

**인도페놀법을 이용한 수용액 중 암모니아 정량에 관한 연구 :
평형법, 반응속도법, 흐름주입분석법의 비교와 평가**

정 형 근 · 김 범 식

연세대학교 환경과학과
(1994년 9월 28일 접수)

**Determination of Aqueous Ammonia with Indophenol Method :
Comparison and Evaluation for the Reaction-Rate,
Equilibrium and Flow-Injection Analysis Methods**

Hyung-Keun Chung and Bum-Sik Kim

Dept. of Environmental Science, Yonsei University, Wonju, 222-701, Korea
(Manuscript received 28 September 1994)

Abstract

The reaction rate, equilibrium, and flow injection analysis methods were fundamentally evaluated for the determination of aqueous ammonia. The selected indophenol blue method was based on the formation of indophenol blue in which ammonium ion reacted with hypochlorite and phenol in alkaline solution. In the optimized reaction condition, the reaction followed 1st order reaction kinetics and the final product was stable. The absorbance measurements before and after the equilibrium were utilized for the reaction rate and equilibrium methods. The reaction rate methods, based on the relative analytical signals for the possibility of eliminating interferences, were shown to have good linear calibration curves but the detection limit and the calibration sensitivity were poorer than those in the equilibrium method. The detection limits were 32-49 ppb and 24 ppb for the reaction rate and equilibrium methods, respectively. In the flow injection analysis, the absorbance was measured before the equilibrium reached and thus resulted in 30% reduction of calibration sensitivity. However, the detection limit was 11 ppb, indicating that the peak-to-peak noise for the blank was remarkably improved. Compared to the manual methods, the optimized experimental condition in a closed reaction system reduced the blank absorbance and the inclusion of ammonia from the atmosphere was prevented. In addition, highly reproducible mixing of sample and reagents and analytical data extracted from continuous recording showed excellent reproducibility.

Key Words : indophenol blue method, reaction rate method, equilibrium method, flow injection analysis, calibration sensitivity, detection limit,

1. 서 론

암모니아는 질소를 함유한 유기물의 부식, 미생물의 작용에 의한 생화학적 원인과 화학 공정 등에서 발생하는 인위적인 원인으로 발생한다. 대기 중에서는 산성 오염물을 중화시키는 중요한 염기 구실을 하나, 강이나 호수에 유입되면 아질산성 질소, 질산성 질소를 형성하는 연속 산화 반응을 하며 용존 산소를 감소시킨다(Sawyer *et al.*, 1978). 또한 암모니아는 분뇨나 동물의 사체가 분해할 때 발생하는 물질이므로 각종 수인성 질병 및 세균성 질병을 유발하는 병원균의 감지 지표가 된다. 우리나라 음용수 수질 기준은 암모니아의 농도를 0.5 ppm 이하로 규정하고 있고(보사부 음용수 관리과, 1990), 수질 환경 보전법에서는 총 질소의 농도를 청정 구역 30 ppm, 가, 나 및 특례 구역 60 ppm 이하, 호소의 방류수 수질 기준은 총 질소로 60 ppm 이하로 각각 규제하고 있다(국제환경문제연구소, 1994). 이와 같이 수용액 중 암모니아의 양은 오염의 정도를 파악할 수 있는 1차적 지표로 사용할 수 있어 정확하고 정밀한 분석 방법이 요구된다.

현재 널리 이용되고 있는 수용액 중 암모니아성 질소의 공정 측정법은 네슬러법, 인도페놀법, 이온 전극법, 중화 적정법이며, 각각의 검출 한계 값은 20, 10, 80, 200 $\mu\text{g/L}$ 이다(APHA *et al.*, 1992). 또한 대기 중에 존재하는 미량의 암모니아 가스를 측정하기 위한 감도 높은 형광 분석법도 개발되었다(Sham *et al.*, 1988; Zhang and Dasgupta, 1989; Zhang *et al.*, 1989). 미지의 화학종을 정량하기 위한 일반적인 분석법은 농도를 아는 분석 물질을 포함한 일련의 표준 시료를 측정하여 검정 곡선을 작성한 후 분석 물질의 신호를 농도로 환산하는 것이다. 검정 곡선의 작성은 정량 분석에 있어서 기본적인 과정으로 기울기와 직선 구간에 따라 분석 감도, 검출 한계, 분석 가능한 시료의 농도 범위 등을 예측할 수 있다. 대개 용이한 정량 분석을 하기 위해서는 분석 물질의 농도와 분석 신호 사이에 비례 관계가 성립해야 한다. 화학 반응을 통한 발색 반응에 의한 분석은

반응 과정을 모니터하여 반응 속도에 의한 반응 속도 분석법(예, 반응 곡선의 기울기)과 발색 반응이 완전히 평형에 이른 후에 흡광도를 측정하는 평형 분석법으로 나눌 수 있다. 현재 가장 널리 쓰이는 인도페놀 분석법은 화학 원리면에서는 매우 우수한 것으로 입증되었으나, 대개 수동적인 조작으로 이루어지기 때문에 반응의 균일성을 유지하기 어렵고, 시료 혹은 시약의 외부물질에 의한 오염 등으로 인한 오차가 필연적이다.

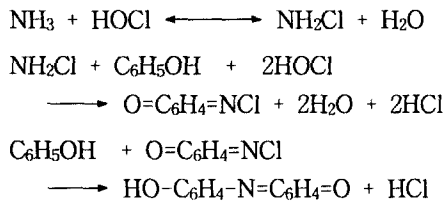
이와는 달리 실험자의 수동적인 분석 기술에 의존하지 않고, 시료의 주입, 시약과의 혼합, 반응 및 검출 과정을 in-line에서 수행하는 연속 흐름 분석법은 습식 분석의 자동화 뿐만 아니라 분석 결과의 신뢰도를 높일 수 있다. 1960년대 이후 임상 화학 분야에서 널리 사용되고 있는 분절 연속 흐름법은 시료를 시약과 같이 연동식 펌프 등으로 분석 시스템으로 흘러주어 혼합 T를 사용하여 혼합하는 것으로, 시료와 시료 사이에 공기 방울을 주입하여 시료의 희석(또는 분산)을 최소화하고, 시료가 검출기에 도달하기 전에 화학 반응이 완결 되도록 하였다(Bladel and Hicks, 1962; Snyder, 1980). 1970년대 중반 이후, 분절 연속 흐름법의 여러 제한점을 보완한 흐름 주입 분석법(Hansen and Ruzicka, 1975; Stewart *et al.*, 1976)은 흐름은 시약 용액에 흐름 상태를 변화시키지 않고 미량(예, 30 μL)의 시료를 반응 튜브, 주입 블럭, 크로마토그래피에서 사용하는 시료 주입기 등을 통해 주입하여 분산에 의한 반응을 도모하였다. 이 기법은 현대 분석 실험실에 대부분 갖추어진 간단한 부품(예, 크로마토그래피의 부품)으로 시스템을 구성할 수 있고, 화학 반응이 미완결된 상태에서도 재현성있는 분석이 가능하다는 큰 장점 때문에, 현재 실행되고 있는 많은 습식 분석법을 용이하고 신뢰있는 자동화 분석 시스템으로 대체할 수 있다.

본 논문은 수용액 중 암모니아를 측정하기 위한 인도페놀법 원리를 바탕으로 평형 분석법, 반응 속도법, 흐름 주입 분석법을 기술하고, 각각의 분석 원리, 방법, 특징에 대한 장, 단점을 비교하고 평가한다. 특히, 습식 분석의 자동화를 위해 적극

적인 사용이 요구되는 흐름 주입 분석법을 적용할 때 필요한 기반 사항 및 최적화 연구 사항 등을 제시한다. 이 연구는 현재 시행되고 있는 수동적인 습식 공정법을 자동화 공정법으로 대체하기 위한 유용한 정보를 제공할 것이다.

2. 원리

NH_4^+ 는 알칼리 용액에서 hypochlorite와 반응하여 NH_2Cl 을 형성하고, 순차적으로 페놀과 반응하여 청색의 인도페놀 염료를 생성한다. 반응 중 촉매인 sodium nitroprusside 혹은 MnSO_4 를 첨가하여 반응의 속도를 촉진시킬 경우 대개 10분 이내에 반응을 완결시킬 수 있다. 이 반응에서 생성된 인도페놀은 안정하여 화학 반응을 통한 분석법의 좋은 예가 된다. 단계별 화학 반응 과정은 아래와 같다(Lodge, Jr., 1988).



분석에 가장 중요한 반응은 세번째 단계로서 생성물인 인도페놀은 630 nm 파장에서 광자를 흡수한다. 반응에 필요한 hypochlorite, 페놀, NaOH, sodium nitroprusside 용액은 각각 따로 조제하거나, 필요한 시약 모두를 혼합하여 하나의 혼합 용액으로 사용하여도 무관하다(Weatherburn, 1967). 이 때 반응 시약의 안정도를 고려하여야 하는데, 만일 오래된 시약을 쓸 경우 시약의 반응력이 떨어져 분석 감도를 저하할 수도 있고, 분석 방법 자체를 방해하는 결과를 초래하기 때문이다. 현재 사용되고 있는 공정법에서는 sodium hypochlorite 용액은 따로 조제하고, 페놀, NaOH, sodium nitroprusside는 혼합액을 사용한다.

화학 양론적 분석법이라고도 하는 평형 분석법은 반응이 완결한 후에 생성된 인도페놀의 흡광도

를 측정하여, 그 양에 해당하는 암모니아의 농도를 구한다. 대개 반응 시간을 줄이기 위해(즉, 분석 시간을 줄이기 위해) 용액의 매질, 시약의 농도, 온도 등의 실험 조건을 최적화하나, 바탕 용액의 흡광도가 커지면 바람직하지 않다. 최종 분석 신호는 시간과 무관하므로 각 반응의 반응 차수는 분석 결과에 영향을 미치지 않는다. 만일 일련의 화학 반응이 화학 양론에 의해 예측될 수 있다면 검정 감도는 생성물의 몰 흡광 계수에 의해서 좌우가 된다. 초기 암모니아의 농도는 실험 인자들을 고정시킬 경우 반응이 완료된 인도페놀의 흡광도에 비례하므로 아래의 식으로 표현할 수 있다.

$$(1) A_{\text{indophenol}} = m[\text{NH}_4^+]_0$$

여기서 m 은 측정 셀의 길이와 인도페놀의 몰 흡광 계수의 곱으로 상수 인자이다. 즉 암모니아의 농도는 인도페놀의 흡광도에 직접 비례한다.

시료와 시약을 혼합한 직후 반응이 진행하면 생성되는 인도페놀의 흡광도는 시간이 경과함에 따라 증가한다. 이 때 반응 곡선은 반응 속도 상수값에 의존한다. 만일 시료 이외의 반응 시약(들)의 농도를 과량으로 투입하면 반응 속도 곡선은 시료의 농도에만 의존하여 아래의 식으로 표현된다.

$$(2) \frac{[\text{indophenol}]}{dt} = -[\text{NH}_4^+]/dt = k[\text{NH}_4^+]_0 \exp(-kt)$$

여기서 k 는 속도 상수이므로 시간에 따른 암모니아 농도의 변화량은 초기 농도와 $\exp(-kt)$ 에 비례함을 나타낸다. 위(2)식은 반응 속도 분석법 중 미분법의 기본 식으로서, 일정한 시간 t 에서 초기 암모니아의 농도가 반응 속도에 비례함을 보여준다. 대개 반응 직후에 반응 곡선의 초기 기울기를 이용하는 초기 반응 속도법(initial-rate method)이 널리 사용된다. 또한 일정한 시간 구간에서 인도페놀 농도의 변화량(또는 암모니아 농도의 변화량)은 아래의 식으로 표현된다.

$$(3) \Delta[\text{indophenol}] = -\Delta[\text{NH}_4^+] = [\text{NH}_4^+]_0 (\exp(-kt_1) - \exp(-kt_2))$$

식 3은 두 개의 특정 시간을 고정시키면 그 시

간 구간에서 인도페놀의 흡광도 변화가 초기 암모니아와 비례함을 알 수 있다. 이 방법은 고정 시간법(fixed-time method)이라 한다. 이와 같은 반응 속도 분석법의 가장 중요한 특징이면서 장점은 상대적인 측정치를 분석 신호로 사용한다는 것으로, 절대적인 측정치에 의존하는 평형 분석법에 비해 분석 물질이외의 방해 인자(예, 시료의 탁도, 더러운 시료 용기 등)를 제거할 수 있다. 또한 방해 화학종이 분석 물질과 같은 파장에서 흡광도를 나타낸다 하더라도, 시약과 화학 반응을 하지 않는다면 방해 흡광도를 분석 신호에서 제거할 수 있다. 만일 두 가지 이상의 분석 물질이 각기 다른 반응 속도를 가진다면 동시 측정도 가능하다. 그러나 이 기법은 시간에 따른 반응 속도를 정확히 연속해서 측정해야 하기 때문에 주로 마이크로 컴퓨터 등의 데이터 취급 장치를 첨가하는 것이 바람직하고, 짧은 시간 구간에 얻는 분석 신호가 평형 분석법에 비해 작기 때문에 검출 한계가 다소 높은 것이 단점이다.

흐름 주입 분석법은 앞에서 논의한 화학 반응 원리와 측정 원리를 바탕으로 한다. 그러나 수동적인 시료 취급의 최소화, 분석 시간의 절감 및 신뢰있는 측정이 가능한 분석법이다. 핵심되는 원리는 시료 주입, 재현성있는 타이밍, 조절된 분산이다. 시료를 흐르는 반응 시약에 흐름의 방해를 주지 않고 주입하여 닫힌 계에서 반응의 재현성도모하는 이 기법은 시료의 분산이 주어진 시스템에서 매우 일정하게 조절된다는 것이 매우 중요하다. 일단 시료 고리로 부터 주입된 시료는 유선형 흐름의 조건으로 검출기까지 운반되는 동안 대류, 분자 확산 등의 분산을 통해 타원형의 형태로 검출기를 통과하면서, 크로마토그래피와 비슷한 형태의 분석 신호를 나타낸다. 일반적으로 하나의 시료 주입기와 하나의 검출기를 사용하여 시스템을 구성하고, 분석에 충분한 반응시간은 PTFE 튜빙의 길이 또는 운반 시약의 속도를 조절함으로써 정한다. 시료를 주입한 후 검출기에서 처음으로 분석 신호가 나타나는 시간을 여행 시간, 최대 봉우리가 나타나는 시간을 체류 시간, 체류 시간에서 시료가 희석된 정도의 역수를 분산 계수로 정의한다. 이 세 가지 인자는 흐름 주입에서 중요한

실험 인자로서, 분석율, 검출 한계 등을 예측하는데 사용된다.

인도페놀법에 의거한 흐름 주입 분석은 반응이 완결되기 전 혹은 완결 후에 인도페놀의 흡광도를 측정하는 것에 따라 반응 속도 측정 혹은 평형 측정으로 구분할 수 있으나, 하나의 봉우리를 분석 신호로 하는 분석에서는 상대적인 측정을 이룰 수가 없기 때문에, 대개 그 측정 원리를 구분하지 않는다. 물론 시료의 흐름을 검출기에서 정지시켜 연속적인 측정을 이루거나 직렬로 연결된 두 개의 검출기를 통한 측정으로 반응 속도법도 가능하지만, 본 논문에서는 일반적으로 널리 쓰이는 가장 간단한 형태의 흐름 주입법을 고려하기로 한다. 앞에서 서술한 바와 같이 인도페놀법은 1차 반응 속도에 의한 반응으로 일정한 반응 시간에서는 생성된 인도페놀의 흡광도가 시료 중의 암모니아 농도와 비례한다. 즉, 체류 시간에서 인도페놀의 흡광도 높이를 측정하면 초기 시료의 암모니아 농도를 구할 수 있다.

$$(4) A_{\text{indophenol}} = k' m D [\text{NH}_4^+]_0$$

여기서 $k'(\leq 1)$ 은 1차 반응 속도에 의거한 반응 완결 인자(반응 속도 상수와 시약의 농도와 반응 매질에 의존), m 은 측정 유통 셀 길이와 인도페놀의 몰 흡광 계수의 상수 인자, D 는 분산에 의한 희석 인자($D < 1$)를 나타낸다. 식 4는 미완결 상태의 생성물을 측정하고, 시료가 희석되기 때문에 기인하는 흡광도값의 저하를 의미한다. 만일 반응 튜브를 길게 하여 화학 평형이 완전히 도달한 후에 측정한다면 k' 은 1이 되지만 D 는 더욱 작아진다. 따라서 흐름 주입 분석법에서 검정 감도는 서로 상반된 두 인자를 동시에 고려하여 조절해야 한다.

3. 실험

3.1. 시약

실험에 사용한 모든 시약은 특급 시약으로 정제하지 않고 그대로 사용하였다. 용액을 제조하거

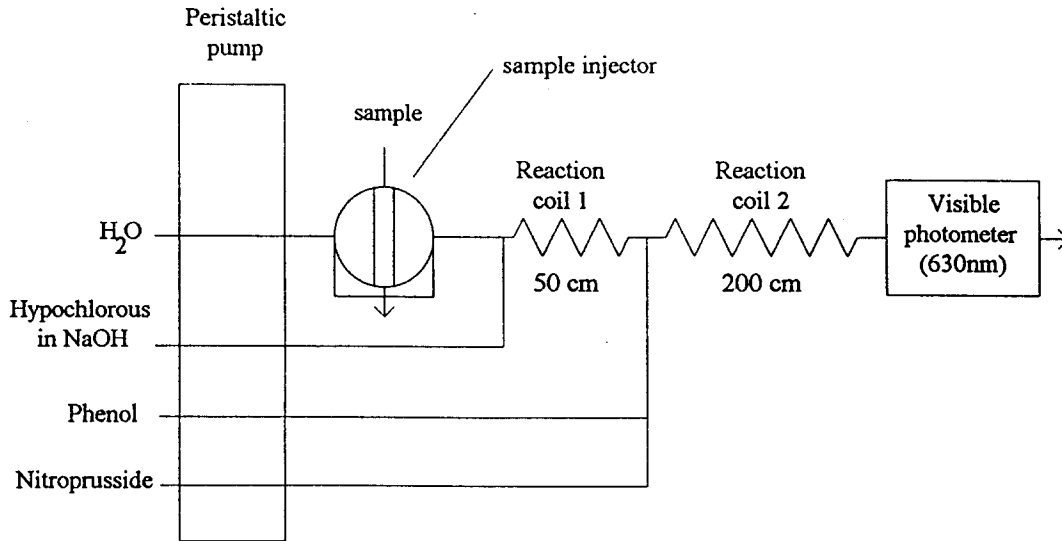


Fig. 1. Schematic diagram of the FIA system for the determination of aqueous ammonia.

나 묽히는 데 사용한 물은 Barnstead 시스템의 이온 교환 수지를 통과한 후 사용하였다. 평형법과 반응 속도법에 사용된 페놀시약(0.64 M 페놀 + 0.38 M NaOH + 1.3mM sodium nitroprusside), 알칼리성 hypochlorite 용액(55 mM NaOCl + 0.75 M NaOH)은 실험 직전에 조제하였다. 흐름 주입 분석법에 사용된 반응 시약은 12% hypochlorite 원액과 0.53 M 페놀, 17 mM sodium nitroprusside, 2.0 M NaOH 의 저장 용액을 제조하여 실험 직전에 묽히거나 혼합액을 제조하여 사용하였다. 저장 용액들은 사용전까지 4°C의 냉장실에 보관하였다. 실제로 사용한 각 운반 시약의 농도는 4.2절에 서술하였다. 페놀과 NaOH의 혼합 시약은 4시간 정도 지나면 갈색으로 변색되어 사용하기가 바람직하지 않았으며, sodium nitroprusside는 공기 중에 오래 방치하면 빛에 의하여 검게 변색되어 침전물이 생기기 때문에 알루미늄 호일로 싸서 빛을 차단하였다. 본 실험에서 사용한 최종 시약들은 적어도 24시간 이상은 안정하였다. 표준 암모니아 용액은 2.9192 g 의 NH₄Cl을 1 L 증류수에 녹여 1000 ppm의 저장 용액을 조제하였으며, 실험에 사용한 표준 용액(0.01-10 ppm)은 이를 적당히 묽

혀 조제하였다.

3.2 기기

평형 분석법과 반응 속도법에 사용한 검출기는 Shimadzu사의 Spectrophotometer UV-120-02로써 기록계(Linear scientific 사의 Model 1202)를 연결하여 흡광도를 기록하였다. 흐름 주입 분석 시스템은 연동식 펌프(Rabbit-plus 4-channel, Model MA01801, Rainin), 파장 가변 가시 분광 검출기(Model S-3250, Soma), 기록계(Model 1201, Linear scientific), 시료 주입기(six-port rotary valve, Model 5701 Reodyne Inc.), PTFE 튜빙으로 구성하였다. 시료 주입기는 타이머(microprocessor controlled timer, Chronrol Model XT, Chronrol Co.)를 사용하여 작동하였다. Fig. 1은 흐름 주입 분석 시스템의 대략도이다.

3.3 실험 방법

평형 분석과 반응 속도 분석은 길이가 1cm인 시료 용기에 표준 용액 혹은 시료 1mL, 페놀 시

약 1mL, 알칼리성 hypochlorite 용액 1mL를 순차적으로 가했다. 마지막 시약이 가해지고 난 후, 잘 혼합하여 즉시 시료 용기를 검출기에 넣어 반응이 진행함에 따라 증가하는 흡광도를 기록계에 연속해서 기록하였다. 평형에 도달하면 광도계의 흡광도를 읽어 평형 분석법을 위한 데이터로 기록하였고, 기록지에 그려진 흡광도 반응 곡선은 반응 속도법을 위한 데이터를 추출하는 데 사용하였다. 검출 한계를 구하기 위하여 바탕액을 표준 시료와 같은 방법으로 10회 측정하여 표준 편차를 계산하였다. 또한 바탕선의 연속적인 측정은 기록계의 감도를 1mV 온나비 눈금(full scale, 0.02AUFS)에 맞추어 20분 이상 모니터하였다. 이 데이터는 연속 흐름법의 바탕선과 비교하기 위하여 수행하였다. 실험시에 온도는 33 ± 1 °C였으며, 측정 파장은 630nm, 기록계의 속도는 30cm/hr였다.

흐름 주입 분석법은 시료 운반 용액(H₂O), 알칼리성 hypochlorite, 페놀, nitroprusside를 각각 0.13mL/min의 일정한 속도로 흘려주어 4.5분의 체류 시간을 갖도록 조절하였다. 시약의 농도는 최적화 조건 연구를 하기 위해 조절하였고, 분석 신호는 봉우리 높이에 의거하여 추출하였다. 최종적으로 얻은 최적 실험 조건은 습식 분석법과 비교하기 위해 검정 곡선의 특성과 검출 한계값을 구하는 데 사용하였다. 이 시스템은 강원도 원주시를 관통하는 원주천의 암모니아 농도 측정에 응용되었다. 표준 시료 혹은 분석 시료는 각각 3개씩 주입하여 평균값과 표준 편차값을 구했다.

4. 결과 및 고찰

4.1. 평형 분석법과 반응 속도 분석법

Fig. 2는 인도페놀의 흡광도를 시간의 함수로 나타낸 반응 곡선이다. 반응 초기에 흡광도가 다소 높고 반응 유도 기간(induction period)을 보인 것은 시료와 시약을 혼합하여 시료 용기에 삽입하여 걸리는 시간(약 15초) 때문이다. 그러나 최종 시약을 첨가한 후 25 초 이후부터의 반응 곡선은 시간의 함수로 정의될 수 있고, 10분 후에 반응이

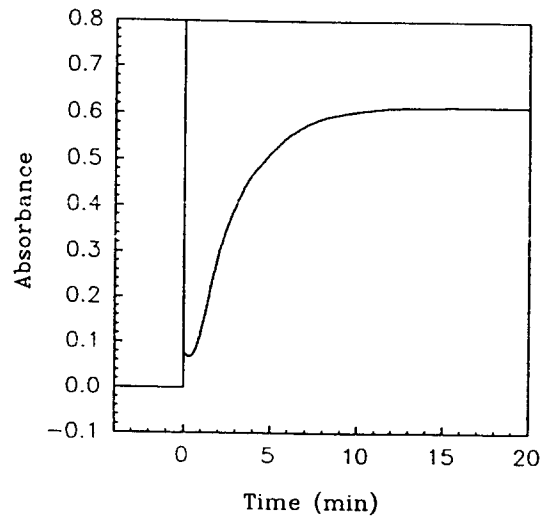


Fig. 2. Reaction curve for the reaction of ammonium ion, hypochlorite, and phenol catalyzed by sodium nitroprusside. NH_4^+ conc., 2 ppm.

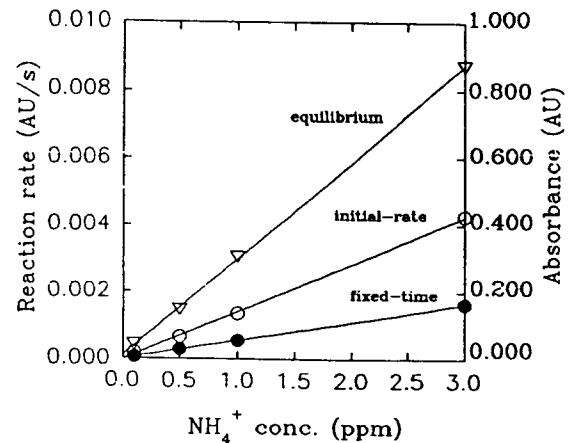


Fig. 3. Calibration curves for the determination of aqueous ammonia.

완결됨을 볼 수 있다. 일단 생성된 인도페놀이 장시간 동안 매우 안정하다는 것으로 미루어 볼 때, 생성물은 반응 조건에서 분해가 일어나지 않는다는 것을 암시한다. 즉, 유용한 분석 데이터의 추출이 초기 반응 곡선 뿐만 아니라 반응의 전 구간에 서도 가능하다는 것을 나타낸다. 또한 평형 분석

법은 시료가 반응 완결에 충분한 시간(10분 이후)만 충족된다면 다량의 시료를 분석하면서 시료간의 측정 시간 차이에서 기인하는 오차가 없음을 의미한다.

초기 반응 속도법, 고정 시간법, 평형 분석법을 비교하기 위하여, 추출한 분석 신호를 사용하여 얻은 검정 곡선을 Fig. 3에 나타내었다. 각 방법의 분석 신호는 직접적인 비교는 할 수 없으나, 위의 세 방법 모두 폭 넓은 암모니아 농도 범위(0.01-3 ppm)에서 직선 구간에 있음을 알 수 있다. 평형 분석법에 의한 흡광도 측정이 최고 0.956 AU까지 직선을 유지한 것은 stray radiation, polychromatic radiation 등에 기인하는 검정 곡선의 음의 오차가 없고, 반응 시간 동안 시약의 불안정성에 기인하는 오차는 무시할 수 있음을 알 수 있다. Table 1에 각 방법의 검정 곡선의 특징, 검출 한계, 상대 오차를 나타내었다. 평형법에 의한 암모니아의 분석 검출한계는 10 ppb로 보고됐으나(APHA *et al.*, 1992), 본 연구에서 얻은 값은 24 ppb로 다소 높게 나왔다. 이는 셀 위치에 따른 오차와 대기 중에 존재하는 암모니아가 바탕 용액에 흡수되면서 바탕액의 절대 흡광도가 다소 증가하여 잡음(noise)을 증가시키기 때문으로 생각된다. 종류수로 흡광도를 영점 조정한 조건에서 바탕 용액의 흡광도(10분 후)는 0.024이었다.

평형 방법에 비해 반응 속도법의 검출 한계값이 다소 높은 것은 검정 감도(검정 곡선의 기울기)가 낮은 것에도 원인이 있지만, 바탕 용액의

흡광도가 표준 시료와 같이 시간의 함수이기 때문이다. 따라서 방해 물질이 무시될 정도의 작은 양이 존재할 것으로 믿어지는 시료(예, 음용수)를 분석하기에는 절대 측정 원리를 바탕으로 한 평형 방법이 더 유리하다. 반면에 시료 자체가 630 nm의 파장에서 광자를 흡수하는 방해 물질을 포함한다면, 반응 속도법에 의해 암모니아의 반응 부분만 분석 신호로 추출할 수 있으므로 이 방법이 더 유리하다.

4.2 흐름 주입 분석법

수동 분석에서 사용했던 시약을 사용하여 장시간 동안 시스템을 작동하였을 경우 반응 튜브벽 및 유통 셀(flow-through cell)에 반응 시약의 분해로 인해 서서히 갈색의 침전물이 누적되었다. 이는 분석 자체를 방해하지는 않지만 바탕선이 시간이 경과함에 따라 상승하였고, 침전물이 용액의 흐름을 방해하면서 바탕선의 잡음을 크게 하였다. 따라서 수동 분석에서 사용되었던 시약 용액의 혼합 형태와 농도는 반응 시약의 안정성, 시스템의 편리성, 알맞은 분석 조건에 따라 재 조정되어야 한다. 초기 실험의 결과 NaOCl과 NaOH의 두 용액을 혼합하고, 페놀과 sodium nitroprusside 용액은 각각 따로 조제하였을 경우 적어도 24시간 동안은 안정한 것으로 여겨지는데, 이는 바탕선의 흡광도가 상승하지 않았고, 잡음 크기 또한 새 시약을 제조하여 사용한 것과 동일한 수준이었다는

Table 1. Characteristics of various analytical methods for the determination of aqueous ammonia based on the indophenol blue formation.

	Initial rate	Fixed-time ¹⁾	Equilibrium	FIA
Calibration sensitivity	1.40×10^{-3} (AU/s-ppm)	5.40×10^{-4} (AU/s-ppm)	2.88×10^{-1} (AU/ppm)	9.28×10^{-2} (AU/ppm)
Intercept	-2.17×10^{-5}	3.85×10^{-6}	1.05×10^{-2}	-1.30×10^{-3}
R square	0.9996	0.9999	0.9998	0.9999
Detection Limit	49 ppb	32 ppb	24 ppb	11 ppb
RSD of Std.	6.0 %	6.0 %	4.1 %	0.8 %

¹⁾Initial and final times for the extraction of data are 120 s and 360 s, respectively.

것으로 확인하였다. 연동식 펌프에 의한 시약의 혼합 순서는 바탕선 및 시료의 흡광도의 변화에 큰 차이를 주지 않았으므로, 알칼리성 NaOCl, 페놀, nitroprusside의 순으로 혼합을 하였다. 본 연구에서 수행한 최적 조건 연구는 습식 분석 때 사용했던 시약의 농도와 위의 사항들을 고려하여 NaOH, NaOCl, nitroprusside, 페놀 농도의 순으로 수행하였다. 임의로 정한 각각의 초기 운반 시약 농도는 1.5 M NaOH, 40 mM NaOCl, 3.4 mM nitroprusside, 0.11 M 페놀이었고, 표준 시료 중 암모니아의 농도는 1.0 ppm이었다. 첫번째 시약인 NaOH의 최적 농도를 찾은 후에는 그 시약의 농도를 고정시키고 다음 시약의 최적화 연구를 차례로 수행하였다.

4.2.1. 최적화 연구

인도페놀 생성에 대한 알칼리성 반응 매질은 필수 요건이지만, 진한 알칼리성 용액에서 암모니아를 휘발시킬 가능성도 있기 때문에 수동적인 습식 분석의 경우 주의를 요한다. 그러나 닫힌 계에서 수행되는 흐름 주입 분석법은 시료의 휘발 가능성을 배제할 수가 있다. 반응 매질의 알칼리 농도의 영향을 평가하기 위하여 NaOH 이외의 시약들의 농도는 앞에서 서술한 것들로 고정하였고, NaOH의 농도는 0.1에서 1.5 M까지 변화시켰다. Fig. 4에 NaOH의 농도에 따른 흡광도를 나타내었다. 인도페놀의 흡광도는 최종 혼합액에서 NaOH 농도가 0.075 M(회석 전의 농도는 0.3 M)까지는 급격히 증가하다가, 그 후는 NaOH의 농도에 무관하다는 것을 보여준다. 습식 분석에서 보고된 0.1 M NaOH의 좁은 영역에서만 최대 흡광도를 나타내는 것과 비교할 때, 흐름 주입법에서는 진한 알칼리성 용액에 의한 분석 물질의 손실이 없다는 것을 의미한다. 약 0.5 M 이상의 NaOH의 농도 운반 용액을 선택하였을 경우 시약 조제시에 오는 오차를 무시할 수 있으므로, 그 이상의 농도를 선택하는 것이 바람직하다. 본 연구에서는 0.6 M NaOH를 최종 운반 용액으로 사용하여 다른 시약의 영향을 연구하였다.

NaOCl의 농도 영향은 4-80 mM의 농도의 범위

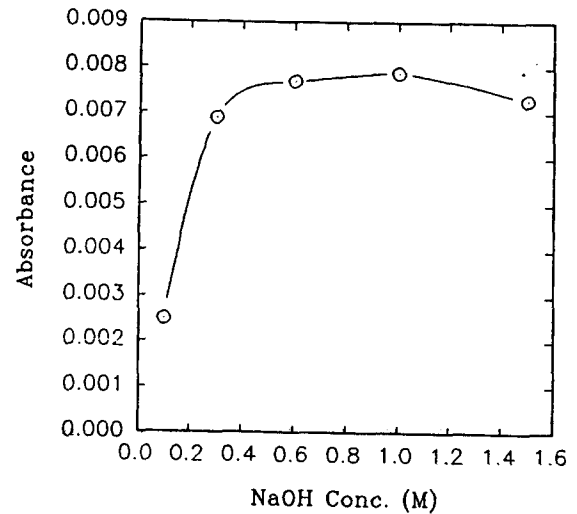


Fig. 4. Dependence of the measured absorbance on the NaOH concentration.

NH_4^+ conc., 1 ppm; NaOCl, 40 mM; phenol, 0.11 M; sodium nitroprusside, 3.4 mM.

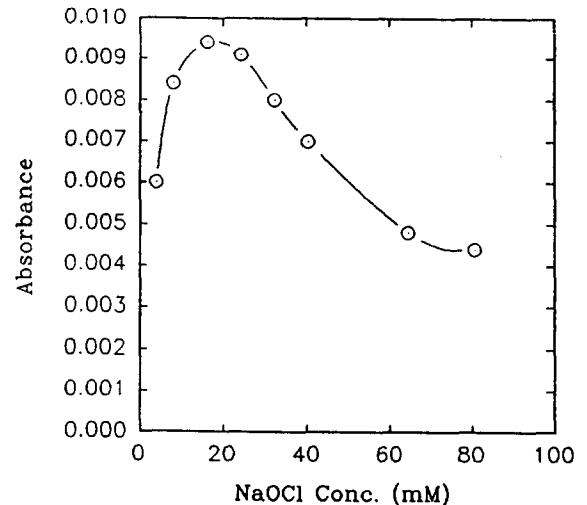


Fig. 5. Dependence of the measured absorbance on the NaOCl concentration.

NH_4^+ conc., 1 ppm; NaOH, 0.6 M; phenol, 0.11 M; sodium nitroprusside, 3.4 mM.

에서 수행하였다. Fig. 5는 그 결과를 나타낸 것으로, 약 16mM NaOCl 농도 근처에서 최대 흡광도를 보였다. Sodium nitroprusside의 농도 영향은 0.3-12.5 mM의 농도 범위에서 수행하였다. Fig. 6

에서 보는 바와 같이 NaOH의 경향과 비슷하게 나타났다. 즉 약 3mM까지는 흡광도가 급격히 증가하다가, 그 후는 sodium nitroprusside의 농도가 더욱 증가하여도 흡광도는 증가하지 않았다. 따라서 최적 농도는 4.0 mM로 선택하였다.

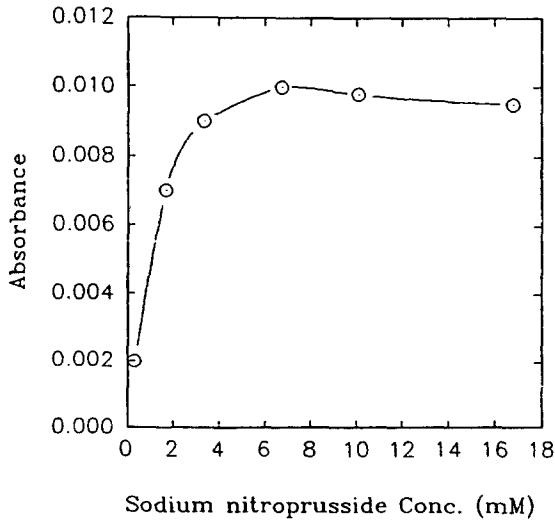


Fig. 6. Dependence of the measured absorbance on the sodium nitroprusside concentration. NH_4^+ conc., 1 ppm; NaOH, 0.6 M; NaOCl, 16 mM; phenol, 0.11 M

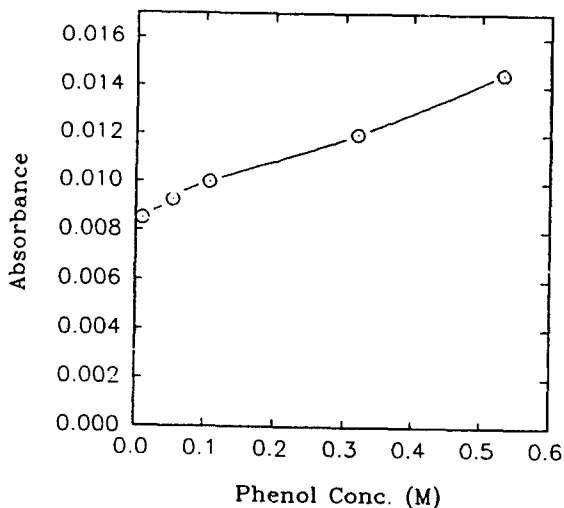


Fig. 7. Dependence of the measured absorbance on the phenol concentration. NH_4^+ conc., 1 ppm; NaOH, 0.6 M; NaOCl, 16 mM; sodium nitroprusside, 4.0 mM.

페놀은 청색의 인도페놀 형성에 직접 참여하는 시약으로 농도 범위를 0.01-0.53 M로 하여 그 영향을 연구하였다. Fig. 7은 주어진 농도 범위에서 측정된 흡광도가 페놀의 농도가 증가함에 따라 증가하는 것을 나타낸다. 그러나 농도에 따른 흡광도 증가율은 1.11×10^{-2} AU/M-페놀이므로 매우 작고, 농도를 증가시킬 경우 시약의 산화 및 nitroprusside와의 갈색 침전물을 형성하기 때문에 진한 농도의 페놀을 사용하는 것은 바람직하지 않다. 따라서 0.11 M 페놀을 최종 농도로 선택하였다.

4.2.2. 시스템 고찰

최적화 연구를 통해 얻은 시약의 조건으로 표준 암모니아 시료의 농도를 0.01-10 ppm의 범위에서 분석하였다. Fig. 8은 전체 범위의 검정선을 나타낸 그림으로 전 범위에 걸쳐 좋은 직선 구간을 나타낸다. 회귀 분석에 의한 검정 곡선의 특징과 검출 한계는 Table 1에 나타내었다. 전 농도 범위에 대한 평균 상대 표준 편차는 1% 이하이므로 반응이 진행 중에 측정하였음에도 불구하고 재현성이 매우 높음을 알 수 있다. 이 값은 수동적인 분석법(4-6%)과 비교시 매우 훌륭한 값이다.

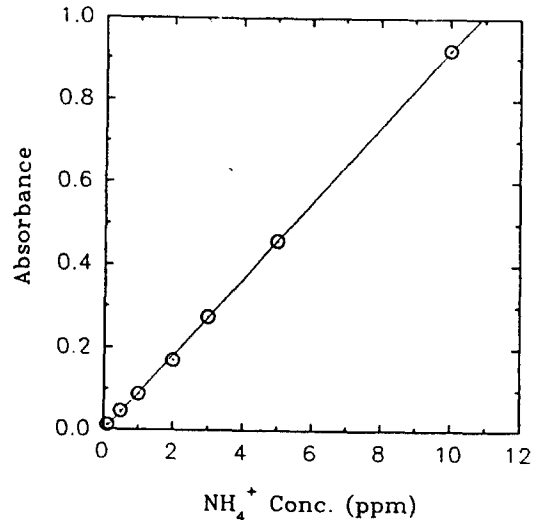


Fig. 8. Calibration curve for the determination of aqueous ammonia with the FIA method.

위의 식에 의거한 검정 감도(기울기)는 평형 분석법의 감도의 약 32%로 줄어들었다. 그러나 반응 시간이 짧고(4.5분), 시료가 검출기까지 운반되는 동안 회석되는 비율($1/4 \times 1/5$)을 고려할 때, 흐름 주입법을 통한 실질적인 감도의 향상을 가져왔음을 알 수 있다(평형 분석법의 회석율은 $1/3$ 이다). 여기서 $1/4$ 은 시료 운반 증류수와 다른 운반액과의 회석율이고, $1/5$ 은 주입된 시료가 검출기까지 운반되는 동안 겪은 대류 및 확산에 의한 회석율(또는 분산율)이다.

분석 방법을 평가할 때 가장 중요한 인자의 하나인 검출 한계는 검정 감도(검정 곡선의 기울기)에 반비례하고 바탕선의 잡음 크기에 비례한다. 광도법 측정의 경우 측정 셀의 길이를 고정시키면 검정 감도는 측정 화학종의 몰 흡광 계수가 클수록, 반응의 완결 정도가 클수록 크다. 바탕선의 잡음 크기는 검출기의 부품(light source, PMT, electronics 등), 반응 시약으로 사용되는 바탕 용액의 분질, 반응 조건(온도, pH, 압력 등) 등에 의존한다. 검출기에 기인하는 잡음은 기기의 안정한 조건(예, 적당한 기기 예열 시간, 분석 파장, 불량 부품 교체 등)을 찾는 것 이외에 잡음을 낮추기 위한 특별한 방법은 없으므로 기기 자체의 잡음을 줄이는 데는 한계가 있다. 본 연구에서 사용한 두 광도계는 서로 비슷한 수준의 기기 잡음을 갖는다. 따라서 비슷한 실험 조건을 사용할 때, 검출 한계는 검정 감도의 크기에 의존하기 때문에 원리 면에서 흐름 주입법의 검출 한계값이 평형 분석법에 비해 훨씬 높다는 것을 예상할 수 있다.

그러나 위와 같은 원리는 실제적인 측면에서 수정되어야 한다. 흐름 주입법에서 얻은 암모니아의 검출 한계는 11 ppb로 평형 분석법의 그것보다 2배 이상 낮았다. 이것은 흐름 주입법의 바탕액 표준 편차가 평형 분석법의 15%였음을 의미한다($DL_{FIA} = 24 \text{ ppb} \times 0.15/0.32$). 즉 검출기가 전혀 방해받지 않은 상태를 유지하면서, 여러 운반액이 연동식 펌프를 통해 혼합점에서 항상 일정한 비율로 혼합되어 반응 튜브를 통과하며 측정되는 바탕 용액의 흡광도는 매우 안정하였다. 대개 연동식 펌프를 사용하는 흐름 주입 분석법에서는 펌

프의 요동(pulse)에 기인하는 잡음이 큰 것으로 오인하나, 적당한 길이의 반응 튜브는 그 요동을 완화하여 제한의 요인이 되지 않는다. 소량의 정밀한 시료 주입으로 반응 시약들의 최적 농도를 낮추었고, 대기로부터 암모니아의 유입없이 항상 균일한 바탕 시료가 검출기에 흘러 들어가게 하여, 결과적으로 얻은 peak-to-peak 잡음값은 4×10^{-4} AU였다. 이 값은 전통적인 광도계에 하나의 바탕액을 넣어 기록계를 통해 연속해서 기록한 후 얻은 값과 비슷하였다. 그러나 수동적인 평형 분석법의 경우, 이와 같이 하나의 바탕시료의 연속 기록에 의해 얻은 표준 편차값은 실제의 검출 한계를 계산하는 데 사용할 수가 없다. 시료에 따라 반응 시약의 혼합이 균일하지 않을 수 있고, 하나의 바탕 시료가 각기 다른 시료의 바탕액을 대표할 수 없기 때문이다. 따라서 흐름 주입 분석법이 보인 검출 한계값의 향상은 검출기의 성능 차이에서 기인하는 것이 아니라, 모든 과정을 자동적인 on-line으로 취급하였기 때문으로 전통적인 평형 분석법에서 필연적인 용액 취급 오차, 셀을 취급하는 데에서 오는 오차(예, 셀 위치오차) 등을 제거하였기 때문이다. 증류수로 흡광도를 영점 조정하였을 때 바탕선의 흡광도는 0.009였다.

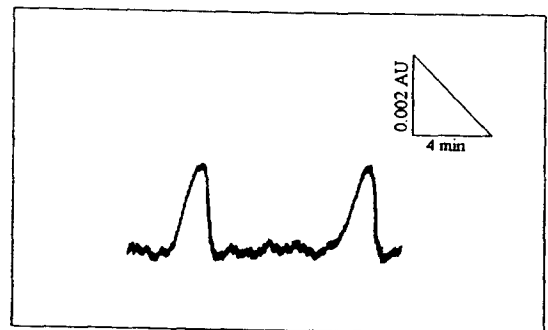


Fig. 9. Recorder trace showing the system output for the blank carrier solution and 20 ppb NH_4^+ .

Fig. 9는 바탕선의 흡광도 noise와 20 ppb 암모니아에 해당하는 봉우리 높이를 보여주는 것으로, 검출 한계인 11 ppb 암모니아에 해당하는 인도페

놀(흡광도 = 0.001 AU)도 신뢰있게 정량할 수 있음을 나타낸다. 일반적으로 전통적인 광도계를 이용한 수동 분석의 신뢰있는 측정값을 얻을 수 있는 조건이 분석 물질의 흡수가 1%(0.0044AU) 이상인 것으로 볼 때, 흐름 주입법에 의한 신뢰있는 최저 흡광도는 더욱 낮아 질 수 있다. 따라서 미량 분석은 흐름 주입법이 수동 분석법보다 유리하다.

4.3. 흐름 주입법의 응용

위에서 최적화한 조건을 바탕으로 강원도 원주시(인구 약 20만)를 관통하는 원주천의 수용액 중 암모니아의 농도를 측정하였다. 시료 채취 지점은 인구 밀도가 낮은 상류 지역, 도심지 관통 지역 및 도심지에서 약 5 km 이상 떨어진 하류 지역으로 구분하였고, 각 지점에서 그 지역을 대표할 수 있는 시료는 3개 이상씩 채취하였다. Fig. 10은 상류 지역에서 0.3 ppm의 낮은 농도를 나타내었고, 생활 폐수 등의 유입이 심한 인구 과밀 지역의 암모니아 농도는 급격히 증가하였다(최고 10 ppm). 또한 도심지를 지난 후 생활 폐수의 유입이 없는

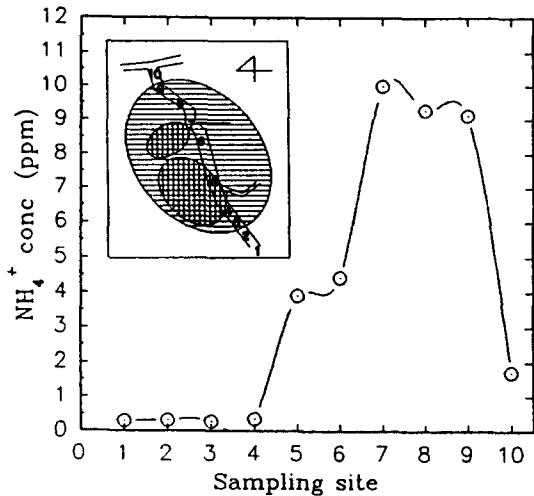


Fig. 10 Determination of the aqueous ammonia in Wonjuchon stream, Kangwon-do. The box in the upper-left corner shows sampling sites around Wonju city; The population densities are marked with ellipses.

곳에서는 자연 정화 및 오염되지 않은 지천에 의한 희석 효과로 1.7 ppm까지 암모니아 농도가 떨어졌음을 보여준다. 각 지점 같은 장소에서 채취한 시료의 암모니아 농도에 대한 상대 표준 편차 값들은 1.1%이하로 표준 시료의 경우와 같은 수준이었다.

5. 결론

인도페놀법에 의한 수용액 중 암모니아의 분석법은 비교적 느린 반응으로서 올바른 반응조건이 갖추어졌을 때 반응 곡선의 여러 구간에서 분석 신호를 추출하여 반응 속도법, 평형 분석법으로 분석이 가능하였다. 반응의 시작 직후와 완료되기 전의 구간에서 분석 신호를 추출하여 얻은 검정 곡선은 최소 자승법에 의해 1차 직선식을 나타냈다. 따라서 생성되는 인도페놀의 흡광도를 연속 측정할 반응 곡선은 1차 속도 상수에 의해 지배를 받았음을 알 수 있다. 반응이 평형에 도달한 후의 흡광도는 매우 안정하였고, 검정 곡선 역시 훌륭한 1차식을 나타내었다. 반응 속도법의 가장 특이한 장점은 상대적인 측정이 가능한 것으로서 분석 신호(초기 반응 곡선의 기울기 및 고정 시간간에 의한 흡광도 차이)가 반응 전의 반응 시약 및 화학 반응을 겪지 않는 방해 물질에 해당하는 바탕 신호와 무관함을 알 수 있다. 즉 분석 신호는 오직 화학 반응의 결과로 생성되는 부분에만 의존한다. 그러나 검정 감도는 평형 분석법에 비해 작았다. 평형 분석법은 완결된 생성물의 농도에 의존하기 때문에 측정하는 절대 신호는 크고 감도(검정 곡선의 기울기)의 향상을 가져왔다.

흐름 주입 분석법에 의한 암모니아 자동화 분석은 반응이 완결되기전(4.5 분)에 측정된 흡광도에 의한 것으로서, 측정 구간은 반응 속도법으로 분류되나 평형 분석법과 같이 절대 신호를 추출하였다. 최적 시약의 농도는 평형 분석법에 비해 낮은 것을 사용할 수 있었는데, 이것은 주입된 시료의 양이 미량이고, 혼합 T, 반응 코일을 통과하면서 일어나는 일련의 반응이 수동적인 방법에 비해

흘림함을 나타낸다. 실험자의 수동 조작없이 항상 균일한 반응 운반 시약들의 혼합에 의한 바탕선의 잡음값은 수동적인 평형 분석법의 15%였다. 그 결과 평형법보다 검정감도가 작음에도 불구하고 더 좋은 검출 한계값을 얻었다(11 ppb). 또한 재현성에 있어서도 수동적인 방법보다 우수하였는데, 이는 정밀한 양의 분석 물질과 반응 시약의 항상 균일한 혼합 비율, 외부로부터의 오염원 제거, 반응 시간의 매우 높은 재현성 등의 결과이다. 따라서 흐름 주입 분석법은 습식 분석의 자동화라는 측면 외에도 검출 한계값을 낮추고, 분석 감도를 높일 수 있는, 즉 분석 결과의 신뢰성을 높일 수 있는 분석법으로 인식되어야 한다.

감사의 글

본 논문은 연세대학교 매지학술연구소의 연구 지원금으로 수행되었습니다.

참 고 문 헌

- 국제환경문제연구소, 1994, 환경관계법규, 동화기술, 6.77pp.
- 보사부 음용수관리과, 1990, 음용수관리관련규정, 10pp.
- APHA, AWWA, and WEF, 1992, Standard methods for the examination of water and wastewater, 18th Ed., EPS Group, 4.79pp.
- Bergamin, H., B.F. Reis, A.D. Jacintho, and A.G. Zagatto, 1980, Ion exchange in flow injection analysis - Determination of ammonium ions at the $\mu\text{g/L}$ level in natural waters with pulsed nessler reagent, *Anal. Chim. Acta.*, 117, 81-89.
- Bladel, W.J. and G.P. Hicks, 1962, Continuous analysis by measurement of the rate of enzyme catalyzed reactions, *Anal. Chem.*, 34, 288-394.
- Hansen, E.H. and J. Ruzicka, 1979, The principles of flow injection analysis as demonstrated by three lab exercises, *J. of Chem. Ed.*, 56, 677-680.
- Kempers, A.J. and C.J. Kok, 1989, Re-examination of the determination of ammonium as the indophenol blue complex using salicylate, *Anal. Chim. Acta*, 221, 147-155.
- Krug, F.J., B.F. Reis, M.F. Gine, E.A.G. Zagatto, J.R. Ferreira, and A.D. Jacintho, 1983, Zone trapping in flow injection analysis - Spectrophotometric determination of low levels of ammonium ion in natural waters, *Anal. Chim. Acta*, 151, 39-48.
- Lodge, J.P., Jr., 1988, Methods of air sampling and analysis, 3rd Ed., Lewis publishers Inc., 379pp.
- Ruicka, J. and E.H. Hanse, 1975, Flow injection analysis. Part I. A new concept of fast continuous flow analysis, *Anal. Chim. Acta*, 78, 145-157.
- Sawyer, C.N. and P.L. McCarty, 1978, Chemistry for environmental engineering, 3rd Ed., McGraw-Hill International Editions, 439pp.
- Sham S.G., W.R. Donald, and C.H. Ray, 1988, Determination of ammonium ion by fluorometry or spectrophotometry after on-line derivatization with o-phthalaldehyde, *Anal. Chem.*, 60, 175-179.
- Snyder, L.R., 1980, Continuous flow analysis: Present and futures, *Anal. Chim. Acta*, 114, 3-18.
- Son, M.V., R.C. Schothorst, and G.D. Boef, 1983, Determination of total ammoniacal nitrogen in water by flow injection analysis and a gas diffusion membrane,

- Anal. Chim. Acta*, 153, 271-275.
- Stewart, K.K., G.R. Beecher, and P.E. Hare, 1976, Rapid analysis of discrete samples, *Anal. Biochem.*, 70, 167-173.
- Weatherburn, M.W., 1967, Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia, *Anal. Chem.*, 39, 971-974.
- Zhang G. and P.K. Dasgupta, 1989, Fluorometric measurement of aqueous ammonium ion in a flow injection system, *Anal. Chem.*, 61, 408-412.
- Zhang G., P.K. Dasgupta and S. Dong, 1989, Measurement of atmospheric ammonia, *Environ. Sci. & Tech.*, 23, 1467-1474.