

5-Hydroxyindole-3-acetic acid와 5-hydroxytryptophol 을 이용한 혈액 및 뇨에서 음주여부 확인에 관한 연구

김명덕★ · 김영운 · 권오성 · 박세연 · 김은호

국립과학수사연구소

(2007. 4. 5. 접수. 2007. 5. 28. 승인)

Study on the confirmation of drinking at the bloods & urines used 5-hydroxyindole-3-acetic acid and 5-hydroxytryptophol

Myung-Duck Kim★, Young-Woon Kim, O-Sung Kwon, Se-Youn Park and Eun-Ho Kim

National Institute of Scientific Investigation, Seoul 158-707, Korea

(Received April 5, 2007; Accepted May 28, 2007)

요 약: 사망사건 중 부패된 생체시료(혈액, 뇨 등)에서 음주여부를 판단하고자 할 때 부패된 사체의 경우 glucose를 비롯한 생체물질들이 미생물에 의하여 alcohol로 대사전환 될 수 있으므로 검출되는 ethanol의 전체 농도를 사망 전의 음주량으로 판단할 수 없다. 따라서 본 실험에서는 감정 의뢰된 사체의 혈액과 뇨를 임의로 선택하여 ethanol의 농도 및 n-propanol의 농도를 측정하여 상대적인 생성 비를 비교하여 보았으며, 5-hydroxytryptophol(5-HTOL)/5-hydroxyindole-3-acetic acid(5-HIAA)의 비를 이용한 음주여부의 판별법을 확립하기 위해서 5-HIAA 및 5-HTOL의 농도 측정법을 확립하였다. 혈액에서 검출되는 ethanol과 n-propanol의 상대적 농도비는 뇨에서 ethanol이 검출되지 않은 시료를 기준으로 할 경우, 약 11~20:1의 농도비를 나타낸다. 음주를 한 것으로 판단되는 뇨의 경우 5-HTOL/5-HIAA의 비율은 1 이상으로 나타났다. 음주를 하지 않은 것으로 판단되는 뇨의 경우 5-HTOL/5-HIAA의 비율이 1 미만으로 측정되어, 혈액검사와는 달리 5-HTOL/5-HIAA의 비율이 1 이상인 경우 음주를 한 것으로 간주할 수 있었다.

Abstract: The study was carried out to investigate the ratio of ethanol to n-propanol in blood and urine specimens, and developed a method for distinguishing ingested ethanol from artifactual ethanol in urine samples. In case of no urinary ethanol was detected, the ratio of ethanol to n-propanol concentration was about 12~20 times higher than those of blood. Therefore, it might be a good method to determine whether the detected ethanol is from drinking or from microbial fermentation. During the metabolism of ethanol, the levels of the metabolite of serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) and 5-hydroxyindole-3-acetic acid (5-HIAA) were decreased, while 5-hydroxytryptophol (5-HTOL) was increased. The levels of 5-HTOL/5-HIAA in urine samples of drinking suspects were greater than 1, in that of no drinking suspects were less than 1.

Key words : n-propanol, serotonin, 5-HIAA, 5-HTOL

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)51-403-6663 Fax : +82-(0)51-403-6616

E-mail: mdkim99@nisi.go.kr

1. 서 론

교통사고, 폭행, 상해 및 살인 등 여러 가지 사건들에서 음주와 관련된 사건의 원인을 규명하는데 있어 음주 여부 및 음주량을 신속, 정확하게 감정하는 것은 법적 책임의 유무의 판별은 법과학 분야에 있어서는 대단히 중요한 항목으로 인식되어지고 있다. 체내 alcohol의 대표적인 정량법으로는 Widmark 확산법,¹ 호기법으로 증크롬산칼륨을 이용한 검지관법,² 효소 및 반도체 소자 이용법,³ 적외선 분석법 등이 있으며, 최근에는 alcohol에 대하여 정확성과 재현성이 우수한 기체크로마토그래프법(GC)이 널리 활용⁴되어지고 있다. 그러나 부패된 사체의 경우 글루코스 및 시료내부에 존재하는 물질들이 미생물에 의하여 alcohol로 대사 전환 될 수 있으므로 검출되는 ethanol의 전체 농도를 사망 전의 음주량으로 판단할 수 없으므로 보완적인 방법을 통하여 사망 전의 음주량을 추정해야 한다. 사체, 혈액 및 뇨 등의 시료가 부패된 경우 온도 및 사후 경과시간 등에 따라 차이는 있으나 methanol, ethanol, n-propanol, butanol 등의 불규칙한 대사산물들이 생성되며, Wenning 등은 사후 부패 시 생성되는 ethanol과 n-propanol의 생성 농도비가 대략 20:1로 보고 한 바 있다.^{5,6} 국립과학수사연구소의 연보⁷에 의하면 부패된 비장조직에서 사후 생성된 것으로 추정되는 ethanol과 n-propanol의 상대적인 비를 검토한 바 있으나 음주량, 경과시간 및 개인차 등에 따라 크게 달라지므로 일정한 비율로는 생성되지 않았다.

따라서 ethanol이 간에서 산화될 때, 간장이나 다른 기관에서 ethanol의 영향으로 인하여 serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT)의 대사과정을 이용하는 방법이 있다(Fig. 1). 신경전달물질인 5-HT는 산화될 때 중간체인 5-hydroxyindole-3-acetaldehyde가 aldehyde dehydrogenase에 의해 산화되어 5-hydroxyindole-3-acetic acid (5-HIAA)로 되거나 aldehyde reductase 또는 alcohol dehydrogenase에 의해 환원되어 5-hydroxytryptophol (5-HTOL)^{8,9}로 대사되는데, 음주에 의해 ethanol이 체내에 분포할 경우에는 5-HT의 대사체 중에서 5-HIAA는 감소하고 5-HTOL은 현저하게 증가된다고 보고되어 있다.¹⁰ 그러나 사후에 생성된 ethanol은 5-HTOL/5-HIAA의 생성비에 전혀 영향을 주지 않는 것으로 보고되어 있다.^{11,12}

또한 5-HTOL과 5-HIAA는 뇨에서 비교적 안정한 물질로서, 증가된 5-HTOL/5-HIAA의 비율은 ethanol이 검출되지 않는 시점으로부터 몇 시간 경과 후에도

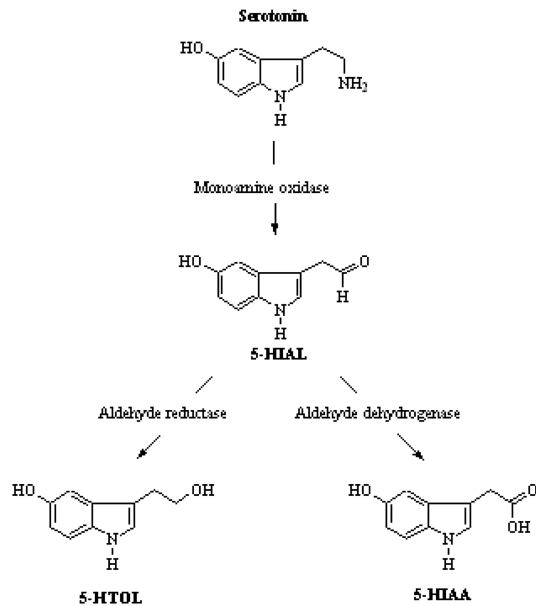


Fig. 1. The metabolism of serotonin.

정상치의 비율로 떨어지지 않는다고 보고되어 있다¹³. 결과적으로 뇨에서 검출되는 5-HTOL/5-HIAA의 비율을 검토함으로써 혈액이나 뇨 등에서 검출되는 ethanol이 음주에 의한 것인지 혹은 사후에 ethanol을 생성시키는 미생물의 오염에 의한 것인지를 추정할 수 있을 것으로 판단된다.

따라서 본 실험에서는 감정 의뢰된 사체의 혈액과 뇨를 임의로 선택하여 GC를 이용해서 ethanol의 농도 및 n-propanol의 농도를 측정하여 상대적인 생성 비를 비교하여 보았으며, 5-HTOL/5-HIAA의 비를 이용한 음주여부의 판별법을 확립하기 위해서 고속액체크로마토그래피(HPLC)를 이용한 5-HIAA의 농도 및 기체 크로마토그래피/질량분석기(GC/MS)를 이용한 5-HTOL의 농도 측정법을 확립하고, 이를 이용하여 실제 뇨에서 5-HTOL/5-HIAA의 비의 변화를 관찰하였다.

2. 실험

2.1. Ethanol 및 n-propanol 분석을 위한 실험

2.1.1. 시 약

Ethanol, n-propanol 및 tert-butanol 등의 시약은 Sigma사(도시명, 국가명) 특급을 사용하였다.

2.1.2. 시 료

사체의 혈액 및 뇨를 각각 20개씩 채취하여 시료로

Table 1. GC conditions for analysis of ethanol and n-propanol

Description	Condition
Agitator temp.	65°C
Incubation time	3 min
Column	INNOWAX capillary 30 m×0.25 mm×0.5 μm ^l
Detector	FID
Injector temp.	210°C
Detector temp.	230°C
Oven temp.	50°C
Column flow	19 psi(constant flow is off mode)

사용하였고 실험 수행 전까지 -20°C의 냉동고에 보관하여 사용하였다.

2.1.3. 기 기

GC는 미국 Agilent사 6890 Gas Chromatograph를 사용하였고, GC의 측정조건은 Table 1과 같으며, 기타 사용된 기기로는 미국 Agilent사의 autosampler를 사용하였다.

2.1.4. 표준용액 및 내부표준용액(IS)의 조제

Ethanol을 0.02%~0.40%에 걸쳐 단계적으로 제조되어 인증된 Accu사 제품을 사용하였으며, 내부표준용액은 0.05%의 tert-butanol 용액을 사용하였다.

2.1.5. 실험방법

혈액 또는 뇨 200 μL를 10 mL vial에 취하고, 내부표준물질인 0.05 % tert-butanol 100 μL 및 NaCl 포화용액 200 μL를 가한 후 65°C에서 3분간 가온한 다음 생성된 기체를 autosampler를 이용하여 GC에 주입하였다. 시료 시험에 앞서 표준용액 6개(Quality Control: Accu 0.02 %, 0.05 %, 0.10 %, 0.2 %, 0.30 % 및 0.4 %)를 이용하여 검량선을 작성하였으며, 이때 검량선은 양호한 직선성($R^2=0.9999$)을 나타내었다. n-propanol에 대한 실험도 이에 준하였다.

2.2. 5-HIAA 분석을 위한 실험

2.2.1. 시 약

5-HIAA, EDTA · disodium salt, trichloroacetic acid 및 triethylamine은 Sigma사 특급시약을 사용하였고, acetonitrile은 HPLC용을, 물(H₂O)은 3차 증류수를 사용

Table 2. HPLC conditions for analysis of 5-HIAA

HPLC	Class-LC 10A
Column	Zorbax C ₁₈ (4.6×7 250 mm, 5 μm) A : B = 91 : 9 (v/v) A : 50 mmol/L trichloroacetic acid, 1.7 mmol/L EDTA · 2Na, and 7 mL/L triethylamine (pH 3.0) B: acetonitrile
Mobile phase	L-ECD 6A electrochemical detector using glassy carbon working electrode.
Detector	+840 mV vs. Ag/AgCl
Applied potential	1.0 mL/min
Flow rate	

하였다.

2.2.2. 시 료

Ethanol과 n-propanol의 검출시험에 실시한 뇨를 시료로 사용하였다.

2.2.3. 기 기

원심분리기(한일), Sonicator (Branson), HPLC는 일본 Shimadzu사의 electrochemical detector (ECD)가 연결된 Class-LC 10A를 사용하였으며, 펌프는 vacuum manifold system을 사용하였다. HPLC의 측정조건은 Table 2와 같다.

2.2.4. 표준용액 및 내부표준용액(IS)의 조제

3차 증류수로 제조된 5 mmol/L의 stock solution을 -20°C로 냉동 보관하고, 실험 당일 이동상으로서 단계적으로 희석하여 1 μmol/L~80 μmol/L에 걸쳐 7개의 표준용액을 조제하여 사용하였으며, 내부표준용액은 1 μmol/L의 dopamine 용액을 사용하였다.

2.2.5. 실험방법

뇨를 상온에서 녹인 후, 약 1 mL를 micro sample tube에 취하고 고체 이물질을 제거하기 위하여 약 10 분 동안 원심분리(4,000회/분)를 실시한 후 상층액 20 μL를 HPLC의 injector에 주입하였다. 시료의 분석에 앞서 5-HIAA 표준용액 7개(Quality Control: 1 μmol/L, 5 μmol/L, 10 μmol/L, 20 μmol/L, 30 μmol/L, 50 μmol/L, 80 μmol/L)를 이용하여 검량선을 작성하였으며, 이때 검량선은 양호한 직선성($R^2=0.9992$)을 나타내었다.

Table 3. GC/MS conditions for analysis of 5-HTOL

GC/MS	HP 6890/5973MSD
Column	DB-5(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)
Carrier gas(flow rate)	0.5 μL/min
Column head pressure	11.1 psi
Injection mode Split	(20:1)
Temp. information	
Injector temp.	270°C
Oven max. temp.	300°C
Injection volumn	0.5 L
Acq. mode	SIM

2.3. 5-HTOL 분석을 위한 실험

2.3.1. 시 약

5-hydroxytryptophol(5-HTOL), pentafluoropropionic anhydride 및 benzyl alcohol은 Sigma사 특급시약을 사용하였다.

2.3.2. 시 료

5-HIAA의 검출시험에 실시한 뇨를 시료로 사용하였다.

2.3.3. 기 기

GC/MS는 미국 Agilent사의 6890 GC가 장착된 5973 Mass-Selective Detector를 사용하였다.

GC/MS의 측정조건은 column은 DB-5(30 m, 0.25 mm, 0.25 μm)를 사용하였다. 분리를 위한 column의 초기온도는 40°C였고, 5분동안 머무른 후에 10°C/min의 승온 조건으로 280°C까지 승온시켜 20분을 머무르게 하였으며, 이동상 기체로는 He 기체를 사용하였고, 그때의 유속은 0.5 mL/min이었다. 시료는 20:1의 분할모드에서 0.5 μL가 주입되었으며, injector의 온도는

270°C, oven의 maximum 온도는 300°C이었고, detector의 solvent delay는 2분을 부여하였다(Table 3). 질량분석기의 이온화 방법은 선택적 이온검출법(selected ion monitoring, SIM)이었고, 선택한 이온으로는 146, 177, 117, 207, 44 이온을 선택하였다.

2.3.4. 표준용액 및 내부표준용액(IS)의 조제

5-HTOL 100 μmol/L의 stock solution을 ethyl acetate에 용해시켜 조제하여 -20°C로 냉동 보관하고, 실험 당일 ethyl acetate로 단계적으로 희석하여 10 μmol/L~50 μmol/L에 걸쳐 5개의 표준용액을 조제하여 사용하였으며, 내부표준용액은 20 μmol/L benzyl alcohol 용액을 제조하여 사용하였다.

2.3.5. 실험방법

5-HIAA의 검출시험과 같은 실험방법으로 이물질을 제거한 후, 상층액을 추출용매인 ethyl acetate로 추출하여 농축한 다음 pentafluoropropionic anhydride 50 μL 및 ethyl acetate 50 μL를 가하여 80°C에서 10분간 반응시켜 유도체화 한 후 0.5 μL를 GC/MS의 injector에 주입하였다. 시료 시험에 앞서 5-HTOL 표준용액 4개(Quality Control: 10 μmol/L, 20 μmol/L, 30 μmol/L, 40 μmol/L 및 50 μmol/L)를 시료와 같은 방법을 이용해서 SIM mode를 활용하여 검량선을 작성하였으며, 이때 검량선은 비교적 양호한 직선성($R^2=0.9904$)을 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 사체의 혈액과 뇨에서 검출되는 ethanol과 n-propanol의 농도를 이용한 사후 생성된 ethanol의 농도 추정

Tert-butanol(IS), ethanol 및 n-propanol의 머무름 시간은 각각 2.00분, 2.18분, 및 2.81분이었으며(Fig. 2),

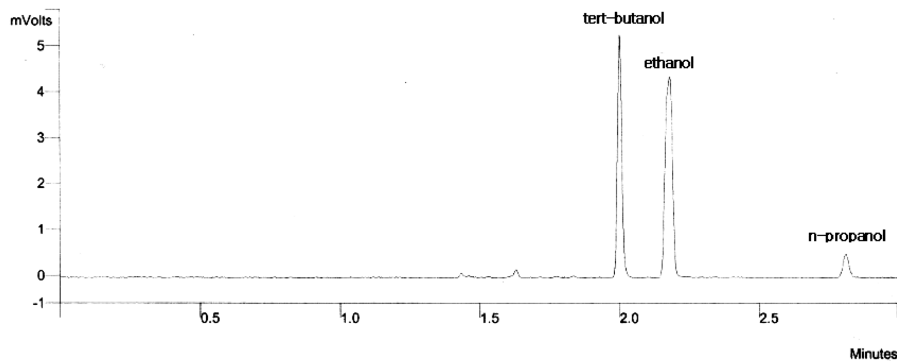


Fig. 2. GC chromatogram of tert-butanol (2.00 min) & ethanol (2.18 min) and n-propanol.

Table 4. The concentration of ethanol and n-propanol in blood and urine specimens, and urinary concentrations of 5-HIAA

NO. of SA	ethanol(%) / n-propanol(ppm)		5-HIAA in urine ($\mu\text{mol/L}$)
	levels in blood specimens (ratio)	levels in urine specimens (ratio)	
1	0.02/7.5(= 20)	0.03/36.3(= 8)	12.0
2	0.22/111.2(= 20)	0.21/11.4(= 182)	7.4
3	0.03/15.2(= 16)	0.01/11.1(= 7)	11.3
4	0.01/6.7(= 12)	0.01/0.0	33.0
5	0.19/19.6(= 97)	0.21/36.5(= 57)	9.7
6	0.01/6.8(= 10)	0.03/16.0(= 17)	30.2
7	0.02/8.4(= 17)	0.01/7.0(= 10)	18.9
8	0.05/17.2(= 30)	0.28/8.3(= 334)	13.7
9	0.01/9.5(= 5)	0.01/0.0	48.3
10	0.03/6.2(= 50)	0.01/0.0	10.0
11	0.01/7.9(= 14)	0.30/20.0(= 151)	19.0
12	0.06/49.5(= 13)	0.02/18.3(= 13)	13.5
13	0.01/7.8(= 9)	0.01/0.0	41.3
14	0.01/0.0	0.01/17.0(= 3)	59.0
15	0.01/8.4(= 10)	0.01/7.8(= 12)	26.7
16	0.01/7.7(= 7)	0.01/15.7(= 5)	28.8
17	0.01/7.6(= 7)	0.01/20.6(= 3)	22.3
18	0.14/41.1(= 34)	0.16/109.4(= 15)	11.2
19	0.01/6.6(= 8)	0.01/0.0	34.2
20	0.03/22.2(= 11)	0.05/12.9(= 36)	10.5

ethanol과 n-propanol의 농도 및 비는 Table 4에 나타내었다. 일반적으로 음주 시 ethanol은 음주량의 5%미만이 대사되지 않은 ethanol의 상태로 배출된다고 알려져 있으나, 이뇨, 다한증, 또는 과한증의 경우에는 대략 10%정도까지 ethanol 자체로 배출되고, 평형상태에 이르렀을 경우 뇨와 혈액에서 검출되는 ethanol의 농도비는 약 1.3:1로 보고⁷되어 있다. 음주를 했을 경우 극미량의 음주량이 아니면, 뇨에서도 ethanol이 검출될 것으로 판단⁸되며, ethanol과 n-propanol의 사후 생성 농도비는 뇨에서 ethanol이 검출되지 않은 시료 또는 뇨에서 보다 혈액에서 많은 양의 ethanol이 검출되는 혈액 및 뇨에서 비교하는 것이 적절할 것으로 판단된다. Table 4에서 보는 바와 같이 시료 3 및 12의 뇨에서는 ethanol이 검출되지 않았으나, 혈액에서는 ethanol이 검출되었으며, ethanol에 대한 n-propanol의 농도비가 각각 약 16 및 13으로 나타났다. 특히 시료 12의 경우에는 혈액과 뇨에서 검출되는 ethanol이 각각 0.06%와 0.02%로서, 검출되는 ethanol은 부패에 의해 생성된 ethanol로 판단되고, 혈액에서 ethanol 대 n-propanol의 상대적 비는 약 13으로 나타났다. 위의 결과는 미생물에 의하여 생성되는 alcohol류에 대하여 ethanol과 n-propanol의 농도비가

약 20:1 이라는 결과와는 약간의 차이를 보였다. 그러나 부패에 의해 ethanol이 생성된 것으로 추정되는 시료들의 경우에는 뇨에서 검출되는 ethanol의 농도가 혈액에서보다 낮은 농도로 검출되고 있는데, 이는 수분을 제외한 물질이 뇨에서는 전체량의 약 2%로서 혈액에서의 약 20%보다 훨씬 적은 양으로서, 미생물에 의해 보다 적은 양의 물질이 ethanol로 전환될 수 있는 것으로 볼 수 있다. 즉, 뇨는 혈액보다도 부패로 인하여 야기될 수 있는 alcohol농도의 변화에 대한 영향을 훨씬 적게 받는다는 것을 의미한다.

3.2. HPLC를 이용한 5-HIAA의 분석

Internal standard인 dopamine 및 5-HIAA의 머무름 시간은 각각 4.86분, 10.68분이었으며, 뇨에서 검출되는 다른 물질들과는 겹치지 않는 상태로 Fig. 3과 같이 양호하게 분리 되었다. 5-HIAA의 검출시험은 내부 표준물질인 dopamine을 사용하여 실시하였고, 5-HIAA를 1 $\mu\text{mol/L}$, 5 $\mu\text{mol/L}$, 10 $\mu\text{mol/L}$, 20 $\mu\text{mol/L}$, 30 $\mu\text{mol/L}$, 50 $\mu\text{mol/L}$, 및 80 $\mu\text{mol/L}$ 농도를 이용하여 HPLC에 의한 검량선을 작성하였으며, R^2 값은 0.9992로 양호한 직선성을 보였다.

뇨에서 5-HIAA의 안정성은 Fig. 4에 나타낸 것과

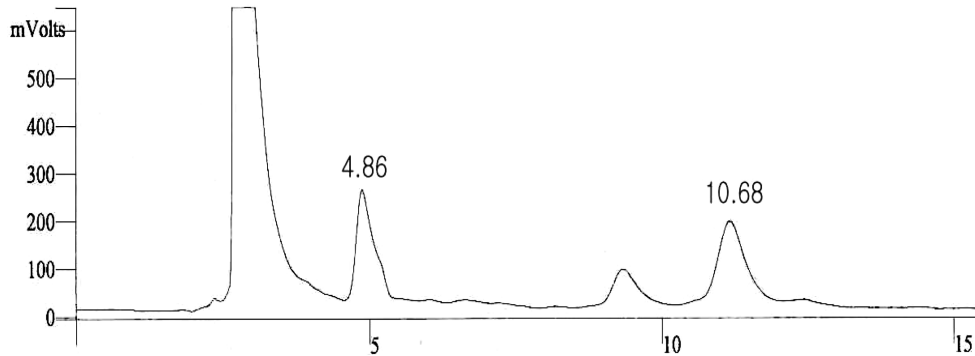


Fig. 3. The HPLC/ECD chromatogram of dopamine (4.86 min) and 5-HIAA (10.68 min) in urine with direct sample injection.

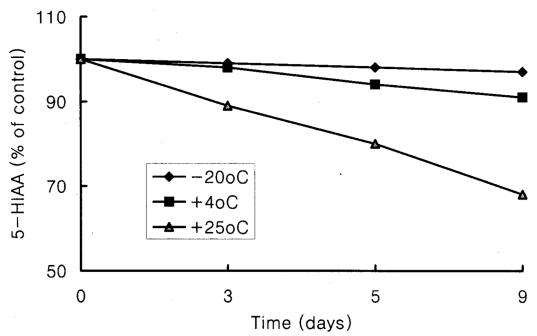


Fig. 4. Stability of 5-HIAA in crude urine samples stored under different conditions.

같이 -20°C에서는 약 9일 정도 경과된 후에도 상당히 안정하게 나타났고, +4°C에서도 약 3일 경과 후에도 5-HIAA의 감소는 적었으며, 25°C에서 보관 했을 경우 시간 경과에 따라 점차 줄어드는 경향을 보였다.

3.3. 뇨에서 검출되는 5-HIAA의 농도와 혈액 및 뇨에서 검출되는 ethanol 농도와의 비교

Table 4에 나타난 바와 같이 혈액 및 뇨에서 ethanol의 양이 적게 검출되는 시료 4, 6, 9, 14 및 19의 경우

비교적 높은 농도의 5-HIAA가 검출되었고, 혈액 또는 뇨에서 ethanol이 많이 검출되는 시료 2, 5 및 18에서는 비교적 낮은 농도의 5-HIAA가 검출되었다. 그리고 시료 12의 경우에는 ethanol이 사후 생성된 것으로 판단되나 경과시간에 의해 5-HIAA가 감소된 것으로 생각된다. 이러한 경향성은 5-HT이 enzyme monoamine oxidase에 의하여 5-hydroxyindole-3-acetaldehyde로 된 후, aldehyde dehydrogenase에 의하여 5-HIAA 또는 alcohol dehydrogenase 또는 aldehyde reductase에 의하여 5-HTOL로 대사되는데, 음주의 경우 5-HT의 대사체인 5-HIAA의 생성이 줄어들고, 동시에 5-HTOL이 증가한다는 결과와 다소 일치하고 있다. 따라서, 음주를 했을 경우 5-HIAA의 양이 줄어들 것을 예상할 수 있으며, 이를 비교함으로써 혈액이나 뇨에서 검출되는 ethanol이 음주에 의한 것인지 또는 부패에 의한 것인지를 어느 정도 예상하는데 기여 하리라 판단된다.

3.4. GC/MS를 이용한 5-HTOL의 분석

내부표준물질인 benzyl alcohol 및 5-HTOL의 GC/MS 측정 결과 머무름 시간이 benzyl alcohol의 경우 11.05분에 나타났고, 표준품인 5-HTOL은 머무름 시간

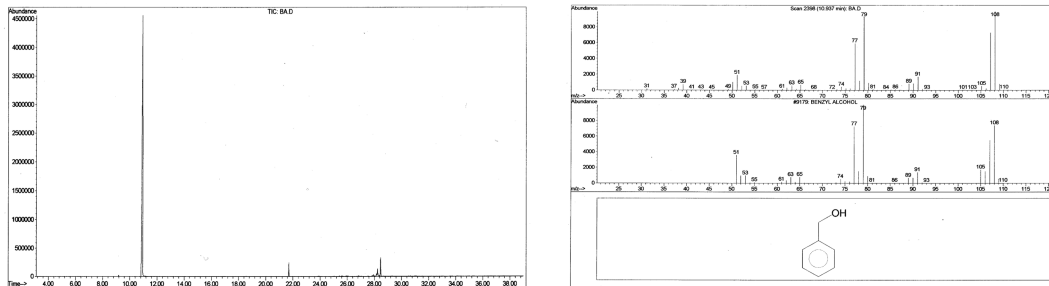


Fig. 5. GC/MS analysis of benzyl alcohol as an internal standard.

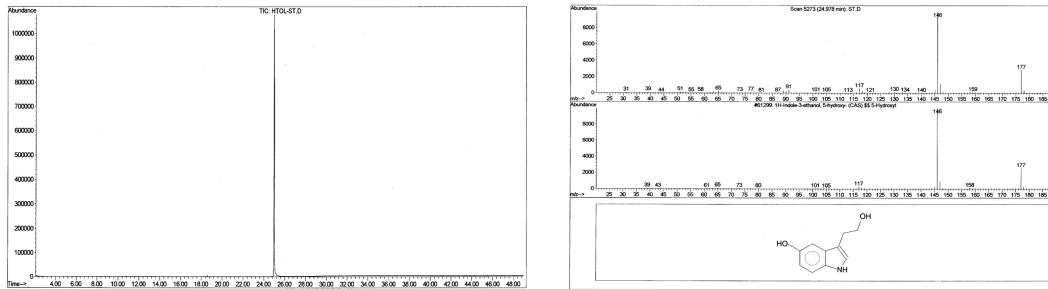


Fig. 6. GC/MS analysis of 5-HTOL.

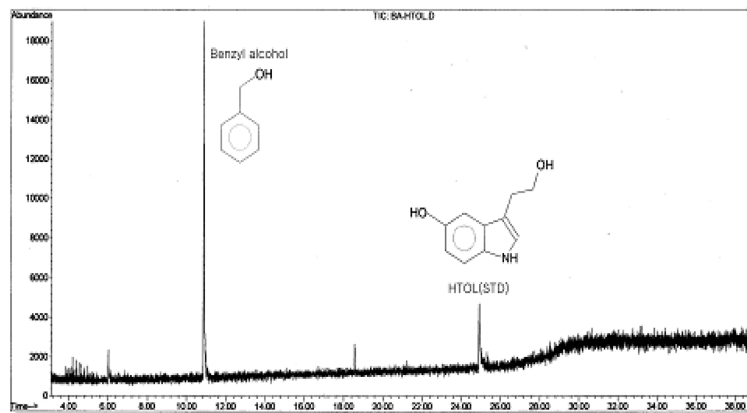


Fig. 7. GC/MS chromatogram of urinary HTOL and benzyl alcohol.

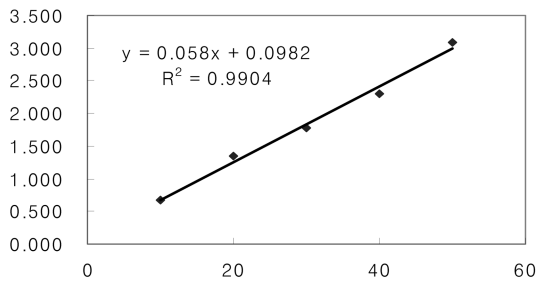


Fig. 8. Calibration curve with standard solutions of 5-HTOL determined by GC/MS.

이 25.02분에 나타났으며, 각각의 chromatogram 및 MS spectrum은 Fig. 5 및 Fig. 6과 같으며, 시료인 뇨에서도 확인할 수 가 있었다(Fig. 7).

5-HTOL의 검출시험은 내부표준물질인 benzyl alcohol을 사용하여 실시하였고, 5-HTOL을 10 $\mu\text{mol/L}$, 20 $\mu\text{mol/L}$, 30 $\mu\text{mol/L}$, 40 $\mu\text{mol/L}$ 및 50 $\mu\text{mol/L}$ 농도를 이용하여 GC/MS의 SIM mode에 의한 검량선을 작성하였으며, R^2 값은 0.9904로 비교적 양호한 직선성을 보였다(Fig. 8).

3.5. 뇨에서 검출되는 5-HTOL과 5-HIAA의 농도와의 상관관계 검토

Table 4에 열거한 시료(뇨)중 10개를 기준으로 실험한 결과 혈액 및 뇨에서 검출되는 ethanol의 농도와 5-HIAA의 농도 및 5-HTOL의 상관관계를 Table 5에 나타냈으며, 혈액 및 뇨에서 ethanol의 양이 적게 검출되는 시료 2, 7, 8 및 10의 경우 비교적 높은 농도의 5-HIAA가 검출된 반면에 5-HTOL의 농도는 낮게 나타났고, 혈액 또는 뇨에서 ethanol이 많이 검출되는 시료 1, 3 및 9에서는 비교적 낮은 농도의 5-HIAA가 검출되었으며, 5-HTOL의 농도는 높게 나타나고 있음을 알 수 있었다. 즉 혈액 및 뇨에서 나타난 ethanol 농도는 5-HTOL의 농도에는 비례하고 5-HIAA의 농도와는 반비례하고 있다는 것을 다소 알 수가 있었다.

이러한 경향성은 5-HT이 enzyme monoamine oxidase에 의하여 5-hydroxyindole-3-acetaldehyde로 된 후, aldehyde dehydrogenase에 의하여 5-HIAA 또는 alcohol dehydrogenase 또는 aldehyde reductase에 의하여 5-HTOL로 대사되는데, 음주를 한 것으로 추정되는 뇨의 경우 5-HT의 대사체인 5-HIAA의 생성이

Table 5. The concentrations of ethanol in blood and urine specimens, and urinary concentrations of 5-HIAA and 5-HTOL

No. of SA	ethanol(%)/n-propanol(ppm)		5-HIAA in urine ($\mu\text{mol/L}$)	5-HTOL in urine ($\mu\text{mol/L}$)	5-HTOL
	levels in blood(ratio)	levels in urine(ratio)			
1	0.22/111.2(≒ 20)	0.21/11.4(≒ 182)	7.4	32.8	4.4
2	0.01/6.7(≒ 12)	0.01/0.0	33.0	9.1	0.3
3	0.19/19.6(≒ 97)	0.21/36.5(≒ 57)	9.7	30.5	3.1
4	0.01/6.8(≒ 10)	0.03/16.0(≒ 17)	30.2	31.4	1.0
5	0.01/7.9(≒ 14)	0.30/20.0(≒ 151)	19.0	18.2	1.0
6	0.01/7.8(≒ 9)	0.01/0.0	41.3	36.8	0.9
7	0.01/8.4(≒ 10)	0.01/7.8(≒ 12)	26.7	10.2	0.4
8	0.01/7.6(≒ 7)	0.01/20.6(≒ 3)	22.3	8.6	0.4
9	0.14/41.1(≒ 34)	0.16/109.4(≒ 15)	11.2	27.2	2.4
10	0.01/6.6(≒ 8)	0.01/0.0	34.2	13.6	0.4

줄어들고, 동시에 5-HTOL이 증가한다는 결과와 다소 일치하고 있다. 따라서 뇨에서 5-HT의 대사체인 5-HTOL과 5-HIAA를 동시에 분석하여 5-HTOL과 5-HIAA의 상대적인 비를 검토함으로써 앞서 n-propanol과 함께 음주여부를 판단하는데 매우 유용한 결과가 되리라고 생각된다. 그러나 시료 4, 5 및 6의 경우 ethanol 농도에 따른 5-HIAA 및 5-HTOL의 농도 증감 비율이 일관성이 없게 나타나고 있는데, 이는 부패한 생체시료의 경우 음주량, 개인차 및 부패 후 경과시간 등에 기인된 것으로 추정되므로 이들에 대한 보다 정확한 자료를 확보하기 위해서는 지속적으로 많은 시료에 대한 검토가 필요할 것으로 사료된다.

4. 결 론

1. 혈액에서 검출되는 ethanol과 n-propanol의 상대적 농도비는 뇨에서 ethanol이 검출되지 않은 시료를 기준으로 할 경우 문헌에 보고된 바(20:1)와는 약간의 차이가 있는 대략 11~20:1의 농도비를 나타내고 있다는 것을 알 수가 있었으나 이에 대해서는 보다 많은 시료의 검토가 요구된다.

2. HPLC에 의한 5-HIAA의 분석 및 GC/MS에 의한 5-HTOL의 분석에서 분석컬럼, 이동상, 검출방법 및 유속 등의 분석조건을 확립하여 검량선을 작성한 결과 매우 양호한 직선성을 나타내었다(5-HIAA의 $R^2=0.9992$, 5-HTOL의 $R^2=0.9904$).

3. 일반적으로 음주 의심이 있는 뇨에서는 5-HIAA의 농도가 음주를 하지 않은 것으로 판단되는 뇨에서 보다 낮게 나타났고, 5-HTOL의 경우 그 반대로 높게

나타났음을 알 수가 있었다.

4. 음주를 한 것으로 판단되는 뇨의 경우 5-HTOL/5-HIAA의 비율은 1 이상으로 나타났고, 음주를 하지 않은 것으로 판단되는 뇨의 경우 5-HTOL/5-HIAA의 비율이 1 미만으로 나타난 것으로 보아 혈액에서 음주여부를 판단하기 어려울때 뇨에서 5-HTOL/5-HIAA의 비율이 1 이상인 경우 음주를 한 것으로 간주할 수 있었다.

5. 뇨에서 5-HT의 대사체인 5-HTOL과 5-HIAA를 동시에 분석하여 5-HTOL과 5-HIAA의 상대적인 비를 검토함으로써 앞서 n-propanol과 함께 음주여부를 판단하는데 매우 유용한 결과가 되리라고 생각되며, 부패한 생체시료의 경우 음주량, 개인차 및 부패 후 경과시간 등에 따라 다소 차이가 있을 것으로 추정되므로 이에 대한 보다 정확한 자료를 확보하기 위해서는 지속적으로 많은 시료에 대한 검토가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Widmark, "Principles and Applications of Medicolegal Alcohol Determination", *Davis, Cali.* (1981).
2. 유영찬, "법과학", 도서출판 신일상사 (1991).
3. A. W. Culp, "Principle of energy conversion", McGraw-Hill Book, Inc. (1991).
4. (a) J.P. Framke, "Systematic Analysis of Solvents and Other Volatile Substances by GC", *J.O.A.T.*, **12**, 20 (1988); (b) C.J. Naresh, "Direct Blood Injection Method for GC Determination of Alcohols and other Volatile Compounds", *Clinical Chemistry*, **17**, 2 (1971).

5. C. James, Garriott, "Medicolegal Aspects of Alcohol", *Lawyers & Judges Publishing Co.*, third edition (1996).
6. K. M. Dubowski, "Manual for Analysis of Ethanol in Biological Liquids", *U.S. Dept. of Transportation*, **5** (1977).
7. 박성우, 김동욱, "생체시료중에서 Ethylalcohol의 분포에 관한 연구", *국과수 연보*, **25**, 233 (1993).
8. S. Krishnaswamy, Q. Hao, L.L. Von Moltke, D.J. Greenblatt & M.H. Court, "Evaluation of 5-hydroxytryptophol and other endogenous serotonin (5-hydroxytryptamine) analogs as substrates for UDP-glucuronosyltransferase 1A6", *National Library of Medicine*, **32(8)**, 862-869 (2004).
9. Magnus Huss Klinik al., "Studies on 5-hydroxytryptophol and the meta-bolic interaction between serotonin and ethanol", *KAROLINSKA INSTITUTET* (1999).
10. V. E. Davis, H. Brown, J. A. Huff, J. L. Cashaw, "The alteration of serotonin metabolism to 5-hydroxytryptophol by ethanol ingestion in man", *J. Lab. Clin. Med.* **69**, 132 (1967).
11. A. Helander, O. Beck, G. Jacobsson, C. Lowenmo, and T. Wikstrom, "Time course of Ethanol-Induced Changes in Serotonin Metabolism", *Life Sciences*, **53**, 847 (1993).
12. Anders Helander and Lars Boysen, "5-Hydroxytryptophol conjugation in man: influence of alcohol consumption and altered serotonin turnover", *Life Sciences*, **56**, pp1529-1534 (1995).
13. Taisto Sarkola, Helen Dahl, C.J. Peter Eriksson and Anders Helander, "Urinary ethyl glucuronide and 5-hydroxytryptophol levels during repeated ethanol ingestion in healthy human subjects", *Alcohol and Alcoholism*, **38(4)**, pp347-351 (2003).