

## GC/MS를 이용한 모발 중 메스암페타민 및 암페타민 분석의 측정불확도 평가

김진영<sup>#</sup> · 김종상<sup>\*</sup> · 김민경 · 이재일 · 서용준 · 인문교  
대검찰청 마약감식실, \*한국건설자재시험연구원 품질경영부  
(Received April 2, 2007; Revised April 25, 2007)

### Uncertainty Evaluation of the Analysis of Methamphetamine and Amphetamine in Human Hair by GC/MS

Jin Young Kim<sup>#</sup>, Jong Sang Kim<sup>\*</sup>, Min Kyoung Kim, Jae Il Lee, Yong Jun Suh and Moon Kyo In  
*Drug Analysis Laboratory, Supreme Prosecutors' Office, 706, Banpo-ro, Seocho-gu, Seoul 137-730, Korea*  
*\*Department of Quality Management, Korea Institute of Construction Materials, Seoul 137-073, Korea*

**Abstract** - Recently estimating the uncertainty of an analytical result has become an essential part of quantitative analysis. This study describes the uncertainty of the measurement for the determination of methamphetamine and its major metabolic amphetamine in human hair. The method consists of washing, drying, weighing, incubation and extraction with methanolic HCl solution, clean-up, trifluoroacetyl derivatization, and qualification/quantification of residues by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). Traceability of measurement was established through traceable standards and calibrated volumetric equipment and measuring instruments. Measurement uncertainty associated with each analyte in real samples was estimated using quality control (QC) data. The main source of combined standard uncertainty comprised two components, which are uncertainties associated with calibration linearity and variations in QC, while those associated with preparation of analytical standards and sample weighing were not so important considering the degree of contribution. Relative combined standard uncertainties associated with the described method ranged for individual analytes from 4.99 to 5.03%.

**Keywords** □ uncertainty of measurement, methamphetamine, amphetamine, hair-analysis, GC/MS

메스암페타민(methamphetamine, MA)은 중추신경 흥분효과가 있는 마약으로 암페타민계 향정신성 의약품의 일종이다.<sup>1)</sup> 흔히 국내에서는 필로폰, 히로뽕, 뽕 등으로 불린다. MA는 부서지기 쉬운 결정체 또는 분말 형태로 물이나 알코올에 잘 용해된다. 정맥주사, 코흡입, 흡연 및 경구투여가 가능하나 주로 정맥주사 방법으로 남용된다. 정맥주사인 경우 1회 사용량은 약 30 mg이다.<sup>2,3)</sup> 메스암페타민은 자신감, 만족감, 흥분, 불면증 등을 일으키는 효과가 있으며, 중독자인 경우 동공산대, 혈압증가, 맥박증가, 손떨림 등의 증상을 보인다. 또한 MA를 복용한 사람이 긴급 상황에서 초인적인 능력을 발휘하는 경우가 있는데 이는 MA가 에피네프린, 노르에피네프린 호르몬과 유사한 기능을 하기 때문인

것으로 알려져 있다.<sup>4)</sup>

국내에서 가장 많이 남용되는 마약류 성분인 MA의 불법적인 복용여부는 일반적으로 소변이나 모발을 이용하여 확인한다. 소변의 경우는 복용 후 3~5일이 지나면 MA 성분이 체외로 모두 배설되기 때문에 복용여부를 확인하는 것이 어렵다. 반면에 모발을 이용하면 수개월 전에 복용한 사실을 확인하는 것이 가능하다. 그리고 모발은 복용 시기나 정도 등 약물 남용이력을 추정하는 것도 가능하다.<sup>5-9)</sup> 이러한 장점 때문에 모발이 마약 성분의 복용여부 확인에 많이 이용되고 있다.<sup>10-12)</sup>

모발에서 마약 성분을 분석하여 얻은 결과를 근거로 복용여부를 판정하는 모발감식은 분석결과에 대한 신뢰도가 매우 중요하다. 지금까지 모발감식에서 개별 시료의 분석결과의 신뢰도를 정량적으로 표현하는 방법은 없었다. 다만 감식기법을 개발할 때 실시하는 분석방법에 대한 검증(validation)과 실제 시료를 분석할 때 품질관리(QC) 과정을 실시함으로써 분석결과의 신뢰도를

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 02-535-4173 (팩스) 02-535-4175  
(E-mail) paxus@spo.go.kr

보증하고자 하였다. 이러한 분석결과 보증 방법은 법과학 분야에서 지금까지 일반적으로 사용되었다. 그러나 서로 다른 기관이나 국가에서 이루어진 감식인 경우 그 결과를 서로 직접 비교 평가하는 것은 한계가 있었다.

그러므로 사람의 구속여부에 직접 증거가 되는 분석을 실시하는 법과학 분야에도 분석결과의 신뢰도를 정확하고 객관적으로 표현하는 방법으로 측정불확도(uncertainty of measurement) 개념을 도입하였다.

측정불확도는 '측정불확도 표현 지침서'(Guide to the expression of Uncertainty in Measurement, GUM)에 따르면 "측정결과에 관련하여 측정량을 합리적으로 추정된 값의 분산(dispersion) 특성을 나타내는 파라미터이다"로 정의 되어있는 측정량(measurand)의 존재 범위를 의미한다. 여기서 측정량은 측정의 대상이 되는 특정한 양을 말한다.<sup>13-16)</sup>

본 연구는 모발에서 MA 및 암페타민(amphetamine, AP) 성분을 분석하는 과정에서 결과에 영향을 줄 수 있는 요인들을 찾아내어, 관계식을 설정하고, 요인별 측정값으로부터 표준불확도(standard uncertainty), 합성표준불확도(combined standard uncertainty) 및 확장불확도(expanded uncertainty)를 구하였다. 이러한 분석결과는 측정량이 평균값을 중심으로 어느 범위에 있는가를 불확도를 포함시키는 방식으로 표기하였으며, 불확도 요인들에 대한 측정불확도 평가를 통하여 시험법 개선 및 오차요인의 영향을 감소시키는데 활용하고자 하였다.

**실험 방법**

**시약**

표준물질과 내부표준물질은 각각 1 ml 용량의 유리병(vial)에 1 mg/ml 농도로 제조된 AP, MA와 1 ml 용량의 유리병에 100 µg/ml 농도로 제조된 amphetamine-*d*<sub>8</sub>(AP-*d*<sub>8</sub>), methamphetamine-*d*<sub>11</sub>(MA-*d*<sub>11</sub>)을 미국 Cerilliant사에서 구입하였다. 추출과정에 사용된 용매 및 시약은 특급이며 미국 J. T. Baker사에서 구입하였다. 정제용 카트리지(fritted reservoir)와 유도체 시약인 trifluoroacetic anhydride(TFAA)는 미국 Alltech사로부터 구입하였다. 추출용매 조제에 사용된 acetyl chloride는 미국 Sigma-Adrich사 제품이다. 그리고 보관표준용액은 각각의 표준물질을 methanol에 녹여 순차적으로 100, 10, 1, 0.1 µg/ml 농도로 희석시켜 조제하였으며, 사용하기 전까지는 -20°C에서 냉동 보관하였다.

**기기 및 분석 조건**

표준용액의 희석액을 조제하기 위해 독일 Brand사의 용량 플라스크(10 ml)와 독일 Eppendorf사의 피펫(1000 µl)를 사용하였다. 무게 측정은 전기식 지시저울(MC1, Sartorius, Germany)을 사용하였다.

분석에 사용된 장비는 미국 Agilent Technologies사 6890 Gas Chromatograph(GC)에 5975 Mass Selective Detector가 연결된 GC/MS를 사용하였다. 분리관은 DB-5MS(25 m×0.25 mm I.D., 0.25 µm film thickness, J&W Scientific, USA)를 사용하였다. 분리관 온도는 처음 90°C에서 3분간 유지시킨 후, 15°C/min으로 170°C까지 온도를 올려 3분간 유지시키고, 계속하여 상승 속도를 25°C/min으로 바꿔 210°C까지 온도를 올려 1.5분간 유지시켰다. 다시 한번 20°C/min으로 230°C까지 온도를 올려 0.5분간 유지시킨 후, 마지막으로 35°C/min의 상승 속도로 300°C까지 온도를 올리고 0.5분간 유지시켰다. 주입구와 검출기 부위의 온도는 각각 260°C와 280°C로 설정하였다. 운반기체 헬륨의 유속은 1.1 ml/min로 고정하였고, 주입방법은 비분할 방식(splitless mode)으로 purge-on time을 0.1분으로 설정하였다. 시료는 미국 Agilent Technologies사 7683B 자동주입장치(autosampler)를 사용하여 분석 장비에 주입하였다.

**모발 시료**

2006년 10월부터 11월까지 2개월 동안 수도권 소재 검찰청으로부터 감식 의뢰된 MA 남용 용의자의 모발을 연구용 시료로 사용하였다. 그리고 약물을 복용하지 않은 사람의 모발을 채취하여 대조 모발 시료로 사용하였다.

**시료의 세척 및 추출**

시험은 '모발 중 암페타민계 흥분제 감식기법'(SPO-DRUG-QA-05, 2006)에 규정된 방법에 따라 실시하였다.<sup>17)</sup>

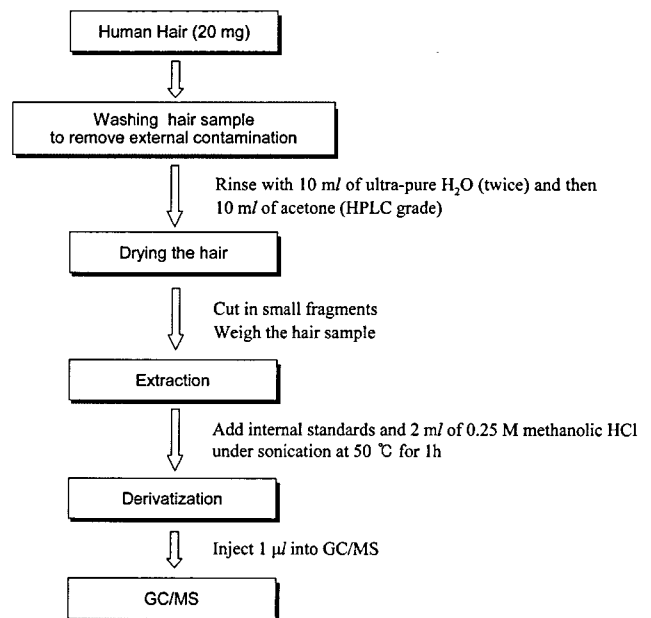


Fig. 1 – Preparation procedures of hair sample for the analysis of AP and MA.

모발 시료 20 mg을 시험관(16×125 mm)에 넣은 후, 증류수 10 ml로 2회, acetone 10 ml로 2회 진탕하여 세척하였다. 세척된 시료를 무균상에서 1시간 동안 건조시키고 외과용 가위를 이용하여 1 mm 이하로 절단한 후, 무게를 측정하였다. 칭량한 시료를 시험관(16×100 mm)에 넣고 내부표준물질 AP-d<sub>8</sub>, MA-d<sub>11</sub>의 methanol 혼합표준용액(1 ppm) 75 μl를 첨가하였다. 여기에 추출 용매 0.25 M methanolic HCl 용액 2 ml를 가해 50°C에서 1시간 동안 초음파 추출하였다. 추출액을 여과한 후, 일정 압력(30 kPa)과 온도(45°C)로 질소기류 하에서 증발시켰다. 증발 건조 잔사에 ethyl acetate 50 μl와 유도체 시약 TFAA 50 μl를 가하여 70°C에서 30분간 유도체 반응을 시켰다. 시료를 상온으로 냉각하여 질소기류 하에서 증발하여 건조시킨 후, 건조된 시료를 ethyl acetate 40 μl로 녹여 1 μl를 GC/MS에 주입하여 분석하였다(Fig. 1).

**검량선 작성**

정량 범위는 모발 중에 존재하는 농도를 고려하여 성분별로 농도 범위를 정하고, AP와 MA를 혼합한 3가지 농도의 표준용액(10, 1, 0.1 μg/ml)을 대조 모발 시료에 첨가하여 검량선(calibration curve)을 작성하였다. MA와 AP의 정량 농도 범위는 0.1~5.0 ng/mg로 정하여 메탄올에 녹여 혼합 표준용액을 제조하였다. 내부표준물질 용액은 MA-d<sub>11</sub>와 AP-d<sub>8</sub>를 메탄올에 녹여 1 μg/ml 농도로 제조한 혼합 내부표준용액을 75 μl를 취하여 혼합 표준용액에 넣은 다음 시료와 동일한 방법으로 처리하여 분석하였다. 혼합 표준용액 1 μl를 GC/MS에 주입하여 분석하였으며, 그 결과로부터 검량선을 작성하였다.

**QC 시료의 정밀도**

대조 모발 시료에 혼합표준용액 0.3 ng/mg 해당 양을 첨가하

고, 시료와 같은 방법으로 처리 분석한 후, 측정된 양을 비교하여 정밀도를 검토하였다. 일간(interday) 정밀도는 5일간 매일 반복하여 측정하였다.

**불확도 요인 및 측정량 관계식**

모발에서 MA 및 AP 성분의 분석과정은 시료의 세척과 건조, 무게 측정, 성분 추출과 정제 등을 포함하는 전처리 및 GC/MS 장비를 이용한 기기분석 과정으로 구분된다.

모발에서 MA 및 AP의 농도 측정에 관계되는 불확도 요소는 크게 시료 무게 측정과정에서 발생하는 불확도, 분석에 사용된 표준용액을 희석할 때 발생하는 불확도, 분석 결과로부터 측정값을 계산하는 과정에서 발생하는 검량선에 대한 불확도, 그리고 측정이 시간을 두고 반복적으로 이루어질 때 측정기기의 상태변화에 의해 생기는 불확도 등의 4가지 요소로 나눌 수 있다.

따라서 모발에서 MA 및 AP 성분 분석 결과로부터 각각의 농도를 산출하는 불확도 요인을 고려한 관계식을 다음과 같이 설정하였다.

$$C_i = x \cdot \frac{W_{mg}}{W_0} \cdot f_{std} \cdot f_{cal} \cdot f_{variation} \tag{1}$$

C<sub>i</sub> : 모발에서 측정된 MA 및 AP 성분의 농도

x : y=b/m, 작성된 검량선에서의 농도 측정값

W<sub>mg</sub> : 측정된 모발의 무게

W<sub>0</sub> : 측정기준 무게(20 mg)

f<sub>std</sub> : 희석된 표준용액의 농도 편차율

f<sub>cal</sub> : 검량곡선의 직선성에 의한 편차율

f<sub>variation</sub> : QC 시료의 편차율

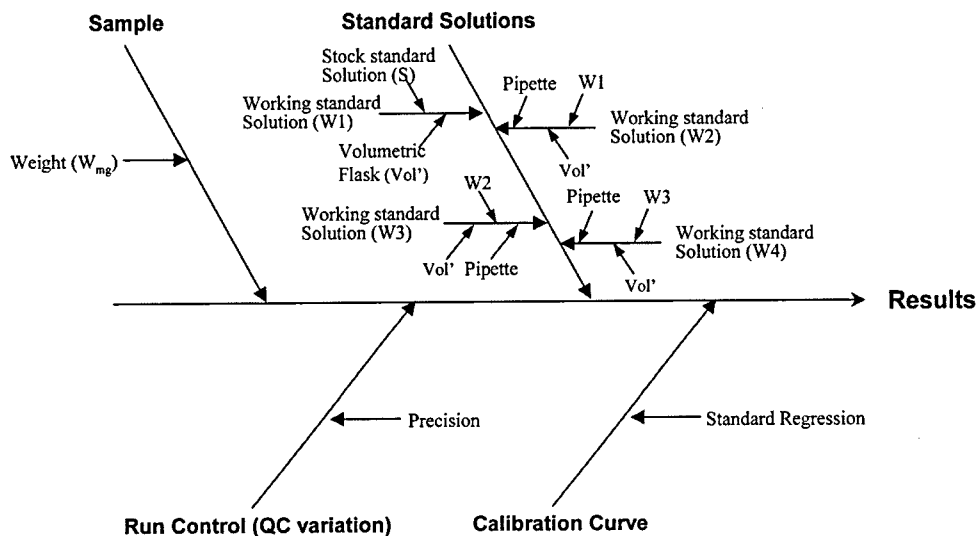


Fig 2 - Uncertainty factors associated with measurement results.

MA와 AP의 농도를 산출하는 관계식 (1)에 포함된 불확도 요인들을 Fig. 2에 도식화하여 나타내었다.

모발 중 MA와 AP 성분의 양을 시료 무게로 나누어 농도로 표현하므로 관계식에 시료 무게에 대한 요소가 포함되었다.  $f_{std}$ 는 표준용액을 희석하면서 발생하는 희석 오차에 대한 요소이며,  $f_{variation}$ 은 실제 MA의 복용자의 모발을 분석할 때 발생할 수 있는 요인(기질의 영향, 측정시스템의 안정성, 선형성 및 재현성 등)을 품질관리(QC) 시료에 대한 정밀도로 반영하여 나타낸 것이다.<sup>18,19)</sup>

본 연구는 대조 모발을 포함한 모든 시료에 동위원소로 치환된 내부표준물질을 첨가하는 내부표준법을 사용함으로써 분석과정 중 전처리단계에서 발생할 수 있는 불안정한 추출, 용매의 증발, 컬럼 통과시 손실되는 양과 시험자의 조작 손실 등은 보정되는 것으로 가정하였다.<sup>20)</sup>

### 결과 및 고찰

불확도 평가는 GUM의 절차를 근거로 요인별 관계 모델(입력량과 출력량의 함수식 표현)의 설정, 입력량의 표준불확도 산출, 합성표준불확도 및 확장불확도의 계산 4단계로 크게 나눌 수 있다. 측정모델에 포함된 개개 요인의 불확도 요소로부터 표준불확도를 산출하고, 모든 표준불확도를 합하여 합성표준불확도를 구한다. 그리고 합성표준불확도에 신뢰 수준에 해당하는 포함인자(coverage factor, k)를 곱하여 확장불확도를 구한다.<sup>16)</sup>

#### 시료의 무게 측정과정의 불확도 평가

분석 대상 성분의 농도 값에는 시료 무게를 측정하는 과정에서 발생하는 불확도 요인이 포함되어 있다. 측정 과정에서 발생하는 불확도는 저울 자체의 불확도( $u_{cert1}$ )와 반복 측정에서 오는 불확도( $u_{rep1}$ )로 나눌 수 있다.

저울 자체의 불확도는 교정성적서 자료를 활용하였다. 교정성적서로부터 95%의 신뢰수준에서 불확도(k=2)가 0.02 mg임을 알 수 있었다. 그러므로 저울 자체의 표준불확도( $u_{cert1}$ )는 0.01 mg로 하였다.

무게를 반복 측정할 때 발생하는 불확도는 시료의 기준 무게( $W_0$ )에 해당하는 20 mg의 분동을 저울로 10회 반복 측정하여 얻은 값의 표준편차를 표준불확도로 정의하였다(Table I). 따라서 반복 측정에 의한 표준불확도( $u_{rep1}$ )는 0.0162 mg임을 알 수 있었다.

불확도 전과 법칙에 따라 시료 무게 측정 과정의 합성표준불확도( $u_{Wmg}$ )는 0.0190321 mg이었고, 분석에 사용한 시료량을 고려한 상대표준불확도( $u_{r Wmg}$ )는 식(2)에 따라 계산하여 0.0009516을 얻었다. 유효자유도( $v_{eff}$ )는 요인별 표준편차의 자유도를 식(3)의 Welch-Satterthwaite equation에 적용하여 구한 결과 17.2이

Table I - Uncertainty estimation of weight by the repetitive measurements

No.	Weight (mg)
1	20.02
2	20.01
3	20.01
4	19.99
5	19.98
6	20.00
7	19.99
8	20.02
9	20.02
10	19.98
Mean	20.02
Degrees of freedom	9
Standard uncertainty	0.0162

었다.

$$u_{r Wmg} = \frac{u_{Wmg}}{W_0} \tag{2}$$

$$(u_{Wmg} = \sqrt{(u_{cert1})^2 + (u_{rep1})^2}, W_0 : 20 \text{ mg})$$

$$v_{eff} = \frac{u_c^4}{\sum \frac{u_i^4}{v_i}} \tag{3}$$

#### 표준용액 조제과정의 불확도 평가

표준용액은 필요에 따라 보관표준용액(stock standard solution, S)을 희석 제조하여 사용한다. 표준용액 조제과정의 불확도는 보관표준용액의 순도, 사용된 volumetric flask 및 pipette의 요인이 포함된다.

보관표준용액을 10배 희석한 1차 표준용액(1st working standard solution, W1)을 제조하는 과정의 불확도 산출을 위하여 먼저 보관표준용액의 불확도를 확인하였다.

보관용 표준물질의 인증서로부터 순도를 확인하여 표준불확도( $u_{purity(s)}$ ) 및 상대표준불확도( $u_{r purity(s)}$ )를 계산하여 Table II에 정리하였다. 보관표준물질의 순도에 적용된 표준불확도는 직사각형 모양의 분포함수에 따르는 B형 불확도 평가 방법을 이용하여 계산하였고, 상대표준불확도는 표준불확도를 초기 농도로 나누어 구하였다.

Table II - Uncertainty of purity of amphetamine and methamphetamine

Analyte	Concentration range (mg/ml)	Standard uncertainty ( $u_{purity(S)}$ )	Relative standard uncertainty ( $u_{r purity(S)}$ )
AP	0.987±0.001	0.0005774	0.0005850
MA	1.027±0.002	0.0011547	0.0011243

표준용액 희석에 사용된 volumetric flask에 의한 불확도 발생 요소는 flask 자체의 불확도, 온도에 의한 불확도, 반복 측정할 때 나타나는 불확도 세 가지로 생각된다. volumetric flask 자체의 불확도는 교정성적서로부터 95%의 신뢰수준에서 불확도( $k=2$ )가 0.008 ml임으로 표준불확도( $u_{\text{cert}2}$ )는 0.004 ml을 알 수 있었다. 온도에 의한 표준불확도는 팽창계수가 0.00025 ml/°C이고 실험실내 온도 조건이  $20 \pm 5^\circ\text{C}$ 이므로 표준불확도( $u_{\text{temp}}$ )는 0.0007217 ml임을 알 수 있었다. 부피 반복 측정의 불확도는 10 ml를 10회 반복 측정한 결과로부터 표준불확도( $u_{\text{rep}2}$ )는 0.0001398 ml로 계산되었다.

불확도 전파 법칙에 따라 volumetric flask를 이용한 부피 측정에서의 합성표준불확도( $u_{\text{vol}}$ )는 0.0042378 ml이었고, 유효자유도( $v_{\text{eff}}$ )는 760으로 계산되었다. 그리고 상대표준불확도( $u_{\text{r vol}}$ )는 식(4)에 적용하여 0.0004238의 값을 구하였다.

$$u_{\text{r vol}} = \frac{u_{\text{vol}}}{V_1} \quad (4)$$

$$(u_{\text{vol}} = \sqrt{(u_{\text{cert}2})^2 + (u_{\text{temp}})^2 + (u_{\text{rep}2})^2}, V_1 = 10 \text{ ml})$$

1차 표준용액(W1)의 조제과정에서 발생하는 불확도에 영향을 미치는 인자는 보관표준물질의 순도와 volumetric flask에 의한 두 가지 인자로부터 식(5)에 적용하여 상대표준불확도( $u_{\text{r std}(W1)}$ )를 산출하였고, 그 값을 Table III에 정리하였다.

$$u_{\text{r std}(W1)} = \sqrt{(u_{\text{r purity}(S)})^2 + (u_{\text{r vol}})^2} \quad (5)$$

2차 표준용액(W2)은 1차 표준용액을 다시 10배 희석하여 제조한다. W2 제조시 예상되는 불확도는 1차 표준용액의 불확도, 희석에 사용된 volumetric flask 인자, pipette 작업에 의한 인자 세 가지를 식(6)에 적용하여 2차 표준용액의 상대표준불확도( $u_{\text{r std}(W2)}$ )를 산출하였다. 동일한 방법으로 식(7)과 (8)에 적용하여 3차 표준용액(W3) 및 4차 표준용액(W4)에 대한 각각의 상대표준불확도를 계산하여 결과를 Table III에 추가하였다.

$$u_{\text{r std}(W2)} = \sqrt{(u_{\text{r pipet}})^2 + (u_{\text{r vol}})^2 + (u_{\text{r std}(W1)})^2} \quad (6)$$

$$u_{\text{r std}(W3)} = \sqrt{(u_{\text{r pipet}})^2 + (u_{\text{r vol}})^2 + (u_{\text{r std}(W2)})^2} \quad (7)$$

$$u_{\text{r std}(W4)} = \sqrt{(u_{\text{r pipet}})^2 + (u_{\text{r vol}})^2 + (u_{\text{r std}(W3)})^2} \quad (8)$$

표준용액 희석에 사용된 pipette에 의한 불확도 요소는 pipette 자체와 반복 측정시 발생하는 것으로 나누어 볼 수 있다. Pipette 자체의 불확도는 교정성적서로부터 95%의 신뢰수준에서 불확도( $k=2$ )가 0.003 ml이므로 표준불확도( $u_{\text{cert}3}$ )는 0.0015 ml가 됨을 알 수 있다. 반복 측정 불확도는 1 ml를 10회 반복 측정한 결과로부터 표준불확도( $u_{\text{rep}3}$ )가 0.0005871 ml임을 알 수 있었다.

따라서 pipette의 합성표준불확도( $u_{\text{pipet}}$ )는 0.0016108 ml이고, 유효자유도( $v_{\text{eff}}$ )는 510이었다. 그리고 상대표준불확도( $u_{\text{r pipet}}$ )는 식(9)에 적용하여 계산한 결과 0.0016108임을 알 수 있었다.

$$u_{\text{r pipet}} = \frac{u_{\text{pipet}}}{V_2} \quad (9)$$

$$(u_{\text{pipet}} = \sqrt{(u_{\text{cert}3})^2 + (u_{\text{rep}3})^2}, V_2 = 1 \text{ ml})$$

표준용액 제조와 관련된 불확도는 불확도 전파의 법칙에 따라 표준용액 조제과정의 상대표준불확도를 식(10)을 적용하여 계산한 결과 AP는 0.00473281, MA는 0.0047350이었으며 이 값을 Table III에 나타내었다.

$$u_{\text{r std}} = \sqrt{(u_{\text{r std}(W1)})^2 + (u_{\text{r std}(W2)})^2 + (u_{\text{r std}(W3)})^2 + (u_{\text{r std}(W4)})^2} \quad (10)$$

### 품질관리(QC) 시료에 의한 불확도 평가

측정시스템의 선형성, 기질의 영향(matrix effect), 안정성 및 재현성은 기기분석에 있어 항상 검토되어야 할 사항으로 본 측정에서는 내부표준법에 의한 QC 시료를 사용함에 따라 QC 시료의 정밀도(precision) 분석결과로부터 측정시스템의 제반 인자에 대한 불확도를 산정할 수 있다.<sup>21)</sup> 본 실험에서는 농도(0.3 ng/mg)의 QC 시료를 선택하여 불확도를 산출하였다. 일간(interday) 정밀도 측정을 위해 5일간 매일 반복하여 측정하였으며 식(11)에 적용하여 QC 시료에 의한 표준불확도를 산출하였다. 각각의 성분에 대한 상대표준불확도( $u_{\text{r variation}}$ )는 AP 0.0173748, MA

Table III – Relative standard uncertainties of diluted standard solutions (working solutions) and standard preparation

Conc' ( $\mu\text{g/ml}$ )	Analyte	$u_{\text{r purity}(S)}$	$u_{\text{r vol}}$	$u_{\text{r pipet}}$	$u_{\text{r std}(W1)}$	$u_{\text{r std}(W2)}$	$u_{\text{r std}(W3)}$	$u_{\text{r std}(W4)}$	$u_{\text{r std}}$
100	AP	0.0005850	0.0004238	-	0.0007223	-	-	-	-
	MA	0.0011243	0.0004238	-	0.0012016	-	-	-	-
10	AP	-	0.0004238	0.0016108	0.0007223	0.0018155	-	-	-
	MA	-	0.0004238	0.0016108	0.0012016	0.0020538	-	-	-
1	AP	-	0.0004238	0.0016108	-	0.0018155	0.0024638	-	-
	MA	-	0.0004238	0.0016108	-	0.0020538	0.0026443	-	-
0.1	AP	-	0.0004238	0.0016108	-	-	0.0024638	0.0029740	-
	MA	-	0.0004238	0.0016108	-	-	0.0026443	0.0031252	-
-	AP	-	-	-	0.0007223	0.0018155	0.0024638	0.0029740	0.0043281
	MA	-	-	-	0.0012016	0.0020538	0.0026443	0.0031252	0.0047350

0.0483283이었다(Table IV).

$$u_{\text{variation}} = \sqrt{\frac{\sum (s_i^2 \times (n_i - 1))}{\sum (n_i - 1)}} \quad (11)$$

( $s_i$  : standard deviation of each day,  $n_i$  : number of measurements)

**검량선에 의한 불확도 평가**

검량선의 비직선성은 측정결과 값의 주요한 불확도 요인이 된다. 일반적으로 다점교정(1차식)에 의한 검량선의 정도는 회귀분석을 실시하여 결정계수( $R^2$ )를 산출함으로써 평가할 수 있다. 이러한 검량선의 불확도 평가를 위한 수학적 관계 모델식은 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$y = b + m \times x \quad (12)$$

( $y$  : ratio of the analyte area to internal standard area,  $x$  : analyte concentration,  $m$ : slope,  $b$ : intercept of the calibration curve)

검량선은 4개 농도(0.1, 1.0, 3.0, 5.0 ng/mg)의 표준용액을 각각 2회 분석하여 작성하였다(Table V). 검량선과 관련된 변수는 가로축 값의 불확도가 세로축 값의 불확도보다 작다는 가정을 전제 조건으로 하여 선형 최소제곱법으로 계산하였다. 그 결과 AP의 검량선은 결정계수 0.9998, 기울기 0.117, y-절편 -0.0037이었고, MA의 경우는 결정계수 0.9995, 기울기 0.2032, y-절편 0.0223의 값을 나타내었다. 실제 복용자의 모발 시료로부터 각 성분의 검량선에 적용하여 얻은 농도는 AP 0.75 ng/mg, MA 4.76 ng/mg이었다.

선형 최소제곱법으로 작성한 검량선에 의한 불확도는 다음의 식에 의해 계산할 수 있다.<sup>17)</sup>

$$u_{\text{cal}} = \frac{s_y}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(x - \bar{x})^2}{S_{xx}}} \quad (13)$$

( $x_i = y_i - b/m$ ,  $p$  : number of measurements to determine  $x$ ,  $n$  : number of measurements for the calibration,  $d_i = y_i - m \times$

$$x_i - b, \bar{d} = \frac{\sum d_i}{n}, s_y = \frac{\sum (d_i - \bar{d})^2}{n-2}, \bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}, S_{xx} = \sum (x_i - \bar{x})^2)$$

**Table IV** – Standard uncertainty of QC samples (n=30)

No.	AP (0.3 ng/mg)					MA (0.3 ng/mg)				
	1st day	2nd day	3rd day	4th day	5th day	1st day	2nd day	3rd day	4th day	5th day
1	0.308	0.321	0.326	0.302	0.320	0.295	0.295	0.308	0.293	0.298
2	0.310	0.307	0.321	0.306	0.321	0.299	0.289	0.325	0.290	0.301
3	0.312	0.315	0.320	0.310	0.318	0.295	0.299	0.294	0.294	0.303
4	0.318	0.310	0.330	0.305	0.327	0.316	0.296	0.317	0.301	0.309
5	0.307	0.319	0.326	0.321	0.320	0.325	0.295	0.286	0.304	0.293
6	0.321	0.312	0.331	0.318	0.321	0.346	0.295	0.297	0.343	0.303
Mean	0.313	0.314	0.326	0.310	0.321	0.313	0.295	0.305	0.304	0.301
Standard deviation	0.006	0.006	0.005	0.008	0.003	0.020	0.004	0.015	0.020	0.006
Standard uncertainty ( $u_{\text{variation}}$ )	0.0055046					0.0146724				
Relative standard uncertainty ( $u_r \text{ variation}$ )	0.0173748					0.0483283				

**Table V** - Calculations for least-squares analysis

No.	$x_i$	$y_i$		$x_i \cdot y_i$		$x_i^2$	$d_i$		$d_i^2$		$d_i - \bar{d}$		$(d_i - \bar{d})^2$		$S_{xx}$
		AP	MA	AP	MA		AP	MA	AP	MA	AP	MA	AP	MA	
1	0.1	0.019	0.051	0.002	0.005	0.01	0.00530	0.00831	0.00003	0.00007	0.005390	0.008318	0.000029	0.000069	4.73063
2	0.1	0.019	0.051	0.002	0.005	0.01	0.00490	0.00875	0.00002	0.00008	0.004992	0.008760	0.000025	0.000077	4.73063
3	1.0	0.167	0.218	0.167	0.218	1.0	-0.00624	-0.00743	0.00004	0.00006	-0.006147	-0.007422	0.000038	0.000055	1.62563
4	1.0	0.170	0.221	0.170	0.221	1.0	-0.00312	-0.00482	0.00001	0.00002	-0.003032	-0.004813	0.000009	0.000023	1.62563
5	3.0	0.521	0.618	1.562	1.853	9.0	-0.00655	-0.01416	0.00004	0.00020	-0.006458	-0.014151	0.000042	0.000200	0.52563
6	3.0	0.527	0.628	1.581	1.885	9.0	-0.00016	-0.00342	0.00000	0.00001	-0.000073	-0.003407	0.000000	0.000012	0.52563
7	5.0	0.880	1.042	4.399	5.208	25.0	-0.00156	0.00321	0.00000	0.00001	-0.001469	0.003221	0.000002	0.000010	7.42563
8	5.0	0.888	1.048	4.440	5.239	25.0	0.00671	0.00948	0.00004	0.00009	0.006796	0.009495	0.000046	0.000090	7.42563
Sum	18.2	3.191	3.877	12.32	14.63	70.0	-	-	0.00019	0.00054	-	-	0.000191	0.000537	28.6150

$$x_i = \frac{y_i - b}{m}, d_i = y_i - m x_i - b, \bar{d}_i = \frac{\sum d_i}{n}, S_{xx} = \sum (x_i - \bar{x})^2$$

**Table VI** – Detailed estimation of uncertainty contributions in the results of AP and MA analysis in human hair samples

Uncertainty factors	Relative standard uncertainty		Effective degrees of freedom, $v_{eff}$		Coverage factor, k		Degree of contribution (%)	
	AP	MA	AP	MA	AP	MA	AP	MA
Sample weight ( $u_r$ Wmg)	0.0009516	0.0009516	17.2	17.2	-	-	0.04	0.04
Standard solution ( $u_r$ std)	0.0043281	0.0047350	8851.4	12679.7	-	-	0.74	0.90
Run control (QC Variation, $u_r$ variation)	0.0173748	0.0483283	25.0	25.0	-	-	11.9	93.8
Calibration curve ( $u_r$ cal)	0.0470327	0.0113965	6.0	6.0	-	-	87.3	5.22
Relative combined standard uncertainty ( $u_c$ rel)	0.0503349	0.0498882	7.8	28.0	2.4	2.1	100.0	100.0
Relative expanded uncertainty ( $U_r$ )	0.1222536	0.1044324	-	-	-	-	-	-

Uncertainty was quantified for a single measurement of drug user hair sample.

Coverage factor, k, was obtained from the Student's t-distribution corresponding to the calculated effective degrees of freedom of relative combined standard uncertainty using a confidence level of 95.45%.

Table V의 값을 식(13)에 적용하여 얻어진 검량선에 대한 상대표준불확도( $u_r$  cal)는 AP 0.0470327, MA 0.0113965이었으며 그 결과를 Table VI에 나타내었다.

#### 확장불확도의 계산

확장불확도를 계산하기 위하여 AP와 MA 성분의 불확도 요인들에 대한 상대표준불확도를 Table VI에 정리하였다. 그리고 개개 인자의 불확도의 자유도로부터 유효자유도를 구하고, 95.45% 신뢰수준에서의 포함인자 k를 추정하였으며, 각각의 상대표준불확도로부터 얻어진 상대합성표준불확도( $u_c$  rel)는 AP 0.0503, MA 0.0499이었다. 이들 값을 이용하여 AP와 MA의 상대확장불확도( $U_r$ )는 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$U_r(C) = k \times u_c \text{ rel} \quad (14)$$

식(14)으로부터 계산한 결과 AP 0.1222536, MA 0.1044324이었으며, 그 값을 Table VI에 추가하였다.

따라서 모발에서 AP와 MA의 농도 측정값을 95% 신뢰수준에서 불확도를 포함하여 표기하면 AP는 (0.75±0.09) ng/mg (k=2.4, 신뢰수준 약 95%), MA는 (4.76±0.50) ng/mg (k=2.1, 신뢰수준 약 95%)이었다.

Table VI에서 GC/MS를 이용한 모발 중 메스암페타민 및 암페타민 분석의 측정불확도 평가결과를 최종적으로 종합·정리하였다.

## 결 론

모발에서 MA 및 AP를 분석하는 경우는 의뢰되는 모발 시료의 양이 적을 뿐만 아니라 분석 과정이 복잡하고 시간도 오래 걸려 반복 측정이 어렵기 때문에 시료를 한 번 분석하여 나오는 측정값을 최종 분석결과로 인정하는 경우가 대부분이다. 이와 같은 경우 분석과정에서 발생하는 다양한 오차들을 고려해 볼 때 분석 결과로 나온 측정값에는 불확도가 포함되어 있다. 따라서

모발에서 MA 및 AP 분석 결과에 불확도를 표기하여 측정값의 존재 범위를 제시함으로써 분석 결과의 품질을 정량적으로 보증하고자 하였다.

불확도 평가는 측정불확도 표현 지침서에 나타나있는 방법에 따라서 수행하였다. 요약하면 측정값을 산출하는데 관련 있는 요인들을 포함하는 모델식 설정, 각 입력량에 대한 불확도 요소의 측정값 산출, 산출된 값으로부터 표준불확도를 계산하는 과정으로 압축될 수 있다. 또한 불확도 전파의 법칙에 근거해 표준불확도로부터 합성표준불확도를 구하고, 포함인자(k)를 곱하여 최종 확장불확도를 계산하였다.

본 연구에서 검토된 불확도 요인은 시료의 무게 측정, 표준용액의 제조, QC 시료의 정밀도 및 GC/MS 검량선의 비직선성이었다. 측정불확도 평가를 통하여 4가지 요인 중 AP의 경우 검량선의 비직선성과 MA의 경우 QC 시료의 정밀도가 가장 큰 영향을 미치는 요인임을 확인할 수 있었다. 이는 기질과 GC/MS의 비직선성의 영향에 의한 것으로 판단된다. 향후 이러한 불확도 추정 및 평가 결과를 근거로 시험법 개선에 반영시켜 오차요인들의 영향을 감소시키는 데 활용할 예정이다.

본 연구는 모발을 이용하여 필로폰의 투약여부를 확인하는 분석방법에 측정불확도 개념을 처음 적용하여 투약여부 확인의 근거가 되는 MA와 AP 성분의 농도 측정값이 존재하는 범위를 합리적으로 추정하였다는 점에 그 의미를 갖고 있다.

## 감사의 말씀

본 연구과제는 대한민국 과학기술부(MOST)와 한국과학재단(KOSEF)의 특정연구개발사업 프로그램(M10640010000-06N4001-00100)에 의해 일부 지원되었습니다.

## 참고문헌

- 1) U.S. Department of Health and Human Services : NIDA

- Research Monograph 94, National Institute on Drug Abuse, Rockville, MD, USA, p. 43 (1989).
- 2) U.S. Department of Health and Human Services : NIDA Research Monograph Series 115, National Institute on Drug Abuse, Rockville, MD, USA, p. 24 (1991).
  - 3) 대검찰청 : 마약류범죄백서 (2005). 대검찰청 마약·조직범죄부, p. 16 (2006).
  - 4) Yui, K., Goto, K. and Ikemoto, S. : The role of noradrenergic and dopaminergic hyperactivity in the development of spontaneous recurrence of methamphetamine psychosis and susceptibility to episode recurrence. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1025**, 296 (2004).
  - 5) Saito, T., Yamamoto, I., Kusakabe, T., Huang, X. L., Yukawa, N. and Takeichi, S. : Determination of chronic methamphetamine abuse by hair analysis. *Forensic Sci. Int.* **112**(1), 65 (2000).
  - 6) Nakahara, Y., Kikura, R. and Konuma, K. : GC/MS analysis of drugs and metabolites in hair for diagnosis of chronic drug abuse - on cocaine, heroin and amphetamines. *Proceedings-Japanese Society for Biomedical Mass Spectrometry* **17**, 207 (1992).
  - 7) Skender, L. : Hair - a biological source in drug analysis. *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* **51**(4), 409 (2000).
  - 8) Montagna, M., Stramesi, C., Vignali, C., Groppi, A. and Poletini, A. : Simultaneous hair testing for opiates, cocaine, and metabolites by GC-MS: a survey of applicants for driving licenses with a history of drug use. *Forensic Sci. Int.* **107**(1-3), 157 (2000).
  - 9) Martz, R., Donnelly, B., Fetterolf, D., Lasswell, L., Hime, G. W. and Hearn, W. L. : The use of hair analysis to document a cocaine overdose following a sustained survival period before death. *J. Anal. Toxicol.* **15**(5), 279 (1991).
  - 10) Ishiyama, I., Nagai, T. and Toshida, S. : Detection of basic drugs (methamphetamine, antidepressants, and nicotine) from human hair. *J. Forensic Sci.* **28**(2), 380 (1983).
  - 11) Suzuki, O., Hattori, H. and Asano, M. : Detection of methamphetamine and amphetamine in a single human hair by gas chromatography/chemical ionization mass spectrometry. *J. Forensic Sci.* **29**(2), 611 (1984).
  - 12) Takahashi, K. : Determination of methamphetamine and amphetamine in biological fluids and hair by gas chromatography. *Nippon Hoigaku Zasshi* **38**(3), 319 (1984).
  - 13) 우진춘 : 측정 및 분석 결과의 불확도(I)-국제 규범(GUM)에 맞는 불확도 산출 및 표현. *한국분석과학회지* **13**(2), 19A (2000).
  - 14) ISO : Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement. ISO, Geneva, Switzerland, (1993).
  - 15) EURACHEM/CITAC : Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement 2nd ed., EURACHEM/CITAC Guide CG 4 (2000).
  - 16) 김종상, 조남호 : 측정결과의 불확도산정을 위한 모델링과 불확도 전파에 관한 연구. *한국컴퓨터정보학회* **8**(4), 167 (2002).
  - 17) 김진영, 서승일, 고범준, 이재일, 정재철, 서용준, 인문교 : 가스 크로마토그래피-질량분석기를 이용한 모발에서 암페타민형 각성제 약물의 동시 분석. *약학회지* **47**(3), 142 (2003).
  - 18) 우진춘 : 측정 및 분석 결과의 불확도(II)-국제 규범 (GUM)에 맞는 불확도 산출 및 표현. *한국분석과학회지* **13**(3), 49A (2000).
  - 19) Sin, Della W. M., Wong, Y. C., Mak, C. Y., Sze, S. T. and Yao, W. Y. : Determination of five phenolic antioxidants in edible oils: Method validation and estimation of measurement uncertainty. *J. Food Compos. Anal.* **19**, 784 (2006).
  - 20) 문수정, 김병훈, 우진춘, 장윤석 : 혈액 시료 중 다이옥신의 농도 분석 결과에 대한 불확도 평가. *한국분석과학회지* **16**(6), 475 (2003).
  - 21) White, G. H. and Farrance, I. : Uncertainty of measurement in quantitative medical testing: A laboratory implementation guide. *Clin. Biochem. Rev.* **25**(iv), 207 (2004).