

흐름주입분석기법을 채용한 과산화수소의 흡수분광법 정량에 관한 연구

黃 燾* · 洪承基 · 李枝妍
강원대학교 자연과학대학 화학과
(2001. 9. 28 접수)

A Study on the Spectrometric Determination of Hydrogen Peroxide Using a Technique of Flow Injection Analysis

Hoon Hwang*, Seung-Ki Hong and Ji-Yeon Lee

Department of Chemistry, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea
(Received September 28, 2001)

요 약. 산성조건에서 H_2O_2 가 $HCrO_4^-$ 이온과 반응하여 진한 청색의 $CrO(O_2)_2$ 를 형성하는 반응에 흐름 주입분석을 도입하여 수용액시료 중 H_2O_2 의 양을 정량할 수 있는 흡수분광분석법을 개발하였다. 이 분석법에 의한 H_2O_2 의 정량범위는 $2.00 \times 10^{-6} M \sim 0.020 M$ 이며, 측정한계는 약 $1.5 \times 10^{-6} M$ 이다. 또한, 이 분석법은 실제 강우와 강설 중에 존재하는 과산화수소의 농도결정에도 사용할 수 있음이 밝혀졌다.

ABSTRACT. Hydrogen peroxide(H_2O_2) reacts with $HCrO_4^-$ in an acidic condition to produce $CrO(O_2)_2$ which exhibits an intense blue color. This reaction is coupled with a technique of Flow Injection Analysis(FIA) for the absorption spectrometry of H_2O_2 in the aqueous samples. The method could be applied for the determination of H_2O_2 over the range of $2.00 \times 10^{-6} M \sim 0.020 M$ with the limit of detection of $\sim 1.00 \times 10^{-6} M$. The method was also used to successfully determination of the H_2O_2 content in the snow and rain samples.

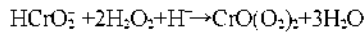
서 론

지상으로부터 방출된 이산화황(SO_2)기체가 대기 중의 응축상(condensed phase)에서 안정한 형태의 화학종으로 변환되는 과정은 아주 중요하다. 그 이유들 중의 하나는 강우나 강설 등의 산성화에 미치는 영향 때문이다. 반응속도에 관련된 실험결과들과 열역학적 수치들에 근거하면, H_2O_2 는 대기중 물(atmospheric water)에서 S(IV)화학종들이 S(VI)화학종들로 변화되는 과정(예: $SO_{2(g)} \rightarrow SO_4^{2-}{}_{(aq)}$)에서 주요 산화제로서의 역할을 수행한다는 사실이 밝혀졌다.¹ 이와 같이 H_2O_2 에 의한 산화반응이 중요하게 고려되는 이유들은 다음과 같다. 첫째, H_2O_2 에 의한 S(IV)의 산화반응은 산성인 조건에서 그 속도가 더 빨라지기 때문이다. 따라서 이미 산성으로 변화된 환경에서도 H_2O_2 에 의한 산화반응은 지속될 수

있다는 사실이다. 둘째, H_2O_2 와 함께 산화제로써 고려되는 오존(O_3)이나 산소(O_2) 그리고 이산화질소(NO_2)들 중에서 H_2O_2 가 물에 가장 잘 녹기 때문이다. 따라서 H_2O_2 가 대기 중의 액체상에 가장 많이 녹아 들어가 농축될 수 있다는 사실이다. 결국 H_2O_2 의 정량작업은 대기 중에서 발생하는 몇 가지 과정들에 대한 이해를 위해 필수적인 작업이라 할 수 있다. 또한, H_2O_2 의 정량 방법은 포도당(glucose)이나 콜레스테롤(cholesterol) 그리고 요산(uric acid)과 같이 임상학적으로 중요한 물질의 정량작업에 사용되기도 하는데, 그 이유는 이런 물질들이 효소(enzyme)에 의해 분해되는 경우 생성되는 물질들 중의 하나가 바로 H_2O_2 이기 때문이다. 따라서 효소에 의한 분해반응은 화학양론적으로 일어나므로 생성된 H_2O_2 의 농도를 알아낸다면 분해반응이 일어나기 전 반응물의 초기농도를 알아낼 수가 있다. 수용액 중

에 존재하는 H₂O₂의 농도를 알아내는 방법들은 이미 다양하게 개발되어 사용되고 있으며, 일반적으로 분광학적 방법(spectrophotometric method)²이나 전기화학적 방법(electrochemical method)³들을 들 수 있다. 이들 방법들의 측정한계(limit of detection, LOD)는 약 10⁻⁶ M이다. 이들 정량법에 비해 더 높은 감도(sensitivity)를 요구하는 분석에서는 형광(fluorescence)이나 화학발광(chemical luminescence)현상에 근거를 둔 발광법(luminescence method)⁴이 활용되기도 한다.

이 실험에서는 기존의 분광분석법들에 비해 보다 경제적이고 간편하게 수용액 중 H₂O₂를 정량할 수 있는 흡수분광분석법을 개발하고자 하였다. 이를 위해 다음과 같은 화학반응을 사용하였으며,



이 화학반응은 이미 Cr(VI)의 정량에 사용되어진 적이 있다.⁵ 즉, 산성조건에서 H₂O₂는 Cr(VI)과 반응하여 진한 청색의 CrO(O₂)₂를 형성한다. 이 반응은 정량적으로 진행하며, 생성된 CrO(O₂)₂는 불안정하여 연두색의 Cr³⁺이온으로 쉽게 분해된다. 따라서 연속흐름주입분석기법을 도입하여 상대적으로 높은 몰흡광계수를 가지는 진한 푸른색의 CrO(O₂)₂이 분해되기 전에 그 양을 정량함으로써 분석법의 감도와 재현성을 증대시켰다.

실 험

FIA system. 이 실험에서 사용한 FIA system의 계통도가 Fig. 1에 실려있다. 이 system에서는 peristaltic pump (PP, Ismatec MV Pump System)와 2개의 channel들을 사용하며, 각 channel을 통한 용액의 운반을 위해서는 Tygon pump tubing(내경: 0.38 mm, Cole-Palmer Instrument

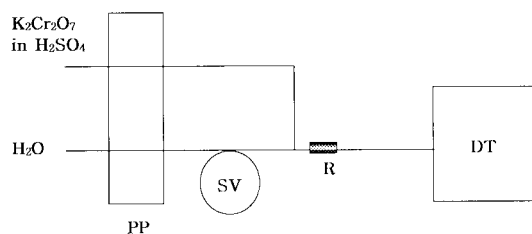


Fig. 1. Schematic diagram of the FIA system for the determination of H₂O₂ in environmental aqueous samples. PP: peristaltic pump, SV: sample injection valve, R: reaction coil (knotted delay lines), and DT: UV-VIS detector.

Company)들을 채용하였다. 또한, pump이후의 system 내의 모든 line들로는 내경이 0.38 mm인 테플론관 (PTFE tubing)을 사용하였다. Sample injection valve (SV, Rheodyne 6-port valve, loop volume: 107 μL)에 의해 주입된 H₂O₂ 함유시료는 pump(PP)의 첫 번째 channel을 통한 물의 흐름을 따라 FIA system의 내부로 운반된다. 시료의 흐름은 mixing tee에서 pump의 두 번째 channel을 통한 산성 K₂Cr₂O₇ 용액(K₂Cr₂O₇ in H₂SO₄)의 흐름과 섞인 후 반응코일(R)을 통과하면서 H₂O₂와 Cr₂O₇²⁻ 이온사이의 반응이 일어난다. 여기서 반응코일은 약 10 cm 정도의 PTFE tubing을 매듭의 형태로 꼬아 제작한 것으로 mixing tee에서 합쳐져 나오는 두 가지 용액들의 균일한 섞임을 유도함과 동시에 필요에 따라서는 두 가지 화학종들 사이의 반응시간을 부여하거나 반응의 용이성을 부여하는 역할도 수행한다. H₂O₂와 Cr₂O₇²⁻ 사이의 신속한 화학양론적인 반응의 생성물인 진한 푸른색의 CrO(O₂)₂를 함유하는 용액의 흐름은 flow-through cell(부피: 10 μL)이 장착된 검출기 (DT, UV/VIS detector, Spectra-Physics)를 통과하면서 CrO(O₂)₂에 의한 흡광도가 측정된다.

시약. 10⁻⁶M-0.1 M 농도영역의 H₂O₂ 표준용액들은 Na₂S₂O₃를 사용한 표준화적정을 통해 제조한 stock solution을 적절히 묽혀 제조하였다. H₂O₂와의 반응에 필요한 Cr₂O₇²⁻이온을 함유하는 용액들(0.05, 0.07, 0.09, 0.1, 0.2 M)은 K₂Cr₂O₇(extra pure, Junsei Chemical)을 순수(pure water, Milli Q, Academic, Millipore)에 녹여 제조하였다. 여기서 HCrO₅ 이온 대신 Cr₂O₇²⁻ 이온을 함유하는 용액을 사용한 이유는 본 실험실에서의 예비 실험결과 HCrO₅ 이온을 함유하는 용액을 사용하는 경우 baseline의 noise level이 다소 증가하여 분석법의 감도가 감소한다는 사실을 관찰하였기 때문이다. 종전의 실험에서도 HCrO₅ 이온 대신 Cr₂O₇²⁻ 이온을 함유하는 용액을 사용하는 경우 H₂O₂와의 반응성에는 아무런 차이가 없는 것으로 밝혀졌기 때문이다.⁵

결과 및 고찰

최적분석파장. 일반적인 흡수분광분석법에 의해서는 Cr₂O₇²⁻ 이온과 H₂O₂ 사이의 산화-환원반응에 의해 생성되는 수용액 중 CrO(O₂)₂의 흡수스펙트럼을 얻을 수 없는데, 그 이유는 수용액에서는 CrO(O₂)₂의 안정도가 매우 낮아 Cr³⁺이온으로 쉽게 분해되기 때문이다. 종전의

Table 1. The effect of $[H_2SO_4]$ on the formation of $CrO(O_2)_2$. The concentration of the $Cr_2O_7^{2-}$ solution was fixed at 0.1 M and a standard H_2O_2 solution of 1.00×10^{-4} M was used to measure the absorbance

$[H_2SO_4]$, M	0.05	0.1	0.2	0.5	1.0
Relative peak height	52.6	52.9	43.8	27.3	16.3

실험에서 이미 $CrO(O_2)_2$ 의 최대흡수파장에 관한 실험을 수행하였으며,⁵ 그 결과 590 nm이 $CrO(O_2)_2$ 의 최적 분석파장으로 얻어졌다. 따라서 이 실험에서도 590 nm를 그대로 사용하였다.

H_2SO_4 용액의 최적농도. 최적의 산성조건을 위한 H_2SO_4 용액의 최적농도를 구하기 위해 FIA system의 전체 유속을 고정하고 $Cr_2O_7^{2-}$ 용액의 농도는 0.10 M로 일정하게 유지한 상태에서 1.0×10^{-4} M H_2O_2 용액을 사용하여 H_2SO_4 용액의 농도변화에 따른 흡광도 변화를 측정하였다. 그 결과 기록기에 나타나는 신호의 크기들을 측정하여 Table 1과 같은 비교결과를 얻었다. 이에 따르면, H_2SO_4 용액의 농도가 0.10 M일 때 $CrO(O_2)_2$ 에 의한 흡광도가 최대이며, H_2SO_4 용액의 농도가 0.10 M보다 더 진해지면($K_2Cr_2O_7$ 용액의 산성이 필요이상으로 증가되는 경우) $CrO(O_2)_2$ 에 의한 흡광도는 급격히 감소함을 볼 수 있다. H_2SO_4 용액의 농도가 증가함에 따라 $CrO(O_2)_2$ 에 의한 흡광도는 급격히 감소하는 이유는 다음과 같이 추정할 수 있다. $K_2Cr_2O_7$ 용액의 산성이 필요이상으로 증가하게 되면, $HCrO_4^-$ 이온이나 $Cr_2O_7^{2-}$ 이온이 각각 H_2CrO_4 와 $HCr_2O_7^-$ 이온으로 변하는 평형반응들이 촉진되어 H_2O_2 와 반응하여 $CrO(O_2)_2$ 를 생성하는 $HCrO_4^-$ 이온의 농도는 감소하고 그에 따라 $CrO(O_2)_2$ 에 의한 흡광도가 감소하는 것이다. 이 실험에서는 H_2SO_4 용액의 최적농도로 0.10 M을 선택하였다.

$K_2Cr_2O_7$ 용액의 최적농도. FIA system의 전체 유속을 고정시키고 0.10 M H_2SO_4 용액을 사용한 조건에서 $K_2Cr_2O_7$ 용액의 농도를 변화시키면서 흡광도를 측정하여 Table 2를 얻었다. 이 결과에 따르면 H_2O_2 의 농도가 높은(8.00×10^{-6} M) 경우 $K_2Cr_2O_7$ 용액의 최적농도가 0.2

M인 것으로 얻어졌다. 0.2 M과 0.3 M의 $K_2Cr_2O_7$ 용액을 사용하여 얻어진 결과와 비교한 결과에 의하면, 0.3 M인 용액의 사용으로 신호의 크기는 다소 증가하였지만 baseline의 noise level이 증가하여 신호증가의 효과가 반감됨을 볼 수 있었다. 보다 진한 농도(1.00×10^{-4} M)의 H_2O_2 용액을 사용하는 경우 대략 0.1 M 정도가 최적농도임이 관측되었다. 이 실험에서는 정량법의 감도(sensitivity)의 증진을 위해 높은 농도에서 보다 더 큰 신호를 얻을 수 있는 0.20 M을 $K_2Cr_2O_7$ 용액의 최적농도로 결정하였다.

최적유속. FIA system에서 0.10 M H_2SO_4 용액을 사용하여 제조한 0.20 M $K_2Cr_2O_7$ 용액을 사용한 상태에서 전체유속을 변화시키면서 $CrO(O_2)_2$ 에 의한 흡광도 변화를 측정하였다. 그 결과 용액의 유속이 느린 경우에는 반응생성물이 검출기에 도달하는 시간이 길어짐에 따라 $CrO(O_2)_2$ 의 분해에 따라 흡광도는 다소 감소하였으며, 반대로 유속의 빨라지면 흡광도는 증가하였지만 그 증가폭은 그리 크지 않았다. 따라서 주어진 시간당 분석가능 시료의 수, 소요되는 시약의 양, 그리고 흡광도 등을 고려하여 결정한 최적유속은 2.09 mL/min이다.

최적분석조건에서의 검정선. 앞에서의 실험들을 통하여 얻어진 최적분석조건(0.20 M $K_2Cr_2O_7$ in 0.10 M H_2SO_4 , 최대흡수파장: 590 nm, 전체유속: 2.09 mL/min)에서 H_2O_2 표준용액들을 사용하여 얻어진 검정선은 Fig. 2와 같다. H_2O_2 표준용액들에 의해 얻어지는 신호들의 재현성은 높았으며, 각 농도영역에서의 재현성, 즉 오차한계는 검정선 상에서 각 농도별로 표시된 점들의 크기 이내이다. 이에 따르면 2.00×10^{-6} ~ 2.00×10^{-2} M의 넓은 농도범위에 걸쳐 수용액 시료 중 H_2O_2 의 정량이 가능함을 알 수 있다.

실제 환경시료 중 H_2O_2 의 정량. 앞에서 얻어진 최적 조건에서 실제 환경시료인 강우와 강설을 채집한 후 그 속에 함유된 H_2O_2 의 농도를 결정한 결과가 Table 3에 실려있다. 이에 따르면 2001년 1월과 2월 춘천 지역에서 채집된 강우 및 강설시료 중에는 약 10^{-5} M 정도의 H_2O_2 가 함유되어 있음을 알 수 있다. 강우와 강

Table 2. The effect of $[K_2Cr_2O_7]$ on the formation of $CrO(O_2)_2$. The concentration of the H_2SO_4 solution was fixed at 0.1 M and the two standard H_2O_2 solutions of 1.00×10^{-4} M and 8.00×10^{-6} M were used to measure the absorbance

	$[K_2Cr_2O_7]$, M	0.05	0.07	0.08	0.09	0.1	0.2
Relative Peak	$[H_2O_2] 1.00 \cdot 10^{-4}$ M	104.8	106.8	109.5	110.5	107.5	104.7
Height	$[H_2O_2] 8.00 \cdot 10^{-6}$ M	7.8	8.4	8.7	9.1	8.7	10.1

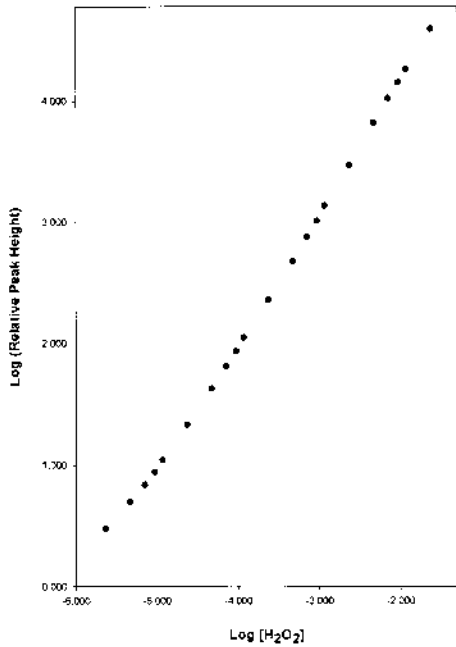


Fig. 2. Plot of log (relative peak height) vs. log [H₂O₂] over the analytical concentration range of [H₂O₂]=2.00×10⁻⁶ M and 2.00×10⁻² M.

Table 3. The concentration of H₂O₂ in the snow and rainwater samples collected around the buildings of the College of Natural Sciences at Kangwon National University, Chunchon, Kangwon-Do during the period of Jan. 8 and Feb. 23, 2001

Dates	Jan. 8	Feb. 8	Feb. 23	
[H ₂ O ₂], M	1.06×10 ⁻⁵	1.34×10 ⁻⁵	5.00×10 ⁻⁶	1.00×10 ⁻⁵

실시료로부터 얻어진 이러한 분석결과가 실제로 H₂O₂에 의한 것인지를 확인하기 위해 시료에 소량의 MnO₂(MnO₂는 수용액 중 H₂O₂의 분해를 촉진함)를 가한 후 시료 중 H₂O₂의 정량을 수행하였다. 그 결과 아무런 흡광도도 측정되지 않았으므로 강우와 강설시료에 대한 H₂O₂측정결과는 신뢰할 수 있는 것으로 받아들일 수 있다.

결 론

산성조건에서 H₂O₂가 HCrO₄⁻ 이온과 반응하여 진한 청색의 CrO(O₂)₂를 형성하는 반응에 흐름주입분석을 도

입하여 수용액시료 중 H₂O₂의 양을 정량할 수 있는 흡수분광분석법을 개발하였다. 기존의 분광화적인 분석법들의 경우 편리하게 구입할 수 없는 시약들의 사용을 요구하거나 분석과정이 다소 복잡하였으나 그에 비해 현재 개발된 정량법은 보다 더 경제적이고 손쉬운 분석법이라 할 수 있다. 또한, H₂O₂의 정량범위는 2.00×10⁻⁶ M ~0.020 M로 아주 넓으며, 측정한계는 약 1.5×10⁻⁶ M이다. 또한, 이 분석법은 실제 강우와 강설 중에 존재하는 과산화수소의 농도결정에도 사용할 수 있음이 밝혀졌다.

인 용 문 헌

- (a) Mader, P. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 2634. (b) Hoffman, P. M.; Edwards, J. O. *J. Phys. Chem.* **1975**, *79*, 2096. (c) Martin, L. R.; Damschen, D. E. *Atmos. Environ.* **1981**, *15*, 1615. (d) Kunen, S. M.; Laxrus, A. L.; Kok, G.; Heikes, B. J. *J. Geophys. Res.* **1983**, *88*, 3671.
- (a) Frew, J. E.; Jones, P.; Scholes, G. *Anal. Chim. Acta* **1983**, *155*, 139. (b) Patterson, B. D.; Macrae, E. A.; Ferguson, I. B. *Anal. Biochem.* **1984**, *139*, 487. (c) Gupta, B. L. *Mikrochem. J.* **1973**, *18*, 363. (d) Olsson, B.; Ogreen, L. *Anal. Chim. Acta* **1983**, *145*, 87.
- (a) Feldman, F. J.; Bosshart, R. E. *Anal. Chem.* **1966**, *38*, 1401. (b) Diez, L. P.; Mender, J. H.; Parra, J. A. *Talanta* **1981**, *28*, 951. (c) Brestovoski, J.; Zumen, P. *Practical Polarography*. Academic Press Inc.: New York, 1968. (d) Cho, T.; Toshida, S.; Hirose, S. *Bunseiki Kagaku* **1983**, *32*, 6.
- (a) Pilosof, D.; Nieman, T. A. *Anal. Chem.* **1982**, *54*, 1968. (b) Van Zoonen, P.; Gooijer, C.; Velthorst, N. H.; Frei, R. W. *Anal. Chim. Acta* **1985**, *167*, 249. (c) Boyeris, A.; Martino, E.; Stoppani, A. O. M. *Anal. Biochem.* **1977**, *80*, 145. (d) Kelly, J. B.; Christian, G. D. *Anal. Chem.* **1983**, *53*, 2110. (e) Guilbaout, G. G.; Brignac, P.; Juneau, D. T. *Anal. Chem.* **1968**, *40*, 1256. (f) Hwang, H.; Dasgupta, P. K. *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 1521.
- Hwang, H. *J. Korean Chem. Soc.* **2000**, *44*, 322.