

## Continuous Flow Analyzer(CFA)를 이용한 담배 주류연 중 Hydrogen Cyanide(HCN)의 최적 분석방법 구명

나승주\* · 어성재<sup>1)</sup> · 김도연 · 복진영 · 황건중  
KT&G 중앙연구원  
(주) 태아 산업<sup>1)</sup>  
(2009년 6월 8일 접수)

### Characteristics of Optimized Analytical Method of Hydrogen Cyanide in Cigarette Mainstream Smoke by Using Continuous Flow Analyzer(CFA)

Seung-Ju Na\*, Sung-Je Eo<sup>1)</sup>, Do-Yeon Kim, Jin-Young Bock,  
Keon-Joong Hwang  
*KT&G Central Research Institute, Daejeon 305-805, Korea*  
*1) Tea-A Industrial Co. LTD, Daejeon 306-822, Korea*  
(Received June 8, 2009)

**ABSTRACT** : Hydrogen cyanide (HCN) is present in both the particulate and vapor phase of cigarette mainstream smoke. It is one of the 44 harmful substances on Hoffmann's list and is known to be a major ciliotoxic agent in cigarette mainstream smoke. Typically the determination of HCN in cigarette mainstream smoke has been done through colorimetric and electrochemical techniques, such as UV-spectrophotometry (UV), continuous flow analyzer (CFA), ion chromatography (IC) and capillary GC-ECD. In particular, CFA commonly has been using analysis hydrogen cyanide in cigarette smoke and the basic principle is pyridine-pyrazolone reaction.

In this study, the more optimized analytical method is suggested isonicotinic acid-pyrazolone reaction method than previous pyridine-pyrazolone reaction method, a commonly used method for the determination of cyanide in water and air, by CFA. Sample collection was optimized by trapping particulate and vapor phase of smoke separately. The optimum NaOH concentration of the trapping solution was shown to be 0.2 M. HCN was stable up to 6 hours in this concentration but only 3 hours in 0.1 M solution. The sensitivity of this method was fairly good and it might be used in analysis of HCN in cigarette mainstream smoke.

**Key words** : cigarette mainstream smoke, hydrogen cyanide, CFA

---

\*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 (phone: 82-42-866-5654; fax: 82-42-866-5544; e-mail: naseungju@ktng.com)*

Hydrogen cyanide(HCN)는 조직 세포의 원형질에서는 산화를 정지시키고, 뇌에서는 호흡 중추를 마비시켜 현기증, 두통, 의식장애 및 경련 등을 유발하는 독성이 매우 높은 물질로 알려져 있다(Drochioiu *et. al.*, 2000).

Hoffmann(1993)은 담배 연기 중 HCN이 일부 호흡효소의 작용을 방해하고, 폐의 점액 분비 유탄의 운동을 방해하여 폐의 정화를 방해하는 물질로 보고하였다.

담배연기 중 HCN 생성에 주요인은 잎담배 중에 존재하는 단백질로 보고(Lorillard Research Center Greensboro, 1990)된 바 있으며, 담배연기 중 HCN 함량을 저감하기 위하여 잎담배 중의 단백질을 제거할 필요가 있다는 주장(Tso, 1977)이 제기된바 있다.

담배 주류연 중 HCN의 분석법들 중 Continuous Flow Analyzer (CFA)를 활용한 분석법은, 표준담배(Ky2R4F) 호프만 성분 분석방법 및 분석결과의 반복성과 재현성을 비교 검토한 보고서(Chen and Moldoveanu, 2003)에 참여한 6개 실험실 중 5곳에서 주류연의 HCN 분석을 위하여 사용하였고, Health Canada, British American Tobacco Research & Development 등의 기관에서도 사용 중인 분석방법이다.

본 연구에서는 CFA를 활용한 담배 주류연 중 HCN의 최적 분석방법을 구명하기 위해서 기존(Collins *et. al.*, 1970, 1973)의 발색 시약(Pyridine-Pyrazolone, 540nm) 방법을 기준으로 포집방법, 포집용액 농도(NaOH 용액) 및 포집용액 부피에 따른 결과의 재현성과 정확성을 검토하여 최적의 포집조건을 선별하여 기존의 발색 시약법과 주로 수질분석에서 사용되는 발색 시약(Isonicotinic acid- Pyrazolone, 630nm) 두 가지 방법을 비교하여 최적의 분석 조건을 검토하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 재료

본 실험에서 사용한 시약들인 potassium cyanide(KCN), potassium phosphate monobasic,

sodium phosphate dibasic and chloramine T, bis-pyrazolone 및 DMF (N,N-dimethylformamide)는 Aldrich Chemical Co.(USA)사 제품을 사용하였고, 3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one는 Fisher Scientific(USA)사 제품을, sodium-4-pyridinecarboxylic acid (isonicotinic acid)는 Wako(Japan)사 제품을 사용하였다. 표준담배(Ky3R4F)는 Kentucky Tobacco Research & Development Center(University of Kentucky, Lexington, KY, USA)로 부터 구입하여 사용하였다.

### 시료 포집 및 추출

모든 담배 시료는 흡연 전에 상대습도  $60 \pm 3$  %와 온도  $22 \pm 1$  °C 조건 하에서 48시간 이상 조화한 후 사용하였으며 선형 자동흡연장치(Cerulean SM 450, UK)를 이용하여 ISO 표준흡연조건(puff volume : 35 mL, puff frequency : 60 초, puff duration 2초) 하에서 각각 3개비를 흡연하였다.

담배 주류연 중 입자상은 44 mm Cambridge filter pad를 사용하여 포집하였으며 증기상은 Lee(2007)가 추천한 Impinger(Frit : 170~200  $\mu$ m)를 사용하여 포집하였다. Impinger의 수는 Chen(2003) 보고서에서 가장 많이 사용된 한 개로 선택하여 실험하였다. 전체 주류연을 포집하기 위하여 Impinger에 0.1 M NaOH 수용액 60 mL를 채워 포집하였다. 입자상과 분리포집에서는 Impinger에 0.1 M NaOH 수용액 30, 50 mL을 채워 사용하였고, 0.2 M NaOH 수용액은 30, 50, 60 mL을 채워 사용하였다. 포집된 Cambridge filter pad(CFP)는 홀더에서 분리하여 100 mL 삼각플라스크에 넣은 다음 증기상 포집용액과 같은 농도의 NaOH 40 mL를 넣어 30분간 진탕 추출하였다.

### 분석 장비 및 CFA 조건

분석에 사용한 CFA는 automated sampler, proportioning peristaltic pump, colorimeter, data process system으로 이루어진 Bran Luebbe Analyzer III를 사용하였다. 장비 구성은 Fig. 1에 자세히 나타내었고, 장비 작동은 시간 당 50개의 시료를 2 : 1의 비율로 시료주입 시간과 세척 시간을 주어 분석하였다.

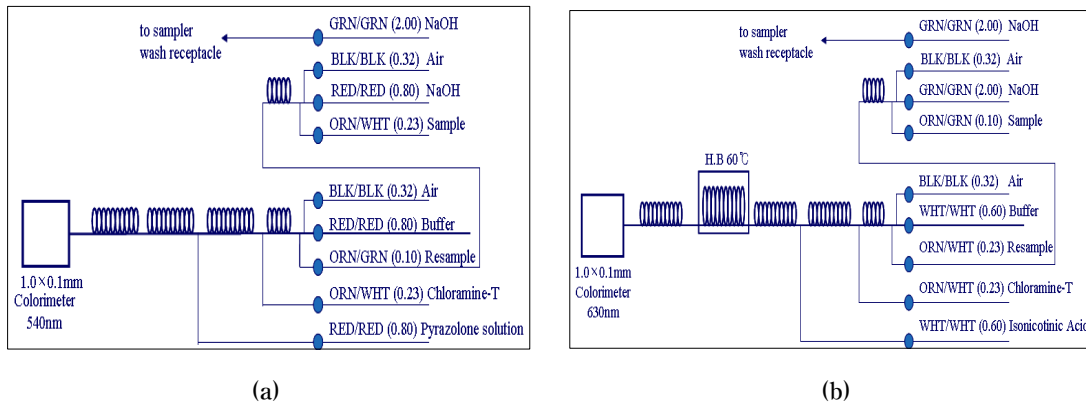


Fig. 1. CFA manifold for HCN in cigarette mainstream smoke.

(a) Pyridine-Pyrazolone Method (b) Isonicotinic acid-Pyrazolone Method

### 결과 및 고찰

#### 포집 조건 최적화

담배 주류연 중 HCN 포집방법에 따른 포집효율을 검토하기 위하여 기존의 Pyridine-Pyrazolone을 기준으로 하나의 Impinger trap(0.1 M 60mL)에 전체 주류연을 포집하는 방법과 CFP와 Impinger(0.1 M 30mL) 두 가지 trap을 사용하여 주류연을 입자상과 증기상으로 구분하여 포집하는 방법에 대한 측정된 결과를 Table 1에 나타내었다.

입자상과 증기상으로 나누어 포집하는 것이 5~10% 높은 포집효율을 나타냈으며, 측정값(%RSD ±4 이하) 또한 안정하였다. 이는 Hoffmann의 제시 방법 및 Chen(2003)의 6곳 중 3곳의 실험실에서 포집하는 방법과 일치 하였다.

CFA를 이용한 HCN 분석방법은 흡연 후 전처리 과정을 거쳐 측정까지 걸리는 시간은 20개의 시료에 대하여 약 3시간이 소요되나 연속적인 시료의 측정을 위하여 다음 측정시료가 준비되는 시간 까지 포함한 약 6시간의 안정성이 요구됨으로 일반적으로 사용되는 0.1 M NaOH와 새롭게 고안한

Table 1. HCN levels of Ky3R4F according to NaOH concentrations(a) and trapping methods(b) in Pyridine-Pyrazolone method.

	0.1 M NaOH (a)		0.2 M NaOH (a)	
	Whole Smoke (b) ( $\mu\text{g}/\text{cig}$ )	Vapor+CFP (b) ( $\mu\text{g}/\text{cig}$ )	Whole Smoke (b) ( $\mu\text{g}/\text{cig}$ )	Vapor+CFP (b) ( $\mu\text{g}/\text{cig}$ )
1	99.8	102.8	90.6	102.7
2	87.8	100.6	102.1	102.1
3	91.9	105.6	106.3	108.5
4	94.5	106.5	91.8	102.2
5	100.6	109.3	102.0	-
Average	94.9	105.0	98.6	103.9
RSD (%)	5.65	3.19	7.05	3.00

0.2 M NaOH에 대하여 포집효율 및 시간에 대한 결과 값의 안정성을 비교 실험하여 Table 1과 Fig. 2에 나타내었다. 두 농도에서 포집효율을 거의 유사하였으나 시간의 안정성에서 0.2 M NaOH가 보다 양호하였다. 이와 같은 결과는 높은 농도의 NaOH에서 강산성의 HCN이 NaCN의 형태로 보다 안정하게 존재하기 때문으로 판단된다.

담배 주류연 중 증기상 HCN의 최적 포집방법을 검토하기 위하여 Impinger에 0.2 M NaOH 수용액을 각각 30, 50, 60 mL로 달리하여 비교 검토하였다.

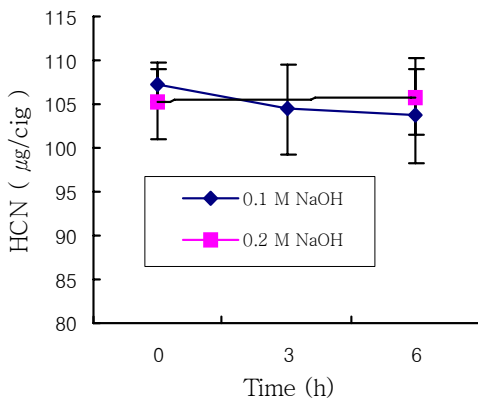


Fig. 2. The stability of HCN in trapping solutions of different NaOH concentrations.

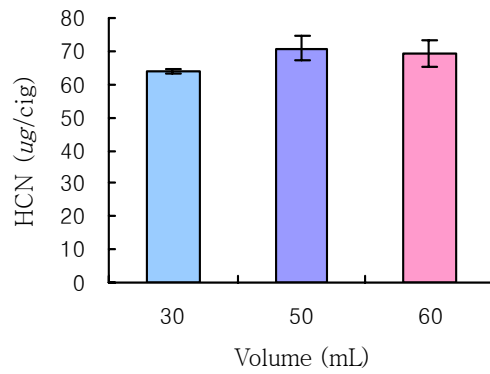


Fig. 3. Vapor phase HCN concentration of Ky3R4F smoke according to volumes of impinger solution.

Fig. 3에서 보는 바와 같이 포집용액의 부피가 50 mL인 경우가 가장 높은 포집효율을 나타내었는데 이는 Lee(2007)의 보고와 같았다.

발색 시약 종류에 따른 분석 결과 비교

발색법을 이용한 담배 주류연 중 HCN 분석에서는 주로 Pyridine-Pyrazolone 발색시약을 이용하고 있으나 수질 분석에서는 Isonicotinic acid-Pyrazolone 발색시약을 사용하는 것이 보편적이다. 본 연구에서는 발색시약에 따른 분석결과의 신뢰성을 확인하기 위하여 Ky3R4F에 대한 각각의 발색시약에 대한 분석결과를 비교 검토하였다.

Table 2. HCN concentration of Ky3R4F smoke in Pyridine-Pyrazolone method

Hrs / Rep.	0.5 (µg/cig)	2.5 (µg/cig)	4.5 (µg/cig)	6.5 (µg/cig)	Average (µg/cig)	RSD (%)
1	122.1	123.0	123.8	124.6	123.4	0.86
2	109.6	110.6	110.9	110.1	110.3	0.53
3	117.2	121.0	118.0	118.9	118.8	1.41
4	114.9	120.9	115.8	115.2	116.7	2.40
5	107.8	114.5	108.5	109.2	110.0	2.78
Average	114.3	118.0	115.4	115.6	115.8	1.34
RSD (%)	5.06	4.44	5.21	5.54	4.94	-

Table 3. HCN concentration of Ky3R4F smoke in Isonicotinic acid-Pyrazolone method

Rep. Hrs	0.5 ( $\mu\text{g}/\text{cig}$ )	2.5 ( $\mu\text{g}/\text{cig}$ )	4.5 ( $\mu\text{g}/\text{cig}$ )	6.5 ( $\mu\text{g}/\text{cig}$ )	Average ( $\mu\text{g}/\text{cig}$ )	RSD (%)
1	122.4	122.2	122.7	124.0	122.8	0.64
2	108.8	108.3	108.9	110.7	109.2	0.94
3	116.8	116.2	117.2	118.4	117.1	0.79
4	114.2	113.5	114.5	115.3	114.4	0.62
5	106.9	106.2	107.2	108.2	107.1	0.79
Average	113.8	113.3	114.1	115.3	114.1	0.75
RSD (%)	5.48	5.64	5.51	5.41	5.51	-

Table 2~3에서 나타난 바와 같이 발색시약에 따른 분석결과는 큰 차이를 보이지 않았으며 두 가지 발색시약 모두 안정적인 변동계수 값(%RSD  $\pm 6$  이하)을 나타내었다. 또한 흡연 후 시료의 저장시간 및 반복 측정에 대한 유의차도 신뢰수준 95%이상으로 두 가지 발색시약 간에는 차이를 보이지 않았다.

Table 4는 본 연구에서 검토한 0.2 M NaOH 포집용액 50 mL를 Impinger에 채운 후 입자상 성분과 증기상 성분을 각각 분리하여 포집한 후 서로 다른 발색시약을 이용하여 분석한 HCN의 분석방법에 대한 유효화 결과를 나타내었다. Table 4에서 보는 바와 같이 두 가지 분석방법 모두 검량선은 매우 좋은 직성선( $R=0.999$ )을 나타내었으나, Pyridine-Pyrazolone 발색시약을 사용한 분석법 보다 Isonicotinic acid-Pyrazolone 발색시약을 사용한 분석법이 98.3 %의 높은 회수율을 나타냈으며 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ) 또

한 0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 와 0.06  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 보다 좋은 것으로 확인되었다.

### 결 론

본 연구에서는 CFA를 이용하여 담배 주류연 중 존재하는 HCN 분석에 대한 최적 분석방법을 검토하였다.

담배 주류연 중 HCN 분석에 대한 최적 방법은 CFP와 0.2 M NaOH 포집용액 50 mL을 하나의 Impinger에 채워 입자상과 증기상을 각각 분리하여 포집한 후 Isonicotinic acid-Pyrazolone 발색시약을 이용하여 분석하는 것이 최적의 분석방법으로 판단된다. 또한 기존에 사용되었던 Pyridine-Pyrazolone 발색시약 보다 Isonicotinic acid-Pyrazolone 발색시약을 사용하는 분석법이 98.3 %의 높은 회수율과 0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 와 0.06  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 좋은 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ) 값을 갖기 때문에 담배 주류연 중 HCN의 분석방법에 새롭게 활용 가능할 것으로 판단된다.

### 참 고 문 헌

- Drochioiu G., Mangalagiu I. and Tataru V. (2000) Specific spectrophotometric determination of hydrocyanic acid in the environment. *Analyst*, 200, 125, 939-941
- Chen P. X. and Moldoveanu, S. C (2003)

Table 4. Limit of detection (LOD), limit of quantitation (LOQ) and recovery of each method

Method	Recovery (%)	LOD ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	LOQ ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
Pyridine-Pyrazolone	96.9	0.33	1.00
Isonicotinic acid-Pyrazolone	98.3	0.02	0.06

- Mainstream smoke chemical analyses for 2R4F Kentucky reference cigarette. *Beitr Tabakforsch Int.* 20: 448-458
- Tso T. C. (1977) Tobacco as Potential Food Source and Smoke Material. *Beitr Tabakforsch.* 9, 63
- Lorillard Research Center Greensboro (1990) HCN : Removal - Properties - Analyses. <http://legacy.library.ucsf.edu/tid/fhz10e00/pdf>
- Hoffmann D. (1993) Analysis of Toxic Smoke Constituents. <http://legacy.library.ucsf.edu/tid/xxy74c00/pdf>
- Health Canada. <http://www.hc-sc.gc.ca>
- BAT Research & Development. <http://www.bat-science.com>
- Collins P. F., Sarji N. M., Williams J. F. (1970) An automated method for determination of hydrogen cyanide in cigarette smoke, *Tobacco science*, 12-15
- Collins P. F., Sarji N. M., Williams J. F. (1973) A Trapping System for the Combined Determination of Total HCN and Total Gas Phase Aldehydes in Cigarette Smoke. *Tobacco science*, 73-78
- LEE John-Tae, KIM Hyo-Keun, HWANG Keon-Joong, LEE Kyung-Gu, JANG Seok-Su (2007) Characteristic of analytical techniques for hydrogen cyanide in mainstream smoke. *CORESTA Meet*, 17