ANALYTICAL SCIENCE & TECHNOLOGY
Vol.14, No.6, 522-529, 2001
Printed in the Republic of Korea

당류 중에서 일산화탄소의 발생에 관한 연구

김남이★ · 서중석 · 박성우
국립과학 수사 연구소
(2001. 9. 21. 접수)

Generation of Carbon Monoxide from Saccharides

Nam Yee Kim★, Joong Seok Seo, Sung Woo Park,
National Institute of Scientific Investigation, Korea
(Received Sep, 21, 2001)

요 약 : 알데히드 기를 가지는 당류가 알칼리 용액 하에서 발생되는 일산화탄소를 알칼리의 농도, 반응 온도 및 시간에 따라 분석하였다. 락토스를 포함하고 있는 우유에서 25 ℃와 40 ℃의 조건으로 1.0 M NaOH와 0.01 M NaOH 용액 하에서 생성되는 일산화탄소를 정량 분석하였다. 또한 0.1 M lactose와 0.1 M xylose 각각 20 mL와 1.0 M NaOH용액 2 mL를 50 ℃에서 48시간 동안 반응시키면서 발생되는 일산화탄소를 신선한 혈액에 bubbling 시킨 다음 그 혈액에서 일산화탄소-헤모글로빈의 농도를 측정한 결과 일산화탄소-헤모글로빈의 농도가 31%였으며, 일산화탄소-헤모글로빈 특유의 UV spectrum을 얻을 수 있었다. 같은 방법으로 우유 30 mL에 2 mL의 1.0 M NaOH를 가하여 50 ℃에서 48시간과 72시간동안 반응시키면서 발생되는 일산화탄소를 신선한 혈액에 bubbling 시킨 다음 혈중 일산화탄소-헤모글로빈의 농도를 측정한 결과 일산화탄소-헤모글로빈의 농도는 각각 32%와 42%를 나타내었다.

Abstract : Carbon monoxide was generated when the saccharides which contained aldehyde group were added to alkali solution (NaOH solution) at 25 ℃ or 40 ℃. When the milk was added to 1.0 M NaOH solution at 25 ℃ and to 0.01 M NaOH solution at 40 ℃, carbon monoxide was generated. The carbon monoxide gas which was generated by 20 mL of 0.1 M lactose or 0.1 M xylose and 2 mL of 1.0 M NaOH solution at 50 ℃ for 2days was bubbled through 2 mL of fresh blood. The carboxyhemoglobin concentrations of both conditions were 31%. However, when the carbon monoxide gas which was generated by 30 mL of milk and 2 mL of 1.0 M NaOH at 50 ℃ for 2days or 3days was bubbled through 2 mL of fresh blood, the carboxyhemoglobin concentration was 32% or 42% respectively.

Key words : carbon monoxide, carboxyhemoglobin, milk

I. 서 론

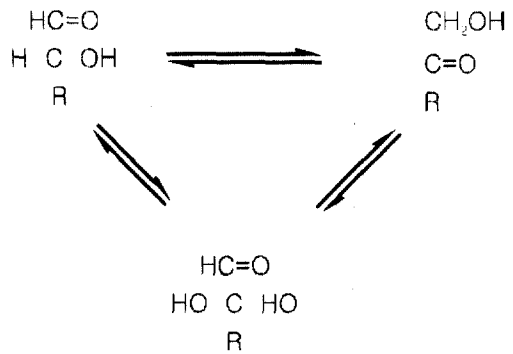
일산화탄소(CO)는 적혈구내의 혈색소(hemoglobin)와의 결합력이 산소보다 210배나 높아서 저농도에서도 다량의 일산화탄소-헤모글로빈(COHb, carboxyhemoglobin)을 형성하여 산소운반을 저해하므로 내질식(internal asphyxiation)을 초래하는 등[1] 생명에 매우 위험한 가스이다. 일산화탄소는 석탄, 목재, 연탄, 도시 가스, LPG, 석유등의 연료들이 충분치 못한 산소(공기)의 공급으로 인하여 불완전 연소시에[2] 생성되는 것으로 알려져 있다.

또한 실험실의 제법으로 calcium carbonate에 Zn을 넣어 가열하거나[3], formic acid를 황산과 반응시켜

★ Corresponding author
Phone : +82+(0)61-393-8443, Fax : +82+(0)61-393-8444
E-mail : nykim@nisi.go.kr

dehydration[4]에 의해서도 일산화탄소를 얻을 수 있다. 최근에는 Wilkinson's catalyst로 알려진 rubidium compound {[$(C_6H_5)_3P$]RbCl}를 이용한 aldehyde의 decarbonylation에 의해서도 일산화탄소를 얻을 수 있으며,[5] 또한 진한 황산 용액 하에서 formic acid, triphenyl acetic acid, benzoyl formic acid 등의 decarbonylation[6] 등도 소개되어 있다. 본 연구에서는 5대 영양소 중의 하나인 당류를 진한 염기와 반응시켰을 경우 생성되는 일산화탄소의 발생률을 연구하였다. 당류에는 단당류(monosaccharide)의 가장 간단한 구조인 glyceraldehyde부터 4탄당, 5탄당(pentose), 6탄당(hexose)등이 있고, 이당류(disaccharide)에는 maltose, lactose, sucrose 등이 있다.

이들은 sucrose를 제외하고 모두 aldehyde group을 가지는 공통점이 있다. 특히 fructose의 경우는 ketone group을 가지고 있으나, 이는 묽은 알칼리용액 하에서 *Scheme* 1과 같이 aldose와 ketose가 transfer함으로 D-glucose, D-fructose, D-mannose가 모두 interconvertable하게 된다.[7]



Scheme 1. Transformation of aldose and ketose.

또한 우유는 *Table* 1 에서 보듯이 당인 lactose를 3.5 ~ 6.0 % 함유하고 있다.

Table 1. Composition of milk

Water	82.0	~	90.0	%
Fat	2.3	~	7.8	%
Total protein	2.0	~	4.5	%
Lactose	3.5	~	6.0	%
Solids	10.0	~	18.0	%
Solid-not-fat	7.5	~	10.6	%

본 연구에서 저자는 각 당류 및 우유를 알칼리용액의 농도와 반응 온도를 변화시켰을 때에 발생하는 일산화탄소의 발생 비율을 조사하였다.

II. 실 험

1. 시약 및 기기

(1) 당류중 xylose, mannose, lactose는 Sigma사(U.S.A.)제품을, glucose, fructose, potassium ferricyanide, 암모니아수와 수산화나트륨은 Yakuri Pure Chemicals사(Japan), galactose는 Wako Pure Chemical Industries사(Japan), maltose, sucrose, saponin은 Kanto Chemical사(Japan), arabinose는 Pfanstiehl Laboratories사(U.S.A.)의 analyzed reagent용을 사용하였다. 환원제인 sodium hydrosulfite는 Aldrich사(U.S.A.) 제품을, 우유는 우리나라 S사 제품을 사용하였다. Zeroing solution은 Ciba-Corning사(U.S.A.)에서 270 CO-oximeter용으로 시판되는 제품을 구입하여 혈액의 buffer로 사용하였다.

(2) Gas chromatograph(GC)는 Hewlett-Packard 5890A를 사용하였고, ultraviolet/visible spectrophotometer (UV/Vis) 는 Shimadzu UV2100을 사용하였다.

2. 실험 방법

가. 혈액 중에서 UV/Vis spectrophotometer를 이용한 COHb 측정

(1) 표준용액의 조제

중앙 적십자 혈액원에서 구입한 신선한 혈액을 CO gas로 약 20분 동안 bubbling에 의해서 완전히 포화시킨 다음, hemoglobin과 결합하지 않고 잔류하는 CO gas를 N_2 gas로 bubbling에 의해 제거시킨 혈액을 100%의 COHb로 사용하였다. 위의 조작을 CO gas 대신 O_2 gas로 포화시킨 혈액을 100%의 O_2Hb로 사용하였다. 이렇게 하여 만든 두 혈액을 각 농도별로 섞어서 5~100 % 까지의 COHb 표준 혈액을 조제하였다.

(2) 표준용액 검량선

암모니아 완충용액 3 mL를 UV cell에 취한 후 각 농도별 CO 포화 혈액 20 μL를 취하여 혼합한 다음 미리 평량해 놓은 10 mg의 환원

제(sodium hydrosulfite)를 가하여 균질하게 혼합하였다. 정확히 5분 후에 400~600 nm 까지의 흡수곡선을 얻은 후 541 nm 와 555 nm 파장에서의 흡수값(absorbance)을 구하여 그 비 A_{541}/A_{555}를 구하였다. 이들의 스펙트럼은 *Fig.* 1과 같고, 이때 표준용액 검량선은 *Fig.* 2와 같다.

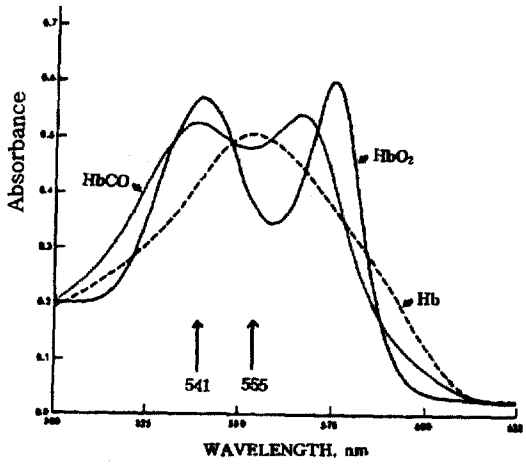


Fig. 1 UV/Vis spectra of equal concentrations of (reduced) hemoglobin, oxyhemoglobin and carboxyhemoglobin.

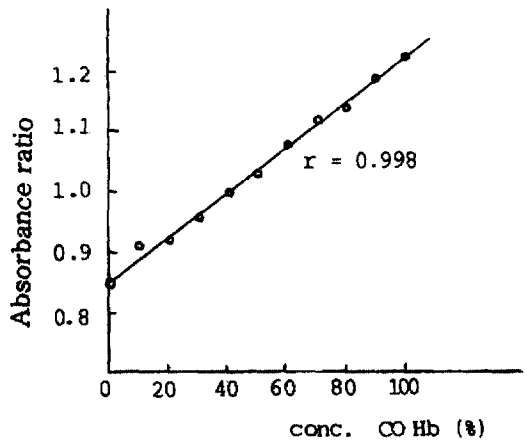


Fig. 2 Standard calibration curve of carboxyhemoglobin in blood.

나. 혈액 중에서 GC를 이용한 COHb의 측정

(1) 혈액을 아래 *Scheme* 2와 같은 방법으로 처리하여 GC에 주입하여 분석하였다.

Blood 1 mL in headspace vial.
- Addition of zeroing solution 1 mL
- Addition of potassium ferricyanide solution*1 1 mL
- Shaking at 55 ℃ water bath for 5 min.

500 μL injection (gas phase)

*1 : 4 g saponin + 16 g potassium ferricyanide / in 500 mL H_2O

Scheme 2. Pretreatment process of blood.

이때의 GC의 조건은 *Table* 2에, 크로마토그램은 *Fig.* 3에 나타내었다.

Table 2. Gas chromatographic condition

Column	:	Molecular sieve 5A 2m × 1/8" ss
Column temp.	:	100 ℃ isothermal
Injector temp.	:	220 ℃
Detector temp.	:	180 ℃
Detector	:	TCD
Carrier gas flow	:	18 mL/min, He gas

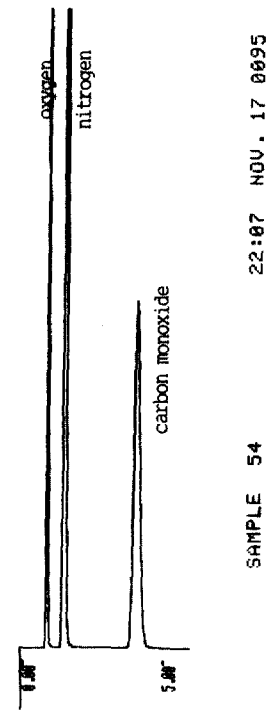


Fig. 3 Gas chromatogram of carbon monoxide.

(2) 검량선

분석하고자 하는 혈액의 일정량을 취하여 2-가-(1)항과 같은 방법으로 100% COHb 혈액을 만들었다. 이를 증류수 또는 혈액 buffer로 희석하여 각 농도별 용액을 만든 다음 *Scheme* 2와 같은 방법으로 처리하여 검량선을 작성하였다.

다. 당류 중에서 발생되는 일산화탄소의 측정

각 당류들을 증류수로 0.1 M 용액이 되도록 만든 후 이 용액 1 mL를 10 mL용량의 헤드스페이스 바이알에 취하여 0.01 M, 0.1 M, 1.0 M NaOH 용액을 각각 1 mL 씩 가하여 밀폐시켰다. 그리고 25 ℃와 40 ℃에서 반응시키면서 그 증기상 500 μL를 *Table* 1의 조건으로 GC에 주입시켜 이때 발생되는 일산화탄소를 분석하였으며, 그 크로마토그램은 *Fig.* 4에 나타내었다.

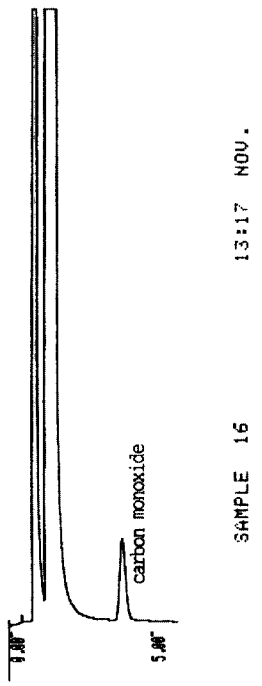


Fig. 4 Gas chromatogram of carbon monoxide after reaction of xylose with 0.1 M NaOH for 48hrs at room temperature.

라. 당류에서 발생되는 CO gas를 혈액에 포화시킨 후 COHb의 측정

0.1 M Lactose, 0.1 M xylose 각각 20 mL에 1.0 M NaOH 2 mL를 가하여 50 ℃에서 반응시켜 발생되는 가스를 신선한 혈액에 24시간씩 bubbling방법으로 2번 반복 포화시킨 혈액을 2-가 항의 방법으로 UV/Vis spectrophotometer을 이용하여 COHb를 측정하였다. 또한 우유와 blank test로써 증류수 각각 30 mL에 1.0 M NaOH 2 mL를 가하여 위와 같은 방법으로 3번 반복 포화시킨 혈액에서 COHb를 측정하였다.

III. 결과 및 고찰

각 당들(xylose, arabinose, glucose, mannose, galactose, fructose, lactose, maltose)을 진한 NaOH 용액과 반응시켰을 경우 *Fig.* 5와 *Table* 3, 4에서 보듯이 실온(25±2 ℃) 조건에서 0.01 M NaOH와의 반응은 24시간까지 일산화탄소가 발생되지 않다가 48시간 후에야 비로서 소량의 일산화탄소가 발생하였다. 그러나 0.1 M NaOH와 1.0 M NaOH와의 반응 결과 모두 일산화탄소가 발생하였고, 24시간까지 일산화탄소의 발생률이 증가함을 보였다.

또한 40 ℃의 반응조건에서는 0.01 M NaOH와 반응에서 5시간 이후부터 소량의 일산화탄소가 발생되기 시작하다가 24시간 이후에는 모든 당에서 일산화탄소가 발생되었다. 0.1 M NaOH와의 반응에서 모두 일산화탄소가 발생되었고, 이 역시 24시간까지 일산화탄소의 발생률이 증가함을 보였다.

이로서 sucrose를 제외한 단당류(5탄당, 6탄당)와 이당류(lactose, maltose)는 반응온도가 높을수록, 알칼리 농도가 진할수록 일산화탄소의 발생량이 증가함을 알 수 있었다. 그러나 sucrose의 경우는 40 ℃에서 1.0 M NaOH와 반응에서 조차 일산화탄소의 발생을 보이지 않았다. 이는 sucrose가 환원당(aldehyde group)을 가지고 있지 않으므로 알칼리 존재 하에서도 ring openning이 진행될 수 없기 때문으로 사료된다

우유는 *Fig.* 6과 *Table* 3, 4에서 보듯이 실온조건에서는 0.01 M NaOH와 0.1 M NaOH와의 반응에서 48시간이 지나도 일산화탄소가 발생되지 않았으나, 1.0 M NaOH와의 반응에서는 일산화탄소가 발생되었으며, 48시간까지 발생률이 증가하였다. 또한 40 ℃ 반응조건에서는 0.01 M NaOH와의 반응에서도 일산화탄소가 발생되었는데 이는 우유에 3.5 ~ 6.0%의 lactose가 포함되어 있기 때문인 것으로 사료된다.

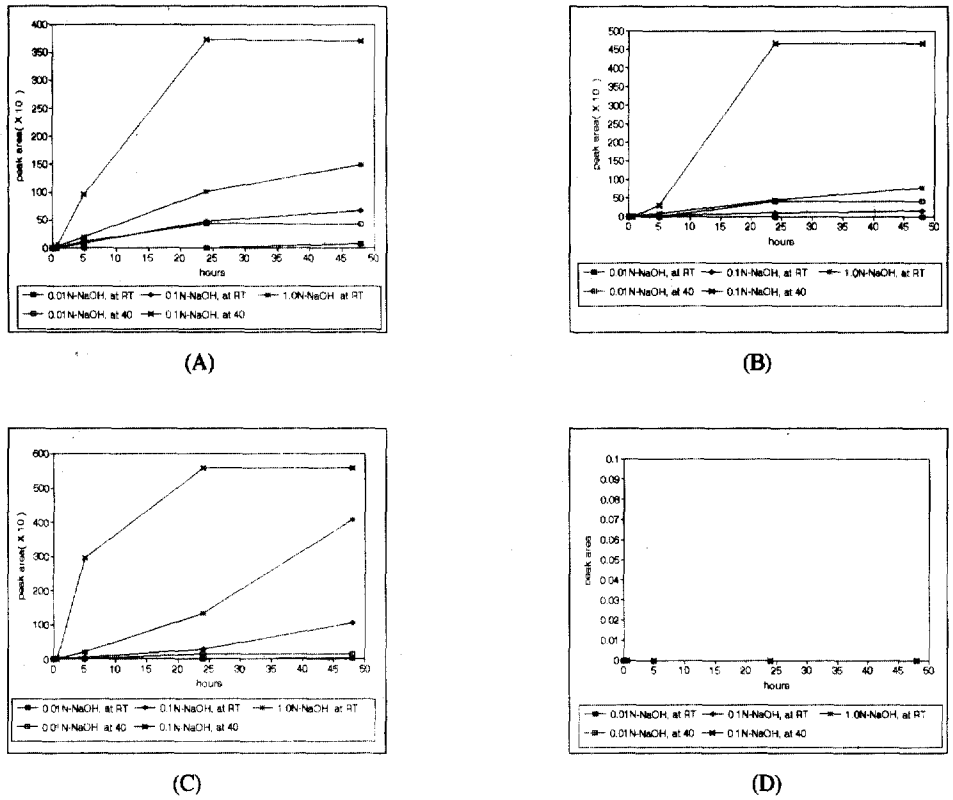


Fig. 5 Amount of generated carbon monoxide according to the reaction of various saccharides and various NaOH concentration.
A) xylose, B) glucose, C) lactose, D) sucrose.

Table 3. Amount of carbon monoxide generated from various saccharides at 25 ℃

unit : peak area × 10^6

Saccharides	0.01 M NaOH			0.1 M NaOH			1.0 M NaOH		
	After			After			After		
	5hrs	24hrs	48hrs	5hrs	24hrs	48hrs	5hrs	24hrs	48hrs
Xylose	-	-	-	0.009	0.05	0.07	0.02	0.1	0.2
Arabinose	-	-	-	0.004	0.02	0.03	0.01	0.05	0.09
Glucose	-	-	-	0.003	0.01	0.02	0.008	0.04	0.08
Manose	-	-	-	0.001	0.005	0.008	0.006	0.02	0.04
Galactose	-	-	-	0.003	0.01	0.02	0.01	0.05	0.08
Fructose	-	-	-	0.006	0.03	0.04	0.02	0.1	0.1
Lactose	-	-	-	0.004	0.03	0.01	0.02	0.1	0.4
Maltose	-	-	-	0.005	0.04	0.1	0.03	0.3	0.8
Sucrose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Milk	-	-	-	0.002	0.01	0.02	0.01	0.1	0.3

Table 4. Amount of carbon monoxide generated from various saccharides at 40 ℃

unit : peak area×10^6

Saccharides	0.01 M NaOH			0.1 M NaOH		
	5hrs	After 24hrs	48hrs	5hr	After 24hrs	48hrs
Xylose	0.01	0.04	0.04	0.1	0.4	0.4
Arabinose	-	0.05	0.05	0.05	0.4	0.4
Glucose	-	0.04	0.04	0.03	0.5	0.5
Manose	-	0.03	0.03	0.02	0.5	0.5
Galactose	-	0.03	0.03	0.02	0.3	0.3
Fructose	0.04	0.02	0.02	0.06	0.5	0.5
Lactose	-	0.01	0.01	0.3	0.6	0.6
Maltose	0.005	0.02	0.02	0.3	0.6	0.6
Sucrose	-	-	-	-	-	-
Milk	-	-	-	0.02	0.2	0.2

이로써 aldehyde group을 가진 당들은 진한 알칼리 조건 하에서 decarbonylation이 진행됨을 시사한다고 하겠다.

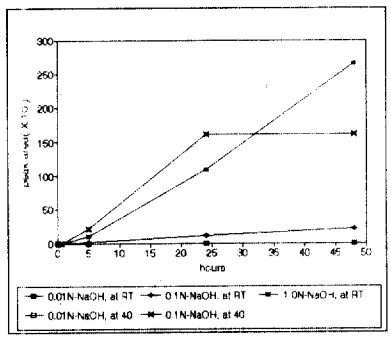


Fig. 6 Amount of generated carbon monoxide according to the reaction of milk and various NaOH concentration.

또한 0.1 M xylose, 0.1 M lactose와 우유를 1.0 M NaOH로 50 ℃에서 반응시켜 발생되는 가스를 신선한 혈액 2 mL에 bubbling방법으로 2일간 포화시켜 그 혈액의 COHb를 측정한 결과 *Fig.* 7 ~ 11에서 보듯이 모두 541 nm 와 577 nm에서 최고 흡수대를 보이는 carboxyhemoglobin 특유의 흡수형태를 보였으며, 그 농도는 xylose 와 lactose에서 모두 31%를 보였고, 우유의 경우는 32%를, 3일간 포화시켰을 경우는 42%를 보였다. 그러나 비교 실험으로 당류대신 증류수로 반응시킨 경우는 *Fig.* 7에서 보는 것처럼 carboxyhemoglobin 특유의 흡수 곡선을 나타내지 않았다.

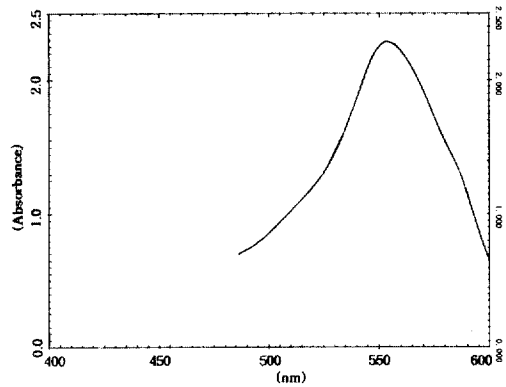


Fig. 7 Spectrum of blood saturated with gas generated from distilled water and 1.0 M NaOH for 48 hrs (blank test).

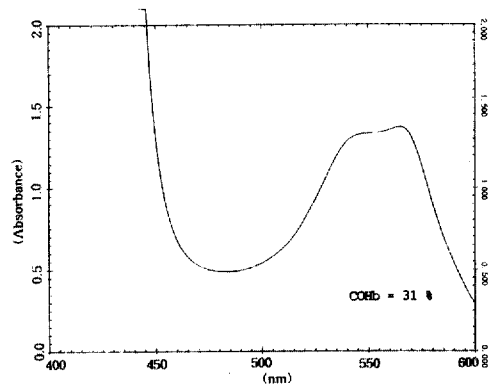


Fig. 8 Spectrum of blood saturated with gas generated from 0.1 M lactose and 1.0 M NaOH for 48 hrs.

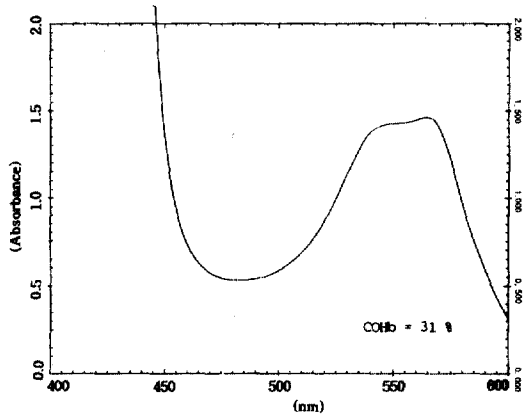


Fig. 9 Spectrum of blood saturated with gas generated from 0.1 M xylose and 1.0 M NaOH for 48 hrs.

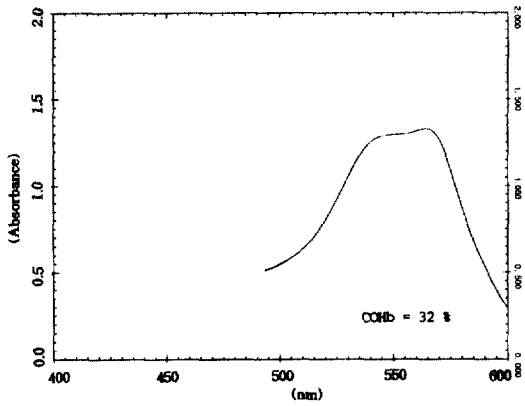


Fig. 10 Spectrum of blood saturated with gas generated from milk and 1.0 M NaOH for 2 days.

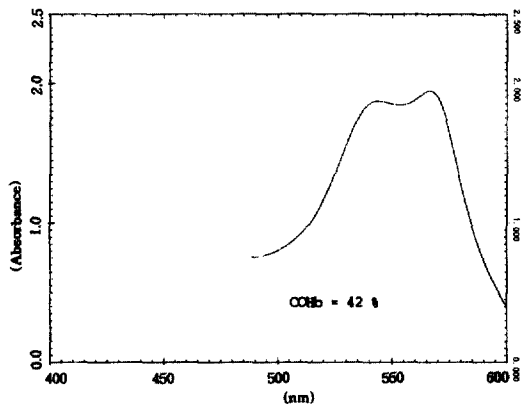


Fig. 11 Spectrum of blood saturated with gas generated from milk and 1.0 M NaOH for 3 days.

[사 건 사 례]

우유공장에서 우유를 믹스탱크에서 설탕과 배합을 하고 75 ℃로 가온하여 농축기로 이송하였다. 농축한 다음 제품탱크로 이송한 후 청소용 알칼리로 농축기를 청소하고 물로 4~5회 수세한 다음 아래쪽의 드레인 밸브 및 뚜껑을 열어 약 1시간 가량 환기시킨 후 청소를 하기 위해 농축기안에 들어가 작업도중 질식 사망한 사건이 발생하였다. 사체의 혈액 중 COHb의 농도는 69%가 검출되었다.

이때의 크로마토그램은 *Fig.* 12에 나타내었다. UV/Vis 스펙트럼은 *Fig.* 13에서 보듯이 carboxyhemoglobin 특유의 흡수곡선을 나타내었으며, 사체의 위 내용물과 혈액에서 청산염, 유기인제류, 유기염소제류, 카바메이트제류, 바르비탈산유도체류 및 알칼로이드류 등의 독극물 성분은 검출되지 않았다.

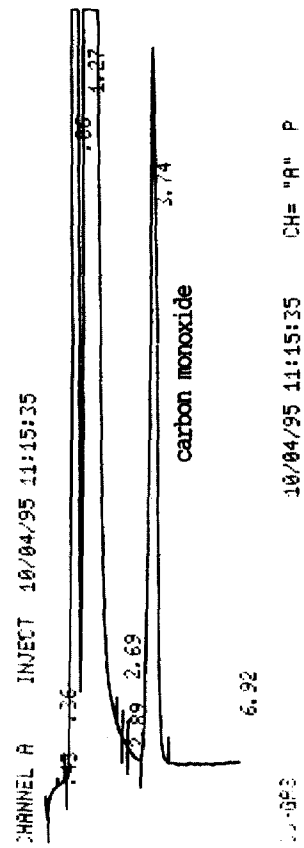


Fig. 12 Gas chromatogram of carbon monoxide for postmortem blood.

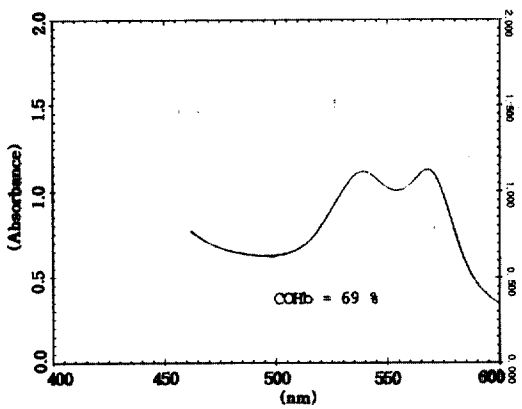


Fig. 13 UV/Vis spectrum of carboxyhemoglobin for postmortem blood.

IV. 결 론

1. Aldehyde group을 갖는 당들은 진한알칼리용액과 반응할 경우 일산화탄소가 발생되었으며, 발생량은 반응온도와 알칼리용액의 농도에 비례하였다.
2. Aldehyde group을 갖지 않는 sucrose는 진한 알칼리 용액과의 반응에서 일산화탄소를 발생시키지 않았다.
3. 0.1 M Lactose와 0.1 M xylose 각각 20 mL를 1.0 M NaOH 2 mL와 50 ℃에서 반응시켜 발생되는 일산화탄소를 신선한 혈액 약 2 mL에 24시간씩 2번 포화시켰을 경우 최대 혈중 COHb는 각각 31%를 나타냈다.
4. 우유 30 mL와 1.0 M NaOH 2 mL를 50 ℃에서 반응시켜 발생되는 일산화탄소를 신선한 혈액 약 2 mL에 24시간씩 2번 포화시켰을 경우 최대 혈중 COHb는 각각 32%이었고, 3번 포화시켰을 경우는 42%를 나타냈다.

참 고 문 헌

1. Clayton G.D. and Clayton F.E., "Patty's Industrial Hygiene and Toxicology", 3rd, Ed., **4114** ~ 4124, John Wiley & Sons, NewYork, 1982.
2. Hodgson E., Levi P.E., "A Textbook of Modern Toxicology, NewYork", Elsevier, 190 ~ 331, 1987.
3. Weinhouse, *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 442 ~ 447, (1948).
4. Gilliland, Balanchard, *Inorg. Syn.* **2**, 81 ~ 86, (1946).
5. Streitwieser A. and Heathcock C.H., "Introduction to Organic Chemistry", 2nd, 459 ~ 460, Macmillan Publishing, NewYork, 1981
6. Ropp G.A. Studies Involving Isotopically Labeled Formic acid, Benzoylformic and Triphenylacetic acids in Sulfuric acid, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 842 ~ 846, (1960).
7. Denney R.C., "Named Organic Reaction", 93 ~ 96, Butterworth, London, 1969.