

마약남용자 11명의 타액 중 메스암페타민의 분석

김은미[#] · 이주선 · 최혜영 · 최화경 · 정희선

국립과학수사연구소 마약분석과

(Received June 25, 2008; Revised October 17, 2008)

Analysis of Methamphetamine and Amphetamine in Oral Fluid of Eleven Drug Abusers

Eunmi Kim[#], Juseon Lee, Hyeyoung Choi, Hwakyung Choi and Heesun Chung

Narcotics Analysis Division, National Institute of Scientific Investigation, Seoul 158-707, Korea

Abstract — A qualitative and quantitative analytical method was developed for detection of methamphetamine (MA) and its main metabolite amphetamine (AM) in oral fluid. Oral fluids of eleven drug abusers were provided by Police, specimens were collected by stimulation with a cotton swab treated with 20 mg of citric acid (Salivette[®]; Sarstedt, USA). As the preliminary test, oral fluid samples were screened for amphetamines by Fluorescence Polarization Immunoassay (TDxFLx, Abbott Co.). Extraction for MA was performed using solid-phase extraction (SPE) by RapidTrace[™] (Zymark, USA) with mixed mode cation exchange cartridge, CLEAN SCREEN[®] (130 mg/3 ml, UCT) after dilution with phosphate buffer. Samples were evaporated and derivatized by pentafluoropropionic acid anhydride (PFPA). Quantitation of MA and AM was performed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) using selective ion monitoring (SIM), the quantitation ions were m/z 204 (MA), 208 (MA-D₅), 190 (AM) and 194 (AM-D₅). The selectivity, linearity of calibration, limit of detection (LOD) and quantification (LOQ) within- and between day precision, accuracy and recoveries were examined as parts of the method validation. All oral fluid samples gave positive results to immunoassay for MA (cut-off level, 50 ng/ml as *d*-amphetamine). Concentrations of MA and AM by GC-MS in eleven samples were ranged 104.2~4603.3 ng/ml and 32.4~268.6 ng/ml, respectively. Extracted calibration curves of MA and AM were linear over the two concentration range of 1~100 and 50~1000 ng/ml with correlation coefficient of above 0.999. LOQ of MA and AM was 1 and 3 ng/ml, respectively. The intra- and inter-day run precisions (CV) for MA and AM were less than 10%, and the accuracies (bias) for MA and AM were also less than 10% at the two different concentrations 5 and 100 ng/ml at low calibration range, 50 and 1000 ng/ml at high calibration range. The absolute recoveries of MA and AM at low and high calibration ranges were more than 82% and 75%, respectively. In this study the qualitative and quantitative analytical method of MA in oral fluid was established. Oral fluid testing may detect drug use in past hours because of its shorter detection window than urine, and be useful in post-accident situations. So oral fluids will be most useful for testing drug abuse in the driving under the influence of drug (DUID) as the alternative specimens of urine.

Keywords □ methamphetamine, oral fluid, GC-MS

메스암페타민(methamphetamine, 이하 MA로 칭함)은 강력한 중추신경흥분제로 우리나라에서 가장 많이 남용하는 마약류이며 속칭 '히로뽕(필로폰)'이라 부르기도 하고, 서양에서는 '스피드' 혹은 얼음처럼 생겼다가 하여 '아이스'라고도 부른다.¹⁾

MA의 상용량은 10 mg 정도이고, 투여방법은 다양하여 흡연, 정맥주사, 코점막 흡입(snort), 경구복용 등이 있으며, 투여 후 체 내에 빠르게 흡수되어 효과는 6~12시간 지속된다. 초기증상으

로서 'rush'라고 알려진 강한 쾌락을 경험하고, 과도한 흥분, 불안 등이 나타나며 때로는 공격적이고, 폭력적인 행동을 보이기도 한다.^{2,3)}

MA는 간에서 탈메틸화(N-demethylation)에 의하여 주요 활성 대사산물인 암페타민(amphetamine, 이하 AM으로 칭함)으로 대사되며 나아가 *p*-hydroxymethamphetamine과 기타 norephedrine 등으로 대사되어 소변으로 배설된다⁴⁾(Fig. 1). 소변 중 MA의 배설은 액성(pH)의 영향을 받는데 즉, 정상상태에서는 24시간 동안의 소변에서 투여량의 43%가 미변화체인 MA과 4~7%의 AM이 배설되는 반면 산성 소변에서는 배설이 촉진되어 76%가 MA, 7%가 AM으로 배설되고, 반대로 알칼리성 소변에서는 2% 및

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로

(전화) 02-2600-4931 (팩스) 02-2600-4939

(E-mail) emkim@nisi.go.kr

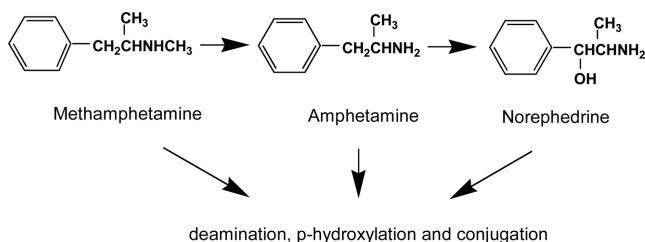


Fig. 1 - Metabolic pathway of MA.

0.1%만이 각각 MA 및 AM으로 배설된다고 한다.^{5,6)}

전통적으로 마약 복용 검사를 위한 시료로서 가장 널리 사용되어 온 것은 소변이나, 최근에는 타액 및 땀과 같은 대체시료를 이용한 마약 검사가 활발하게 이루어지고 있다. 타액은 채취가 간편하고, 상처를 주지 않고 채취가 가능하다는 점에서 혈액보다 편리하며, 소변 채취 시 종종 문제가 되는 시료 대치 또는 희석의 위험성을 배제할 수 있는 장점^{7,8)}이 있어 유럽, 미국 등 많은 나라에서는 이미 마약 검사 시료로 사용하고 있다. 특히 타액은 시료채취의 간편성 때문에 약물복용하 운전(Driving under the influence of drug, DUID)과 관련하여 도로상 운전자들에 대한 마약 검사 및 작업장내 근로자들에 대한 마약 검사에 주로 사용된다. 이와 같이 타액을 이용한 마약류 검사가 세계적으로 일반화되어 있는데 반하여 현재 우리나라는 소변과 모발에서만 마약류 검사를 실시하고 있으며,¹⁴⁾ 타액은 아직 시도된 바 없어 분석법 확립이 시급한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 타액 중 마약류 검출법을 확립하고자 우선 MA 및 활성 대사체인 AM을 선택하여 이의 분석법을 확립하였다.

시료는 실제 당 소에 의뢰된 마약복용자 11명의 타액을 사용하였으며, 타액 중 MA의 분석은 우선 면역분석법을 이용하여 암페타민류를 검색하였다. 시료 전처리 과정으로서 고상추출법(solid phase extraction, SPE)을 사용하였고, MA 및 AM의 확인 및 정량은 기체크로마토그래프-질량분석법(GC-MS)을 사용하였으며, 확립된 시험법에 대한 유효화를 실시하여 적합성 여부를 검토하였다.

실험 방법

타액 채취 및 전처리

당 연구소에 마약분석을 위하여 의뢰된 마약남용자 11명의 타액을 사용하였다. 타액은 Sarstedt사의 Salivette[®]를 사용하였는데 용기 안에 미리 20 mg의 구연산이 처리된 면봉이 들어있어 이를 입안에 넣고 침샘을 자극하여 채취하였다(Fig. 2). 채취한 용기는 원심분리하여(3000 rpm, 10분) 면봉으로부터 타액을 분리시킨 후 분리된 용기 하부의 타액을 면역분석법 및 GC-MS 분석용 시료로 사용하였다.

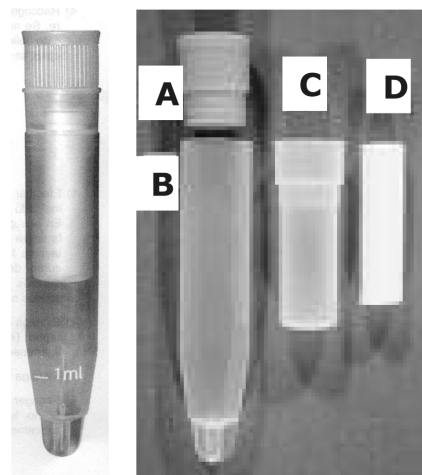


Fig. 2 - 타액채취용기(A: 마개, B: 원심분리용 관, C: 내부걸름망, D: 구연산이 처리된 면봉).

면역분석법

예비실험으로서 타액 중 MA 및 AM은 TDx(Abbott Co., USA)를 사용하여 검색하였다. TDx는 형광편광면역분석법(Fluorescence polarization immunoassay; FPIA)의 원리를 이용한 장비로서 항원에 형광물질을 고정시켜 발광도를 편광으로 측정하여 편광의 정도에 따라 약물의 농도를 측정한다.⁹⁾ 원심분리한 타액 100 μ l를 취하여 분석용 회전반(Assay Carousel)내 cartridge에 넣고 분석시약을 장착하여 분석하였다. 분석시약은 AM/MA reagent pack(Abbott Co.)을 사용하였는데 이는 세척액, AM/MA 항혈청시약, AM/MA 형광트레이서 및 전처리 용액등 4개의 시약으로 구성된 키트제제였다. 검량선 범위는 AM/MA으로서 0~8000 ng/ml 범위였고, 타액 중 MA 및 AM의 cut-off 값*은 미국 DHHS(Department of Health and Human Services)에서 권장하는 농도인 50 ng/ml(as d-amphetamine)로 설정하였다.¹⁰⁾

GC-MS 분석

시약 및 재료 - 자동고상추출 장치는 Zymark 회사제품인 Rapid Trace[™]를 사용하였고, 고상추출용 컬럼은 mixed-mode cation exchange type인 CLEAN SCREEN[®](130 mg/3 ml, UCT)를 사용하였다. 2-Propanol, methylene chloride, methanol, hexane은 모두 HPLC급을 사용하였으며, 이중 2-propanol과 methylene chloride를 75:25(V:V)로 혼합한 것을 용출용매로 사용하였다. 0.1 M 인산완충액(KH₂PO₄ 13.6 g을 증류수 900 ml에 용해시킨 후 1 M KOH를 사용하여 액성을 6.0으로 맞추고 다시 증류수를 넣어 전량을 1000 ml로 맞추었다), 5 N HCl(증류수 200 ml에 conc.HCl 206 ml를 넣은 후 다시 증류수로 500 ml로 맞추었다)

* cut-off; 면역분석법을 사용한 마약류검색에서 시료가 양성인지 음성인지를 구별하는 한계농도²⁾로서 cutoff 값 미만이면 음성으로 판정한다.

및 0.1 N NaOH(4.0 g NaOH를 증류수 500 ml에 넣어 녹인 후 다시 증류수로 1000 ml로 맞추었다)를 조제하여 사용하였다. 유도체시약으로 사용한 pentafluoropropionic anhydride(PFPA)는 순도 99%의 것을 사용하였고(Aldrich Chem. Co.), 기타 시약은 1급 또는 특급을 사용하였다.

표준물질 - MA(1.0 mg/ml in MeOH) 및 AM(1.0 mg/ml in MeOH)은 cerilliant사 제품을 사용하였다. 이들 앰플을 절개한 후 메탄올로 희석하여 각각 100 µg/ml 농도의 표준원액(stock solution)을 조제하고 -25°C에서 보관하였다. 내부표준물질은 cerilliant사 제품인 MA중수소치환체(MA-D₅, 100 µg/ml in MeOH) 및 AM중수소치환체(AM-D₅, 100 µg/ml in MeOH)를 메탄올로 희석하여 각각 5 µg/ml 및 1 µg/ml 농도로 조제한 것을 사용하였다.

고상추출 - 타액은 미리 0.1 M 인산완충액을 사용하여 1:3 volume으로 희석시켰다. 즉, 시험관(borosilicate, 16×100 mm)에 타액 250 µl 및 0.1 M 인산완충액 750 µl를 넣은 후 증류수로 전량을 3 ml로 맞추었다. 여기에 내부표준물질인 MA-D₅ 및 AM-

D₅를 각각 50 µl씩 넣고 5 N HCl 30 µl를 넣은 후 잘 혼합하여 고상추출용 시료로 하였다. 고상추출은 전보의 방법¹¹⁾을 일부 변경하여 적용하였다. 즉, 2.0 ml의 메탄올 및 0.1 M 인산완충액을 순서대로 컬럼을 통과시켜 활성화 시킨 후 시료를 컬럼에 적용하였다. 2.0 ml의 0.1 M NaOH 및 증류수로 컬럼을 세척하고, 다시 4.0 ml의 헥산으로 세척하였다. 3 ml의 유출용매를 사용하여 유출시키고 유출액은 46°C 수욕상에서 질소가스를 이용하여 건조시켰다. 잔사를 30 µl 초산에칠 및 30 µl의 PFPA를 넣고 65°C에서 15분간 반응시켰다. 반응액을 상온에서 식힌 후 다시 농축한 잔사를 50 µl 초산에칠로 녹인 후 GC-MS 분석용 시료로 하였다 (Scheme 1).

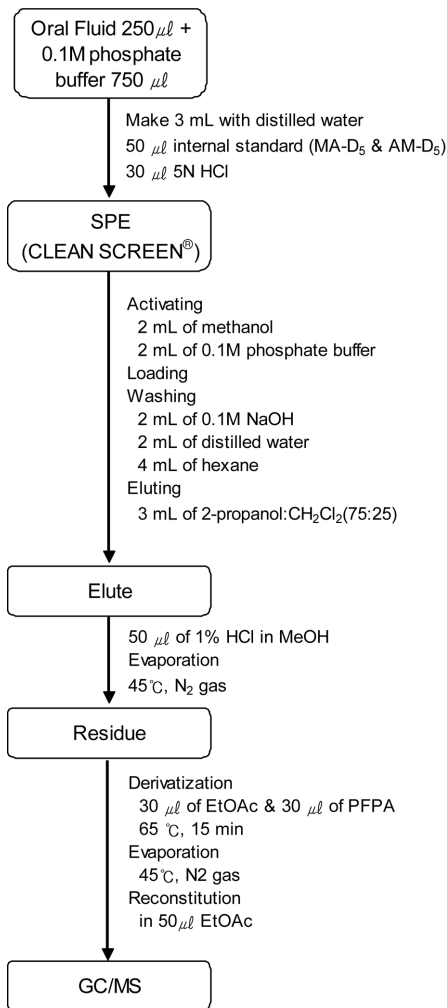
분석기기 및 조건 - GC-MS는 자동시료주입기(model 7673)가 장착된 미국 Agilent사의 GC 6890N 및 MSD 5975를 사용하였고, 컬럼은 HP-5MS(0.25 mm ID, 0.25 µm film thickness, 30 M)를 사용하였다. EI mode로 70 eV에서 이온화시켰다. 주입기 온도는 250°C, transfer line 온도는 320°C, 오븐온도는 100°C에서 1분간 머무르고 160°C까지 분당 15°C씩 올린 후 3분간 머무르고 다시 280°C까지 분당 30°C씩 올린 후 10분간 유지하였으며 시료는 splitless mode로 1 µl 주입하였다. MA 및 AM의 확인 및 정량은 selective ion monitoring(SIM) mode를 사용하여 MA 및 AM의 경우 각각 m/z 204 및 190을, 내부표준물질로 사용한 MA-D₅ 및 AM-D₅는 각각 m/z 208 및 194를 선택하였고, 정량은 이들 각 이온에 대한 내부표준물질의 피크이온 면적 비로서 계산하였다.

방법의 유효화 - 유효화를 위한 측정항목으로서 선택성, 직선성, 검출한계, 정량한계, 정확도, 정밀도 및 회수율을 조사하였으며, 구체적인 실험 방법은 전보에 준하였다.^{12,13)} MA 및 AM의 검량선은 MA 및 AM의 표준원액을 메탄올로 희석하여 0.1~10 µg/ml의 표준용액을 조제한 후 이들 용액을 일정량씩 취하여 인산완충액으로 희석한 공시료 타액(1 ml)에 첨가하여 작성하였다. 검량선은 농도범위를 저농도(1, 2, 10, 20, 50 및 100 ng/ml) 및 고농도(50, 100, 250, 500, 750 및 1000 ng/ml)로 나누어서 각각 작성하였고, 정확도, 정밀도 및 회수율 실험에 사용한 검증시료(QC)도 저농도와 고농도로 나누어서 조제하였다. 즉, MA 및 AM이 각각 5, 100 ng/ml(저농도) 및 50, 1000 ng/ml(고농도)를 함유하도록 하였다. 한편, 실제 남용자의 타액 중 MA의 정량을 위한 검량선은 AM이 MA보다 적게 함유되어 있는 점을 고려하여 AM은 저농도(1~100 ng/ml), MA는 고농도(50~1000 ng/ml) 범위로 작성하였다.

결과 및 고찰

GC-MS에 의한 타액 중 MA 및 AM의 분석

공시료 타액에 MA 및 AM 표준용액 및 내부표준물질을 첨가



Scheme 1 - Extraction procedure for MA & AM in oral fluid.

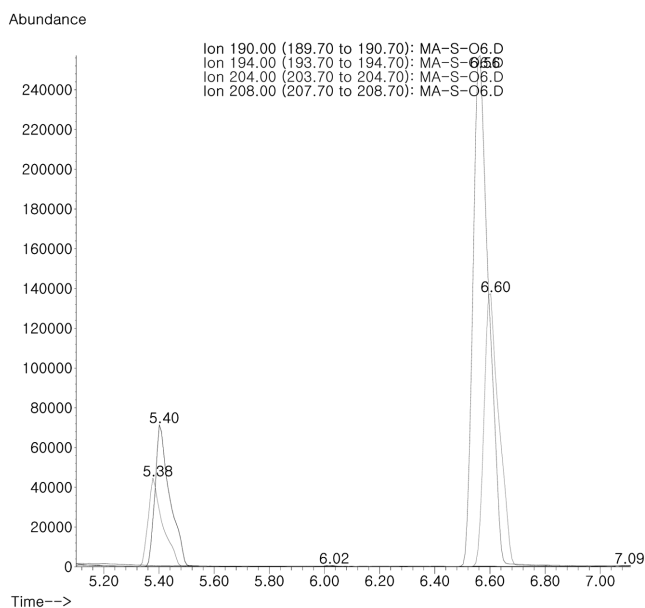


Fig. 3 – Extract ion chromatogram of MA and AM spiked oral fluid (Oral fluid was spiked with AM 100 ng/ml, MA 100 ng/ml, AM-D₅ 50 ng/ml and MA-D₅ 250 ng/ml. Detection order was AM-D₅, AM, MA-D₅ and MA with retention time of 5.38, 5.40, 6.56 and 6.60 min, respectively).

한 후 고상추출법으로 추출하여 얻어진 시료를 GC-MS 분석한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. AM 및 MA는 5.40분 및 6.60분에 각각 검출되었고, 내부표준물질인 AM-D₅ 및 MA-D₅는 5.38분 및 6.56분에 각각 검출되어 양호하게 분리되었다. 또한 해당 검출시간에서 기질로부터 기인한 내인성 물질의 피크는 검출되지 않았다.

방법의 유효화

확립된 실험법에 대하여 유효화를 실시하여 그 결과를 Table I 및 II에 정리하였다. 인산완충액으로 희석한 공시료 타액 1 ml에 MA 및 AM 표준용액을 농도별로 첨가한 후 고상추출법으로 추출하여 분석하고 검량선을 작성하였을 때 MA 및 AM은 저농도범위(1~100 ng/ml) 및 고농도범위(50~1000 ng/ml)에서 모두 상관계수(r^2)가 0.999 이상으로 직선성이었다(Fig. 4). 정량한계(LOQ)는 MA가 1 ng/ml AM이 3 ng/ml이었고, 검출한계(LOD)는 정량이온의 S/N 비가 3:1 이상이고, 검출시간이 표준물질과 일치하는 경우의 농도로서 결정하였을 때 MA 및 AM이 각각 0.1 및 0.7 ng/ml이었다. 공시료 타액에 MA 및 AM 검증시료를 각각 5, 100 ng/ml(저농도범위) 및 50, 1000 ng/ml(고농도범위)가 되도록 첨가하고 3일간 연속하여 실험한 후 일내(intra-day) 및 일간(inter-day) 정확도 및 정밀도를 조사하였다. Table I에서와

Table I – Validation data of MA and AM for the established method in oral fluid

Parameters	Methamphetamine	Amphetamine
Linearity		
Low calibration range (1~100 ng/ml)	$y=0.0197x+0.0135$ ($r^2=0.9999$)	$y=0.0183x+0.008$ ($r^2=0.9999$)
High calibration range (50~1000 ng/ml)	$y=0.0022x-0.0197$ ($r^2=0.9993$)	$y=0.0020x-0.0197$ ($r^2=0.9995$)
LOD (ng/ml)	0.1	0.7
LOQ (ng/ml)	1	3
Accuracy (%)		
Low calibration range		
5 ng/ml	6.01	6.99
100 ng/ml	-1.56	-1.48
High calibration range		
50 ng/ml	-2.36	0.90
1000 ng/ml	-0.48	9.80
Precision (%)		
Low calibration range 5 ng/ml		
Intra-day	2.23	5.90
Inter-day	1.09	1.47
Low calibration range 100 ng/ml		
Intra-day	2.11	2.16
Inter-day	1.35	1.46
High calibration range 50 ng/ml		
Intra-day	5.64	9.29
Inter-day	4.17	4.50
High calibration range 1000 ng/ml		
Intra-day	8.23	4.71
Inter-day	2.41	1.93

1. Two kinds of standard curves(low and high calibration range) were analyzed in diluted oral fluids (1 ml) spiked with different concentrations of analytes (n=4).

2. For estimation of accuracy and precision, 3 diluted oral fluids which were spiked with two different concentrations at low calibration range (5 and 100 ng/ml), and high calibration range (50 and 1000 ng/ml) of MA and AM were extracted and analyzed by GC-MS. The extraction procedure was repeated independently on three successive days. The value within $\pm 15\%$ ($\pm 20\%$ at Low QC) were deemed acceptable.

Table II – Recoveries of MA and AM for the established method in oral fluid

Recoveries	Methamphetamine	Amphetamine
Absolute recovery (%)		
Low calibration range		
5 ng/ml	91.9	80.8
100 ng/ml	91.6	83.4
High calibration range		
50 ng/ml	93.1	90.3
1000 ng/ml	82.1	75.1
Relative recovery (%)		
Low calibration range		
5 ng/ml	95.9	98.9
100 ng/ml	102.6	101.3
High calibration range		
50 ng/ml	100.0	101.0
1000 ng/ml	103.5	100.5

For recovery, diluted oral fluids, which were spiked two different concentrations at low calibration range (5 and 100 ng/ml) and high calibration range (50 and 1000 ng/ml), were extracted by SPE and calculated as concentration corresponding to aliquot of QC solutions in methanol (n=5). Internal standard was added in the last step of extraction procedure and injected to GC-MS.

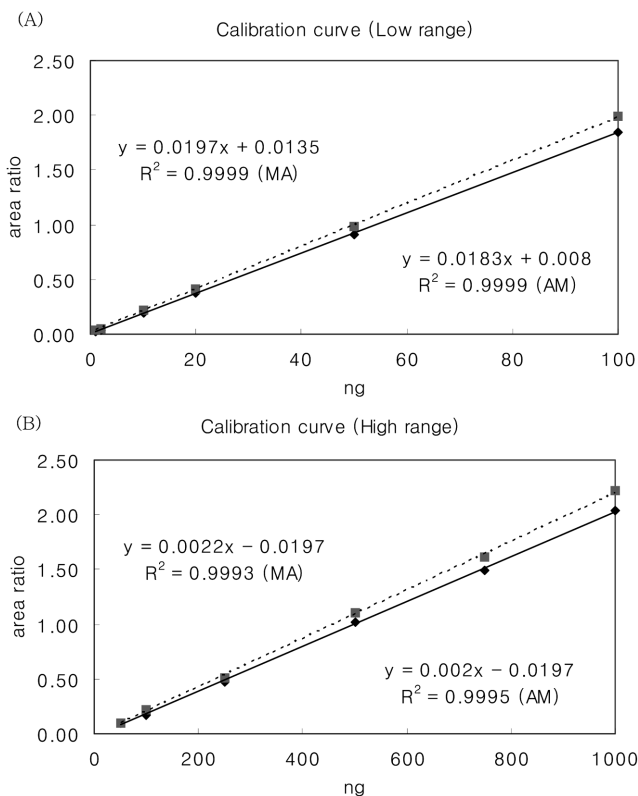


Fig. 4 – Calibration curves of MA and AM (A: Low concentration range, B: High concentration range, --- MA, — AM).

같이 MA 및 AM의 정확도 및 정밀도는 두가지 농도범위에서 모두 10% 미만으로서 적합하였다. 한편 저농도 및 고농도범위에서 MA의 절대회수율은 82% 이상이었으며, AM의 절대회수율은

Table III – Immunoassay results by TDx in oral fluids of eleven drug abusers

NO	Sample ID	TDx (ng/ml)	Result
1	14641	202.19	(+)
2	11466	2296.31	(+)
3	19969	1799.53	(+)
4	21654-1	534.37	(+)
5	21654-2	1964.68	(+)
6	22816	284.93	(+)
7	23280	718.69	(+)
8	25956-1	2722.27	(+)
9	25956-2	2542.29	(+)
10	25956-3	2961.71	(+)
11	28324	4475.68	(+)

(+) means positive to amphetamines (MA & AM)

Table IV – Concentrations of MA & AM in drug abuser's oral fluids

NO	Sample ID	Concentration (ng/ml)		AM/MA ratio	Total Vol (ml)
		MA	AM		
1	14641	104.2	32.4	0.31	0.6
2	11466	2067.0	156.7	0.08	0.4
3	19969	1846.9	84.6	0.05	1.4
4	21654-1	496.9	49.3	0.10	1.0
5	21654-2	1738.7	157.5	0.09	0.8
6	22816	186.6	47.7	0.26	0.8
7	23280	660.9	57.8	0.09	0.4
8	25956-1	2542.5	204.1	0.08	0.6
9	25956-2	2088.4	207.3	0.10	0.8
10	25956-3	2411.8	75.8	0.03	1.0
11	28324	4603.3	268.6	0.06	0.4

75% 이상이었으며, 상대회수율(추출효율)은 MA가 95.9~103.5%, AM이 98.9~101.3% 범위였다(Table II).

면역분석법에 의한 타액 중 암페타민류(MA 및 AM)의 검색

미약남용자의 타액을 TDx를 사용하여 면역분석법으로 분석한 결과를 Table III에 나타내었다. 11명의 타액에서 모두 MA 및 AM이 cut-off 값(50 ng/ml) 이상 검출되어 양성으로 반응하였다.

GC-MS에 의한 타액 중 MA 및 AM의 정량분석

미약남용자 11명의 타액을 GC-MS를 사용하여 분석한 결과는 Table IV와 같았다. 타액의 채취량은 0.4~1.4 ml로 모두 2 ml 미만이었으며, 분석결과 모든 시료에서 MA 및 AM이 검출되어 면역분석법의 결과와 일치하였다. 타액 중 MA 및 AM의 농도는 각각 104.2~4603.3 ng/ml 및 32.4~268.6 ng/ml 범위였으며 AM/MA 비율은 0.03~0.31(평균 0.11)이었다(Table IV).

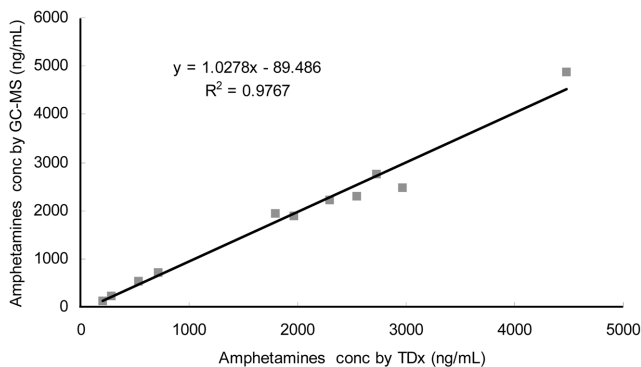
면역분석법과 GC-MS의 암페타민류 농도 비교

TDx 및 GC-MS에서 분석한 암페타민류 농도를 비교하여 Table V에 나타내었다. GC-MS의 경우 암페타민류의 농도는 각 시료

Table V – Comparison of amphetamines (MA & AM) concentrations between immunoassay and GC-MS analysis

NO	Sample ID	Concentration of amphetamines (ng/ml)		TDx/GC-MS ratio
		TDx	GC-MS ^{a)}	
1	14641	202.19	136.60	1.48
2	11466	2296.31	2223.71	1.03
3	19969	1799.53	1931.48	0.93
4	21654-1	534.37	546.30	0.98
5	21654-2	1964.68	1896.26	1.04
6	22816	284.93	234.27	1.22
7	23280	718.69	718.70	1.00
8	25956-1	2722.27	2746.58	0.99
9	25956-2	2542.29	2295.66	1.11
10	25956-3	2961.71	2487.59	1.19
11	28324	4475.68	4871.97	0.92

^{a)}In order to compare the results between TDx and GC-MS, MA and AM concentrations in GC-MS of each sample were added together.

**Fig. 5** – Correlation of amphetamines (MA & AM) concentration between immunoassay and GC-MS analysis.

별로 Table IV의 MA 및 AM의 농도를 합하였는데, 이때 TDx/GC-MS 농도비는 0.92~1.48(평균 1.08)으로서 두가지 분석법에 의한 암페타민류의 농도가 거의 일치함을 알 수 있었다. 또한 회귀분석을 하였을 때 상관계수(r^2)가 0.97 이상으로 높은 상관성을 보였다(Fig. 5).

우리나라 마약의 남용은 점차 증가하는 추세에 있어 2007년도 국립과학수사연구소 마약연구실에서 검사한 총 소변시료 수는 3484건으로 2006년 2734건에 비하여 27.5% 증가하였다. 당 연구소에 의뢰된 마약남용자 총 3484명의 소변을 분석한 결과 1514건에서 마약류 및 비규제 남용약물이 검출되었고, 이 가운데 가장 많이 검출된 마약은 MA로 813건의 소변에서 검출되어 전체 양성 소변의 53.7%를 차지하였고, 다음으로 대마가 396건 검출되어 26.2%를 차지하였다.¹⁴⁾

최근 10년간 마약검사를 위한 모발, 땀, 타액과 같은 대체시료의 개발은 법독성학 분야에 중요한 전환점을 가져왔다. 특히 타액은 상체를 주지 않고 채취 가능하므로 혈액뿐만 아니라 희석이

나 오염이 의심되는 소변의 대체시료로서 사용되어왔다. 이러한 시료채취의 간편성 때문에 타액은 운전자의 마약검사를 위한 시료로서 주로 활용되고 있으며,¹⁵⁾ 또한 안전사고와 관련하여 작업장내 근로자의 마약검사에도 이용되고 있다.¹⁶⁾ 최근 약물복용하 운전(DUID)은 종래의 음주 운전보다 더욱 심각한 사회문제로 인식되어 세계적으로 관심이 증가하고 있으며, 이와 관련하여 저자 등¹⁷⁾도 우리나라 음주 운전자 275명의 혈액에서 마약류를 분석한 결과 벤조디아제핀류, 텍스트로메토르판 등 9종의 약물이 검출되어 전체 시료 중 5.45%의 약물이 검출되었음을 보고한 바 있다.

타액에서의 MA의 cut-off 값과 관련하여 나라마다 서로 다르게 설정하고 있는데 즉, 미국은 50 ng/ml, 유럽연합(EU)은 70~90 ng/ml, 호주는 25 ng/ml로 설정하였다.¹⁸⁾ 앞으로 나라간의 cut-off 값의 통일이 필요하다고 생각하지만, 30년이 지난 지금까지 소변에서의 cut-off 값도 여전히 나라마다 다른 상황을 고려한다면 그리 쉬운 작업은 아닐 것이다. 본 연구에서는 미국의 cut-off 값을 적용하여 50 ng/ml로 설정하였는데 분석방법 또는 장비에 따라 cut-off 값이 달라질 수 있으므로 이에 대하여는 더욱 연구가 필요한 부분으로 생각되었다.

한편 타액 중 MA의 배설은 지용성, 낮은 단백질결합 등의 요인에 따라 촉진되며,⁸⁾ 전술하였듯이 액성에 영향을 받아 MA와 같은 염기성 약물은 산성에서 배설이 증가하는데 일반적으로 타액은 혈액보다 산성이므로 MA의 농도는 혈액보다 타액에서 더 높게 존재한다. Schepers 등¹⁹⁾은 타액 중 MA의 농도가 혈액에 비하여 평균 2배 높았고, 대사체인 AM의 함량은 MA의 1/10 가량 되었다고 보고하였다. 본 연구에서는 혈액은 채취하지 못하였으므로 혈액과 타액간의 비교를 하지 못하였는데 이에 대하여는 향후 시료를 확보하여 더욱 연구해야 할 부분으로 사료되었다.

타액 중 마약류 검사는 아직 우리나라에서는 시도된 바 없으므로 본 연구에서 고상추출법 및 GC-MS를 이용하여 타액 중 MA의 분석법을 확립하고자 하였으며, 유효화 실험 결과 MA 및 AM이 모두 잘 분리되고 해당 조건에 만족하였으므로 본 분석법이 목적에 적합함을 확인하였다. 또한 면역분석법과 비교하였을 때 우수한 직선성을 나타내어 결과가 서로 일치하였으며, 실제 마약남용자의 타액에 적용하였을 때 11명의 타액에서 MA 및 AM이 검출되어 마약검사 대체시료로서 타액의 활용 가능성을 확인하였다. MA 이외에도 대마, 코카인, 아편류 등 다양한 마약류에 대한 타액 중 분석기법 확립이 필요하며, 마약남용자의 소변 및 모발에서 MA의 함량을 분석하여 타액과 비교를 통한 MA의 시료 별 체내 분포에 대한 연구도 필요할 것이므로 더욱 많은 연구가 뒷받침되어야 할 것이다.

결 론

1. 타액 중 MA 및 AM의 분석법을 확립하고 실제 마약남용자

11명의 타액에 적용하였을 때 모두 MA 및 AM이 검출되었다.

2. 면역분석법과 GC-MS 분석법에 의한 함량분석결과를 비교하였을 때 암페타민류의 TDx/GC-MS 농도비는 평균 1.08로서 두가지 분석법의 실험결과가 서로 일치하였다.

3. GC-MA 분석에 의한 11명의 마약남용자의 타액 중 MA 및 AM의 함량은 각각 104.2~4603.3 및 32.4~268.6 ng/ml 범위였으며, AM/MA ratio는 0.03~0.31(평균 0.11) 범위였다.

4. MA 및 AM에 대한 저농도 및 고농도 범위에서의 검량선은 모두 상관계수 0.999 이상으로 직선성이었으며, 본 분석조건에서 MA 및 AM의 정량한계는 각각 1 및 3 ng/ml였다.

5. MA 및 AM의 정확도 및 정밀도는 저농도 및 고농도 범위에서 모두 10% 미만으로서 기준에 적합하였으며, MA의 절대회수율은 82% 이상이었고, AM의 절대회수율은 75% 이상이었으며, 상대회수율은 MA 및 AM이 각각 95.9~103.5% 및 98.9~101.3% 범위였다.

6. 타액은 채취가 간편하고 인체에 손상을 입히지 않고 채취할 수 있어 운전자의 마약복용여부 검사 등에 소변의 대체시료로서 활용도가 높을 것으로 기대된다.

감사의 말

본 연구는 교육과학기술부 특정사업인 증거의 유효화를 위한 분석방법 및 시스템 기술개발(과제명: 최첨단 감식 및 분석시스템 원천기술개발)로부터 재정적 지원을 받았기에 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) 유영찬 : 법과학과 수사, 현암사 (2002).
- 2) 정희선 : 생체시료에서 마약류의 검사, 신일상사 (2000).
- 3) Maxwell, J. C. : Emerging research on methamphetamine. *Curr. Opi. Psychiatry* **18**, 235 (2005).
- 4) Baselt, R. C. : *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man* 7th edi. Biomedical Publications (2004).
- 5) Beckett, A. H. and Rowland, M. : Urinary excretion kinetics of methylamphetamine and amphetamine in man. *J. Pharm. Pharmac.* **17**(Suppl.), 109 (1965).
- 6) Oyler, J. M., Cone, E. J., Joseph, Jr. R. E., Moolchan, E. T. and Huestis, M. A. : Duration of detectable methamphetamine and

amphetamine excretion in urine after controlled oral administration of methamphetamine to humans. *Clin. Chem.* **48**, 1703 (2002).

- 7) Bush, D. M. : The U.S. mandatory guidelines for federal workplace drug testing programs: Current status and future considerations. *Forensic Sci. Int.* **174**, 111 (2008).
- 8) Huestis, M. A. and Cone, E. J. : Methamphetamine disposition in oral fluid, plasma, and urine. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1098**, 104 (2007).
- 9) Levine, B. : *Principles of Forensic Toxicology*, 2nd edi., AASS Press (2003).
- 10) DHHS. Proposed revisions to mandatory guidelines for federal workplace drug testinh programs. *Fed. Register* **69**, 19673 (2004).
- 11) Kim, E., Lee, J., Choi, S., Lim, M. and Chung, H. : Analysis of ketamine and norketamine in urine by automatic solid-phase extraction (SPE) and positive ion chemical ionization-gas chromatography-mass spectrometry (PCI-GC-MS). *Forensic Sci. Int.* **174**, 197 (2008).
- 12) Kim, E., Lee, J., Park, M., Choi, S., Lim, M. and Chung, H. : Standardization of method for the analysis of dextramethorphan in urine. *Forensic Sci. Int.* **161**, 198 (2006).
- 13) 김은미, 이주선, 최혜영, 임미애, 정희선 : 고상추출법 및 NCI-GC-MS를 이용한 소변 중 15종 벤조디아제핀계 약물 동시분석. *한국법과학회지* **8**, 24 (2007).
- 14) 김은미 : 우리나라 마약류 남용현황 및 생체시료중 마약류 분석 동향, 관세청주관 마약·식품 분석과학기술 세미나 (2008.6.14).
- 15) Verstraete, A. G. : Oral fluid testing for driving under the influence of drugs: history, recent progress and remaining challenges. *Forensic Sci. Int.* **150**, 143 (2005).
- 16) Verstraete, A. G. and Pierce, A. : Workplace drug testing in europe. *Forensic Sci. Int.* **121**, 2 (2001).
- 17) 최혜영, 이주선, 최상길, 김은미, 김재균, 김영운, 임미애, 정희선 : 음주운전자 275명 혈액 중 마약류 및 남용약물의 분석. *약학회지* **52**(2), 137 (2008).
- 18) Drummer, O. H. : Drug testing in oral fluid. *Clin. Biochem. Rev.* **27**, 147 (2006).
- 19) Schepers, R. J., Oyler, J. M., Joseph, Jr. R. E., et al. : Methamphetamine and amphetamine pharmacokinetics in oral fluid and plasma after controlled oral methamphetamine administration to human volunteers. *Clin. Chem.* **49**, 121 (2003).