

Methylbromide에 중독된 인체시료 중 브롬이온의 함량

유재훈 · 이상기 · 진광호 · 인상환 · 유명찬 · 박성우

국립과학수사연구소
(1997. 7. 1 접수)

Bromide Concentration in Human Biological Samples Intoxicated by Methylbromide

Jae-Hoon You, Sang-Ki Lee, Kwang-Ho Jin, Sang-Whan In,
Young-Chan Yoo and Sung-Woo Park

National Institute of Scientific Investigation, Seoul 158-097, Korea
(Received July 1, 1997)

요 약: 정상인과 메틸브로마이드 중독에 의하여 사망한 사람의 혈액 및 조직에서 이온크로마토그래프를 이용하여 브롬이온의 함량을 측정하였다. 용리액은 2.8 mM-NaHCO₃/2.2 mM-Na₂CO₃를 사용하였으며, 브롬이온은 8.9분에 검출되었고, 검출한계는 2.5 ng이었다. 정상인 혈액 및 조직에서 브롬이온의 함량은 각각 2.0~5.8 ppm 및 1.0~5.3 ppm 범위였다. 메틸브로마이드중독에 의해 사망한 사람의 경우 혈액중 브롬이온의 농도는 4사례에서 74.2~139 ppm 범위였으며, 조직중 브롬이온의 농도는 1사례에서 76(심장)~201(폐) ppm 범위였다. 메틸브로마이드중독에 의해 사망한 사람의 경우 혈중 브롬이온의 농도는 정상인에 비해 12~22배 높았다.

Abstract: Bromide(Br-) was separated and quantified with 2.8 mM NaHCO₃/2.2 mM Na₂CO₃ by Ion Chromatography. Bromide was eluted at 8.9 min. and the detection limit was 2.5 ng. We compared with bromide concentration in normal or methylbromide intoxicated bloods and tissues. Bromide concentrations were 2.0~5.8 ppm in normal bloods and 1.0~5.3 ppm in normal tissues. In fatal cases of methylbromide intoxication, blood bromide concentrations (4 cases) of 74.2~139 ppm and tissue bromide concentration (1 case) of 76 (heart)~201 (lung) ppm were detected. In fatal cases, blood bromide concentrations were 12~22 times higher than those of normal bloods.

Key words: methylbromide, bromide concentration, blood, tissue

1. 서 론

브롬이온을 함유한 화합물은 공업적으로 널리 이용되며, 의약품이나 살충제로 사용되기도 한다. 따라서 이들 화합물을 많이 이용하는 작업장에서의 흡입, 브롬이온을 함유한 의약품을 과다복용하거나 또는 훈증제로 사용되는 메틸브로마이드의 오용, 과실 등에 의한 사고가 종종 발생하여 법과학적으로 문제가 되는 경우가 있다. 생체내에서 브롬이온의 역할에 대하여는 잘 알려져 있지 않으나 식생활 습관이나 브롬이온

이 함유된 의약품을 복용하였을 때 혈액중의 브롬이온 함량이 증가한다는 보고¹가 있다.

생체시료 중 브롬이온의 측정방법으로는 비색법,² 모세관전기영동법,^{3,4} 가스크로마토그래프법,^{5,6} 선택성이온전극법⁷ 및 고속액체크로마토그래프법⁸ 등이 있으나 이들의 분석법은 전처리 과정이 복잡하고 방해물질의 영향을 받으며, 분석에 많은 시간이 소요되는 단점이 있다. 따라서 저자들은 이러한 단점을 보완하기 위하여, 전처리 과정이 간단하면서도 단시간 내에 정확한 결과를 얻을 수 있는 이온 크로마토그래

피에 의한 브롬이온의 정량을 시도하였다.

분석시료로는 약독물에 중독되지 않은 정상인군과 메틸브로마이드에 중독되어 사망한 사람의 혈액 및 조직에서 브롬이온의 함량을 측정 비교하였으며, 정상인군에 대해서 회수율시험을 하였다.

시험결과 정상인군의 혈액 및 조직에서 회수율은 90% 이상으로 양호하였으며, 검출한계는 2.5 ng이었고, 브롬이온의 함량은 정상인군의 혈액에서 2.0~5.8 ppm, 조직에서는 1.0~5.3 ppm 이었으며, 중독군의 혈액에서는 74.8~138.5 ppm, 조직에서는 76~201 ppm이 검출되었기에 보고하는 바이다.

2. 실험

2.1. 시약 및 기기

Sodium carbonate, sodium hydrogen carbonate 및 기타 실험에 사용된 시약은 특급시약을, membrane filter는 Sartorius사제 3400 Gottingen collodion bag(cat. No. 13200)을 사용하였다.

분석에 사용된 기기는 Dionex사제 model 2000i ion chromatography(이하 IC로 약칭)를 사용하였으며, 브롬이온은 Merck사에서 제조한 1000 ppm의 표준용액을 구입하여 단계적으로 희석하여 실험용액으로 사용하였다.

2.2. 시료 채취

정상인군의 혈액 및 조직은 폭행치사나 교통사고에 의하여 사망한 사체를 부검즉시 채취하여 혈중 methemoglobin 농도가 1% 이하인 신선한 것을 선정하여 냉동보관하였다가 시료로 사용하였으며, 중독군의 경우는 의뢰 즉시 냉동보관하였다가 시험시 해동

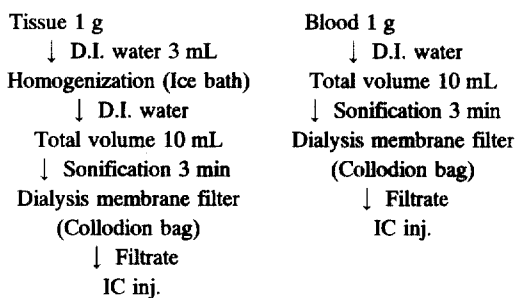


Fig. 1. Flow diagram of sample preparation.

하여 시료로 사용하였다.

2.3. 실험방법

2.3.1. 분석조건

브롬이온의 분석은 Table 1에서 보는 바와 같이 sodium carbonate 및 sodium hydrogen carbonate의 혼합용리액을 사용하였으며, 분리관으로는 Dionex사제의 Ion Pac AS4를 이용하였고, conductivity 검출기를 사용하여 분석한 결과 8.9분에서 양호하게 분리되었다. 브롬이온의 검출한계는 기기의 감도를 조절하면서 base line noise의 약 4배의 peak에 상응하는 양으로 설정하였으며 이때의 검출한계는 2.5 ng이었다.

2.3.2. 시료전처리

혈액시료는 1 g을 탈이온수로 10배 희석하였으며, 조직시료는 1 g을 정평하여 JANKEL&KUNKEL사 Ultra-turrax T25로 얼음비이커하에서 분쇄한 후 탈이온수를 가하여 10 mL의 표선에 맞추었다. IC에 주입하기전 단백질을 제거하기 위한 전처리법은 이미 전보⁹⁾에 소개한 바 있는 dialysis membrane filter인 collodion bag(cut-off 12,000)을 사용하여 여과한 여액을 IC에 50 μ L를 주입하였으며, 인체시료 중 브롬이온은 다른 물질의 방해받지 않고 양호하게 분리되었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 검량선 작성

검량선은 표준용액을 탈이온수로 단계적으로 희석하여 1, 2, 4, 6 및 8 ppm 용액을 조제하여 이온크로마토그래피에 주입하였으며 피크 높이에 따라 검량선을 작성한 결과 양호한 직선성[correlation coefficient(r)=0.998]을 나타내었다.

Table 1. Analytical conditions of ion chromatography

Model	Dionex 2000i
Detector	Conductivity Detector
Eluent	2.8 mM NaHCO ₃ /2.2 mM Na ₂ CO ₃
Column	Ion Pac AS ₄
Flow rate	1.0 mL/min
Suppressor	AMMS (anion micromembrane suppressor)
Regenerant concn.	12.5 mM-H ₂ SO ₄
Injection volume	50 μ L
Output range	10 μ s

3.2. 회수율 측정

동일한 혈액시료 1 g에 브롬이온 표준용액을 각각 10, 20 및 30 μg 을 첨가한 시료와 첨가하지 않은 시료를 각각 탈이온수로 10배 희석하여 시료전처리 방법에 따라 처리한 다음 IC에 주입하였으며, 그 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다. 회수율 측정에 사용된 혈액시료는 브롬이온이 2.0 μg 으로 정량되었으며, 이 시료에 브롬이온을 첨가하여 측정된 회수율은 94% 이상이었다

또한 조직시료(비장, 심장, 신장 및 폐)의 경우 각 조직 1 g에 브롬이온을 각각 10 μg 씩을 첨가한 시료와 첨가하지 않은 시료를 분쇄하여 균질화시킨 후 탈이온수를 가하여 10 mL로 한 다음 3분간 sonification한 후 collodion bag으로 여과하여 IC에 주입하였으며 그 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다. 회수율 측정에 사용된 조직시료는 브롬이온이 1.0~2.0 μg 으로 정량되었으며, 이 시료에 브롬이온 10 μg 을 첨가하여 측정된 회수율은 90% 이상이었다.

3.3. 정상인군의 브롬이온의 함량

생체내에서 bromide의 역할에 대하여는 잘 알려져 있지 않으나 식생활습관이나 bromide가 함유된 의약품 복용하였을 때 혈청중의 농도가 증가된다는 보고가 있다. 따라서 정상인군의 혈액 및 조직 중 브롬이온의 농도 범위를 측정하기 위하여 본 실험에서는 bromide에 노출되지 않았을 것으로 추정되는 폭행치사나 교통사고로 사망한 사체 10명의 혈액과 5명의 장기조직을 분석하여 정상인의 브롬이온의 농도 범위를 측정하였다.

Table 2. Amount (μg) of bromide for normal samples and its recoveries (%) spiked to their samples

Sample (1 g)	Original amount (μg)	Spiked method		
		Added amount (μg)	Found amount (μg)	Recovery
Blood	2.0	10	11.3 \pm 0.4	94 \pm 3.4
Blood	2.0	20	21.6 \pm 0.7	98 \pm 3.2
Blood	2.0	30	31.0 \pm 0.6	97 \pm 2.1
Spleen	1.5	10	10.5 \pm 0.5	90 \pm 5.4
Heart	1.0	10	10.6 \pm 0.4	96 \pm 3.8
Kidney	2.0	10	11.0 \pm 0.7	90 \pm 6.2
Lung	2.0	10	11.6 \pm 0.5	95 \pm 4.2

Data are given mean \pm SD (n=4).

Table 3. Concentration ranges of bromide in normal blood and tissues (unit: ppm)

	Blood	Kidney	Spleen	Lung	Heart	Liver
Number of samples	10	5	5	5	5	5
Concn. range	2.0~5.8	2.0~5.3	1.5~5.2	1.5~4.0	1.0~3.6	1.0~3.0
Ave.	4.5	3.2	3.5	2.7	1.8	2.2

를 측정하였다. Table 3에서 보는 바와 같이 정상인군의 혈액중 브롬이온의 함량은 2.0~5.8 ppm으로 Peter 등이¹⁰ 보고한 혈청중의 함량 5.3 ppm과 유사한 결과를 보였으며, 정상인군 조직중의 브롬이온 함량은 신장이 2.0~5.3 ppm, 비장 1.5~5.2 ppm, 폐 1.5~4.0 ppm, 심장 1.0~3.6 ppm순으로 나타났으며, 혈액에 비해 조직중의 브롬이온의 함량이 다소 낮은 경향을 보였다.

3.4. Methylbromide중독군의 브롬이온의 함량

메틸브로마이드는 쌀, 목재, 과일류, 종자류, 곡류 등의 작물에 해충구제의 목적으로 사용되는 저장용 곡물 해충약으로 인체에 독성이 강한 무색, 무취의 화합물이므로 취급에 세심한 주의가 요하는 고독성 농약이다.^{11,12} 이 농약은 훈증제로 작물에 따라 참고용적 m^3 당 32~96 g을 사용하여 완전 밀폐된 공간에서 살충효과를 얻을 수 있으며, 농작물에 대한 잔류허용기준은 작물에 따라 다르나 브롬이온으로 20~50 ppm으로 규정되어 있다.¹³ 이 농약은 공공기관에 등록된 방제업자만이 정부기관의 책임지도하에 사용할 수 있으나 정부기관의 관리소홀과 방제업자의 취급부주의로 인하여 흡입중독 사망하는 경우가 종종 발생하고 있다. 메틸브로마이드가 인체에 흡입되면 브롬이온으로 대사되어 생체조직중 브롬이온의 함량을 측정함으로써 중독여부를 판단하고 있다.

중독사례로는 1989년 1월 인천항에서 메틸브로마이드로 소독 후 하역대기중이던 선박의 곡물 창고에 들어갔다가 중독되어 사망한 사건(사례 1)과 1996년 4월 군산에서 수입원목에 메틸브로마이드 훈증증 증가스가 창고틈을 타고 새어나와 선실에서 잠자고 있던 러시아 선원 4명이 중독된 사건이 발생하여 1명은 현장에서 사망(사례 2)하였고 2명은 병원에서 3일간 치료 후 사망(사례 3, 4)하였으며 1명은 소생(사례

Table 4. Concentration of bromide in human blood intoxicated by methylbromide (unit: ppm)

Case No.	Before treatment	After death	Treatment days	Sex	Age	Nationality
1	not treated	74.2	0	Male	33	Korean
2	not treated	127	0	Male	64	Russian
3	139	13.6	3	Male	30	Russian
4	91.1	4.5	3	Male	32	Russian
5	32.8	survived	not known	Male	not known	Russian

Table 5. Concentrations of bromide in postmortem tissues in fatal case (case 2) (unit: ppm)

Tissue	Liver	Lung	Heart	Kidney	Spleen	Gallbladder
Concn.	155	201	76	155	124	78

5)하였다.

이들의 혈액에서 브롬이온의 함량을 측정된 결과 Table 4에서 보는 바와 같이 현장에서 사망한 사람의 혈액에서는 74.2 및 127 ppm으로 정상인군의 브롬이온 함량보다 12~22배 높게 검출되었으며, 치료 후 사망한 사람의 혈액에서는 치료전의 브롬이온 함량이 139 ppm, 91.1 ppm이었으나 3일간 치료 후 13.6 ppm, 4.5 ppm으로 치료 후에는 10~20배 낮아졌으며, 치료전 혈액에서 브롬이온의 함량이 32.8 ppm인 사례의 경우 소생하였다. 또한 Table 5에서 보는 바와 같이 중독사례 1건에서 각 조직중 브롬이온의 함량은 폐에서 가장 높은 201 ppm이 검출되었으며, 폐, 간, 신장, 혈액, 비장, 담낭, 심장 순으로 높게 검출되었다.

4. 결 론

이온크로마토그래프를 이용하여 2.8 mM NaHCO₃/2.2 mM Na₂CO₃ 용리액 및 Ion Pac AS4 분리 column으로 브롬이온을 분석한 결과 8.9분에서 타이온의 영향을 받지 않고 인체시료중에서 양호하게 분리되었고, 검량선은 correlation coefficient(r)=0.998로 양호한 직선성을 나타내었으며, 검출한계는 2.5

ng이었다. 인체시료중 회수율은 membrane filter를 이용한 전처리법에 따라 시험한 결과 혈액에서 94% 이상, 조직에서 90% 이상으로 양호하였다.

브롬이온의 함량범위는 정상인군의 혈액에서 2.0~5.8 ppm, 조직에서 1.0~5.3 ppm이었으며, 메틸브로마이드에 중독되어 사망한 사람의 혈액에서는 74.8 및 127 ppm이었고, 조직에서는 76~201 ppm 범위였으며, 폐, 간, 신장, 혈액, 비장, 담낭, 심장의 순서로 높게 나타났다. 중독 후 병원에서 3일간 치료 후 사망한 2명의 혈액중 브롬이온의 함량은 치료전에 91.1 및 139 ppm이었고, 사망 후에는 4.5 및 13.6 ppm으로 3일간 치료 후 10~20배 낮아졌다. 중독되어 혈액중 브롬이온의 함량이 32.8 ppm인 사람은 치료 후 소생하였다.

참 고 문 헌

1. Z. Khalkli, and B. Parasa, "Nuclear activation techniques in the life sciences. Vienna : International Atomic Energy Agency", 461-466(1972).
2. I. Sunshine, "Bromide Type A procedure In: Methodology for Analytical Toxicology", pp. 54-55, CRC Press, Cleveland, U.S.A., 1975.
3. P. J. Oefiner, *Electrophoresis*, **16**, 46-56(1995).
4. T. G. Huggins and J. D. Henion, *Electrophoresis*, **14**, 531-539(1993).
5. A. W. Archer, *Analyst*, **97**, 428-432(1972).
6. J. Wells and G. Cimbura, *J. For. Sci.*, **18**, 437-440(1973).
7. H. J. Degenhart, G. Abele, B. Bevaart and J. Baks, *Clin. Chim. Acta*, **38**, 217-220(1972).
8. C. E. Gowie and E. A. Hogendoorn, *J. Chromatogr.*, **344**, 157-165(1973).
9. Sung-Woo Park et al., *Annual Report of N.I.S.I. Korea*, **26**, 207-213(1994).
10. D. J. Peter and B. Marjolijin, *Clinica Acta*, 132(1983).
11. 농약사용지침서, 농약공업협회, 1996.
12. A WORLD COMPENDIUM: The Pesticide Manual: Incorporating the Agrochemical Handbook, 10th Ed., C. Tomlin, Ed., Crop Protection Publication, Surrey, United Kingdom, 1994.
13. 식품공전, 보건복지부, 1996.