

Polychlorinated Biphenyls(PCBs) 存在下에 有機鹽素系 殺虫劑의 殘留分 分析

1. Florisil Column 에 依한 農藥과 PCBs의 分離

朴昌奎 · 李春寧 · 朴魯東*

Analysis of Organochlorine Pesticides in the Presence of Polychlorinated Biphenyls(PCBs)

1. Florisil Column Separation of the Pesticides-PCBs Mixture C. K. Park, C. Y. Lee and R. D. Park.*

Abstract

Polychlorinated Biphenyls (PCBs) interfere with gas chromatographic analysis of multiple organochlorine pesticide residues. In the present work, existing Florisil column chromatographic method has been modified as to improve separation of organochlorine pesticides and their metabolites from PCBs. It was amply demonstrated that separation of α -BHC, γ -BHC, Heptachlor epoxide Dieldrin, *p,p'*-DDD, *p,p'*-DDT from PCBs such as Aroclor 1254 is complete and recovery of the pesticides is found quantitative. Aldrin and Heptachlor in the Aroclor eluant can be separately analyzed by comparison of the chromatographic pattern of standard Aroclor 1254 with that of Aroclor 1254 admixed with the two pesticides. The Florisil column technique can be utilized in the routine evaluation of the organochlorine pesticide residues by gas chromatography.

緒 言

農藥의 成分뿐만 아니라 이들의 酸化·分解·代謝物에 이르기까지 여러가지 化合物을 Gas Liquid Chromatography(GLC)로 同時分析을 할 수 있는 FDA¹⁾의 Methods of Analysis for Multiple Residues^{1,2)}의 確立은 有機鹽素系 農藥의 殘留分 評價를 效率的으로 遂行할 수 있게 하였다³⁾.

그러나 穀類·菜蔬類·肉類 등의 一般食品과 土壤·河川水 等 環境試料의 有機鹽素系 殘留成分의 濃度는

普通 1ppm 에 未達되는 低水準이므로, 試料中 極微量의 干涉物質도 GLC 에 의한 殘留成分의 同時分析에 至大한 影響을 미치게 한다^{2,3,5,15,16)}. 수많은 干涉物質은 極微量이기 때문에 化合物의 確認에 利用되는 分光學의 方法·作用基의 反應 等の 一般分析法을 適用할 수 없어 確認이 곤란하다.

이러한 干涉物質은 鹽素原子가 共有結合된 有機化合物일 것이라는 데에 意見이 모아지고 있다^{3,13,16)}. 鹽素는 海水에 풍부하며 地殼의 分布에 있어서는 다른 할로겐 元素에 比하여 많으나 天然 有機化合物의

* 서울大學校 農科大學 農化學科 (Dept. of Arg. Chem, College of Agr. SNU)
1) FDA: Food and Drug Administration

形態로는 별로 알려지지 않고 있다. 現在까지 보고된 有力한 干涉物質의 種類는 몇가지 土壤微生物이 生成하는 鹽素含有의 抗生物質¹⁰⁾, 特殊 高等植物에서 分離한 有機鹽素化合物^{9,10)}, 土壤抽出成分⁹⁾, 그리고 工業에서 消費되는 Polychlorinated Biphenyls(PCBs)¹⁴⁾ 등이 指摘되고 있다. 이 가운데 殘留成分의 同時分析에 가장 影響을 많이 주는 干涉物質은 PCBs로, 이 化合物은 食品·野生動物·魚類 및 各種 環境試料에서 檢出되고 있다.^{2,3,5,7,11~13,15,16)}

PCBs는 化學적으로 類似한 Polychlorinated Terphenyls 및 Polychlorinated Naphthalene 등과 함께 固有의 可塑性·耐化學性·誘電性·防水性を 갖고 있어 潤滑劑 可塑劑·熱傳導物質·絕緣物質로 利用되며, 塗料·接着劑·잉크 등의 製造에도 使用된다. PCBs는 Aroclor (Morsanto, U.S.A), Clophen (Bayer, German), Phenochlor (Prodelec, France) 등의 商標로 알려져있으며, Aroclor에는 Aroclor 1221, 1232, 1242, 1254 및 1260이 있는데 마지막 두 숫자는 鹽素의 平均含量을 나타낸다.^{14,16)} Biphenyl의 鹽素化로 理論적으로는 2C9개의 PCBs가 存在하나 GLC 分析時에 Chromatogram上에서 代表的 有機鹽素系 農藥의 殘留成分 分析에 주로 干涉하는 化合物은 Aroclor 1254와 1260을 구성하는 PCBs로 밝혀졌다.^{2,13,16)}

PCBs의 存在下에 有機鹽素系 殘留成分의 定量은 GLC 分析에 앞서 有機鹽素系 殘留成分을 該當 誘導體로 轉換시키는 化學的 方法^{3,5)}과 Column chromatography에 의한 物理的 分離法^{2,3,7,15)}이 試圖되고 있다.

本實驗에서는 많은 試料의 殘留分 評價에는 Column Chromatography法이 實用的인 것으로 보고, 代表的 有機鹽素系 殘留成分과 Aroclor 1254의 混合物를 Florisil column上에서 分離하여 PCBs 存在下에 有機鹽素系 農藥의 殘留成分을 定量코져 하였다. 本實驗의 遂行에 1976年度 農교부 學술연구조성비의 지원에 支의를 포한다.

材料 및 方法

1. Reagents

(1) n-Hexane (Kanto Chem. Co., EP) : 再蒸溜하여 沸點이 68~70°C인 部分을 採取하여 使用.

(2) Ethyl ether (Kanto Chem. Co., EP) : 再蒸溜하여 沸點이 34~35°C 되는 部分을 採取하고 Ethyl ether의 2%에 該當하는 Ethyl alcohol을 加하여 使用.

(3) Ethyl ether/n-Hexane 混合液 : 上述한 精製 Ethyl ether와 n-Hexane을 50 : 50(V/V)으로 混合하여 使用.

(4) Florisil (Floridin Co., 製造時 650°C에 處理된

것. 60~80 mesh) : 130°C에서 48시간 以上 Activation시켜서 使用.

(5) 無水 Na₂SO₄ (Wako Pur. Chem. Co., 試藥 1級)

(6) 標準溶液 : 다음과 같이 標準溶液을 만들고 必要에 따라 稀釋液을 造製, 使用.

① 標準農藥混合液 : α-BHC (Analabs Inc.), γ-BHC (Merck), Heptachlor (Velsicol Co.) 및 Aldrin (Shell Chem. Co.)은 각각 1 ppm, Heptachlor epoxide (Velsicol Co.)와 Dieldrin (Shell Chem. Co.)은 각각 2 ppm, p,p'-DDD (Analabs Inc.)는 3ppm, p,p'-DDT (Analabs Inc.)는 4 ppm이 되도록 n-Hexane에 溶解 (1~4 ppm의 標準農藥混合液이라 以後 表示).

② Aloclor 1242 標準溶液 : 50ppm in n-Hexane.

③ Aroclor 1254 標準溶液 : 50ppm in n-Hexane.

④ Aroclor 1260 標準溶液 : 50ppm in n-Hexane.

⑤ 標準 農藥—Aroclor 1254 混合液 : 농약은 標準農藥混合液의 구성비로 1~4ppm이 되게, Aroclor 1254는 50ppm이 되게 n-Hexane에 溶解.

2. Apparatus

(1) Chromatographic column : 內徑 9.5mm, 길이 60cm의 Cock가 부착된 硝子管을 製作·使用

(2) Gas liquid chromatograph

① Model: Tracor 222

② 檢出器 : Ni-63 電子捕獲檢出器 (ECD)

3. 實驗方法

(1) Column Chromatography : 上述한 Column 바타에 Glass wool을 넣고 Activated Forisil (Lauric acid No. =100) 11g을 채우면서 Column을 약간 두드린다. 이때 Florisil column의 充填 높이는 약 30cm가 된다. Florisil層의 위에는 無水 Na₂SO₄를 약 3cm 되게 채운다. 다음에 100ml Mass flask를 Column 밑에 놓고 Cock를 열은 후 Prewetting하지 않은 채 1~4ppm의 標準農藥混合液 5ml를 注加하고 Na₂SO₄層의 表面이 공기중에 露出되기 직전에 n-Hexane 85ml로 Column 壁을 씻어내리면서 Elution시킨다. n-Hexane이 Na₂SO₄層의 表面을 지나기 직전에 Receiver를 바꾸고 Ethyl ether/n-Hexane 混合液 40ml를 Elution시킨다. Aroclor 1254의 Column Chromatography와 농약-Aroclor 混合液의 Column Chromatography도 該當 標準溶液을 각각 5ml씩 取하여 上述한 바와 같이 Florisil Column에서 Elution시킨다.

(2) GLC 分析 : n-Hexane과 Ethyl ether/n-Hexane Eluant는 각각 n-Hexane으로 100ml로 채운 다음, 5μl를 注入하였다. GLC 分析條件은 다음과 같다.

Column: Borosilicate glass column, 0.63cm o.d. × 180 cm long packed with 3% OV-1 on Chromosorb WH P

(80~100 mesh).

Temperature: Injection port 230°C, Column 200°C, Detector 270°C

Flow Gas: Column N₂(70ml/min.), Scavenger N₂(20 ml/min.)

Detector: Ni-63 ECD. Sensitivity 64×10⁻¹⁰ afs.

結果 및 考察

1. PCBs의 Chromatograph Pattern

Fig.1에 殘留性 農藥으로 構成된 標準農藥混合液, Aroclor 1254 및 兩者의 混合液의 Chromatogram을 示하였다. α-BHC와 γ-BHC를 除外한 6個의 農藥成分은

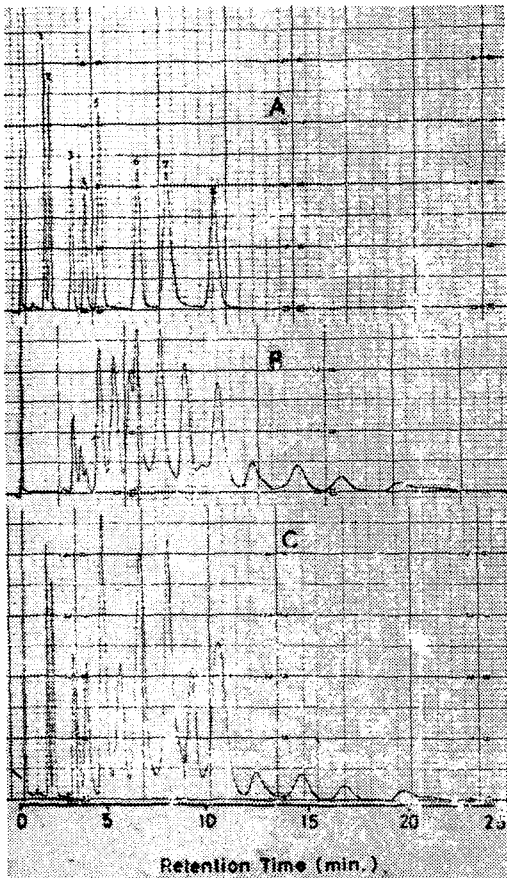


Fig.1. Chromatograms of pesticides and Aroclor 1254
 A: Organochlorine pesticides
 1, α-BHC(0.1 ng). 2, γ-BHC(0.1 ng). 3, Heptachlor(0.1 ng). 4, Aldrin(0.1 ng). 5, Heptachlor epoxide(0.2 ng). 6, Dieldrin (0.2 ng). 7, *p,p'*-DDD(0.3 ng). 8, *p,p'*-DDT(0.4 ng)
 B: Aroclor 1254(5 ng)
 C: Pesticides(0.1-0.4 ng)-Aroclor 1254(5 ng) mixture

모두 Aroclor 成分의 Peak와 一致됨을 알 수 있다. 따라서 干渉物質인 Aroclor의 存在下에 有機鹽素系 殘留成分의 分析이 困難함을 立證하고 있다(Fig.1-C).

이와 같이 農藥殘留成分-Aroclor 1254 Peak의 重複現象은 本實驗에서 使用한 OV-1 Column뿐만 아니라 SE-30/QF-1¹⁶⁾, DEGS/H₃PO₄¹⁶⁾, SE-30⁹⁾, DC-200⁷⁾ 및 DC-200/QF-1¹⁷⁾ 등에서도 일어나는데 Aroclor가 많은 수의 PCB 混合物이라는 점에서 不可避하다고 하겠다.

Fig.2는 OV-1 Column에서 平均 鹽素含量이 각각 42%, 54%, 60%인 Aroclor 1242, 1254, 1260의 Chromatogram pattern을 나타낸 것이다. Chromatogram 상의 Peak番號는 Retention time이 짧은 것로부터 정한 것이다. 試料의 量은 모두 3mg을 注入하였으나

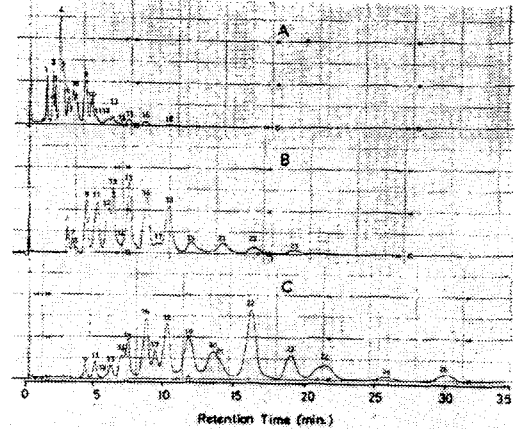


Fig.2. Chromatograms of polychlorinated Biphenyls (PCBs)
 A: Aroclor 1242
 B: Aroclor 1254
 C: Aroclor 1260

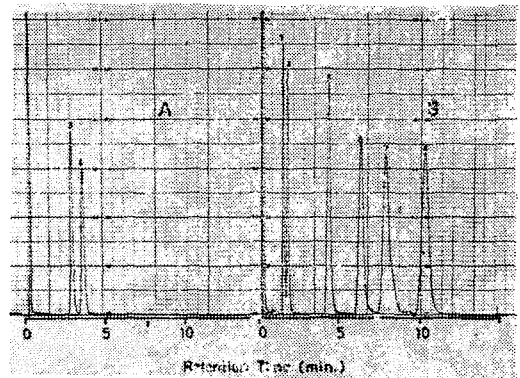


Fig.3. Florisil column separation of pesticides
 A: n-Hexane eluant
 3, Heptachlor. 4, Aldrin.
 B: Ethyl ether/n-Hexane eluant
 1, α-BHC. 2, γ-BHC. 5, Heptachlor epoxide.
 6, Dieldrin. 7, *p,p'*-DDD. 8, *p,p'*-DDT

Table 1. Separation of standard pesticides mixture on Florisil column

Pesticides	Pesticides in				Total Recovery
	n-Hexane fraction		n-Hexane/Ether fraction		
	(μg)	(%)	(μg)	(%)	(%)
Alpha-BHC	0.10	2.0	4.96	98.0	101.2
	0.05	1.0	5.08	99.0	102.6
	0.10	1.6	5.12	98.4	104.4
	av.; 0.08	1.6	5.05	98.4	102.5
Gamma-BHC	0.10	2.0	5.02	98.0	102.4
	0	0	5.00	100.0	100.0
	0	0	5.05	100.0	101.0
	av.; 0.03	0.6	5.02	99.4	101.0
Heptachlor	4.94	98.0	0.10	2.0	100.8
	5.14	98.1	0.10	1.9	104.8
	5.20	100.0	0	0	104.0
	av.; 5.08	98.6	0.07	1.4	103.0
Aldrin	4.61	97.9	0.10	2.1	94.2
	5.20	98.1	0.10	1.9	106.0
	5.10	100.0	0	0	102.0
	av.; 6.08	98.6	0.07	1.4	103.0
Heptachlor Epoxide	0	0	10.34	100.0	103.4
	0	0	10.10	100.0	101.0
	0	0	10.20	100.0	102.0
	av.; 0	0	10.21	100.0	102.1
Dieldrin	0	0	10.30	100.0	103.0
	0	0	9.94	100.0	99.4
	0	0	10.05	100.0	100.5
	av.; 0	0	10.10	100.0	101.0
<i>p,p'</i> -DDD	0	0	15.04	100.0	100.3
	0	0	15.00	100.0	100.0
	0	0	15.25	100.0	101.7
	av.; 0	0	15.10	100.0	100.7
<i>p,p'</i> -DDT	0	0	20.40	100.0	102.0
	1.90	9.1	19.00	90.9	104.5
	0	0	20.20	100.0	101.0
	av.; 0.63	3.1	19.87	96.9	102.5

a) Ethyl ether

鹽素의 含量이 높을수록 ECD에 대한 感度가 增加할 을¹³⁾ 보여주고 있다. 多鹽素化反應에 依한 平均分子量 이 큰 Aroclor 126J의 Retention time이 Aroclor 1242

나 1254 보다 길었다. Aroclor 1242에서는 揮發性이 큰 Peak No. 17을 제외한, Peak No. 1에서 18까지의 17 個, Aroclor 1254에서는 16 個, 그리고 Aroclor 1260

에서는 17 個의 Peak 가 分離되었다.

2. Florisil column 分離

FDA 方法¹⁾에 의한 有機鹽素系 農藥 殘留成分의 抽出時 Aroclor 와 有機鹽素系 農藥의 混合物은 Florisil column 精製過程에서 서로 分離되지 않고 6% Ethyl

ether/Petholeum ether eluant 로 같이 옮겨진다. 따라서 GLC 分析에 앞서 農藥으로부터 Aroclor 1254 의 分離實驗을 遂行하였다.

Fig.3 은 標準農藥混合物을 Florisil column 에서 85 ml 의 n-Hexane 과 40ml 의 Ethyl ether/n-Hexane 르

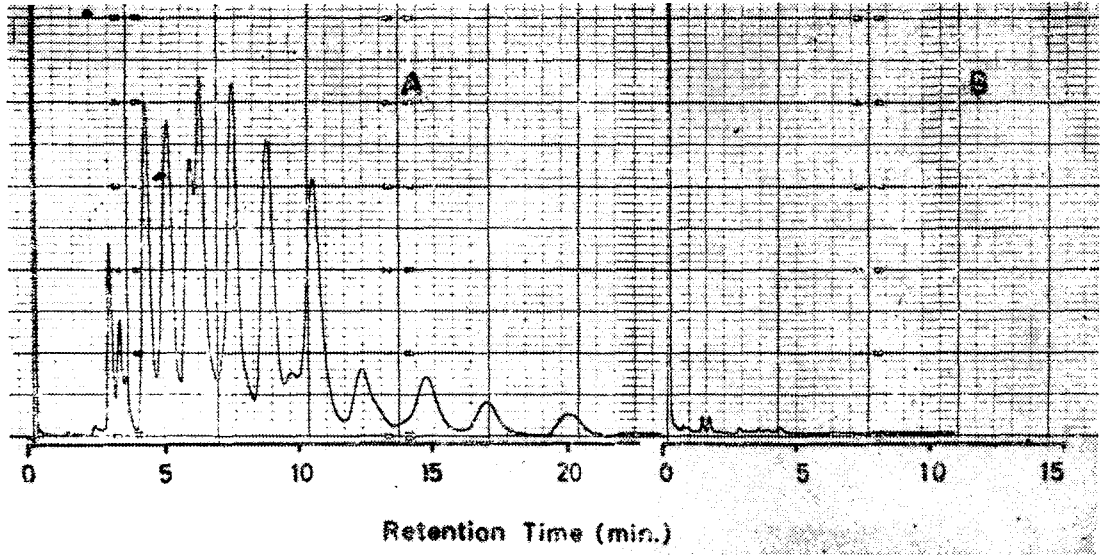


Fig.4. Florisil column separation of Aroclor 1254
A: n-Hexane eluant. B: Ethyl ether/n-Hexane eluant

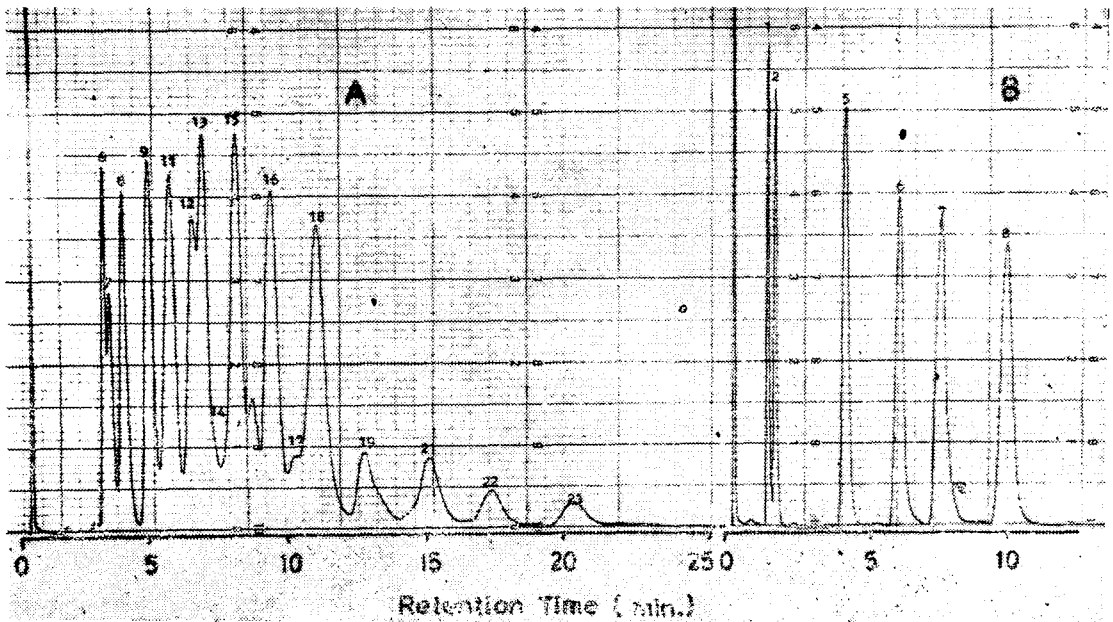


Fig.5. Florisil column separation of pesticides-Aroclor 1254
A: n-Hexane eluant
Heptachlor and Aldrin overlapped with peaks 6 and 8 respectively.
B: Ethyl ether/n-Hexane eluant
1, α -BHC. 2, γ -BHC. 5, Heptachlor epoxide. 6, Dieldrin. 7, *p,p'*-DDD. 8, *p,p'*-DDT.

Elution 시킨 Eluant 의 Chromatogram 이다. Aldrin 과 Heptachlor 는 첫번째 Eluant 인 n-Hexane 層으로 (Fig. 3-A), 나머지 成分은 모두 Ethyl ether/n-Hexane Eluant 로 (Fig.3-B) 옮겨짐을 알 수 있다. 檢量曲線에서 얻은 定量資料는 Table 1 과 같다. 表에 의하면 Florisil column 上에서 8個 化合物은 두 Eluant 로 完全히 分離될 뿐만 아니라 定量的으로도 回收되었다.

같은 方法으로 수행한 Aroclor 1254 의 Column chromatography 結果는 Fig.4 와 같다. Aroclor 1254 의 構成 PCBs 는 모두 n-Hexane eluant 에 있었고, 極히 적은 量의 PCBs 만이 Ethyl ether/n-Hexane eluant 로 옮겨짐을 알 수 있다. 따라서 Florisil column 에서 Aroclor 1254 의 分離가 定量的 分析에 利用될 수 있음을 증명 하였다.

끝으로 標準 農藥—Aroclor 1254 混合液의 Florisil column 分離結果를 Fig.5 에 실었다. Fig.5 에는 標準 農藥混合液과 Aroclor 1254 의 單獨 Column chromatography 結果(Fig.3 및 Fig.4)가 綜合的으로 反映되어 있다. 따라서 Aldrin 과 Heptachlor를 除外한 α -BHC, γ -BHC, Heptachlor epoxide, Dieldrin, *p,p'*-DDT 및 *p,p'*-DDT 와 Aroclor 1254 의 混合物은 GLC 分析에 앞서 Florisil column 分離로 相互干涉없이 分析할 수 있다. 한편 Aldrin 과 Heptachlor 의 定性 및 定量分析은 n-Hexane eluant 의 Chromatographic pattern과 標準 Aroclor 1254 의 Chromatographic pattern 比較로서 可能하다. Fig.5-A 의 Peak 6 과 8 이 標準 Aroclor 1254(Fig.2-B)의 Peak 6 과 8 보다 높은 것은 Aldrin 과 Heptachlor 가 각각 Peak 6 과 8 에 重複되어 있음을 뜻한다.

現在까지 PCBs 와 有機鹽素系 農藥殘留成分의 分離에 使用된 代表的인 Column 充鎖劑에는 Silicic acid-celite 545²⁾, Florisil^{10,12)}, Activated charcoal¹⁵⁾ 등이 있다. 本實驗에서는 FDA 의 유기염소계 농약 잔류성분의 抽出法에서 精製時 使用하는 吸着劑를 擇하였고, Florisil 分離法을¹²⁾ 若干 修正, 使用하였다. 첫번째 elution solvent 인 n-Hexane 은 60 ml 보다 85ml 가 適合함을 實驗的으로 確認하였고, 標準溶液中 少量의 Ethyl acetate는 Benzene 의 境遇와 같이, Column chromatography에 의한 分離에 惡影響을 미쳤다.

本實驗에서 行한 Florisil column 을 이용한 標準 農藥—Aroclor 1254 의 分離는 이미 報告된 Florisil column 分離에^{10,12)} 比하여 優秀하며, 多量의 PCBs 로 汚染된 試料中 有機鹽素系 農藥의 殘有成分 分析에 適用할 수 있다.

摘 要

Polychlorinated Biphenyls(PCBs)는 有機鹽素系 農藥 殘留成分의 GLC 分析에 干涉하는 物質이다. 本實驗에서는 PCBs 의 存在下에 代表的인 유기염소계 농약 및 이들의 主要代謝物의 分析을 目的으로 Florisil column 上에서 PCBs 와 농약성분의 分離를 試圖하였다. 活性化한 Florisil column 에서 α -BHC, γ -BHC, Heptachlor, epoxide, Dielerin, *p,p'*-DDD, *p,p'*-DDT 와 Aroclor 1254 는 完全히 그리고 定量的으로 分離하여 GLC 로 分析할 수 있었다. Heptachlor 와 Aldrin 은 Aroclor 와 함께 elution 되나 Chromatogram 上에서 定量이 可能하였다. 本實驗에서 使用한 Florisil column chromatography 는 많은 試料를 對象으로 한 殘留農藥의 效果의 分析에 利用될 수 있다.

References

1. Anonymous(1971), Pesticidcide Analytical Manual, Vol. I., Methods Which Detect Multiple Residues, 2nd ed. (Revised), U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Food and Drug Administration, Washington D.C.
2. Armour, J.A., and J.A. Burke(1970), Method for separating polychlorinated biphenyls from DDT and its analogs. JAOAC 53, 761.
3. Berg, O.W., P.L. Diosady, and G.A.V. Rees(1972), Column chromatographic separation of polychlorinated biphenyls from chlorinated hydrocarbon pesticides, and their subsequent gas chromatographic quantitation in terms of derivatives. Bull. Environ. Contam. Toxicol. Vol. 7, 338~347
4. Burke, J.A. (1971), Development of the Food and Drug Administration's method of analysis for multiple residues of organochlorine pesticides in foods and feeds. Residue Reviews Vol. 34, 59~89
5. Chau, A.S.Y. (1974), Confirmation of pesticide residue identity. VII. Solid matrix derivation procedure for simultaneous confirmation of Heptachlor and Endrin residues in the presence of large quantities of polychlorinated biphenyls. JAOAC 57, 585
6. Duggan, R.E., G.Q. Lipscomb, E.L. Cox, R.E. Heatwole, and R.C. Kling(1971), Pesticide residue levels in foods in the United states from July 1, 1963 to June 30, 1969. Pesticides Monitoring Journal Vol. 5(2), 73~212
7. Erney, D.R.(1974), Rapid screening method for

- analysis of chlorinated pesticide and polychlorinated biphenyl residues in fish. *JAOAC* 57(3), 576~579
8. Frazier, B.E., S.G. Chester and G.B. Lee(1970), Apparent organochlorine insecticide contents of soils sampled in 1910. *Pesticides Monitoring Journal*, Vo. 14(2), 67~70
 9. Gunther, F.A. And R.E. Spenger (1966), Nature of chlorine interferences in total halogen methods of analysis of organochlorine pesticide residue. *J. Agr. Food Chem.* 14, 515
 10. Hylin, J.W., R.E. Spenger and F.A. Gunther (1969), Potential interferences in certain pesticide residue analyses from organochlorine compounds occurring naturally in plants. *Residue Reviews* 26, 127~139
 11. Jensen, S. (1966), Report of a new chemical hazard. *New Scientist* 32, 612
 12. Jensen, S., A.G. Johnels, M. Olsson. and G. Otterlind (1969), DDT and PCB in marine animals from Swedish waters. *Nature* 224, 247~250
 13. Koeman, J.H. Ten Noever de Brauw and R.H. de Vos (1969), Chlorinated biphenyls in fish, mussels and birds from the river Rhine and the Netherlands coastal area. *Nature* 221, 1126~1128.
 14. Monsanto Co. (1967), The Aroclor Plasticizers. *Tech. Bull. O/PL—306*
 15. Reynolds, L.M. (1968). PCBs and their interference with pesticide residue analysis. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 4, 128
 16. Reynolds, L.M. (1971) Pesticide residue analysis in the presence of polychlorobiphenyls (PCBs). *Residue Review* 34, 27~57
 17. Risebrough, R.W., S.G. Herman, D.B. Peakall and M.N. Kirven (1968), Polychlorinated biphenyls in the global system. *Nature* 220, 1098~1102