

## GC/MS를 이용한 잎담배 중 알칼로이드 함량 분석

이정민 · 민혜정 · 김용하 · 이문수  
KT&G 중앙연구원  
(2005년 5월 30일)

### Determination of Nicotine and Other Minor Alkaloids in Tobacco Leaves by GC/MS

Jeong-Min Lee\*, Hye-Jung Min, Yong-Ha Kim and Moon-Soo Rhee  
KT&G Central Research Institute  
(Received May 30, 2005)

**ABSTRACT** - To obtain the optimum condition for analysis of 10 alkaloids in tobacco leaves, such as nicotine, nornicotine, anatabine, anabasine, myosmine, cotinine, 2,3'-dipyridyl,  $\beta$ -nicotyrine,  $\beta$ -nornicotyrine and  $\beta$ -formylnornicotine, 5 types of extraction method were investigated by GC-FID and GC/MS. The optimum condition of alkaloid extraction was achieved by using methanol:dichloromethane(1:3, v/v) after NaOH treatment. The use of mass selective detector (MSD) provided unambiguous nicotine related alkaloid analysis. Alkaloids in various tobacco leaves were extracted with the optimum extraction condition and quantified by GC/MS/SIM mode. Compared with concentrations of alkaloids among the various tobacco leaves, the concentration of alkaloids was generally in the order burley > flue-cured > oriental tobacco. In flue-cured tobacco leaves, the order of concentration of alkaloids was nicotine > anatabine > nornicotine >  $\beta$ -nicotyrine >  $\beta$ -formylnornicotine > myosmine > 2,3'-dipyridyl > cotinine > anabasine >  $\beta$ -nornicotyrine. However, in the case of burley and oriental tobacco leaves, the concentration of nornicotine was higher than that of anatabine.

**Key words** : alkaloids, burley, flue-cured, oriental tobacco, GC/MS/SIM

담배(*Nicotiana tabacum* L.)에는 구조적으로 비슷한 여러 종류의 알칼로이드들이 존재하며, 이들은 담배 품질 및 유용성에 기여하는 것으로 널리 알려져 있다(Andersen 등, 1991). 담배에서 발견된 20개 이상의 알칼로이드 중에서 nicotine이 가장 높은 함량으로 존재한다(Jeffery 등, 1955). 주요 알칼로이드인 nicotine은 총 알칼로이드 중

95% 정도를 차지한다(U.S. von Euler, 1965). Nornicotine과 anatabine은 nicotine을 제외하고 가장 많이 존재하는 알칼로이드로서 거의 동량으로 존재하며 각각 2~3% 정도 차지하고 있으며, anabasine은 총 알칼로이드의 약 0.3%를 차지한다(Saitoh 등, 1985).

알칼로이드는 담배 연기의 관능적 특성에 기여

\*연락처 : 305-805 대전광역시 유성구 신성동 302 번지, KT&G 중앙연구원

\*Corresponding author : KT&G Central Research Institute, 302 Shinseong-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-805, Korea

할 뿐만 아니라 잎담배 품질의 indicator로써 이용되고 있다. 예를 들어 nornicotine의 함량이 높은 잎담배를 제품 담배로 사용하였을 경우, 연기 중 tobacco specific nitrosamines(TSNAs)의 한 성분인 N-nitrosornicotine의 함량이 높게 나타나는 것으로 알려져 있다(Hecht 등, 1979). 이와 같이 잎담배 중 알칼로이드의 함량은 연기 중 알칼로이드 함량에 영향을 미칠 뿐만 아니라 TSNAs 등의 특정 화합물의 전구체로 작용하는 것으로 알려져 있다. 따라서 잎담배 중 알칼로이드 함량을 정확히 분석하는 것은 제품 담배의 설계 및 평가에 중요한 인자로 작용할 수 있다.

일반적으로 잎담배 알칼로이드를 분석하는 방법으로 gas chromatography가 주를 이루고 있으며 검출기로는 FID(Cai 등 2003, CORESTA 2005) 및 NPD(Yang 등, 2002; Health Canada, 1999)를 사용하고 있으며 일부 mass selective detector(Wu 등, 2002)로 분석하고 있으나 미량 알칼로이드에 대한 분석은 미비한 실정이다. 또한 잎담배 중 알칼로이드 분석법의 경우 추출시간이 길고 복잡하여 이에 대한 개선이 요구되며 분석도 주요 알칼로이드 및 일부 미량 알칼로이드만이 분석되고 있다.

따라서 본 연구에서는 감도 및 선택성이 높은 GC/MS를 이용하여 잎담배 중 nicotine, nornicotine 외에 미량으로 존재하는 anatabine, anabasine, myosmine, cotinine, 2,3'-dipyridyl,  $\beta$ -nicotyrine,  $\beta$ -nornicotyrine 및  $\beta$ -formylornicotine에 대한 최적 추출 및 분석 방법을 검토하고, 품종별 잎담배의 알칼로이드 함량을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 시약

담배 알칼로이드 표준 물질(nicotine, nornicotine, anatabine, anabasine, myosmine, cotinine, 2,3'-dipyridyl,  $\beta$ -nicotyrine,  $\beta$ -nornicotyrine,  $\beta$ -formylornicotine) 및 내부표준물질(n-dodecane, n-heptadecane, 2,4'-dipyridyl)은 Sigma Sci. (USA), Toronto Research Chemicals Inc.(Canada) 및 Acros Organics(USA)의 제품들을 구입하여

사용하였다.

### 표준용액 조제

알칼로이드 표준용액은 nicotine 100~1000  $\mu$ g/mL, nornicotine 10~150  $\mu$ g/mL, anatabine 5~50  $\mu$ g/mL, anabasine 5~50  $\mu$ g/mL, myosmine 5~50  $\mu$ g/mL, cotinine 5~50  $\mu$ g/mL, 2,3'-dipyridyl 1~20  $\mu$ g/mL,  $\beta$ -nicotyrine 1~20  $\mu$ g/mL,  $\beta$ -nornicotyrine 1~20  $\mu$ g/mL,  $\beta$ -formylornicotine 1~30  $\mu$ g/mL 범위로 조제한 후 표준검량선을 작성하여 알칼로이드 정량에 이용하였다.

### 잎담배 알칼로이드 추출법 비교

Nornicotine, myosmine, anabasine, anatabine 등 미량 알칼로이드들의 적절한 회수율을 얻기 위하여 chloroform, ether, methanol, dichloromethane, hexane 등의 용매에 대한 추출 효율을 다음과 같이 시험하였다(장 등, 1991; Cai 등, 2003; Yang 등, 2002; Health Canada, 1999; CORESTA, 2005).

방법 A는 2 g 잎담배에 증류수 10 mL, 10% NaOH 10 mL 및 chloroform 100 mL를 가하여 진탕한 후 microfiltration(0.45  $\mu$ m)하였다. 방법 B는 2 g 잎담배에 10% NaOH 10 mL와 ether 40 mL를 가하여 초음파(15분)한 후 ether층을 사용하였다. 방법 C는 1 g의 잎담배에 10% NaOH 5 mL와 methanol:dichloromethane(1:3, v/v) 50 mL를 가하여 진탕한 후 microfiltration(0.45  $\mu$ m)하였다. 방법 D는 1 g 잎담배에 0.05 N KOH·MeOH 40 mL를 가한 후 초음파 처리(3시간)하여 사용하였다. 방법 E는 2 g의 잎담배에 증류수 20 mL, 32% NaOH 10 mL 및 hexane 40 mL를 가한 후 진탕(1 시간)하여 상층액을 사용하였다.

내부표준물질은 n-dodecane, n-heptadecane 및 2,4'-dipyridyl를 첨가하여 비교하였다.

### 회수율 시험

알칼로이드 회수율 시험은 설정된 최적 추출법을 이용하여 4단계 농도별로 3반복 실험하였다. Nicotine 100~1000  $\mu$ g/mL, nornicotine 10~150  $\mu$ g/mL, anatabine 5~50  $\mu$ g/mL, anabasine 5~50

µg/mL, myosmine 5~50 µg/mL, cotinine 5~50 µg/mL, 2,3'-dipyridyl 1~20 µg/mL, β-nicotryne 1~20 µg/mL, β-nornicotryne 1~20 µg/mL, β-formylnornicotine 1~30 µg/mL 범위의 농도에 대하여 회수율을 시험하였다.

### 잎담배 알칼로이드 분석

잎담배 중 알칼로이드 함량을 분석하기 위하여 황색종은 한국산(B10, 2004년), 미국산(C4F 2004년), 브라질산(KB40, 2004년), 아르헨티나산(ARC3, 2004년), 인도산(INC2, 2003년), 중국산(CKB40, 2003년)을, 버어리종은 한국산(B1T, 2004년), 미국산(B3F, 2004년)을, 오리엔트종은 그리스산 바스마 III(2003년), 카바쿨락 IV(2003년), 카테리니 IV(2003년)를 각각 취하여 분석하였다.

### 잎담배 알칼로이드의 GC 분석

잎담배 알칼로이드의 GC 분석은 FID가 부착된 Hewlett-Packard 5890 II Plus 기기를 사용하였으며, column은 DB-5(30 m × 0.32 mm i.d., 0.5 µm film thickness, J&W, USA)를 이용하였다. Oven 온도 프로그램은 120°C에서 200°C까지 3°C/min 속도로, 250°C까지 5°C/min 속도로 승온시켰다. Injector와 detector 온도는 각각 220°C, 250°C, carrier gas는 N<sub>2</sub>을 사용하였으며 유속은 1 mL/min으로 하였다. 시료는 split mode에서 1 µL 주입하였다.

### 잎담배 알칼로이드의 GC/MS 분석

잎담배 알칼로이드의 GC/MS 분석은 Agilent 6890N GC/5973i MSD system(USA)를 사용하였으며, 시료의 이온화는 electron impact ionization (EI) 방법으로 행하였다. GC/MS 분석조건은 ionization voltage를 70 eV로 하였고, ion source temperature는 230°C로 하였다. 또한 분석할 분자량의 범위(*m/z*)는 40~350으로 설정하였다. Column은 DB-5(30 m × 0.25 mm i.d., 0.25µm film thickness, J&W, USA)를 이용하였다. Oven 온도 프로그램은 100°C에서 200°C까지 3°C/min 속도로, 250°C까지 5°C/min 속도로 승온시켰다.

Carrier gas는 He을 사용하였으며 다른 조건은 GC와 동일 조건으로 설정하였다. 잎담배 알칼로이드에 대한 정량 및 확인을 위한 *m/z*는 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Selective ion monitoring mode setup for alkaloid analysis in tobacco leaves

| Compounds           | RT <sup>1)</sup> | Quantitation ion( <i>m/z</i> ) | Confirmation ion( <i>m/z</i> ) |
|---------------------|------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Nicotine            | 13.41            | 84                             | 162                            |
| Nornicotine         | 16.12            | 119                            | 147                            |
| Myosmine            | 16.40            | 118                            | 146                            |
| Anabasine           | 18.55            | 158                            | 130                            |
| β-Nicotryne         | 18.80            | 84                             | 105                            |
| Anatabine,          | 19.92            | 160                            | 105                            |
| 2,3'-Dipyridyl      | 20.56            | 156                            | 130                            |
| β-Nornicotryne      | 21.79            | 144                            | 117                            |
| Cotinine            | 26.82            | 98                             | 176                            |
| β-Formylnornicotine | 29.44            | 147                            | 176                            |

<sup>1)</sup>Retention time.

## 결과 및 고찰

### 잎담배 알칼로이드 추출법 비교

Nicotine 외에 미량 알칼로이드의 최적 추출법을 확인하기 위하여 추출용매에 따른 효율 시험한 결과를 Fig. 1에 나타내었다.

알카리 처리 후 chloroform으로 추출한 경우(A)에는 β-nicotryne 및 β-nornicotryne의 수율이 낮았고, ether로 추출한 경우(B)에는 nornicotine, myosmine, β-nicotryne 및 β-nornicotryne, β-formylnornicotine 등이 낮게 나타났으며, hexane으로 추출한 경우(E)에는 nicotine 외 다른 알칼로이드는 모두 낮은 함량을 나타내었다. 알카리 처리 후 methanol : dichloromethane (1:3, v/v) 혼합용매를 사용한 추출법 C와 methanol을 사용한 추출법 D의 경우에는 다른 추출법에 비해 높은 함량을 나타내었으나,

GC/MS를 이용한 잎담배 중 알칼로이드 함량 분석

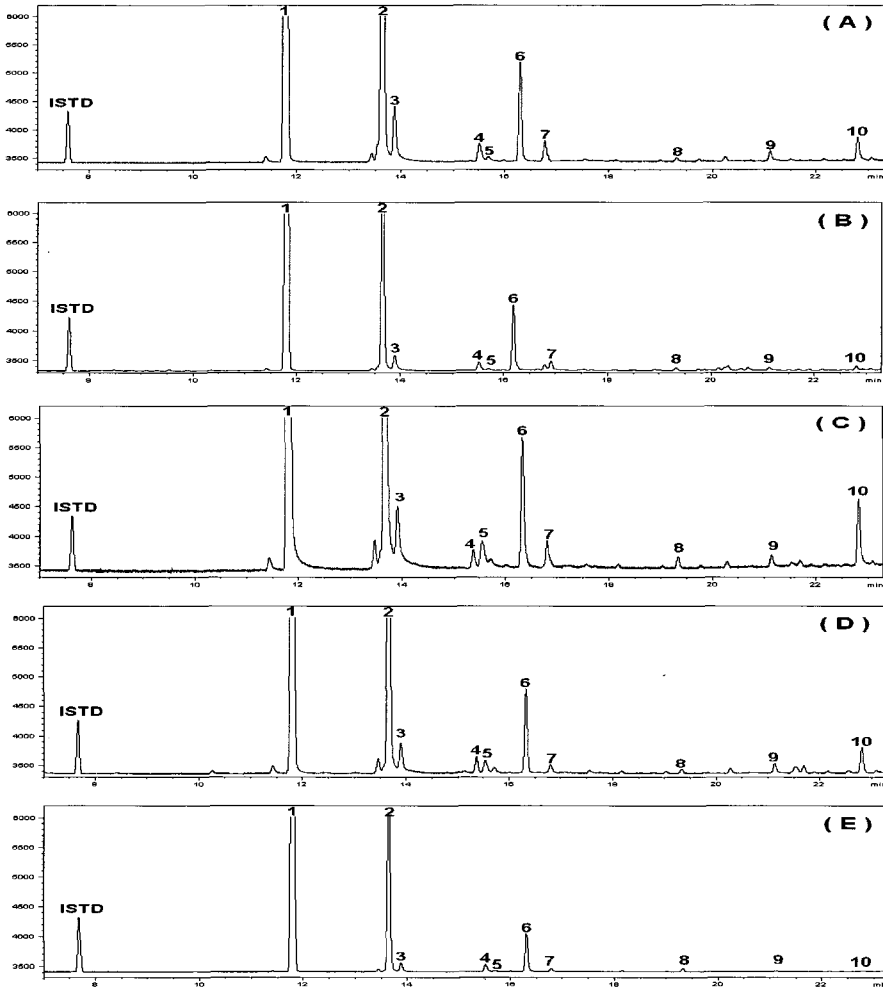


Fig. 1. Comparison of chromatograms of tobacco alkaloids by different extraction methods. (1 : nicotine, 2 : nornicotine, 3 : myosmine, 4 : anabasine, 5 :  $\beta$ -nicotyrine, 6 : anatabine, 7 : 2,3'-dipyridyl, 8 :  $\beta$ -nornicotyrine, 9 : cotinine, 10 :  $\beta$ -formylnornicotine)

methanol 추출법(D)는 methanol : dichloromethane 혼합용매 추출법(C)에 비하여  $\beta$ -nicotyrine, 2,3'-dipyridyl,  $\beta$ -nornicotyrine,  $\beta$ -formylnornicotine이 비교적 낮은 함량을 나타내었다.

결과적으로 100% chloroform, ether, methanol, hexane의 이용은 몇몇 알칼로이드에 있어 낮은 회수율을 나타내었다. Methanol과 dichloromethane를 혼합하여 용해도와 극성도를 조절한 결과, 모든 알칼로이드에 대하여 높은 추출 효율을

나타내었으며, 이는 Yang 등(2002)의 결과와도 잘 부합되는 것이었다. 따라서 잎담배 중 미량으로 존재하는 알칼로이드까지도 동시에 분석하는데 methanol : dichloromethane(1:3, v/v) 혼합용매를 사용한 추출법이 적용될 수 있을 것으로 사료된다.

일반적으로 알칼로이드 분석 시 내부표준물질로는 n-dodecane, n-heptadecane, 2,4'-dipyridyl 등이 사용되는데 이들의 알칼로이드 추출법을 이

용한 잎담배 적용시험 결과, n-heptadecane은 잎담배 중에 미량 존재하였고 2,4'-dipyridyl은 2,3'-dipyridyl과 근접하여 검출되어 n-dodecane이 내부표준물질로 가장 적합하였다.

#### 알칼로이드 추출법의 정확성 및 정밀도

알칼로이드 표준용액을 GC/MS/SIM 분석 후 검량선을 작성한 결과, 상관계수( $R^2$ )은 0.995~1.000 범위로 높은 직선성을 나타내었다. 알칼로이드 회수율은 내부표준물질을 포함하여 알칼로이드 표준용액을 잎담배에 첨가한 후 추출하여 실험하였다. 또한 정확성 및 정밀도는 알칼로이드 회수율 시험 결과를 토대로 하였다. 알칼로이드는 4단계 농도로 첨가하였고, 3반복 실험한 결과를 Table 2에 나타내었다.

Table 2. Recovery of spiked alkaloids in the tobacco leaves

| Compounds                 | Recovery (%) | RSD <sup>1)</sup> (%) |
|---------------------------|--------------|-----------------------|
| Nicotine                  | 89.5         | 6.2                   |
| Nornicotine               | 106.7        | 6.7                   |
| Myosmine                  | 85.9         | 7.1                   |
| Anabasine                 | 88.4         | 5.5                   |
| $\beta$ -Nicotyrine       | 105.4        | 2.4                   |
| Anatabine,                | 103.9        | 5.1                   |
| 2,3'-Dipyridyl            | 88.2         | 3.9                   |
| $\beta$ -Nornicotyrine    | 88.7         | 7.8                   |
| Cotinine                  | 95.7         | 6.4                   |
| $\beta$ -Formylornicotine | 101.5        | 7.0                   |

<sup>1)</sup> Relative standard deviation  
(4 concentrations $\times$ 3=12).

10개 알칼로이드에 대한 정확도는 85.9~106.7%, 정밀성으로 표기되는 상대표준편차(RSD)는 2.4~7.8%의 범위를 나타내었다. 이상의 결과로부터 설정된 추출법으로 전처리 후 GC/MS/

SIM 분석하는 방법은 10개 알칼로이드 분석에 적용될 수 있을 것으로 사료된다.

#### 잎담배 중 알칼로이드 함량 조사

잎담배 품종별 알칼로이드 함량을 조사하기 위하여 황색종으로 한국산(B10, 2004년), 미국산(C4F 2004년), 브라질산(K-B40, 2004년), 아르헨티나산(ARC3, 2004년), 인도산(INC2, 2003년), 중국산(CK-B40, 2003년)을, 버어리종으로 한국산(B1T, 2004년), 미국산(B3F, 2004년)을, 오리엔트종으로 그리스산 바스마 III(2003년), 카바쿨락 IV(2003년), 카테리니 IV(2003년)를 GC/MS로 분석하였다. GC/MS의 full scan mode로 분석하여 알칼로이드를 확인하였고, 알칼로이드만을 선택적으로 분석하기 위하여 Table 1에 나타난 바와 같이 특정 ion만을 선택하여 selected ion monitoring(SIM) mode로 분석 후 알칼로이드 표준검량선을 작성하고 품종별 알칼로이드를 정량하였다(Table 3, Fig. 2).

국가별 황색종 중 알칼로이드는 모든 시료에서 nicotine이 가장 높은 함량을 차지하였고, 나머지 알칼로이드의 함량은 대체적으로 anatabine > nornicotine >  $\beta$ -nicotyrine >  $\beta$ -formylornicotine > myosmine > 2,3'-dipyridyl > cotinine > anabasine >  $\beta$ -nornicotyrine 순이었다. 반면 버어리종과 오리엔트종의 경우에는 nornicotine의 함량이 anatabine의 함량보다 높게 나타났다. 국가별 황색종 nicotine의 함량은 브라질 > 중국 > 아르헨티나 > 미국, 한국 > 인도 순으로 인도산에서 가장 낮은 수준으로 확인되었고 대체적으로 인도산 황색종에서 모든 알칼로이드의 함량이 낮게 존재하였다.

버어리종 중 미국산과 국내산을 비교해 볼 때 nornicotine, myosmine 및  $\beta$ -formylornicotine 함량은 국내산이 높게 나타났으나, nicotine 및 다른 미량 알칼로이드는 미국산이 높게 나타났다. 오리엔트종 중 nicotine, nornicotine, anatabine 및 다른 미량 알칼로이드의 함량은 대체적으로 바스마 > 카테리니 > 카바쿨락 순으로 나타났다.

잎담배 종류별 알칼로이드 함량은 대체적으로 버어리종 > 황색종 > 오리엔트종 순이었다. 알

GC/MS를 이용한 잎담배 중 알칼로이드 함량 분석

Table 3. Concentrations of alkaloids in various tobacco leaves (µg/g)

|                | Nicotine          | Nornico-<br>tine | Myos-<br>mine | Ana-<br>basine | β-Nico-<br>tyrine | Anata-<br>bine | 2,3'-<br>Dipyridyl | β-Nornico-<br>tyrine | Cotinine         | β-Formyl<br>nornicotine |       |
|----------------|-------------------|------------------|---------------|----------------|-------------------|----------------|--------------------|----------------------|------------------|-------------------------|-------|
| Flue-<br>cured | USA C4F           | 20,787           | 213.8         | 12.4           | 2.2               | 40.1           | 476.9              | 8.7                  | 0.2              | 8.7                     | 23.2  |
|                | Brazil<br>K-B40   | 30,736           | 483.1         | 19.2           | 2.2               | 70.2           | 973.9              | 13.4                 | 0.2              | 21.6                    | 54.2  |
|                | Argentina<br>ARC3 | 25,981           | 314.5         | 15.4           | 2.0               | 56.3           | 906.7              | 18.4                 | 0.2              | 38.0                    | 35.2  |
|                | India INC2        | 17,387           | 200.5         | 8.2            | 1.5               | 29.5           | 365.5              | 4.7                  | nd <sup>1)</sup> | 15.8                    | 13.8  |
|                | China<br>CK-B40   | 28,868           | 485.9         | 14.9           | 1.5               | 76.5           | 919.7              | 6.5                  | 0.2              | 12.5                    | 35.9  |
|                | Korea<br>B10      | 20,314           | 296.2         | 14.2           | 1.3               | 57.2           | 1107.5             | 7.0                  | 0.3              | 8.2                     | 22.0  |
| Burley         | USA B3F           | 36,107           | 1,363.4       | 52.4           | 10.5              | 90.8           | 1,457.3            | 46.7                 | 3.2              | 72.6                    | 183.4 |
|                | Korea<br>B1T      | 21,045           | 9,045.4       | 214.3          | 16.4              | 49.2           | 851.3              | 23.1                 | 5.9              | 78.2                    | 351.8 |
| Oriental       | Basma III         | 16,066           | 310.5         | 17.0           | 5.7               | 16.5           | 164.5              | 3.5                  | nd               | 74.9                    | 28.5  |
|                | Kaba<br>Koulak IV | 2,864            | 31.7          | 3.0            | 1.7               | 3.5            | 22.0               | 1.0                  | nd               | 12.7                    | 6.7   |
|                | Katerini<br>IV    | 12,014           | 190.9         | 11.4           | 3.5               | 11.2           | 87.5               | 1.7                  | nd               | 54.7                    | 17.2  |

<sup>1)</sup>Not detected.

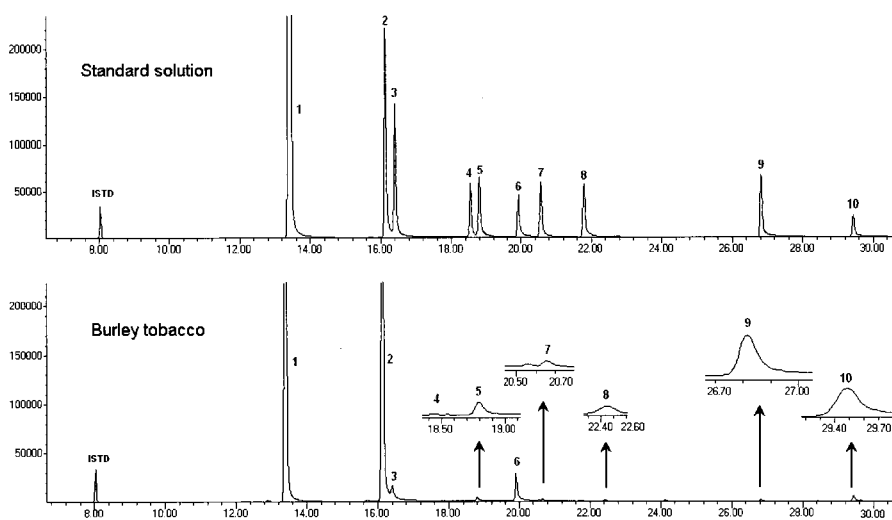


Fig. 2. Chromatograms of tobacco alkaloids by GC/MS/SIM mode (top, standard solution; bottom, USA burley tobacco).

(1 : nicotine, 2 : nornicotine, 3 : myosmine, 4 : anabasine, 5 : β-nicotyrine, 6 : anatabine, 7 : 2,3'-dipyridyl, 8 : β-nornicotyrine, 9 : cotinine, 10 : β-formylnornicotine)

칼로이드 중 nornicotine, myosmine, 2,3'-dipyridyl,  $\beta$ -formylornicotine의 경우 다른 잎담배 종류에 비해 버어리종에서 높은 함량을 나타내었다. Anabasine 및 2,3'-dipyridyl 함량은 황색종, 버어리종, 오리엔트종에서 비슷한 수준이었다.

## 결 론

본 연구는 잎담배 중 nicotine, nornicotine 외에 미량으로 존재하는 anatabine, anabasine, myosmine, cotinine, 2,3'-dipyridyl,  $\beta$ -nicotyrine,  $\beta$ -nornicotyrine 및  $\beta$ -formylornicotine에 대한 최적 추출 조건을 검토한 것으로써, NaOH 알칼리 처리 후 methanol : dichloromethane(1:3, v/v) 혼합용매를 사용하는 경우가 최적 추출 조건이었다. 또한 알칼로이드에 대한 감도 및 선택성을 높이기 위하여 GC/MS의 selected ion monitoring (SIM) mode로 분석하였다. 황색종, 버어리종, 오리엔트종 등 11종의 잎담배 알칼로이드 함량을 분석한 결과, 잎담배 종류별 알칼로이드 함량은 대체적으로 버어리종 > 황색종 > 오리엔트종 순으로 나타났다. 알칼로이드 중 nornicotine, anatabine, myosmine 및  $\beta$ -formylornicotine의 경우 다른 잎담배 종류에 비해 국내산 버어리종에서 현저하게 높은 함량을 차지하였으며, 버어리종과 오리엔트종의 경우에는 nornicotine의 함량이 anatabine의 함량보다 높게 나타나 황색종과는 다른 경향을 나타내었다.

## 참 고 문 헌

Andersen, R.A., Fleming, P.D., Burton, H.R., Hamilton-Kemp, T.R., Sutton, T.G. (1991) Nitrosated, acylated, and oxidized pyridine alkaloids during storage of smokeless tobaccos: effects of moisture, temperature, and their interactions. *J. Agric. Food Chem.* 39: 1280-1287.

Cai, J., Liu, B., Lin, P., Su, Q. (2003) Fast analysis of nicotine related alkaloids in

tobacco and cigarette smoke by megabore capillary gas chromatography. *J. Chromatogr. A* 1017: 187-193.

CORESTA (2005) Determination of nicotine in tobacco and tobacco products by gas chromatographic analysis. CORESTA Recommended Method No. 62.

Health Canada (1999) Determination of alkaloids in whole tobacco. Health Canada T-301.

Hecht, S.S., Chen, C.B., Hoffmann, D. (1979) A study of tobacco carcinogenesis. 17. Tobacco-specific nitrosamines: occurrence, formation, carcinogenicity, and metabolism. *Accouts Chem. Res.* 12: 92-98.

Jeffery, R.N., Tso, T.C. (1955) Tobacco constituents, Qualitative differences in the alkaloids fraction of cured tobaccos. *J. Agric. Food Chem.* 3: 680-682.

Saitoh, F., Noma, M., Kawashima, N. (1985) The alkaloid contents of sixty *Nicotiana* species. *Phytochemistry* 24: 477-480.

U.S. von Euler (1965) Tobacco alkaloids and related compounds. Macmillan, New York, p.37.

Wu, W., Ashley, D.L., Watson, C.H. (2002) Determination of nicotine and other minor alkaloids in international cigarettes by solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Anal. Chem.* 74: 4878-4884.

Yang, S.S., Smetena, I., Huang, C.B. (2002) Determination of tobacco alkaloids by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. *Anal. Bioanal. Chem.* 373: 839-843.

장기철, 한상빈, 김용옥, 이운철 (1991) 잎담배 alkaloid 분석에 관한 연구. *한국연초학회지* 13: 20-26.