

생체시료에서 에틸렌 글리콜과 그 대사체 분석에 관한 연구

박세연* · 김유나 · 김남이

국립과학수사연구원 법과학부 화학분석과

(2010. 9. 14. 접수, 2011. 3. 16. 승인)

The analysis of ethylene glycol and metabolites in biological specimens

Seh-youn Park*, Yu-na Kim and Nam-ye Kim

Department of Chemical Analysis, National Forensic Service, 158-707, Seoul, Korea

(Received September 14, 2010; Accepted March 16, 2011)

요 약: 에틸렌 글리콜은 주로 자동차, 선박, 항공기 등의 부동액 성분으로 우리 실생활에 널리 쓰이고 있으며 그 만큼 접근성이 용이하여 자살 목적이나 보관·사용 단계에서 의도적 혹은 실수로 인한 오용 사고가 끊이지 않고 있다. 에틸렌 글리콜 자체는 인체에 대한 독성이 그리 크지 않으나 생체 내에서 대사 과정을 거치면서 보다 독성이 높은 대사체를 생성하게 되며, 특히 글리콜산과 옥살산 대사체는 에틸렌 글리콜 중독의 주된 독성 발현체로서 대사성 산증 및 조직 손상 등을 유발하고 최종적으로 치사에 이르게 한다. 에틸렌 글리콜 중독으로 판정할 수 있는 가장 결정적인 데이터는 생체 시료 중 에틸렌 글리콜 농도가 되겠으나, 에틸렌 글리콜은 반감기가 3~5시간 정도로 매우 짧아 발견 당시 이미 상당 수준의 단계로 대사가 진행되어 있는 경우가 많고, 병원 등에서 위 세척 등 응급 치료 중 사망하기도 하며, 경우에 따라서는 매우 늦게 발견되어 시체가 부패되어 혈액을 채취할 수 없는 등, 에틸렌 글리콜 분석만으로 사인을 규명하기 어려운 때가 있으며, 이런 경우에 대사체의 분석이 필수적이다. 본 연구에서는 에틸렌 글리콜로 인하여 사망한 4건의 사례에서 혈액 및 조직 등 11점의 생체 시료에서 에틸렌 글리콜과 초기 대사체인 글리콜산 및 최종 대사체인 옥살산의 함량을 분석하고 그 분포에 대하여 살펴보았다. 에틸렌 글리콜 분석은 유도체화 후 가스크로마토그래프/질량분석법으로, 글리콜산과 옥살산 분석은 이온크로마토그래피로 수행하였으며, 혈액에서(3건)에서 에틸렌 글리콜 농도는 10~2,400 µg/mL 글리콜산 농도는 224~1,164 µg/mL 옥살산 농도는 불검출 ~40 µg/mL 이었다. 간, 신장, 담즙, 흉강 액의 시료(3건)에서는 에틸렌 글리콜 농도는 불검출 ~55,000 µg/mL 글리콜산 농도는 불검출 ~1,124 µg/mL 옥살산 농도는 불검출 ~60 µg/mL 이었다. 간 조직과 신장 조직에서는 치료 등에 따라 에틸렌 글리콜이 검출되지 않더라도 최종 대사체인 옥살산이 의미 있는 양으로 검출되어, 혈액과 더불어 유용한 생체 증거물 시료로서 권장되었다.

Abstract: Ethylene glycol (EG) is produced commercially in large amounts and is widely used as antifreeze or deicing solution for cars, boats, and aircraft. EG poisoning occurs in suicide attempts and infrequently, either

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)2600-4963 Fax : +82-(0)2600-4792

E-mail : swan0407@korea.kr

intentionally through misuse or accidental as EG has a sweet taste. EG has in itself a low toxicity, but is in vivo broken down to higher toxic organic acids which are responsible for extensive cellular damage in various tissues caused principally by the metabolites glycolic acid and oxalic acid. The most conclusive analytical method of diagnosing EG poisoning is determination of EG concentration. However, victims are sometimes admitted at a late stage to hospitals or died during emergency treatment like a gastric lavage or found rotten dead, when blood EG concentrations are low or not detected. Therefore, in this study, the identification of EG was not only performed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) following derivatization but also further toxicological analyses of metabolites, glycolic acid (GA) and oxalic acid (OA), were performed by ion chromatography in various biological specimens. A ranges of blood concentrations (3 cases) was 10~2,400 $\mu\text{g/mL}$ for EG, 224~1,164 $\mu\text{g/mL}$ for GA and ND~40 $\mu\text{g/mL}$ for OA, respectively, In other biological specimens (liver, kidney, bile and pleural fluid), a range of concentrations (3 cases) was ND~55,000 $\mu\text{g/mL}$ for EG, ND~1,124 $\mu\text{g/mL}$ for GA and ND~60 $\mu\text{g/mL}$ for OA, respectively. Liver and kidney tissues were recommended specimens including blood because OA, a final metabolite of EG, was identified large amounts in these despite no detectable EG caused by some therapy.

Key words: ethylene glycol, glycolic acid, oxalic acid, GC/MS, IC

1. 서 론

에틸렌 글리콜은 가장 간단한 2가 알코올($\text{HO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$)의 하나이며 무색의 점성이 있고 단맛이 나는 수용성 액체이다. 에틸렌 글리콜은 동결방지 특성을 가지고 있어 자동차, 선박, 우주선 등에 사용되는 부동액의 주성분으로 사용되며, 열매체 보일러 등에 열매체의 주성분으로도 사용되고 있으며 이 밖에 플라스틱, 필름, 페인트의 제조 및 용제 등에 광범위하게 사용되고 있는 화학물질이다. 이와 같이 에틸렌 글리콜은 우리 생활에 흔히 쓰이는 생활용품 중에 함유되어 있으므로 인하여 접근성이 용이하며 자·타살의 목적으로 오용되기도 하며, 부동액은 맛이 달콤하여 어린이나 동물이 오용하여 섭취함에 따라 중독 사고로 이어지기도 하고, 장시간 사용으로 산화된 에틸렌 글리콜 주성분의 열매체는 과일주와 유사한 색깔과 달콤한 향 때문에 과일주로 오용하여 음용되기도 한다. 국내의 경우 지난 2010년 1월부터 4월의 기간 동안 당 연구소(본원)에만 4건의 사망 사고가 접수되었으며 모두 생활용품의 오·남용으로 초래된 사례였다.

에틸렌 글리콜은 물에 잘 녹으며 섭취 시 소화기관에 의해 빠르게 흡수되어 대부분(80%까지)이 에틸렌 글리콜 자체 혹은 1차 대사체인 글리코알데히드의 형태로 소변 중에 배설된다.¹ 에틸렌 글리콜의 대사 경로는 먼저 알코올 탈수소 효소에 의해 글리코알데히드로 변환된 다음, 알데히드 탈수소 효소에 의해 글리콜산으로 변환되며, 락트산 탈수소 효소에 의해 글리

옥살산으로 변환된 이후 최종적으로 옥살산, 포름산 및 히푸르산으로 분해된다. 에틸렌 글리콜 자체는 독성이 그리 크지 않으나 대사 경로를 거치면서 점점 독성이 강한 대사체로 변환된다. 이들 대사체 중 글리콜산은 주로 대사성 산증을 초래하는 물질이며, 최종 대사체인 옥살산은 옥살산칼슘의 형태로 신장, 뇌 등의 조직에 축적되어 급성신부전, 심폐부전 및 조직손상 등을 초래하는 것으로 보고되었다.²⁻⁷

에틸렌 글리콜의 중독 여부 판단을 위한 생체 시료에서 에틸렌 글리콜과 그 대사체의 검출 및 정량에는 고압액체크로마토그래피,⁸ 이온크로마토그래피,⁹ 가스 크로마토그래피^{10,11} 등의 다양한 방법이 보고되었다. 혈중 에틸렌 글리콜 농도의 분석은 에틸렌 글리콜 중독 여부에 관한 명확한 진단을 위하여서 필수적이다. 가스 크로마토그래피에 의한 분석은 유기화합물에 대해 가장 보편적으로 활용될 수 있는 검출 시험법이나, 에틸렌 글리콜과 같은 2가 알콜 화합물의 경우 직접 주입 시 감도가 낮고 피크가 늘어지는(tailing) 현상^{12,13}이 나타나므로 이를 극복하고자 시료를 유도체화하여 기기에 주입하는 방법들이 연구되었다.^{4,15} 대부분의 급성 중독 사례에서 혈중 에틸렌 글리콜의 농도는 대개 치사량으로 검출되지만, 사건에 따라서는 사고자가 에틸렌 글리콜을 음용하고 병원에 이송되어 병원 치료를 받다가 수 일 후에 사망하기도 하며, 이러한 경우 반감기가 짧은 에틸렌 글리콜의 혈중 농도가 매우 낮아지기 때문에 에틸렌 글리콜의 미량 분석이 요구된다.

본 연구에서는 생체시료에서 추출한 에틸렌 글리콜을 PFOC/TMCS와 BSTFA/TMCS의 99:1 혼합 용액으로 시료를 유도체화 시키고 가스크로마토그래프 질량분석법(GC/MS)으로 분석하였으며, 이때 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ)를 비교하여 미량 분석에 더 효과적인 유도체화 방법을 선정하고 생체 시료에서 에틸렌 글리콜의 함량을 분석하였다.

화학 물질 등 어떠한 물질을 섭취하면 시간이 경과할수록 변화되지 않은 본래의 물질보다 체내에서 효소 동화 작용을 통해 대사체를 형성하게 되며 이러한 대사체에 대한 분석은 목적 성분에 대한 분석에 도움을 주기도 하며¹⁶⁾ 변화되지 않은 본래 물질보다 그 대사체의 독성이 더 클 경우⁹⁾ 대사체의 함량 분석이 무엇보다 의미가 있을 수 있다. 따라서 본 연구에서는 생체 시료에서 에틸렌 글리콜의 대사체들을 확인함으로써 사망 원인 규명에 도움을 주고자 하였으며, 에틸렌 글리콜의 대사체 분석을 위해 전처리가 간단하면서도 감도가 우수한 효과적인 분석 방법을 제안하고자 하였다. 글리콜산은 대사성 산증이 주 증상인 대사체이며, 옥살산은 최종 대사체로서 비록 그 대사량은 적지만 에틸렌 글리콜 중독 사고에서 가장 독성이 강한 물질이다. 그럼에도 불구하고 에틸렌 글리콜 중독 사례에서 생체 시료 중 글리콜산에 대한 연구는 그 사례가 미미한 수준이며, 옥살산에 대한 연구는 뇨 및 신장 등에서 옥살산칼슘의 결정 형태로 정성 확인한 것이 대부분이다. 이에, 본 연구에서는 글리콜산과 옥살산이 모두 수용성 유기산이므로, 생체 시료를 증류수로 희석한 다음, 단백질을 고분자 생체 물질을 투석법으로 제거하고 거른 액을 이온크로마토그래피로 분석하는 방법을 제안하였다.

2. 실험

2.1. 시약 및 재료

표준물질인 에틸렌 글리콜은 Fisher scientific사 (Pittsburgh, PA, USA)의 제품을 사용하여 1,000 µg/mL의 농도로 저장 용액을 조제하여 이를 1, 3, 5 그리고 10 µg/mL의 농도로 각각 조제하여 검량선을 작성하였으며 내부표준물질인 메타크레졸은 Aldrich (Milwaukee, WI, USA)사의 제품을 사용하여 5,000 µg/mL의 농도로 조제하여 사용하였으며, dihydrobenzoic acid (DHBA)는 Aldrich (St. Louis, MO, USA)사의 제품을 사용하였으며, 유도체 시약인 perfluorooctanoyl chloride (PFOC)는 Aldrich사 (St. Louis, MO, USA)의,

BSTFA with 1% TMCS는 Supelco사 (Bellefonte, PA, USA)의 제품을 사용하였으며 아세트과 에틸아세테이트는 Fisher scientific사 (Pittsburgh, PA, USA)의 HPLC 용을 사용하였다.

글리콜산 표준용액은 Aldrich (Milwaukee, WI, USA)사에서 글리콜산을 구입하여 증류수로 1,000 µg/mL 농도가 되도록 제조한 뒤 이를 희석하여 사용하였으며, 옥살산의 표준용액은 AccuStandard사 (New Haven, CT, USA)의 oxalate reference standard (IC용) 100 µg/mL 용액을 구입하여 이를 희석하여 사용하였다. 이온크로마토그래피에 사용한 용리액은 옥살산이온의 분석을 위해서는 AccuStandard사 (New Haven, CT, USA)에서 구입한 Sodium carbonate 0.5M (IC Eluent) 용액과 Sodium bicarbonate 0.5M (IC Eluent) 용액을 구입하여 Sodium bicarbonate/Sodium carbonate가 4.5 mM/1.4 mM 이 되도록 3차 증류수로 희석하여 사용하였고, 글리콜산의 분석을 위해서는 Tetrabutyl ammonium hydroxide (TBAOH)와 heptafluorobutyric acid를 각각 Aldrich사 (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

이온크로마토그래피를 위한 생체시료 전처리는 Sartorius사 (Sartorius AG, Goettingen, Germany)의 콜로디온 백(Collodion Bags)을 사용하였다.

2.2. 시료

본 실험에 사용된 시료는 4건의 사망 사고와 관련된 사건에서 얻어진 혈액 시료 3점, 위 내용물 시료 3점, 담즙 시료 1점, 흉강 액 시료 1점, 간 조직 시료 1점, 근육 조직 시료 1점, 그리고 신장 조직 시료 1점 총 11점이며, 중독 여부에 관한 판정을 위하여 중독과 관련이 없는 질식사 또는 교통사고사에 의한 혈액을 대조군으로 선정하여 분석하였다.

2.3. 시료 전처리

2.3.1 에틸렌 글리콜 분석

1) PFOC를 이용한 유도체화 방법

생체시료 0.1 g을 초차 시험관에 정확히 취해 아세트론 1 mL와 내부표준물질로 5,000 µg/mL 메타크레졸 저장 용액 50 µL를 첨가한 후 마개를 닫고 볼텍스로 3 분간 잘 섞은 후 450 G의 속도로 10 분간 원심분리하여 얻어진 상층액을 분석에 사용하였다. 위에서 얻어진 상층액 500 µL를 취하여 40 °C에서 질소 가스로 건조 시킨 후 PFOC 용액 200 µL를 가하고 60 °C에서 20 분간 반응시켰다. 반응이 끝나면 실온에 방치

하여 냉각하고 40 °C 질소 가스로 건조 시킨 후 에틸 아세테이트 200 μ L를 가해 GC/MS로 분석하였다.

2) BSTFA를 이용한 유도체화 방법

생체시료 0.1 g을 정확히 취하여 아세톤 1 mL와 내부표준물질로 dihydrobenzoic acid (DHBA) 100 μ g/mL 용액 100 μ L를 첨가한 후 마개를 닫고 불텍스로 3 분간 잘 섞은 후 450 G의 속도로 10 분간 원심분리 하여 얻어진 상층액을 분석에 사용하였다. 위에서 얻어진 상층액 500 μ L를 취하여 40 °C 질소 가스로 건조 시킨 후, BSTFA with 1% TMCS 용액 200 μ L를 가하고 60 °C에서 20 분간 반응시켰다. 반응이 끝나면 실온에 방치하여 냉각하고 GC/MS로 분석하였다

2.3.2. 글리콜산 및 옥살산 대사체 분석

20 mL 용량 플라스크에 생체시료 1 g을 정확히 취하여 넣고 3차 증류수로 표정하였다. 이 용액을 흔들어 잘 섞은 후 콜로디온 백에 약 5 mL를 넣어 세척한 다음 다시 이 용액 약 10 mL를 넣고 진공펌프로 감압하면서 투석하였다. 이과정에서 생체 시료 중의 헤모글로빈, 단백질 등의 고분자 물질은 백 안에 남게 되고 콜로디온 백을 통과하여 나온 액은 생체 전해질, 유기산이온 등이 함유된 맑은 수용액이다. 투석된 맑은 수용액 약 1 mL를 바이알에 포집하였으며 이온크로마토그래피로 수행하였으며, 경우에 따라 희석하여 분석 하였다.

2.4. 기기 분석

2.4.1. 가스크로마토그래프/질량분석법(GC/MS)

가스크로마토그래프는 DB-5 MS 칼럼이 장착된 Agilent 7890A를 사용 하였으며 검출기는 5975C Mass Selective Detector (MSD)를 사용하였다. 칼럼 온도는 100 °C를 5 분간 유지한 후 1 분당 10 °C로 증가시키고 130 °C에서 0.58 분을 유지한 다음 280 °C까지 1 분당 20 °C씩 증가시켰다. 주입구 온도는 280 °C이었으며 이동상 기체는 헬륨으로 유속 1 mL/min 이었다. Selected ion monitoring (SIM) mode를 이용하여 정량 분석을 하였으며 이때 사용된 target ion들은 PFOC를 이용한 유도체화 방법에서는 에틸렌 글리콜의 경우 m/z 441, 413, 369 그리고 169 이었으며, 내부표준물질로 사용한 메타크레졸의 경우 m/z 504 와 91을 사용하였다. 한편 BSTFA를 이용한 유도체화 방법에서는 에틸렌 글리콜의 경우 m/z 73, 147, 191 그리고 103 이었으며, 내부표준물질인 DHBA의 경우 m/z 73

과 355를 사용하였다.

2.4.2. 이온크로마토그래피(IC)

이온크로마토그래피는 Dionex (Sunnyvale, CA, USA) 사의 AS40 시료자동주입기가 장착된 ICS-3000을 사용하였다. 검출기는 Dionex 전기전도도 검출기이었으며 loop는 25 μ L, 그리고 유속은 1 mL/min이었다. 글리콜산 분석의 경우, 칼럼은 Dionex IonPac ICE-AS6 (9 \times 250 mm)를, 써프레스는 Dionex Anion Micro-membrane AMMS-ICE II에 5.0 mM 농도의 tetrabutyl ammonium hydroxide (TBAOH) 용액을 헬륨가스로 가압 공급해 사용하였으며, 용리액은 0.4 mM hepta-fluorobutyric acid 수용액을 사용하였다. 또한 옥살산 분석의 경우는 가드칼럼으로 Dionex IonPac ICE-AG22 (4 \times 50 mm)와 분석칼럼으로 Dionex IonPac ICE-AS22 (4 \times 250 mm)를 사용하였으며, 써프레스는 Dionex ASRS (Anion Self-Regenerating Suppressor, 4 mm)를 사용하였고 용리액은 4.5 mM Na₂CO₃/1.4 mM NaHCO₃ 혼합용액을 사용하였다. 정량분석은 Dionex사에서 제공한 Chromanum S/W를 사용하여 수행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 에틸렌 글리콜 분석

에틸렌 글리콜의 효과적인 유도체화를 선택하기 위해 BSTFA와 PFOC의 두 가지 유도체화 시약을 비교 검토 하였다. BSTFA 유도체화 시약을 사용한 경우 검출한계(LOD)는 2.7 μ g/mL, 정량한계(LOQ)는 8.3 μ g/mL이었고, PFOC 유도체화 시약을 사용한 경우 검출한계(LOD)는 2.0 μ g/mL, 정량한계(LOQ)는 6.0 μ g/mL 이었다. 이 결과에 따라 검출한계와 정량한계와 가 더 우수한 PFOC를 유도체화 시약으로 선택하였으며, 검량곡선을 작성한 결과 농도 1 ~ 10 μ g/mL 범위

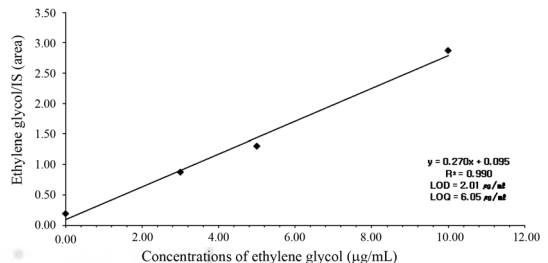


Fig. 1. Calibration curve for ethylene glycol.

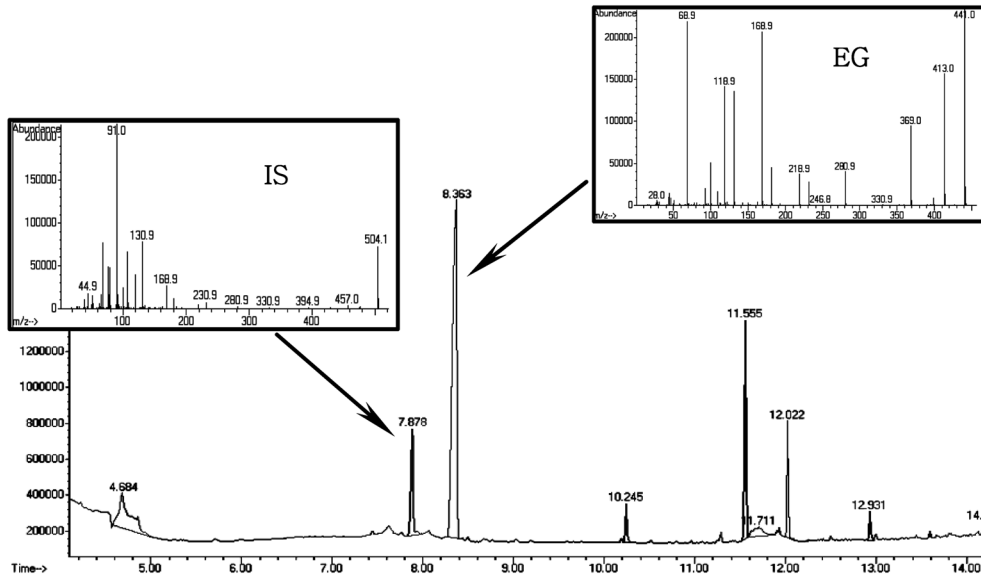


Fig. 2. Total ion chromatogram of perfluorooctanoyl derivative ethylene glycol and m-cresol in GC/MS.

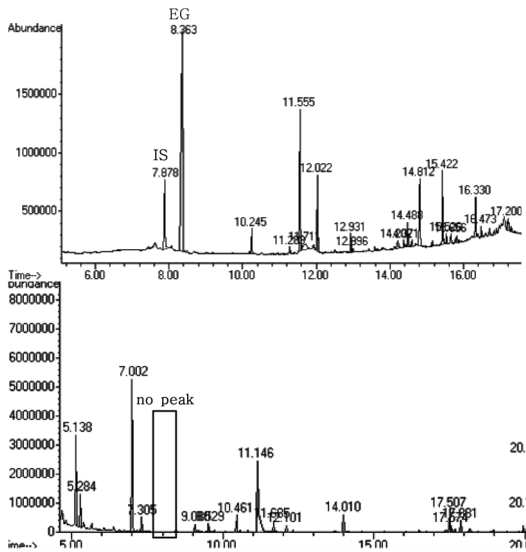
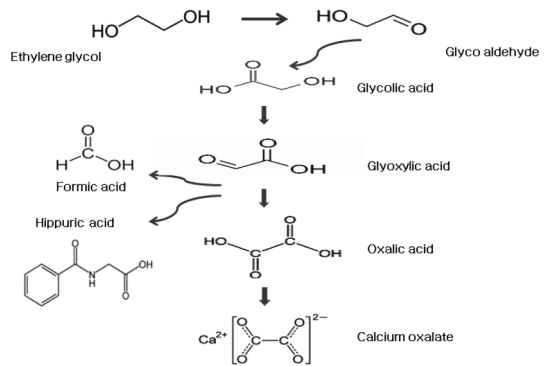


Fig. 3. Total ion chromatograms of heart blood in case 2(up) and unexposed control heart blood (suicidal hanging, down) for determination of derivatized ethylene glycol by GC/MS.



Scheme 1. Ethylene glycol metabolism.

에틸렌 글리콜에 노출되지 않은 질식사 또는 교통사고사에 의한 혈액을 대조군(n = 6)으로 선정하여 분석하였으며, 대조군의 심장 혈액에서 에틸렌 글리콜 유도체화물의 머무를 시간대에서 간섭물질에 의한 방해가 없음을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

3.2. 글리콜산 및 옥살산 대사체 분석

에틸렌글리콜은 생체 내에서 여러 가지 분해효소에 의하여 Scheme 1과 같이 대사되며 대사 과정 중에 생성되는 글리콜산과 옥살산은 에틸렌글리콜 자체에 비해 반감기가 길 뿐만 아니라 인체에 대한 독성이 크므로 이러한 대사체의 분석은 중독 여부를 판단하는데 있어 중요한 지표가 된다. 글리콜산과 옥살산과 같

내에서 $r^2 = 0.990$ 의 양호한 직선성을 보였다(Fig. 1). 에틸렌 글리콜 표준용액을 PFOC를 사용하여 유도체화 한 후 GC/MS로 분석하였을 때 얻어진 크로마토그램을 Fig. 2에 나타내었으며, 에틸렌 글리콜 유도체화물과 내부표준물질인 메타크레졸의 유도체화물이 잘 분리되었다. 간섭 물질의 유무를 검토하기 위하여

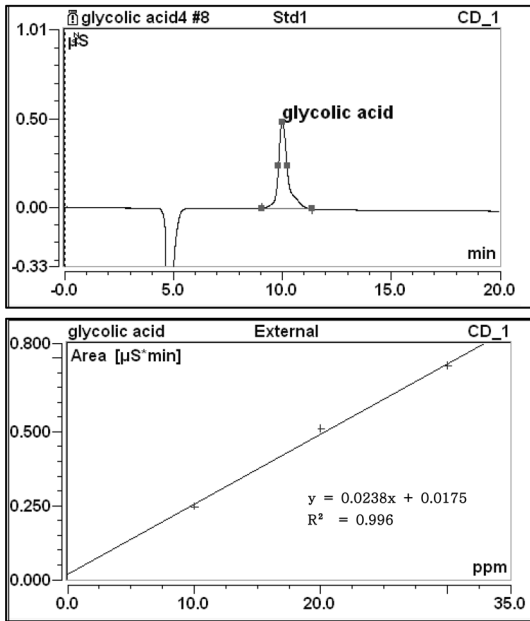


Fig. 4. IC chromatogram and calibration curve of glycolic acid.

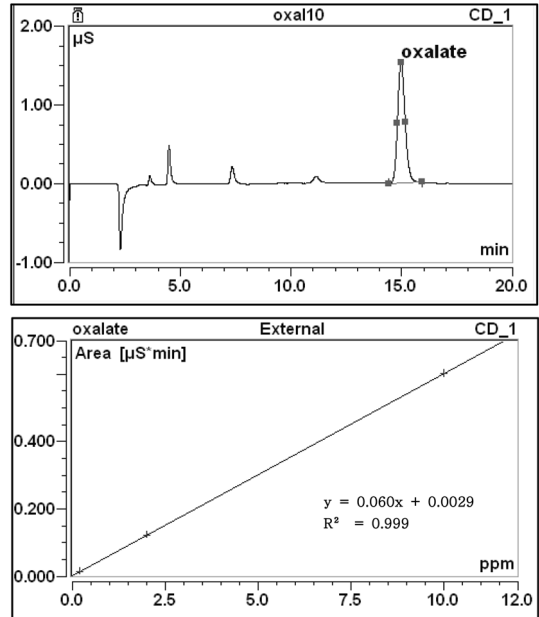


Fig. 5. IC chromatogram and calibration curve of oxalic acid.

은 유기산 역시 에틸렌 글리콜과 같이 적절한 유도체화 시약을 사용하여 가스크로마토그래프/질량분석법으로 분석할 수 있으나, 대사체 옥살산과 같은 최종 대사체의 경우는 생체 내 양적인 분포를 감안하였을 때 효과적인 정량 분석을 위해 우수한 감도를 보이는 분석 방법을 선택하여야 한다. 이온크로마토그래피에 의한 글리콜산과 옥살산 분석에서 각 성분 자체의 검출 한계는 0.1 μg/mL이었으며 시료에서 희석 배율(× 10)을 고려하였을 경우 정량한계는 1 μg/mL이었다. 따라서 감도 측면에서는 유도체화를 이용한 가스크로마토그래프/질량분석법에 비해 좀 더 효과적인 방법이었다.

이온크로마토그래피를 사용하여 글리콜산 표준용액과 옥살산 표준용액을 분석하였으며 각각에 대해 얻은 검량곡선과 크로마토그램은 Fig. 4와 Fig. 5이다. 글리콜산의 경우 농도 10~30 μg/mL 범위 내에서 $r^2 = 0.996$ 의 양호한 직선성을 보였으며, 옥살산의 경우에도 농도 0.2~10 μg/mL 범위 내에서 $r^2 = 0.999$ 의 양호한 직선성을 보였다. 간섭 물질의 유무를 검토하기 위하여 에틸렌 글리콜에 노출되지 않은 질식사 또는 교통사고사이에 의한 혈액을 대조군(n=6)으로 선정하여 분석하였으며, 대조군의 심장 혈액에서 글리콜산 및 옥살산의 머무를 시간대에서 간섭물질에 의한 방해가 없음을 확인할 수 있었다(Fig. 6과 7).

Table 1. Distribution of ethylene glycol(EG), glycolic acid(GA) and oxalic acid(OA) detected in biological specimens

Case	Type of sample	EG (μg/mL)	GA (μg/mL)	OA (μg/mL)
Case 1	Blood	1,070	1,164	40
	Gastric fluid	500	701	ND
Case 2	Blood	2,400	503	27
	Pleural fluid	10,300	752	7
	Bile	55,000	685	10
Case 3	Gastric fluid	1,500	-	-
	Liver	1,890	1,124	60
Case 4	Muscle	290	-	-
	Blood	10	224	ND
	Gastric fluid	ND	237	ND
	Kidney	ND	ND	50

ND: under the LOD, -: not enough sample

3.3. 생체 시료 분석

4건의 사례에서 얻은 혈액과 조직 등 11종의 생체 시료에서 에틸렌 글리콜과 대사체인 글리콜산과 옥살산에 대한 정량 분석 결과를 Table 1에 나타내었으며, 대표적인 생체 시료의 가스크로마토그램 및 이온크로마토그램은 Fig. 3, 그리고 Fig. 6과 7이다.

사례 1은 38 살의 여자 자살자였으며, 부검 후 심장 혈액과 위 내용물을 조사하였다. 에틸렌 글리콜의 농

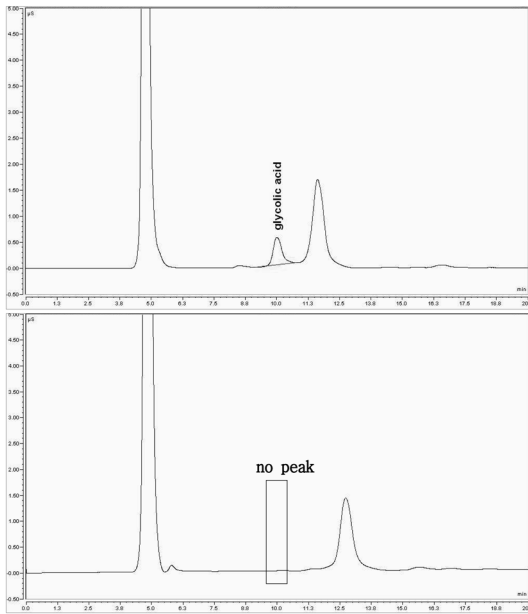


Fig. 6. IC chromatograms of heart blood in case 2 (up) and unexposed control heart blood (suicidal hanging, down) for determination of glycolic acid by IC.

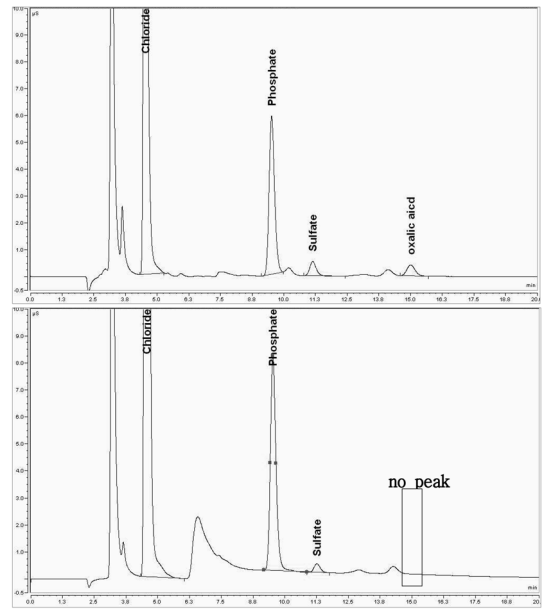


Fig. 7. IC chromatograms of heart blood in case 2 (up) and unexposed control heart blood (suicidal hanging, down) for determination of oxalic acid by IC.

도는 심장 혈액에서 1,070 $\mu\text{g/mL}$, 위 내용물에서 500 $\mu\text{g/mL}$ 이었으며, 글리콜산의 농도는 심장 혈액에서 1,164 $\mu\text{g/mL}$, 위 내용물에서 701 $\mu\text{g/mL}$ 이었고, 옥살산의 농도는 심장 혈액에서 40 $\mu\text{g/mL}$, 위 내용물에서 검출되지 않았다. 심장 혈액과 위 내용물에서 에틸렌 글리콜이 검출되었고 대사체인 글리콜산과 옥살산이 검출되어 에틸렌 글리콜에 의한 중독으로 판정하였다. 특히 위 내용물보다 심장혈액에서 에틸렌 글리콜과 그 대사체의 확인이 명확하게 나타남에 따라 심장 혈액이 매우 유용한 시료임을 알 수 있었다. 사례 1에서 에틸렌 글리콜:글리콜산:옥살산의 함량 분포는 1:1.09:0.037로 나타났다.

사례 2는 32 살의 남자 자살자였으며 부검 후 심장 혈액, 흉강 액, 담즙 액 및 위 내용물을 조사하였다. 에틸렌 글리콜의 농도는 심장 혈액에서 3,400 $\mu\text{g/mL}$, 흉강 액에서 10,300 $\mu\text{g/mL}$, 담즙 액에서 55,000 $\mu\text{g/mL}$, 위 내용물에서 1,500 $\mu\text{g/mL}$ 이었으며, 글리콜산의 농도는 심장 혈액에서 503 $\mu\text{g/mL}$, 흉강 액에서 752 $\mu\text{g/mL}$, 담즙 액에서 685 $\mu\text{g/mL}$ 이었고 위 내용물에서는 검출되지 않았다. 옥살산의 농도는 심장 혈액에서 27 $\mu\text{g/mL}$, 흉강 액에서 7 $\mu\text{g/mL}$, 담즙 액에서 10 $\mu\text{g/mL}$ 이었고 위 내용물에서는 역시 검출되지 않았다. 모든 생체 시료에서 에틸렌 글리콜이 다량 검출되었

고 글리콜산과 옥살산이 검출되어 에틸렌 글리콜에 의한 중독으로 판정하였다. 심장 혈액에서 에틸렌 글리콜:글리콜산:옥살산의 함량 분포는 1:0.21:0.011로 나타났다.

사례 3은 24 살의 여자 자살자였으며, 부패로 인하여 부검 후 간 조직과 근육 조직만이 의뢰된 경우였다. 에틸렌 글리콜의 농도는 간 조직에서 1,890 $\mu\text{g/mL}$, 근육 조직에서 290 $\mu\text{g/mL}$ 이었으며, 글리콜산의 농도는 간 조직에서는 1,124 $\mu\text{g/mL}$ 이었고, 근육 조직에서는 검출되지 않았으며, 옥살산의 농도는 간 조직에서 60 $\mu\text{g/mL}$ 이었고 근육 조직에서는 검출되지 않았다. 간 조직과 근육 조직에서 에틸렌 글리콜이 검출되었고 특히 간 조직에서 글리콜산과 옥살산 모두가 검출되어 에틸렌 글리콜에 의한 중독으로 판정하였다. 간 조직은 에틸렌 글리콜과 대사체의 농도가 적당히 고르게 분포하여 에틸렌 글리콜과 대사체의 확인에 아주 좋은 시료로 사료되었으며, 이는 주된 대사반응이 간에서 일어난다는 보고와 연관되는 것으로 사료되었다.¹⁷ 반면 근육 조직은 에틸렌 글리콜 자체의 농도도 비교적 낮게 검출되었고 두 대사체가 모두 검출되지 않은 점으로 보아 좋은 시료로 권장되지는 않는다. 간 조직에서 에틸렌 글리콜:글리콜산:옥살산의 분포는 1:0.59:0.032이었다.

사례 4는 33 살의 남자 음독자 이었으며, 부검 후 심장 혈액, 위 내용물 및 신장 조직을 조사하였다. 에틸렌 글리콜의 농도는 심장 혈액에서 $10 \mu\text{g/mL}$ 이었고 위 내용물과 신장 조직 모두에서 검출되지 않았고, 글리콜산의 농도는 심장 혈액에서 $224 \mu\text{g/mL}$, 위 내용물에서 $237 \mu\text{g/mL}$ 이었고 신장 조직에서는 역시 검출되지 않았다. 옥살산의 농도는 심장 혈액과 위 내용물에서 모두 검출되지 않았으며, 신장 조직에서는 $50 \mu\text{g/mL}$ 이었다. 특이한 점은 에틸렌 글리콜이 심장 혈액에서 극히 미량으로 검출되었고 위 내용물과 신장 조직 모두에서 검출되지 않았다는 점이다. 그러나 심장 혈액과 위 내용물에서 대사체인 글리콜산의 검출, 그리고 신장 조직에서 에틸렌 글리콜의 최종 대사체인 옥살산이 상당량 검출되어 에틸렌 글리콜에 의한 중독으로 판정하였다. 이는 에틸렌 글리콜에 중독된 경우 소변이나 신장 조직에서 대사체인 옥살산이 칼슘옥살산염 결정상으로 침적되고 이로 인해 특히 신장 조직 등 생체 조직에 대해 광범위하게 심각한 세포 손상이 유발된다는 에틸렌 글리콜 중독 기전과 밀접한 관계가 있는 결과로 사료되었으며, 만약 옥살산 대사체의 확인 단계까지 수행하지 않았다면 에틸렌 글리콜에 의한 중독 여부를 판단하는데 어려움이 있었을 것으로, 옥살산 분석이 중요한 의미가 있음을 알 수 있었다. 이번 사례는 음독 후 사망한 채로 발견된 것이 아니고 일단 병원에 옮겨진 후 위세척 등의 응급처리를 받으며 약 40 시간 정도 생존하였다가 사망하였다는 경찰 보고에 의거하면, 그 치료과정으로 인해 생체 시료 중의 에틸렌 글리콜의 농도가 급격히 낮아진 것으로 사료된다. 에틸렌 글리콜은 체내에서 3 시간 정도의 짧은 반감기를 가지며,¹⁸ 에틸렌 글리콜을 음독한 2건의 사례에서 24 시간이 경과한 후 혈장에서의 농도가 약 10 배 감소하였으며,¹⁹ 또 다른 2건의 사례에서는 에틸렌 글리콜 음독이 의심되지만 검출되지 않은 경우도 있음이 보고된 바 있다.²⁰

외국의 문헌²¹⁾에 의하면 에틸렌 글리콜에 의한 사망 사건에서 에틸렌 글리콜의 농도 범위는 심장 혈액에서 $300 \sim 4,300 \mu\text{g/mL}$ (평균 $2,400 \mu\text{g/mL}$), 간 조직에서 $200 \sim 15,100 \mu\text{g/mL}$ (평균 $6,700 \mu\text{g/mL}$), 신장 조직에서 $200 \sim 11,300 \mu\text{g/mL}$ (평균 $4,600 \mu\text{g/mL}$)로 보고되었으며, 본 실험에서 음독 후 치료 수 일 후 사망한 사례 4를 제외한 사례 1, 2, 그리고 3에서 에틸렌 글리콜의 농도가 보고된 치사량의 농도 범위에 포함됨을 알 수 있었으며 사망의 직접적인 원인으로 작용하였을 것으로 판단되었다.

에틸렌 글리콜에 의한 사망 사건에서 대사체인 글리콜산 및 옥살산의 생체 시료 중 농도에 대한 보고 사례는 극히 미미하며, 미국독성제어연합회(American Association of Poison Control Center)의 국립 독물 데이터 시스템(National Poison Data System)에 의한 2009 연보에 글리콜산 농도에 관한 사례(1건)가 보고되어 있는데,²² 에틸렌 글리콜 음독 사례에서 혈청에서 에틸렌 글리콜 농도가 $100 \mu\text{g/mL}$ 이고 글리콜산 농도가 $1,240 \mu\text{g/mL}$ 인 것으로 보고되었다.²² 또 다른 사례로 Mila *et al.*, 등은 에틸렌 글리콜 음독 사례(1건)에서 내원 당시 혈청에서 글리콜산 농도가 $1,343 \mu\text{g/mL}$, 옥살산이 $31.8 \mu\text{g/mL}$ 이었으며, 혈액 투석 치료 후 글리콜산 농도가 $2.7 \mu\text{g/mL}$, 옥살산이 $1.8 \mu\text{g/mL}$ 이었다고 보고하였다.⁹ 에틸렌 글리콜 중독 사례에서 대사체의 함량 분포에 대한 보고 사례가 미미한 만큼, 본 연구로부터 도출된 글리콜산과 옥살산 대사체의 생체 내 농도 값이 향후 에틸렌 글리콜 중독 판정 시 유용한 지수로서 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

4. 결 론

에틸렌 글리콜 중독 여부를 판정하기 위한 분석의 일환으로 생체 시료에서 에틸렌 글리콜과 그 대사체인 글리콜산과 옥살산을 분석 하였으며, 에틸렌 글리콜 분석을 위하여서는 PFOC를 사용하여 유도체화 한 후 가스크로마토그래프/질량분석법을 사용하였으며, 글리콜산과 옥살산 분석을 위하여서는 생체 시료를 투석한 후 이온크로마토그래피를 사용하였다. 생체 시료 중에 분포하는 각 성분의 농도 범위를 고려하여 각 분석법의 검출한계, 정량 한계, 직선성 및 간섭 물질 유무를 검토하였으며, 그 결과 분석 목적에 적합함을 확인하였다.

에틸렌 글리콜에 중독된 사례로부터 심장 혈액(3건) 중 에틸렌 글리콜의 농도는 $10 \sim 2,400 \mu\text{g/mL}$, 글리콜산의 농도는 $224 \sim 1,164 \mu\text{g/mL}$ 그리고 옥살산의 농도는 불검출 $\sim 40 \mu\text{g/mL}$ 의 범위로 검출되었으며, 그 비율은 $1:(0.21 \sim 22.4):(0 \sim 0.037)$ 이었다. 즉, 에틸렌 글리콜은 반감기가 매우 짧으므로 음독 후 사망에 이르는 시간에 따라서 초기 대사체인 글리콜산의 농도 분포는 매우 넓은 범위로 나타났으며, 가장 독성이 높은 최종 대사체인 옥살산의 경우는 에틸렌 글리콜과 글리콜산에 비해 매우 낮은 농도 비율로 존재함을 알 수 있었다. 위 결과로부터, 옥살산이 글리콜산보다

자체 독성은 더 크긴 하지만 옥살산 대사체가 매우 느리게 생성되고 그 상대 함량비가 매우 적으므로, 에틸렌 글리콜 중독에서 독성 발현에 영향을 주는 효과는 글리콜산과 옥살산이 고르게 고려되어야 할 것으로 사료된다. 이런 점에서 옥살산 대사체 분석의 의의는 사례 4의 예에서 보았듯이 독성 기전과 더불어 가장 오랜 기간 동안 체내에 남아있는 대사체이므로 중독 원인 물질의 올바른 추적을 위해 중요하게 활용될 수 있는 지표 물질로서 법과학적 의의가 있다고 판단되었다.

참고문헌

1. P. D. Daniel, J. B. Kenneth, S. H. Robert and S. R. Williams, *J. Emergency Medicine*, **15**(5), 653-667(1997).
2. P. Hantson, R. Yanbinst and P. Mahieu, *Am. J. Forensic Med. Pathol.*, **23**(2), 159-161(2002).
3. C. LeBlanc and N. Murphy, *Canadian Family Physician*, **55**, 46-49(2009).
4. P. M. Leth and M. Gregersen, *J. Forensic Sci. Intern.*, **155**, 179-184(2005).
5. H. Wollersen, F. Erdmann, M. Risse and R. Dettmeyer, *Legal Medicine*, **11**, S488-S490 (2009).
6. C. G. Thomas and Jr., Christina E., *Air. Medical. J.*, **18**(3), 114-118(1999).
7. P. D. Deon, J. Z. Peter and H. H. E. Mary, *Pharmacotherapy*, **22**(3), 365-372(2002).
8. N. M. Wu and I. M. Theodore, *J. Anal. Toxicol.*, **11**, 63-66(1987).
9. M. Lovrić, P. Granić, M. Cubrilo-Turek, Z. Lalić and J. Sertić., *J. Forensic Sci. Intern.*, **170**, 213-215(2007).
10. H. H. Yao and W. H. Porter, *Clin. Chem.*, **42**, 292-297(1996).
11. W. H. Porter, P. W. Ruter and H. H. Yao, *J. Anal. Toxicol.*, **23**, 591-597(1999).
12. N. C. Jain and R. Forney, Jr., "Ethylene glycol in methodology for analytical toxicology", 165-166, I. Sunshine, Ed., CRC Press, Inc., West Palm Beach, FL, U.S.A., 1975.
13. R. O. Bost and I. Sunshine, *J. Anal. Toxicol.*, **4**, 102-103(1980).
14. H. W. Porter and A. Auansakul, *Clin. Chem.*, **28**(1), 75-78(1982).
15. A. Dasgupta, W. Blackwell, J. Grie and S. Malik., *J. Chromatography B*, **666**, 63-70(1995).
16. A. F. Eder, C. M. McGath and Y. G. Dowdy, *Clin. Chem.*, **44**, 168-177(1998).
17. E. W. McChesney, L. Goldberg and C. K. Parehk, et al., *Food Cosmet Toxicol.*, **9**, 21-38(1971).
18. A. F. Eder, C. M. McGrath and Y. G. Dowdy, *Clin. Chem.*, **44**, 168-177(1998).
19. H. M. Qing, K. Adeli, G. A. Zello and H. P. William, J. Krahn, *Clin. Chem. Acta*, **411**, 601-604(2010).
20. P. M. Leth and M. Gregersen, *J. Forensic Science International*, **155**, 179-184(2005)
21. C. B. Randall and H. C. Robert, "Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man", 3rd ed., 336-341, Year book medical publishers, Inc., U.S.A., 1989.
22. C. Alvin, M. D. Bronstein, A. Daniel, P. H. D. Spyker, R. Louis, P. H. D. Cantilena, JR, L. Jody, P. H. D. Green, H. Barry, M. D. Rumack, L. Sandra and Giffin, *Clinical Toxicology*, **47**, 911-1084(2009).