

Portable titrator equipped spectroscopic detectors; Spectrator

Jiwon Shin¹, Gyoyoon Chae¹, Yeajin Kim¹, Sangho Kim², Yoonsu Chae², and Won-Seok Chae^{1,2,*}

¹Division of Life-Science and Chemistry, Daejin University, Pocheon, Gyeonggi 11159, Korea

²R&D Division, Sciagro Co. Ltd., Pocheon, Gyeonggi 11158, Korea

(Received December 20, 2021; Revised January 2, 2021; Accepted January 7, 2021)

분광학적 검출기가 내장된 휴대용 적정기: 스펙트레이터

신지원¹ · 채교윤¹ · 김예진¹ · 김상호² · 채윤수² · 채원석^{1,2,*}

¹대진대학교 생명화학부, ²주식회사 과농 연구개발부
(2020. 12. 20. 접수, 2021. 1. 2. 수정, 2021. 1. 7. 승인)

Abstract: During titration, several chemical reactions result in changes not only in the potential of chemicals, but also in the colors of the indicator. In a potentiometric titration, a titration curve is obtained by measuring the abrupt change in the potential at the endpoint. Generally, acid–base titration is performed by observing the color change caused by an indicator to determine the endpoint. The method of determining the endpoint by measuring the potential difference has been well established and commercialized; however, the devices that can obtain the endpoint by observing the color change are limited. Consequently, in this study, a simple and precise spectral endpoint detector was manufactured using a drop-counter comprising an infrared emitter and a phototransistor, a white light LED as the light source and photodetector, and an analog-to-digital converter (Arduino). Spectrator, a new named, showed excellent results in terms of the reproducibility of acid–base titration using thymol blue as an indicator. Herein, we present the results of the Spectrator-manufacturing process as well as the experimental results.

요약: 적정 화학반응에는 화학종의 전위차 변화뿐만 아니라 지시약의 색깔 변화도 포함된다. 전위차 적정에서는 종말점에서 전위의 급격한 변화를 측정하여 적정 곡선을 얻는다. 산-염기 적정은 일반적으로 지시약의 색 변화를 관찰하여 종말점을 결정함으로써 수행된다. 전위차를 측정하여 종말점을 결정하는 방법은 잘 확립 되어 상용화되어 있지만 색의 변화를 관찰하여 종말점을 얻는 장치는 많지 않은 실정이다. 적외선 광원과 감지기로 적정액 방울을 계수하고, 백색광원과 광 검출기로 종말점의 변색을 감지하여 아날로그-디지털 변환기인 아두이노 (Arduino)가 적용된 간단하고 정밀한 스펙트럼 종말점 검출 기구를 제작하였다. Spectrator는 지시약으로 티몰 블루를 사용한 산-염기 적정에서 재현성 측면에서 우수한 결과를 보였다. Spectrator 제작 과정과 이를 사용한 실험결과를 공유한다.

Key words: Titration, end-point, spectroscopic determination, portable titrator

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)31-539-1844 Fax : +82-(0)31-532-7714

E-mail : wschae@daejin.ac.kr

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서 론

적정(titration)은 시료의 농도를 결정하기 위하여 사용되는 정량적인 화학분석 방법이다. 1729년 Geoffroy에 의해 적정이 시작되었으므로 약 300년의 역사를 갖고 있다.^{1,2} 적정에서는 1차 표준물질로 제조되어 농도와 부피를 알고 있는 용액이 필요하고 시료 용액과 뷰렛(buret) 및 반응의 종결을 확인할 수 있는 지시약 또는 감지기가 필요하다. 지시약은 산-염기 반응, 산화-환원 반응, 금속이온 반응 등의 종류에 따라 다양한 변색시약이 사용되고 있으며, 감지기로는 수소이온 농도(pH)를 감지하는 pH-전극 또는 산화-환원 전위를 감지하는 ORP-전극(oxidation-reduction electrode)이 가장 일반적으로 적용되며 공통적으로 Nernst 식³이 반영되었다. 지금까지 지시약을 반응종결 확인용으로 사용했을 때 육안에 의한 변색지점을 확인하면서, 정밀한 실험 결과를 얻기 위하여 뷰렛의 stopcock을 조심스럽게 조절하여 종말점(end-point)을 결정하였다. 적정장치의 자동화를 위하여 종말점 감지기로 pH-전극 또는 ORP-전극이 장착된 자동 적정기가 많이 사용되고 있으며, 최근에 용액의 변색 또는 탁도 등의 변화를 감지하는 분광 감지기가 개발되어 사용되고 있다.⁴

적정은 간단한 화학지식과 간편한 기구를 사용하여 농도를 결정할 수 있는 보편화된 화학분석방법이다. 과학 및 산업 현장에서 널리 사용되고 있는 적정은 육안에 의존하는 수동적정과 감지기가 장착된 자동적정의 사용으로 구분된다. 자동적정의 사용은 실험자에 의한 오차를 최소화할 수 있으며, 많은 시료를 자동으로 정량 분석할 수 있는 화학분석 기기이다. 그러나 고가의 장비이며 감지기의 유지관리가 쉽지 않고 감도의 변화로 인한 주기적 교체가 필요한 실정이다. 종말점을 자동으로 결정하는 pH-전극과 ORP-전극은 전위차를 측정하기 때문에 지시전극과 기준전극의 상태를 주기적으로 점검해야 되며, 시료용액의 액성 및 침전물 등에 의해 지시전극의 표면상태가 변하거나 기준전극의 다공성 막이 오염되기 때문에 측정값에 변화가 생길 수 있다.⁵⁻⁶ 자동적정의 구성 요소 중에 적정액 주입에 필요한 정량펌프의 장착이 요구되기 때문에 환경오염도에 대한 현장에서의 화학분석을 위하여 적정법을 적용할 목적의 휴대용 제작에 많은 한계가 있다.

본 연구에서는 보편적으로 사용되고 있는 지시약의 변색으로 종말점에서 용액의 색깔이 변하는 시점을

분광학적 광-감지기에 의해 자동으로 감지하여 종말점을 결정할 수 있으며, stopcock의 개방에 의해 적정액이 자유낙하 하여 시료와 혼합되어 반응에 참여할 수 있는 새로운 적정기(Spectrator)에 대한 개발내용과 이를 이용하여 얻은 실험결과를 논의하고자 한다.

2. 실 험

2.1. 시약

산-염기 적정실험을 위해 사용된 시약은 일양성자 산으로 potassium hydrogen phthalate (KHP) (99.95 %, SIGMA-ALDRICH)이고, 이양성자 산은 oxalic acid (OA) (99.0 %, SIGMA-ALDRICH), 삼양성자 산은 citric acid monohydrate (CA) (99.0 %, SIGMA-ALDRICH)로 정제과정을 거치지 않고 오븐(110 °C)에서 10시간 건조 후 사용하였다. 적정액은 5 N-sodium hydroxide (NaOH) standard solution (DAEJUNG)을 저장용액으로 구입하여 희석 후 사용하였으며, 지시약은 thymol blue (TB) (SAMCHUN)를 사용하였다. 용액 제조와 희석에 사용된 증류수는 HPLC 물(DAEJUNG)이다.

2.2. 기구 제작

적정 시스템을 갖추기 위하여 stopcock 밸브와 주사기 바늘 (gauge 25G; ID 0.32 mm, OD 0.81 mm)이 연결된 5-mL Luer lock 주사기에 적정액을 담았으며, 시료와 지시약은 10-mL 유리 시험관에 자석젓개 (4 × 10 mm)와 함께 넣었다. 시험관 속에 자석젓개의 회전을 위하여 소형 12 V 직류 모터를 기구의 하단에 위치시켰다. 제작 전 기구의 도면과 제작 후의 기구 사진을 Fig. 1에 나타내었다. Luer stopcock 밸브를 개방하면 주사기 바늘을 통하여 용액의 작은 방울이 떨어지며, 한 방울의 부피를 결정하기 위하여 밸브 개방 전후의 질량과 방울 수를 측정하여 한 방울의 질량을 측정하고 실험온도와 밀도 값으로부터 부피를 결정하였다. 적정액 방울의 개수와 질량과의 상관관계를 확인하기 위하여 소형 로드 셀 (micro load cell-CZL639HD, Phidgets Inc., Canada)과 증폭기 (Qwiic Scale-NAU7802, SparkFun Electronics, USA)를 적용하여 변화를 관찰하였으며, 결과를 Fig. 2에 나타내었다.

방울을 감지하는 기구는 IR-emitter (QED223, ON Semiconductor, USA)와 phototransistor (QSD123, ON Semiconductor, USA)을 적용하였다. 적정 반응에 의한 지시약의 변색 순간을 감지하기 위한 광원으로 백색 광 LED (C513A-MSS-CW0Z0132, CREE, USA)를 사

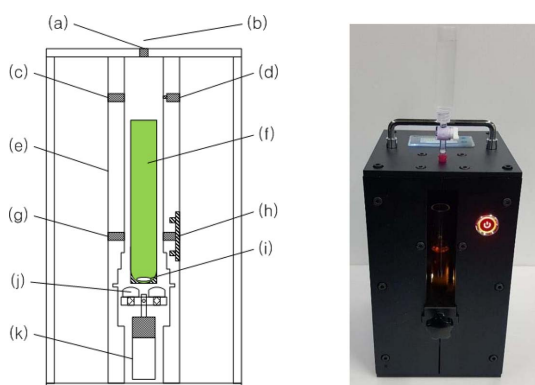


Fig. 1. The schematic explanation and picture of Spectrator as a spectroscopic titrator. (a) Luer lock needle holder, (b) titrant in 5-mL syringe, (c) IR emitter, (d) phototransistor, (e) anodized Al-frame, (f) 10-mL test tube, (g) LED-warm white, (h) 6-channels visible light color sensor, (i) 10-mm magnetic stirring bar, (j) magnets N & S, (k) DC 12 V motor

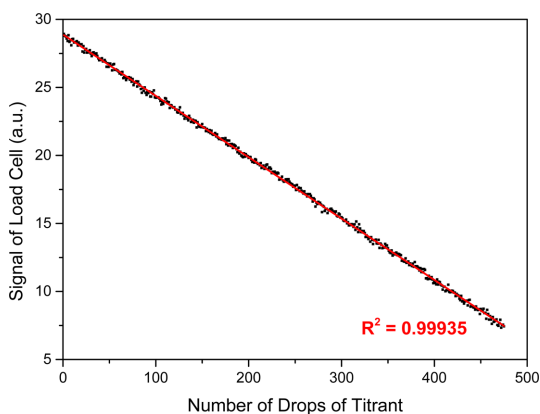


Fig. 2. Response of a load cell in dropping through a 25G-flexible needle from a syringe barrel containing 0.50 M NaOH solution.

용하고, 종말점에서 변색되는 순간을 감지하기 위하여 6채널 가시광선 센서(AS7262, Adafruit, USA)를 이용하였다. 가시광선 센서는 6개 파장의 광량을 디지털 신호로 출력하며 각각 450, 500, 550, 570, 600, 그리고 650 nm이다.

적외선 감지와 가시광선 감지 센서로부터 나오는 신호는 Arduino(Uno, Arduino. cc, Italy)를 사용하여 얻었으며 개방 프로그램을 이용하여 프로그래밍하였다. Arduino로부터 출력되는 신호는 PLX-DAQ(Parallax, USA) 프로그램을 사용하여 저장하였다. 기구에 적용된 부품은 직류 5 V와 12 V에 의해 구동되므로 충전이 가능한 13.3 V 인산철 배터리가 적용되었고, 직류

모터를 구동하였으며 안정된 5 V 전압을 얻기 위하여 전압변환기가 사용되었다.

3. 결과 및 고찰

적정에서 중요한 인자는 적정액의 부피이다. 정량적인 화학반응은 몰 비의 반응이므로 용액의 몰 농도는 화학양론적으로 정량분석에 이용되기 때문이다. 그러나 기존 수동적정에서 일반적으로 사용되는 수직형 뷰렛의 경우에 1-mL의 용액이 형성하는 방울 수는 10~60 방울로 알려져 있다. 부피로 환산하면 0.0167~0.1 mL (16.7~100 μ L)에 해당된다. 뷰렛의 용량과 뷰렛 tip의 크기에 따라 다르겠지만 50-mL 뷰렛의 경우에 ~50 μ L를 일반적으로 적용하고 있다. 본 연구에서는 5-mL의 주사기에 담겨 있는 적정액이 stopcock 개방에 의해 25G의 바늘을 통과하여 방울을 형성하고 떨어지는 방울의 부피를 결정하였다. 이를 위하여 개방 전 적정액의 질량을 측정기록하고 stopcock 개방으로 적정액이 떨어진 후에 질량의 차이와 방울 수를 계측하여 1-방울의 질량 값을 얻고 실험온도와 밀도로 환산하여 부피를 결정하였다. Fig. 2는 본 연구에서 제작한 방울 감지기와 로드 셀로부터 얻은 신호변화이다(방울 감지기가 장착된 로드 셀 제작에 대한 과정은 생략함). 적외선 감지에 의해 방울을 감지하고 그 순간의 로드 셀 신호를 읽어 저장한 결과로서, 주사기에 연결된 stopcock 개방과 함께 적정액이 주사기 바늘 끝에 방울을 형성하고 일정 크기가 되었을 때 바늘 끝에서 떨어지며 감지기가 방울 수로 카운트하고 동시에 로드 셀의 신호를 저장하게 된다. 방울이 많아질수록 방울수는 양의 값으로 증가하였으나, 로드 셀의 신호는 음의 값으로 감소하였는데 이러한 이유는 적정액 방울 수 증가에 의한 질량증가로 로드 셀의 탄성체를 변형(비틀림)시켜 전기 저항의 변화를 야기하였고, 측정된 전류 값을 질량으로 환산하지 않고 저장하였기 때문이다.

Fig. 2는 5-mL 주사기에 적정액을 7.1236 g 넣고 stopcock을 개방하여 475 방울이 떨어질 때까지의 로드 셀 신호를 저장한 결과이다. 적정액의 방울 수와 로드 셀의 신호에 대한 결정 계수 (R^2)는 0.99935를 확인되었다. 적정액인 0.50 M NaOH 용액의 밀도 1.02 g/mL (20 $^{\circ}$ C)⁷⁻⁸를 적용하면 용액의 부피는 6.9839 mL이며, 1-방울의 부피는 0.014703 mL (14.703 μ L)의 결과로 얻어진다. 같은 방법으로 반복 실험하여 오차범위와 유효숫자 범위에서 사용된 적정기 1-방울의 부피

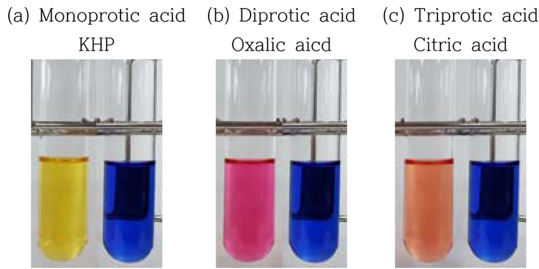


Fig. 3. Color-changes of thymol blue at before (left) and after (right) end-point in (a) KHP, (b) oxalic acid, and (c) citric acid.

는 15 μ L로 결정하였다.

본 연구에서는 산-염기 중화반응 적정을 통하여 제작된 적정기의 유효성과 정밀도를 확인하였다. 이를 위하여 일, 이, 삼양성자 산으로 KHP, OA, CA를 각각 사용하여 0.10 M 용액으로 준비하고 적정액으로 0.50 M NaOH 용액을 마련하기 위하여 저장 용액인 5 N NaOH를 10배 희석하여 준비하였다. 0.50 M NaOH 적정액의 표준화는 건조된 1차 표준물질 KHP를 정밀하게 칭량하여 5회 반복한 평균값으로 결정되었으며, 표준화된 NaOH의 농도는 0.4978 M이다. 지시약은 TB를 0.04% 용액⁹으로 제조하였으며, 실험 전후에 색깔 변화를 Fig. 3에 나타내었다. TB는 변색 pH 범위가 두 곳으로써 pH 1.2~2.8 부근에서 red \rightarrow yellow 변화와 pH 8.0~9.6 부근에서 yellow \rightarrow blue 변색이 일어나는 지시약이다. Fig. 3은 TB지시약의 종말점 전후에 대한 변색으로 Fig. 3의 (a) KHP는 노란색 \rightarrow 파란색, (b) OA는 빨간색 \rightarrow 파란색, (c) CA는 오렌지색 \rightarrow 파란색으로 변색되었다. 종말점 이전에 지시약의 색깔이 다른 이유는 실험에 사용된 KHP, OA, CA의 산 해리 상수(K_a)가 각각 3.91×10^{-6} , 5.6×10^{-2} , 7.4×10^{-4} 이므로 같은 몰농도의 용액이라도 각기 다른 pH를 갖기 때문이다. 각 용액의 pH 측정 결과는 4.09(KHP), 1.48(OA), 2.15(CA)로써 TB의 pH에 따른 색깔과 일치하는 결과를 나타내었다. 가시광선 감지 센서는 6개 파장의 광량을 각각 신호로 출력하므로 본 연구에서 사용한 지시약이 종말점에서의 푸른색으로 변색되기 때문에 그에 대한 보색¹⁰ 파장인 600 nm의 신호 값에서 가장 급격한 변화를 나타내었다. 다른 파장에서 얻은 신호 데이터는 나타내지 않았다.

Fig. 4부터 Fig. 6까지는 일, 이, 삼양성자 산에 대한 NaOH 적정곡선과 1차 미분 결과이다. x-축은 적정용액인 0.50 M NaOH 용액의 적정된 부피이고 y-축은 가시광선 감지기의 신호 값(Fig. 4~6(a))과 그에

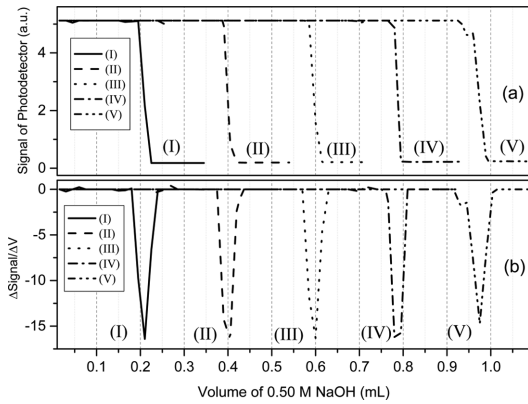


Fig. 4. Titration curves of monoprotic acid (0.10 M KHP) titrated with 0.50 M NaOH, when the volume of 0.10 M KHP is (I) 1 mL, (II) 2 mL, (III) 3 mL, (IV) 4 mL, and (V) 5 mL.

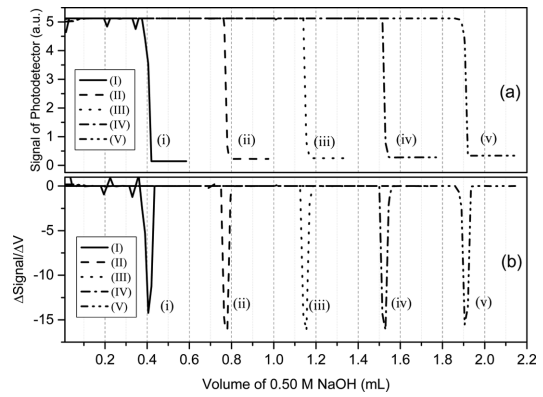


Fig. 5. Titration curves of diprotic acid (0.10 M oxalic acid) titrated with 0.50 M NaOH, when the volume of 0.10 M oxalic acid is (I) 1 mL, (II) 2 mL, (III) 3 mL, (IV) 4 mL, and (V) 5 mL.

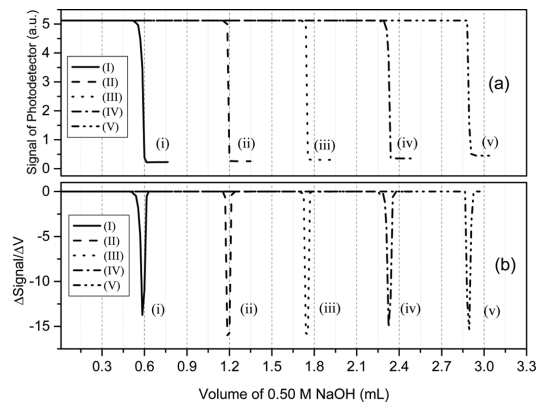


Fig. 6. Titration curves of triprotic acid (0.10 M citric acid) titrated with 0.50 M NaOH, when the volume of 0.10 M citric acid is (I) 1 mL, (II) 2 mL, (III) 3 mL, (IV) 4 mL, and (V) 5 mL.

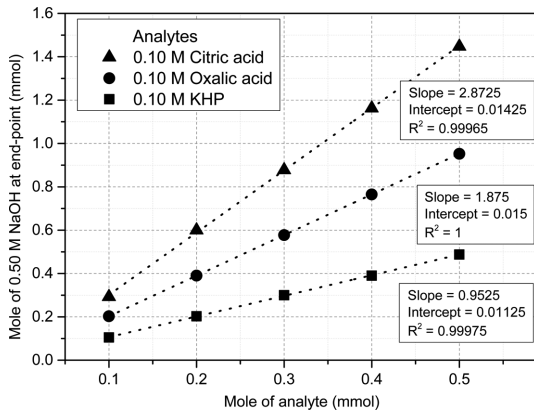
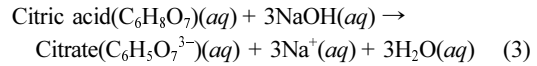
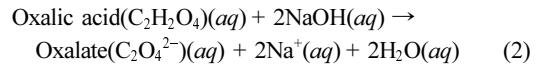
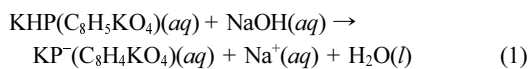


Fig. 7. Relationships between moles of analyte and titrant.

대한 1차 미분 값 (Fig. 4~6(b))이다. 적정액으로 NaOH를 사용하고 지시약으로 TB를 사용한 산-염기 적정곡선에서 시료가 산성이기 때문에 노란색, 붉은색, 또는 오렌지색을 갖고 있으며 이때 600 nm 파장의 빛은 모두 통과하여 가시광선 감지기의 신호는 최대 값을 나타내었다. 시료인 산의 부피를 각각 정량적으로 1~5 mL까지 넣고 최종부피를 증류수를 사용하여 5 mL로 일치시켰으며, 각각에 TB 지시약은 스포이드를 사용하여 3~5방울 첨가하였다. 주사기 stopcock 개방 전에 시험관의 자석젓개에 의해 1분 동안 용액은 균일하게 혼합되었으며, 개방에 의해 적정액 방울이 떨어졌고 적외선 감지기에 의해 방울을 감지하고 감지한 순간(1000 ns)에 가시광선 감지기의 신호를 읽어 데이터로 저장되었다.

Fig. 4~6에서 얻어진 종말점은 산의 부피에 따라 정량적으로 증가하였으며, 그 결과를 Fig. 7에 나타내었다. 시료인 일, 이, 삼양성자 산의 mol수와 적정액의 mol수를 도식한 결과로서 산의 mol수가 증가할수록 적정액 NaOH의 mol수가 증가함을 알 수 있으며, 일, 이, 삼양성자 산의 mol수 변화에 대한 직선관계 (R^2)는 0.999 이상을 나타내고 있다. Fig. 7의 3개 직선에 대한 기울기는 일, 이, 삼양성자 산의 당량관계와 같은 관계를 갖고 있으며, 이양성자 산인 OA의 기울기와 삼양성자 산인 CA의 기울기는 일양성자 산인 KHP에서 얻은 기울기 값에 1.960배와 3.015배의 결과를 나타내었다. 아래의 반응식(1, 2, 3)은 산과 NaOH의 적정과정에서 일어나는 중화반응 식이다.



많은 정량분석에서 사용하는 적정실험에 대한 재현성 있고 정확한 결과를 얻고자 적정기구를 제작하였다. 본 연구에서 제작된 적정기구는 뷰렛을 사용하는 수동적정에서 나타나는 실험자 오차인 종말점의 변색 판단 및 뷰렛 눈금 읽기 등의 오차를 최소화할 수 있으며, 또한 자동적정기에서 확보하지 못하는 휴대성을 부여할 수 있다. 자동적정기와 같이 정량펌프가 구비되어 있지 않고, 소비전력이 작은 소형 교반기에 의해 반응용액이 혼합되기 때문에 소형이며, 노트북(laptop) 또는 휴대폰(cell phone)과 각각 usb 연결 또는 어플(application) 연동으로 데이터 처리 및 수집이 가능한 휴대용으로 적용할 수 있기 때문에 실험실뿐만 아니라 현장에서 시료채취와 함께 적정을 통한 정량분석이 가능하다.

4. 결 론

본 연구에서는 적정기구의 제작과정을 소개하고 제작된 기구를 사용한 산-염기 중화적정의 결과를 통하여 기구의 유용성과 정밀성을 알아보고자 하였다. 일반적인 적정에서와 같이 1차 표준물질을 사용하는 표준화 과정이 가능하고 표준화된 적정액을 사용하여 적정곡선을 얻을 수 있으며 얻어진 결과에 대한 정량성을 판단할 수 있었다. 적정법이 높은 수준의 미량분석에는 사용되지 않으나, 화학반응식의 쉬운 이해와 빠른 반응 속도를 이용하여 보편적으로 많이 사용되는 정량분석 방법임을 감안할 때 본 연구를 통해서 소개되는 분광학적 검출기가 장착된 적정기 (Spectrator)는 수동적정에 의한 오차를 최소화하고 자동적정기의 장점이라 할 수 있는 raw 데이터를 얻을 수 있고, 단점인 경제적 부담과 휴대성 결여를 해결할 수 있는 좋은 수단이 될 것으로 사료된다.

감사의 글

본 논문은 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 가축질병대응기술개발사업의 지원을 받아 연구되었음(319075).

References

1. A. Johansson, *Anal. Chim. Acta.*, **206**, 97-109 (1988).
2. F. Szabadváry, 'History of Analytical Chemistry: International Series of Monographs in Analytical Chemistry', 1st Ed., Elsevier, Netherlands, 2016.
3. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler and S. R. Crouch, 'Fundamentals of Analytical Chemistry', 9th Ed., Brooks/Cole, UK, 2013.
4. DP5 Phototrode™, Mettler-Toledo AG, Analytical, Switzerland, 2007.
5. J. E. A. Comer and C. Hibbert, *J. Automat. Chem.*, **19**(6), 213-224 (1997).
6. A. Wiora and J. Wiora, *Sensors*, **18**, 4102-4121 (2018).
7. Sodium hydroxide, 0.5 N (0.5 M), Safety Data Sheet, LabChem, Inc., PA, USA.
8. Sodium hydroxide, 0.5 N (0.5 M), Safety Data Sheet, Sigma-Aldrich Korea, Seoul, Korea.
9. D. C. Harris, 'Quantitative Chemical Analysis', 9th Ed., W. H. Freeman and Company, 2016.
10. S. Westland, K. Laycock, V. Cheung, P. Henry and F. Mahyar, *Colour: Design & Creativity*, **1**, 1-15 (2007).

Authors' Position

Jiwon Shin : Graduate Student
Gyoyoon Chae : Graduate Student
Yeajin Kim : Undergraduate Student
Sangho Kim : Senior Researcher
Yoonsu Chae : Researcher
Won-Seok Chae : Professor