

수질 환경 시료 중 총질소와 총인 수동 및 자동분석법 비교·평가

수질화학팀

장미희·김홍제·김영두·박창호·이민환·엄석원·김민영

Comparison and Evaluation of Manual and Automated Methods for Measurement of Total Nitrogen and Total Phosphorus in Aquatic Environmental Samples

Water Chemistry Team.

**Mi-hee Jang, Hong-jae Kim, Young-doo Kim, Chang-ho Park,
Min-hwan Lee, Seok-won Eom and Min-young Kim**

Abstract

An automated method which is based on the same operating principle of a manual analysis has been developed to determine the total nitrogen(T-N) and total phosphorus (T-P) in water. A automated method is replacing a manual method was approved by Ministry of Environment of Korea in 2008 because of its convenience over the manual method. In case of linearity, method detection limit(MDL), precision, accuracy, there is no considerable difference by method. Two methods have a good precision and accuracy. A manual method for T-N analysis suffers from interference by Cr(IV) ion and color and an automated method of T-P suffers from interference by color. For sample with high concentrations of T-N, both methods result in large errors probably due to matrix effect. However, for T-P, both methods showed similar pattern of results

Key words : total nitrogen, total phosphorus, automated method, manual method

서론

질소화합물과 인화합물은 호소나 하천에서 부영양화의 주된 원인 물질로 알려져 있으며 총질소와

총인의 관리는 수생태계를 관리하는데 매우 중요한 물질이다(1).

총질소(total nitrogen)는 무기성 질소와 유기성 질소의 총량이다. 무기성 질소는 암모니아성

질소, 아질산성 질소 및 질산성 질소를 말하고 유기성 질소는 아미노산, 폴리펩타이드, 단백질 등 생물학적으로 분해 가능한 유기화합물중에 함유된 질소를 말한다(2). 수중에 존재하는 암모늄이온, 아질산 이온, 질산 이온은 수질 환경에서 중요한 항목으로 급수시설과 지표수에서는 오래전부터 그 농도가 규제되어 왔다.

인은 물 환경에서 인산염(PO_4^{3-})형태로 나타나고 ortho-phosphate, 축합 인산염(pyro-, meta-, polyphosphates), 유기인산염 등으로 존재한다. 총인(total phosphorus)은 수중에 포함되어 있는 무기·유기의 인화합물의 총량을 산 가수 분해와 가열 소화의 전처리 과정을 거쳐 ortho 인산이온으로 변화시켜 측정한다(3~5).

수질오염공정시험기준에 제시된 총질소와 총인을 분석하는 방법은 수동분석법과 자동분석법으로 나눌 수 있다. 수동분석법으로 총질소는 자외선 흡광도법, 카드뮴 환원법, 환원중류-킬달법, 총인은 흡광도법(아스코르빈산 환원법)이 있다.

자동분석법은 수동분석법과 같은 원리로 분석이 자동화 된 것으로서 한 번에 많은 건의 시료를 분석하여 분석자의 반복 작업을 줄이고 또한 적은 시료량이 소요되며 총인·총질소 측정 시의 autoclave 분해과정이 연속흐름내에서 완전히 자동화(6)되어 최근에 수질오염공정시험기준에 등재된 이후 많은 분석기관에 보급되고 있는 실정이다. 자동분석은 연속식 흐름주입분석(FIA, flow injection analyzer)과 분할흐름분석(SFA, segmented flow analyzer)으로 구분되어 진다(7~9). SFA는 용액의 흐름 사이에 일정한 간격으로 공기방울을 주입하여 시료의 분산 및 연속흐름에 따른 상호 오염을 방지하도록 구성되어 있고 FIA는 공기방울 미 주입에 따라 시료의 분산 및 연속흐름에 따른 상호 오염의 우려가 있으나 분석시간이 빠르고 기계장치가 단순해지는 장점이 있다(10).

따라서 본 연구에서는 수질오염공정시험기준에 오래전부터 등록되어 가장 널리 사용하고 있는 수동분석법과 SFA 방식의 자동분석법을 시료의 특성별 분석방법의 타당성 평가를 위한 검정곡선의 비교, 방법검출한계, 이중시료분석, 방해물질에 대

한 영향, 고농도 시료에 대한 분석값의 비교를 실시하였다.

재료 및 분석

1. 시료

본 연구에서 사용한 시료는 특성별로 비교하기 위해 폐수, 오수, 하천수, 침출수, 하수처리장 유입수와 방류수를 4℃ 이하 냉장보관하여 7일 이내에 분석하였다.

2. 분석방법 및 장치

1) 흡광도법

시료의 전처리는 고압증기멸균기에 내압·내열의 마개있는 유리병을 사용하여 120℃에서 30분 동안 가열하였으며 흡광도는 Beckman Coulter (USA) DU 800 Spectrophotometer 을 사용하여 총질소(TN)는 220 nm, 총인(TP)은 880 nm에서 측정하였다.

총질소는 시료 중 질소화합물을 알칼리성 과황산칼륨의 존재하에 120℃에서 유기물과 함께 분해하여 질산이온으로 산화시킨 다음 산성에서 자외선 흡광도를 측정하여 질소를 정량하여 농도를 구한다.

총인은 시료중 유기물을 산화분해하여 모든 인화합물을 인산염(PO_4^{3-}) 형태로 변화시킨 다음 인산염을 아스코르빈산환원 흡광도법으로 정량하여 농도를 구한다.

분석에 사용한 표준용액은 Accustandard사(USA)의 질산성 질소 표준원액 1,000 mg NO_3-N/L , 인산염 인 표준원액 1,000 mg PO_4-P/L 을 사용하였다.

2) 자동분석법

자동분석법은 총질소, 총인을 동시분석 할 수 있는 Bran-Bubbe사(Germany)의 Autoanalyzer3 모델을 사용하였으며 기기 조건은 표 1과 같다.

총질소는 시료 중 모든 질소화합물을 산화분해하여 질산성질소(NO_3^-) 형태로 변화시킨 다음 카

Table 1. Analytical conditions of automatic analysis system

Name	Condition	
	T-N	T-P
Digester temperature	110℃	
Heating block temperature	75℃	40℃
Compressor pressure	0.2 MPa(main gauge), 0.13 MPa(digester)	
Microwave	550 nm	800 nm

드뎀-구리환원 칼럼을 통과시켜 아질산성질소의 양을 구하고 총인의 수동분석법과 같은 아스코르빈산 환원법과 원리가 같다.

3) 검출한계, 정확도, 정밀도

방법검출한계(MDL : method detection limit)는 매질에 포함된 측정항목의 검출 가능한 최저농도로 표준용액을 8번 분석하여 표준편차를 구해 3.14를 곱하여 MDL를 구하였다.

시험방법의 정확도는 표준용액의 회수율을 비교함으로써 알 수 있으며 회수율(%recovery)은 식 (1)로 구했다.

$$Recovery(\%) = \frac{found\ value}{true\ value} \times 100 \quad (1)$$

정밀도는 시험방법의 재현성을 측정하는 것으로 동일 조건하에서 동일한 측정분석과정을 반복하여 얻은 결과의 상호 일치도를 뜻한다. 분석적 정밀도는 이중(duplicate) 또는 다중(multiplicate)분석과 관계된 변화를 측정하는 것이다. 이중 시료를 이용할 경우 상대 편차 백분율(RPD, relative percent difference), 다중 시료의 경우 상대 표준 편차(RSD, relative standard deviation)로

표현하며 식 (2),(3)으로 구했다(11~13).

$$RSD(\%) = \frac{s}{x} \times 100 \quad (2)$$

$$\frac{s}{x} = \frac{standard\ deviation}{mean}$$

$$RPD = \frac{(sample\ result - duplicate\ result)}{(sample\ result + duplicate\ result)/2} \times 100 \quad (3)$$

영양염류의 분석결과의 정도관리에서 허용할 수 있는 회수율은 80~120%이고 정밀도는 ±10이다(14).

결과 및 고찰

1. 총 질소

1) 검정곡선의 비교

질산성 질소 표준용액을 각각 0~10 mg NO₃-N/L 단계적으로 하여 직선성을 비교한 결과 흡광광도법은 r²=0.9996, 자동분석법은 r²=0.9998로 나타났다. 또한 표 2에 나타낸 바와 같이 질산성

Table 2. MDL and RSD of T-N analysis using the manual and automated methods

	Manual	Automated
R square	0.9996	0.9998
M.D.L ¹⁾ (mg/L)	0.047	0.020
RSD ²⁾ (%)	0.431	0.574

¹⁾ MDL : Method Detection Limit, ²⁾ RSD : Relative Standard Deviation.

질소 표준용액 0.2 mg NO₃-N/L를 8회 분석에 대한 방법검출한계(MDL)는 자동분석법이 0.020 mg/L, 수동분석법은 0.047 mg/L로 수동분석법보다 더 낮았다. 4 mg NO₃-N/L에서 5회 분석한 결

과 상대표준편차(RSD)는 수동분석법이 낮은 상대 표준편차(RSD, %) 값을 나타내는 것으로 보아 재현성이 더 좋았다.

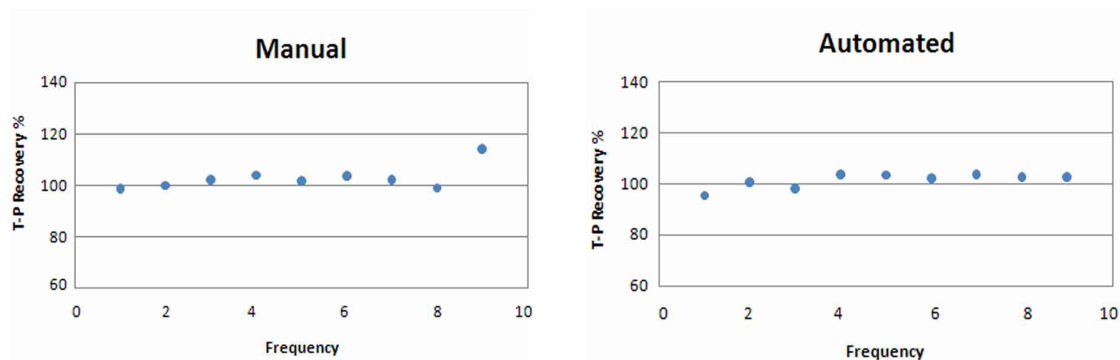


Fig. 1. Recovery of Manual and Automated analyses of T-N.

Table 3. Precision of T-N analysis

Sample	Sample ID	Method	Duplicate Analyses		RPD ¹⁾ (%)
			1st Result (mg/L)	2nd Result (mg/L)	
Wastewater	A	Automated	1.623	1.575	3.0
		Manual	1.742	1.860	6.6
	B	Automated	34.520	33.167	4.0
		Manual	33.670	32.975	2.1
	C	Automated	10.176	10.088	0.9
		Manual	12.999	13.129	1.0
	D	Automated	15.784	16.639	5.3
		Manual	16.050	16.193	0.9
Sewer	A	Automated	48.239	48.549	0.6
		Manual	55.586	51.120	8.4
Stream Water	A	Automated	15.617	15.624	0.0
		Manual	15.605	14.540	7.1
Sewage Treatment Plant	A	Automated	37.294	36.338	2.6
		Manual	30.491	31.097	2.0
	B	Automated	14.310	14.753	3.0
		Manual	14.776	14.124	4.5
	C	Automated	12.918	12.670	1.9
		Manual	12.198	12.162	0.3

¹⁾ RPD : Relative Percent Difference.

2) 회수율

그림 1은 질산성 질소 표준용액을 바탕으로 회수율(Recovery, %)을 구한 결과이며 수동분석방법은 103~115%, 자동분석방법은 101~106% 값을 나타내었다.

3) 이중시료분석

같은 시료를 따로 전처리하여 시료, 분석자와 시험방법의 정밀도를 확인하는 이중시료분석을 실시하였다. 모든 시료의 RPD는 $\pm 10\%$ 를 넘지 않았으며 시료에 따라 두 분석방법에 정밀도 차이가 나타났다.

4) 방해물질(6가 크롬과 색도)

표 4, 5는 질산성 질소 표준용액 5 mg NO₃-N/L에서 Cr⁶⁺와 색도의 농도를 단계적으로 첨가하여 실험한 결과이다. 두 분석법은 Cr⁶⁺에 방해를 받는 것을 알 수 있고 특히 수동분석법이 다소 영향이 큼을 확인할 수 있다. 색도의 경우 자동분석법은 거의 방해를 받지 않고 수동분석법은 방해가 있음을 알 수 있었다.

5) 고농도 시료

질산성 질소 표준용액 500 mg NO₃-N/L를 7회 반복 분석한 결과 수동분석법의 평균농도는 523.318 \pm 6.128 mg/L로 측정되었고 평균 회수율은 104.863%, 상대표준편차는 1.168%로 나타났다. 자동분석법의 평균농도는 523.561 \pm 10.697 mg/L로 측정되었고 평균 회수율은 104.712%, 상대표준편차는 2.043%로 나타났다. 표 6은 고농도 질소를 함유하고 있는 침출수(A), 오수(B), 폐수(C, D)를 회석하여 분석한 결과이다. 수동분석법이 자동분석법에 비해 높은 농도를 보이고 이는 총질소의 두 분석법이 부유물질 등의 오차요인과 방해물질 등 크게 영향을 받음을 확인할 수 있었다. 또한 고농도 시료의 경우 회석배수를 적용하기 때문에 작은 흡광도 변화가 농도로 환산하면 큰 차이를 발생시키는 것을 알 수 있었다(15).

2. 총 인

1) 검정곡선의 비교

인산염 인 표준용액을 각각 0~1 mg PO₄-P/L 단계적으로 하여 직선성을 비교한 결과 흡광광도

Table 4. Interference of Cr⁶⁺ in T-N analysis

Cr ⁶⁺ Conc. (mg/L)	Manual		Automated	
	T-N Conc. (mg/L)	Recovery (%)	T-N Conc. (mg/L)	Recovery (%)
0.5	4.948	98.978	5.354	107.086
1	5.416	108.331	5.526	110.520
5	5.901	118.034	5.549	110.988
10	6.713	134.272	5.664	113.282

Table 5. Interference of Color in T-N analysis

Color Conc. (mg/L)	Manual		Automated	
	T-N Conc. (mg/L)	Recovery (%)	T-N Conc. (mg/L)	Recovery (%)
5	4.989	99.782	5.149	102.998
10	5.223	104.460	5.221	104.428
50	7.645	152.901	5.578	111.560

법은 $r^2=0.9999$ 자동분석법은 $r^2=0.9992$ 로 나타났다. 또한 표 7에 나타낸 바와 같이 인산염 인 표준용액 0.05 mg PO₄-P/L에서 8회 분석 한 방법 검출한계는 수동분석법이 0.011 mg/L, 자동분석법은 0.034 mg/L로 수동분석법이 더 낮았다. 인산염 인 표준용액 0.4 mg NO₃-N/L에서 5회 분석

한 상대표준편차(RSD, %)는 수동분석법이 0.823%로 3.496%인 자동분석법보다 더 낮은 상대표준편차 값을 나타내는 것으로 보아 재현성이 더 좋았다.

2) 회수율

그림 2는 인산염 인 표준용액을 바탕으로

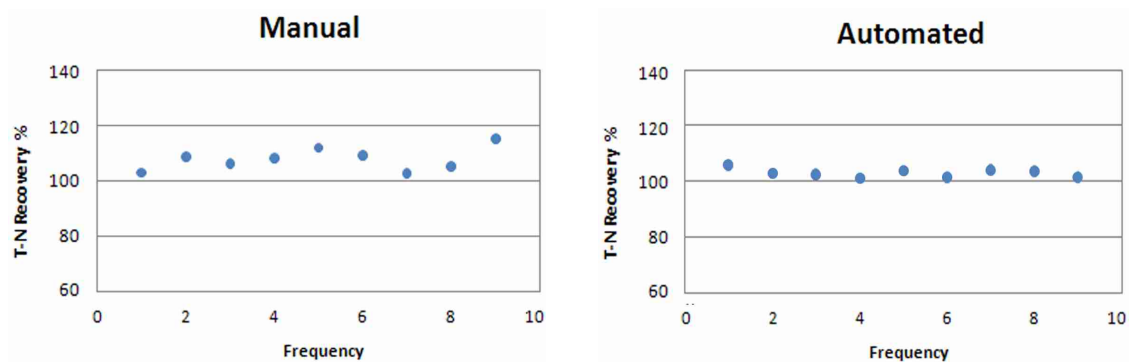


Fig. 2. Recovery of Manual and Automated of analyses of T-P.

Table 6. Comparison between manual and automated analyses of sample containing high content of total nitrogen

Sample	Sample ID	Method	Dilution ration	Measured±SD	RSD*(%)
Leachate	A	Automated	100	336.323 ± 4.937	4.973
		Manual		361.710 ± 8.777	2.426
Sewer	B	Automated	10	42.810 ± 1.547	3.612
		Manual		44.705 ± 1.426	3.189
Wastewater	C	Automated	50	161.479 ± 6.423	3.977
		Manual		216.529 ± 7.529	3.494
	D	Automated	5	25.780 ± 0.907	3.517
		Manual		26.480 ± 0.300	1.133

*RSD : Relative Standard Deviation.

Table 7. MDL and RSD of T-P analysis using the manual and automated methods

	Manual	Automated
R square	0.9999	0.9992
M.D.L ¹⁾ (mg/L)	0.011	0.034
RSD ²⁾ (%)	0.823	3.496

¹⁾ MDL : Method Detection Limit, ²⁾ RSD : Relative Standard Deviation.

가하여 회수율(Recovery, %)을 구한 결과이며 수동분석방법은 99~114%, 자동분석방법은 95~104% 값을 나타내었다.

3) 이중시료분석

표 8은 총인의 이중시료 분석결과이며 대부분 시료의 RPD는 ±10%를 넘지 않았으나 RPD가 ±10% 이상인 경우는 시료를 취하는 과정에서 입자로 인한 오차가 일어난 것이라고 판단된다.

4) 방해물질(6가 크롬과 색도)

표 9, 10은 인산염 인 표준용액 0.5 mg NO₃-

N/L에서 Cr⁶⁺와 색도의 농도를 단계적으로 첨가하여 본 결과이다. Cr⁶⁺에 대해 수동분석법이 고농도에서 방해받을 것을 알 수 있고 색도는 수동분석법이 첨가한 농도 중 고농도에서 다소 방해를 받은 것에 비해 자동분석방법은 큰 방해가 있었다.

5) 고농도 시료

인산염 인 표준용액 100 mg PO₄-P/L를 7회 두 방법으로 분석한 결과 수동분석방법의 평균농도는 107.436 ± 2.495 mg/L로 측정되었고 평균 회수율은 107.436%, 상대표준편차는 2.322%로 나타났

Table 8. Precision of T-P analysis

Sample	Sample ID	Method	Duplicate Analyses		RPD ¹⁾ (%)
			1st Result (mg/L)	2nd Result (mg/L)	
Wastewater	A	Automated	0.636	0.633	0.6
		Manual	0.702	0.724	3.1
	B	Automated	3.442	3.072	11.4
		Manual	2.160	2.255	4.3
	C	Automated	0.256	0.258	0.8
		Manual	0.223	0.181	20.7
	D	Automated	0.941	1.082	14.0
		Manual	1.176	1.160	1.4
Sewer	A	Automated	4.858	4.975	2.4
		Manual	3.922	3.945	0.6
Stream Water	A	Automated	1.812	2.050	12.3
		Manual	1.921	1.917	0.2
Sewage Treatment Plant	A	Automated	2.375	2.899	19.9
		Manual	3.486	3.373	3.3
	B	Automated	0.901	0.982	8.6
		Manual	1.026	1.166	12.8
	C	Automated	0.874	0.924	5.6
		Manual	1.051	0.993	5.6

¹⁾ RPD : Relative Percent Difference.

으며 자동분석방법의 평균농도는 94.530 ± 6.158 mg/L로 측정되었고 평균 회수율은 94.530%, 상대표준편차는 6.514%로 나타났다.

시료 정상별 반복분석 후 평균농도로 계산함으로써 수동분석법과 자동분석법의 측정값이 비슷하

게 분석되어 고농도의 인이 함유된 시료의 총인분석은 표 11에 나타난 바와같이 부유물질 등의 오차요인과 방해물질 등의 영향을 총인의 두 분석법이 적게 받았다.

Table 9. Interference of Cr^{6+} in T-P analysis

Cr ⁶⁺ Conc. (mg/L)	Manual		Automated	
	T-P Conc. (mg/L)	Recovery (%)	T-P Conc. (mg/L)	Recovery (%)
1	0.481	96.384	0.442	88.540
10	0.481	96.240	0.436	87.220
50	0.376	75.264	0.468	93.680

Table 10. Interference of Color in T-P analysis

Color Conc. (mg/L)	Manual		Automated	
	T-P Conc. (mg/L)	Recovery (%)	T-P Conc. (mg/L)	Recovery (%)
1	0.495	99.168	-	-
5	0.474	94.920	0.334	66.800
10	0.471	94.296	0.293	58.760
50	0.251	50.232	0.812	162.560

Table 11. Comparison between manual and automated analyses of sample containing high content of total phosphorus

Sample	Sample ID	Method	Dilution ration	Measured±SD	RSD(%) ¹⁾
Leachate	A	Automated	2.5	1.896 ± 0.054	2.864
		Manual		2.631 ± 0.073	2.788
Sewer	B	Automated	10	1.552 ± 0.203	13.056
		Manual		1.533 ± 0.073	4.739
Wastewater	C	Automated	100	68.812 ± 4.008	5.825
		Manual		67.448 ± 0.898	1.331
	D	Automated	5	2.495 ± 0.058	2.312
		Manual		2.844 ± 0.199	1.331

¹⁾ RSD : Relative Standard Deviation.

결 론

본 연구에서 총질소와 총인을 시료별 수동분석법과 자동분석으로 분석한 결과를 정리하면 다음과 같다.

1. 총질소와 총인의 분석법에 대한 직선성을 비교한 결과 총질소의 수동분석법은 $r^2=0.9996$ 자동분석법은 $r^2=0.9998$, 총인의 수동분석법은 $r^2=0.9999$ 자동분석법은 $r^2=0.9992$ 로서 검정곡선의 좋은 직선성을 보여준다.
2. 방법검출한계(MDL)는 총질소의 수동분석법은 0.047 mg/L, 자동분석법은 0.020 mg/L이고 총인의 수동분석법은 0.011 mg/L, 자동분석법은 0.034 mg/L로써 총질소는 자동분석법이, 총인은 수동분석법이 낮은 방법검출한계값을 보였다.
3. 회수율은 총질소와 총인 모두 정도관리에서 허용할 수 있는 80~120% 범위 내에 들어왔고 이중시료 분석 결과 총질소는 모든 시료의 상대표준편차(RDP, %)인 $\pm 10\%$ 범위이나 총인의 경우는 $\pm 10\%$ 이상인 경우는 시료를 취하는 과정에서 입자로 인한 오차가 일어난 것이라고 판단된다.
4. 총질소와 총인의 방해물질로 예상되는 크롬(IV)과 색도를 농도를 다르게 하여 분석한 결과 총질소는 자동분석보다 수동분석이 방해를 받았으며 총인의 경우 Cr^{6+} 에 대해 수동분석법이 고농도에서 방해를 받는 것을 알 수 있고 색도는 수동분석법이 첨가한 농도 중 고농도에서 다소 방해를 받은 것에 비해 자동분석 방법은 큰 방해가 있었다.
5. 고농도의 총질소와 총인이 함유된 시료를 정상범 반복분석 후 평균농도로 계산한 결과 총질소의 경우 수동분석법이 자동분석법에 비해 높은 농도를 보이고 이는 총질소의 두 분석법

이 부유물질 등의 오차요인과 방해물질 등에 크게 영향을 받음을 확인할 수 있었다. 또한 고농도 시료의 경우 희석배수를 적용하기 때문에 작은 흡광도 변화가 농도로 환산하면 큰 차이가 발생하였다. 총인의 경우 수동분석법과 자동분석법의 측정값이 비슷하게 분석되어 고농도의 인이 함유된 시료의 총인분석은 부유물질 등의 오차요인과 방해물질 등의 영향을 총인의 두 분석법이 적게 받음을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Zhou MF and Struve DM : The effects of post-persulfate-digestion procedures on total phosphorus analysis in water. Water Research, 38:3893~3898, 2004.
2. 신광문화사 : 수질환경오염시험법, 2001.
3. 조영일, 김광렬, 박돈희, 박영규, 박홍석, 이수구, 정연규, 최재완: 환경공학, 신광문화사, 1998.
4. 최규철, 권오억, 김동욱 : 수질오염공정시험 방법주해, 신광문화사, 2006.
5. 정형근, 조영일, 김범식, 박주형 : 총인 분석을 위한 자동 전처리 시스템. 한국환경과학회지, 10:13~19, 2001.
6. 김기동, 허미경, 서용찬 : 총질소와 총인 수동 및 자동분석의 비교평가(II)-총인 분석. 한국환경분석학회지, 10:29~36, 2007.
7. 서미경 : 총질소와 총인 수동 및 자동분석의 비교평가. 석사학위논문, 2006.
8. Standard Method : Segmented Continuous Flow Analysis, 4120A.
9. Standard Method : Inorganic Nometals by Flow Injection Analysis, 4130A.
10. 환경부 : 수질오염공정시험기준, 2008.
11. Standard Method : QUALITY ASSURANCE, 1020.
12. 국립환경과학원 : 환경 시험·검사 QA/AC 헌

- 드북, 2005.
13. 김낙주, 신현진 : Phenol류의 분석방법에 관한 연구(1). 한국환경과학회지, 7:811~815, 1998.
 14. 정진아, 박칭길, 김동명 : 알칼리성 과황산칼륨 산화법을 이용한 해수와 담수에서의 총질소, 총인 동시 분석방법에 대한 연구. 한국물환경학회지, 19:287~292, 2003.
 15. 최성득, 장윤석 : 고농도 질소함유 폐수의 총질소 분석법 비교·평가. Analytical Science & Technology, 20:25~32, 2007.