

Gas Chromatography에 의한 人體血液중에서 스미치온 및 마라치온의 分離定量에 관한 研究

*具 聖 會 · 朴 聲 雨 · *李 英 子

국립과학수사연구소 · *서울보건전문학교

A Study on the Isolative determination of Smithion and Malathion in
the Human Blood by Gas Chromatography

*Koo Sung Hoi, Park Sung Woo, *Lee Young Ja

National Institute of Scientific Investigation, *Seoul Health Junior College

Abstract

This experiment was carried out to determine the amount of organophosphorous pesticides accumulated in farmer's blood during the farming season.

The Blood had been collected for about 5ml from farmer's, and extraction was purified on a Avicel/Darco G-Co (1:10) column and determined by Gas Chromatography using AFID supported on 2% EGA. The Gas chromatographic detection yielded recoveries from the blood of 88% for smithion 94% for malathion.

The amount of average contamination shows 0.045ppm for smithion. 0.054ppm for malathion.

緒 論

工業이 發達됨에 따라 化學物質은 大氣, 土壤, 水源 農作物類, 조수류 및 인축 등에 직접 또는 간접적으로 汚染 및 中毒現象이 社會에 문제점으로 대두되고 있다. 그 대상 오염 물질중 有機農藥系은 農民들에 의하여 농작물의 栽培 과정시 殺蟲 및 殺蟲用으로 많이 사용되고 있으며 기타로는 살인 및 자살사건에 악이용되는 것도 매년 증가 되고 있다.

본 연구는 신속하고 정밀한 測定方法의 確立과 만성 중독시와 급성중독시에 한정되 시료로 양자를 區分하는데 참고자료로 활용하고자 하는 것과 농약의 사용회수가 가장 많은 농번기에 농민들의 피부 및 호흡기 계통으로 흡수된 오염도를 조사기 위하여 연구되었으며 외국에는 人體의 脂肪組織 血液 및 尿등⁽¹⁻⁴⁾에서 잔류 농약을 정량보고 한바 있으나 우리나라에서는 사체의 脂肪組織⁽¹¹⁾ 중에서 조사 보고된 사례만 있을 뿐 혈액 중에서 조사보고 된 사례가 없으므로 연구자들은 유기 농약계열인 smithion과 malathion이 血液중에 汚染된

量을 유기용매로 抽出精製하여 gas chromatography에 의하여 定量한 것을 보고저 한다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

(1) 시약은 특급품 및 용매는 잔류분석용(Katayma-Co).

(2) Active carbon: Darco G-60 charcoal activated

(3) Micro crystalline cellulose: Avicell S.F for T.L.C

(4) Standard: smithion(95%) orade polyscience malathion (96%)

2. 檢체의 채취

1977년 농번기에 농민들로부터 Table-1에 표시된 것과 같이 각각 10명에 대하여 혈액 5ml를 직접 채혈하여 항응고제인 구연산나트륨 3mg~5mg을 투입하여 냉장고에서 0°C~4°C⁽¹⁰⁾로 보존한후 시료로 사용하였으며 세부내용은 표 1.에 나타내었다.

Table 1. The details of examines

Age	Number of sample	Total
20~29	20-1 20-2	2
30~39	30-1 30-2 30-3 30-4 30-5	5
40~49	40-1 40-2	2
50~59	50-1	1

3. 標準品の 造製⁽⁶⁾⁽¹¹⁾

Smithion 및 malathion 표준품 100 μ g을 hexane 100 ml에 용해하여 이 용액 1ml를 취하여 hexane으로 100 ml 용액을 조제한 다음 그 용액 1ml, 2ml, 3ml을 각각 hexane 100ml 용액을 조제하여 0.1ppm, 0.2ppm, 0.3ppm 용액으로 표준품을 사용하였다.

4. 檢體의 精製

표 1.에 표시한 각각의 혈액 5ml을 250ml분액여두에 취하고 acetone: benzene(1:1) 혼합용액으로 1차 100ml 및 2차 50ml로 2회 진탕추출 한후 냉동원심분리기(Model J-21 Beckman)로 -10°C 에서 RPM 6000으로 30분간 원심분리하여 혼합용매층을 취한후 5% NaCl용액 100ml로 3회 세척한 후 그 용매층에 Na_2SO_4 적당량을 가하여 1~2시간 방치한후 60°C 이하에서 진공펌프(Rotavapor-R Tyur 65/45)를 사용하여 전체량이 5ml가 될 때까지 감압농축하였다.

각 농축액 5ml를 active carbon column⁽⁶⁾⁽¹¹⁾에 acetone 300ml로 용출시킨후 이 acetone용액 5% NaCl용액 500ml가 들어 있는 분액 여두에 넣어 혼합하고 benzene 100ml로 2회 같은 방법으로 추출하여 Benzene 용액을 수집하였다. 그 용액에 Na_2SO_4 적당량을 넣고 2~3시간 동안 방치한후 60°C 이하에서 5ml가 될때까지 감압농축한후 gas chromatography(Varian Aerography 2700 series)에 3 μ l을 주입하였다.

5. Gas chromatography에 의한 정량

(1) Smithion과 malathion의 분리

檢體의 成分을 分離確認하기 위하여 유기살충제의 대조표준품 0.3ppm 용액인 smithion과 malathion의 혼합액을 5-(3)의 조건으로 gas chromatography에 3 μ l을 주입한후 retention time을 比較한 결과 malathion은 약 4분 smithion은 약 5.5분에서 잘 분리되는 것을 알았다.

(2) 檢量線 作成 및 回收率

標準品の 造製에 의해 조제된 smithion 및 malathion의 0.1, 0.2, 0.3ppm 표준용액을 gas chromatography의 5-(3)조건에서 각각 3 μ l을 주입하여 peak의 면적비로 측정하여 standard의 검량선을 작성한 것을 그림 1.에 나타낸 것과 같이 거의 원점을 통과하여 직

線을 나타 내었으며 표준품의 조제에 의해 조제된 0.1, 0.2, 0.3ppm의 標準溶液중 각각 5ml를 취하여 검체정제와 동일하게 처리한후 5-(3)의 조건에서 gas chromatography에 각각 3 μ l을 주입하여 peak의 면적비로 측정하여 standard의 회수율에 대한 檢量線을 作成을 作成할 결과 그림 2.에 나타난 것과 같이 거의 원점을 통과하여 직선을 나타내었고 평균 회수율은 smithion 88%, malathion 94%을 나타 내었다.

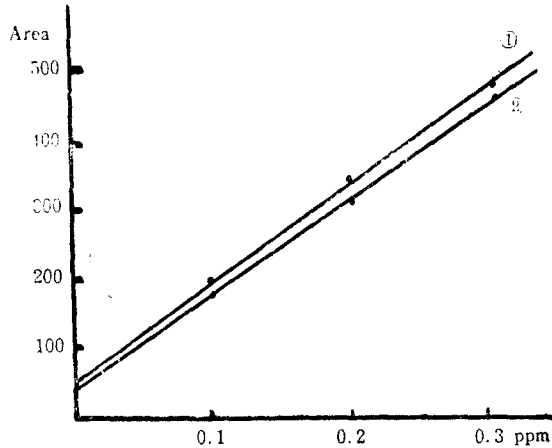


Fig. 1. Standard calibration curve of malathion ① and smithion ②.

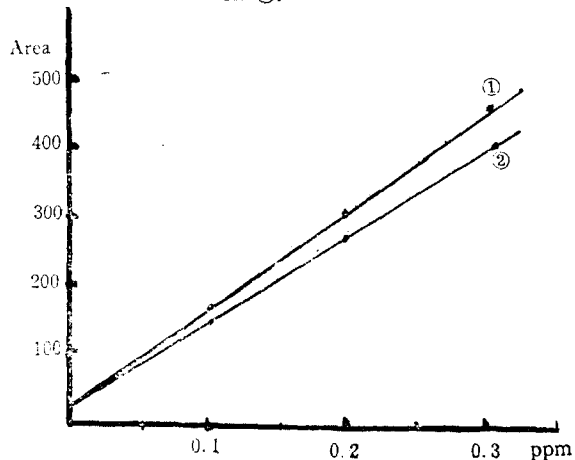


Fig. 2. Standard calibration curve of malathion ① and smithion ② for recovery.

(3) Smithion 및 malathion의 정량

檢體의 精製에 의하여 정제된 각 검체를 아래 조건에서 gas chromatography에 3 μ l을 주입하여 측정된 결과를 표 2.에 표시하였고 각각의 gas chromatogram 중 대표적으로 檢體의 번호 40-1을 그림 3.에 나타내었다.

Table 2. The amount of smithion and malathion

Sample name Samples No.	Smithion	Malathion
20-1	0.037	0.052
20-2	0.025	0.028
30-1	0.058	0.093
30-2	0.059	0.020
30-3	0.036	0.069
30-4	0.017	0.027
30-5	0.028	0.032
40-1	0.074	0.010
40-2	0.088	0.047
50-1	0.030	0.067
Average	0.045	0.054

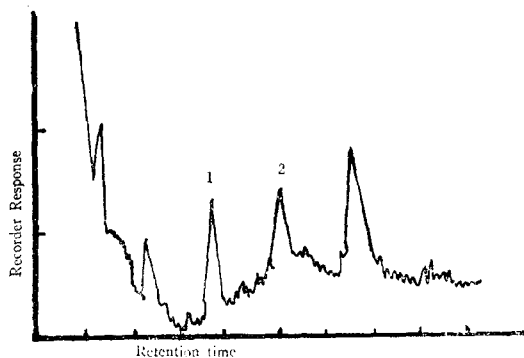


Fig. 3. Gas chromatogram of 40-1

※ G.C Condition: Detector: AFID
 Detector temp: 200°C
 Injector temp: 200°C
 Column Packing: 2% EGA(Glass 6'×1/8'')
 Chart Speed 50cm/hr
 Number 1. Malathion
 2. Smithion

結果 및 考察

유기인제류의 살충제중 malathion-smithion은 그림 3.에 나타낸 바와같이 gas chromatography 5-(3)조건에서 정확한 정량을 할 수가 있고 소량의 생체시료중

血液 5ml로서 정확한 실험치를 얻을 수 있었다.

본 연구는 정상인중 汚染度가 높은 血液중의 含量을 測定하므로서 理化學的 검정시에 유기인제류(살충제)의 만성중독과 급성중독을 구분하는데 큰 기본자료가 되었다. 표 1.에 표시된 각 검체의 含量을 비교해 보면 세대별, 지역별 약품의 종류가 무관한 개개의 測定値를 나타 내었으나 개인별로 최대와 최소의 함량 차이가 약 5배 정도가 되는 원인은 농약 취급과정시 부주위에서 오는 것으로 추정되다.

結 論

본 실험결과 혈액중에서 smithion과 malathion은 gas chromatography condition: detector: AFID, column packing; 2% EGA (Glass6'×1/8''), detector temp. 200°C, injector temp: 200°C였으며 chart speed: 50cm/hr에서 잘 분리되는 것을 알았으며 농민들의 오염된 정도는 평균 smithion 0.045ppm malathion 0.054ppm을 나타내었고 개별적인 차이는 최소대 최대의 비가 약 5배가 되는 것으로 나타났다.

參 考 文 獻

- 1) M.T. Shatik, etal; J. Agr. Food Chem. 17, 1182 1969
- 2) A. Cuerley; Nature 242, 338, 1973
- 3) C.E. Eliakis, etal; Analyst, 93, 368, 1968
- 4) J. Shafik, etal; J. Agr Food Chem. 21, 1973
- 5) Yasuyuki Inoue; J. Food Hyg, Sci, 15 337, 1974
- 6) R.A. Vukovich, etal; J. Agr, Food Chem. 17, 1182, 1969
- 7) 日本分析化學會; 公害分析指針(有機リン劑) 8, 共立出版, 1973
- 8) Zoseph Sherma, Ph.D; Hand book of Chromatograph, The Chemical Rubberco, New York, 161, 1972
- 9) N.C. Jain, etal; J. pharm pharmo 7, 362, 1965
- 10) Pavid L. Mick; J. AOAC 48, 666, 1965
- 11) 朴聲雨; Metacystox의 中毒時各藏器別分布 및 分離法에 관한 연구, 1977