

# 中性子 放射化 分析法에 依한 韓國人 肝臟中の 砒素 및 Vitamin製劑中の 金屬(Cu, Mn)의 定量

吳 壽 昌\*

Determination of Arsenic in Korean human liver and manganese, copper in Vitamin preparations by neutron action analysis.

Soo Chang Oh\*

(Received January 15, 1974)

1. Neutron activation analysis of arsenic contained in Korean human liver was studied in the view point of forensic chemistry, using 12 corpses.

A sample of 1g was irradiated for 30 mins. in a neutron flux of  $1.2 \times 10^{12} \text{n/cm}^2/\text{sec}$ , followed by nitric-sulfuric acid digestion and then by Gutzeit separation. Radio activity was detected by it's scintillation counter. The arsenic content in the liver was found to be  $0.01 \mu\text{g/g}$  to  $0.15 \mu\text{g/g}$ .

2. A rapid and convenient method for the radiochemical determination of minerals by neutron activation analysis was established. After neutron irradiation to the standard soln. of Cu and Mn in pneumatic tube (neutron flux:  $1.2 \times 10^{12} \text{n/cm}^2/\text{sec}$ ), Cu and Mn were determined by estimating the ratio of the widths under energy peak area in  $\gamma$ -ray-spectrogram.

When the standard soln. of Mn and Cu is irradiated for 15 mins. to 18 hrs., recovery test shows that the relative errors are 5.1% and 4.5% for copper and manganese, respectively.

## I. 韓國人肝臟中の 砒素의 定量

### 緒 論

生體組織中에는 여러가지 金屬이 들어 있는바, 이들中에는 正常的으로 生體의 構成成分을

\* National Institute of scientific Investigation.

이루고 있는 것도 있지만 生理作用에는 何等의 도움이 없이 점차 組織中에 蓄積됨으로서 中毒症狀을 誘發하는 것도 있다.

특히 砒素, 鉛, 水銀等の 重金屬은 大氣汚染이나 殘留農藥成分으로서 生體內에 蓄積되어 여러가지 中毒症狀을 일으키는 경우가 있다

法化學分野에서 D. Gibbons, F. W. Lima, H. Shibata, A. K. Pekons等은 砒素, 鉛, 水銀等 有害性金屬의 生體內의 含量을 測定하여 生體에 對한 毒性을 判定한 報告를 하였고 또한 諸, 朴氏, R. E. Jerris, W. B. Healy, 奧井, 中澤, 島崎氏等은 毛髮에 中生子를 照射하면 個體에 따라  $\gamma$ -ray spectrum이 다르므로 이것을 個人識別上에 利用할 수 있다는 報告를<sup>4, 5, 6)</sup> 하였으며 또 木村氏, M. Smith, S. Sjostrand等은 尿 또는 其他 生理組織中에서 砒素의 含量을 計測報告한바<sup>7, 8, 9)</sup> 있다.

그리고 新城, 鈴木, 入江氏等은 砒素中毒屍體의 各臟器中에 砒素의 分布狀態는 腦, 肝臟, 腎臟, 心臟等の 順位라고 報告하였으며<sup>10)</sup> 山城氏는 砒素中毒시킨 닭의 組織에는 발톱(爪), 羽毛, 肝臟, 心臟, 腎臟, 皮膚, 筋肉의 順位로 砒素가 含有되어 있다고 報告<sup>11)</sup> 하였다.

著者は 우리나라에서의 砒素中毒에 關한 法化學的 基礎資料를 얻기 爲하여 砒素中毒에 依하지 않은 韓國人屍體의 肝臟中의 砒素含量을 中性子에 依한 放射化分析法으로 測定한바 意義있는 結果를 얻었으므로 이를 報告하는 바이다.

## 實驗 方法

### 1. 機 器

Well type Scintillation counter

Research atomic reactor (Triga mark II)

Pneumatic tube (neutron flux:  $0.7 \times 10^{12} \text{n/cm}^2/\text{sec}$ )

Rotary (neutron flux:  $0.3 \times 10^{12} \text{n/cm}^2/\text{sec}$ )

100 channel pulse height Analyzer

Gamma scope II, model 10<sup>2</sup> (T. M. C)

### 2. 砒素標準溶液

特級試藥用  $\text{As}_2\text{O}_3$  粉末를 105°C에서 4시간 乾燥하고 黃酸 desiccator중에서 2시간 방치 冷却시킨 後 그의 13.2mg을 精密하게 달아 少量의 묽은 NaOH에 녹이고 물을 加하여 1l로 한다. 이액 1ml는 As 10 $\mu\text{g}$ 을 함유한다.

### 操 作

#### (1) 試料의 調製

1) As<sup>76)</sup> 追跡子 (tracer) 溶液 :  $\text{As}_2\text{O}_3$  (특급시약) 분말을 105°C에서 乾燥하고 황산 desicca

or중에서 2시간 放置 冷却시킨 後 그의 19.0mg을 秤取하여 세로판紙에 잘 싸서 polyethylene vial에 넣고 原子爐(Triga Mark II)의 pneumatic tube (neutron flux:  $1.2 \times 10^{13} \text{ n cm}^2/\text{sec}$ )에서 30분 照射하고 1時間 放置한 다음 소량의 묽은 NaOH에 녹이고 물을 하여 1l로 한다. 본 溶液 1ml는 As 14.4 $\mu\text{g}$ 을 함유한다.

2) 가검물의 中性子照射: 한 個體에서 골고루 채취한 간장 1-2g을 정밀하게 달아 세로판紙에 싸서 봉한 다음 polyethylene vial에 넣고 砒素標準溶液 0.1ml를 세로판紙에 spot한 標準대조물을 같이 넣어 同一條件下에서 同一時間 照射한다.

3) 有機物分解: 放射화된 가검물을 conical bottomed flask에 넣어 진한  $\text{H}_2\text{SO}_4$  3ml 및 진한  $\text{HNO}_3$ 를 加하고 1時間 加熱 分解시켜 투명하게 되었을때 過량의  $\text{HNO}_3$ 는 가열 휘산시켜서 完全除去한다.

4) 砒素의 分離: 分解液은 Gutzeit apparatus의 200ml 反應 flask에 옮기고 小량의 물로 分解 flask를 씻어서 分解液과 합하고 carrier로서 砒素溶液 1ml (As 10 $\mu\text{g}$ ), 진한  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2ml, 진한 HCl, 15%  $\text{SnCl}_2$  0.4ml를 차례로 加한 다음 물을 넣어 flask溶液이 약 150ml 가량 되게 한 후 끓는 수욕상에서 5分間 放置한다. 다음에 Zn(20mesh) 10g을 加하여 Gutzeit apparatus를 連結하고 發生하는 gas는  $\text{Pb}(\text{Ac})_2$ 溶液으로 적신 탈지면을 증진한 유리관을 通過시키고 1.6%  $\text{HgCl}_2$ 溶液 1ml를 넣은 시험관에 吸收시킨다.

이 反應을 20分間 繼續한 後 受器를 낮추고 수기의 液에 젖은 유리관 部分은 小량의 물로 씻고 受器를 들어내어 0.01N  $\text{I}_2$ 溶液 5ml를 加해서 試驗溶液으로 한다.

## (2) 砒素確認 및 定量

Gutzeit apparatus에서 얻은 試驗溶液을 Well type Scintillation counter에서 討測하여 崩壞曲線 Fig. 1을 얻었다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 砒素의 半減期가 理論值인 26.5時間과 일치하였으며 따라서  $\text{As}^{76}$ 의 放射化學的純度는 滿足스러운 것으로 볼수 있다.

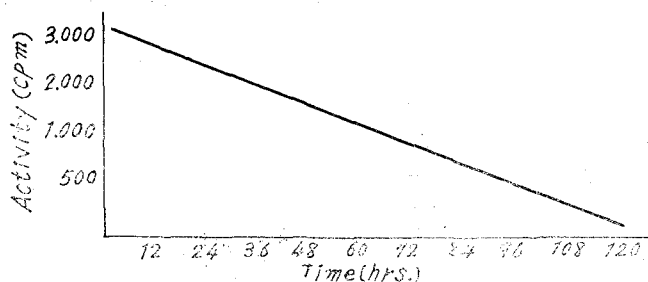


Fig. 1 Radio active decay curve of  $\text{As}^{76}$

## 試驗結果 및 考察

肝臟중의 砒素함량은 극미량일 뿐더러 방해 核種에 의하여 砒素의 確認 및 함량計測이 困難하므로 放射化한 다음 유기물 分解를 거쳐 Gutzeit apparatus에 의하여 砒素만을 分離하

여 정량하였다. 이때 각 조작상의 결함을 배제하기 위하여  $As^{76}$  追跡子溶液으로 각 조작을 검토하였다.

3-1. 유기물 분해 : 放射化된 가검물은 生體內의 성분인 C, H, O, N, S, P, Na, Ca, Cl, I, Cu, Co, Mn, Mg, Ni, Br, F, B, Zn, Pb 및 Hg등이 砒素와 共存하고 있을 것이므로 그 砒素를 分離하기 위하여 有機物分解를 施行하였다. 즉 強熱을 避하여 습식법으로 分解하였는데 50분 이내에 투명하게 分離되었다.

3-2. 砒素의 分離 :  $As^{76}$  標準溶液을 反應 flask에 1ml씩 취하고 진한  $H_2SO_4$  2ml, 진한 HCl 4ml, 15% NaI 5ml, 40%  $SnCl_2$  0.4ml를 순차적으로 넣고 flask에 물 130ml를 넣어 끓는 수욕상에서 5分間 放置하고 Zn 10g을 加한 後 곧 Gutzzeit apparatus를 연결하여 發生되는 gas는  $Pb(Ac)_2$  溶液에 적신 탈지면을 通過시켜 1.6%  $HgCl_2$  溶液에 5分, 10分, 15分, 20分 및 25分間 吸收시킴으로써 計測한 결과 15分間이 經過되면 正량적으로 證류되어 나오는 것을 알 수 있었다.

또한 Zn은 亞鉛粒을 갈아서 20mesh의 체로 쳐서 사용하였는데 亞鉛末의 境遇 反應이 激烈하여 受器에 完全吸收되지 않고  $HgI_2$  溶液이 試驗管 밖으로 넘쳤으며 굵은 粒子를 사용하였을 때에는 反應의 速度가 느렸다. Hamilton Smith씨에 依하면 Zn은 16~20mesh의 것이 좋다는 報告가 있다.

### 3-3. As含量과 activity의 關係

$As^{76}$  追跡子溶液 1, 2, 5, 7, 10 $\mu$ 를 少量의 여지片여 spot하고 各各 分解分離後 Well type Scintillation counter에서 計測하여 back ground를 보정한 결과는 Table 1과 같으며 이것은 Fig. 2와 같이 正量적으로 比例하였다.

### 3-4. 肝臟中에서의 $As^{76}$ 追跡子の 定量

$As^{76}$  追跡子溶液을 대조액으로 하여 肝臟 約 1g에  $As^{76}$  追跡子溶液을 加한 後 各各 分解分離하여 計測한 結果는 Table 2와 같이 상대오차 3.1% 정도로서 正량이 가능하였다.

### 3-5. 肝臟中 砒素定量

肝臟 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5g을 中性子照射시켜서 砒素를 定量한 결과는 Table 3과 같

Table 1 Activity of Arsenic

| Taken ( $As^{76}\beta$ g) | Activity (cpm) |
|---------------------------|----------------|
| 0.0144                    | 180            |
| 0.0288                    | 500            |
| 0.0720                    | 1,300          |
| 0.1008                    | 1,750          |
| 0.1440                    | 2,600          |

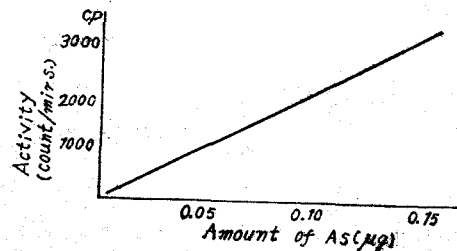


Fig. 2 Calibration curve of As

**Table 2** Recovery of As<sup>76</sup>

|     | Taken | Found |                             | Recovery (%) | Relative Error(%) |
|-----|-------|-------|-----------------------------|--------------|-------------------|
|     |       | cpm   | As <sup>76</sup> ( $\mu$ g) |              |                   |
| I   | 0.144 | 2,660 | 0.144                       | 100.0        | 0.0               |
| II  | "     | 2,680 | 0.147                       | 103.1        | +3.1              |
| III | "     | 2,660 | 0.146                       | 102.3        | +2.3              |

I. As<sup>76</sup> Sol 10 $\lambda$ →Detect of Activity

II. " →Digest→Separation→Detect of Activity

III. " +Liver 1g→Digestion →Separation→Detect of Activity

**Table 3** Determination of Arsenic in liver

| Liver | Activity (cpm) | As ( $\mu$ g) |
|-------|----------------|---------------|
| 0.5   | 730            | 0.040         |
| 1.0   | 1,350          | 0.074         |
| 1.5   | 2,020          | 0.111         |
| 2.0   | 2,750          | 0.148         |
| 2.5   | 3,460          | 0.180         |

**Table 4** Contents of Arsenic in Korean human liver

| Specimens | As ( $\mu$ g/g) | Specimens | As (Fg/g) |
|-----------|-----------------|-----------|-----------|
| A         | 0.012           | G         | 0.011     |
| B         | 0.038           | H         | 0.031     |
| C         | 0.010           | I         | 0.152     |
| D         | 0.074           | J         | 0.078     |
| E         | 0.105           | K         | 0.046     |
| F         | 0.013           | L         | 0.097     |

은바 肝臟을 0.5g을 取했을 때는 砒素量이 적어서 中性子照射期間이 길어야 하며 2g以上에 서는 有機物 分解時間이 길어서 不適當하였고 가검물 約 1g을 取하여 30分間 照射시킨 것이 좋았다.

### 3-6. 韓國正常人肝臟中の 砒素量

韓國人の 屍體에서 肝臟을 採取즉시 냉장고에 저장한후 약 1g을 秤平하여 세로판紙에 싸서 polyethylene vial에 넣고 中性子照射시킨후 分解分離하여 그 含量을 計測한 結果는 Table 4와 같다.

## I. VITAMIN 製劑中 Cu, Mn의 定量

### 緒 論

Cu 성분은 人體內的 cytochrome oxidase, catalase, tyrosinase, cytochrome monoamine oxidase, ascorbic acid oxidase, uricase 등의 酵素成分에 必須不可缺한 造成物로서 vitamin과 함께 重要な 補酵素作用을 함은 周知의 事實이다.

Mn은 아직 正確한 定說은 없으나 人體內的 respiratory enzyme system에서 補酵素作用을 하는 것으로 알려져 있다.

따라서 vitamin製劑中에 微量金屬成分인 Cu, Mn 등을 含有시키코는 있으나 vitamin과 같이 Cu, Mn量이 極히 微量임으로 一般分析法으로 檢出 定量하는에는 困難한 點이 許多하다.

一般的으로 Cu, Mn의 定量法은 여러가지가 있으나 이것들은 大部分 多量의 試料를 必要로 하고 操作이 複雜하며 또한 많은 時間이 所要된다. 그러므로 많은 藥學分析學者들은 이러한 缺點을 解消시키고져 感度가 높은 放射化分析을 施行한 結果를 報告하였는바 Cu, Mn의 放射化分析에 關해서는 血液中の Cu, Mn을 定量한 A. Jacobson, J. Pijek, Gillis, D. Brune, B. Frykberg 등의 報告<sup>12, 13, 14, 15)</sup>가 있다.

著者は 우리나라에서 生産되는 vitamin 製劑中에 含有되어 있는 Cu, Mn에 對하여 放射化分析을 實施하였는바 意義있는 結果를 얻었으므로 이를 報告하는 바이다.

### 實驗 方法

#### 2-1. 機 器

Research atomic reactor (TRIGA MARK II)

Pneumatic tube (Neutron flux:  $0.7 \times 10^{12} \text{n/cm}^2/\text{pec}$ )

Rotary (Neutron flux:  $0.3 \times 10^{12} \text{n/cm}^2/\text{sec}$ )

100 channel pulse height Analyzer

GAMMA scope II, model 10<sup>2</sup> (T.M.C)

#### 2-2. 標準溶液

2-2-1. 망간 標準溶液:  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (특급시약)을  $110^\circ\text{C}$ 에서 2시간 乾燥시킨後 尙산 desiccator중에서 冷却하고 그의 280.6mg을 취하여 증류수를 가해 100ml로 한 다음 이 용

液 1ml중에 망간으로서 1mg 함유하도록 EDTA法으로 測定 보정(補正)하였다.

2-2-2. 동(銅)標準 溶液:  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (특급시약)을  $110^\circ\text{C}$ 에서 3시간 乾燥시킨 後 황산 desiccator중에서 冷却시키고 그의 2.795g을 증류수 100ml에 녹이고 이溶液 1ml중에 10mg의 동이 함유되도록 EDTA法으로 測定 補正하였다.

### 2-3. 조 작

Mn 및 Cu標準 溶液 10 $\lambda$ , 20 $\lambda$ , 30 $\lambda$ , 30 $\lambda$  및 50 $\lambda$ 를 깨끗한 polyene vial에 넣어 pneumatic tube (neutron flux:  $1.2 \times 10^{12}/\text{cm}^2/\text{sec}$ )에서 15分間 照射시킨 後 1時間 방치하고 100 channel pulse height Analyzer에서  $\gamma$ -ray spectrum을 觀察하여 망간의 특성 energy peak 0.85, 1.81, 2.13Mev.에서, 銅은 특성 energy peak 0.5Mev.에서 각각 그 energy peak의 面積比로서 定량하였으며 또한 각 標準溶液의 일정 比率의 混合物를 試驗하였을 때 他 元素에 影響없이 간편하게 同時 定량이 可能하였다.

## 實驗結果 및 考察

Mn 및 Cu標準溶液 10, 20, 30, 40 및 50 $\lambda$ 씩을 15分間 中性子照射시키고 1時間 放置한 後 100 channel pulse hight Analyzer에서 5分間 計測하여 各自의 energy peak의 面積을 求하여 檢량선을 그린 結果는 Table 1 및 Fig. 1과 같으며, 같은 方法으로 試驗한 구리의 檢량선은 Table 2, Fig. 2와 같은 檢량곡선을 얻었다.

또한 망간 및 구리를 혼합하여 회수시험을 한 結果는 Table 3에서 보는 바와 같이 상태 오차는 망간 4.5%, 구리 5%였다.

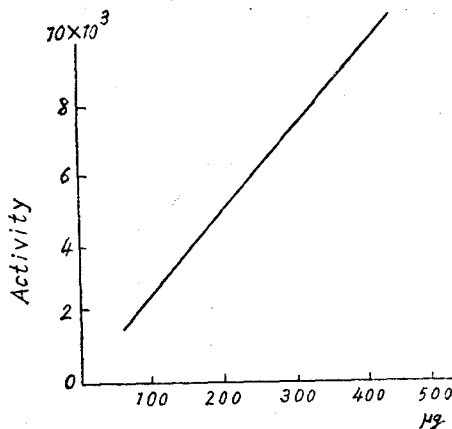


Fig. 1 Calibration curve of Mn

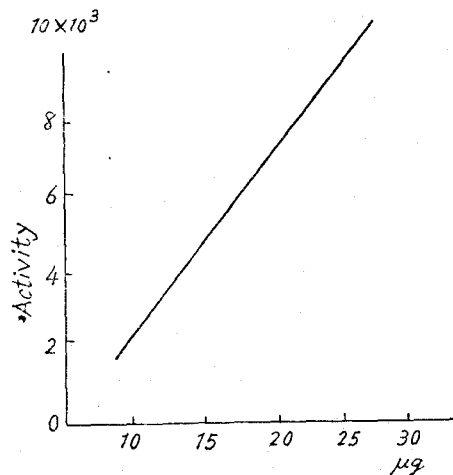


Fig. 2 Calibration curve of Cu

Table 1 Activity of Mn

| Taken<br>$\mu\text{g}$ ( $\gamma$ ) | Activity<br>(cpm) |
|-------------------------------------|-------------------|
| 10 $\gamma$                         | 2,100             |
| 15 $\gamma$                         | 4,250             |
| 20 $\gamma$                         | 6,100             |
| 25 $\gamma$                         | 7,800             |
| 30 $\gamma$                         | 9,700             |

Table 2 Activity of Cu

| Taken<br>$\mu\text{g}$ ( $\gamma$ ) | Activity<br>(cpm) |
|-------------------------------------|-------------------|
| 100                                 | 2,200             |
| 200                                 | 4,050             |
| 300                                 | 6,500             |
| 400                                 | 8,200             |
| 500                                 | 10,300            |

Table 3 Recovery of Cu, Mn in mixture

| Taken ( $\mu\text{g}$ ) | Added ( $\mu\text{g}$ ) | Recovery      |       | Relative Error |
|-------------------------|-------------------------|---------------|-------|----------------|
|                         | Mn                      | $\mu\text{g}$ |       |                |
| 200                     | 20                      | 211           | 15.05 |                |
| Cu 400                  | 20                      | 390           | 97.5  | 5.1%           |
| 700                     | 20                      | 668           | 95.4  |                |
|                         | Cu                      |               |       |                |
| 10                      | 200                     | 9.9           | 99    |                |
| Mn 20                   | 200                     | 21.2          | 106   | 4.5%           |
| 30                      | 200                     | 29.1          | 97    |                |

## 結 論

1. 放射化分析에 의한 屍體肝臟中の 砒素定量은 少量의 可檢物로서 迅速 正確 簡便하게 施行되었으며, 特히 可檢物을 中性子照射한 後에는 汚染의 憂慮없이 또한 砒素가 含有되어 있는 不純試藥을 使用하여도 아무 支障이 없는 長點이 있었다.

2. 韓國正常人的 肝臟中에는 As로서 0.01~0.15 $\mu\text{g}/\text{g}$  含有되어 있었다.

3. 複合製劑醫藥品中の Mn 및 Cu는 微量으로서도 相互 影響없이 迅速正確하게 同時定量이 可能하였다.

끝으로 本研究에 있어 始終 激勵하여 주신 서울大學校 藥學大學敎授 白南豪 博士, 實驗에 있어 便宜를 주신 韓國原子力研究所 當局에 感謝합니다.

## REFERENCES

- 1) D. Gibbons; *J. Forensic Sci.* **8**, 33 (1963)
- 2) F. W. Lima, H. Shibata, L. T. Atall; *C. A.* **63**, 15216 (1964)
- 3) A. K. Perkons, P. A. Vlossak, N Erickson *et al*; *C. A.* **61**, 15026 (1964)



- 4) 諸, 朴 : 原子力研究論文集 **6**, 51 (1965)
- 5) R. E. Jevis; *Canadian Nuclear Technologist*, **3**, 21 (1963)
- 6) W. B. Healy, L. C. Bate; *Ana. Chem. Acta*, **33**, 443 (1965)
- 7) 木村 : 衛生化學(日) **16**, 45 (1967)
- 8) H. Smith; *Ana. Chem.* **31**, 1361 (1959)
- 9) B. Sjöstrand; *Ana. Chem.* **36**, 814 (1964)
- 10) 新城, 鈴木, 入江 : 衛生化學(日) **4**, 42 (1956)
- 11) 川城, *et al.*; 衛生化學(日) **5**, 150 (1957)
- 12) A. Jacobson, S. Brar, T. Fieds, I. G. Fels, E. Kaplan, P. Gustafson, Y. T. Oester;  
*J. Nuclear Med.*, **2**, 289 (1961); *NSA*, **16**, 2882 (1962)
- 13) J. Pijck, J. Gillis, J. Hostø; *Inten. Appl Radiation and Isotopes* **10**, 149 (1961)
- 14) J. Pijck; *NSA*, **16**, 23403 (1962)
- 15) D. Brune, B. Frykberg, K. Samashal, P. O. Wester; *NSA*, **16**, 8670 (1962)
- 16) R. N. Diebel, A. B. Garrett; *NSA*, **15**, 23447 (1961)