

형광분광법을 이용한 수용액 중의 carbaryl의 정량

김옥현 · 이상학*

경북대학교 자연과학대학 화학과
(2009. 2. 26. 접수, 2009. 8. 4. 승인)

Determination of carbaryl in aqueous solution by fluorescence spectrometry

Wook Hyun Kim and Sang Hak Lee*

Department of Chemistry, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

(Received February 26, 2009; Accepted August 4, 2009)

요 약: 수용액 중의 carbaryl을 형광분광법을 이용하여 정량하기 위한 분석방법에 대하여 연구하였다. 분석의 최적 조건을 구하기 위해서 들뜸 파장, 계면활성제의 농도, 보조계면활성제인 ethanol의 농도 및 방출 파장의 방출 세기에 대한 영향을 조사하였다. Carbaryl 용액에 계면활성제인 sodium dodecyl sulfate (SDS)을 첨가하였을 때 방출세기가 조금 증가하였으며 보조계면활성제인 ethanol을 첨가하였을 때 방출 세기가 현저히 증가함을 관찰하였다. 최적 분석 조건의 들뜸 파장, 계면활성제의 농도, 보조계면활성제인 ethanol의 농도 및 방출 파장은 각각 281 nm, 1.0×10^{-2} mol/L, 20% (v/v), 349 nm 이었다. 최적 분석조건에서 carbaryl의 검정곡선의 감응범위와 검출한계(3σ)는 각각 5×10^{-7} 에서 1.0×10^{-4} mol/L 및 1.1×10^{-8} mol/L이었다. 검정곡선에서 직선성이 성립하는 농도 범위에서 상관계수(S/N=3)는 0.9996이었다.

Abstract: A spectrofluorimetric methods has been developed for the determination of carbaryl in an aqueous solution. The effects of excitation wavelength, concentration of surfactant, concentration of ethanol as co-surfactant and emission wavelength on the fluorescence intensity were investigated to find the optimum experimental conditions to determine carbaryl. The emission intensity of the carbaryl was increased with addition of sodium dodecyl sulfate (SDS) as a surfactant. The emission intensity of the carbaryl was further increased with addition of ethanol as a co-surfactant. The optimum conditions were 281 nm for excitation wavelength, 1.0×10^{-2} mol/L SDS, 20% (v/v) ethanol and 349 nm for emission wavelength. Under the optimum conditions, the emission intensity increased with the carbaryl concentration in the range of 5×10^{-7} to 1.0×10^{-4} mol/L with a detection limit (3σ) of 1.1×10^{-8} mol/L. The resulting correlation coefficient of the working curve was 0.9996.

Key words: Carbaryl, sodium dodecyl sulfate, ethanol, fluorescence spectrometry

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)53-950-5338 Fax : +82-(0)53-950-6330

E-mail : shlee@knu.ac.kr

1. 서 론

다양한 유기합성농약은 농산물의 생산량을 증가시키고 고품질의 농산물을 생산하는데 필요한 농업 자재로 오늘날까지 농업기술의 발전에 커다란 공헌을 하여 왔다. 유기합성농약은 병충해를 구제하는데 있어, 적용범위가 넓고 방제효과가 확실하지만 사용량이 증가함에 따라 환경오염에 의한 자연 생태계의 파괴, 그리고 식품오염에 의한 위협을 초래하고 있어 사회적으로 문제를 유발하고 있다. 오늘날 농약 문제가 심각한 사회문제로 등장하고 있는 것은 농약의 특이한 생리적 활성뿐만 아니라 자연 환경 속에서 매우 지속적으로 잔류, 축적되어서 생태계를 순환하기 때문이다.¹ 특히 식품 중 농약의 잔류독성은 국내에서 뿐만 아니라 국제적으로 중대한 문제로 대두되어 왔으며, 국내에서도 이에 대한 대책으로 농약에 대한 잔류허용기준을 설정한 바 있다.²⁻⁵ 이에 따라 잔류독성이 강한 농약의 사용이 제한된 반면 비교적 잔류독성이 다소 약한 유기인제와 카바메이트계(carbamate) 농약의 사용이 증가되고 있다.

카바민산(carbamic acid)과 아민(amine)의 반응에 의하여 얻어지는 카바민산의 유도체의 한 종류인 카바메이트계 화합물들은 항진균제, 살충제 및 살균제로 사용되어 의약품 약제, 농업용 약제 또는 가정용 약제로 다양하게 이용되고 있다. 카바메이트계 살충제는 1947년 Swiss의 Ciba Geigy사에서 방향족 카바메이트계 화합물이 살충성이 있음을 발견한 후 pyrolan, isolane, dimetan 등을 개발 하였다. 대부분의 카바메이트계 살충제는 phenyl N-methylcarbamate와 aromatic N-methylcarbamate이다. phenyl N-methylcarbamate로는 XMC, metocarb, BPMC, propoxur, isoprocarb 등이 있으며 aromatic N-methylcarbamate로는 carbaryl과 carbofuran이 있다. 이러한 카바메이트계 농약은 acetylcholinesterase 활성을 저해함으로써 신경기능 저해제로 작용하게 된다. 신경전달물질 중 acetylcholine을 가수분해하는 효소계는 acetylcholinesterase (AChE)와 cholinesterase (ChE)가 있는데 카바메이트계 화합물의 경우 ChE를 비활성화 하여 acetylcholine이 과량 축적되어 제반중독 증상을 일으킨다.^{6,7}

이러한 상당수의 화합물들은 환경 및 인체에 미치는 독성 등으로 인한 문제점과 일정시간 이상 사용할 경우 발생할 수 있는 내성문제 등이 있어, 이러한 관점에서 카바메이트계 화합물들의 정량의 중요성이 대두되었으며 지금까지 다양한 분석방법이 제시되었다.

카바메이트계 농약을 정량하기 위한 분석 방법으로는 충전 컬럼용 기체 크로마토그래피(Gas Chromatography, GC)를 이용하거나⁸⁻¹⁰ heptafluorobutyl 또는 methoxy 유도체 등을 만들어 분석하는 방법이 알려져 있다.^{11,12} 또한, 고성능 액체 크로마토그래피(High-Performance Liquid Chromatography, HPLC)를 이용하거나^{13,14} fluorophore 유도체를 post-column에 사용하여 분석하는 방법이 보고되어 있다.^{15,16} 이러한 분석법은 다량의 유기용매를 사용하며 분석시간이 길고, 경우에 따라서는 유도체를 만들어야 하는 등 분석방법이 복잡하여, 새로운 분석방법의 필요성이 높아지고 있다.

형광 분광법은 분광 광도법과 비교해 볼 때, 감도가 좋아 더 낮은 농도 범위까지 적용될 수 있고, 선택성이 좋으며, 직선감응 범위가 넓다. 또한 형광 분광법은 복잡한 장치가 필요 없으므로 흐름 주입 분석법(Flow Injection Analysis, FIA),¹⁷ 고성능 액체 크로마토그래피¹⁸⁻²⁰ 및 모세관 전기영동(Capillary Electrophoresis, CE)^{21,22}과 같은 분석 장치의 검출 방법으로 쉽게 응용할 수 있고, 간편하게 사용할 수 있는 형광 센서의 제작에도 이용되고 있다. 이처럼 형광분광법은 지난 수 십년 동안 유기 화합물²³⁻²⁹이나 금속이온³⁰⁻³⁵의 정량에 사용되었다.

본 연구에서는 형광분광법으로 수용액에서 carbaryl을 정량하였다. 계면활성제의 종류에 따른 형광세기의 증감을 조사해 본 결과, 음성계면활성제인 sodium dodecyl sulfate (SDS)를 선택하였다. 그리고 최적 분석 조건을 찾기 위하여 들뜸 파장, sodium dodecyl sulfate의 농도, ethanol의 농도, 방출파장 등에 의한 영향을 조사하였으며, 이 결과를 통해 최적 분석 조건하에서 형광분광법으로 carbaryl을 정량할 때의 검정곡선, 검출한계 등을 조사하였다.

2. 실험

2.1. 시약

계면활성제로는 sodium dodecyl sulfate(guaranteed reagent, Sigma, USA), dodecylpyridinium chloride(guaranteed reagent, Sigma, USA), Triton X-100(guaranteed reagent, Aldrich, USA)을 제조한 후, 적절히 묽혀서 사용하였다. 보조 계면활성제로는 ethanol(guaranteed reagent, Duksan, Korea)을 사용하였고, 표준물질로 carbaryl(guaranteed reagent, Superco, USA)을 사용하였다. 본 실험에서 사용된 시약들은 특급시약으

로 정제하지 않고 그대로 사용하였다. 모든 용액의 제조에는 Millipore사 (Bedford, MA, USA)의 Milli-Q water system을 이용해 얻은 탈이온수를 사용하였으며, 표준용액은 매일 실험 전에 제조하여 사용하였고, 모든 용액은 실험 직전에 적당한 농도로 묽혀서 사용하였다.

2.2. 기기

본 실험에서 SPEX사 (Edison, NJ, USA)에서 제작된 Model FL111 Spectrofluorimeter를 사용하였다. 광원으로는 450 W Xe Lamp, 기준검출기(reference detector)로는 silicon diode, 시료의 형광을 측정하는 발광검출기(emission detector)로는 Hamamatsu사 (Bridgewater, NJ, USA) Model R928 PMT를 사용하였다. 모든 장치는 DM 3000에 의해 제어되었으며, 시료 측정 시에 기준검출기에는 400 V, 발광검출기에는 900 V의 전압이 걸리도록 하였다. Increment와 integration time은 각각 1 nm와 1 sec로 하였고, 데이터 처리를 위하여 Origin version 6.0 professional soft를 이용하였다. 들뜸 단색화 장치(excitation monochromator)와 방출 단색화 장치(emission monochromator)의 입, 출구에 너비 0.5 mm의 슬릿을 사용하였고, 시료의 형광을 측정하기 위한 형광 셀(cell)로는 사면이 투명한 1×1 cm 석영 셀을 사용했다. 방출 세기는 입사 빛의 90도 각도에서 측정하였다.

2.3. 분석방법

본 실험에서 사용한 용액은 다음과 같이 제조하였다. 100 mL 용량플라스크에 탈이온수를 사용하여 1.0×10^{-2} mol/L sodium dodecyl sulfate 저장 용액과 20%(v/v) ethanol 저장용액을 제조하였다. Carbaryl 표준용액은 40~50 °C에서 60분간 초음파를 조사하여 제조하였으며 탈이온수를 사용하여 필요한 농도에 따라 묽혀서 사용하였다. 10 mL 용량 플라스크에 농도대별 carbaryl 표준용액 1.0 mL에 1.0×10^{-2} mol/L sodium dodecyl sulfate 1.0 mL와 20% ethanol 1.0 mL 그리고 pH 7.0인 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 완충 용액 2.0 mL를 첨가하고 탈이온수로 눈금까지 묽히고 잘 섞어준 다음 형광 스펙트럼과 세기를 측정하였다. 시험의 재현성을 위하여 위와 같은 과정을 각 농도별로 3회 실시하였다. 석영 셀에서 발생하는 방출세기는 349 nm로 고정된 단색화 장치를 통과시킨 후 측정하였다. 검출한계를 구할 때의 신호 대 잡음비는 3으로 하였다.

Vol. 22, No. 4, 2009

3. 결과 및 고찰

3.1. 계면활성제 및 보조계면활성제의 영향

Carbaryl의 최적 들뜸 파장을 선택하기 위하여 방출 파장을 349 nm로 고정하고 sodium dodecyl sulfate의 농도를 1.0×10^{-2} mol/L, ethanol의 농도를 20% (v/v), pH를 7.0으로 조절하여 측정된 1.0×10^{-4} mol/L carbaryl 용액의 들뜸 파장을 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1에서 볼 수 있듯이 carbaryl의 들뜸 스펙트럼은 281 nm에서 최대흡수 봉우리를 나타내었다.

이렇게 얻은 최적 들뜸 파장에서 계면활성제 하에

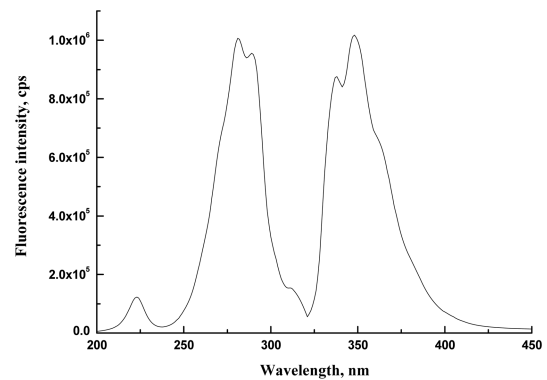


Fig. 1. Fluorescence excitation and emission spectra of carbaryl. Conditions: carbaryl, 1.0×10^{-4} mol/L (pH 7.0). Excitation and emission monochromator slit, 1 mm; Increment, 1 nm and Integration time, 1 second.

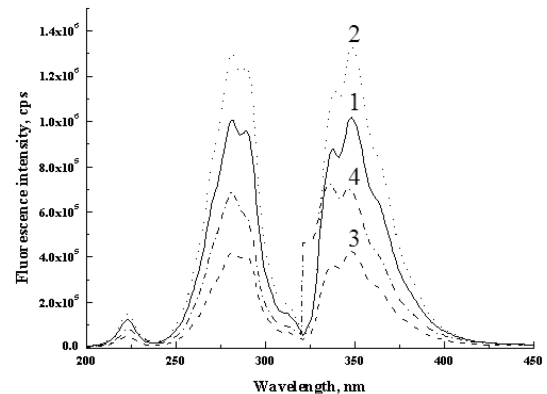


Fig. 2. Fluorescence excitation and emission spectra of carbaryl : carbaryl+pH 7.0 buffer (1), carbaryl+pH 7.0 buffer +sodium dodecyl sulfate (2), carbaryl+pH 7.0 buffer +Triton X-100 (3), carbaryl+pH 7.0 buffer+ dodecylpyridinium chloride (4). Conditions: carbaryl, 1.0×10^{-4} mol/L (pH 7.0). Excitation and emission monochromator slit, 1 mm; Increment, 1 nm and Integration time, 1 second.

서 측정된 1.0×10^{-4} mol/L carbaryl의 들뜸 스펙트럼 및 방출 스펙트럼을 나타내어 형광세기의 증감효과를 조사하여 Fig. 2에 나타내었다.

Fig. 2에서 볼 수 있듯이 carbaryl+pH 7 buffer (1), carbaryl+pH 7 buffer+sodium dodecyl sulfate (2), carbaryl+pH 7 buffer+Triton X-100 (3), carbaryl+pH 7 buffer+dodecylpyridinium chloride (4)의 들뜸 파장과 방출 파장은 모두 281 nm와 349 nm에서 최대 세기를 나타내었다. Carbaryl+pH 7 buffer+Triton X-100과 carbaryl+pH 7 buffer+dodecylpyridinium chloride는 방출세기가 감소하였으나 carbaryl+pH 7 buffer+sodium dodecyl sulfate에서는 방출세기가 크게 증가하였다.

보조계면활성제에 의한 영향을 조사하기 위하여 ethanol을 사용하여 들뜸 및 방출 스펙트럼을 측정하였다. 측정 결과, Fig. 3에서 볼 수 있듯이 ethanol을 보조계면활성제로 사용하였을 때 carbaryl의 형광세기가 크게 증가하였다.

3.2. 계면활성제 농도의 영향

Carbaryl의 정량에서 계면활성제인 sodium dodecyl sulfate의 농도가 방출세기에 미치는 영향을 알아보기 위하여 carbaryl의 농도를 1.0×10^{-4} mol/L로 고정시키고 pH를 7.0으로 조절하고 sodium dodecyl sulfate의 농도를 1.0×10^{-4} mol/L에서 1.0×10^{-1} mol/L까지 변화시키면서 방출세기에 미치는 영향을 조사하여 Fig. 4에 나타내었다.

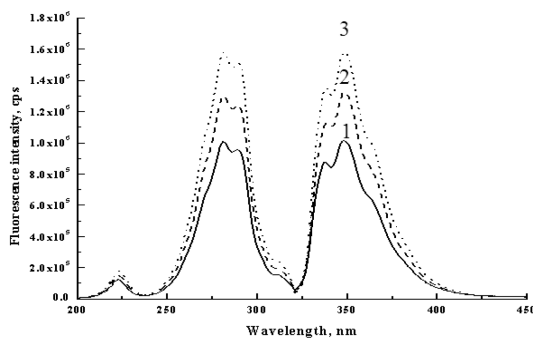


Fig. 3. Fluorescence excitation ($E_{em}=349$ nm) and emission ($E_{ex}=281$ nm) spectra of carbaryl. : carbaryl+pH 7.0 buffer (1), carbaryl+pH 7.0 buffer+sodium dodecyl sulfate (2), carbaryl+pH 7.0 buffer+sodium dodecyl sulfate+ethanol (3) Conditions: carbaryl, 1.0×10^{-4} mol/L (pH 7.0). Excitation and emission monochromator slit, 1 mm; Increment, 1 nm and Integration time, 1 second.

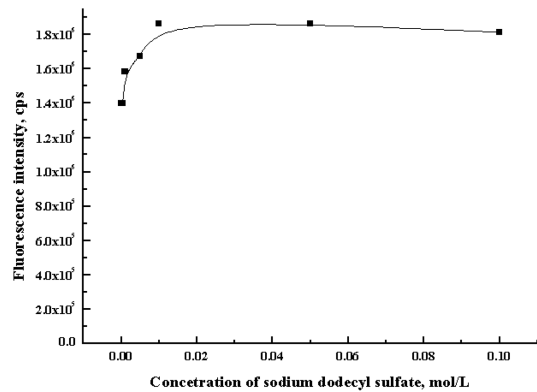


Fig. 4. Fluorescence emission ($E_{em}=349$ nm) spectra of carbaryl with sodium dodecyl sulfate. Conditions: carbaryl, 1.0×10^{-4} mol/L, sodium dodecyl sulfate, 1.0×10^{-4} to 1.0×10^{-1} mol/L (pH 7.0). Excitation and emission monochromator slit, 1 mm; Increment, 1 nm and Integration time, 1 second.

Sodium dodecyl sulfate의 농도가 1.0×10^{-2} mol/L에서 최대의 방출세기를 보이고 1.0×10^{-2} mol/L 이상의 농도에선 과량 존재하는 sodium dodecyl sulfate에 의해 소광효과로 형광세기가 조금 감소함을 알 수 있다. 따라서 이후의 실험에서 sodium dodecyl sulfate의 농도를 1.0×10^{-2} mol/L로 고정하여 실험하였다.

3.3. 보조계면활성제 농도의 영향

Carbaryl의 정량에서 보조계면활성제인 ethanol의 농도가 형광세기에 미치는 영향을 알아보기 위하여 carbaryl의 농도와 sodium dodecyl sulfate의 농도를

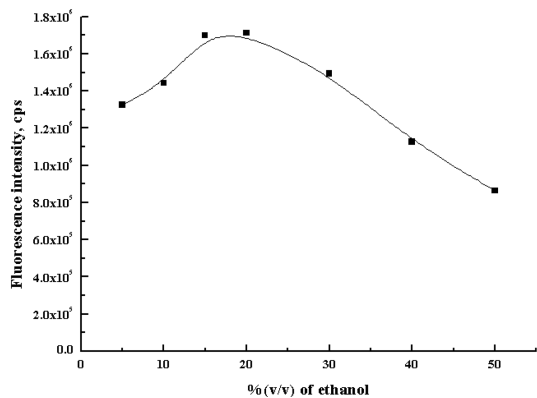


Fig. 5. Fluorescence emission ($E_{em}=349$ nm) spectra of carbaryl with ethanol. Conditions: carbaryl, 1.0×10^{-4} mol/L, ethanol, 5% to 50% (v/v) (pH 7.0). Excitation and emission monochromator slit, 1 mm; Increment, 1 nm and Integration time, 1 second.

각각 1.0×10^{-4} mol/L, 1.0×10^{-2} mol/L로 고정시키고 pH를 7.0으로 조절하고 ethanol의 농도를 변화시키면서 방출세기를 측정하였다. 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다.

Ethanol의 농도가 증가함에 따라 방출세기가 증가하다가 20% (v/v)에서 가장 큰 세기를 나타내었으며 그 이상의 농도에선 형광세기가 조금 감소함을 알 수 있다. Ethanol을 첨가하였을 때 형광세기가 증가하는 이유는 ethanol이 C.M.C. (Critical Micelle Concentration)를 낮추기 때문에 carbaryl의 들뜬상태로부터의 비복사활성해소 과정의 효율이 감소하기 때문으로 생각된다. 이후의 실험에서는 ethanol의 농도를 20% (v/v)로 고정하여 실험하였다.

3.4. Carbaryl의 검정곡선과 회수를 시험

앞에서 조사한 최적 조건하에서 각 농도별 carbaryl의 방출세기를 측정하여 carbaryl을 정량하기 위한 검정곡선을 얻었고 그 결과를 Fig. 6에 나타내었다.

Carbaryl의 정량을 위한 최적 분석 조건은 1.0×10^{-2} mol/L sodium dodecyl sulfate, 20% (v/v) ethanol이며, 이 혼합용액은 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 완충 용액에 의해 pH를 7.0으로 조절하였다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 직선성이 성립되는 범위는 5.0×10^{-7} 에서 1.0×10^{-4} mol/L이었으며, 이농도 범위에서 상관계수는 0.9996이었다. 검정곡선에서 직선성이 성립하는 구간

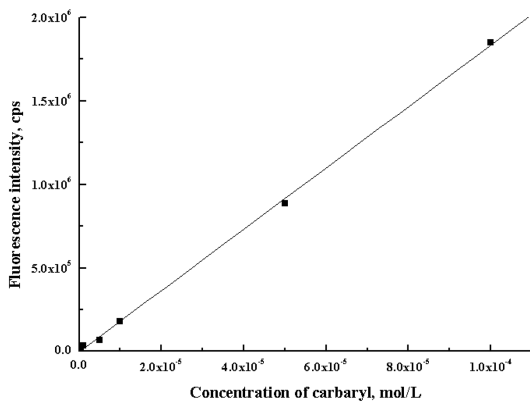


Fig. 6. Calibration curve for carbaryl obtained by peak height of the fluorescence curve as function of concentrations of carbaryl. The signal for the fluorescence spectrum at 349 nm is linear with carbaryl concentration. Linear range : 5×10^{-7} to 1.0×10^{-4} mol/L (pH 7.0), 20% (v/v) ethanol, sodium dodecyl sulfate, 1.0×10^{-2} mol/L. Excitation and emission monochromator slit, 1 mm; Increment, 1 nm and Integration time, 1 second.

Table 1. Results of recovery test for carbaryl in aqueous solution

Sample ^a	Added (mmol/L)	Found (mmol/L) ^b	Recovery (%)
Sample 1	1.00×10^{-3}	$(1.08 \pm 0.05) \times 10^{-3}$	108
Sample 2	1.00×10^{-2}	$(0.98 \pm 0.04) \times 10^{-2}$	98
Sample 3	1.00×10^{-1}	$(0.95 \pm 0.06) \times 10^{-1}$	95

^aRiver water collected from Kangchang bridge site of Keumho river on June 1, 2009.

^bAverage of 5 determinations.

에서 구한 검출한계(3σ)는 1.1×10^{-8} mol/L 이었다.

본 연구에서 개발한 방법의 신뢰도를 평가하기 위하여 회수율 시험을 수행하였다. 시료는 2009년 6월 1일 금호강의 강창교 지점에서 채취한 강물을 사용하였다. 시료에 carbaryl을 각각 1.00×10^{-3} , 1.00×10^{-2} , 1.00×10^{-1} mmol/L 첨가하였을 때 회수율은 95-108%였다.

4. 결 론

본 실험에서는 carbaryl을 형광분광법으로 정량하는 방법에 대하여 연구하였다. Carbaryl의 형광스펙트럼을 조사한 결과 들뜸 및 방출 세기는 각각 281 nm, 349 nm에서 최대 세기를 나타내었다. Carbaryl의 정량에 최적 sodium dodecyl sulfate의 농도, ethanol의 농도 및 pH는 각각 1.0×10^{-2} mol/L, 20% (v/v), pH 7.0이었다. 이러한 최적조건에서 얻은 Carbaryl의 검정곡선에서 직선성이 성립하는 범위는 5.0×10^{-7} 에서 1.0×10^{-4} mol/L이었으며 검정곡선에서 직선성이 성립하는 농도 구간에서 구한 검출한계(3σ)는 1.1×10^{-8} mol/L이었다. 이 농도 범위에서 상관계수는 0.9996이었다. 본 연구에서 이용한 형광분광법은 carbaryl을 정량하는 데 응용할 수 있다고 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2009년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (KRF-C00565).

참고문헌

1. S. Y. Choi, *Korean J. Environ. Agric.*, **3**(1), 79(1984).
2. T. Sasaki, *Food Sanitation Researsch*, **34**(11), 989(1984).

3. Y. Satio, *Food Sanitation Researrch*, **34**(11), 1003(1984).
4. M. Takeda, *Food Sanitation Researrch*, **34**(11), 1019 (1984).
5. K. Kojima, *Food Sanitation Researrch*, **34**(11), 1129 (1984).
6. J. L. Brugess, J. L. Bernstein and K. Hurlbut, *Arch. Intem. Med.*, **154**, 221-224(1994).
7. P. H. Kurtz, *Am. J. Emerg. Med*, **8**, 68-70(1990).
8. G. Blaicher, W. Pfanhauer and H. Woidich, *Chromatographia*, **13**, 438(1980).
9. M. S. K. Sundaram and S. Y. Szeto, R. Hindle, *J. of Chromatogr.*, **177**, 29(1979).
10. A. Ambrus and H. P. Thier, *Pure & Appl. Chem*, **58**, 1035 (1986).
11. J. F. Lawrence, *J. of Chromatogr.*, **123**, 286(1976).
12. L. Ogierman, *J. of Assoc. Off. Anal. Chem.*, **65**, 1452 (1982).
13. C. M. Sparacino and J. W. Hines, *J. of Chromatogr. Sci.*, **14**, 549(1976).
14. W. J. Mayer and M. S. Greengerg, *J. of Chromatogr.*, **209**, 295(1981).
15. R. T. Krause, *J. of Chromatogr.*, **185**, 615(1979).
16. G. L. Muth and F. Erro, *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **24**, 759(1970).
17. A. A. Alwarthan and F. A. Aly, *Talanta*, **45**, 1131(1998).
18. S. Ruggeri, L. T. Vahteristo, A. Aguzzi, P. Finglas and E. Carnovale, *J. Chromatogr. A*, **855**, 237(1999).
19. F. Mattivi, A. Monetti, U. Vrhovsek, D. Tonon and C. Andrés-Lacueva, *J. Chromatogr. A*, **888**, 121(2000).
20. M. Yang and S. A. Tomellini, *J. Chromatogr. A*, **939**, 59(2001).
21. W. F. Nirode, T. D. Staller, R. O. Cole and M. J. Sepaniak, *Anal. Chem.*, **70**, 182(1998).
22. M. W. Lada and R. T. Kennedy, *Anal. Chem.*, **68**, 2790 (1996).
23. J. Yang and W. Zhao, *Anal. Lett.*, **26**, 2291(1993).
24. N. Jie, J. Yang and Z. Zhan, *Anal. Lett.*, **26**, 2283 (1993).
25. P. Damiani, G. Ibanez and A. Olivieri, *Anal. Lett.*, **26**, 247(1993).
26. F. A. Mohamed, *Anal. Lett.*, **28**, 2491(1995).
27. D. G. Konstantianos, P. C. Ioannou and C. E. Efstathiou, *Analyst*, **116**, 373(1991).
28. D. G. Konstantianos and P. C. Ioannou, *Analyst*, **117**, 877(1992).
29. J. Gorges and S. Ghazarian, *Anal. Chim. Acta*, **276**, 401(1993).
30. R. Maties, J. J. Arias, F. Jimenez and M. Roman, *Anal. Lett.*, **25**, 851(1992).
31. B. L. Kepner and D. M. Hercules, *Anal. Chem.*, **35**, 1239(1963).
32. E. C. Stanley, B. I. Kinneberg and L. P. Varga, *Anal. Chem.*, **38**, 1363(1966).
33. D. Wang, G. Alfthan and A. Aro, *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 383(1994).
34. T. L. Miller and S. I. Senkfor, *Anal. Chem.*, **54**, 2022 (1982).
35. Z. Zeng and C. Xu, *Anal. Lett.*, **25**, 1573(1992).