므로 관리가 매우 중요하다 할 수 있다. 따라서 pH를 측정하기 전에, 전극은 사용할 때마다 증류수로 닦아주고, 정션(Junction)을 점검하며, 측정부위인 멤브레인에 이물질이 묻어있는지 여부를 확인하여야만 정확한 교정이 이루어질 수 있다. 이 때 pH 측정범위와 온도 등과 같이 측정범위를 벗어날 경우 기기에 문제가 생길 수 있으므로 주의해야 한다. 또한 pH 전극은 3M 염화칼륨(KCl)의 보관용액에 보관하는 것이 원칙이지만 때에 따라서 표준완충 용액(pH 4.0과 7.0) 혹은 증류수도 사용할 수 있다[3,4].

교정이외에 pH 측정 시, 계통 오차와 우연 오차는 정확도에 영향을 미칠 수 있다. 특히 계통 오차는 사용 기기의 부정확으로 인하여 생길 수 있다. 따라서 본 실험에서는 pH 측정기의 계통 오차를 줄이기 위하여 교정한 후, 기기 전원을 끄지 않고 유지하면서 일정한 조건에서 측정하였을 뿐만 아니라 온도, 습도, 기압 등 환경에 의해 달라지는 환경 오차 및 개인 오차 등을 일정하게 주도록 미리 사전에 정해서 실시하도록 하였다[2,5,6]



▶▶ 그림 1. The change of pH value by temperature in standard buffer solution(pH 4.0, 7.0 and 10.0).

Key: - ● - : pH 4.0, - ○ - : pH 7.0, - ▲ - : pH 10.0

일반적으로 표준 완충용액의 pH는 온도에 따라 변화할 수 있으므로 온도보정을 해서 사용해야 한다[그림 1]. 즉, pH 4.0 표준완충용액의 경우, 10 °C에서 pH는 3.99이었으나 온도가 올라갈수록 증가하여 90 °C에서 4.2까지 증가되는 양상을 나타내었고, pH 7.0 표준완충용액의 경우, 0에서 30 °C까지는 7.12에서 6.97로 pH가 낮아졌

으나, 그 이후에는 증가하여 95 °C에서는 7.12까지 증가하는 양상을 나타내었다. 또한 pH 10.0 표준완충용액은 0 °C에서 pH 10.32로 가장 높았으나, 온도가 증가할수록 큰 폭으로 감소하여 50 °C에서는 pH 9.83을 나타내어 세 가지 표준완충용액 중 온도의 영향을 가장 많이 받는 것으로 관찰되었다[5,6].

그림 1에서 알 수 있듯이 pH 표준완충용액의 pH는 보관조건에 따라 달라질 수 있으므로 사용할 때 온도를 따로 기입하여 그 기준을 정해야 한다. 이들 표준완충용액의 유통기간은 2년으로 동일하지만 유효기간은 완충용액의 종류에 따라 달라서 pH 4.0과 7.0 표준완충용액은 3개월, pH 10.0 표준완충용액은 1개월 정도 사용이 가능하다고 알려져 있다. 또한 pH 표준완충용액의 보관 권장 온도는 실온(15~30 °C/60~90 °F)과 냉장 온도(2~8 °C/35~45 °F)의 두 가지를 규정하고 있으나 정확하게 근거를 제시하지 않고 있다[7,8]

현재 pH 측정기의 계통오차를 줄이기 위해 교정에 사용하고 있는 표준완충용액에 대해서 정확한 보관 조건과 사용기간에 대한 연구는 이루어지지 않고 단지 사용자나 사용기관의 습관 또는 관례에 따라 완충용액을 소분하거나 전체를 꺼내어 1개월 이상까지 기준 없이 무작위로 사용이 이루어지고 있는 실정이다. 따라서 이에 대한 정확한 판단 기준의 요구가 필요하다고 할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 pH 측정기의 교정에 주로 이용되어지고 있는 pH 4.0, 7.0 및 10.0의 세 가지 표준완충용액을 3, 실온, 30 및 40 °C에 보관하면서 정해진 기간에 따라 pH 및 외관상의 변화 여부를 측정하여 최적의 보관 조건과 유효기간을 설정하여 pH 측정기의 교정용 표준완충용액에 대한 유효성을 입증할 수 있는 데이터를 확보하고자 하였다.

## 2. 기기 및 시약

기기로는 pH meter(720P, Istek, Korea)와 냉장고(GC-114 HCMP, LG, Korea)를 사용하였다. 또한 건조기는 Samhyeung사의 SH-FDO 360과 Shinsaeng사의 SFC-302를 사용하였다.

시약으로는 pH 표준완충용액(pH 4.0, 7.0 및 10.0)은 Daejung(Korea)사에서 구입하여 사용하였다.

## 3. 실험방법

### 3.1 pH 측정기의 교정

먼저 세 가지 pH 표준완충용액(pH 4.0, 7.0 및 10.0)을 개봉하여 pH 측정기를 교정하였다. 이 때 모든 pH 표준완충용액은 온도의 변화를 최소화하기 위해 상온에서 온도를 안정화한 다음 교정을 실시하였다. 즉 사용기기의 교정방법에 따라 pH 4.0, 7.0 그리고 10.0의 표준완충용액의 순서로 교정을 실시하였다. 교정 후, pH 7.0 표준완충용액의 pH를 측정하여 교정이 정확하게 이루어졌는지 확인하여 이후 실험을 진행하였다.

### 3.2 보관조건에 따른 pH 변화

교정에 사용하는 pH 표준완충용액의 유효기간을 설정하기 위하여 세 가지 표준완충용액 10 ml씩 취하여 바이알에 넣은 후, 3, 실온, 30 및 40 °C에 보관하면서 35일 동안 정해진 기간에 따라 pH 변화와 침전의 유무를 관찰하였다. 이 때 온도에 의한 영향을 최소화하기 위해 보관조건에서 꺼낸 바이알은 상온이 되게 일정시간 동안 방치한 후, pH를 측정하였다.

실험기간 동안 pH 측정에 사용하는 pH 측정기는 교정한 후, 전원을 끄지 않고 유지하면서 일정한 조건에서 측정할 수 있도록 하여 계통오차를 줄이도록 하였다. 또한 온도, 습도, 기압 등 환경에 의해 달라지는 환경 오차 및 개인 오차 등을 일정하게 주도록 미리 사전에 정해서 실시하도록 하였다[2,4]

### 3.3 자료 분석 및 통계처리

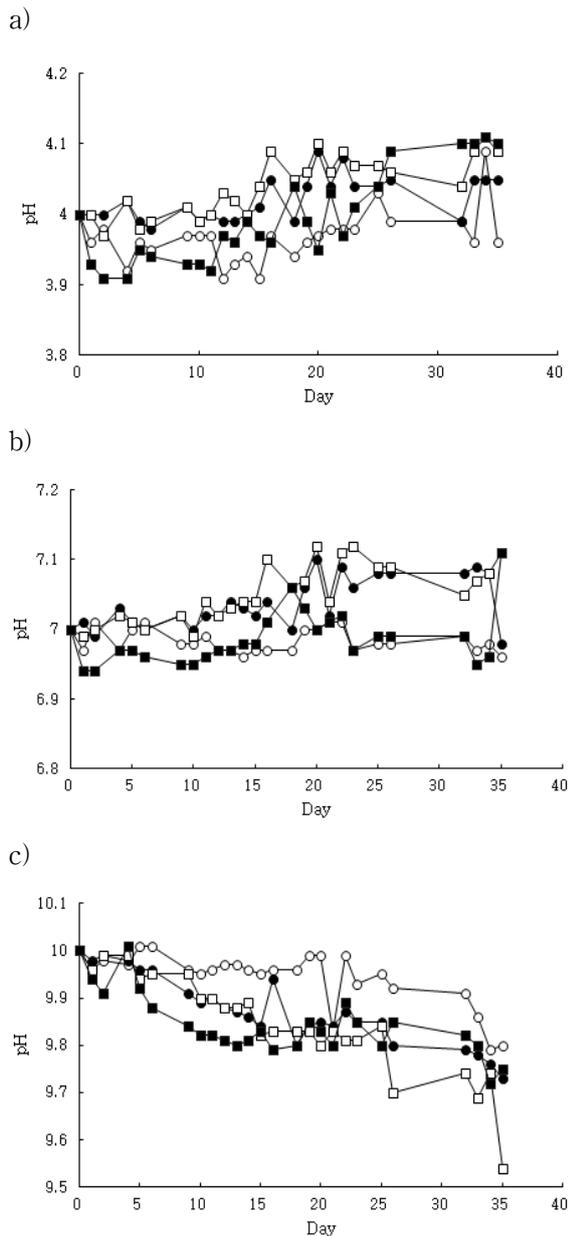
모든 실험 결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, 보관온도와 pH 변화의 통계적 유의성 검증은 SPSS10.8(SPSS Inc., IL, USA)을 이용한 one-way ANOVA로 하였으며, p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 보관조건에 따른 pH 변화

보관조건에 따라 세 가지 표준완충용액(pH 4.0, 7.0 및 10.0)의 pH 변화를 35일 동안 관찰하여 그림 2에 나타내었다.

pH 4.0 표준완충용액은 3 °C와 실온에서는 거의 변화 없이 일정하게 유지되었으나 40 °C에서 25일 이후에 pH가 약간 상승하여 4.1의 값을 나타내었다. 일반적으로 pH 4.0 표준완충용액을 3, 실온, 30 및 40 °C에서 보정해준 pH 값은 각각 pH 3.99, 4.00, 4.00 및 4.02이므로 40 °C를 제외한 3 °C, 실온 및 30 °C에서는 35일 동안 pH나 외관상의 변화가 일어나지 않고 안정하였다.



▶▶ 그림 2. The pattern of pH value change in three standard buffer solution(pH 4.0(a), 7.0(b) and 10.0(c)) at various storage condition(Mean±SD, n=3)

key : -○- : 3 °C, -●- : RT, -□- : 30 °C, -■- : 40 °C

일반적으로 pH 7.0 표준완충용액을 3, 실온, 30 및 40 °C에서 보정해준 pH 값은 각각 7.06, 7.00, 7.00 및 7.02이다. 3 °C에서는 관찰기간동안 pH 7.0에 근접한 값을 나타내었으나 실온과 30 °C에서는 18과 16일 이후부터 7.1 정도로 증가하였다. 또한 40 °C에서는 처음부터 pH의 변동이 심하게 나타나는 양상을 보여 pH 4.0 표준완충용액보다는 불안정하였다. 그러나 모든 조건에서 35일 동안 외관상의 변화는 일어나지 않았다.

이러한 결과는 pH 7.0 표준완충용액은 온도의 보관 조건에 따라 영향을 많이 받을 수 있다는 것을 간접적으로 나타내 주는 것으로 가능하면 온도를 3 °C에서 보관하는 것이 적당하다고 사료된다.

일반적으로 pH 10.0 표준완충용액을 3, 실온, 30 및 40 °C에서 보정해준 pH 값은 각각 10.18, 10.00, 9.95 및 9.85이다.

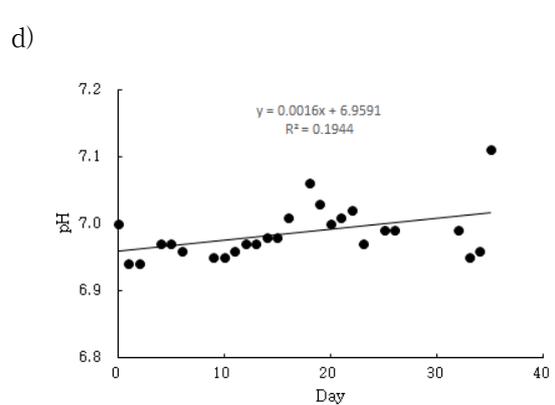
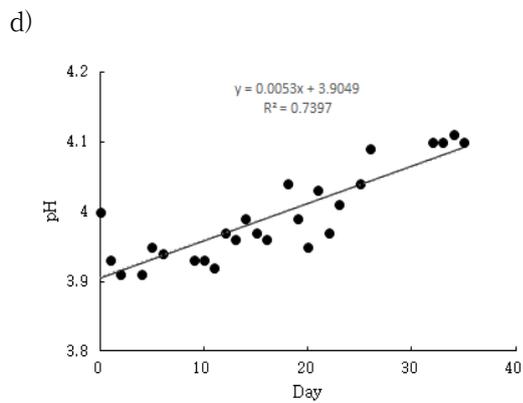
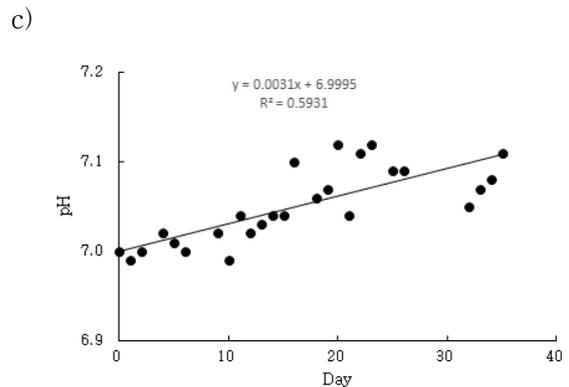
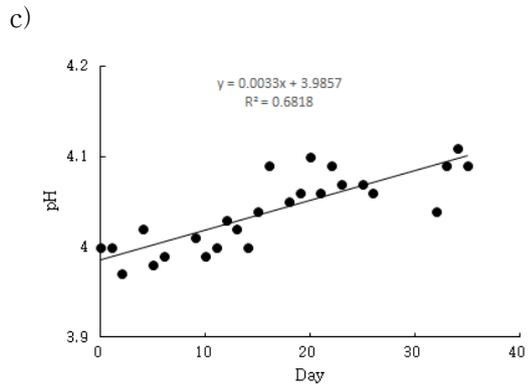
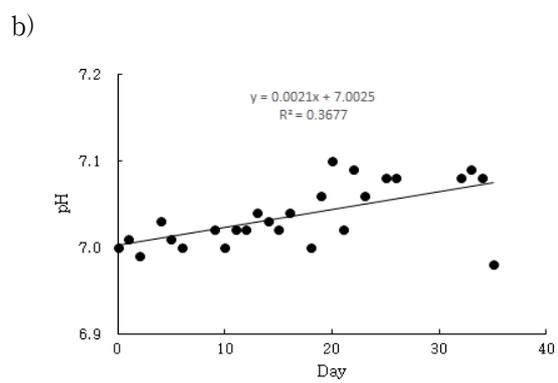
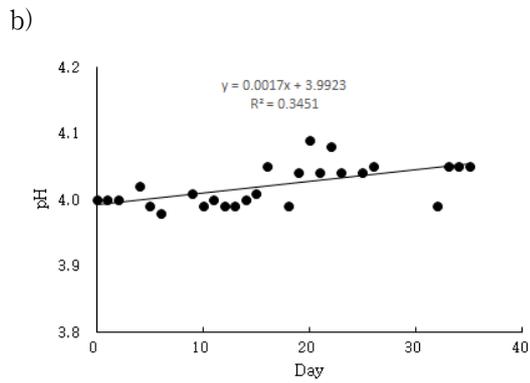
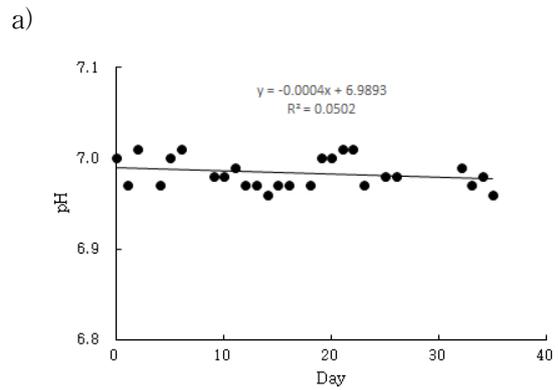
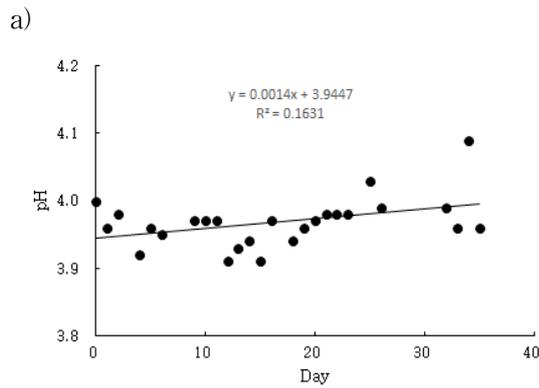
pH 10.0 표준완충용액은 3 °C와 상온에서 초기에는 pH 10.0에 일정하게 측정되다가 21과 9일에 각각 9.8과 9.91로 크게 감소하였다. 30 °C에서 점점 감소하여 10일에 pH 값은 9.90이었고, 40 °C에서 2일부터 오차가 발생하여 변동이 심하였다. 일반적으로 pH 10.0 이상의 알칼리 표준완충용액의 유효기간은 공기 중의 이산화탄소와 접촉할 때 변성이 일어날 수 있어 1개월이라고 알려져 있다. 문헌의 결과[8]에서와 동일하게 본 연구의 결과에서도 다른 두 가지의 표준완충용액에 비해 유효기간이 훨씬 짧은 것을 알 수 있으며 유효기간은 3 °C에서 보관할 경우 20일 정도 유효성이 확보된다고 할 수 있다.

결론적으로 pH 4.0 표준완충용액은 보관 조건에 따라 영향을 거의 영향을 받지 않지만 pH가 높은 7.0과 10.0 표준완충용액은 보관조건에 따라 영향을 받을 수 있으므로 가능한 한 낮은 온도에서 보관하며 pH의 변화를 확인하여 유효기간을 정확히 설정하여 사용하는 것이 적당하다고 사료되어진다.

### 3.2 보관조건과 pH 변화의 상관성 분석

세 가지 pH 표준완충용액을 3, 실온, 30 및 40 °C의 네 가지 보관조건에서 35일 동안 측정되어진 pH 변화의 양상을 이용하여 보관조건이 pH 변화에 미치는 영향을 신뢰수준 95%에서 분석하여 그림 3, 4 및 5에 각각 나타내었다.

pH 변화의 양상에서도 나타난 바와 같이 pH 4.0 표준완충용액은 40 °C를 제외한 세 가지 보관 조건에서 0.7

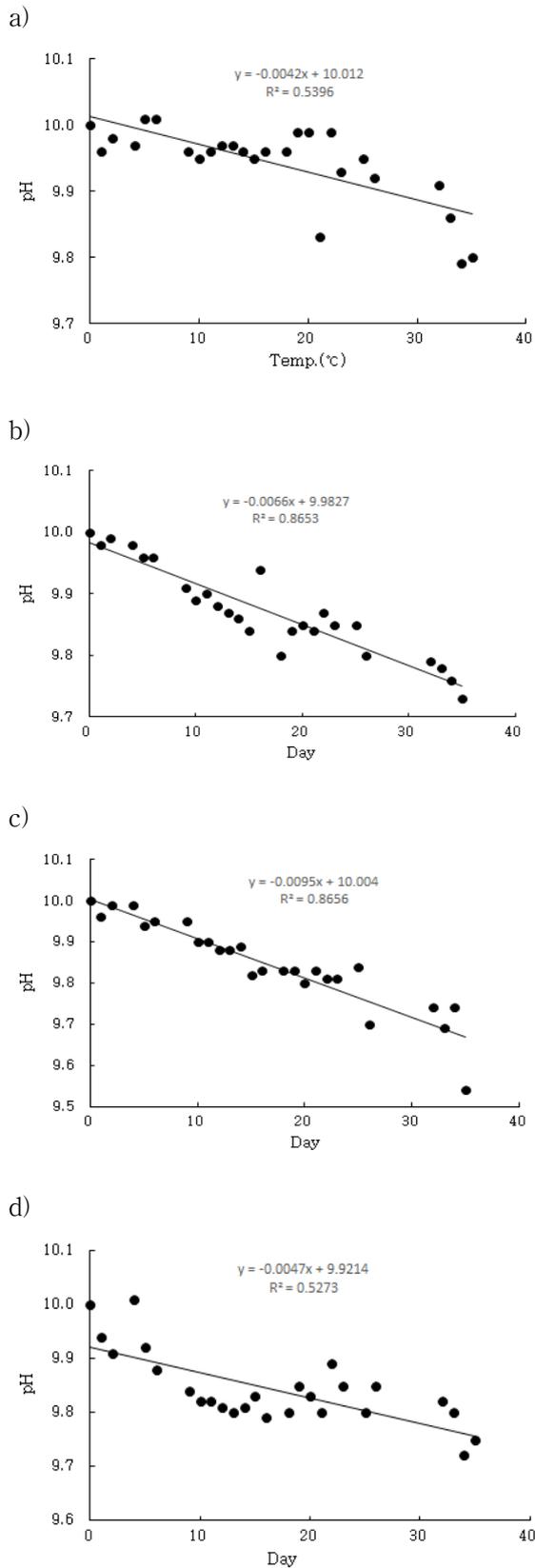


▶▶ 그림 3. Correlation relationship of pH 4.0 standard buffer solution and storage temperature ( $P < 0.05$ ).

Key : (a) 3 °C, (b) RT, (c) 30 °C, (d) 40 °C

▶▶ 그림 4. Correlation relationship of pH 7.0 standard buffer solution and temperature ( $P < 0.05$ ).

Key : (a) 3 °C, (b) RT, (c) 30 °C, (d) 40 °C



▶▶ 그림 5. Correlation relationship of pH 10.0 standard buffer solution and temperature( $P < 0.05$ ).  
Key : (a) 3 °C, (b) RT, (c) 30 °C, (d) 40 °C

이하의 상관 계수를 나타내어 35일 동안 사용하여도 유효성이 확보되었다. 그러나 40 °C에서는 상관계수가 0.7397로 온도에 영향을 받는 것으로 관찰되었다. 따라서 pH 4.0 표준완충용액은 3, 실온 및 30 °C에서 30일 정도 유효성을 가지고 사용할 수 있을 것으로 기대되어진다[그림 3].

pH 7.0 표준완충용액은 변화 양상 그래프에서는 보관 온도에 따라 변동이 심했으나 실제로 모든 온도에서 상관계수가 0.7이하이었다. 따라서 전체적으로 온도에 영향을 받지 않는 것으로 나타났다[그림 4].

pH 10.0 표준완충용액은 3과 40 °C에서는 관찰기간 동안 pH 변화와 상관성이 없는 것으로 나타났다. 그러나 실온과 30 °C에서는 상관계수가 각각 0.8653과 0.8656으로서 온도의 영향을 받는 것으로 관찰되어져 다른 표준완충용액과 비교하였을 때 보관에 신경을 써야 된다고 사료되어진다. 본 연구에서는 40 °C에서 상관성이 없는 것으로 나타났으나 이는 실험자의 오차나 편차가 심하여 나타나는 현상으로 사료되어지므로 가장 바람직한 보관 온도는 3 °C라고 판단되어진다[그림 5].

결론적으로 세 가지 pH 표준완충용액은 3 °C에서 보관하면서 1개월 정도 pH의 변화를 관찰하며 사용하는 것이 바람직하다고 사료되어진다.

#### 4. 결론

pH 측정기 교정에 주로 이용되어지고 있는 pH 4.0, 7.0 및 10.0의 세 가지 표준완충용액을 3, 실온, 30 및 40 °C에 보관하면서 정해진 기간에 따라 pH 및 외관상의 변화 여부를 측정하여 표준완충용액에 대한 최적의 보관 조건과 유효기간을 설정할 수 있는 데이터를 확보하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. pH 4.0 표준완충용액은 보관 조건에 크게 영향을 받지 않았으나 40 °C에서는 0.7397의 상관계수를 나타내었다.
2. pH 7.0 표준완충용액은 30과 40 °C에서 pH의 변동이 심하였으나 상관성은 관찰되지 않아 영향을 받지 않았다.
3. pH 10.0 표준완충용액은 3 °C를 제외한 모든 온도 조건에서 높은 상관계수를 나타내어 영향을 받았다.

이상의 결과를 바탕으로 pH 측정기의 교정용 pH 표준 완충용액은 3 ℃에 보관하면서 1개월 정도 pH의 변화를 관찰하며 사용하는 것이 바람직하다고 사료되어진다.

### 참고 문헌

- [1] S. S. Zumdahl, Chemistry 3rd Edition. D.C. Heath & Co., pp. 645. 1993년
- [2] 정량분석화학 분과회, 약품정량분석, pp. 19-20. 2001년
- [3] Principles and problems of pH measurement. Ingold Messtechnik AG, 1980, pp. 22, 1980년
- [4] H. Galster, "pH Measurement: Fundamentals, Methods, Applications, Instrumentation". VCH Publishers Inc., pp. 159, 1991년
- [5] Guide to pH measurement. Mettler Toledo, pp. 10, 1997년
- [6] Orion US pH Electrode Catalog and Guide to pH Measurement. pp. 3, 1986년
- [7] S. Russell. pH - A guide to measurement in water applications. WRc Instrument Handbook, 1994, p13.
- [8] J.J. Barron, C. Ashton and L. Geary, The Effects of Temperature on pH Measurement, pp.1-7, 2006년.

### 저자 소개

#### ● 조 영 호(Yong-Ho Cho)



- 1991년 2월 : 대구대학교 공과대학 공학사 (생물공학)
- 1993년 2월 : 건국대학교 축산대학 농학석사 (생화학)
- 2004년 2월 : 대구대학교 공과대학 공학박사 (생물공학)

▪ 2007년 3월 ~ 현재 : 건양대학교 제약생명공학과 부교수

<관심분야> : 기능성 화장품 소재 및 화장품 개발, 피부 면역 증진 소재 및 제형 개발, 난용성 생리활성 물질의 가용화 기술 및 제제 개발

#### ● 이 계 원(Gye-Won Lee)



- 1989년 2월 : 충남대학교 약학대학 약학사
- 1992년 2월 : 충남대학교 약학대학 약학석사 (약제학)
- 1995년 8월 : 충남대학교 약학대학 약학박사 (약제학)
- 2002년 3월 ~ 현재 : 건양대학교 제약공학과 부교수

<관심분야> : 약물 전달 시스템(DDS), NLC, 약물의 가용화 및 나노제제 기술, Method validation development