

나노 영가철 환원 반응성의 정량 분석을 위한 수정된 인도페놀법 적용 Modification of Indophenol Reaction for Quantification of Reduction Activity of Nanoscale Zero Valent Iron

황유훈[†] · 이원태* · Henrik R. Andersen**
Yuhoon Hwang[†] · Wontae Lee* · Henrik R. Andersen**

서울과학기술대학교 환경공학과 · *금오공과대학교 환경공학과 · **덴마크공과대학 환경공학과
Department of Environmental Engineering, Seoul National University of Science and Technology

*Department of Environmental Engineering, Kumoh National Institute of Technology

**Department of Environmental Engineering, Technical University of Denmark

(Received October 11, 2016; Revised December 26, 2016; Accepted December 28, 2016)

Abstract : Nanoscale zero-valent iron (nZVI) has been effectively applied for environmental remediation due to its ability to reduce various toxic compounds. However, quantification of nZVI reactivity has not yet been standardized. Here, we adapted colorimetric assays for determining reductive activity of nZVIs. A modified indophenol method was suggested to determine reducing activity of nZVI. The method was originally developed to determine aqueous ammonia concentration, but it was further modified to quantify phenol and aniline. The assay focused on analysis of reduction products rather than its mother compounds, which gave more accurate quantification of reductive activity. The suggested color assay showed superior selectivity toward reduction products, phenol or aniline, in the presence of mother compounds, 4-chlorophenol or nitrobenzene. Reaction conditions, such as reagent concentration and reaction time, were optimized to maximize sensitivity. Additionally, pretreatment step using Na₂CO₃ was suggested to eliminate the interference of residual iron ions. Monometallic nZVI and bimetallic Ni/Fe were investigated with the reaction. The substrates showed graduated reactivity, and thus, reduction potency and kinetics of different materials and reaction mechanism was distinguished. The colorimetric assay based on modified indophenol reaction can be promises to be a useful and simple tool in various nZVI related research topics.

Key Words : Nanoscale Zero Valent Iron, Indophenol Reaction, Colorimetric Assay, Reducing Activity

요약 : 나노 기술에 대한 관심이 증가함에 따라 다양한 종류의 나노 물질이 환경 정화 분야에서 활발히 연구되고 있다. 이에 따라 새롭게 개발된 나노 물질의 성능을 쉽고 신속하게 측정할 수 있는 분석법에 대한 요구가 증가하고 있다. 본 연구에서는 토양/지하수 정화 분야에서 활발히 사용되는 나노 영가철의 환원 반응성을 쉽고 신속하게 측정할 수 있는 방법으로 수정된 인도페놀법을 제시하였다. 인도페놀법에서 한계반응물로 작용하던 암모늄과 과량으로 존재하던 페놀을 치환하여 사용함으로써 페놀류에 대한 정량 분석이 가능하도록 수정하였다. 대상으로 한 나노 영가철에 의한 환원 반응은 4-클로로페놀의 페놀로의 환원과 나이트로벤젠의 아닐린으로의 환원이었으며, 수정된 인도페놀법은 반응생성물인 페놀과 아닐린에 대하여 선택성을 나타내 분석 방법으로 사용이 가능함을 확인하였다. 민감도 향상을 위하여 발색 시약의 농도 및 반응 시간, 시료의 전처리 등의 영향에 대하여 평가하였다. 실제 시료를 대상으로 시험하였을 때, 용존 철 이온에 의한 저해 영향을 확인하여 탄산나트륨 용액 주입의 전처리를 이용하여 해결하였다. 최종적으로 개발된 분석 방법을 이용하여 나노 영가철 및 이중금속 나노 영가철의 환원 반응성을 측정하였으며, 결과적으로 환원 반응 속도의 차이뿐 아니라 환원 기작의 차이도 구분할 수 있는 가능성을 보여 주어 나노 영가철의 환원과 관련된 연구 분야에서 유용하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

주제어 : 나노 영가철, 인도페놀법, 발색 반응, 환원 반응

1. 서론

안정적인 수질의 물에 대한 수요 증가와 더불어 국내외에서 수질 오염 사례로 인한 불안감 증대에 따라 새롭고 효과적인 적용 가능한 수처리 방법에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 최근 5년간의 국내 지하수 오염초과 지점 현황을 분석한 결과, trichloroethylene, tetrachloroethylene로 대표되는 염소계 유기화합물 및 질산성 질소에 대한 오염이 심각한 것으로 나타났다.¹⁾ 이와 같은 상수원의 오염은 비단 국내에 국한되지 않아, 최근 미국 미시건주 플린트 시의 상수원의 오염으로 인하여 지역의 많은 인구가 납 등

중금속으로 오염된 수도물에 노출되는 사건이 벌어졌으며,²⁾ 유사한 예로, 북유럽 선진국 중 하나인 덴마크의 경우 2010년 가동 중인 상수도용 지하수 관정의 40%에서 농약이 검출되었으며, 11%에서는 상수도 수질기준을 초과하는 결과를 보고한 바 있다.³⁾ 이와 같은 해외의 사례는 유사한 상수도에 대한 문제가 어디서든 일어날 수 있으며, 이와 같은 수질 문제를 해결하기 위한 연구가 필요함을 보여 준다.

이와 같은 수질 문제를 해결하기 위한 하나의 방법으로 금속 나노 입자 및 탄소나노튜브 등 나노 기술의 적용이 활발히 시도 되고 있다.⁴⁾ 나노 영가철은 이러한 수처리용 나노 물질의 하나로써, 영가철의 환원 반응성을 극대화할 수

[†] Corresponding author E-mail: yhhwang@seoultech.ac.kr Tel: 02-970-6626 Fax: 02-971-5776

있는 장점을 가진다. 영가철은 자연계에서 물이나 공기, 혹은 오염물질과의 반응을 통하여 산화철로 산화되며, 이 때 생성되는 전자를 이용하여 오염물질을 환원시킬 수 있는 능력을 가져 염소계 유기 화합물, 질산성 질소, 중금속 등의 처리에 사용되어 왔다.⁵⁾ 나노 영가철은 수십 나노미터의 크기로 형성된 영가철로써 작은 크기에서 기인한 높은 비표면적을 가지며, 반응 속도가 일반 영가철에 비하여 수십 배 가량 향상되는 것으로 알려져 있다.⁶⁾ 나노 영가철은 환경공학분야에서 가장 활발히 적용되고 있는 나노 물질 중 하나로써 2014년 기준으로 약 70건 이상의 현장 적용이 실시된 바 있다.⁷⁾ 나노 영가철의 경우 일반 마이크로 수준의 영가철에 비하여 가격이 6-30배 높으나(약 \$65-90 /kg), 주입에 따른 비용 및 높은 성능에 따른 주입량의 저감 등을 고려하면 경제성이 있음이 확인된 바 있다.⁸⁾

또한 토양에서의 이동성 향상 및 수명 증가 등 나노 영가철의 적용성을 향상시키기 위하여 표면 안정화제의 적용⁹⁾ 및 이중금속의 적용¹⁰⁾ 등의 다양한 연구가 있어 왔으며, 그 결과로 수많은 종류의 나노 입자가 합성되어 제시되어 왔다. 따라서 관련 분야의 연구를 효율적으로 수행함에 있어서 중요한 요건 중 하나는 새롭게 합성되는 나노 물질의 성능을 평가할 수 있는 기술을 확보하는 것이다.

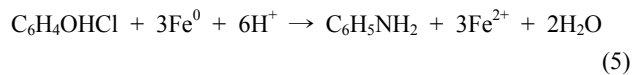
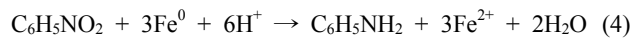
기존에는 주로 분광학적 방법이나 크로마토그래피를 이용한 방법을 사용하여 산화-환원 반응성을 평가하여 왔다. 일반적으로 X선 회절분석법이나 피스바우어 분광기와 같은 분광학적 기법을 이용하여 입자 내부에 반응성이 있는 Fe(0)의 함량을 평가하는 방법¹¹⁾과 실제 대상 오염물질과 반응시킨 후 기체/액체/이온 크로마토그래피를 이용하여 반응물 및 생성물의 농도를 측정하여 그 효율을 평가하는 두 가지의 방법이 주로 사용된다.^{12,13)} 하지만 이와 같은 방법은 시료의 전처리가 복잡하고, 분석 시간이 길며, 고가의 장비가 사용되어 분석 비용이 많이 소요된다는 단점이 있다.

본 연구에서는 이러한 분석 방법에서의 한계점을 극복하기 위하여 나노 영가철 입자의 반응성을 발색 반응을 이용하여 쉽고 빠르게 평가하기 위한 방법을 개발하고자 하였다. 이를 위하여 암모니아 정량 분석을 위하여 널리 사용되던 인도페놀 법을 수정하여 적용하였다. 인도페놀 반응은 모노클로라민과 페놀이 촉매 존재 하에서 반응하여 파란색의 인도페놀이 형성되면 이를 분광광도계로 측정하는 방식으로 정량 분석에 사용되며 반응 기작은 식 (1)-(3)과 같다.^{14,15)}

식 (1)을 통해 생성된 모노클로라민은 페놀의 파라 자리와 반응하여 N-chloro-p-hydroxybenzoquinone monoamine을

형성하며, 이는 다시 페놀과 반응하여 파란색의 인도페놀이 형성한다. 페놀의 파라 자리가 반응에 관여하기 때문에 일반적으로 파라 자리가 비어 있어야 반응이 일어난다고 알려져 있다.¹⁴⁾ 따라서 본 연구에서는 기존에 한계 반응물로써 정량의 목표였던 암모니아와 과량으로 주입하였던 페놀을 치환하여 페놀에 따른 정량 분석이 가능하도록 하였다.

본 연구에서 나노 영가철의 반응성을 확인하기 위하여 4-염화페놀과 나이트로벤젠의 환원 반응을 사용하였다. 두 물질은 환원 반응을 통해 각각 페놀과 아닐린으로 전환된다고 알려져 있으며,^{16,17)} 전환된 페놀과 아닐린은 상기 제시한 수정 인도페놀 반응을 통해 검출될 수 있을 것으로 기대하였다. 반응물질인 4-염화페놀과 나이트로벤젠과의 발색 반응 진행 여부를 통해 발색 반응의 선택성을 확인하였으며, 민감도 향상을 위하여 발색 시약의 농도 및 반응 시간, 시료의 전처리 등의 영향에 대하여 평가하였다. 최종적으로 도출된 발색 반응은 실제 나노 영가철을 이용한 4-염화페놀과 나이트로벤젠 환원 반응 시험에 적용하여 반응 동역학 및 반응 경로의 검증이 가능함을 밝혔다.

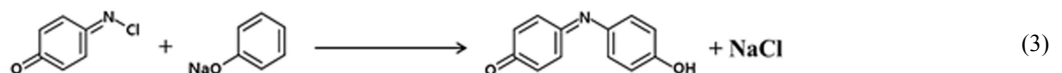
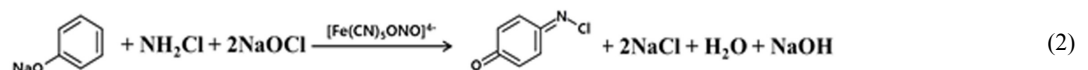


2. 연구방법

2.1. 수정된 인도페놀 발색 반응을 이용한 페놀과 아닐린의 정량 분석

2.1.1. 발색 시약 및 분석 절차

본 연구에서 사용된 수정된 인도페놀 발색 반응에서는 과량의 암모늄과 차아염소산 존재 하에서 페놀과 아닐린이 한계 반응물로 작용하여 시료 내 페놀과 아닐린의 농도에 따라 발색의 정도가 변하도록 하였다. 발색 반응에는 0.2 mL의 10% 차아염소산나트륨용액(NaOCl)과 66 mL의 0.5 M 수산화나트륨(NaOH) 용액을 증류수로 100 mL로 희석한 발색 시약 A와 100 mg-NH₄⁺-N/L의 염화암모늄(NH₄Cl)과 0.3 g/L의 나이트로프로사이드나트륨(Na₂[Fe(CN)₅NO])의 발색 시약 B를 이용하였다. 또한 시료의 전처리를 위하여 1 M의 탄산나트륨(Na₂CO₃) 용액이 발색 시약 C로써 준비되었다. 각 발색 시약의 농도는 2.1.3의 과정을 통하여 최대의 민감



도를 가지도록 최적화되었다.

시료의 전처리가 필요한 경우 2.5 mL의 시료에 125 μL 의 발색 시약 C를 주입하여 pH를 중화시키고 용존 철 이온의 침전을 유도하였다. 용존 철 이온은 탄산 철의 형태로 침전하며, 침전이 완료된 후 상등액을 취하여 실제 발색 반응에 사용하였다. 발색 시약 A와 B는 시료에 주입 전 같은 양씩 혼합하여 발색 시약 AB를 준비하였다. 2.3 mL의 시료를 큐벳에 넣고, 미리 혼합하여 둔 발색 시약 AB 0.2 mL를 큐벳에 주입한다. 암실에서 2시간 동안 반응시킨 후, 분광광도계(Cary 50, Agilent Technologies Inc., USA)를 이용하여 680 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 시료의 분석 시 페놀 혹은 아닐린 표준 용액의 흡광도를 측정하여 검량선으로 사용하였다.

2.1.2. 선택성 확인

본 연구에서 제안한 발색 반응은 반응물인 4-염화페놀이나 나이트로벤젠과는 반응하지 않으면서 생성물인 페놀과 아닐린과는 반응하여야 나노 영가철의 환원 반응성 정량 방법으로서의 효과가 있다. 생성물로의 선택성을 확인하기 위하여 반응물과 생성물의 혼합 용액을 사용하였을 시에 반응물 혹은 생성물 용액 단독 측정 시와의 흡광도의 차이가 생기는 지 여부를 확인하였다. 모든 경우에서 반응물과 생성물의 농도는 50 μM 로 설정하였다.

2.1.3. 민감도 향상을 위한 최적 조건 도출

발색 반응의 최적 조건 도출을 위하여 발색 시약의 농도, 반응 시간 및 시료 전처리의 유무에 따른 영향을 평가하였다. 발색 시약 A의 경우에는 시약 내 염소의 농도를 0.01-0.4%로 변화시켰으며, 발색 시약 B의 경우에는 시약 내 암모늄 이온의 농도를 50-5,000 mg-NH_4^+ -N/L으로 변화시켰다. 다른 농도의 발색 시약 A와 B를 각각 같은 농도의 페놀과 아닐린의 발색 측정에 적용하여 가장 높은 발색을 보이는 조건을 최적 조건으로 설정하였다.

최적 반응 시간을 도출하기 위하여 페놀과 아닐린의 검량 곡선을 24시간에 걸쳐 일정 시간 간격으로 측정하여 가장 높은 민감도를 보이는 시간을 최적 조건을 설정하였다.

분석 방법의 검출 한계 및 검량 한계를 측정하기 위하여 검량 곡선을 사용하였다. 검출 한계는 검량 곡선에서 가장 낮은 농도의 측정값의 표준 편차의 3배로써 도출하였고, 검량 한계는 같은 값의 표준 편차의 10배로써 도출하였다. 사용한 검량 곡선의 농도 범위는 페놀의 경우 0-50 μM , 아닐린의 경우 0-75 μM 이었다.

2.1.4. 시료 pH 및 용존 철 농도의 영향 평가

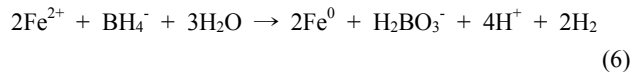
실제 시료를 분석할 시의 영향을 고려하기 위하여 시료의 pH 및 용존 철의 농도 변화에 따른 흡광도 측정의 영향을 확인하였다. 20 μM 의 페놀 용액의 pH 및 용존 철의 농도를 0.1 M 염산(HCl), 0.1 M 수산화나트륨(NaOH) 및 염화제2철(FeCl_2) 용액으로 조절 후 흡광도를 측정하여 그 변화

를 살펴보았다. 용존 철의 농도는 원자흡광도계(AAnalyst 200, PerkinElmer, USA)를 사용하여 분석하였다.

2.2. 단일금속 및 이중금속 나노 영가철을 이용한 4-염화페놀과 나이트로벤젠의 환원

2.2.1. 나노 영가철 합성

나노 영가철의 합성을 위하여 수소화붕소나트륨(NaBH_4)에 의한 화학적 환원법을 사용하였다. 황산제일철 용액이 들어 있는 3구 둥근 바닥 플라스크에 NaBH_4 용액을 정량 펌프를 이용하여 5 mL/min의 유속으로 주입하였으며, 식(6)과 같은 반응을 통하여 철 이온은 영가철로 환원된다.⁹⁾



사용한 황산제일철 용액과 NaBH_4 용액의 농도는 각각 35.8 and 89.6 mM이었다. 반응 도중의 산화를 막기 위하여 플라스크에 질소가스를 지속적으로 주입하였다. 주입이 완료된 이후 30분 동안 계속 교반하여 반응이 완전히 일어날 수 있도록 하였다. 반응이 완료된 후 생성된 나노 영가철은 원심분리기를 이용하여 수집한 후 초순수 및 에탄올(99.9%)로 세척한 후 진공오븐을 이용하여 60°C에서 4시간 동안 건조하였다. 준비된 시료는 혐기성 챔버에 보관하여 추가적인 산화를 방지하였다.

Ni/Fe 이중금속 나노 영가철은 준비된 나노 영가철과 니켈 용액과의 추가적인 산화/환원 반응을 통하여 합성하였다. 황산 니켈 용액과 나노 영가철이 5분간 반응할 수 있도록 한 후 생성된 Ni/Fe 이중금속 나노 영가철은 원심분리기를 사용하여 수집 후 초순수로 2차례 세척하여 사용하였다. 모든 경우에서 이중 금속의 농도는 철의 질량 대비 5%로 설정하였다.



2.2.2. 4-염화페놀과 나이트로벤젠 환원 시험

나노 영가철 및 Ni/Fe 이중금속 나노 영가철의 환원 반응을 측정하기 위하여 4-염화페놀과 나이트로벤젠의 환원 반응을 사용하였다. 반응성 시험은 50 mL 유리 바이알을 이용하여 진행되었다. 바이알에 나노 영가철을 넣고 39 mL의 10 mM 아세트산 용액을 주입한 후 PTFE 셉타와 알루미늄 실을 이용하여 밀봉하였다. 이후 1 mL의 4-염화페놀 혹은 나이트로벤젠 용액을 주입하여 반응을 시작하게 하며, 주기적으로 2 mL의 시료를 채취하여 0.45 μm 필터로 여과 후 여액을 샘플로써 보관한다. 본 시험에서의 반응물(4-염화페놀 혹은 나이트로벤젠) 및 나노 영가철의 초기 농도는 각각 500 μM 과 2 g/L로 설정하였다.

도출된 4-염화페놀과 나이트로벤젠의 환원 동역학은 식(8)과 같은 유사 1차 반응을 통해 모사하였다.

$$C_t = C_0 \times e^{-kt} \quad (8)$$

C_t = 시간 t일 때의 농도(μM)

C_0 = 초기 농도(μM)

k = 반응 속도 상수(min^{-1})

시료 내 반응 생성물의 농도는 2.1에서 언급한 방법을 통해 측정하였으며, 일부 시료의 경우 측정 방법의 정밀도를 확인하기 위하여 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC 1100 series, Agilent Technologies, USA)를 사용하여 정량하였다. 이 때 C18 컬럼(5 μm , 15 cm \times 4.6 mm)을 사용하였으며, 이동상으로는 메탄올과 5 mM의 인산이수소칼륨(KH_2PO_4)을 사용하였다.¹⁶⁾

3. 결과 및 고찰

3.1. 반응 생성물의 검출을 위한 반응 선택성 검증

본 연구에서 제안하는 발색반응 기반 분석 방법이 효과적으로 적용되기 위해서는 반응물과 생성물이 혼합되어 존재할 때 반응 생성물에 대한 반응 선택성이 존재하여야 한다. 이를 확인하기 위하여 반응물과 생성물 각 50 μM 표준 용액과 반응물과 생성물이 동시에 들어 있는 혼합 용액을 각각 사용하여 발색 반응을 시켰고, 400-800 nm 구간에서의 흡광도를 측정한 결과는 Fig. 1과 같다.

Fig. 1(a)는 4-염화페놀과 페놀 중 페놀에 대한 선택성을 나타내었다. 반응물로 사용하는 4-염화페놀은 인도페놀 발색법에 의하여 발색 반응이 거의 일어나지 않았으나, 생성물로 사용하는 페놀의 경우에는 발색반응이 일어나 680 nm에서 최대 흡광도를 보였다. 페놀과 4-염화페놀을 같은 농도로 혼합하여 흡광도를 측정하였을 때에도 최대 흡광도 값은 거의 유사한 값을 보여 4-염화페놀의 유무와 관계없이 페놀의 농도에 따른 발색이 일어남을 확인할 수 있었다.

이와 유사한 방법으로 아닐린과 나이트로벤젠의 혼합 용액에서의 아닐린에 대한 선택성을 확인하였다. Fig. 1(b)에서와 같이 나이트로벤젠은 인도페놀 발색법에 의한 발색 현상을 보이지 않았으나, 생성물인 아닐린의 경우 680 nm 부근에서 최대 흡광도를 보였으며, 아닐린과 나이트로벤젠의 혼합용액의 경우에도 아닐린 단독 용액과 유사한 흡광도 값을 보여 아닐린에 대한 반응 선택성을 뚜렷이 보여주었다.

이와 같은 결과는 인도페놀 반응을 통하여 반응 생성물만을 선택적으로 검출할 수 있음을 보여 주어 반응물과 생성물이 동시에 존재하는 조건 하에서 반응 생성물의 농도의 정량 분석 방법으로 사용할 수 있음을 나타낸다. 이와 같은 가능성을 바탕으로 본 연구에서는 4-염화페놀의 페놀로의 환원과 나이트로벤젠의 아닐린으로의 환원을 나노 영가철의 환원 반응성을 측정하는 대표 반응으로 설정하여 연구를 진행하였다.

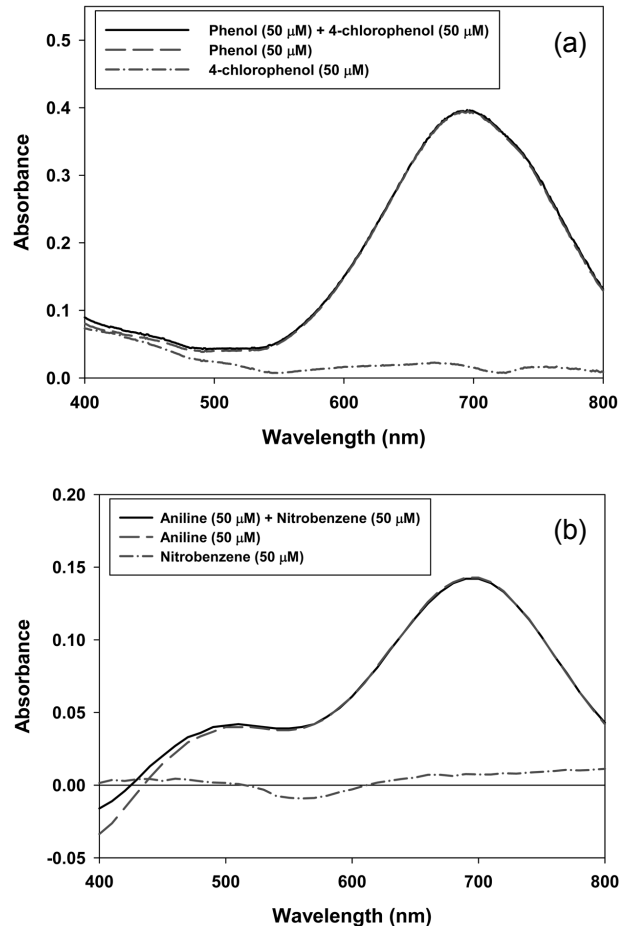


Fig. 1. Spectra evolution after color reaction with reagent AB, (a) 4-chlorophenol and phenol, (b) nitrobenzene and aniline.

3.2. 민감도 향상을 위한 최적 조건 도출

인도페놀법을 이용한 발색반응의 적용 가능성을 확인한 이후, 민감도 향상을 위한 최적 조건 도출을 실시하였다. 본 연구에서는 발색 반응에 사용되는 발색 시약 A와 B의 농도, 발색 시간을 반응 조건으로 설정하여 영향을 조사하였다.

3.2.1. 발색 시약의 농도

본 연구에서 제시한 수정된 인도페놀 발색법에는 알칼리성 차아염소산 용액인 발색 시약 A와 염화암모늄 및 반응 촉매 용액인 발색 시약 B가 이용된다. 이 중 발색 반응에 직접적으로 참여하는 것은 반응을 통해 모노클로라민을 형성하는 차아염소산과 암모늄이온이다. 따라서 본 연구에서는 차아염소산과 염화 암모늄 두 물질의 농도를 변화시켜 가장 높은 흡광도를 발색시키는 조건을 설정하고자 하였다. 차아염소산의 농도는 활성 염소 기준 0.01-0.40%로 조절하였으며, 암모늄의 농도는 50-5,000 mg-N/L로 조절하고, 50 μM 의 페놀과 아닐린 표준용액을 공통적으로 사용하여 2시간 반응 후 흡광도를 측정하여 결과를 Fig. 2에 나타내었다.

Fig. 2(a)는 페놀에 대한 발색 시약 농도에 따른 흡광도의

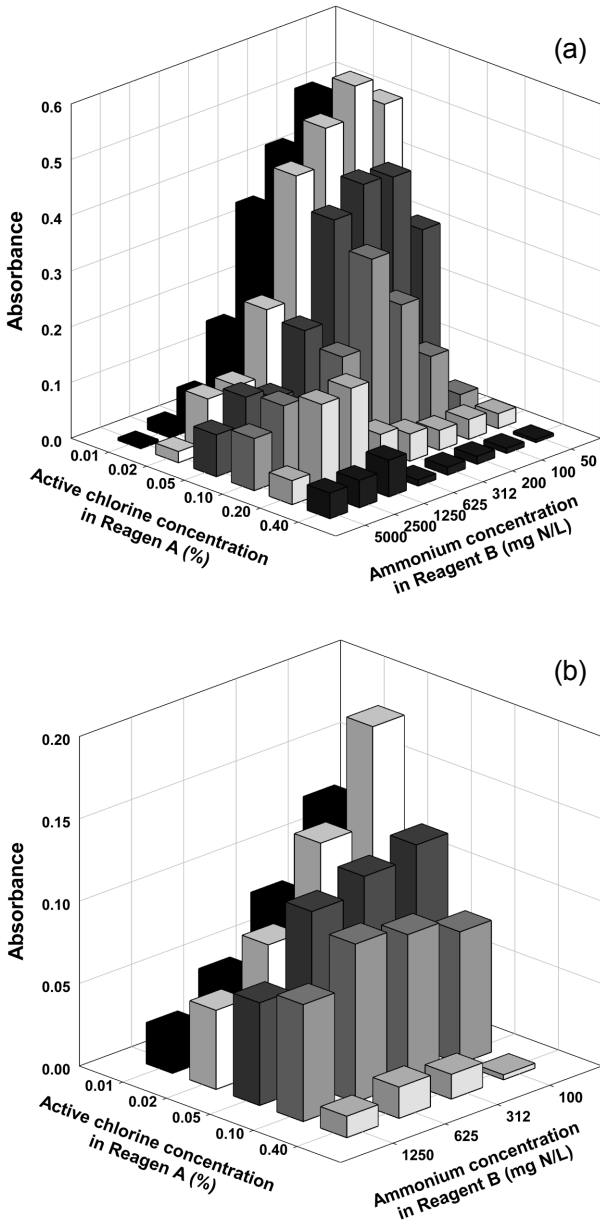


Fig. 2. Optimization of reagent concentration on color development for (a) phenol, and (b) aniline. Note that 50 μM of each product was applied, and absorbance was measured after 2 h of reaction.

변화를 나타낸 것으로 발색 시약 A 내 활성 염소의 농도가 0.02%이고, 발색 시약 B 내 암모늄 농도가 100 mg-N/L일 때 가장 높은 흡광도를 나타내었다. 상대적으로 고농도의 활성 염소와 암모늄 존재 하에서 오히려 흡광도가 낮아지는 것은 형성된 클로라민의 농도가 일정 수준 이상일 경우 페놀과의 반응을 오히려 저해하는 것으로 해석할 수 있어 적절한 농도의 시약을 설정하는 것이 중요한 것으로 나타났다. 특히 활성 염소의 농도가 증가함에 따라 최적의 암모늄 농도가 점차 상승하는 것으로 나타나 최적 조건이 활성 염소와 암모늄의 일정한 비율로써 나타남을 확인할 수 있었으며, 과량의 조건은 적절치 않다고 판단되었다.

페놀의 경우와 유사한 조건을 이용하여 아닐린에 대한 최적 조건 도출을 실시하였고, 그 결과를 Fig. 2(b)에 나타내었다. 아닐린의 경우도 페놀과 유사한 조건에서 최적 조건이 형성됨을 확인할 수 있었으며, 활성 염소와 암모늄의 비율이 일정함도 확인할 수 있었다.

페놀과 아닐린에 대한 발색 시약 농도에 따른 흡광도 변화를 살펴본 결과, 발색 시약 A 내 활성 염소의 농도가 0.02%이고, 발색 시약 B 내 암모늄 농도가 100 mg-N/L인 경우가 최적 조건으로 도출되었으며, 후속 연구에 동일한 조건을 사용하였다.

3.2.2. 반응 시간

발색 시약의 주입 후 인도페놀의 농도는 시간에 따라 증가하여 점차 파란색을 띄게 된다. 그러나 신속한 분석을 위해서는 가능한 빠른 시간 내에 높은 민감도를 보이는 것이 바람직하다. 이와 같이 반응 시간에 따른 분석 민감도를 살펴보기 위하여 페놀과 아닐린 용액을 이용한 검량 곡선을 반응 시간에 따라 측정하여 Fig. 3과 같이 나타내었고, 추세선을 통해 검량 곡선의 기울기, y절편, R^2 , 그리고 검출 한계 및 검량 한계 값을 도출하여 Table 1과 2에 각각 정리하였다.

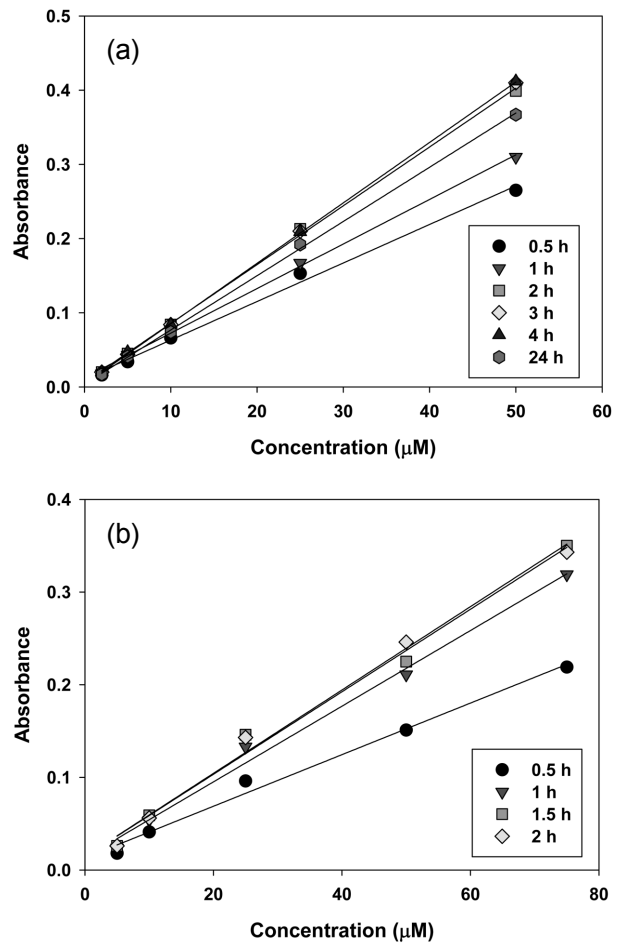


Fig. 3. Standard curves for (a) phenol (0-50 μM) and (b) aniline (0-75 μM) after reaction with reagent AB (NH_2Cl) in different reaction time.

Table 1. Equation, LOD, and LOQ of phenol standard curves in different reaction time

Time (h)	Standard curve	R ²	LOD (μM)	LOQ (μM)
0.5	y = 0.0052x + 0.0112	0.995	0.5	1.7
1	y = 0.0060x + 0.0124	0.998	0.4	1.4
2	y = 0.0079x + 0.0063	0.999	0.3	1.1
3	y = 0.0081x + 0.0037	0.999	0.3	1.1
4	y = 0.0082x + 0.0043	0.999	0.3	1.1
24	y = 0.0073x + 0.0037	1.000	0.4	1.2

Table 2. Equation, LOD, and LOQ of aniline standard curves in different reaction time

Time (h)	Standard curve	R ²	LOD (μM)	LOQ (μM)
0.5	y = 0.0028x + 0.0131	0.990	1.6	5.4
1	y = 0.0041x + 0.0134	0.992	0.9	3.1
1.5	y = 0.0045x + 0.0143	0.990	1.3	4.3
2	y = 0.0045x + 0.0123	0.990	1.0	3.3

페놀의 경우 0-50 μM 구간을 대상으로 검량선을 도출하여 Fig. 3(a)에 나타내었다. 그림에서 확인할 수 있듯이 검량 곡선의 기울기 값이 시간에 따라 점차 증가하여 2-4시간에 최대값을 보였으나 24시간이 지난 이후에는 오히려 감소하는 결과가 나타났다. Table 1과 같이 검출한계와 검량한계 값을 계산하였을 때에도 2-4시간에는 검출한계 0.3 μM, 검량한계 1.1 μM로써 일정하나 24시간에는 각각 0.4, 1.2 μM로 상승하는 것을 확인할 수 있었다. 생성되는 인도페놀은 빛과 반응하여 분해되는 것으로 알려져 있으며,¹⁴⁾ 암모니아의 정량을 위한 표준 분석법에도 약 2시간 이후에 측정하는 것으로 제시되어 있어 이와 유사한 결과인 것으로 파악되었다.¹⁹⁾

아닐린도 위와 유사한 방법으로 반응시간에 따른 영향을 분석하였으며, 검량선은 0-75 μM의 농도에 걸쳐 작성하였다. 페놀의 결과와 유사하게 검량선의 기울기는 시간에 따라 증가하여 1.5시간 이후에는 거의 일정한 값을 나타내었다. 그러나 본 연구에서는 페놀과 아닐린의 동시 분석을 실시할 경우를 고려하여 최적 반응시간은 2시간으로 설정하였다. 이 경우의 검출한계와 검량한계는 각각 1.0, 3.3 μM로 나타나 페놀의 경우보다는 민감도가 낮은 것으로 나타났다.

3.3. 전처리

본 연구에서 제안하는 발색반응이 성공적으로 실제 연구에 적용되기 위해서는 시료의 성상에 따른 저해 영향 없이 분석이 가능해야 한다. 따라서 본 연구에서는 2.4에 설명한 바와 같이 나노 영가철에 의한 4-염화페놀의 환원 실험을 실시하여 시료를 채취한 후 분석을 실시하여 저해 영향의 유무를 판단하였다. 채취한 시료는 HPLC를 이용해 분석하여 시료 내 페놀의 농도를 정량 분석하였으며, 그 결과 493 μM로 측정되어 주입한 500 μM의 4-염화페놀이 98% 이상 페놀로 전환되었음을 확인하였다.

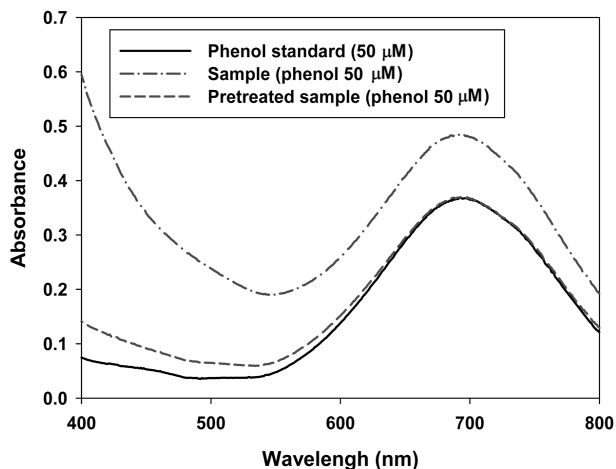


Fig. 4. Spectra evolution of sample with and without sample pretreatment.

Fig. 4의 실선(phenol standard)은 50 μM의 페놀을 발색 반응을 통해 분석한 흡광 곡선을 나타내며 점선(sample)은 위 실험을 통해 얻은 실제 시료의 흡광 곡선을 나타낸다. 본 분석에서 실제 시료는 10배 희석하여 분석하였기 때문에 다른 영향이 없다면 50 μM 페놀의 흡광 곡선과 유사한 값을 보여야 하나, 실제 시료는 이보다 크게 높은 값을 보였다. 특히 전체적인 흡광 곡선이 약 0.15 가량 상승하여 시료의 성상에 따른 영향이 있음을 확인하였다.

본 연구에서 사용된 나노 영가철에 의한 4-염화페놀의 환원 기작은 다음과 같다. 환원 반응을 통하여 4-염화페놀은 페놀로 환원되며, 이와 동시에 영가철은 산화되어 Fe^{2+/3+}의 철 이온 형태로 방출된다. 또한 용매로 사용된 물이 환원되어 수소 기체 및 수산화이온을 형성하여 용액의 pH를 상승시킨다(식 (9)). 따라서 시료의 성상에서 확인하여야 할 부분은 철 이온의 농도 및 용액의 pH라고 판단하여 Fig. 5와 같이 pH와 철 이온의 농도에 따른 페놀 분석의 영향 유무를 확인하였다. 이 경우 20 μM의 페놀 용액의 pH와 철 이온의 농도를 변화시켜 흡광도를 측정하였다.

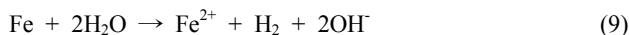


Fig. 5(a)와 같이 pH에 따른 영향은 미미하였으며, 이는 발색 시약 내에 고농도로 들어있는 수산화나트륨의 영향으로 시료의 pH가 인도페놀 발색이 용이한 pH 10 이상으로 상승하였기 때문으로 사료된다.¹⁴⁾ 철 이온의 농도에 따른 영향은 Fig. 5(b)에 도시하였으며, 그 결과 철 이온의 농도가 100 mg/L 이상일 때 점차적으로 흡광도가 상승하는 것으로 나타났다. 이와 같은 영향은 육안으로도 관찰이 가능한 시료의 색상 변화에 기인한 것으로 판단된다. 따라서 시료 내의 철 이온의 농도를 100 mg/L 이하로 낮출 수 있도록 전처리를 실시하여야 한다고 판단하였으며, 전처리로서는 탄산나트륨의 주입을 통한 철 이온의 침전반응을 유도하였다.

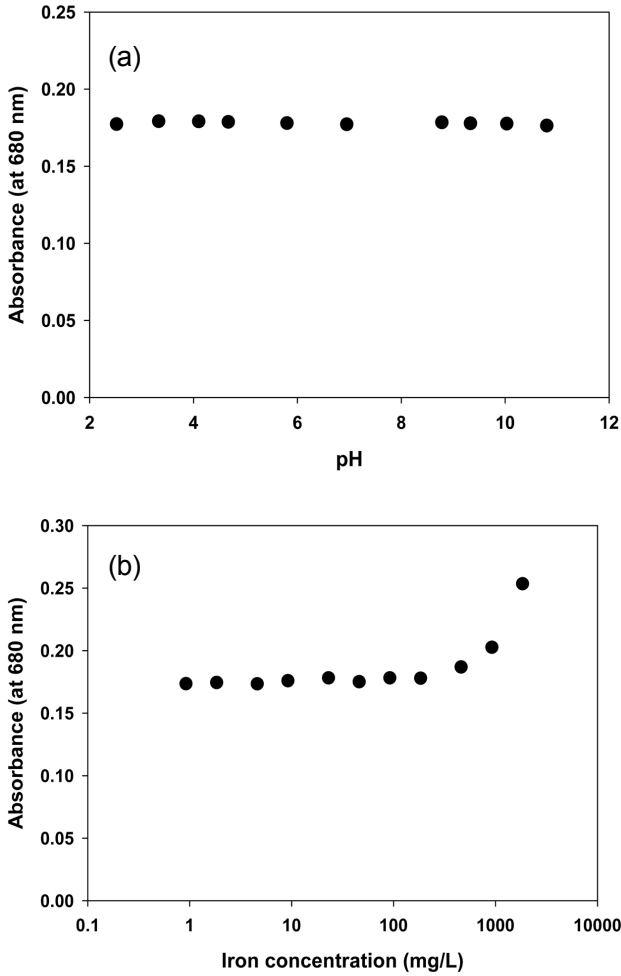


Fig. 5. Effect of (a) pH and (b) soluble iron concentration on modified indophenol reaction.

1 M의 탄산나트륨 용액을 발색 시약 C라고 명명하고 1 mL의 샘플에 0.05 mL의 발색시약 C를 주입한 후 약 30분 이후 침전이 완료되면 상등액을 취하여 재차 분석하였으며, 결과는 Fig. 4에 점선(pretreated sample)으로 나타내었다. 전처리가 완료된 시료는 50 μM의 페놀 용액과 거의 유사한 결과를 나타내었으며 검량선을 통해 농도를 도출한 결과 507 mM로 나타났다. 이는 HPLC를 통해 얻은 결과와 약 2.8%의 오차를 보여 상당히 정확하게 분석을 실시할 수 있음을 확인시켜 주었다.

3.4. 발색 반응을 이용한 나노 영가철의 환원 반응성 및 반응 경로 도출

최종적으로 개발된 발색 반응을 나노 영가철의 환원 반응성 및 반응 경로에 관한 연구 결과 도출에 사용하여 그 적용성을 판단하여 보았다. 본 연구에서는 일반 나노 영가철과 니켈로 개질된 이중금속 나노 영가철을 사용하여 나이트로벤젠과 4-염화페놀의 환원 시험을 진행하였고, 그 결과를 Fig. 6에 나타내었다.

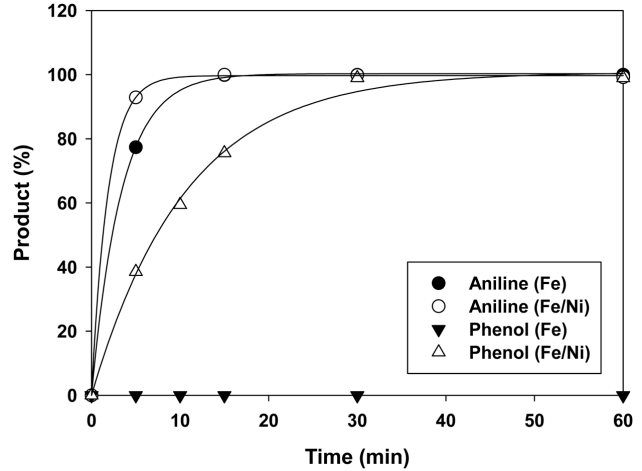


Fig. 6. Measured phenol aniline production by nZVI and Ni/Fe.

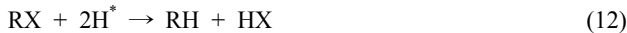
일반 나노 영가철을 사용하였을 경우 아닐린의 생성을 확인하여 나이트로벤젠이 15분 이내에 성공적으로 환원됨을 확인할 수 있었으나 페놀의 경우에는 60분의 반응 시간동안 전혀 검출되지 않아 짧은 시간동안에는 환원 반응이 일어나지 않았음을 확인할 수 있었다. 나이트로벤젠의 나노 영가철에 의한 환원 반응을 유사 1차 반응으로 해석하였을 때의 반응 속도 상수는 0.296 min⁻¹이다.

니켈로 개질된 이중금속 나노 영가철을 사용하였을 경우에는 반응성이 크게 향상되는 것을 확인할 수 있었다. 나이트로벤젠의 경우 약 10분 이내에 성공적으로 모두 환원되었으며, 반응 속도 상수는 0.537 min⁻¹로 일반 나노 영가철과 비교하여 반응 속도 상수가 약 1.81배 상승하는 것으로 나타났다. 이와 같은 현상은 니켈과 철 사이에 갈바닉 셀이 형성되어 이온화 경향이 더 높은 철의 산화가 촉진되었기 때문인 것으로 판단된다.

4-염화페놀의 경우도 니켈로 개질된 이중금속 나노 영가철을 적용하였을 때에는 약 30분 만에 모두 환원되는 것으로 나타나 일반 나노 영가철보다 높은 반응 속도를 나타내었다. 이 때의 반응 속도 상수는 0.094 min⁻¹이었다. 이와 같은 결과는 위에서 언급한 갈바닉 셀의 이유 이외에도 탈염소화 반응을 촉진시키는 촉매로서의 반응이 일어났기 때문인 것으로 사료된다. 니켈, 팔라듐, 백금과 같은 촉매는 수소 기체를 분해하여 환원력이 우수한 수소라디칼을 형성할 수 있다고 알려져 있고,²⁰⁾ 이러한 수소라디칼은 식 (8)-(10)의 과정을 통해 염소와 쉽게 치환되어 염소계 유기화합물의 환원처리 효율을 향상시킬 수 있는 것으로 알려져 있다.²¹⁾

따라서 4-염화페놀의 페놀로의 환원 반응은 단순한 철의 환원력뿐 아니라 적용된 촉매의 효율을 측정하는 지표로서 사용할 수 있음을 확인하였다.





4. 결론

본 연구에서는 나노 영가철의 환원 반응성을 쉽고 신속하게 측정할 수 있는 방법으로 수정된 인도페놀법을 제시하였다. 인도페놀법에서 한계반응물로 작용하던 암모늄과 과량으로 존재하던 페놀을 치환하여 사용함으로써 페놀류에 대한 정량 분석이 가능하도록 수정하였다. 대상으로 한 나노 영가철에 의한 환원 반응은 4-염화페놀의 페놀로의 환원과 나이트로벤젠의 아닐린으로의 환원이었으며, 수정된 인도페놀법은 반응생성물인 페놀과 아닐린에 대하여 선택성을 나타내 분석 방법으로 사용이 가능함을 확인하였다. 민감도 향상을 위하여 반응 시약의 농도와 반응 시간에 따른 영향을 살펴보았으며, 발색 시약 A 내 활성 염소의 농도가 0.02%이고, 발색 시약 B 내 암모늄 농도가 100 mg-N/L 인 경우에서 2시간의 반응시간을 가질 때를 최적 조건으로 설정하였다. 실제 시료를 대상으로 시험하였을 때, 용존 철이온에 의한 저해 영향이 확인되어 탄산나트륨 용액 주입의 전처리를 이용하여 해결하였다. 최종적으로 개발된 분석 방법을 이용하여 나노 영가철 및 이중금속 나노 영가철의 환원 반응 속도의 차이를 측정할 수 있었다. 뿐만 아니라, 촉매 반응에 의한 환원 기작도 구분할 수 있는 가능성을 보여 주어 나노 영가철의 환원과 관련된 연구 분야에서 유용히 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

Acknowledgement

이 연구는 서울과학기술대학교 교내 일반과제 연구비 지원으로 수행되었습니다.

KSEE

References

1. Ministry of Environment, Soil & Groundwater Information System, <http://sgis.nier.go.kr>, (2014).
2. Wikipedia, https://en.wikipedia.org/wiki/Flint_water_crisis (2016).
3. Danish Ministry of the Environment, http://www.geus.dk/program-areas/water/denmark/vandforsyning_artikel.pdf
4. Adeleye, A. S., Garner, K., Huang, Y., Su, Y., Arturo, A. and Keller, J. R. C., "Engineered nanomaterials for water treatment and remediation: Costs, benefits, and applicability," *Chem. Eng. J.*, **286**, 640~662(2016).
5. Ko, S., Song, H. and Kim, Y. H., "Effects of Dissolved Gas Types and Solution Chemistry on the Reaction Rates of Chromium(VI) reduction by Zero Valent Iron," *J. Korean*

- Soc. Civil Eng.*, **25**(5B), 407~412(2005).
6. Kim, T., Kim, H. S., Lee, J. Y., Cheon, J. Y., Lee, K. K. and Hwang, I., "Effects of Dissolved Compounds in Groundwater on TCE Degradations Reaction by Nanoscale Zero-Valent Iron," *J. Korean Soc. Environ. Eng.*, **33**(6), 413~419 (2011).
7. Lacinová, L., Černíková, M., Hrabal, J. and Černík, M., "In-Situ Combination of Bio and Abio Remediation of Chlorinated Ethenes," *Ecol. Chem. Eng., S.*, **20**, 463~473(2013).
8. Bardos, B., Bone, B., Daly, P., Elliott, D., Jones, S., Lowry, G. and Merly, C., "A Risk/Benefit Appraisal for the Application of Nano Scale Zero Valent Iron (nZVI) for the Remediation of Contaminated Sites," NanoRem Project. DOI: 10.13140/2.1.5036.7367(2014).
9. Hwang, Y., Lee, Y.-C., Mines, P. D., Huh, Y. S. and Andersen, H. R., "Nanoscale zero-valent iron (nZVI) synthesis in a Mg-aminoclay solution exhibits increased stability and reactivity for reductive decontamination," *Appl. Catal. B Environ.*, **147**, 748~755(2014).
10. Choi, H., Al-Abed, S. R., Agarwal, S. and Dionysiou, D. D., "Synthesis of Reactive Nano-Fe/Pd Bimetallic System-Impregnated Activated Carbon for the Simultaneous Adsorption and Dechlorination of PCBs," *Chem. Mater.*, **20**, 3649~3655(2008).
11. Petala, E., Dimos, K., Douvalis, A., Bakas, T. and Tucek, J., "Nanoscale zero-valent iron supported on mesoporous silica: Characterization and reactivity for Cr (VI) removal from aqueous solution," *J. Hazard. Mater.*, **261**, 295~306(2013).
12. Bae, S. and Lee, W., "Influence of Riboflavin on Nanoscale Zero-Valent Iron Reactivity during the Degradation of Carbon Tetrachloride," *Environ. Sci. Technol.*, **48**, 2368~2376 (2014).
13. Liu, Y., Majetich, S. A., Tilton, R. D., Sholl, D. S. and Lowry, G. V., "TCE Dechlorination Rates, Pathways, and Efficiency of Nanoscale Iron Particles with Different Properties," *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 1338~1345(2005).
14. Searle, P. L., "The berthelot or indophenol reaction and its use in the analytical chemistry of nitrogen. A review," *Analyst*, **109**, 549~568(1984).
15. Afkhami, A. and Norooz-Asl, R., "Micelle-mediated extraction and spectrophotometric determination of ammonia in water samples utilizing indophenol dye formation," *J. Braz. Chem. Soc.*, **19**, 1546~1552(2008).
16. Li, Y., Zhang, Y., Li, J., Sheng, G. and Zheng, X., "Enhanced reduction of chlorophenols by nanoscale zerovalent iron supported on organobentonite," *Chemosphere*, **92**, 368~374(2013).
17. Li, H., Zhao, Y. S., Zhao, R., Ma, B. W., Chen, Z. F., Su, Y. and Zhou, R., "Characteristics and kinetics of nitrobenzene reduction by sucrose-modified nanoiron," *Chem. Res. Chinese Univ.*, **29**, 765~770(2013).
18. Mines, P. D., Byun, J., Hwang, Y., Patel, H. A. Andersen, H. R. and Yavuz, C. T., "Nanoporous networks as effective stabilisation matrices for nanoscale zero-valent iron and groundwater pollutant removal," *J. Mater. Chem. A*, **4**, 632~

- 639(2016).
19. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd ed.(2012).
 20. Chaplin, B. P., Reinhard, M., Schneider, W. F., Schüth, C., Shapley, J. R., Strathmann, T. J. and Werth, C. J., "Critical Review of Pd-Based Catalytic Treatment of Priority Contaminants in Water," *Environ. Sci. Technol.*, **46**, 3655~3670 (2012).
 21. Cwiertny, D. M., Bransfield, S. J., Livi, K. J. T., Fairbrother, D. H. and Roberts, A. L., "Exploring the Influence of Granular Iron Additives on 1,1,1-Trichloroethane Reduction," *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 6837~6843(2006).