

기체 크로마토그래피/질소-선택적 검출을 이용한 소변 중 니코틴과 코티닌의 동시 분석

김 희 갑*, 박 미 진

강원대학교 환경과학과

Simultaneous Determination of Urinary Nicotine and Cotinine Using Gas Chromatography/Nitrogen-Selective Detection

Hekap Kim* and Mijin Park

Department of Environmental Science, Kangwon National University, Chunchon
Kangwon-do 200-701, Korea

ABSTRACT

A gas chromatographic method was established for the simultaneous determination of urinary nicotine and cotinine. The analytes in basified urine containing a sufficient amount of Na₂SO₄ were extracted into dichloromethane by vigorous shaking. Into the transferred organic phase was added a small amount of acidified methanol (0.5 N HCl in methanol), followed by concentrating the mixture to dryness using a mild stream of nitrogen gas. The concentrate was reconstituted with methanol and the final solution analyzed using the gas chromatograph equipped with the nitrogen-phosphorus detector. The reproducibility tests showed coefficients of variation less than 11% for both compounds. The percent recovery for both analytes ranged from 88 to 103%. The estimated method detection limits for nicotine and cotinine were 0.60 and 5.1 ng/mL, respectively. Extraction efficiencies for both nicotine and cotinine apparently declined without the addition of Na₂SO₄ into the urine. Moreover, the absence of methanolic HCl in the extract resulted in almost complete evaporation of nicotine and partial loss of cotinine during the concentration process, indicating that the formation of nicotine-HCl and cotinine-HCl species is prerequisite to the suppression of the loss of both compounds.

Key words : Cotinine, GC/NPD, Methanolic HCl, Nicotine, Urine

서 론

흡연은 폐암 및 심혈관 질환과 같은 많은 질병에 대한 병인학(etiology)에 있어서 중요한 인자로 고려되고 있기 때문에, 흡연 상태 및 담배 연기에 대한 노출에 관하여 정확한 정보를 얻는 것은 매우

중요하다고 할 수 있다(Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group, 1982).

흡연 행동에 대한 개인의 기록은 항상 믿을만한 것이 아니다. 따라서, 흡연 행동 및 간접 흡연에 대한 노출의 지표로서 니코틴(nicotine), 코티닌(cotinine), thiocyanate 및 일산화탄소(CO)와 같은 물질들이 고려되어 왔다. 이 중에서 니코틴의 주요 대사산물인 코티닌은 직접 흡연이든지 또는 간접 흡연이든지 담배 연기 흡수에 대해 가장 적

* To whom correspondence should be addressed.

Tel: 033-250-8577, E-mail: kimh@kangwon.ac.kr

합한 지표로 생각되고 있다(Jarvis *et al.*, 1987; Hill *et al.*, 1983; Wald *et al.*, 1984).

니코틴은 담배 식물 뿐만 아니라 일부 식품용 식물(토마토, 감자, 꽃양배추, 차 등)에서도 발견되는 알칼로이드 화합물로서(Davis *et al.*, 1991), 흡연이나 식품 섭취 과정을 통해 인체 내에 유입될 경우 짧은 시간 이내에(반감기 2시간) 주로 코티닌(cotinine)으로 대사되는 것으로 알려져 있다. 이러한 소변 중 코티닌의 농도(크레아티닌의 농도로 보정한 값)가 직접 흡연 및 담배 연기(environmental tobacco smoke: ETS)에 대한 노출의 생체지표(biomarker of exposure)로 널리 이용되는 것은 코티닌이 소변을 통해 비교적 오랜 시간에 걸쳐(반감기 약 20시간) 배설되기 때문인 것으로 알려져 있다(Benowitz, 1996; Benowitz *et al.*, 1983; Grabowski and Bell, 1983). Fig. 1은 니코틴과 코티닌, 그리고 본 연구에서 사용한 내부표준물질인 2-(dimethylamino)pyridine의 화학구조를 보여주고 있다.

혈액이나 소변과 같은 생체시료 중의 니코틴이나(과) 코티닌을 분석하는 데에는 기체 크로마토그래피(gas chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 및 방사능표지 면역검정법(radioimmunoassay, RIA) 등이 이용되고 있다.

이 중에서 기체 크로마토그래프(GC)를 이용한 분석 방법에서는 시료를 염기성 상태로 만든 후에 유기용매(chloroform, dichloromethane 등)로 액-액 추출(liquid-liquid extraction)하고, 감압회전증발기(vacuum rotary evaporator)나 질소 기체로 농축한 후에 모세관 칼럼을 이용하여 분리하고, 선택이온모니터링(selected ion monitoring: SIM) 방식으로 질량분석기(MS) 또는 질소와 인에 고감도로

선택성이 있는 질소-인 검출기(nitrogen-phosphorus detector: NPD)를 이용하였다(Jung *et al.*, 1999; Skarping *et al.*, 1988). 한편, James *et al.*(1998)은 소변 및 혈청 중의 니코틴과 코티닌을 분석하는 과정에서 유기용매를 감압증발시키기 전에 화합물들의 과도한 손실이 있을 것을 예상하여 한 방울의 0.1%의 HCl in methanol을 첨가하기도 하였다. 그렇지만, 연구자가 아는 한 분석시료를 농축하는 과정에서 니코틴과 코티닌의 손실에 대한 구체적인 자료를 제공한 논문은 하나도 발견할 수 없다.

또한, 시료를 농축하는 과정에서 시료 중 니코틴이나 코티닌이 손실될 가능성을 시사하며, 혈액 시료에 대해서 isoamyl alcohol(3-methyl-1-butanol)과 같은 극성 용매를 소량으로 사용하여 액-액 추출한 후에 농축하는 과정 없이 직접 GC에 주입하여 분석하는 방법이 보고되기도 하였다(Verebey *et al.*, 1982).

이 연구는 기존의 액-액 추출 방법을 기초로 하여 소변 중의 니코틴 및 코티닌에 대하여 분석할 때 농축하는 과정에서 니코틴 및 코티닌의 손실 여부를 검토하고, 그러한 손실을 최소화하여 GC/NPD로 분석하는 방법을 확립하고자 실시하였다. 또한, 이 방법을 흡연자 그룹(43명)과 비흡연자 그룹(22명)으로부터 얻은 소변 시료 분석에 적용하여 보았다.

재료 및 방법

1. 시 약

(S)-(-)-Nicotine, (-)-cotinine, 2-(dimethylamino) pyridine (DMAP, 내부표준물질)과 dichloro-

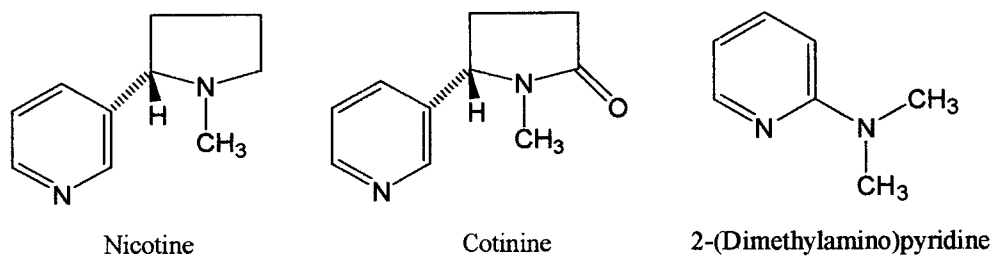


Fig. 1. Chemical structures of nicotine, cotinine, and 2-(dimethylamino)pyridine the internal standard.

methane (DCM)은 Sigma-Aldrich에서, methanol (CH₃OH)은 Fluka Chemie에서 구입하였다. Sodium hydroxide (NaOH), sodium sulfate (Na₂SO₄) 및 hydrochloric acid (37%)는 각각 Duksan Pure Chemical Co., Shinyo Pure Chemicals Co. 및 Osaka Co.에서 구입하였다. 구입한 시약은 더 이상 정제하지 않고 그대로 사용하였다.

2. 표준용액의 제조 및 검량선 작성

1차 표준용액(A)은 5 mL의 부피 플라스크에 니코틴 5 µL (5.05 mg)와 코티닌 34 mg을 넣고 methanol로 표선까지 희석하여 제조하였으며, 이 때 니코틴과 코티닌의 농도는 각각 1.01 및 6.80 mg/mL이었다. 제조한 1차 표준용액을 각각 20 (B1) 및 200 µL (B2)씩 취하여 5 mL의 methanol로 희석하여 2차 표준 용액을 제조하고, 비흡연자의 소변 4 mL가 들어있는 각각의 원심분리관에 B1은 2 및 10 µL를, B2는 3, 6, 10 및 14 µL를 주입 (spike)하여 3절의 분석 방법에 의해 검량선을 작성하였으며, 이 때 니코틴 및 코티닌의 농도 범위는 각각 2.02 ~ 141 ng/mL 및 13.6 ~ 952 ng/mL이었다. 정량을 위하여 사용된 식은 각 농도에 있어서 니코틴 또는 코티닌에 대하여 얻은 GC 크로마토그램의 피크 면적 (A_x)을 내부표준물질에 대한 피크 면적 (A_{is})으로 나눈 값 (A_x/A_{is})과 분석물질의 농도 (Q_x)와의 직선의 회귀식으로부터 구하였다.

3. 분석 방법

소변 시료 중 니코틴과 코티닌에 대한 분석은 아래의 방법에 의하여 실시하였다. 15 mL 용량의 원추형 원심분리관 (Kimble 45166-15)에 소변 4 mL를 넣고 5 N NaOH 용액 1 mL를 가하여 pH를 12.5 정도로 맞추었다. 여기에 4 mL의 dichloromethane (DCM)을 가한 후에 0.315 mg/mL의 농도로 제조된 내부표준물질 (DMAP) 4 µL를 가하였다. Na₂SO₄ 1.2 g을 넣고 1분 동안 격렬하게 vortex mixer를 이용하여 흔들어 준 후에, 두 층의 분리를 위해 3,500 rpm에서 10분 동안 원심분리하였다. 아래에 위치한 DCM층의 대부분은 Pasteur pipette를 사용하여 50 mL 용량의 분액깔때기로 옮기고, 이 중 3.5 mL를 또 다른 원심분리관으로 옮겼다. 여기에 0.1 mL의 0.5 N HCl in methanol 용

액을 첨가하여 잘 섞어 준 후에, 질소 기체로 불어주어 용매를 완전히 제거하고 0.3 mL의 MeOH를 넣어 잘 흔들어 준 후 2 µL를 GC/NPD로 분석하였다.

4. 기기 분석 조건

분석에 사용된 GC는 (주)도남인스트루먼트의 DS6200A 이었고, NPD도 (주)도남인스트루먼트의 제품이었다. 분리를 위하여 사용된 칼럼은 BP-5 (SGE)로 길이는 30 m, 내경이 0.32 mm, 그리고 필름의 두께는 0.25 µm이었다. 주입구와 검출기의 온도는 각각 240°C와 300°C로 유지되었으며, 분석시료는 1:4로 분할주입하였다. 오븐의 온도는 초기에 110°C에서 5분 동안 머무르고, 20°C/min의 경사로 260°C까지 상승시킨 후에 11분 동안 유지하여 각 시료에 대한 분석 시간은 23.5분이었다.

5. 회수율 및 재현성

3절의 분석 방법과 4절의 기기 분석 조건에 따라 여섯 수준의 농도에 대해 각각 세 개씩의 반복 시료를 준비하여 회수율 (recovery)과 재현성 (reproducibility)을 시험하였다. 이미 알고 있는 농도의 표준물질을 비흡연자의 소변에 주입하여 분석 절차에 의해 얻어진 크로마토그램의 면적을 직접 0.3 mL의 methanol에 용해시켜 얻은 크로마토그램의 면적과 비교하여 회수율을 계산하였다. 이 때 각 분석물질에 대한 면적은 소변 바탕 시료 중의 면적에 대하여 보정하였다. 재현성은 각 농도별로 검량선을 이용하여 세 번씩 측정하여 얻어진 값을 변동계수 (percent coefficient of variation, CV)로 계산하여 나타내었다.

6. 추출 효율과 농축에 의한 손실 실험

일반적으로 액-액 추출 방법으로 물 시료로부터 유기화합물을 추출할 때 염석효과 (salting-out effect)에 의해 추출 효율을 증대시키기 위하여 Na₂SO₄나 NaCl과 같은 염을 첨가하는데, 여기에서는 Na₂SO₄의 첨가 여부에 따른 추출 효율을 비교하였다. 내부표준물질로 사용된 2-dimethylaminopyridine을 포함하여 니코틴과 코티닌에 대하여 비교적 낮은 농도 (각각 10.1 및 68.0 ng/mL)와 높

은 농도(각각 60.6 및 408 ng/mL)에 대하여 시험하였다. 이 때 첨가한 염의 양은 1.2 g(소변 4 mL를 포화시키기엔 충분한 양)이었다. 또한, 소변 시료로부터 DCM을 용매로 사용하여 분석물질을 추출한 후 질소 기체로 농축하기 전에 0.1 mL의 0.5 N HCl in CH₃OH 첨가 여부에 따른 세 가지 화합물에 대한 피크의 면적을 비교하여 보았다. 이와 같은 실험은 각각 두 번씩 반복하여 실시하였으며, 그 조합은 염과 HCl을 모두 첨가한 경우, 염은 첨가하지만 HCl은 첨가하지 않은 경우, 그리고 염은 첨가하지 않고 HCl만 첨가하는 경우로 나누어 서로 각 화합물별로 비교하였다. 앞의 실험 결과에 근거하여 염과 HCl 둘 다 첨가하지 않은 경우는 포함시키지 않았다.

7. 흡연자와 비흡연자의 소변 중 니코틴 및 코티닌의 비교

강원대학교에 재학 중인 19~26세의 남녀 대학생 65명(남자 47명, 여자 18명)을 대상으로 아침의 첫 소변을 채취하였다. 각 참여자는 소변 시료 채취 직전부터 지난 24시간 동안 피운 담배의 개수 및 종류(상표), 각 담배 당 피운 평균 길이, 간접 흡연 여부, 그리고 니코틴이 함유되어 있을 가능성이 있는 음식물 및 차의 섭취 여부 등에 대

하여 응답하였다. 소변 시료는 채취 후 2시간 이내에 실험실로 옮겨 48시간 이전에 용매로 추출하여 니코틴 및 코티닌에 대하여 분석하였으며, 분석 전까지는 4°C에서 보관하였다.

또한, 니코틴 및 코티닌의 농도는 소변 중의 크레아티닌의 농도로 나누어 소변의 부피에 대하여 보정하였다. 크레아티닌의 농도는 소변에 NaOH를 첨가하여 염기성 상태로 만들어 준 후에 picric acid와 반응시켜 530 nm의 파장에서 분광광도법(spectrophotometry)으로 측정하였다(Baselt, 1980).

결과 및 토의

1. 검량선

소변 시료 중 하나를 GC/NPD로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Fig. 2에 나타내었다. 내부표준물질, 니코틴 및 코티닌의 머무름 시간은 각각 5.85, 9.43 및 12.65이었으며, 소변 중에 존재하는 다른 화합물들에 의한 방해는 거의 없었다.

니코틴 및 코티닌 각각의 여섯 농도에 대하여 작성한 직선의 검량선을 Fig. 3에 나타내었다. 두 화합물에 대한 결정계수(r^2)는 각각 0.9970 및 0.9998로 비교적 양호한 값을 나타내었고, 여기에

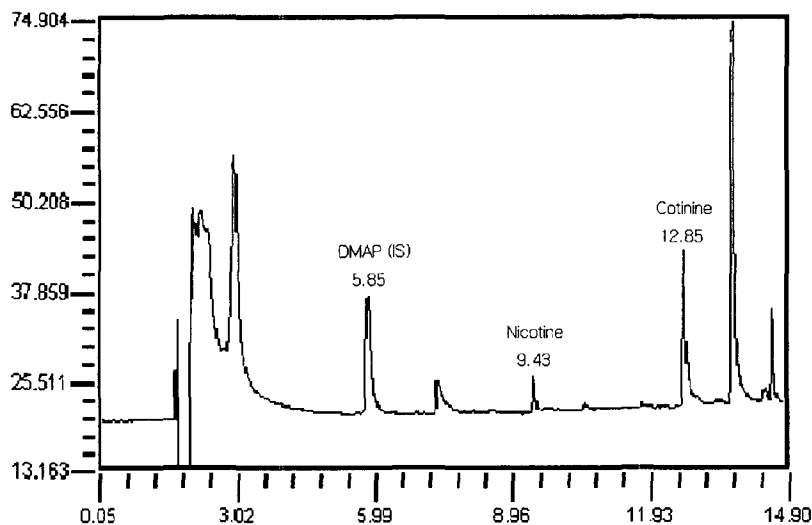


Fig. 2. A chromatogram of the internal standard (IS), nicotine, and cotinine extracted from a smoker's urine sample with 2- μ L injection.

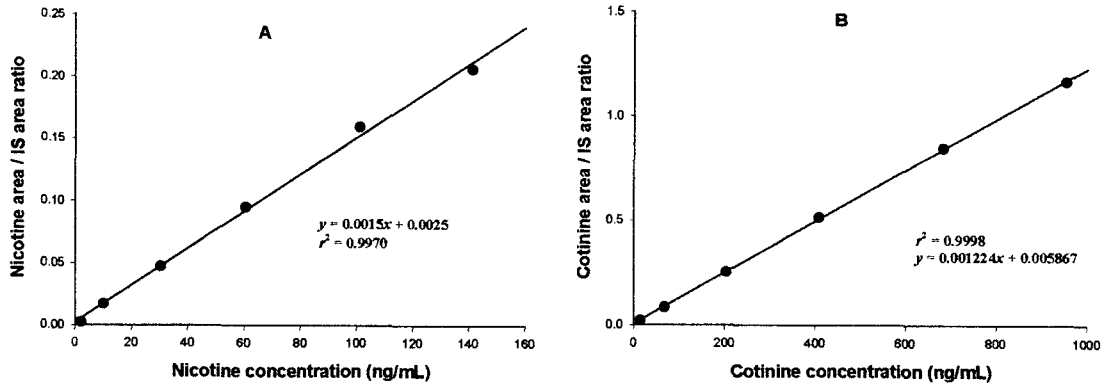


Fig. 3. The linear calibration curves for nicotine (A) and cotinine (B) in urine. The coefficients of determination (r^2) for nicotine and cotinine were 0.9970 and 0.9998, respectively. IS stands for the internal standard spiked to each aliquot of urine in the same amount, 2-(dimethylamino)pyridine (DMAP).

서 얻어진 직선의 회귀식을 이용하여 각 소변 시료 중에 함유된 니코틴 및 코티닌의 농도를 구하였다. S/N(신호/잡음) 비 3을 기준으로 하여 추정된 니코틴과 코티닌에 대한 검출한계는 각각 0.60 및 5.1 ng/mL이었다.

2. 회수율과 재현성

검량선 작성에 사용된 여섯 농도에 대해 측정하여 계산한 재현성과 회수율을 Table 1에 나타내었다. 변동계수로 나타난 재현성은 니코틴의 가장 낮은 농도(11%)를 제외하면 모두 10% 이내의 범위(0.91~8.4%)에 들어 비교적 양호한 편이었다.

니코틴의 경우에는 95~103%의 높은 회수율을 나타내었으며, 코티닌의 경우에도 가장 낮은 수준인 13.6 ng/mL에서는 88%를, 나머지 농도에서는 95~101%의 높은 회수율을 나타내었다.

3. 추출 효율과 농축과정에서의 손실

2.3절에 기술된 분석 방법에 따라 시료를 제조하여 내부표준물질, 니코틴 및 코티닌에 대하여 GC/NPD로 분석하여 얻어진 각 화합물에 대한 피크의 면적을 1) 소변 시료로부터 DCM으로 추출하기 전에 Na₂SO₄를 첨가하지만, 추출물을 질소 기체로 농축하기 전에 HCl을 첨가하지 않았을 때 (Fig. 4A, B의 가운데 막대그래프), 그리고 2) 추출 전 Na₂SO₄를 첨가하지 않지만 농축 전 HCl을 첨

Table 1. Reproducibility and average recovery at various concentrations of cotinine in urine^a

Nicotine			Cotinine		
Concentration added (ng/mL)	Recovery (%) ^c	CV (%) ^b	Concentration added (ng/mL)	Recovery (%)	CV (%)
2.01	96	11	13.6	88	5.0
10.1	96	4.4	68.0	95	1.4
30.3	95	4.2	204	100	0.91
60.6	101	6.2	408	96	5.1
101	103	2.3	680	101	2.7
141	96	7.3	952	99	8.4

^aA urine sample was separately extracted three times and analyzed on the same day

^bPercent coefficient of variation

^cAverage recovery of three measurements

가한 경우 (Fig. 4A, B의 오른쪽 막대그래프)와 비교하였다. 내부표준물질과 니코틴의 피크는 HCl을 첨가하지 않고 질소 기체를 이용하여 농축시킨 경우에 전혀 검출되지 않았으며, 코티닌의 경우에는 피크의 면적이 다소 감소하였다. 이로부터 실험에 사용한 내부표준물질과 니코틴은 질소 기체로 농축하는 과정에서 거의 완전히 휘발되어 손실되며, 코티닌도 일부 손실되는 것을 알 수 있었다. 따라서, James *et al.* (1998)이 니코틴과 코티닌의 과도한 손실을 막기 위해 감압 하에서 농축하기 전에 산성화된 메탄올 (0.1% HCl in methanol)

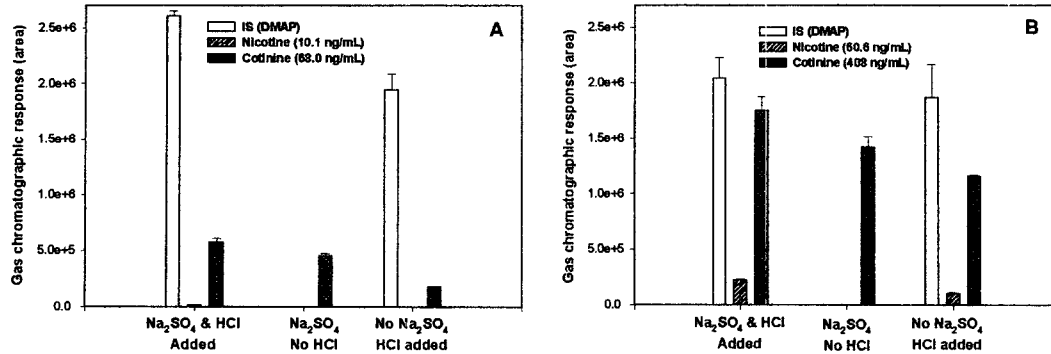


Fig. 4. Variations of chromatographic responses with/without sodium sulfate (Na_2SO_4) before extraction and/or methanolic hydrogen chloride (HCl) prior to concentration of the extracts using a stream of nitrogen gas for low (A) and high (B) levels of nicotine and cotinine. The addition of both Na_2SO_4 and HCl resulted in the highest responses in all standards.

한 방울을 첨가한 것은 타당하다고 할 수 있다.

그렇지만, 많은 연구자들은 추출액을 농축시키는 과정에서 니코틴 및 코티닌이 손실되는 것을 별도로 언급하지 않고 있다. 예를 들면, Feyerabend and Russell (1979)은 혈장, 소변, 타액 및 젖 중의 니코틴을 측정하는 방법에 있어서 시료를 염기성으로 바꾼 후에 diethyl ether로 추출하고 질소 기체를 이용하여 소량의 부피로 농축한 후에 산성화하여 용매로 씻어주고, 다시 물 층을 염기성으로 만들어 butyl acetate의 추출액을 GC/NPD로 분석하였다. Curvall *et al.* (1982)의 경우에는 혈장 중의 니코틴과 코티닌을 동시에 분석하는데 있어서 DCM을 용매로 사용하여 추출한 후에 40°C 로 가열하면서 질소 기체를 부드럽게 불어주어 농축한 후에 ethanol 용액을 만들어 GC/NPD로 분석하였다. 그 이외에도 Bono *et al.* (1996), Davis (1986), Jung *et al.* (1999) 등도 유사한 방법으로 니코틴 또는 코티닌을 시료로부터 추출하여 질소 기체 또는 진공회전증발기를 이용하여 농축한 후에 GC로 분석하였다. 따라서, 이 연구에서 얻어진 결과를 토대로 하여 볼 때, 각각의 방법을 이용하여 분석하면 정도는 서로 다르겠지만 니코틴 및 코티닌의 손실이 일어난다는 것을 알 수 있다.

Verebey *et al.* (1982)은 이와 같은 휘발에 의한 손실을 피하기 위해 0.5 mL의 혈장 시료를 먼저 황산으로 산성화하여 니코틴 및 코티닌의 황산염을 만들어 시료를 chloroform으로 씻어준 후에, 물

층을 다른 용기로 옮겨 KOH로 염기성화하고 아주 소량의 isoamyl alcohol (60 μL)을 첨가한 후에 vortex mixer로 추출하고 원심분리하여 얻어진 상층액을 농축하는 과정없이 직접 GC를 이용하여 분석하는 방법을 제시하였다. 본 연구자들도 이들의 방법을 소변 시료에 대하여 적용해 보았지만, 일부 시료에 대해 두 층간의 분리가 잘 일어나지 않고, 또한 isoamyl alcohol이 매우 역겨운 냄새를 내기 때문에 환기 시설이 매우 잘 갖추어져 있지 않은 공간에서 사용하기에는 그다지 적절한 방법이 아니라고 생각한다.

따라서, 니코틴 및 코티닌은 분석시료를 제조하는 동안에 질소 기체나 감압증발기를 이용하여 농축하는 과정에서 대부분 또는 일부 손실될 수 있으며, 이는 농축 이전에 HCl을 첨가하여 니코틴 및 코티닌의 염을 생성하여 최소화할 수 있다.

4. 흡연자 및 비흡연자의 소변 중 니코틴 및 코티닌

본 연구에 참여한 65명 중 흡연자로 분류된 43명은 모두 남학생으로 하루에 최소 2개비에서 최대 28개비까지의 담배를 피웠다. 본 연구에 참여한 남학생들 47명 중 비흡연자는 단 4명에 불과하였으며, 18명의 여학생들은 모두 비흡연자로 분류되었다. 설문 조사 결과에 따르면, 비흡연자로 분류된 22명 중에서 14명은 1~5시간 정도의 간접흡연을 한 것으로 나타났다.

Table 2. Descriptive statistics for NCR and CCR in smokers and nonsmokers

	NCR (ng nicotine/ mg creatinine)		CCR (ng cotinine/ mg creatinine)	
	Smokers	Nonsmokers	Smokers	Nonsmokers
Mean	307	3.11	879	51.6
Median	0.463	0.348	801	39.1
SD	931	12.7	690	48.1
Minimum	0.207	0.195	1.43	1.81
Maximum	4447	59.8	3,046	140
N	43	22	43	22

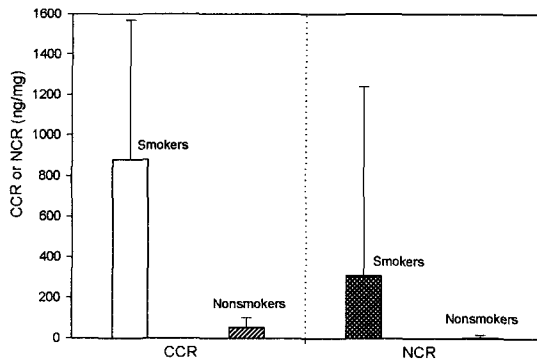


Fig. 5. Cotinine/creatinine ratios (CCR) and nicotine/creatinine ratios (NCR) in the groups of smokers (N=43) and nonsmokers (N=22). Both CCRs and NCRs are significantly different between the two groups at 5% significance level.

Table 2에서는 흡연자 및 비흡연자 집단에서 NCR 및 CCR을 서로 비교하였으며, Fig. 5에는 이를 그래프로 나타내었다. 흡연자 집단은 비흡연자 집단에 비해 현저하게 높은 NCR 및 CCR값을 나타내었다. 흡연자 및 비흡연자 집단에서 NCR과 CCR 모두 5% 유의수준에서 검정한 결과 서로 다른 분산을 나타내었고(각각 p -값 = 2.241×10^{-35} 및 1.675×10^{-20}), 이분산(異分散)을 가정한 t-검정에서 NCR의 경우에는 두 집단간에 약하게 그러나 통계적으로 유의하게 다른 것으로 나타났고(p -값=0.0379) CCR의 경우에는 강하게 서로 다른 것으로 나타났었다(p -값= 8.360×10^{-10}).

또한, 흡연자들에 대해서 설문조사를 통해 얻은 지난 24시간 동안 피운 담배의 개수, 담배 당 피운 길이, 그리고 각 담배 당 함유되어 있는 니코

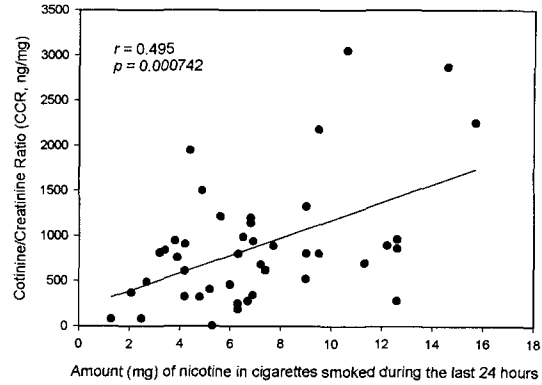


Fig. 6. Correlation between the amount (mg) of nicotine in cigarettes smoked and cotinine/creatinine ratio (CCR). Two variables were weakly but significantly correlated each other.

틴의 함량 등을 이용하여 지난 24시간 동안 피운 총 담배 중 니코틴의 함량과 CCR과의 상관관계를 알아보았다(Fig. 6). 아주 좋은 상관관계를 보이는 않았지만, 5%의 유의수준에서 두 변수간에는 통계적으로 유의한 직선의 상관관계를 보였다(p -값= 4.445×10^{-3} ; $r=0.512$). 이를 통해 소변 중의 코티닌의 농도를 크레아티닌의 농도로 나눈 값(CCR)은 직접흡연에 대한 노출의 생체지표로 사용될 수 있음을 보여주었다. 그렇지만, 이와 같이 좋은 상관관계를 보이지 않는 것은 개인마다 흡연 습관이 다르고 또한 간접흡연의 정도도 다르기 때문일 것으로 생각된다. 게다가, 담배식물 이외에도 일부 야채, 과일 및 차에도 니코틴이 함유되어 있기 때문에, 이러한 것들을 섭취함으로써 비롯되는 니코틴에 대한 노출도 소변 중 코티닌의 수준에 기여하리라고 생각된다(Davis *et al.*, 1991).

결론

본 연구를 통해서 얻은 결론은 다음과 같다:

1) 생체 시료 중에 함유된 니코틴 및 코티닌의 분석에 있어서, 질소 기체를 이용하거나 감압 하에 회전증발기로 이 화합물들을 농축하는 과정에서 대부분 또는 일부의 손실이 일어난다.

2) 니코틴 및 코티닌의 휘발에 의한 손실은 HCl

과 같은 산을 첨가하여 각각의 염을 생성함으로써 줄일 수 있다.

3) 소변으로부터 유기용매를 사용하여 액-액 추출할 때 Na_2SO_4 와 같은 염을 첨가하면 추출효율 증가한다.

4) 소변 중에 함유된 코티닌의 함량은 직접 흡연에 대한 노출의 생체지표로 활용될 수 있다.

참 고 문 헌

- Baselt RC. Biological Monitoring Methods for Industrial Chemicals. 1980; p. 67. Biomedical Publication, Davis, CA, USA.
- Benowitz NL, Kuyt F, Jacob P, Jones RT and Osman A. Cotinine deposition and effects. Clin. Pharmacol. Ther. 1983; 34: 604-611.
- Benowitz NL. Cotinine as a biomarker of environmental tobacco exposure. Epidemiol. Rev. 1996; 18(2): 188-204.
- Bono R, Russo R, Aossa W, Sursatone E and Gilli. G. Involuntary exposure to smoke in adolescents: Urinary cotinine and environmental factors. 1996; 51(2): 127-131.
- Curvall M, Kazemi-Vala E and Enzell CR. Simultaneous determination of nicotine in plasma using capillary column gas chromatography with nitrogen-sensitive detection. 1982; 232: 283-293.
- Davis RA, Stiles MF, Debethizy JD and Reynolds JH. Dietary nicotine: a source of urinary cotinine. Fd. Chem. Toxic. 1991; 29(12): 821-827.
- Feyerabend C and Russell MAH. Improved gas-chromatographic method and microextraction technique for the measurement of nicotine in biological fluids. J. Pharm. Pharmacol. 1979; 31: 73-76.
- Grabowski J and Bell CS (Eds). Measurement in the Analysis and Treatment of Smoking Behaviour, National Institute on Drug Abuse Research Monograph 48, US Department of Health and Human Services, Rockville, MD, 1983.
- Hill P, Haley NJ and Wynder EL. Cigarette smoking: Carboxyhemoglobin, plasma nicotine, cotinine and thiocyanate vs self-reported smoking data and cardiovascular disease. J. Chronic Dis. 1983; 36: 439-449.
- James H, Tizabi Y and Taylor R. Rapid method for the simultaneous measurement of nicotine and cotinine in urine and serum by gas chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogr. B. 1998; 708: 87-93.
- Jarvis MJ, Tunstall-Pedoe H, Feyerabend C, Vesey C and Saloojee Y. Comparison of tests used to distinguish smokers from nonsmokers. Am. J. Public Health 1987; 77: 1435-1438.
- Jung BH, Chung BC, Chung S.-J., Lee M.-H., and Shim C.-K. Simultaneous determination of nicotine and cotinine in plasma for the pharmacokinetic characterization of nicotine in rats. J. Pharmaceut. Biomed. Anal. 1999; 20: 195-202.
- Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. Multiple risk factor intervention trial: Risk factor changes and mortality results. JAMA 1982; 248: 1465-1477.
- Verebey KG, DePace A, Mule J, Kanzler M and Jaffe JH. A rapid quantitative GLC method for the simultaneous determination of nicotine and cotinine. J. Anal. Toxicol. 1982; 6: 294-296.
- Skarping G, Willers S and M Dalene. Determination of cotinine in urine using glass capillary gas chromatography and selective detection, with special reference to the biological monitoring of passive smoking. J. Chromatogr. 1988; 454: 293-301.
- Wald NJ, Braham J, Bailey A, Ritchie C, Haddow JE and Knight G. Urinary cotinine as marker of breathing other people's tobacco smoke. Lancet 1984; 28: 230-231.