Journal of the Korean Chemical Society
1997, *Vol. 41, No. 5*
Printed in the Republic of Korea

흐름주입분석법에 의한 환경시료 중 $N(NO_2^-)$, $N(NO_3^-)$ 및 $N(NH_4^+)$의 정량분석에 관한 연구

李宰成* · 金榮相† · 鄭潤熙 · 李喜晶†
한국과학기술연구원 환경 · CFC 연구부
†고려대학교 화학과
(1997. 3. 21 접수)

A Study on the Determination of $N(NO_2^-)$, $N(NO_3^-)$ and $N(NH_4^+)$ in Environmental Samples by Flow Injection Analysis

Jae-Seong Rhee*, Young-Sang Kim†, Yun-Hee Jung, and Hee-Jung Rhee†
Department of Environmental Research & CFC, Korea Institute of Science & Technology, Cheongryang, Seoul P.O. Box 131, Korea
†Department of Chemistry, Korea University, Jochiwon 339-700, Korea
(Received March 21, 1997)

요 약. 토양과 수질시료 중에서 nitrite, nitrate 그리고 ammonia성 질소를 빠르고 연속적으로 정량할 수 있는 방법에 관하여 연구하였다. 실제시료를 측정하기전에 각 성분의 표준시료를 사용하여 FIA의 구조적 인자(주입 양, 반응코일 길이 그리고 흐름속도)를 결정하였다. Nitrite는 Griess reaction에 의해 sulfanilamide와 반응 후 *N*-(1-naphthylethylenediamine dihydrochloride)과 결합하여 azo 색소를 형성시킨 후 540 nm에서 측정하였고, nitrate는 hydrazine을 사용하여 nitrite로 환원시킨 후 측정하였다. Ammonia는 Nessler법을 사용하여 440 nm에서 측정하였다. 최적 조건에서 $N(NO_2^-)$, $N(NO_3^-)$와 $N(NH_4^+)$의 검출한계(S/N=3)는 0.1 μg/mL, 0.4 μg/mL 그리고 0.3 μg/mL이었다. 실제시료를 비색법, ion chromatography 및 FIA로 측정하여 비교한 결과 상호 일치성이 80~125%로 나타내어 만족스러웠다. 시료의 주입횟수는 30회/시간 이상으로 조절할 수 있었다.

ABSTRACT. A rapid and sequential method was studied, which can determine nitrite, nitrate and ammonium ion in soil or water samples with flow injection analysis. Geometric factors including injection volume, length of the reaction coil and flow rate of carrier solution were investigated prior to sample measurement. Nitrite was determined at 540 nm by Griess reaction producing azo dye between *N*-(1-naphthylethylenediamine dihydrochloride) and sulfanilamide. Nitrate was also measured under the help of reduction mechanism toward nitrite with hydrazine. Ammonium was analyzed at 440 nm with Nessler's reagent. At the optimum condition, the detection limit(S/N=3) has been shown 0.1 μg/mL $N(NO_2^-)$, 0.4 μg/mL $N(NO_3^-)$ and 0.3 μg/mL $N(NH_4^+)$ respectively. The results measured by colorimetry, ion chromatography and FIA were compared showing 80%~125% reasonable match each other. Injection throughput rate could be performed better than 30 times per hour.

서 론

흐름주입 분석법(Flow Injection Analysis, FIA)이 성공적으로 빠르게 발전된 이유는 여러 가지 성분에 적용시킬 수 있는 다양성 때문이었다. 특히 같은 성분을 반복해서 측정할 경우 재현성과 정확성이 뛰어나며 자동화가 편리하다. FIA는 1975년 Ruzicka와 Hansen[1~3]이 처음으로 명명한 이래 1980년대 Valcarcel과 Castro[4~7] 등 수 많은 연구자에 의해 여러 분야에 응용되어 현재까지 급속하게 발전되어 왔다. 이렇게 발전된 FIA는 주로 분광 분석법에 응용되었고 nitrite와 nitate를 정량할 수 있는 방법이 연구되었다.[8,9] 비색법을 활용하여 nitrite를 정량하는 방법은 nitrite를 sulfanilamide와 반응시킨 후 생성된 diazonium salt에 *N*-(1-naphthylethylenediamine dihy-

drochlroride)를 가하여 azo dye를 형성시킨 후 파장 540에서 검출하는 방법이 많이 이용되고 있고, nitrite는 직접 220 nm 부근 자외선 영역에서 측정하는 방법과 환원방법을 이용하여 nitrite로 환원시켜 측정하는 방법이 보편적이다. 본 실험에서는 hydrazine 용액을 이용한 방법을 활용하였고 컬럼을 사용하는 방법은 환경오염 등의 문제점 때문에 사용하지 않았다. Ammonium을 정량하는 방법으로는 Indophenol 법과 Nessler 방법이 일반적으로서 indophenol법의 경우 안정화된 흡광도를 얻기 위해서는 발색시간이 30분 이상 요구되는 제약이 있으나 Nessler 방법은 발색 반응시간이 빠르기 때문에 FIA방법에 활용하기가 상대적으로 적합하였다.

현재까지 다양한 연구결과로 FIA의 시료에 대한 응용분야의 폭이 넓어져 식물,[10] 토양,[11] 슬러리[12~14] 및 음식물 등에 까지 활용되고 있으며 추출[15]과 농축 분리에 관한 연구도 활발하다. 한 가지 성분을 연속적으로 검사할 수 있는 자동화 시스템[16~18] 구축은 미흡한 실정이며 점차 새로운 영역으로 주목받고 있다. 또한 응용분야가 음용수, 바닷물 또는 폐수 등 수질 분야에 주로 한정되어 있으며 토양분야의 연구는 활발하지 못한 실정이다. 따라서 본 연구는 nitrite, nitrate 그리고 ammonium을 동시에 측정하는데 있어서 환원제, 촉매, 방해이온 제거제, 알칼리 농도 및 FIA의 물리적 조건을 설정하여 최적의 FIA 시스템을 구성하고 자동화 및 토양 오염성분 측정에 활용하도록 하였다.

실 험

시약 및 기기

실험에 사용된 모든시약들은 1급 또는 특급시약을 정제하지 않고 사용하였으며 물은 1차 증류 후 2차로 이온 교환수지를 통과시킨 것을 사용하였다.

$N(NO_2^-)$ 측정시약. 표준용액은 일본 Kanto사의 sodium nitrite 1.00 g을 1 L 탈염수에 녹인 후 필요한 농도(0.06~66.2 μg/mL)로 묽혀 사용하였다. 미국 Acros Organics사의 sulfanilamide 0.5 g을 염산용액(1 : 5 V/V) 100 mL에 녹여 nitrite의 diazonium salt 형성에 사용했으며, 일본 Yakuri사의 *N*-(1-naphthylethylenediamine dihydrochloride) (NED)를 탈염수에 녹여 0.1% (W/V)로 조제한 후 사용하였다.

$N(NO_3^-)$ 측정시약. 일본 Junsei사의 sodium nitrate 1.00 g을 탈염수 1 L에 녹여 저장용액으로 사용하였으며 발색 분광도법으로 측정할 때 nitrite를 불용화 시키기 위해 sulfuric acid 17 mL와 sulfamic acid 30.0 g을 1 L 탈염수에 섞어 혼합산성 용액으로 사용하였다. 또한 FIA 방법에서 nitrate를 nitrite로 환원시킬 때 사용된 용액은 hydrazine sulfate 20.3 g, copper sulfate 2.0 g, zinc sulfate 4.1 g 그리고 sodium hydroxide 80 g을 1 L 탈염수에 녹여 저장용액으로 만든 후 필요한 농도로 묽혀 사용하였다.

$N(NH_4^+)$ 측정시약. 일본 Junsei사의 ammonium chloride 1.00 g을 저장용액으로 만든 후 필요한 농도(0.01~16.6 μg/mL)를 만들어 사용하였다. Indophenol 법으로 ammonium을 정량할 때 사용되는 sodium phenol nitroprusside는 일본 Kanto사의 phenol 5.00 g과 독일 Merck사의 sodium nitroprusside 0.025 g을 500 mL에 녹여 만들었다. Sodium hypochlorite는 일본 Yakuri사의 유효염소량 12% 용액을 1.2%(V/V)로 묽혀 사용했으며 FIA방법으로 측정할 때 사용된 Nessler 시약은 일본 Kanto사의 제품을 사용하였다.

FIA 장치. FIA에서 시료 용액을 이동시키기 위해 유속을 0.3 μL/min에서 4 mL/min까지 조절할 수 있는 프랑스 Gilson사의 Minipuls 3(8 channel) peristaltic pump를 활용하였다. FIA 검출기는 미국 Applied Biosystem사의 757 Absorbance detector(측정범위 : 190~800 nm)를 이용하였고, 발색 흡광도 측정은 미국 Hewlett Packard사의 HP 8451A diode array spectrometer(측정범위 : 190~820 nm)를 활용하였다. 시약 및 시료의 이동은 내경 0.32 mm와 0.8 mm PTFE(polytetraflouroethylene) tubing을 사용하였고 teflon tube(i.d.: 0.5 mm)는 반응코일로 이용하였다. 본 실험에 이용한 FIA구조는 *Fig.* 1에 나타내었다.

Ion chromatograph. 표준용액과 수질시료중의 음이온 nitrite와 nitrate 분석결과를 상호 비교하기 위해 이용된 ion chromatograph는 anion micro membrane suppressor(amms)와 음이온 분석용 컬럼 HPIC-AS4A를 갖춘 미국 Dionex사의 2000i series를 활용하였다.

실험방법

FIA시스템의 구조적 인자 결정. FIA측정 방법 중 시료의 주입양, 시약 및 시료의 흐름속도, 시료와 시약의 반응도를 결정하기 위해서 nitrite 3.47 μg/mL 표준용액을 사용하여 각각의 인자변화에 대한

흡광도의 변화를 면적비율로 측정하였다. 시약 및 시료의 속도는 0.7~3.8 mL/min, 반응코일의 길이는 50~400 cm, 주입양은 10~100 μL까지 변화시키면서 흡광도를 측정하였다. 환원코일의 모양은 매듭진 형태로 만들어 사용하였고 nitrate의 환원반응에 이용된 항온조의 온도는 45 ℃로 유지시켰으며 항온조 내부의 반응코일의 길이는 200 cm로 조절하였다.[19]

시료의 측정방법. FIA방법에 의한 nitrite, nitrate 및 ammonium성 질소의 정량은 *Fig.* 1의 구조를 이용하여 측정하였다. 발색 분광도법에의한 측정은 다음과 같이 실험하였다. $N(NO_2^-)$은 25 mL 부피 플라스크에 시료 5 mL를 넣고 0.5% sulfanilamide 1 mL와 NED 1 mL를 넣은 후 탈염수로 25 mL를 맞춘 후 파장 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. $N(NO_3^-)$의 검출방법은 시료 5 mL에 혼합산성용액 1 mL를 가한 후 탈염수로 25 mL로 묽혀 220 nm에서 측정하였다. Indophenol법을 이용한 $N(NH_4^+)$의 측정방법은 알칼리상태의 시료 5 mL를 25 mL 부피 플라스크에 넣고 1.2% hypochlorite 용액을 가하였다. Sodium phenol nitroprusside 용액 5 mL를 넣어 25 mL로 묽힌 다음 1시간 경과 후 640 nm에서 측정하였다. 발색 분광도법에 의한 모든 실험은 동일한 조건에서 표준용액 실험과 바탕용액 실험을 병행하여 실제시료의 흡광도를 보정하였다.

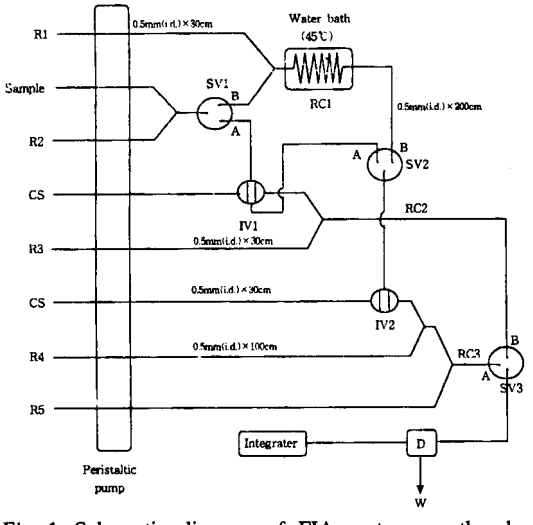

Fig. 1. Schematic diagram of FIA system on the determination of nitrite, nitrate and ammonium nitrogen. R 1: reduction solution, R2: sodium hydroxide, R3: nessler's reagent, R4: sulfanilamide, R5: *N*-(1-naphthylethylenediamine); SV1, SV2, SV3: injection valve; RC1: reaction coil of reduction from nitrate to nitrite, RC2: reaction coil of ammonium with nessler's reagent, RC3: reaction coil of nitrite with *N*-(1-naphthylethylenediamine); IV1, IV2: injection valve; CS: carrier solution(deionized water); W: waste; D: detector.

환원용액의 농도결정. 최적의 FIA시스템을 구성하여 nitrate를 정량할 때 환원용액으로 hydrazine을 사용하였다. 환원용액은 hydrazine sulfate, copper sulfate, zinc sulfate, sodium hydroxide를 포함하고 있다. 환원시약의 과량사용 억제와 효율적인 농도를 선택하기 위해서 각 성분의 농도변화가 흡광도 및 환원율에 미치는 영향을 검토하였다. Hydrazine sulfate의 농도는 0.0~1.0 g/L, copper sulfate 0.0~0.1 g/L, zinc sulfate 0.0~2.0 g/L 그리고 sodium hydroxide 0.0~40.0 g/L 범위에서 실험하였다. 환원용액을 nitrate 농도 0.7~66.1 μg/mL의 FIA시스템에 주입하여 환원상태에서의 nitrite 환원율을 측정하였다.

결과 및 고찰

일반적으로 nitrite의 발색 정량방법은 Griess-Ilosvay 반응이 많이 이용되었다. 즉 nitrite가 sulfanilamide와 diazonium salt를 생성 후 *N*-(1-naphthylethylenediamine dihydrochloride)과 반응하여 azo coupling을 함으로써 생성된 azo 색소를 파장 540 nm에서 검출하는 방법이다. Nitrate는 hydrazine[19,20] 또는 Cu-Cd 컬럼[21~25]을 사용하여 nitrite로 환원시킨 후 발색 정량하는 방법이 많이 이용된다. 그 외에도 chromium(II) 또는 vanadium(II)[26,27]같은 강한 환원제를 사용하기도 한다. Cu-Cd 컬럼을 사용할 경우 환원효율이 98% 이상 될지라도 카드늄을 포함한 독성폐수의 발생으로 심각한 문제를 일으킬 수 있음에 유의해야 할 것이다. 컬럼을 15~20회 사용하면 환원능력이 저하되며 이를 극복하기 위해서 활성화 용액을 흘려주기도 한다.[28,29] Indophenol법[29]에 의한 ammonium의 정량방법은 hypochlorite의 존재하에서 phenol과 반응하여 생성된 indophenol을 파장 640 nm에서 검출하는 방법이다. 위 방법은 본 연구에서 사용한 Nessler법[30]보다 감도는 우수하지만 반응이 완결되어 안정되려면 30분 이상 걸리는 제약이있다. 따라서 FIA에서 반응코일의 길이가 길어야 하고 시료의 주입횟수가 줄어들게 된다. 또한 시료용액이 산성일 경우에는 색깔이 청색에서 노란색으로 변색되므로 다른 검출파장

을 찾든지 pH를 조절하여 알칼리상태로 바꾸어야 한다.

FIA의 구조적 인자. FIA에서 전체적인 확산은 다음과 같이 3가지 인자에 의해 결정된다.[4]

$$D=D_{injection}+D_{transport}+D_{detector}$$

$D_{injection}$은 시료의 주입양과 시스템의 구조모양에 의해 결정되며 전체확산에 가장 큰 영향을 끼치는 $D_{transport}$는 시약과 시료의 흐름속도 그리고 반응코일의 모양에 의해서 결정된다. $D_{detector}$는 검출기 셀의 구조에서 일어나는 확산을 뜻한다. *Fig.* 2의 A)에서 C)는 시료의 흐름속도, 시료의 반응코일의 길이 그리고 시료의 주입양 변화에 따른 감응도 변화를 보이고 있다. *Fig.* 2의 A)는 시료의 흐름속도가 증가할수록 반응성이 낮아져 상대적 세기가 감소함을 알 수 있었다. 한편 반응속도 향상을 위해 흐름속도를 너무 느리게 감소시킬 경우 피크의 폭 넓이증가와 높이가 커지기 때문에 바탕선으로의 복귀시간이 증가하였다. 이러한 현상은 정확성을 낮추고 시료의 주입횟수를 감소시켰다. 따라서 효율성과 정확성 등을 고려하여 알맞은 시료의 흐름속도로 1.46 mL/min로 선택하였으며 시료와 시약의 흐름속도를 합한 것이다. 반응코일 길이의 경우는 시료와 반응시약의 반응이 완결된 후 검출기를 통과시키기 위해서 200 cm로 결정하였다. *Fig.* 2의 C)는 시료의 주입양이 증가하면 상대적 세기도 증가하였으나 주입의 정확도, 시료의 절약을 위해 50 μL를 결정하였다. 결정된 FIA시스템의 최적조건은 시료주입 양 50 μL, 시약의 흐름속도 1.46 mL/min 그리고 반응코일의 길이는 200 cm(i.d.: 0.5 mm)이었으며 암모늄염 이온의 측정구조는 아질산 이온의 측정용 FIA구조와 동일하였고 반응코일의 길이만 150 cm로 결정하였다.

측정반응의 비교.[31] 본 연구에서는 토양시료중 $N(NO_2^-)$, $N(NO_3^-)$ 및 $N(NH_4^+)$을 FIA방법과 발색분광법의 분석결과를 상호 비교하였다. FIA방법과 발색 분광도법에서 $N(NO_2^-)$의 측정은 Griess-Ilosvay 반응을 활용하였다. Nitrate가 pH 2.0~2.5에서 sulfanilamide와 diazonium 염을 형성 후 NED와 coupling 반응을 하여 azo 색소를 생성하게 된다. 시료 중 Sb^{3+}, Bi^{3+}, Fe^{3+}, Pb^{2+}, Hg^{2+}, Ag^+, $PtCl_6^{2-}$ 그리고 VO_3^2 이온 등이 존재할 경우에는 발색조건에서 침전물이 형성되어 정량을 방해하지 않도록 유의하였다. $N(NO_3^-)$의 정량은 혼합산성용액을 이용하여 nitrite의 방해효과를 제거한 후 자외선영역인 220 nm

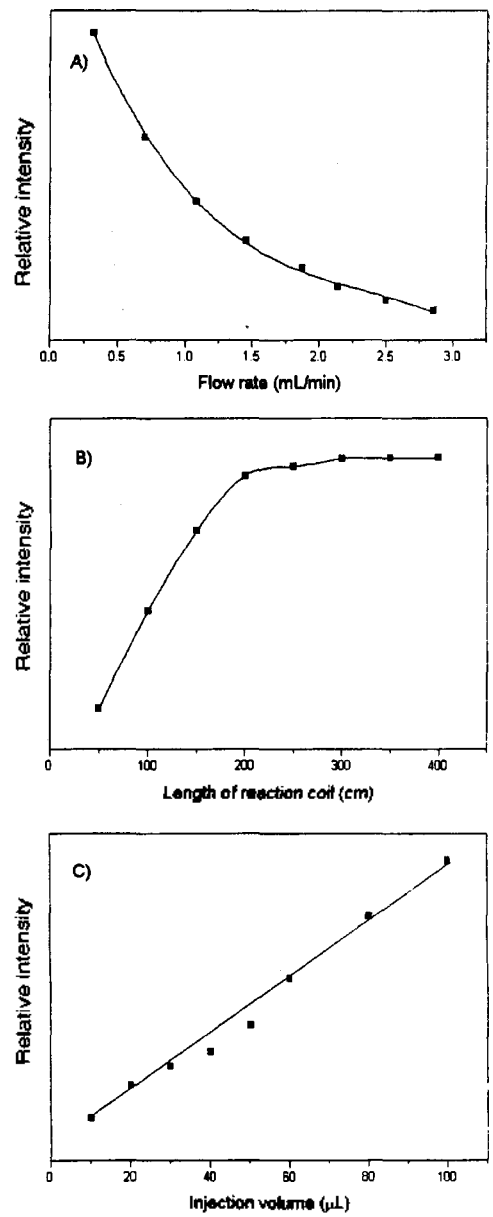

Fig. 2. Determination of optimum geometric factors for FIA having flow rate(0.7~3.8 mL/min) A), length of reaction coil(50~400 cm) B) and injection volume(10~100 μL) C). Experimental condition A) was fixed at the length of reaction coil: 100 cm and injection volume: 50 μL, B) flow rate: 1.46 mL/min and injection volume: 50 μL, C) length of reaction coil: 100 cm and flow rate: 1.46 mL/min.

에서 측정하였다. 환원방법에 의한 측정방법은 Cu-Cd 컬럼을 이용하는 방법과 hydrazine용액을 사용하는 방법을 활용하였다. 즉 Cu-Cd컬럼을 이용하는 방법은 pH 5~9의 시료를 환원시킨 후 Griess-Ilosvay반응에 의해 검출하는 과정을 이용하였다. 이 방법은 자동화시스템에 응용하기가 용이하였으며 검출한계가 0.01 μg/mL이하로 자외선 측정법이나 hydrazine 방법에 비해 감도가 좋았다. 그러나 시료에 따라서 15~20회 정도 사용하면 환원능력이 저하되므로 활성화액을 흘려주어 환원능력을 복구시켜야 하는 단점이 있었다. FIA과정에 이용한 hydrazine용액 환원방법의 경우 정확도나 재현성은 우수하였으나 낮은 농도(0.1 μg/mL 이하)에서는 Cu-Cd컬럼 방법보다 감도가 떨어졌다. $N(NH_4^+)$를 측정하는 방법은 indophenol법과 Nessler방법이 일반적이나 본 실험에서는 Nessler법을 FIA방법에 이용하였다. Nessler법은 중성상태의 시료에 NaOH를 가하여 pH 10.5를 만든 후 Nessler시약의 반응도에 따라서 400~500 nm에서 측정하였다. $N(NH_4^+)$의 농도가 0.4~5 μg/mL 사이에 있을 때 흡광도를 400~450 nm에서 측정하였고 10 μg/mL 이상의 농도는 파장 450~500 nm에서 측정하여 Lambert Beer's law를 만족시키는 구간의 농도를 선택하였다. Fe^{2+}, Ca^{2+} 및 Mg^{2+} 등의 방해이온이 Nessler시약과 반응한 침전물을 형성을 방지하도록 EDTA를 첨가하였다. 분광 광도법으로 $N(NH_4^+)$를 정량할 때 이용된 indophenol법은 시료를 알칼리 상태로 pH를 조절하였다. 반응의 활성화를 위해서 Mg염 또는 Cu염 이온대신 본 실험에서는 sodium nitroprusside을 사용하였다. 최고의 흡광도는 30~50분이 소요되었으며 측정의 정확도를 위해 동일한 시간 경과 후 흡광도를 측정하였다.

FIA에 의한 $N(NO_2^-)$ 측정. *Fig.* 1에서와 같이 시료는 SV1의 경로 A를 지나서 IV1에서 주입된다. 주입된 시료는 SV2의 A를 통해서 sulfanilamide와 혼합된 후 diazonium salt를 형성하고 *N*-(1-naphthyl-ethylenediamine dihydrochloride)와 azo coupling 반응을 하여 생성된 azo 색소를 540 nm에서 검출하였다. RC3에서 nitrate와 NED의 반응은 길이가 200 cm(I.D.: 0.5 mm)일 때 흡광도가 최고를 보였으며 더 이상 길어져도 증가하지 않았다. 이반응 코일은 (0.5 mm i.d.×200 cm in length) teflon tube를 사용했고 매듭진 형태로 만들었다. 각 인자에 대한 정립된 조건을 *Table* 1에 수록하였고 표준용액을 사용했을 때 정량범위는 0.1~33.1 μg/mL이었으며 상대표준편차(RSD)는 0.2~14.0%이었다.

FIA에 의한 $N(NO_3^-)$ 측정. 본 연구에서 nitrate를 정량하는 방법으로 hydrazine 용액 환원법을 사용했다. *Fig.* 1에서 시료는 SV1의 경로 B를 통하여 RC1에서 환원용액과 반응하여 nitrite로 환원된다. 이때 반응코일은 항온조에서 43 ℃로 유지하였다.[19] 환원된 시료는 SV2의 B를 통과한 후 IV2에서 주입되어 sulfanilamide와 반응하고 NED와 결합하여 생성된 azo 색소를 파장 540 nm에서 측정하였다. 실험조건은 *Table* 1에 나타내었고 농도는 식 (1)과 같이 계산하였다. $C_{nitrate}$는 nitrate의 농도이며 C_{total} nitrite는 nitrate와 nitrite의 전체농도를 뜻한다. $C_{nitrite}$는 nitrite의 농도를 나타낸다.

$$C_{nitrate}=C_{total-nitrite}-C_{nitrite} \quad (1)$$

용액 중 Cu(II)는 환원반응의 촉매로 사용되었으며 Zn(II)는 nitrate 정량에서 이온 및 금속들의 방해효과를 제거하기 위해 사용되었다.[10] 환원용액에 포함된 각각의 시약이 흡광도와 환원율에 끼치는 효과를 *Fig.* 3과 4에 보였다. Hydrazine의 농도증가는 nitrite의 흡광도에 음적인 방해가 있었으며 0.2 g/L에서 환원율은 최고가 되었다. Cu(II)는 0.05 g/L, Zn(II)는 0.2 g/L, 그리고 NaOH는 40 g/L에서 최대의 환원율을

Table 1. The geometric conditions of flow injection analysis on the determination of nitrite and nitrate

Experimental component	Components	Conditions of configuration
Reaction coil	NO_2^- & NO_3^-	0.5 mm I.D.× 200 cm in length
Reduction coil	NO_3^-	0.5 mm I.D.× 300 cm in length
Temp. of water bath		43 ℃
Flow rate of carrier solution	NO_2^- & NO_3	1.46 mL/min Deionized water
Flow rate of reagent solution		1.09 mL/min 0.5% Sulfanilamide 1.09 mL/min 0.1% NED
Flow rate of reduction solution	NO_3^-	1.46 mL/min
Injection volume		50 μL
Measurement		540 nm

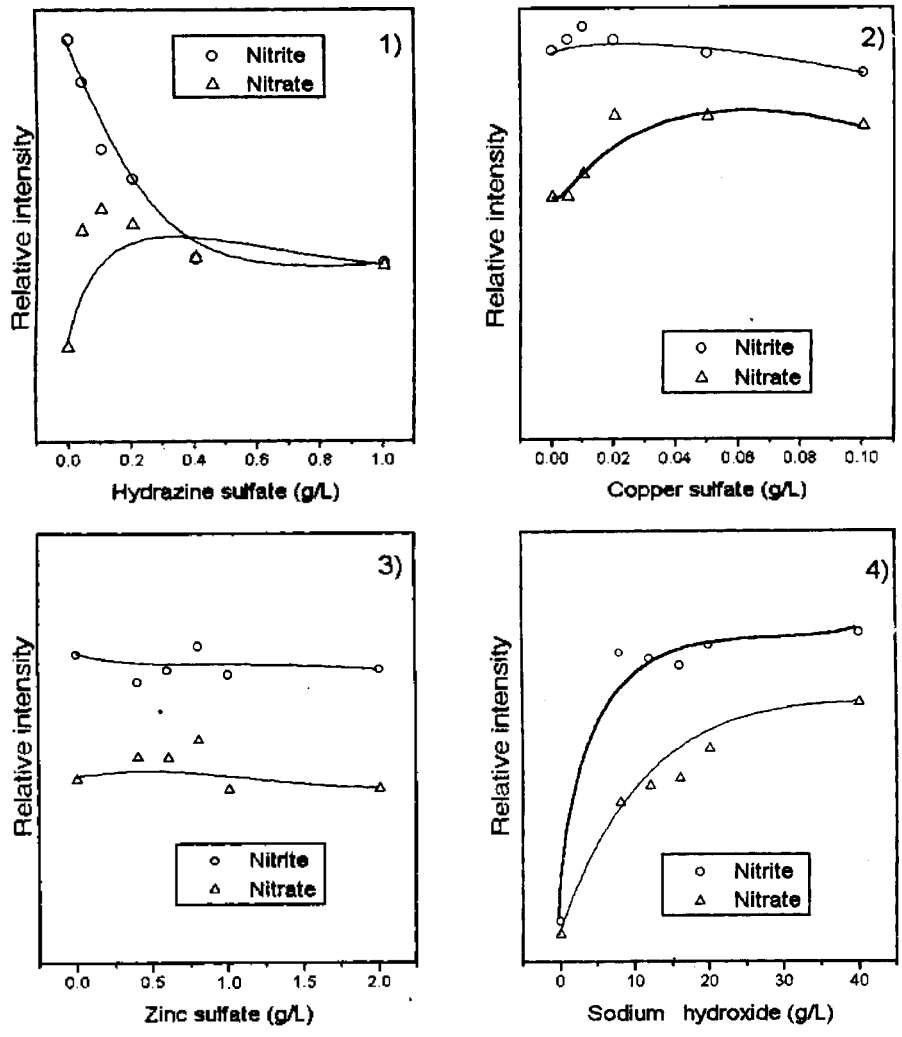

Fig. 3. Effect of reduction chemical reagent containing hydrazine sulfate 1), copper sulfate 2), zinc sulfate 3) and sodium hydroxide 4) on the absorbance of (0) nitrite and (△) nitrate reducted to nitrite. All measurements were caculated based on the area of nirite 4.13 μg/mL and nitrate 3.34 μg/mL. The optimum hydrazine sulfate, copper sulfate, zinc sulfate and sodium hydroxide were found to be 2.0 g/L, 0.05 g/L, 0.2 g/L and 40.0 g/L respectively. The geometric condition of FIA is listed in *Table* 1.

얻을 수 있었다. 정립된 조건에서 nitrate는 0.4~27.4 μg/mL 범위에서 직선성을 얻었으며 RSD는 1.0%에서 9.0% 범위이었다.

FIA에 의한 $N(NH_4^+)$ 측정. Nessler법은 indophenol 법보다 감도는 약간 높지만(D.L.: 0.3 μg/mL) 반응시간이 짧았고 시료를 알칼리 상태로 만든 후 Nessler 시약과 반응시켜 440 nm에서 측정하였다. *Fig.* 1에서와 같이 SV1의 A를 통과한 알칼리상태의 시료가 IV1에서 주입되어 RC2에서 Nessler시약과 반응 후 SV3의 B를 지나 440 nm에서 검출된다. 정립된 조건은 *Table* 2에 나타냈으며 0.3~16.0 μg/mL 범위에서 정량적인 직선을 얻었고 RSD는 0.5%에서 12.0%이었다.

FIA 중 환원코일에서의 특징인자. 정립된 FIA구조에서 시료가 주입되어 환원반응코일을 지나서 검출되는 nitrite의 흡광도(Absorbance at reductive condition: Ar)와 직접 발색제와 반응하여 검출되는 nitrite의 흡광도(Absorbance at non reductive condition:

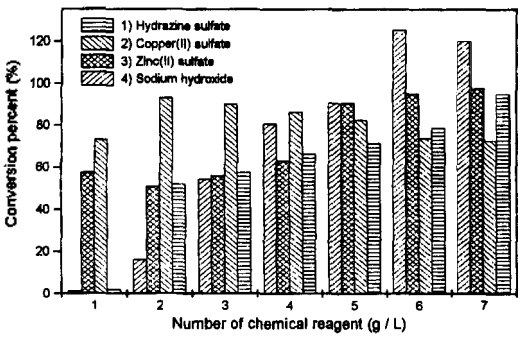

Fig. 4. Effect of reduction chemical reagent which containing hydrazine sulfate(0.0~1.0 g/L) 1), copper sulfate (0.0~0.1 g/L) 2), zinc sulfate(0.0~2.0 g/L) 3) and sodium hydroxide(0.0~40.0 g/L) 4) on the conversion ratio of nitrate to nitrite. Conversion ratio from nitrate to nitrite was determined ranged from 90.1% to 95.3%. The geometric condition of FIA is listed in *Table* 1.

Table 2. The geometric conditions of flow injection analysis on the determination of ammonium nitrogen

Experimental condition	Condition of configuration
Reaction coil	0.5 mm I.D.×150 cm in length
Flow rate of carrier solution	1.46 mL/min
Flow rate of reagent solution	1.09 mL/min
Injection volume	50 μL
Measurement	440 nm

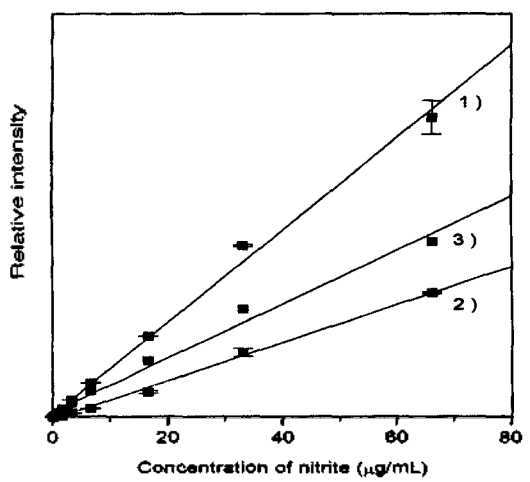

Fig. 5. Calibration graphs of nitrite under the non reductive condition 1) and reductive condition 2). 3) indicates difference non reductive condition 1) and reductive condition 2).

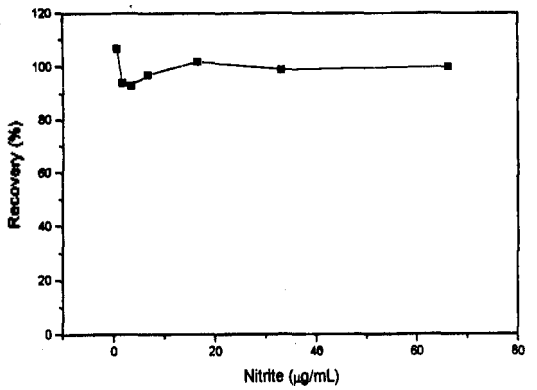

Fig. 6. Recovery of nitrite passing through a reduction coil ranged from 0.7 μg/mL to 66.1 μg/mL.

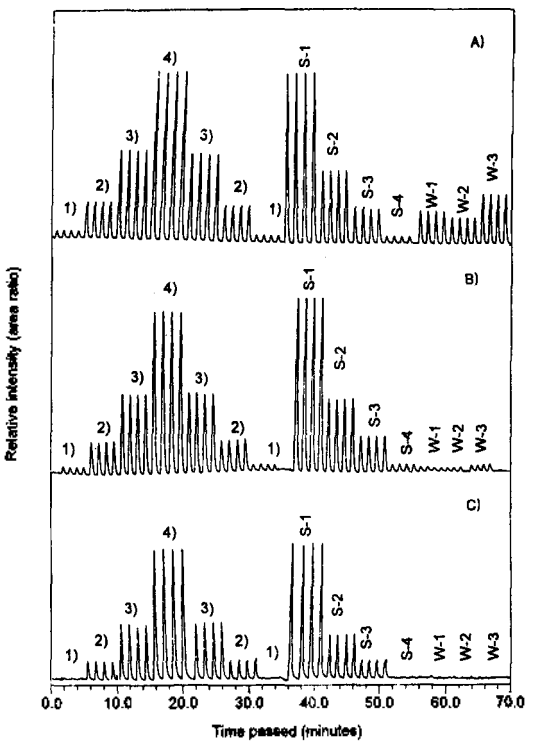

Fig. 7. Chromatograms of FIA on the determination of nitrite A), nitrate B) and ammonium C) nitrogen in standard mixture solution and waste water. Concentration of standard; NO_2^- (non-reductive condition): 0.54 μg/mL 1), 2.71 μg/mL 2), 6.79 μg/mL 3), 13.6 μg/mL 4); NO_2^- (reductive condition): 1.18 μg/mL 1), 5.92 μg/mL 2), 14.8 μg/mL 3), 26.9 μg/mL 4); NH_4^+: 0.27 μg/mL 1), 1.37 μg/mL 2), 3.42 μg/mL 3), 6.83 μg/mL 4); S-1, S-2, S-3, S-4 represent for standard mixture solution and W-1, W-2, W-3 represent for the result from waste water samples. Working condition is listed in *Table* 1 or 2.

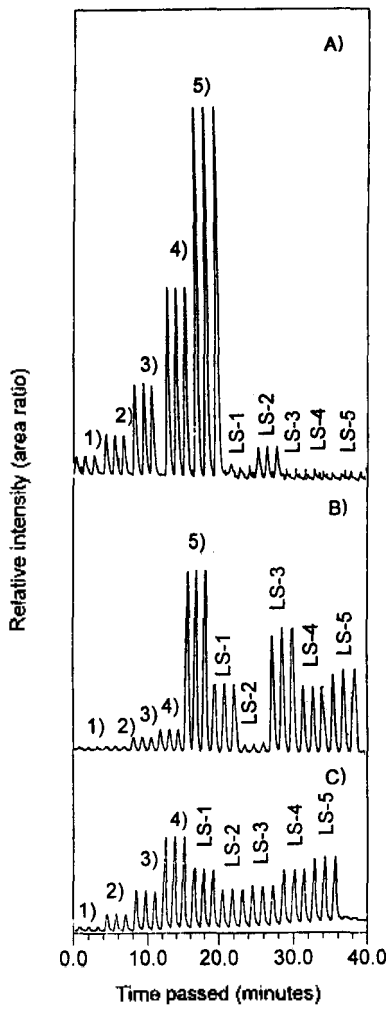

Fig. 8. Chromatograms of FIA on the determination of nitrite A), nitrate B) and ammonium C) nitrogen in a reclaimed land soil. Concentration of standard; NO_2^- (non-reductive condition): 0.06 μg/mL 1), 0.13 μg/mL 2), 0.33 μg/mL 3), 0.66 μg/mL 4), 1.32μg/mL 5); NO_2 (reductive condition): 0.13 μg/mL 1), 0.33 μg/mL 2), 0.66 μg/mL 3), 1.32 μg/mL 4), 6.62 μg/mL 5); NH_4^+: 0.22 μg/mL 1), 0.44 μg/mL 2), 2.20 μg/mL 3), 4.40 μg/mL 4); LS-1, LS-2, LS-3, LS-4, LS-5 represent for remediated land soil. Working condition is listed in *Table* 1 or 2.

An)를 비교하여 nitrite의 회수율을 계산하였다. *Fig.* 5의 1)과 2)는 두 상태에서의 nitrite 검정곡선을 도시한 것이며, 3)은 두 조건하에서의 차를 나타낸 것이다. 계산된 nitrite의 회수율은 0.7~66.1 μg/mL 범위에서 93%에서 107%이었고 *Fig.* 6에 결과를 도시하였다. Ar와 Ar의 기울기를 비교한 결과 FIA 시스템의 묽힘인자가 2.4임을 알았다.

Table 3. Comparison of analytical data measured by colorimetry, ion chromatography and flow injection analysis in standard mixture solutions(S) or waste water (W) (unit: μg/mL)

Sample	Elements	Analytical method			Ratio[b]	Ratio[c]
		Colo-	IC[a]	FIA		
S-1	N	4.10	5.01	4.02	0.98	0.80
		4.02	3.76	3.61	0.90	0.96
		5.27	-	5.33	1.01	-
S-2		1.67	1.92	1.61	0.96	0.84
		1.68	1.39	1.47	0.88	1.06
		2.15	-	2.15	1.00	-
S-3		0.85	0.89	0.79	0.93	0.89
		0.89	0.71	0.76	0.85	1.07
		1.07	-	1.09	1.02	-
S-4		0.16	0.25	0.14	0.88	0.56
		0.18	0.13	0.21	1.17	1.62
		0.12	-	0.21	1.25	-
W-1		11.7	15.4	11.47	1.22	0.93
		0.07	N.D.	0.16	2.29	-
		0.50	-	0.54	1.08	-
W-2		4.00	4.20	9.02	1.09	1.03
		0.07	N.D.	0.12	1.71	-
		0.70	-	0.86	1.22	-
W-3		8.63	9.1	17.17	0.95	0.90
		0.03	N.D.	0.06	2.00	-
		0.40	-	0.50	1.25	-

[a]Ion chromatography, [b]Ratio of the analytical data from FIA for the colorimetry, [c]Ratio of the analytical data from FIA for the ion chromatography, N.D.: Not detected.

FIA의 분석결과 및 비교. 정립된 조건하의 FIA의 효능을 검토하기 위해서 표준시료 및 실제시료를 측정하였으며 발색 분광도법과 ion chromatography와의 결과를 비교하였다. *Fig.* 7은 FIA를 활용한 표준혼합물 용액과 수질시료의 크로마토그램이고 *Fig.* 8은 토양시료를 추출한 용액중 대상성분을 측정한 크로마토그램이다. 수질과 토양시료중 세 가지 성분의 분석결과는 *Table* 3과 4에 각각 비교해서 나타내었다. FIA를 이용 수질시료를 분석한 결과 $N(NO_3^-)$와 $N(NH_4^+)$는 1.00 μg/mL 이하로 검출되었으며 $N(NO_2^-)$은 4.34 μg/mL 또는 14.3 μg/mL 검출되었다. 표준혼합물 용액이나 수질시료의 경우 각각의 성분이 0.5 μg/mL 이상 함유되어 있을 때 FIA방법은 발색 분광도법이나 Ion chromatography의 결과에 대한 상대적 비율이 0.80 내지 1.25로 정량적이었다. 토양

Table 4. Comparison of analytical data for the measurement of nitrite, nitrate and ammonium nitrogen as spiked by colorimetry or flow injection analysis in a remediated land soil(LS) (unit: μg/mL)

Sample	Elements	Colorimetry				FIA				Ratio[a]
		Added	Found	Recovery(%)	RSD(%)	Added	Found	Recovery(%)	RSD(%)	
LS-1	$N(NO_2^-)$	0	0.25	-	5.9	0	0.14	-	5.12	0.56
		0.66	0.90	99	0.1	0.66	0.77	96	2.7	-
	$N(NO_3^-)$	0	326	-	0.2	0	313	-	8.3	0.96
		20.6	346	100	0.1	20.6	383	115	2.7	-
	$N(NH_4^+)$	0	124	-	0.4	0	159	-	6.0	1.28
		107.1	238	103	0.3	107	314	118	1.3	-
LS-2	$N(NO_2^-)$	0	1.9	-	0.6	0	3.5	-	0.1	1.84
		0.66	2.6	100	0.4	0.66	3.9	95	2.4	-
	$N(NO_3^-)$	0	48.0	-	0.4	0	33.1	-	6.1	0.69
		20.6	66.5	97	0.1	20.6	58.4	109	2.2	-
	$N(NH_4^+)$	0	85.1	-	0.8	0	97.3	-	1.9	1.14
		107.1	247	129	0.6	107	208	102	2.0	-
LS-3	$N(NO_2^-)$	0	0.04	-	19.1	0	0.07	-	0.2	1.75
		0.66	0.75	107	0.1	0.66	0.65	89	0.3	-
	$N(NO_3^-)$	0	458	-	0.1	0	456	-	5.6	1.00
		20.6	445	93	0.2	20.6	467	98	9.0	-
	$N(NH_4^+)$	0	97.2	-	0.2	0	103	-	0.6	1.06
		107.1	259	127	0.8	107	222	106	0.8	-
LS-4	$N(NO_2^-)$	0	0.08	-	10.5	0	0.13	-	8.7	1.63
		0.66	0.75	101	0.3	0.66	0.71	89	5.1	-
	$N(NO_3^-)$	0	233	-	0.2	0	218	-	1.0	0.94
		20.6	278	110	0.1	20.6	217	91	6.8	-
	$N(NH_4^+)$	0	100	-	0.4	0	142	-	0.4	1.42
		107	267	129	0.5	107.1	293	118	2.2	-
LS-5	$N(NO_2^-)$	0	0.07	-	6.5	0	0.14	-	10.9	2.0
		0.66	0.77	106	0.1	0.66	0.75	94	1.6	-
	$N(NO_3^-)$	0	271	-	0.1	0	264	-	2.5	0.97
		20.6	303	104	0.1	20.6	313	110	1.3	-
	$N(NH_4^+)$	0	118	-	0.6	0	172	-	1.0	1.46
		107	267	119	0.3	107.1	298	107	0.9	-

[a]Ratio of the analytical data from FIA for the colorimetry.

시료 중에는 $N(NO_2^-)$의 농도에 비해 $N(NO_3^-)$와 $N(NH_4^+)$의 농도가 상대적으로 많이 검출되었고 발색 분광도법에 대한 FIA법의 상대적 비율은 0.56 또는 1.84이었다. FIA를 이용한 토양시료 분석결과 $N(NO_2^-)$는 0.07~3.50 μg/mL, $N(NO_3^-)$는 33 μg/mL 또는 456 μg/mL 그리고 $N(NH_4^+)$는 97 μg/mL 내지 172 μg/mL가 검출되었다. 시료에 각 성분의 표준용액을 일정량씩 첨가한 후 같은 방법으로 정량하여 FIA의 결과를 뱃치법과 비교하여 토양시료에 대한 각 성분의 회수율을 측정한 결과 발색 분광도법에서는 93%에서 129%의 값을 얻었으며 FIA방법에서는 89%에서 118%의 회수율의 결과를 얻었다(*Table* 4).

결 론

수질오염 성분 중 $N(NO_2^-)$, $N(NO_3^-)$ 및 $N(NH_4^+)$ 측정용 FIA시스템(*Fig.* 1)의 최적조건으로서 시료주입 양 50 μL, 시약의 흐름속도 1.46 mL/min 그리고 반응코일의 길이 200 cm(i.d.: 0.5 mm)으로 결정하였고 환원용액의 농도는 hydrazine은 0.2 g/L, Cu(II)는 0.05 g/L, Zn(II)는 0.2 g/L, 그리고 NaOH는 40 g/L에서 최적의 환원율을 얻을 수 있었다. 표준용액을 사용하여 얻은 본 FIA 시스템에서의 $N(NO_2^-)$, $N(NO_3^-)$와 $N(NH_4^+)$의 검출한계는 0.1 μg/mL, 0.4 μg/mL 그리고 0.3 μg/mL이었고 실제 토양시료를 분석

하여 응용한 결과 $N(NO_2^-)$는 0.07~3.50 μg/mL, $N(NO_3^-)$는 33 μg/mL 또는 456 μg/mL 그리고 $N(NH_4^+)$는 97 μg/mL 내지 172 μg/mL가 검출되었다. 수질시료의 경우 각각의 성분이 0.5 μg/mL 이상 함유되어 있을 때 FIA방법은 발색 분광도법이나 ion chromatography의 결과에 대한 상대적 비율이 0.80 내지 1.25로 정량적이었고 회수율은 발색 분광도법으로는 93%에서 129%의 값을 얻었고, FIA방법으로는 89%에서 118%의 결과를 얻었다. FIA방법을 이용한 수질과 토양시료 중의 $N(NO_2^-)$, $N(NO_3^-)$ 및 $N(NH_4^+)$를 분석한 결과 비색법과 ion chromatography의 결과를 비교해 볼 때 신속성과 재현성 및 정량적인 면에서 우수하였다. 특히 대량의 연속적인 검사가 요구되는 수질 및 대기시료 등 환경분야에 자동화가 이루어질 경우 유효성은 더욱 커질 것이며 앞으로 활발한 연구가 요구된다.

인 용 문 헌

1. Ruzicka, J.; Hansen, E. H. *Anal. Chim. Acta* **1975**, *78*, 145.
2. Ruzicka, J.; Hansen, E. H. *Anal. Chim. Acta* **1980**, *114*, 19.
3. Ruzicka, J.; Hansen, E. H. *Flow Injection Analysis*; Elving, P. J.; Winefordner, J. D., Ed.; John Wiley & Sons Press: New York, U. S. A., 1981; p 74.
4. Valcarcel, M.; Luque de Castro, M. D. *Flow Injection Analysis: Principles and applications*; Lyle, S. J.; Chalmers, R. A., Ed.; John Wiley & Sons Press: New York, U. S. A., 1981; p 74.
5. Linares, P.; Luque de Castro, M. D.; Valcarcel, M. *Rev. Anal. Chem.* **1985**, *8*, 229.
6. Luque de Castro, M. D.; Valcarcel, M. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **1990**, *38*, 171.
7. Chen, D.; Luque de Castro, M. D.; Valcarcel, M. *Analyst* **1991**, *116*, 1095.
8. Anderson, L. *Anal. Chim. Acta* **1979**, *110*, 123.
9. Gine, M. F.; Bergamin, F. H.; Zagatto, E. A. G.; Reis, B. F. *Anal. Chim. Acta* **1980**, *114*, 191.
10. Gine, M. F.; Reis, B. F.; Zagatto, E. A. G.; Jacintho, A. O. *Anal. Chim. Acta* **1983**, *155*, 131.
11. Shiraio, F.; Okajima, Y.; Maekoya, C. Takata, Y. *Bunseki Kagaku* **1989**, *38*, 413.
12. Hartz, T. K. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **1994**, *25*, 511.
13. Carlson, R. M.; Cabrera, R. I.; Paul, J. L.; Quick, J.; Evans, R. Y. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **1990**, *21*, 1519.
14. Tel, D. A.; Heseltine, C. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **1990**, *21*, 1681.
15. Luo, Y.; Al-Othman, R.; Ruzicka, J.; Christian, G. D. *Analyst* **1996**, *121*, 601.
16. Hulsman, M.; Bos, M.; van der Linden, W. E. *Anal. Chim. Acta* **1996**, *324*, 13.
17. Slanina, J.; Bakker, F.; Bruyn-Hes, A.; Mols, J. J. *Anal. Chim. Acta* **1980**, *113*, 331.
18. Betteridge, D.; Timonthy, J. S.; Adrian, P. W. *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 2258.
19. Madesen, B. C. *Anal. Chim. Acta* **1981**, *124*, 437.
20. Oms, M. T.; Cerda, A.; Cerda, V. *Anal. Chim. Acta* **1995**, *315*, 321.
21. Al-Wehaid, A.; Alan, T. *Anal. Chim. Acta* **1986**, *186*, 289.
22. Jacobus, F.; Van, S. *Anal. Chim. Acta* **1982**, *138*, 403.
23. Anne, D.; Dominique, B.; Michel, L.; Jacques, P. *Anal. Chim. Acta* **1995**, *308*, 413.
24. Azad T. F.; Alan, T. *Anal. Chim. Acta* **1986**, *179*, 233.
25. Cerda, A.; Oms, M. T.; Forteza, R.; Cerda, V. *Analyst* **1996**, *121*, 13.
26. Schothorst, R. C.; Reijn, J. M.; Poppe, H.; Den Boef, G. *Anal. Chim. Acta* **1983**, *145*, 197.
27. Schothorst, R. C.; Den Boef, G. *Anal. Chim. Acta* **1985**, *175*, 305.
28. Shoji, M.; Masahiro, S. *Anal. Chim. Acta* **1995**, *308*, 406.
29. Department of environment. *Official Test Method of Environmental Pollution*; Seoul, Korea, 1995; p 83.
30. Zhi, Z. L.; Rios, A. Valcarcel, M. *Anal. Chim. Acta* **1994**, *293*, 163.
31. American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*; Arnold E. Greeberg; Lenore S. Clesceri; Andrew D. Eaton, Ed.; American Public Health Association: Washington, DC, U. S. A., 1992; p 4~75.