KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 45, No. 6, pp. 693~699 (2013)
http://dx.doi.org/10.9721/KJFST.2013.45.6.693

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

전자담배 액상 충진제와 유사한 합성착향료 중 니코틴의 HPLC 분석법 개발

김재영 · 이상목 · 장문익* · 조윤제 · 이한진 · 채영식 · 이규식
식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 잔류물질과

Development of a Method for Analyzing the Nicotine Content in Synthetic Flavoring Substances as Unauthorized E-cigarette Liquid by Using HPLC

Jae-Young Kim, Sang-Mok Lee, Moon-Ik Chang*, Yoon-Jae Cho, Han-Jin Lee, Young-Sik Chae, and Gyu-Sik Rhee
Pesticide and Veterinary Drug Residues Division, Department of Food Safety Evaluation, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Ministry of Food and Drug Safety

Abstract A simple, sensitive, and specific method for quantifying the nicotine content of synthetic favoring substances (SFS) was developed using high performance liquid chromatography (HPLC) with a photo-diode array detector (PDA). Nicotine was extracted from SFS samples by using an acid-base liquid-liquid extraction method with dichloromethane and distilled water. The nicotine content was quantified by HPLC/PDA (261.9 nm) with a C_{18} column under a gradient of 10% acetonitrile with 20 mM ammonium formate (ammonia solution adjusted to pH 8.7) to 100% acetonitrile. The calibration curve, analyzed from concentration standards between 0.1 to 2 mg/L, presented linearity with a correlation coefficient (r^2)>0.9999. The limit of quantitation (LOQ) of nicotine in SFS was 0.4 mg/kg, and the average recoveries ranged from 76.4% to 96.3%. The repeatability of measurements, expressed as the coefficient of variation (CV%), ranged from 1.74 to 5.12%. This newly developed method for nicotine quantification in SFS can be considered an analytical method with an acceptable level of sensitivity and repeatability.

Keywords: nicotine, synthetic flavoring substances, HPLC/PDA, analytical method

서 론

담배의 위해성이 널리 알려지면서 국가차원의 국민 건강보건을 위하여 공공구역을 포함한 금연구역의 설치가 늘어나고 있으며 일부 흡연자의 경우, 몸에서 나는 담배냄새를 없애고 주변사람들에게 피해를 주지 않는다는 이유로 전자담배를 이용하기 시작하였다. 전자담배는 장착된 훈증기가 니코틴 등 성분이 포함된 액상을 휘발시켜 이를 흡입할 수 있도록 만들어 일반 연초와 같은 만족감을 주지만 무취의 특성을 나타내며 일반 연초와 다르게 발암물질인 타르, 일산화탄소, 벤조피렌 등이 함유되지 않고, 간접흡연으로 인한 피해가 없는 등의 장점을 광고하면서 소비자의 관심이 증대되고 있다(1). 이러한 전자담배는 미국을 비롯한 중국, 캐나다 등에서 판매되고 있으며, 국내에서는 담배로 분류되어 판매되고 있다(2). 전자담배는 그 구성이 카트리지 또는 리필용액 형태와 이를 일반 연초와 동일하게 증기를 발생시키는 장치 및 배터리 등 3가지로 구성되어 있다. 이 중 리필형태의 액상카트리지는 식품첨가물로 사용되고 있는 합성착향료의 주요 성분(propylene glycol, glycerine 및 기타 착향료 성분(향료 및 색소))과 유사한 구성을 가지고 있다.

현재 담배사업법에서는 일반 연초를 포함한 전자담배에는 높은 관세를 부과하고 있다. 또한, 담배제조허가를 받지 아니하고 제조한 자에 대해서는 3년형의 징역에 처할 수 있으며, 담배수입업에 등록하지 아니하고 담배를 수입했을 경우에는 500만원 이하의 벌금에 처하고 있다. 이점을 악용하여 막대한 이윤을 얻기 위한 목적으로 주요 성분이 유사하면서 상대적으로 관세가 낮은 합성착향료를 전자담배 액상으로 사용하기 위해 국내에 반입될 우려가 있다. 따라서 식품첨가물로 반입된 합성착향료에 니코틴을 불법적으로 함유하여 전자담배 액상으로 유통될 우려가 있기 때문에 이를 관리할 필요성이 요구된다.

식품첨가물인 합성착향료에 대한 니코틴 정량 분석법은 최근 국내 · 외 연구 결과에 보고된 바 없다. 다만 담배 및 인체 소변 또는 혈액 중의 니코틴 정량 분석법으로 보고된 바 있는데, LC-MS/MS를 이용한 소변 중 니코틴 분석법(3), LC-MS/MS를 이용한 우유 중 니코틴 분석법(4), HPLC와 GC/MS를 이용한 소변 및 혈액 중 니코틴 분석법(5), HPLC를 이용한 담배 중 니코틴 분석법(6) 등이 보고된 바 있으며, 전자담배 중의 니코틴을 분석한 사례는 미국 FDA에서 보고된 바 있다(7). 하지만, 국외에서는 식품첨가물로 사용되는 합성착향료 중 니코틴 정량 분석법은 전무하며, 국내에서도 전자담배를 포함, 착향료 중의 니코틴 정량 분석법은 전무한 상황이다.

따라서 본 연구는 니코틴이 함유되어 있는 전자담배 액상이 유

*Corresponding author: Moon-Ik Chang, Pesticide and Veterinary Drug Residues Division, Department of Food Safety Evaluation, National Institute of Food and Drug Evaluation, Ministry of Food and Drug Safety, Cheongwon, Chungbuk 363-700, Korea
Tel: 82-43-719-4204
Fax: 82-43-719-4200
E-mail: 1004@korea.kr
Received June 28, 2013; revised September 26, 2013; accepted October 15, 2013

사 구성을 지닌 합성착향료로 사용될 여지가 충분하기 때문에 HPLC/PDA를 이용한 합성 착향료 중 니코틴 정량분석법을 개발하여 식품첨가물의 안전관리를 도모하고자 하였다.

재료 및 방법

시료

시료는 합성착향료의 주성분인 propylene glycol (Wako, Osaka, Japan)과 glycerine (Wako)을 인위적으로 혼합시킨 화학적 합성시료(65:35, w/w: P+G mix)와 시중에서 식품첨가물로 유통되고 있는 딸기향 합성착향료(synthetic favoring substances, SFS)를 사용하였다.

시약 및 재료

니코틴 표준품(99%)은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였으며, 물리화학적 특성은 Table 1에 나타내었다. 액체크로마토그래프 이동상 및 전처리 시약으로서 아세토니트릴 및 디클로로메탄은 HPLC급 시약(Merck, Darmstadt, Germany), 개미산암모늄은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), 수산화나트륨, 염산 및 암모니아수는 Wako사(Osaka, Japan)로부터 구입하여 사용하였다.

표준용액의 조제

니코틴 표준물질 약 20 mg을 정밀히 달아 10% 아세토니트릴을 사용하여 20 mL 용량플라스크에 정용한 후 1,000 μg/mL 표준원액을 조제하였으며, 표준용액은 표준원액을 실험 전에 10% 아세토니트릴로 희석하여 사용하였다. 표준원액과 표준용액은 모두 갈색병에 담아 4°C 냉장실에 보관하면서 사용하였다.

시료 전처리

시료의 전처리는 기존에 보고된 Trehy 등의 방법(7)과 본 연구에서 개발한 방법을 사용하여 비교하였다. 즉, Trehy 등의 방법은 액상 시료 0.5 g을 이동상 A로 2 mL되게 정용하여 0.20 μm 멤브레인필터로 여과한 후 시험용액으로 사용하였다. 또한, 개발된 전처리 방법은 산-염기 액-액 추출법을 사용하였다. 액상 시료 0.5 g을 125 mL 분액깔때기에 취해 증류수 9 mL 및 2 N 수산화나트륨 1 mL를 첨가하여 진탕 후, 디클로로메탄 10 mL를 첨가하여 5분간 진탕하였다. 분리된 디클로로메탄층은 분액깔때기에 취하고 남은 수용액 층에 디클로로메탄 10 mL를 가한 후, 위 과정을 반복하였다. 분리된 디클로로메탄층은 분액깔때기에 합친 후, 2 N 염산 1 mL와 증류수 9 mL를 넣고 5분간 진탕하였다. 분리된 수용액층을 분액깔때기에 취하고 남은 디클로로메탄층에 증류수 10 mL를 가한 후, 위 과정을 반복하였다. 분리된 수용액층은 분액깔때기에 합친 후, 5 N 수산화나트륨 2 mL와 디클로로메탄 10 mL를 넣고 5분간 진탕하였다. 분리된 디클로로메탄층은 유리튜브에 취하고, 남은 수용액층에 디클로로메탄 10 mL를 가한 후, 위 과정을 반복하여, 분리된 디클로로메탄층을 유리튜브에 합쳤다. 얻어진 디클로로메탄층은 40°C 이하 수욕 상에서 질소 농축하였고, 얻어진 잔류물은 이동상 A로 녹여 0.20 μm 멤브레인 필터로 여과한 후 시험용액으로 사용하였다.

기기 분석 조건

니코틴의 분석은 PDA 검출기(photodiode-array detector)가 장착된 고성능액체크로마토그래프(high performance liquid chromatograph (HPLC): alliance e2695, Waters, Milford, MA, USA)를 사용하였다. 분석용 컬럼은 XBridge C_{18} (4.6 mm×250 mm, 5 μm: Waters, Dublin, Ireland), 컬럼 온도는 40°C, 이동상으로는 용매 A: 20 mM 개미산암모늄를 함유한 10% 아세토니트릴과 용매 B: 100% 아세토니트릴을 이용하여 기울기 용리 조건으로 분석하였으며, 유속은 1 mL/min 속도로 유지시켰고, 주입량은 10 μL로 하여 261.9 nm에서 측정하였다(Table 2).

니코틴의 확인 시험은 먼저 질량분석기 조건을 확립하기 위해서 표준용액을 사용하여 컬럼을 통과하지 않고 직접 탠덤 질량분석기(tendem mass spectrometry)로 도입하였다. 탠덤 질량분석기를 통해 니코틴의 precursor ion을 선택하고 최적의 collision energy를 선택한 다음 product ion을 탐색하여 표준물질에 대한 fragmentation pattern을 확인하였다(Table 2). 니코틴의 재확인 분석은 액체크로마토그래프-질량분석기(LC-MS/MS, Thermo Finnigan TSQ Quantum Ultra, Waltham, MA, USA)를 사용하였다. 분석용 컬럼은 Xbridge C_{18} (2.1 mm×150 mm, 3.5 μm: Waters, Dublin, Ireland), 컬럼 온도는 40°C, 이동상으로는 용매 A: 20 mM 개미산암모늄를 함유한 10% 아세토니트릴과 용매 B: 100% 아세토니트릴을 이용하여 90:10(v/v)의 등 용리 조건으로 분석하였으며, 유속은 1 mL/min 속도로 유지시켰고, 주입량은 10 μL로 하였다. 또한, 이온화 방법은 전자 분무 이온화 방법(ESI, electrospray ionization)을 사용하였고, spray voltage는 5000 V, capillary 온도는 350, collision 가스는 아르곤을 사용하였다.

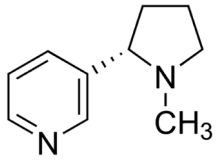
분석법 검증

최종적으로 합성착향료를 이용하여 개발된 니코틴의 분석법은 Codex 가이드라인(8,9)에 준하여 직선성, 회수율 및 정량 한계(LOQ)로 유효성 검증을 실시하였다.

SFS로부터 니코틴 0.1-2.0 mg/kg의 농도에 대한 각각의 피크 면적을 이용하여 검량선을 작성하였고, 각 검량선의 상관 계수

Table 1. Physicochemical properties and structure of nicotine

IUPAC name	3-[(2S)-1-methylpyrrolidin-2-yl]pyridine
CAS No.	54-11-5
Melting point	−79°C
Molecular weight	162.23 ($C_{10}H_{14}N_2$)
Boiling point	247°C at 760 mm Hg
Density	1.010 g/cm^3 at 20°C
Log Pow[1)]	1.17
Vapor pressure	0.051 hPa at 25°C
pKa	8.0
Solubility	50 g/L in ethanol



[1)]*n*-Octanol/water partition coefficient

Table 2. HPLC-PDA and LC-MS/MS parameter for the analysis of nicotine

Parameter	Conditions		
HPLC	**Waters alliance e2695**		
Column	Waters Xbridge C_{18} (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)		
Flow rate	1.0 mL/min		
Injection volume	10 μL		
Column temperature	40°C		
Mobile phase	A: 10% acetonitrile-20 mM ammonium formate (pH 8.7 adjust ammonia solution) B: Acetonitrile		
	min	A (%)	B (%)
	0	100	0
	10	80	20
	20	10	90
	21	10	90
	25	100	0
	30	100	0
Wavelength	261.9 nm		
LC	**Thermo Accela High Speed LC**		
Column	Waters Xbridge C_{18} (2.1 mm × 150 mm, 3 μm)		
Flow rate	0.2 mL/min		
Injection volume	10 μL		
Column temperature	40°C		
Mobile phase	10% acetonitrile-20 mM ammonium formate (ammonia solution adjusted to pH 8.7)/ Acetonitrile (90:10, v/v)		
Mass Spectrometry	**Thermo TSQ Vantage**		
Ionization mode	ESI (Positive ion electrospray)		
Spray voltage	5,000 V		
Capillary temperature	350°C		
Collision gas	Ar		
Collision energy	Precursor ion (*m/z*)	Collision energy (eV)	
	163.1-106.1	14	
	163.1-117.1	28	
	163.1-130.1	20	

(coefficient of correlation, r^2)를 구하였다. 정량 한계는 분석결과를 수치화할 수 있는 최저 한계를 의미하는데, 각국 및 기관에서는 보통 S/N 6-10 범위를 상용하고 있으며, 국내에 설정된 기준은 국제 기준을 수용하고 있다(10). 따라서 이를 근거로 하여 메트릭스에 첨가한 니코틴의 크로마토그램에서 신호 대 잡음비(S/N ratio)가 10 이상이 되는 농도 값을 이용해 다음과 같은 계산식에 의해 정량한계를 산출하였다.

$$\text{Limit of quantitation (mg/kg)} = \frac{a \times b}{w}$$

a: 니코틴의 검출량(mg/L)
b: 최종 희석부피(L)
w: 검체량(kg)

이에 대한 분석법의 정확성을 평가하기 위하여 1, 2 및 4×LOQ (0.4, 0.8 및 1.6 mg/kg) 농도로 회수율을 측정하였다. 분석 크로마토그램으로부터 얻은 피크의 면적을 검량선에 대입하여 시료에 대한 니코틴의 회수율을 구하였고, 5반복 실험을 통해 정확성과 정밀성을 평가하였다.

결과 및 고찰

기기 선정과 HPLC 분석 조건 확인

니코틴 분석을 위한 최적 조건과 기기를 선정하기 위해 증기압, log Pow 등 물리화학적 특성을 고려하였다. 니코틴의 증기압은 5.1×10^{-4} Pa로 비교적 높은 증기압을 나타내기 때문에 가스크로마토그래프(gas chromatograph, GC) 분석법이 가능하며(11), 검출기로는 화합물에 2개의 질소 원자를 함유하고 있어 질소 또는 인 화합물에 대한 선택적으로 감도가 높은 질소-인 검출기(nitogen-phosphorus detector, NPD)와 정확성이 뛰어난 질량분석 검출기(mass-spectrum detector, MSD)를 이용할 수 있다. 또한, log Pow가 1.17로 극성 화합물이며(11), 비교적 장파장인 260 nm를 흡수하기 때문에(7) 자외선 흡광 특성이 우수한 HPLC/UVD와 HPLC/PDA 및 선택성이 높아 정확성이 뛰어난 LC-MS/MS로도 분석이 가능하다.

본 연구에서는 대상 검체인 SFS가 GC 분석 시, 점질성 액상성분인 propylene glycol (PG) 및 glycerine 등이 존재하여 전처리 과정에서 완전히 제거되지 못하고, 고정상에 흡착되거나 완전히 휘발되지 못하는 성질이 있어 HPLC 분석법이 적합할 것으로 판

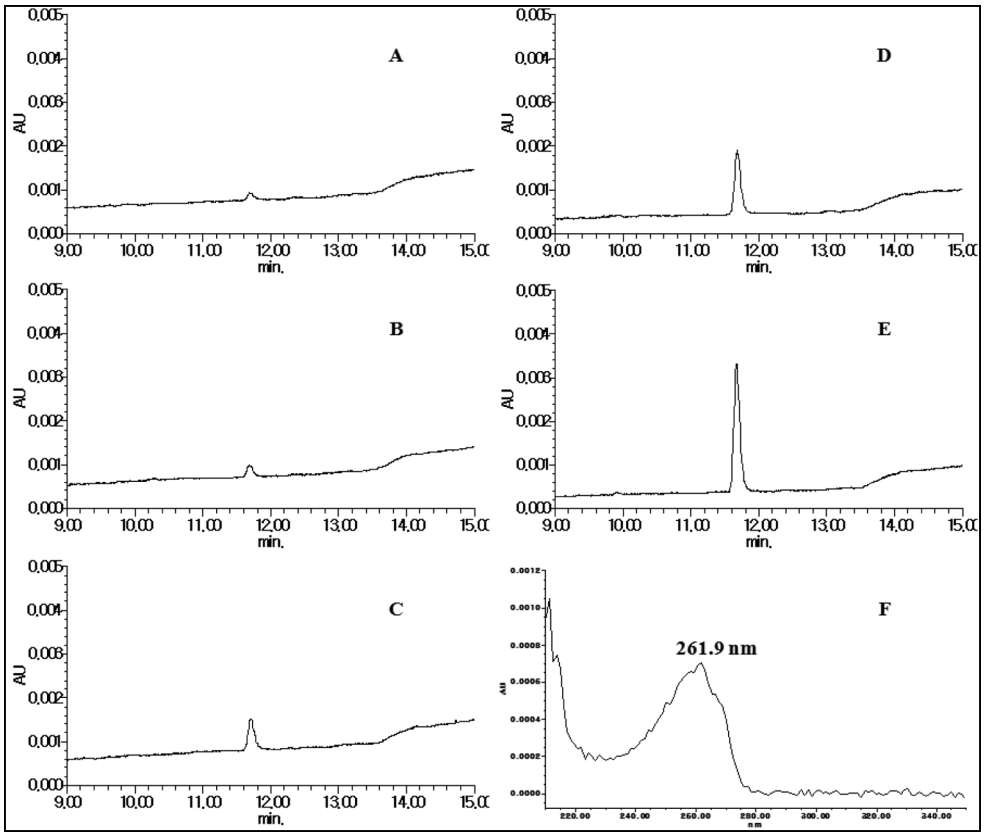


Fig. 1. Chromatogram (A; 0.1 mg/kg, B; 0.2 mg/kg, C; 0.5 mg/kg, D; 1 mg/kg, and E; 2 mg/kg) and spectrum (F) of nicotine standard.

단되었다. 이에 HPLC/PDA를 이용하여 니코틴 표준용액을 210 nm에서 400 nm 범위로 스캔한 결과, 261.9 nm에서 최적의 흡수 파장을 확인하여, 분석을 위한 파장으로 선택하였다(Fig. 1). 이동상의 경우는 Trehy 등(7)의 방법을 인용하였는데, A: 10% 아세토니트릴 함유 20 mM 개미산암모늄(암모니아수로 pH 8.7 조정)과 B: 아세토니트릴을 등 용리 조건으로 시험한 결과, 모두 적당한 머무름 시간과 좋은 피크모양을 보였으나 저감도로 분석되었고, 상기 용리액을 기울기 용리 조건으로 변경한 후 분석한 결과, 알맞은 머무름 시간과 피크모양 그리고 우수한 감도로 분석되어 용리액의 최적 조건으로 선정하였다(Fig. 1).

추출 및 정제과정의 확립

Trehy 등(7)에 의하면 SFS를 원료로 사용하는 전자담배 리필액체의 경우, 어떠한 추출 및 정제과정 없이 적정량 희석만으로도 분석이 가능하다 보고된 바 있다. 따라서 Trehy 등(7)의 방법에 따라 P+G mix 및 SFS를 이동상 A로 적정량 희석하여 분석하였다. 그 결과 Fig. 2와 같이 PG와 glycerine 성분으로만 구성되어 있는 P+G mix의 경우, 간섭물질 및 메트릭스가 검출되지 않아 높은 분리능과 선택성을 확인하였다. 하지만, SFS의 경우, 대상성분인 니코틴의 머무름 시간대에 간섭물질이 확인되었다. 즉, 대상성분인 니코틴은 HPLC 분석 시, SFS의 주요 성분인 PG 및 glycerine과의 분리능이 우수하여 간섭물질의 영향을 받지 않으나, 기타 불순물에 의해 간섭현상이 나타난 것으로 판단된다. 따라서 PG 및 glycerine 외에 기타 성분이 함유되어 있는 경우, 대상 성분의 간섭물질 정제 과정이 필요하였다. 시중에 유통되는 SFS는 PG 및 glycerine 외에 에탄올, 기타 향기성분 및 일부 색소 등의 극성 또는 비극성 물질이 존재한다. 따라서 이러한 간섭물질을 제거하기 위해서는 보편적으로 사용되는 액-액 분배 추출법(liquid-liquid extraction, LLE) 또는 고상카트리지추출법(solid phase extraction, SPE)의 정제법이 필요하였다.

본 연구에서는 니코틴의 물리화학적 특성을 고려해 산-염기 액-액 추출법에 의해 효율적으로 정제하였다. 니코틴은 담배 잎에서 유래된 알칼로이드 물질로서 pKa가 8인 약염기성을 나타낸다(12). 약염기 성분은 짝산의 pKa에 대해 pH를 조절하면, 비극성 물질과 수용성 불순물을 함께 제거할 수 있어 정제효과가 다른 정제법에 비해 월등히 뛰어나다(10). 따라서 점질성 액상 시료인 SFS에 증류수를 가하여 희석해주고, 2 M 수산화나트륨을 가하여 약알칼리성으로 조절하면 이온화가 억압, 유기용매 가용성이 되므로 디클로로메탄으로 분배 추출하여 니코틴이 회수된다. 이를 2 M 염산을 가하여 산성으로 조절하면 니코틴은 해리가 되어 수용성이 되므로 디클로로메탄층으로 분배되지 않아 비극성 불순물이 대부분 제거된다. 다시 5 M 수산화나트륨을 가하여 pH를 알칼리성으로 재차 조절하면 유기용매로 대상성분을 분배 추출함에 따라 니코틴이 회수된다. 따라서 이러한 특성을 이용해 메트릭스에서 문제가 되는 간섭물질(극성 또는 비극성 불순물)을 효과적으로 제거할 수 있었고, 각 단계별로 분석성분에 대해 특성을 파악함으로써 추출 및 정제조건을 확립할 수 있었다.

특이성 및 검량곡선

본 연구의 분석 조건에 대한 특이성을 검증하기 위해, 공시험 분석을 수행한 결과, Fig. 2에서 보는 바와 같이 니코틴의 머무름 시간대에 어떠한 방해물질 또는 메트릭스가 검출되지 않아, 본 분석법의 높은 분리능과 선택성을 확인하였다.

니코틴 표준용액의 직선성을 구하기 위하여 10% 아세토니트

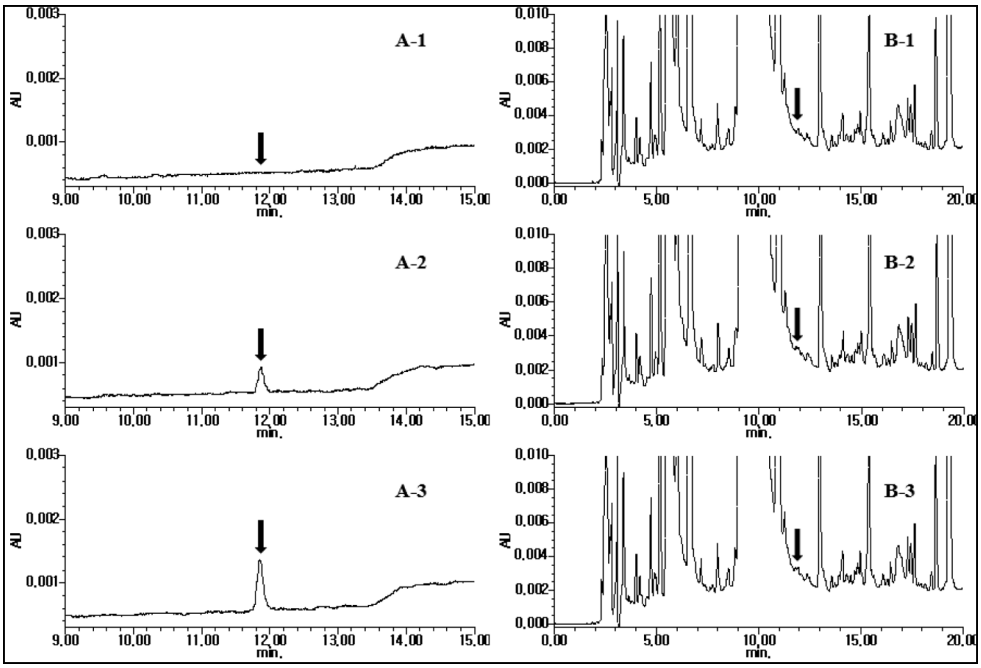


Fig. 2. Chromatograms by direct injection method of propylene glycol+glycerol mixture (P+G mix) and synthetic flavoring substances (SFS) (A-1; P+G mix control, A-2; P+G mix 0.5 mg/kg, A-3; P+G mix 1.0 mg/kg, B-1; SFS control, B-2; SFS 0.5 mg/kg, B-3 SFS 1.0 mg/kg).

Table. 3. Standard curve range, linearity, and r^2 of nicotine

Compound	Standard curve range (mg/L)	Linearity	r^2
Nicotine	0.1-2	y=9230.9709x-451.1437	0.9999

Table 4. Recovery, CV, and LOQ of nicotine in synthetic flavoring substances

Sample	Nicotine			
	Recovery Conc. (mg/L)	Recovery[1)] (%)	CV (%)	LOQ (mg/kg)
Synthetic flavoring substances	0.4	76.40±3.91	5.12	0.4
	0.8	88.78±2.96	3.34	
	1.6	96.28±1.68	1.74	

[1)]Mean values of five replicate with standard deviations

릴로 희석하여 제조한 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2 mg/kg 농도의 표준물질을 상기 분석법으로 측정하였다. 그 결과, 니코틴에 대한 상관계수(r^2)가 0.9999로 우수한 직선성을 나타내었으며(Table 3), 이는 Codex에서 권장하는 r^2>0.95에 충족하였다(8,9).

정량한계 및 회수율

정량한계는 분석결과를 수치화할 수 있는 최저 한계를 의미하는데, 각국 및 기관에서는 보통 S/N 비율 6-10 범위를 상용하고 있으며, 국내에 설정된 기준은 국제 기준을 수용하고 있다(10). 따라서 이를 근거로 하여 메트릭스에 첨가한 니코틴의 크로마토그램에서 S/N 비율이 10 이상이 되는 농도 값을 선택하였다.

분석법의 정밀성 및 정확성을 평가하기 위하여 SFS 시료에 니코틴을 각각 1, 2 및 4×LOQ 농도(0.4, 0.8 및 1.6 mg/kg)가 되도록 표준물질을 첨가하고, 상기 분석 과정을 거쳐 회수율 실험을 수행하였다. 분석 크로마토그램은 표준용액 피크의 머무름 시간과 비교하고, 피크에 대한 면적을 구한 뒤, 검량선을 통해 시험용액 중 니코틴 함량을 확인함으로써 회수율을 구하였고, 5 반복 실험을 통해 정확성과 정밀성을 평가하였다. 회수율 시험 결과, 합성착향료에서의 회수율과 변동계수는 76.40%-96.28% 및 1.74%-5.12%로 나타났다(Table 4 및 Fig. 3). 이는 Codex에서 권장하는 회수율 및 변동계수에 충족하는 결과를 나타내어 합성착향료 중 니코틴 정량분석법으로서 적합함을 확인하였다(8,9).

확인시험

HPLC/PDA를 이용한 니코틴 분석 조건은 설정되었지만, 분석물질에 대한 정성적 확인과 차후 LC-MS/MS를 이용한 분석 조건 설정을 위해 니코틴에 대한 확인 이온을 설정하였다. Full scan mode에서 precursor ion을 질량 스펙트럼을 통해 확인한 다음 collision energy를 설정하여 product ion을 생성한 후 높은 감도와 양호한 스펙트럼을 보이는 이온을 선택하여 최적의 multiple reaction monitoring (MRM) 조건을 설정하였다.

니코틴은 electro-spray ionization (ESI) 방법으로 positive mode에서 높은 감도를 보였으며, 모분자인 *m/z* 163.1에 충돌 에너지를 각각 20, 28 및 14 eV를 가하여 확인이온 *m/z* 130.1, 117.1 및 106.1을 얻어 니코틴에 대한 확인 시험을 확립하였다(Fig. 4).

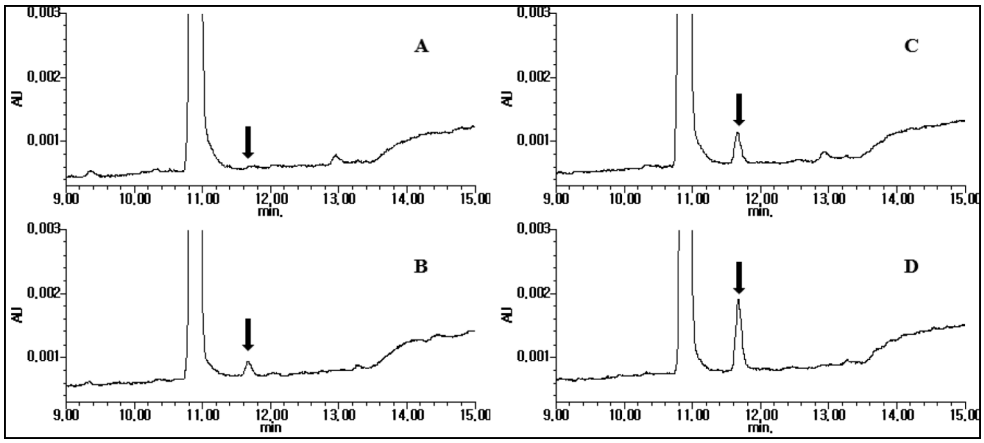


Fig. 3. Chromatograms by liquid-liquid extraction method of synthetic flavoring substances (A; control, B; 0.4 mg/kg, C; 0.8 mg/kg, and D; 1.6 mg/kg).

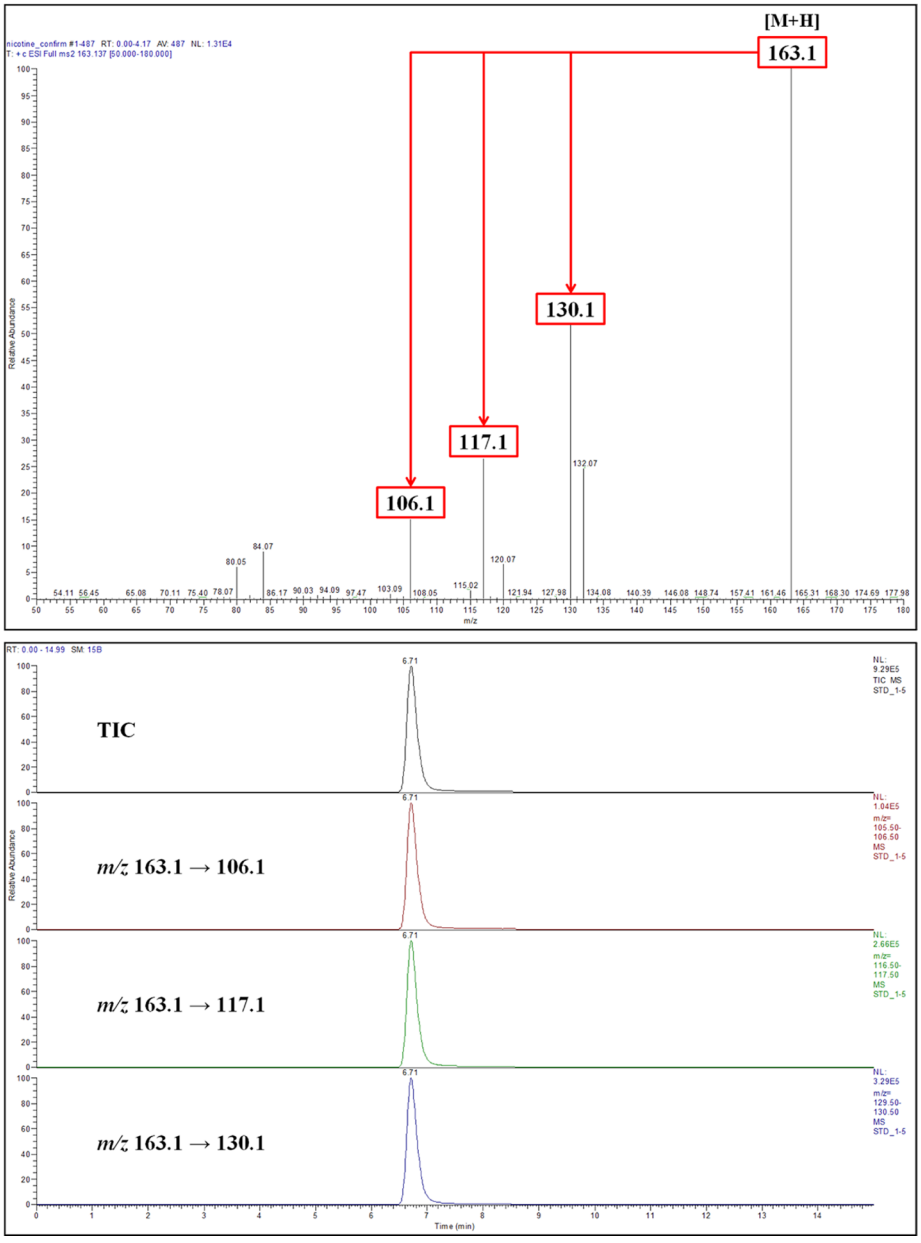


Fig. 4. Precursor ion spectrum, product ion spectrum, and chromatogram (10 ng) of nicotine standard solution.

요 약

전자담배는 무니코틴성이 있는 한편, 니코틴이 함유되어 있는 금연도구로서 사용된다. 전자담배의 구성품 중 액상카트리지는 식품첨가물로 사용되는 합성착향료와 유사한 성분으로 구성되어 있어, 이를 합성착향료로 사용하게 되면, 인체에 유해한 니코틴의 잔류 가능성이 존재한다. 따라서 본 연구는 식품첨가물로 사용되고 있는 합성착향료 중 니코틴 검출 분석법을 개발하였다. 분석에 사용된 검체는 시중에 사용되는 합성착향료를 이용하였다. 검체에 증류수와 디클로로메탄을 가하여 산-염기 액-액 추출법을 이용하여 추출 및 정제과정을 거친 후, 이를 질소 농축하고 이동상으로 재용해하여 HPLC/PDA에 주입하였다. 기기분석은 C_{18} 컬럼을 사용하였고, 20 mM 개미산암모늄 함유 10% 아세토니트릴과 100% 아세토니트릴을 기울기 용리 조건으로 하여 261.9 nm에서 측정하였다. 또한, 액체크로마토그래프-질량분석기를 통해 확인시험을 수행하였으며, 모든 검증은 Codex 가이드라인의 규정에 따라 실시하였다. 그 결과, 니코틴의 정량한계는 0.4 mg/kg 수준이었고, 회수율은 76.40%-96.28%로 나타났다. 또한, 변동계수는 1.74%-5.12%로 Codex 가이드라인 규정에 만족하는 수준이었다. 따라서 개발된 분석법은 식품첨가물에 함유된 니코틴을 분석하기 위한 효율적인 분석법으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2013년도 식품의약품안전처의 연구개발비(13161MFDS017)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. Park JR. The recent research trend about E-cigarettes. Korean Industrial Health Association, Seoul, Korea. pp. 46-55 (2011)
2. MOSF. A study on E-cigarettes management plan. Minstry of Strategy and Finance, Sejong, Korea (2010)
3. Hoofnagle AN, Laha TJ, Rainey PM, Sadrzadeh SMH. Specific detection of anabasine, nicotine, and nicotine metabolites in urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Am. J. Clin. Pathol. 126: 880-887 (2006)
4. Pellegrini M, Marchei E, Rossi S, Vagnarelli F, Durgbanshi A, Garcia-Algar O, Vall O, Pichini S. Liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry assay for determination of nicotine and metabolites, caffeine and arecoline in breast milk. Rapid Commun. Mass Sp. 21: 2693-2703 (2007)
5. Massadeh AM, Gharaibeh AA, Omari KW. A single-step extraction method for the determination of nicotine and cotinine in Jordanian smokers' blood and urine samples by RP-HPLC and GC-MS. J. Chromatogr. Sci. 47: 170-177 (2009)
6. Taghavi S, Khashyarmanesh Z, Haghighi HM, Nassirli H, Eshraghi P, Jalali N, Hassanzadeh-Khayyat M. Nicotine content of domestic cigarettes, imported cigarettes and pipe tobacco in Iran. Addict. Health 4: 28-35 (2012)
7. Trehy ML, Ye W, Hadwiger ME, Moore TW, Allgire JF, Woodruff JT, Ahadi SS, Black JC, Westenberger BJ. Analysis of electronic cigarette catridges, refill solutions, and smoke for nicotine and nicotine related impurities. J. Liq. Chromatogr. R. T. 34: 1442-1458 (2011)
8. Codex Alimentarius Committee. Harmonized IUPAC guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis, CAC/GL 49. Codex, Rome, Italy (2003)
9. Thompson M, Ellison SLR, Wood R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis. Pure Appl. Chem. 74: 835-855 (2002)
10. Lee YD. Practical book of Korea food code pesticide residue analysis method. Ministry of Food and Drug Safety, Cheongwon, Korea. p. 79 (2012)
11. Sigma-Aldrich. Nicotine MSDS. Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA (2012)
12. CRC. CRC handbook of chemistry and physics, 76th ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. pp. 8-54 (1995)