

Establishment of analytical methods for HPHC list of mainstream cigarette smoke

Hyoung-Joon Park, Jin-Hee Lee, So-Hyun Cho, Seok Heo, Chang-yong Yoon and Sun-Young Baek★

*Advanced Analysis Team, Toxicological Evaluation and Research Department, National Institute of Food
and Drug Safety Evaluation, Ministry of Food and Drug Safety, Chungcheongbuk-do 28159, Korea*

(Received February 23, 2015; Revised October 29, 2015; Accepted November 17, 2015)

담배 주류연 중 7개 그룹의 유해성분(HPHC) 분석법 확립 및 유효성 평가

박형준 · 이진희 · 조소현 · 허 석 · 윤창용 · 백선영★

식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 첨단분석팀
(2015. 2. 23. 접수, 2015. 10. 29. 수정, 2015. 11. 17. 승인)

Abstract: Harmful and potentially harmful constituents (HPHCs) are chemical compounds in tobacco smoke that cause harm to smokers and non-smokers. This study established and validated methods for the analysis of HPHCs from mainstream cigarette smoke. The analyzed HPHCs were categorized into seven groups: aromatic amines, volatile organic compounds (VOCs), heavy metals, tobacco specific nitrosamines (TSNAs), benzo[a]pyrene (B[a]P), ammonia, and carbonyl compounds. The methods were validated by specificity, linearity, limit of detection (LOD), accuracy, precision, and recovery. These validated methods were then applied to the reference cigarettes (1R5F, 3R4F). The correlation coefficients (r^2) for the calibration curves of the seven groups were over 0.995. The LODs showed values of 0.01-0.04 ng/cig cig for aromatic amines, 0.01-0.16 µg/cig for VOCs, 0.01-1.27 ng/cig for heavy metals, 0.06-0.28 ng/cig for TSNAs, 0.04 ng/cig for benzo[a]pyrene, 0.08 µg/cig for ammonia, and 0.78-1.77 µg/cig for carbonyl compounds. The precisions obtained from the intra and inter-day batches were less than 15%. The accuracy and the recovery range were less than 15% and 79.2-117.5%, respectively. The proposed methods can therefore be applied for determining HPHCs in tobacco mainstream smoke.

요 약: 본 연구를 통하여 담배 주류연에 포함되어 있는 HPHCs (Harmful and potentially harmful constituents) 중 7개 그룹의 분석법을 확립하였다. 이 7개 그룹에는 방향족 아민, 휘발성 유기화합물, 중금속, 담배특이니트로사민, 벤조[a]피렌, 암모니아, 카르보닐 그룹이 있다. 시험법 검증을 위하여 표준담배인 1R5F와 3R4F를 사용하여 분석법의 특이성, 직선성, 정성한계, 정량한계, 정확도, 정밀도 및 회수율을 확인하였다. 모든 상관계수(r^2)는 0.995 이상 이었고 정성한계는 방향족 아민, 휘발성 유기화합물, 중금속, 담배특이 니트로사민, 벤조[a]피렌, 암모니아, 카르보닐 순으로 0.01-0.04 ng/cig, 0.01-0.16 µg/cig,

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)43-719-5301 Fax : +82-(0)43-719-5300

E-mail : pinus19@korea.kr

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

0.01-1.27 ng/cig, 0.06-0.28 ng/cig, 0.04 ng/cig, 0.08 µg/cig, 0.78-1.77 µg/cig으로 확인되었다. 또한 일간과 일내 상대표준편차는 모두 15% 이하였고, 회수율의 상대표준편차는 15% 이하, 회수율 범위는 79.2-117.5%로 나타났다. 이러한 결과들을 바탕으로 7개 그룹에 대하여 확립된 시험법은 각각의 해당성분을 분석하기에 적합하다고 판단된다.

Key words: 1R5F, 3R4F, cigarette, HPHCs

1. 서 론

흡연으로 인하여 발생하는 질병 및 사망으로 소요되는 비용이 국가에 직, 간접적으로 사회경제적인 부담이 되고 있다.¹ 그 이유는 담배연기에 포함되어 있는 유해한 성분 때문인데, 이러한 담배 연기는 약 4800여종 이상의 화학물질이 고체, 액체, 기체의 형태로 혼합되어 있는 에어로졸의 일종으로 알려져 있고,² 이 중에 약 60여종의 발암물질이 함유되어 있다고 알려져 있다.³ 또한 흡연은 전 세계의 주요 사망원인 8개중 6개 질병의 위험요인으로 알려져 있으며,⁴ 폐암발생과 확실한 인과관계가 있다는 연구 결과보고 또한 있다.^{5,7} 그에 따라 우리나라는 2004년 11월 30일에 세계보건기구 (WHO) 담배규제 기본협약 (Framework Convention on Tobacco control, FCTC) 비준을 완료하였고, 그로부터 90일 뒤 2005년 2월 27일에 정식 국제법으로 효력을 가지게 되었다.⁸ 이 FCTC는 제9조 (담배제품의 성분에 관한 규제)와 제10조 (담배제품의 정보공개에 관한 규제)를 통하여 비준국의 담배제품 성분의 공개 및 관리를 요구하고 있는데, 특히 미국 FDA에서는 연방식품의약품화장품법안 (Federal Food, Drug, and Cosmetic Act) 904조항에 따라 담배 93개 유해성분(Harmful and Potentially Harmful Constituents, HPHCs) 목록을 마련하여 순차적으로 관리하고 있으나 국내에서는 니코틴, 타르를 제외한 다른 성분들에 대한 시험법은 없는 실정이다. 따라서 본 연구를 통하여 담배 연기 주류연 HPHCs 성분 중 방향족 아민성분 (aromatic amines: 1-aminonaphthalene, 2-aminonaphthalene, 3-aminobiphenyl, 4-aminobiphenyl), 휘발성 유기 화합물 성분 (volatile organic compounds: 1,3-butadiene, isoprene, acrylonitrile, benzene, toluene), 중금속 성분 (heavy metals: arsenic, cadmium, chromium, nickel, selenium), 담배특이 니트로사민 성분 (tobacco specific nitrosamines: 4-(N-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, N-nitrososornicotine, N-nitrosoanatabine, N-nitrosoanabasine), 암모니아 (ammonia), 벤조[a]피렌 (benzo[a]pyrene), 카

르보닐 화합물 성분 (carbonyl compounds: formaldehyde, acetaldehyde, acetone, acrolein, propionaldehyde, crotonaldehyde, 2-butanone, n-butyraldehyde)들에 대한 시험법을 확립하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약 및 재료

방향족 아민성분 분석에 사용된 1-aminonaphthalene, 2-aminonaphthalene, 3-aminobiphenyl, 및 4-aminobiphenyl을 toluene에 녹인 aromatic amine standard mixture를 AccuStandard Inc. (New Haven, CT, USA)에서 구입하였고, 내부표준물질로 사용된 2-aminonaphthalene-d₇ 및 4-aminobiphenyl-d₉은 CDN Isotopes Inc. (Quebec, Canada)에서 구입하여 사용하였으며, 그 외 모든 시약은 Sigma Aldrich (St. Louis MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

휘발성 유기화합물 성분 분석에 사용된 1,3-butadiene, isoprene, acrylonitrile, benzene, toluene을 methanol에 녹인 VOCs standard mixture를 AccuStandard Inc. (New Haven, CT, USA)에서 구입하였고, 내부표준물질인 benzene-d₆ 및 그 외 시약들은 Sigma Aldrich사 (St. Louis MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

중금속 성분 분석에 사용된 arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr), nickel (Ni), lead (Pb), selenium (Se) 및 내부표준물질로 사용된 yttrium (Y)등은 모두 Merck사 (Darmstadt, Germany)에서 구입하였고, 그 외 용매들은 Sigma Aldrich (St. Louis MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

담배특이니트로사민 성분 분석에 사용된 4-(N-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, n-nitrososornicotine, n-nitrosoanatabine, 및 n-nitrosoanabasine 및 내부표준물질로 사용된 4-(n-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-2,4,5,6-d₄, n-nitrososornicotine-2,4,5,6-d₄, n-nitrosoanatabine-2,4,5,6-d₄, n-nitrosoanabasine-2,4,5,6-d₄ 등 모두 TRC (Toronto Research Chemicals Inc.,

Table 1. Extraction parameter for the analysis of HPHCs in cigarette main smoke

Group	Trapping unit	Extract solution	ISTD	Analysis
Aromatic amines	92 mm filter	5% HCl	2-aminonaphthalene-d ₇ 4-aminobiphenyl-d ₉	GC/MS
Volatile organic compounds	Impinger	Methanol	Benzen-d ₆	GC/MS
Heavy metals	Electrostatic unit + Impinger	10% HNO ₃	Yttrium	ICP/MS
Tobacco specific nitrosamines	92 mm filter	100 mM ammonium acetate	NNK-d ₄ ^{a)} , NNN-d ₄ ^{b)} NAT-d ₄ ^{c)} , NAB-d ₄ ^{d)}	LC/MS/MS
Benzo[a]Pyrene	92 mm filter	Cyclohexane	Benzo[a]pyrene-d ₁₂	GC/MS
Ammonia	92 mm filter + Impinger	0.1 N H ₂ SO ₄	-	IC/CD
Carbonyl compounds	Impinger	2,4-DNPH solution	-	HPLC/PDA

^{a)}4-(N-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-2,4,5,6-d₄

^{b)}N-nitrosornicotine-2,4,5,6-d₄

^{c)}N-nitrosoanatabine-2,4,5,6-d₄

^{d)}N-nitrosoanabasine-2,4,5,6-d₄

ON, Canada)사에서 구입하여 사용하였고, 그 외 모든 시약은 Sigma Aldrich (St. Louis MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

벤조[a]피렌 분석에는 benzo[a]pyrene과 내부표준물질로 사용된 benzo[a]pyrene-d₁₂ 및 모든 시약들 모두 Sigma Aldrich사 (St. Louis MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

암모니아 분석에 사용된 ammonium sulfate 및 모든 시약은 Sigma Aldrich사 (St. Louis MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

카르보닐 화합물 분석에 사용된 formaldehyde-2,4-DNPH, acetaldehyde-2,4-DNPH, acetone-2,4-DNPH, acrolein-2,4-DNPH, propionaldehyde-2,4-DNPH, crotonaldehyde-2,4-DNPH, 2-butanone-2,4-DNPH, n-butyraldehyde-2,4-DNPH 모두 Supelco (Pennsylvania, USA)사에서 구입하였으며, 유도체 시약으로 쓰인, 2,4-dinitrophenylhydrazine, tetrahydrofuran 및 sodium hydroxide는 Sigma Aldrich사 (St. Louis MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 또한 모든 실험에 샘플로 사용된 표준담배 1R5F와 3R4F는 University of Kentucky (Lexington, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

2.2. 담배 흡연 기기 및 조건

자동흡연장치인 RM20H (Borgwalt KC, Germany)를 이용하여 흡연하였고, 표준담배는 ISO⁹ 흡연 조건하에 따라 흡연 전에 상대습도 60±3%와 온도 22±1 °C로 조절되는 항온습습기 (VS-9111H, 비전과학, 한국)에서

최소 48시간 이상, 최대 10일 전까지 조화한 후 사용하였으며, 담배흡연은 상대습도 60±5%와 온도 22±2 °C로 유지되는 흡연실에서 실시하였다. HPHCs 성분 분석에 이용한 추출 조건과 장비는 Table 1과 같다.

2.3. 시료 추출

방향족 아민 성분의 포집 및 전처리 방법은 Health Canada¹⁰ 방법을 참고하였다. 담배연기 성분을 RM20H를 이용하여 92 mm cambridge filter pad (CFP : Borgwaldt KC, Germany)로 포집하였다. 담배연기 성분이 포집된 CFP를 5% HCl 100 mL를 이용하여 30분간 초음파 추출하고, whatman filter No. 2 (Whatman, USA)로 걸러서 separatory funnel에 담은 후, 200 ng/mL 농도의 내부표준용액 100 µL과 dichloromethane 50 mL를 넣고 잘 흔들어 준 다음 방치한 후, dichloromethane층 (아래층)은 버리는 작업을 2회 반복하였다. 남은 잔사에 천천히 50% NaOH 용액 10-15 mL를 이용하여 pH 12이상이 되도록 맞춘 후, hexane 50 mL을 가하고 잘 흔들어 준 후 방치한 후, 물층 (아래층)은 비커에 따로 모았고, hexane층 (위층)은 sodium sulfate anhydrous 약 100 g이 담긴 whatman filter 1PS (Whatman, USA)에 걸러 수분을 제거하고 500 mL round bottom flask에 모았다. 따로 모아둔 물층을 다시 separatory funnel에 넣고 hexane 50 mL를 가하여 흔들어 준 후 방치하였고, 이 과정을 3회 반복하였다. hexane 50 mL로 separatory funnel를 한번 헹구준 후, 500 mL round bottom flask에 모은 후, trimethylamine

(TMA) 용액 50 μL 와 pentafluoropropionic anhydride (PFPA) 50 μL 를 가한 후, 실온에서 30 분간 반응시켰다. 그 다음 진공원심농축기 (Eyela, Japan)를 이용하여 거의 마를 정도로 농축시킨 후, SPE clean up system을 이용하여 정제 시킨 후, 다시 진공원심농축기를 이용하여 농축시킨 후 hexane 1 mL로 재용해하여 vial로 옮긴 다음 분석하였다.

휘발성 유기화합물 성분의 포집 및 전처리 방법은 CORESTA¹¹ 방법을 참고하였다. RM20H기에 필터홀더를 제거한 뒤 2개의 impinger를 연결하였다. 이 impinger에 포집용매인 methanol을 20 mL씩 넣고 -70 °C 2-propanol에 담겨서 담배연기성분을 포집하였다. 그 후 각각의 담배연기성분이 포집된 methanol을 50 mL volumetric flask에 넣고, 내부표준물질과 methanol로 눈금까지 채운 후 시료로 사용 하였다.

중금속 성분 분석의 포집 및 전처리 방법은 Health Canada¹² 방법을 응용하였다. RM20H에 필터홀더를 제거한 후, electrostatic unit (Borgwaldt KC, Germany)을 장착 한 후, electronic tube와 10% nitric acid가 20 mL 첨가된 impinger 한 개를 후에 연결하여 포집하였다. 담배연기성분을 포집 후, electronic tube에 포집되어진 성분들을 methanol로 추출하여 microwave oven용 용기에 내부표준물질과 함께 첨가 후, heating block을 이용하여 methanol을 전부 증발 시켰다. 그 다음 impinger의 10% 질산 용액과 hydrogen peroxide 4 mL를 합하고 또 10% nitric acid 15 mL를 넣은 후, microwave oven (smart D, Milestone INC, USA)에서 전처리를 실시하였다. 그 다음 50 mL plastic volumetric flask에 옮긴 후, 눈금까지 10% nitric acid로 채운 후, 시료로 사용 하였다.

담배 특이 니트로사민 성분 포집 및 전처리 방법은 CORESTA¹³ 방법을 응용하였다. RM20H를 이용하여 CFP에 담배연기성분을 포집 하였다. 이 담배연기가 포집된 CFP를 100 mM ammonium acetate 용액 40 mL를 첨가하여 horizontal shaker (HS 260, IKA, Germany)를 이용하여 60 분간 210 rpm으로 교반하여 시료를 추출한 후, 0.22 μm 의 syringe filter를 이용하여 필터링 후 시료로 사용 하였다.

벤조[a]피렌의 포집 및 전처리방법은 BAT¹⁴ 분석 방법을 응용하였다. RM20H를 이용하여 CFP에 담배연기성분을 포집 하였다. 이 담배연기가 포집된 CFP를 conical flask에 넣은 후, 내부표준물질과 cyclohexane을 40 mL 첨가 후 horizontal shaker (HS 260, IKA, Germany)를 이용하여 60분간 210 rpm 교반시킨 후, 그

추출물을 SPE clean up system을 거친 후, cyclohexane 1 mL로 정용하여 시료로 사용 하였다.

암모니아의 포집 및 전처리방법은 Health Canada¹⁵ 방법을 응용하였다. RM20H기기로 CFP에 30 mL 0.1 N sulfuric acid가 각각 채워진 impinger 2개를 연결하여 담배연기성분을 포집하였다. 담배연기성분이 포집된 CFP와 impinger 용액을 conical flask에 넣고, 동량의 3차 증류수 (60 mL)를 첨가해 30 분간 방치하여 추출 한 후, 0.45 μm 의 syringe filter로 여과하여 vial에 담은 후 시료로 사용 하였다.

카르보닐 화합물 성분의 포집 및 전처리방법은 BAT¹⁶ 방법을 응용하였다. CFP 홀더를 제거한 후 impinger 3개를 연결하였다. 이 impinger 3개에 추출용매 acetonitrile로 녹인 약 2.5 mg/mL 농도의 2,4-DNPH 용액을 각각 30 mL씩 넣고 담배연기성분을 포집한 후, 3개의 impinger 안에 있는 추출용매를 혼합하였다. 추출용매 0.5 mL와 완충용액 0.5 mL를 혼합하여 시료로 사용 하였다.

2.4. 시료분석

방향족 아민 성분은 GC/MS (Agilent 7890A/5975C MSD, Agilent, USA)를 이용하였고 분석 컬럼은 DB-5MS (30 m \times 0.25 mm I.D. \times 0.25 μm) 컬럼을 사용하였고, 오븐은 80 °C에서 2 분간 멈춘 후 10 °C/min의 속도로 220 °C까지 가열한 후 다시 20 °C/min의 속도로 300 °C까지 가열한 후 10 분간 멈추었다. Injector 온도는 280 °C, splitless mode, 유속은 1 mL/min의 조건으로 분석하였고, electron impact ionization (EI) 방법으로 selected ion monitoring (SIM) mode를 이용하여 분석하였다.

휘발성 유기화합물 성분은 GC/MS (Agilent 7890A/5975C MSD, Agilent, USA)로 분석하였고, 컬럼은 DB-624 (60 m \times 0.25 mm \times 1.4 μm)를 사용하여 분석하였다. 이동상은 헬륨 (1.3 mL/min)으로, inlet은 split (1 μL)로 150 °C로 하였으며, SIM mode로 분석하였다. 오븐의 설정은 40 °C로 6분간 유지 후 225 °C까지 20 °C/min으로 승온시켜서 분석하였다.

중금속 성분은 ICP-MS (ELAN DRC II, Perkin elmer, USA)를 이용하였고, nebulizer gas flow rate 1.5 L/min, auxiliary gas flow 2 L/min, plasma gas flow 20 L/min, ion lens voltage는 auto lens로 6 voltage를 사용하였다. RF power는 1.6 kW, RPq는 0.24, Cr을 제외한 나머지는 standard mode로 분석하였고, Cr은 DRC mode로 분석하였다.

담배특이니트로사민 성분은 HPLC (Agilent 1200 HPLC, Agilent, USA)에 API 4000 triple quadrupole (AB sciex, USA)가 결합된 LC-MS/MS 분석법을 이용하였고, 분석 컬럼은 eclipse Plus C₁₈ (2.1×50 mm, 3.5 μm), 이동상은 2 mM ammonium acetate(A)와 0.01% formic acid in acetonitrile (B), 컬럼 온도는 40 °C로 유지시켜 분석하였다. 용매조건은 2% B로 4분까지 98% B의 용매비율로 증가 후 3분간 유지한 후, 8분까지 초기 용매조건으로 용매비율을 감소 후 7분간 유지시켜 사용하였다. 이동상의 유속은 0.2 mL/min, 주입량은 2 μL로 분석하였고, 질량분석은 positive-mode electrospray ionization (ESI) 방법을 이용하였으며, curtain collision gas는 각각 25, 4 mL/min, ion voltage는 5500 V, ion source gas 50, source 온도는 600 °C로 설정한 후 분석하였다.

벤조[a]피렌 성분은 GC/MS (Agilent 7890A/5975C MSD, Agilent, USA)로 분석하였고, 컬럼은 DB-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 μm)를 사용하여 분석하였다. 이동상은 헬륨 (1.3 mL/min)로, inlet은 split (1 μL)로 320 °C로 하였으며, SIM mode로 분석하였다. 오븐의 설정은 100 °C로 3분간 유지 후 300 °C까지 20 °C/min으로 승온시키고 5분간 유지시켜 분석하였다.

암모니아 분석은 IC/CD (Dionex ICS-5000/CD, Dionex, USA)를 사용하였고, 컬럼은 5×250 mm 규격의 Dionex ionPac™ CS16 컬럼과 Dionex ionPac™ CG16 guard 컬럼을 이용하였다. 시료의 전도도를 높여 주기 위해 4 mm 규격의 Dionex CERS 500 suppressor를 사용하였고, 컬럼은 40 °C, cell heater는 35 °C, compartment는 30 °C로 항온을 유지하였다. 이동상으로는 20 mM methanesulfonic acid (MSA), suppressor current 값은 88 mA, 시료는 35 μL를 주입하여 1.5 mL/min의 유속으로 20분간 분석하였다.

카르보닐 화합물 성분은 HPLC (Agilent 1200 HPLC, Agilent, USA)로 분석하였고, 컬럼은 eclipse XDB C₁₈ (4.6 mm×250 mm×5 μm)을 사용하여 분석하였다. 이동상은 20% tetrahydrofuran in DW(A)와 100% acetonitrile(B)를 사용하였다. 용매 조건은 A 80%에서 10분까지 75% 감소시켰고 다시 30분까지 40%로 감소, 35분까지 초기 용매 조건으로 용매비율을 증가시킨 후, 기기의 안정화를 위하여 5분간 유지 하였다. 이동상의 유속은 1.5 mL/min, 주입량은 10 μL로 하였고, 검출기는 UV, 파장은 360 nm로 선택하였고, 컬럼 온도는 30 °C로 유지 하면서 분석하였다.

모든 성분의 분석법은 직선성, 검출한계, 정밀도, 정

확도, 회수율 등에 의하여 분석방법의 적합성을 평가 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 직선성 및 검출한계 검토

모든 분석 성분들의 직선성은 결정계수 (r^2)로 검토 하였다. 방향족 아민성분들 4종의 결정계수 (r^2)는 모두 0.999 이상으로 나타났고, 휘발성 유기 성분들 중 1,3-butadiene 성분이 0.997, 나머지 4개의 성분들은 모두 0.999 이상으로 나타났으며, 중금속 성분 6종 또한 모두 0.999 이상으로 나타났고, 담배특이 니트로사민 성분 4종 또한 모두 0.999 이상으로 나타났으며, 벤조[a]피렌 성분은 0.999 이상으로 나타났고, 암모니아 성분은 0.995 이상으로 나타났으며, 카르보닐 화합물 8 성분 모두 0.999 이상의 결정계수 (r^2)를 나타내었다 (Table 2).

또한 각 성분들의 검출한계는 다음과 같았다. 먼지 방향족 아민성분들의 검출한계는 1-aminonaphthalene, 2-aminonaphthalene, 3-aminobiphenyl, 4-aminobiphenyl 순으로 0.01, 0.01, 0.02, 0.01 ng/cig으로 나타났고, 휘발성 유기 성분들은 1,3-butadiene, isoprene, acrylonitrile, benzene, toluene 등의 순으로 0.04, 0.16, 0.08, 0.02, 0.01 μg/cig으로 나타났으며, 중금속 성분들은 arsenic, cadmium, chromium, nickel, lead, selenium의 순으로 0.16, 1.27, 1.00, 0.70, 0.05, 0.01 ng/cig로 나타났고, 담배특이 니트로사민 성분들은 4-(n-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, n-nitrososnicotine, n-nitrosoanatabine, n-nitrosoanabasine 순으로 0.14, 0.28, 0.06, 0.22 ng/cig 로 나타났으며, 벤조[a]피렌 성분은 0.04 ng/cig, 암모니아 성분은 0.08 μg/cig, 카르보닐 화합물 성분인 formaldehyde, acetaldehyde, acetone, acrolein, propionaldehyde, crotonaldehyde, 2-butanone, n-butyraldehyde 는 0.78, 1.77, 1.26, 0.96, 0.90, 1.07, 0.93, 0.93 μg/cig로 나타났다 (Table 2).

3.2. 분석 정확성 및 정밀도 검토

정확도 및 정밀도는 1 개 및 5 개의 표준 농도를 설정하여 동일 조건 하에서 일내 (intra-day) 6 회 반복 및 일간 (inter-day) 3회 반복으로 시험하였으며, 정밀도는 상대표준편차(RSD)로, 정확도는 % (accuracy)로 각각 표현하였다. 일내 (intra day) 반복성은 방향족 아민성분 1-aminonaphthalene, 2-aminonaphthalene, 3-aminobiphenyl, 4-aminobiphenyl 순으로 정밀도는 1.8,

Table 2. Limit of detection (LOD), limit of quantitation (LOQ) and linearity for each analysis method of abbreviated HPHC list compounds

	Analyte	R ²	LOD	LOQ
Aromatic amine compounds	1-Aminonaphthalene	0.999	0.01 ng/cig	0.03 ng/cig
	2-Aminonaphthalene	0.999	0.01 ng/cig	0.03 ng/cig
	3-Aminobiphenyl	0.999	0.02 ng/cig	0.06 ng/cig
	4-Aminobiphenyl	0.999	0.01 ng/cig	0.04 ng/cig
Volatile organic compounds	1,3-Butadiene	0.997	0.04 µg/cig	0.15 µg/cig
	Isoprene	0.999	0.16 µg/cig	0.53 µg/cig
	Acrylonitrile	0.999	0.08 µg/cig	0.26 µg/cig
	Benzene	0.999	0.02 µg/cig	0.05 µg/cig
	Toluene	0.999	0.01 µg/cig	0.03 µg/cig
Heavy metal compounds	Arsenic	0.999	0.16 ng/cig	0.52 ng/cig
	Cadmium	0.999	1.27 ng/cig	4.24 ng/cig
	Chromium	0.999	1.00 ng/cig	3.50 ng/cig
	Nickel	0.999	0.70 ng/cig	2.33 ng/cig
	Lead	0.999	0.05 ng/cig	0.18 ng/cig
	Selenium	0.999	0.01 ng/cig	0.03 ng/cig
Tobacco-specific nitrosamines	NNK ^{a)}	0.999	0.14 ng/cig	0.46 ng/cig
	NNN ^{b)}	0.999	0.28 ng/cig	0.95 ng/cig
	NAT ^{c)}	0.999	0.06 ng/cig	0.20 ng/cig
	NNB ^{d)}	0.999	0.22 ng/cig	0.74 ng/cig
B[a]P	Benzo[a]pyrene	0.999	0.04 ng/cig	0.12 ng/cig
Ammonia	Ammonia	0.995	0.08 µg/cig	0.27 µg/cig
Carbonyl compounds	Formaldehyde	0.999	0.78 µg/cig	2.59 µg/cig
	Acetaldehyde	0.999	1.77 µg/cig	5.92 µg/cig
	Acetone	0.999	1.26 µg/cig	4.22 µg/cig
	Acrolein	0.999	0.96 µg/cig	3.19 µg/cig
	Propionaldehyde	0.999	0.90 µg/cig	3.01 µg/cig
	Crotonaldehyde	0.999	1.07 µg/cig	3.56 µg/cig
	2-Butanone	0.999	0.93 µg/cig	3.12 µg/cig
	n-Butyraldehyde	0.999	0.93 µg/cig	3.11 µg/cig

^{a)} 4-(N-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-2,4,5,6-d₄

^{b)} N-nitrosornicotine-2,4,5,6-d₄

^{c)} N-nitrosoanatabine-2,4,5,6-d₄

^{d)} N-nitrosoanabasine-2,4,5,6-d₄

2.7, 0.6, 1.1%로, 정확도는 101.5, 102.8, 97.7, 100.1%로 나타났고, 휘발성 유기 성분들은 1,3-butadiene, isoprene, acrylonitrile, benzene, toluene 순으로 정밀도는 6.0, 3.4, 1.4, 0.4, 2.4%로, 정확도는 83.9, 98.6, 104.1, 106.0, 99.1%로 나타났으며, 중금속 성분들의 정밀도는 arsenic, cadmium, chromium nickel, lead, selenium 순으로 0.8, 0.6, 0.7, 0.5, 0.8, 3.7%로, 정확도는 96.0, 97.4, 96.7, 96.4, 95.4 101.2%로 나타났고, 담배특이 니트로사민 성분들은 4-(n-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, n-nitrosornicotine, n-nitro-

soanatabine, n-nitrosoanabasine 순으로 6.1, 3.8, 3.0, 5.7%로, 정확도는 109.7, 89.2, 101.5, 92.4%로 나타났으며, 벤조[a]피렌 성분은 정밀도 1.7%, 정확도 98.5%로 나타났고, 암모니아 성분의 정밀도는 2.1%, 정확도는 109.9%로 나타났다. 또한 카르보닐 화합물 성분들인 formaldehyde, acetaldehyde, acetone, acrolein, propionaldehyde, crotonaldehyde, 2-butanone, n-butyraldehyde 순으로 정밀도 1.4, 1.4, 1.3, 1.3, 1.3, 1.4, 1.3, 1.3%로, 정확도는 83.0, 89.0, 85.0, 84.5, 82.5, 83.1, 84.7, 84.0%로 나타났다. 또한 일간(inter day) 반복성은 방향족 아민성

Table 3. RSD(relative standard deviation) and accuracy of the intra and inter day

Group	Compounds	Intra day(n=6)	Inter day(n=3)						
			1	2	3	4	5		
Aromatic amines	1-Aminonaphthalene	mean	101.3	24.8	48.1	101.6	199.0	398.7	
		RSD	1.8	6.3	2.5	5.9	0.3	0.3	
		accuracy	101.5	99.6	96.5	101.9	99.8	100.0	
	2-Aminonaphthalene	mean	103.2	26.0	50.7	103.1	207.1	410.5	
		RSD	2.7	7.8	6.5	6.1	8.4	3.8	
		accuracy	102.8	103.7	101.0	102.7	103.1	102.2	
	3-Aminobiphenyl	mean	19.7	5.2	9.9	19.9	39.5	81.1	
		RSD	0.6	2.3	1.9	0.8	1.5	0.4	
		accuracy	97.7	103.2	98.4	98.7	98.0	100.6	
	4-Aminobiphenyl	mean	20.2	5.2	10.0	20.0	39.8	81.2	
		RSD	1.0	3.3	0.7	1.4	1.6	0.4	
		accuracy	100.1	102.7	98.8	98.7	98.5	100.5	
Volatile organic compounds	1,3-butadiene	mean	5.4	3.2	5.0	11.5	27.2	60.3	
		RSD	6.0	6.8	13.0	14.1	6.9	4.7	
		accuracy	83.9	108.4	85.1	78.3	92.5	102.5	
	Isoprene	mean	16.9	9.5	16.1	39.5	88.5	182.2	
		RSD	3.4	3.7	7.9	4.4	3.2	1.8	
		accuracy	98.6	105.3	89.6	87.9	98.4	101.2	
	Acrylonitrile	mean	5.8	3.2	5.8	13.8	29.0	60.7	
		RSD	1.4	4.2	3.1	4.2	4.3	1.4	
		accuracy	104.1	108.3	96.4	92.0	96.7	101.3	
	Benzene	mean	5.9	3.2	5.8	14.1	29.6	60.5	
		RSD	0.4	1.8	2.5	2.0	3.2	0.8	
		accuracy	106.0	105.4	96.5	94.2	98.6	100.7	
	Toluene	mean	5.8	3.5	5.6	13.6	28.8	60.6	
		RSD	2.4	5.8	5.4	6.8	4.9	1.6	
		accuracy	99.1	109.0	94.4	91.1	96.6	101.4	
	Heavy metal compounds	Arsenic	mean	2.3	0.4	0.8	2.4	4.8	8.0
			RSD	0.8	2.6	1.7	0.5	0.9	0.3
			accuracy	96.0	100.0	97.5	98.8	99.8	100.2
Cadmium		mean	11.7	2.0	4.0	11.9	23.9	40.1	
		RSD	0.6	0.4	0.4	0.2	0.4	0.1	
		accuracy	97.4	99.1	98.9	99.4	99.7	100.2	
Chromium		mean	4.6	0.7	1.5	4.7	9.5	16.1	
		RSD	0.7	2.6	1.4	0.7	0.4	0.2	
		accuracy	96.7	93.9	95.4	97.8	98.8	100.7	
Nickel		mean	4.6	0.8	1.5	4.7	9.6	16.0	
		RSD	0.5	3.8	2.1	1.2	0.6	0.17	
		accuracy	96.4	94.5	96.8	98.3	100.0	100.2	
Lead		mean	2.3	0.4	0.8	2.4	4.8	8.0	
		RSD	0.8	2.3	0.7	0.4	0.6	0.1	
		accuracy	95.4	95.3	105.0	99.5	99.7	100.1	
Selenium		mean	2.4	0.4	0.8	2.4	4.7	8.0	
		RSD	3.7	8.1	9.9	3.7	1.6	1.0	
		accuracy	101.2	90.0	102.0	98.1	98.9	100.5	

Table 3. Continued

Group	Compounds	Intra day(n=6)	Inter day(n=3)					
			1	2	3	4	5	
Tobacco specific nitrosamines	NNK ^{e)}	mean	22.3	3.5	8.1	21.1	42.6	80.2
		RSD	6.1	9.8	0.8	2.4	3.3	0.8
		accuracy	109.7	85.2	99.1	103.8	104.8	98.7
	NNN ^{d)}	mean	19.2	3.8	8.5	22.8	43.3	85.6
		RSD	3.8	13.9	2.7	4.0	4.9	1.2
		accuracy	89.2	89.1	98.6	105.9	100.8	99.6
	NAT ^{e)}	mean	20.3	3.6	7.8	21.0	40.8	79.5
		RSD	3.0	1.5	1.6	0.5	0.8	0.2
		accuracy	101.5	91.1	97.4	104.9	102.1	99.3
	NAB ^{b)}	mean	4.6	0.9	1.9	5.2	10.2	19.9
		RSD	5.7	8.8	3.6	3.0	3.0	0.8
		accuracy	92.4	90.7	97.2	104.8	101.9	99.4
B[a]P	Benzo[a]pyrene	mean	25.7	6.7	12.5	24.8	52.5	69.5
		RSD	1.7	1.7	2.0	2.2	0.9	0.9
		accuracy	98.5	111.3	104.1	95.1	100.7	99.1
Ammonia	Ammonia	mean	1.2	0.5	1.2	2.6	5.8	10.3
		RSD	2.1	4.8	4.5	3.4	4.2	4.5
		accuracy	109.9	89.3	113.9	117.1	107.1	94.2
Carbonyl compounds	Formaldehyde	mean	1.0	0.3	1.0	2.4	4.7	9.3
		RSD	1.4	0.5	0.4	0.2	0.1	0.0
		accuracy	83.0	111.5	86.0	101.5	100.9	99.9
	Acetaldehyde	mean	2.7	0.7	2.6	6.2	12.4	24.5
		RSD	1.4	0.5	0.4	0.2	0.1	0.0
		accuracy	89.0	111.2	85.9	101.6	100.9	99.9
	Acetone	mean	1.6	0.4	1.6	3.8	7.5	14.9
		RSD	1.3	0.5	0.4	0.2	0.1	0.0
		accuracy	85.0	111.4	85.9	101.5	100.9	99.9
	Acrolein	mean	1.2	0.3	1.2	2.8	5.7	11.3
		RSD	1.3	0.5	0.4	0.2	0.1	0.0
		accuracy	84.5	111.5	86.0	101.5	100.9	99.9
	Propionaldehyde	mean	1.1	0.3	1.2	2.7	5.4	10.7
		RSD	1.3	0.6	0.3	0.2	0.1	0.0
		accuracy	82.5	111.4	86.0	101.55	100.9	99.9
	Crotonaldehyde	mean	1.3	0.3	1.3	3.2	6.3	12.5
		RSD	1.4	0.5	0.4	0.1	0.1	0.0
		accuracy	83.1	112.4	85.9	101.5	100.8	99.9
	2-Butanone	mean	1.1	0.3	1.1	2.5	5.0	10.0
		RSD	1.3	0.5	0.4	0.2	0.1	0.0
		accuracy	84.7	111.7	85.9	101.5	100.9	99.9
	n-Butyraldehyde	mean	1.0	0.3	1.1	2.5	5.0	10.0
		RSD	1.3	0.4	0.2	0.3	0.2	0.0
		accuracy	84.0	111.2	85.8	101.5	101.0	99.9

^{a)}4-(N-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone

^{b)}N-nitrosomnicotine

^{c)}N-nitrosoanatabine

^{d)}N-nitrosoanabasine

분 1-aminonaphthalene, 2-aminonaphthalene, 3-amino-biphenyl, 4-aminobiphenyl 순으로 정밀도는 0.3-6.3, 3.8-8.4, 0.4-2.3, 0.7-3.3%로 정확도는 96.5-101.9, 101.0-103.7, 98.4-103.2, 98.5-102.7%로 나타났고, 휘발성 유기 성분들은 1,3-butadiene, isoprene, acrylonitrile, benzene, toluene 순으로 정밀도는 4.7-14.1, 1.8-7.9, 1.4-4.3, 0.8-3.2, 1.6-6.8%로, 정확도는 78.3-108.4, 87.9-105.3, 92.0-108.3, 94.2-105.4, 91.1-109.0%로 나타났으며, 중금속 성분들의 정밀도는 arsenic, cadmium, chromium, nickel, lead, selenium 순으로 0.3-2.6, 0.1-0.4, 0.2-2.6, 0.6-3.8, 0.1-2.3, 1.0-9.9%로, 정확도는 97.5-100.2,

98.9-100.2, 93.9-100.7, 94.5-100.2, 95.3-105.0, 90.0-102.0%로 나타났고, 담배특이 니트로사민 성분들은 4-(n-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, n-nitrosos-nornicotine, n-nitrosoanatabine, n-nitrosoanabasine 순으로 정밀도는 0.8-9.8, 1.2-13.9, 0.2-1.6, 0.8-8.8%로, 정확도는 85.2-104.8, 89.1-105.9, 91.1-104.9, 90.7-104.8%로 나타났으며, 벤조[a]피렌 성분은 정밀도 0.9-2.2%, 정확도 95.1-111.3%로 나타났고, 암모니아 성분의 정밀도는 3.4-4.8%, 정확도는 89.3-117.1%로 나타났다. 또한 카르보닐 화합물 성분들인 formaldehyde, acetaldehyde, acetone, acrolein, propionaldehyde, crotonaldehyde, 2-

Table 4. Percent recovery for the HPHC group

Group	Compound	Spike amount	RSD(%)	Recovery(%)
Aromatic amines	1-Aminonaphthalene	10.0 ng/cig	5.7	102.4
	2-Aminonaphthalene	10.0 ng/cig	4.3	96.0
	3-Aminobiphenyl	2.0 ng/cig	2.9	84.7
	4-Aminobiphenyl	2.0 ng/cig	3.2	85.6
VOCs	1,3-butadiene	10.0 µg/cig	6.2	103.1
	Isoprene	10.0 µg/cig	3.0	105.6
	Acrylonitrile	10.0 µg/cig	2.5	104.9
	Benzene	10.0 µg/cig	3.2	103.4
	Toluene	10.0 µg/cig	2.3	117.4
Heavy metals	As	5.0 ng/cig	0.5	98.7
	Cd	50.0 ng/cig	0.4	97.8
	Cr	5.0 ng/cig	0.4	103.4
	Ni	12.5 ng/cig	1.3	113.5
	Pb	12.5 ng/cig	0.4	98.5
	Se	2.5 ng/cig	0.2	93.8
TSNAs	NNK ^{a)}	4.0 ng/cig	12.1	89.9
	NNN ^{b)}	4.0 ng/cig	6.8	99.7
	NAT ^{c)}	4.0 ng/cig	14.6	109.1
	NAB ^{d)}	1.0 ng/cig	9.5	91.4
B[a]P	Benzo[a]pyrene	7.0 ng/cig	1.9	94.9
Ammonia	Ammonia	12.0 µg/cig	16.6	98.6
Carbonyl compounds	Formaldehyde	75.6 µg/cig	0.8	99.5
	Acetaldehyde	106.2 µg/cig	11.5	98.7
	Acetone	84.9 µg/cig	1.8	100.8
	Acrolein	73.1 µg/cig	1.8	100.8
	Propionaldehyde	66.6 µg/cig	1.1	102.3
	Crotonaldehyde	70.7 µg/cig	0.8	96.9
	2-butanone	91.9 µg/cig	4.2	79.2
	n-Butyraldehyde	96.4 µg/cig	0.6	102.7

^{a)}4-(N-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-2,4,5,6-d₄

^{b)}N-nitrosos-nornicotine-2,4,5,6-d₄

^{c)}N-nitrosoanatabine-2,4,5,6-d₄

^{d)}N-nitrosoanabasine-2,4,5,6-d₄

butanone, n-butyraldehyde 순으로 정밀도 0-0.5, 0-0.5, 0-0.5, 0-0.5, 0-0.6, 0-0.5, 0-0.5, 0-0.4%로, 정확도는 56.0-111.5, 85.9-111.2, 85.9-111.4, 86.0-111.5, 86.0-111.4, 85.9-112.4, 85.9-111.7, 85.8-111.2%로 나타났다 (Table 3).

3.3. 회수율 검토

회수율 시험은 표준품 첨가법을 사용하여 분석하였다. 즉 담배연기 성분을 포함한 후 표준용액을 첨가하고, 동일한 전처리 과정을 실시하였다. 그 결과 방향족 아민성분들의 회수율은 1-aminonaphthalene, 2-aminonaphthalene, 3-aminobiphenyl, 4-aminobiphenyl 순으로 102.4, 96.0, 84.7, 85.6%로, 정밀도는 6% 이하로 나타났고, 휘발성 유기 성분들은 1,3-butadiene, isoprene, acrylonitrile, benzene, toluene 순으로 회수율은 103.1, 105.6, 104.9, 103.4, 117.4%로, 정밀도는 7% 이하로 나타났으며, 중금속 성분들은 arsenic, cadmium, chromium, nickel, lead, selenium 순으로 회수율은 98.7, 97.8, 103.4, 113.5, 98.5, 93.8%로, 정밀도는 2%이하로 나타났고, 담배특이 니트로사민 성분들은 4-(n-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, n-nitrosornicotine, n-nitrosoanatabine, n-nitrosoanabasine 순으로 회수율은 89.9, 99.7, 109.1, 91.4%로, 정밀도는 15% 이하로 나타났으며, 벤조[a]피렌 성분은 회수율 94.9%, 정밀도 1.9%로, 암모니아 성분은 회수율 98.6%, 정밀도 16.6%로 나타났다. 또한 카르보닐 화합물 성분인 formaldehyde, acetaldehyde, acetone, acrolein, propionaldehyde, crotonaldehyde, 2-butanone, n-butyraldehyde의 회수율은 99.5, 98.7, 100.8, 100.8, 102.3, 96.9, 79.2, 102.7%로, 정밀도는 12% 이하로 나타났다. 카르보닐 화합물의 2-butanone이 79.2%로 가장 낮은 회수율을 보였고, 휘발성 유기화합물의 toluene 성분이 117.5%로 가장 높은 회수율을 나타냈다. 또한 모든 실험의 정밀도는 0.2-16.6%의 범위로 나타났다 (Table 4).

3.4. 표준담배를 이용한 함량 비교

표준담배인 1R5F 및 3R4F를 확립된 분석법으로 분석하였다. 그 결과 방향족 아민성분들의 분석 결과는 1-aminonaphthalene, 2-aminonaphthalene, 3-aminobiphenyl, 4-aminobiphenyl 순으로 1R5F는 3.23, 1.75, 0.49, 0.34 ng/cig, 3R4F는 9.79, 5.14, 1.52, 6.4 ng/cig의 결과 값을 나타내었다. 참고문헌에는 1R5F의 연구결과^{17,24}는 0-8.42, 0-4.81, 0-1.96, 0-1.61 ng/cig의 범위로, 3R4F의

연구결과²¹는 2-aminonaphthalene, 4-aminobiphenyl의 순으로 5.69, 1.01 ng/cig의 값이 알려져 있다. 방향족 아민성분들을 확립된 분석법으로 분석한 값은 1R5F 성분 모두 참고문헌의 범위 안에 포함되었고, 3R4F는 참고문헌의 값과 유사함을 확인하였다. 휘발성 유기 성분들의 결과는 1,3-butadiene, isoprene, acrylonitrile, benzene, toluene 순으로 1R5F는 19.65, 130.77, 3.19, 11.55, 8.87 µg/cig, 3R4F는 60.11, 463.66, 8.84, 35.15, 55.05 µg/cig의 결과 값을 나타내었다. 참고문헌에 따르면 1R5F의 연구결과^{19,24}는 2.9-22.5, 50.1-167.9, 0-12.4, 6.9-19.3, 5.6-30.0 µg/cig로, 3R4F의 연구결과¹⁹는 5.30-71.7, 172.7-467.3, 0-23.9, 23.7-54.5, 27.5-102.1 µg/cig의 범위로 나타나 있다. 휘발성 유기 성분들을 확립된 분석법으로 분석한 값은 1R5F 및 3R4F 모두 참고문헌의 범위 안에 포함되는 것을 확인하였다. 중금속 성분들의 결과는 arsenic, cadmium, chromium, nickel, lead, selenium 순으로 1R5F는 0.97, 5.96, 2.07, 7.04, 3.93, 0.32로, 3R4F는 3.94, 42.23, 7.64, 12.76, 11.73, 2.21 ng/cig의 결과 값을 나타내었다. 참고문헌에 따르면 1R5F의 연구결과²⁰는 ND(not-detected), 9.60, ND, ND, 3.70 ng/cig이고 selenium은 분석 값이 없었다. 3R4F의 연구결과^{21,22}는 2.70-11.7, 26.30-45.1, 0.6-10.9, 0.4-46.1, 9.1-33.8, 0.2-7.4 ng/cig의 범위로 나타나 있다. 확립된 분석법에 의한 중금속 성분들의 1R5F의 결과는 lead가 참고문헌 값과 유사하고, cadmium의 값은 약 1.5 배 정도의 차이가 나는 것을 확인하였다. 3R4F의 결과는 모든 성분들의 결과 값이 참고문헌의 범위 안에 포함되는 것을 확인하였다. 담배특이 니트로사민 성분들의 결과는 4-(n-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, n-nitrosornicotine, n-nitrosoanatabine, n-nitrosoanabasine의 순으로 1R5F가 23.07, 47.59, 36.94, 6.19 ng/cig, 3R4F가 112.22, 128.23, 102.86, 12.11 ng/cig로 나타났으며, 참고문헌에 따르면 1R5F의 연구결과²⁴는 10.55-38.85, 23.64-64.04, 22.58-62.92, 2.21-9.99 ng/cig로, 3R4F의 연구결과¹³는 66.6-127.6, 81.0-149.0, 58.0-68.0, 7.8-18.2 ng/cig의 범위로 나타나 있다. 확립된 분석 방법에 의한 담배특이 니트로사민 성분들의 결과는 1R5F 및 3R4F 모두 참고문헌 범위 안에 포함되어 있는 것을 확인하였다. 벤조[a]피렌 성분의 결과는 1R5F가 1.63 ng/cig, 3R4F가 7.83 ng/cig로 나타났다. 참고문헌에 따르면 1R5F의 연구결과^{23,24}는 0.24-2.96 ng/cig의 범위로, 3R4F의 연구결과²¹는 6.73 ng/cig로 표현되어 있다. 확립된 분석방법에 의한 벤조[a]피렌 성분의

Table 5. Amount of the abbreviated HPHCs of the 1R5F and 3R4F in tobacco mainstream

Group	Analytes		1R5F	Reference	3R4F	Reference
Aromatic amines	1-Aminonaphthalene	Mean (ng/cig)	3.23	0-8.42 ^{17,24}	9.79	-
		RSD (CV, %)	9.9		4.0	
	2-Aminonaphthalene	Mean (ng/cig)	1.75	0-4.81 ^{17,24}	5.14	5.69 ²¹
		RSD (CV, %)	8.1		5.1	
	3-Aminobiphenyl	Mean (ng/cig)	0.49	0-1.96 ^{17,24}	1.52	-
		RSD (CV, %)	9.0		6.4	
	4-Aminobiphenyl	Mean (ng/cig)	0.34	0-1.61 ^{17,24}	0.93	1.01 ²¹
		RSD (CV, %)	9.7		6.8	
VOCs	1,3-butadiene	Mean (µg/cig)	19.65	2.9-22.5 ^{19,24}	60.11	5.30-71.7 ¹⁹
		RSD (CV, %)	1.1		1.8	
	Isoprene	Mean (µg/cig)	130.77	50.1-167.9 ^{19,24}	463.66	172.7-467.3 ¹⁹
		RSD (CV, %)	1.5		1.7	
	Acrylonitrile	Mean (µg/cig)	3.19	0-12.4 ^{19,24}	8.84	0.0-23.9 ¹⁹
		RSD (CV, %)	0.9		3.1	
	Benzene	Mean (µg/cig)	11.55	6.9-19.3 ^{19,24}	35.15	23.7-54.5 ¹⁹
		RSD (CV, %)	1.1		3.6	
Toluene	Mean (µg/cig)	8.87	5.6-30.0 ^{19,24}	55.05	27.5-102.1 ¹⁹	
	RSD (CV, %)	2.1		7.0		
Heavy metals	As	Mean (ng/cig)	0.97	ND ²⁰	3.94	2.70-11.7 ^{21,22}
		RSD (CV, %)	5.7		5.1	
	Cd	Mean (ng/cig)	5.96	9.6 ²⁰	42.23	26.30-45.1 ^{21,22}
		RSD (CV, %)	2.1		4.7	
	Cr	Mean (ng/cig)	2.07	ND ²⁰	7.64	0.60-10.9 ^{21,22}
		RSD (CV, %)	11.4		4.1	
	Ni	Mean (ng/cig)	7.04	ND ²⁰	12.76	0.40-46.1 ^{21,22}
		RSD (CV, %)	1.0		6.2	
Pb	Mean (ng/cig)	3.93	3.7 ²⁰	11.73	9.10-33.8 ^{21,22}	
	RSD (CV, %)	2.7		2.9		
Se	Mean (ng/cig)	0.32	- ²⁰	2.21	0.20-7.4 ^{21,22}	
	RSD (CV, %)	13.1		3.4		
TSNAs	NNK ^{a)}	Mean (ng/cig)	23.07	10.55-33.85 ²⁴	112.22	66.6-127.6 ¹³
		RSD (CV, %)	9.0		5.3	
	NNN ^{b)}	Mean (ng/cig)	47.59	23.64-64.04 ²⁴	128.23	81.0-149.0 ¹³
		RSD (CV, %)	10.2		8.4	
	NAT ^{c)}	Mean (ng/cig)	36.94	22.58-62.92 ²⁴	102.86	58.0-168.0 ¹³
		RSD (CV, %)	5.7		3.2	
	NAB ^{d)}	Mean (ng/cig)	6.19	2.21-9.99 ²⁴	12.11	7.8-18.2 ¹³
		RSD (CV, %)	12.0		10.4	
PAH	B[a]P	Mean (ng/cig)	1.63	0.24-2.96 ^{23,24}	7.83	6.73 ²¹
		RSD (CV, %)	0.6		3.7	
-	Ammonia	Mean (µg/cig)	2.83	0-6.57 ²⁴	11.71	7.6-12.4 ²²
		RSD (CV, %)	4.1		4.4	

Table 5. Continued

Group	Analytes		1R5F	Reference	3R4F	Reference
Carbonyl compounds	Formaldehyde	Mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$)	6.64	0-6.66 ²⁵	24.23	5.80-31.80 ²⁵
		RSD (CV, %)	0.8		1.5	
	Acetaldehyde	Mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$)	96.89	55.00-227.00 ²⁵	502.88	361.00-715.00 ²⁵
		RSD (CV, %)	0.0		2.9	
	Acetone	Mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$)	28.11	10.10-113.90 ²⁵	122.76	107.00-305.00 ²⁵
		RSD (CV, %)	4.5		4.1	
	Acrolein	Mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$)	8.55	2.61-15.73 ²⁵	42.93	23.90-71.30 ²⁵
		RSD (CV, %)	1.8		3.6	
	Propionaldehyde	Mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$)	8.83	3.30-19.30 ²⁵	32.64	24.10-55.50 ²⁵
		RSD (CV, %)	0.7		3.4	
Crotonaldehyde	Mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$)	4.94	0-5.12 ²⁵	18.39	0.00-26.50 ²⁵	
	RSD (CV, %)	2.0		2.4		
2-Butanone	Mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$)	10.37	1.20-24.00 ²⁵	49.50	18.00-78.00 ²⁵	
	RSD (CV, %)	11.3		7.6		
n-Butyraldehyde	Mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$)	8.22	3.03-12.21 ²⁵	23.50	14.60-39.20 ²⁵	
	RSD (CV, %)	0.3		5.1		

^a4-(N-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone

^bN-nitrososnicotine

^cN-nitrosoanatabine

^dN-nitrosoanabasine

결과는 1R5F 참고문헌의 범위 안에 포함되어진 것을 확인하였으며, 3R4F의 참고문헌에 나타난 값과 유사함을 확인하였다. 암모니아 성분의 결과 값은 1R5F가 2.83 $\mu\text{g}/\text{cig}$, 3R4F가 11.71 $\mu\text{g}/\text{cig}$ 로 나타났으며, 참고문헌에 따르면 1R5F의 연구결과²⁴가 0-6.57 $\mu\text{g}/\text{cig}$, 3R4F의 연구결과²²가 7.6-12.4 $\mu\text{g}/\text{cig}$ 의 범위로 나타나 있다. 확립된 분석방법에 암모니아 성분의 결과는 1R5F, 3R4F 모두 참고문헌의 범위 안에 포함되어 있는 것을 확인하였다. 또한 카르보닐 화합물 성분인 formaldehyde, acetaldehyde, acetone, acrolein, propionaldehyde, crotonaldehyde, 2-butanone, n-butyraldehyde들의 결과 값은 1R5F가 6.64, 96.89, 28.11, 8.55, 8.83, 4.94, 10.37, 8.22 $\mu\text{g}/\text{cig}$ 로, 3R4F가 24.23, 502.88, 122.76, 42.93, 32.64, 18.39, 49.50, 23.50 $\mu\text{g}/\text{cig}$ 로 나타났다. 각 성분들의 참고문헌에 따르면 1R5F의 연구결과²⁵는 0-6.66, 55.00-227.00, 10.10-113.90, 2.61-15.73, 3.30-19.30, 0-5.12, 1.20-24.00, 3.03-12.21 $\mu\text{g}/\text{cig}$ 로, 3R4F의 연구결과²⁵는 5.80-31.80, 361.00-715.00, 107.00-305.00, 23.90-71.30, 24.10-55.50, 0-26.50, 18.00-78.00, 14.0-39.20 $\mu\text{g}/\text{cig}$ 의 범위로 나타나 있다. 확립된 분석법에 의한 카르보닐 화합물 성분들의 결과값들은 1R5F, 3R4F 모두 참고문헌의 범위 안에 포함되

어져 있는 것을 확인하였다 (Table 5).

4. 결 론

담배 주류연 HPHCs 성분 중 방향족 아민성분, 휘발성 유기 화합물 성분, 중금속 성분, 담배특이 니트로사민 성분, 암모니아 성분, 벤조[a]피렌, 카르보닐 화합물 성분의 담배연기 성분 분석 표준화를 위한 분석법 설정과 분석법에 대한 방법의 유효성 검증을 실시하였다. 각각의 분석법에 대하여 직선성, 정확도와 정밀도 그리고 회수율 및 표준 담배 내에 분석물질 함량에 대하여 확인하였다. 그 결과 직선성의 결정계수 (r^2)는 모든 성분이 0.99 이상이였으며, intra-day와 inter-day의 상대표준편차 및 LOD는 방향족 아민성분 0.6-2.7%, 0.3-7.8%, 0.01-0.02 ng/cig, 휘발성 유기 성분 0.4-6.0%, 0.8-14.1%, 0.01-0.16 $\mu\text{g}/\text{cig}$, 중금속 성분 0.5-3.7%, 0.1-9.9%, 0.01-1.27 ng/cig, 담배특이 니트로사민 성분 3.0-6.1%, 0.2-9.8%, 0.06-0.28 ng/cig, 벤조[a]피렌 성분 1.7%, 0.1-0.6%, 0.04 ng/cig, 암모니아 성분 2.1%, 3.4-4.8%, 0.08 $\mu\text{g}/\text{cig}$, 카르보닐 화합물 성분 1.3-1.4%, 0.0-0.6% 0.78-1.77 $\mu\text{g}/\text{cig}$ 로 모든 시험법의 상대표준편차가 15% 미만으로 확인되었으며, 각

성분들의 검출한계는 저타르 표준담배인 1R5F의 함량을 충분히 검출 및 검량할 수 있는 범위로 담배연기에 포함되어 있는 분석물질을 정량하기에 충분한 값이 될 것으로 판단된다. 회수율 측정 결과는 84.7-102.4%, 103.1-117.5%, 93.8-113.5%, 89.9-106.1%, 94.9%, 98.6%, 79.2-102.7%였고, 모든 시험법의 상대표준편차는 17% 미만이었다. 또한 표준담배인 1R5F와 3R4F의 각 성분들 함량 측정을 각각 3번 반복 실시하여 분석한 결과 방향족 아민성분들을 확립된 분석법으로 측정된 값은 1R5F 성분 모두가 참고문헌의 범위 안에 포함되었고, 3R4F는 참고문헌의 값과 유사함을 확인하였다. 휘발성 유기 성분들을 확립된 분석법으로 측정된 값은 1R5F 및 3R4F 모두 참고문헌의 범위 안에 포함되는 것을 확인하였다. 중금속 성분들을 확립된 분석법으로 측정된 값은 3R4F의 결과값이 참고문헌의 범위 안에 포함되는 것을 확인하였다. 담배특이 니트로사민 성분들을 확립된 분석 방법으로 측정된 결과는 1R5F 및 3R4F 모두 다 참고문헌 범위 안에 포함되어 있는 것을 확인하였고, 벤조[a]피렌 성분들의 결과는 1R5F는 참고문헌의 범위 안에 포함되어진 것을 확인하였으며, 3R4F는 참고문헌에 표현된 값과 유사함을 확인하였다. 암모니아 성분을 확립된 분석 방법으로 측정된 결과는 1R5F, 3R4F 모두 참고문헌의 범위 안에 포함되어 있는 것을 확인하였다. 마지막으로 카르보닐 화합물 성분들의 결과값들은 1R5F, 3R4F 모두 참고문헌의 범위 안에 포함되어 있는 것을 확인하였다. 이러한 결과를 바탕으로 본 연구에서 확립된 담배 주류연 중 HPHCs 성분을 분석하기에 적합하다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2013년도 식품의약품안전처의 연구개발비(13181MFDS761)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. S.-J. Kim and S.-M. Kwon, *The Korean Assoc. Policy Analysis and Evaluation*, **18**(4), 119-140 (2008).
2. C. R. Green and A. Rodgman, *Recent Adv. tob. Sci.*, **22**, 131-304 (1996).
3. S. S. Hecht, *Environ. Mol. Mutagen*, **39**, 119-126 (2002).
4. WHO, In 'WHO report on the global tobacco epidemic', Mpower, (2002).
5. IARC, In 'International agency for research on cancer', **83** (2004).
6. E. L. Wynder and E. A. Graham, *J. Am. Med. Assoc.*, **143**, 329-336 (1950).
7. R. Doll and A. B. Hill, *Br. Med. J.*, **2**, 739-748 (1950).
8. H.-K. Kim, J.-T. Lee, I.-J. Kim and K.-J. Hwang, *J. Kor. Soc. Tobacco.*, **9**, 52-57 (2007).
9. ISO, **3308** : 2000(E) (2000).
10. Health Canada, **T-202** (1999).
11. CORESTA, **No.70** (2010).
12. Health Canada, **T-109** (1999).
13. CORESTA, **No.75** (2012).
14. British American Tobacco Group Research & Development Method, In 'Determination of benzo[a]pyrene in mainstream smoke', (2008).
15. Health Canada, **T-101** (1999).
16. British American Tobacco Group Research & Development Method, In 'Determination of carbonyls in mainstream cigarette smoke', (2008).
17. M. Intorp and S. Purkis, *Beitr Zur Tabakforsch.*, **24**, 78-92 (2014).
18. C. Patriankos and D. Hoffmann, *J. Anal. Toxicol.*, **3**, 150-154 (1979).
19. M. Intorp, W. S. Purkis and W. Wagstaff, *Beitr Zur Tabakforsch.*, **24**(5), 243-251 (2014).
20. UK SMOKE CONSTITUENTS STUDY, In 'Part 11: Determination of Metals Yields in Cigarette Smoke By ICP-MS & CVAAS', (2003).
21. E. Roemer, H. Schramke, H. Weiler, A. Buetter, S. Kausche, S. Weber, A. Berges, M. Stueber, M. Muench, E. Trelles-Sticken, J. Pype, K. Kohlgrueber, H. Voelkel and S. Wittke, *Beitr Zur Tabakforsch.*, **25**(1), 316-335 (2014).
22. S. Purkis and M. Intorp, *Beitr Zur Tabakforsch.*, **26**(2), 57-73 (2014).
23. UK smoke constituents study. In 'Part 4 method: determination of benzo[a]pyrene yields in mainstream cigarette smoke by gas chromatography-mass spectrometry', (2003).
24. M. Intorp, S. Purkis, M. Whittaker and W. Wright, *Beitr Zur Tabakforsch.*, **23**(4), 161-202 (2014).
25. M. Intorp, S. Purkis and W. Wagstaff, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **25**(2), 361-374 (2014).