

안정동위원소 비율 및 테트라하이드로칸나비놀 함량 분석을 통한 한국산 대마의 재배 환경 추론

이재신[#] · 박용훈 · 이종숙 · 정진일 · 임미애 · 정희선

국립과학수사연구소 법과학부

(Received January 23, 2008; Revised April 25, 2008)

Planting Conditions of Korean Cannabis Derived from Stable Isotope Ratio & Tetrahydrocannabinol Contents

Jae Sin Lee[#], Yong Hoon Park, Jong Sook Rhee, Jin Il Jeong, Mi Ae Lim and Hee Sun Chung
National Institute of Scientific Investigation, Department of Forensic Science, Seoul 158-707, Korea

Abstract — Stable isotope ratio of carbon and nitrogen ($\delta^{13}\text{C}$ & $\delta^{15}\text{N}$), and Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) contents were measured on 37 Korean cannabis and 10 commercial grade marijuana seized in Korea. Factors influencing on the measured values and their variations were investigated. $\delta^{13}\text{C}$ value of cannabis is specified mainly by water availability. Korean cannabis showed relatively low $\delta^{13}\text{C}$ values ranging $-33.29\sim-27.01\text{‰}$ (mean= -31.01‰), which reflect geographic conditions of Korea where is rainy, especially during summer. $\delta^{15}\text{N}$ values, which reflect individual planting conditions, were relatively high up to $-0.5\sim18.0\text{‰}$ (mean= 6.44‰). It reflects characteristics of Korean cannabis growing wild in forest or cultivated in fertile soil. Tetrahydrocannabinol is the major hallucinogenic compound of cannabis. Ethanol extracts of cannabis leaves were derivatized by N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA), and the derivatives were analyzed by GC-MS in selected ion monitoring (SIM) mode. THC contents of Korean cannabis ranged $0.11\sim4.34\%$ (mean= 1.47%), which were relatively low compared with commercial grade marijuana.

Keywords □ cannabis, marijuana, stable isotope ratio, tetrahydrocannabinol

대마(*Cannabis sativa* L., *Moraceae*)는 메스암페타민과 함께 우리나라에서 가장 많이 남용되고 있는 마약류로서, 약물 작용상 환각제(hallucinogen)로 분류되어 있다. 남용 형태로는 대마엽을 가열처리하여 종이에 말아 흡연하는 방법(happy smoke)이 주로 사용되며, 대마의 수지를 농축한 흑갈색의 반고체상 수지인 해쉬쉬(hashish)나, 대마엽을 유기 용매로 추출 및 증류한 어두운 갈색 시럽상의 해쉬쉬오일(hashish oil) 등의 대마 추출물로서 남용되기도 한다. 전세계 대부분의 국가에서는 대마엽의 화서 부위를 압착하여 상품화된 마리화나가 남용되고 있는 반면에, 우리나라에서는 대부분의 경우 야산이나 들에서 자생하고 있는 야생 대마의 잎을 채취하여 남용하고 있으며, 일부는 텃밭이나 아파트 베란다 등에서 소규모로 재배하기도 한다. 유엔마약범죄국

(UNODC)에 따르면 마리화나는 전세계적으로 가장 많이 생산 및 소비되는 규제약물(controlled drug)로서, 전 세계적으로 약 1억 5천만명의 인구가 이를 남용하고 있다고 보고한 바 있다.¹⁾ 우리나라에서는 2000년 이후 정부의 외국인 관광객 적극 유치 정책에 따른 통관 절차 간소화 및 외국인 노동자의 국내 체류 증가 등의 영향으로 불법 체류 외국인을 중심으로 마약류 사범이 대폭 증가하였으나, 2005년도 이후로는 법무부에서의 불법 체류자 단속 강화의 영향으로 일부 감소하였다.²⁾

대마를 구성하는 탄소와 질소는 각각 공기 중의 이산화탄소와 토양의 질소 화합물로부터 유래하며, 이들 원소의 안정동위원소 비율은 재배된 지역의 지리적 특성을 반영한다고 알려져 있다.³⁾ 식물의 주된 탄소섭취경로는 Benson-Calvin(C3), Hatch-Slack-Kortschak(C4) 및 Crassulacean Acid Metabolism(CAM) 등의 3종류로 분류될 수 있으며, 대마를 포함한 C3 계열의 식물은 대기 중 이산화탄소를 낮은 $\delta^{13}\text{C}$ (약 -27‰)의 phosphoglycerate로 환원한다. $\delta^{13}\text{C}$ 는 강수량이 증가함에 따라 감소하며, 기후 조건

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-2600-4926 (팩스) 02-2600-4917
(E-mail) ljstrust@nisi.go.kr

에 따라 광역적인 분포를 나타낸다. 반면에, 질소 고정(nitrogen fixation)은 토양 중의 질소 화합물을 통해 이루어지며, 토양 조건에 따라 국지적인 분포를 나타내기 때문에 개별적인 생육 조건의 지표로서 활용될 수 있다. 거름 등의 유기물이 많은 비옥한 토양에서는 $\delta^{15}\text{N}$ 값이 약 5‰, 경우에 따라서는 10‰ 이상의 높은 값을 나타내는 반면, 척박한 토양이나 화학비료를 사용하는 토양에서는 낮은 $\delta^{15}\text{N}$ 값(약 0‰)을 나타낸다.³⁾ 동위원소를 통한 원산지 감별법은 현재 DNA 감별법과 함께 쌀, 꿀 및 우유 등 농축산물의 원산지 감별에 사용되고 있으며,⁴⁾ 인삼 등 생약의 원산지를 추적하거나 재배 환경을 판별하는 데에도 활용될 수 있다.

대마는 품종뿐만 아니라, 재배 조건 및 채취시기에 따라 환각 성분의 함량에 차이가 나타나며, 상품화된 마리화나의 환각 작용은 재배 환경이 열악하며 채취시기가 일정치 않은 국내산 대마에 비해 강력한 것으로 알려져 있다. 대마 중에는 400여종의 화학 성분이 존재하는데, 대마의 환각 작용은 주로 60여종의 칸나비노이드에 기인한다. 이 중 테트라하이드로칸나비놀(tetrahydrocannabinol, THC)은 대마의 주 환각 성분으로서, 이의 함량은 대마 및 대마 추출물의 환각 작용의 강도를 나타내는 주요 지표로서 활용되고 있다.⁵⁾ 실제로, 당 연구소에서 1993년 9월부터 1994년 4월까지 국내에서 압수된 대마 28종에 대한 함량분석을 실시한 결과, 테트라하이드로칸나비놀, 칸나비놀(cannabinol, CBN) 및 칸나비디올(cannabidiol, CBD)의 함량 평균이 각각 0.51%, 0.051% 및 0.0077%로서, THC가 대마의 주 성분임을 확인한 바 있다.⁶⁾ 본 연구에서는 동위원소분석기(IR-MS) 및 가스크로마토그래피-질량분석기(GC-MS)를 이용하여 국내에서 압수된 국산 대마 37종 및 미국에서 유입된 마리화나 10종의 안정동위원소 비율 및 THC 함량을 비교·분석하고, 이를 미약 수사 및 남용 방지를 위한 참고 자료로서 활용하고자 하였다.

실험 방법 및 재료

대마 시료

2005~2006년에 경찰 및 검찰에 의해 압수되어 당 연구소에 의뢰된 대마 중 국산 대마엽 37종과 미국으로부터 유입되어 국내에서 압수된 대마(마리화나) 10종의 화서 및 줄기 부위의 잎을 채취하여 분석에 사용하였다. 각각의 대마엽은 60°C에서 2시간 건조하여 수분을 제거한 다음, 유탄과 유폄으로 미세하게 분쇄하여 균질한 대마 분말로 만들어 실험에 사용하였다.

시약 및 재료

동위원소 분석에 사용된 tin capsule은 EuroVector(Milan, Italy)로부터, THC 및 THC-D₃ 표준 용액(1 mg/ml in MeOH)은 Cerilliant(Round Rock, Texas, USA), N,O-bis(trimethylsilyl)

trifluoroacetamide(BSTFA)는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. 기타 유기 용매는 EP급을 사용하였다.

동위원소 분석

탄소와 질소의 동위원소 비율은 EuroEA 원소분석기가 부착된 IsoPrime stable isotope ratio mass(GV instruments, UK)를 사용하여 측정하였다. 대마 분말 약 1mg을 취하여 주석 캡슐에 넣고 압착한 이후, 이를 원소분석기에 주입하여 유기물을 이산화탄소 및 질소로 완전 분해하여 기화하고, GC 칼럼(1.5 m length, packed with 5 Å molecular sieve)을 통하여 분리한 다음, 질량분석기로 분석하였다. 원소분석기의 산화로 및 환원로의 온도는 각각 1,020°C 및 650°C로, 오븐 온도는 115°C로 설정하였다.

대마 시료의 안정동위원소 비율은 각 원소의 통상적인 표준 물질(탄소의 경우 Pee Dee Belemnite(PDB), 질소의 경우 대기 중 질소)에 대한 각 시료의 동위원소 비율로서 아래의 식에 의하여 산출하였으며, 통계분석에는 SPSS 12.0(SPSS Inc.)을 사용하였다.

$$\delta X_{\text{sample}} = (R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}} - 1) \times 1,000,$$

$$R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C} \text{ 또는 } {}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}.$$

THC 함량 분석

기기 조건 - THC 함량 분석에는 Hewlett-Packard HP7683 automatic sampler 및 HP6890N gas chromatograph가 장착된 HP5973 mass selective detector(MSD)를 사용하였으며, GC용 칼럼은 HP-5MS capillary column(30 m length×0.25 mm diameter, 0.25 μm film thickness)을 사용하였다. 이동상으로는 초고순도 헬륨을 사용하였고, 유속은 분당 1mL로 설정하였다. 오븐 온도는 200°C에서 1분간 머무르고, 290°C까지 분당 20°C씩 올렸으며, 290°C에서 5분간 머무르도록 프로그래밍 하였다. 주입부 및 연결부 온도는 각각 250°C 및 290°C로 설정하였다. Mass mode는 selected ion monitoring(SIM) mode를 사용하였고, THC 및 THC-D₃의 TMS 유도체의 정량 이온은 각각 m/z=386 및 389로 설정하였다. 정량 이온들은 각각의 분석 물질에 대하여 선택적으로서, 상호 간섭은 발견되지 않았다(Fig. 1).

시료 조제 및 THC 함량 분석 - 대마 분말 10 mg을 취하여 유리 바이알에 넣고, 에탄올 10 mL를 넣어 2시간 동안 초음파 추출하였다. 추출액 100 μL를 시험관에 넣고, 각 시험관에 내부표준물질로서 THC-D₃(10 mg/l in EtOH) 100 μL를 넣은 다음, 질소농축하여 용매를 제거하였다. 잔사에 EtOAc 및 BSTFA 각 30 μL씩을 가하고 시험관을 밀봉하여 90°C에서 20분간 유도체화시킨 다음, 상온에 방치하여 냉각하였다(Fig. 2). 냉각 후, 유도체화한 시료 1 μL를 GC-MS에 주입하여 얻은 THC 및 THC-D₃ 피

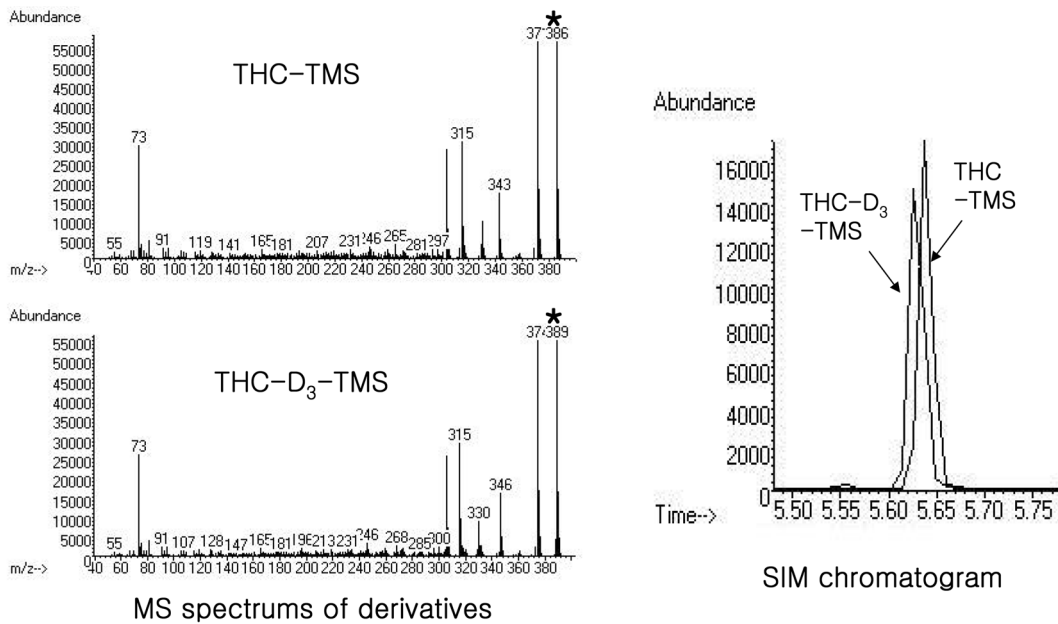


Fig. 1 – Mass spectra & SIM chromatograms of THC-TMS and THC-D₃-TMS. *, Selected ions.

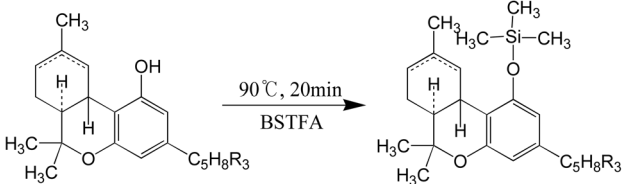


Fig. 2 – TMS derivatization of THC and internal standard (THC-D₃). R=H; THC, R=D; THC-D₃.

크의 면적비를 검량선에 대입하여 THC의 백분율 함량을 구하였다.

표준 검량선 작성 – THC(10 mg/l) 0, 30, 60, 100, 200, 400 μl를 각각 시험관에 넣고, 각 시험관에 내부표준물질로서 THC-D₃ (10 mg/l in EtOH) 100 μl를 넣은 다음, 질소 기류를 써서 용매를 제거하였으며, TMS 유도체화 및 GC-MS 분석은 대마 시료와 동일하게 실시하였다. 이로부터 얻어진 표준 검량선은 양호한 직선성(R²>0.999)을 나타내었다.

실험 결과 및 고찰

최근 미국에서 압수되는 상품화된 마리화나의 THC 함량은 대부분 4~6% 정도라고 하며,⁷⁾ 그리스에서 압수된 18 종의 마리화나에서는 THC의 함량이 0.24~4.41%(평균 2.00%) 정도가 검출되었다고 보고된 바 있다.⁸⁾ 한국산 대마에 대한 분석 결과 THC의 평균 함량은 1.47%로서, 미국으로부터 유입된 마리화나 10종의 THC 함량 평균인 2.23%에 비해서 낮게 나타났다(Table I). 이는 품종의 차이뿐만 아니라, 국내산 대마가 주로 야산 등지에서 야생하거나 텃밭에서 소규모로 재배되는 등 재배 환경이 열

Table I – THC contents of Korean cannabis and marijuana from USA

Identity (n)	THC contents (%)	Average (%)
Korean Cannabis (37)	0.11~4.34	1.47
Marijuana from USA (10)	0.40~3.12	2.23

*"n" indicates the numbers of cannabis samples.

악하며, 채취시기가 일정치 않기 때문으로 추정된다. 또한, 한국산 대마의 THC 함량은 0.11~4.34%로 비교적 큰 편차를 나타냈는데, 이 또한 생육조건과 채취시기가 다양한 국산 대마의 특성을 반영하고 있다.

Shibuya 등의 연구에 따르면,^{3,9)} 브라질의 건조 지역 2곳에서 채배된 마리화나의 δ¹³C 값은 평균 -26.53‰ 및 -26.03‰의 높은 수치를 나타내었고, 강수량이 풍부한 지역 2곳에서는 평균 -29.21‰ 및 -30.32‰로 비교적 낮게 나타났으며, δ¹⁵N 값은 건조 지역에서는 평균 1.04‰ 및 1.99‰, 강수량이 많은 지역에서는 평균 5.00 및 6.78의 분포를 나타내었다고 보고하였다. 국내에서 압수된 대마엽 43종의 δ¹³C 값은 -33.29~-27.01‰(평균 -31.01‰)로 다소 낮게 나타났다. 이는 연간 강수량이 1,000mm 이상으로 비교적 많은 편이며, 특히 식물의 성장이 가장 활발한 여름에 집중되어 있는 한국 기후의 특성을 반영하고 있다. 한국 토양에서의 질소 근원 물질의 질소 동위원소 비율을 조사한 연구 결과, 합성 비료의 δ¹⁵N 값은 -3.9~0.5‰, 퇴비는 9.6~45.2‰ 범위로 나타났다고 보고된 바 있다.¹⁰⁾ 국내에서 압수된 대마의 δ¹⁵N 값은 -0.5~18.0‰(평균 6.44‰)로서, 마리화나에 비해 다소 높게 나타났다. 이는 국내산 대마가 주로 낙엽 등 유기 퇴적물이 많은 야산 등지에서 야생하거나, 퇴비 등의 유기 비

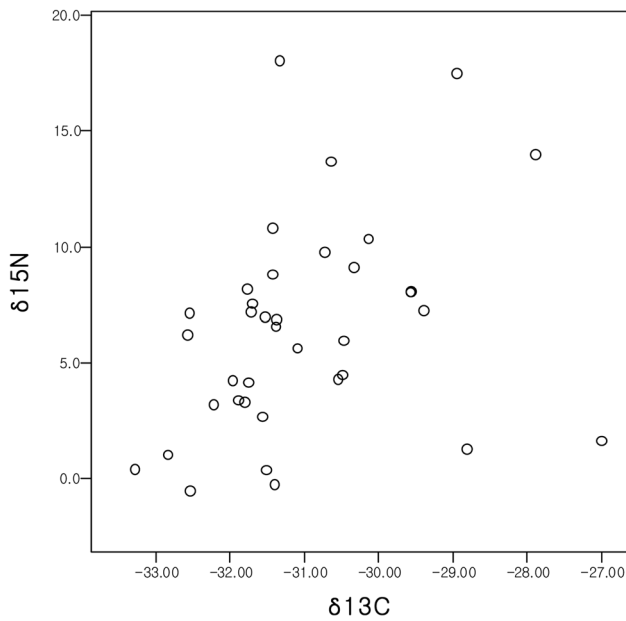


Fig. 3 - Isotopic composition of Korean cannabis.

료를 주로 사용하는 비옥한 텃밭에서 재배되는 경우가 많기 때문인 것으로 추정된다. 특히, 국산 대마의 경우 $\delta^{13}\text{C}$ 와 $\delta^{15}\text{N}$ 값 간의 Pearson 상관계수가 0.33으로서 0.05 수준에서 유의한 양의 상관관계를 나타내었다(Fig. 3). 이는 국산 대마의 재배환경에서 기후 및 용수성(water availability)과 토양의 유기물 함량 간에 밀접한 관련이 있으며, 상대적으로 좁은 영역에서 계절에 따라 다양한 기후를 나타내는 한국의 지리적 특성이 야생 대마의 생육 조건에 영향을 미쳤음을 의미한다. 즉, 낙엽 등으로 인해 토양 중 유기 퇴적물이 증가하여 강수량이 극히 감소하는 늦가을부터 봄 사이에 채취된 대마의 경우 높은 $\delta^{13}\text{C}$ 와 $\delta^{15}\text{N}$ 값을 나타낼 수 있다. 반면에, 강수량이 풍부하고 식물의 생육이 활성화 되어 토양 중 유기 퇴적물의 함량이 감소하는 여름 이후 채취된 대마는 낮은 $\delta^{13}\text{C}$ 와 $\delta^{15}\text{N}$ 값을 나타낼 것으로 추정할 수 있다. 불법적으로 은밀하게 유통되는 대마의 특성상 채취시기가 불명확하여 이를 실제로 확인할 수 없었으나, 본 연구 결과는 대마엽의 $\delta^{13}\text{C}$ 와 $\delta^{15}\text{N}$ 값을 통해 재배 지역의 지리적 특성뿐만 아니라 재배 환경과 채취 시기를 추정할 수 있음을 시사하고 있다.

결론

안정동위원소 비율 분석 결과, 한국산 대마엽의 $\delta^{13}\text{C}$ 및 $\delta^{15}\text{N}$ 값은 각각 $-33.29 \sim -27.01\text{‰}$ (mean = -31.01‰) 및 $-0.5 \sim 18.0\text{‰}$ (mean = 6.44‰)로서 외국산 대마(마리화나)에 비해 상대적으로

낮은 $\delta^{13}\text{C}$ 와 높은 $\delta^{15}\text{N}$ 값을 나타내었으며, 한국산 대마의 THC 함량은 0.11~4.34%(평균 1.47%)로서, 미국으로부터 수입된 마리화나의 0.40~3.12%(평균 2.23%)에 비해 낮게 나타났다. 안정 동위원소 비율 분석 결과는 국내에서 대마가 재배되거나 자연 생장하는 지리환경적 특성을 잘 반영하고 있으나, THC의 함량이 비교적 낮고 그 변동범위가 넓은 것은 은밀한 재배 상황 및 불특정한 채취시기 때문인 것으로 추정된다. 이와 같은 대마 압수품의 재배 환경과 지리적 특성에 대한 정보가 마약 규제 단계에서 적절하게 활용될 경우, 대마의 확산 및 남용 방지에 간접적으로 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

문헌

- 1) Office on Drugs and Crime (UNODC), *Global Illicit Drugs Trends 2003*, United Nations Publications, New York (2003).
- 2) *White Paper on Narcotic Crimes*, published by Supreme Prosecutors' Office of the republic of Korea 126 (2005).
- 3) Shibuya, E. K., Sarkis, J. E. S., Neto, O. N., Moreira, M. Z. and Victoria, R. L. : Sourcing Brazilian marijuana by applying IRMS analysis to seized samples. *Forensic Sci. Int.* **160**(1), 35 (2006).
- 4) Jeong, J. I., Min, S. S. and Park, Y. S. : The study on the purity estimate of food make use of isotope ratio mass - a Genus of honey. *Annual Report of N.I.S.I.* **39**, 233 (2007).
- 5) Ameri, A. : The effects of cannabinoids on the brain. *Progress in Neurobiology* **58**(4), 315 (1999).
- 6) Koo, K. S., Lim, M. A., Rhee, J. S., Jee, H. G., Kim, J. G., Park, S. Y. and Sung, E. Y. : Analysis of cannabinoids in cannabis evidences abused in Korea. *Annual Report of N.I.S.I.* **27**, 228 (1995).
- 7) *Drugs of Abuse*. Produced and published by drug enforcement administration 48 (2005).
- 8) Stefanidou, M., Dona, A., Athanaselis, S., Papoutsis, I. and Koutselinis, A. L. : The cannabinoid content of marijuana samples seized in Greece and its forensic application. *Forensic Sci. Int.* **95**(2), 153 (1998).
- 9) Shibuya, E. K., Sarkis, J. E. S., Neto, O. N. and Martinelli, L. A. : Carbon and nitrogen stable isotopes as indicative of geographical origin of marijuana samples seized in the city of São Paulo (Brazil). *Forensic Sci. Int.* **167**(1), 8 (2007).
- 10) Choi, W. J., Han, G. H., Lee, S. M., Lee, G. T., Yoon, K. S., Choi, S. M. and Ro, H. M. : Impact of land-use types on nitrate concentration and $\delta^{15}\text{N}$ in unconfined groundwater in rural area of Korea. *Agr. Ecosyst. Environ.* **120**(2-4), 259 (2007).