

커피飲料中에 僞和된 Nicotine의 微量分析에 關한 研究

李 德 行 · 李 容 柱

서울市保健研究所 · 成均館大學校

A Study on the Microdetermination of Nicotine in Contaminated Beverage by Thin-Layer Chromatography

Duk Heng LEE and Yong Joo LEE

Seoul Metropolitan Government Institute of Public Health and Sung Kyun Kwan University.

A trace amount of nicotine, main constituent in tobacco, contaminated in coffee, was identified by the T.L.C method. The Eastman chromagram plate was used and determined with the linear scanning by transmission method. It was possible to identify nicotine in coffee beverage regardless of types of tobacco. Ten micrograms of nicotine could be determined in a cup of coffee (75ml), which was acidified with hydrochloric acid.

서 론

煙草類에 含有된 nicotine의 試驗方法은 紫外部 吸光度에 依한 比色法^{1,2)}, thin-layer chromatography (TLC)에 依한 方法^{3,4)}, gas chromatography (GC)에 依한 方法⁶⁻⁹⁾, 珪酸팅스텐에 依한 濁度法¹⁰⁾, 酸性色素의 錯鹽에 依한 方法¹¹⁾ 등이 알려져 있다. 最近 社會的으로 惹起되었던 問題로 嗜好飲料인 coffee에 煙草類를 添加하여 coffee의 量을 늘리고 맛과 色을 僞和시키고저한 境遇에는 上記한 試驗方法으로 微量成分의 分離 確認이 不適當함으로 著者는 coffee음료中에 함유된 煙草類의 微量成分을 分離 確認코저이 研究를 着手하였다. 試料를 鹽酸 酸性으로 하여 處理한 extract를 TLC에 依하여 coffee中에 僞和된 nicotine을 迅速 正確하게 檢索할 수 있었고 Eastman chromagram (Kod. Co) plate를 使用하여 nicotine을 分離 確認하였고 TLC scanner method를 利用하여 coffee한잔(약 75ml)에서 10 μ g까지의 nicotine을 檢索할 수 있었다.

실험재료 및 방법

試藥 : Eastman chromagram (Kod. Co.)

Developing agent:

Alkali agent: CHCl_3 : MeOH: 30% NH_4OH
(60:10:1)

Acid agent: CHCl_3 : MeOH: Ac_2O (60:10:1)

Coloring agent: 2% p-aminobenzoic acid, 0.1 m-phosphate buffer

Developing chamber: cyanogen bromide

標準品 : 95% Nicotine(日本和光純藥工業) :

감압증류하여 使用하였다.

器具 : TLC scanner (Model SE 900)

試料의 調製 : 물 1,500ml에 regular coffee 100g을 percolator에서 끓기 始作한 後 國產담배(풍년초, 새마을, 은하수, 청자, 선, 거북선) 各各 1g씩을 加하고 5分間 끓인 다음 여과한 濾液을 試料로 使用하였다.

試料의 操作法 : 調製한 試料 250ml을 三角 flask에 取하여 鹽酸을 加하여 醇性溶液(pH 2~3)

으로 만든 다음 活性炭 0.5g을 넣고 約 5分間 끓인 다음 뜨거운 狀態에서 濾過하고 濾液은 EA₂O 100ml씩으로 3회 抽出한 다음 酸性의 물 층을 취하여 加性소다 시액을 加하여 alkali性 (pH 10~11)으로 만든후 EA₂O 100ml씩으로 3회 抽出한다. 全 EA₂O 抽出物을無水 Na₂SO₄로 脫水하고 40°C 以下에서 加압농축시킨 후 그 殘查는 EtOH:H₂O(1:1) 1ml을 加하여 溶解시킨 液 1μl씩을 標準品과 같이 plate에 點滴하고 II의 ②에 記載한 展開溶媒 chamber 內에서 7.5~8cm의 거리로 展開시킨 후 室溫에서 乾燥한 plate에 發色試藥을 뿌린 후 約 10分間 bromcyan의 chamber에 넣고 密閉, 遮光된 狀態로 約 1時間을 放置하여 spot의 變色을 觀察하였다.

檢量線의 作成: Nicotine 0.1g 및 0.5g을 100ml의 measuring flask에 精密히 取하고 micro syringe로 1μl씩 點滴하고 展開溶媒로 展開한 다음 plate의 spot를 transmission method에 依한 linear scanning으로 檢量線을 作成하였다.

回收率 및 檢出의 限界: Nicotine 100mg을 coffee 1,500ml에 加하고 이중 250ml을 取하여 試料製造에서와 같이 操作한 다음 檢量線 作成法에 따라 測定한 結果 平均 回收率은 91.3%였으며 그의 標準偏差는 0.32의 結果를 얻었다. 檢出의 限界는 coffee 한잔(約 75ml)에서 nicotine 10μg까지 測定이 可能하였다.

試料中 國產담배類의 確認 및 含量: Bromcyan chamber內에서 nicotine의 spot變色은 처음은 엷은 褐色으로 呈色하고 다음 黃色을 거쳐 dark orange로 變化되며 이의 Rf值은 0.76이었다³⁾. 標準品 nicotine의 spot (St1, St2, St3)와 國產담배類의 spot는 同一位置에서 確認되었으며 含量은 上記한 담배類(풍년초 外 5種) 各各 0.1g을 加할 境遇 平均 1.5μg, 0.5μg을 加할 境遇 平均 7.5μg의 nicotine을 檢出할 수 있었으며, 高級담배類(거북선 및 선)에 比하여 低質담배類(풍년초 및 새마을)에서 더 많은 量의 nicotine을 檢索할 수 있었다.

결과 및 고찰

試料의 操作 過程에서 鹽酸을 加하여 鹽酸酸

性溶液으로 만든 다음 活性炭으로 處理함으로써 EA₂O로 抽出할 때 水層과의 分離能이 良好한 結果를 얻었으며 nicotine의 檢出한계는 coffee 한잔에서 10μg까지 檢索이 可能하였다. 그러나 鹽酸 대신 黃酸을 使用하여 試料를 處理한 extract에서는 nicotine의 spot를 確認하기가 困難하였다. Developing agent中 acid agent로 展開한 plate에서는 nicotine의 spot位置 단 그 確認이 良好하였으며 nornicotine으로 思料되는 變色位置는 確認이 困難하였다. 그러나 alkali agents는 plate上의 spot中 nicotine과 nornicotine으로 思料되는 變色位置가 分明하여 分離確認이 可能하였다.

Bromcyan chamber內에서는 經時變化가 있었다. nicotine의 spot는 처음은 엷은 褐色이었으며 다음 黃色을 거쳐 dark orange로 變化되며 nor-nicotine으로 思料되는 spot는 straw yellow로 變化되고 Rf值은 0.50이었다³⁾.

發色試藥은 緩衝液의 pH條件에 따라 經時變化가 있었다. pH 7.0의 緩衝液을 뿌린 plate上의 spot는 經時變化가 없었으나 pH 7.0以外的 緩衝液을 뿌린 plate에서 nicotine spot는 經時變化가 있었다.

결 론

Coffee 飲料中에 偽和된 담배類는 어떠한 形態로 存在하더라도 nicotine을 檢索함으로써 그의 判別이 可能하여 微量으로 偽和된 試料에서도 TLC method를 使用함으로써 迅速하게 分離 確認 試驗이 可能하였다.

Developing agent는 alkali agents를 使用함으로써 nicotine 以外的 alkaloid成分까지 確認이 可能하였다.

發色象藥에 依한 nicotine의 spot는 緩衝液 pH 7.0에서 spot의 經時變化를 막을 수 있었다.

〈1978. 12. 1 接受〉

문 헌

1. A.O.A.C.: Official Methods of Analysis. 11th ed. p 738 (1970).

2. Tlarvey, W.R.: Automated spectrophotometric analysis, *Tobacco Science*, **11**, 84 (1967).
3. Fike, W.W.: Structure-Rf correlations in the thin-layer chromatography of some basic drugs. *Tobacco Science*, **10**, 38 (1966).
4. Ergon, Stahl: Thin-layer chromatography. 2nd ed. Springer-Verlag, New York, p. 430 (1969).
5. Wernsman, E.A.: A thin-layer chromatographic method for identifying nicotineconverter genotypes. *Tobacco Science*, **11**, 97 (1967).
6. Quin, L.D.: Alkaloids of tobacco smoke I. Fractionation of some tobacco alkaloids and of the alkaloid extract of burley cigarette. Smoke by gas chromatography, *J. Org. Chem.*, **24**, 14 (1959).
7. 小橋友助, 液邊美恵子: Gas chromatography による nicotine同族値, の分離条件の検討, 日本分析化学, **13**, 1234 (1964).
8. 金澤純, 佐藤六郎: Gas chromatographyによる硫酸ニコチン中のニコチンの定量, 分析化学, **13**, 356 (1964).
9. Kazyak, L.: Application of gas chromatography to analytical toxicology, *Anal. Chem.*, **35**, 1448 (1963).
10. 向秀夫, 福永一夫, 石倉秀次, 上田喜一編集: 新農薬研究法, 南江堂, 東京 p.303 (1966).
11. 濱田昭, 黒岩幸雄, 藤川福二郎: 最新装判化学, 南江堂, 東京 (1972).