

[단 보]

초음파용매추출에 의한 Allyl Isothiocyanate의 분광광도법 정량

현준호 · 최종문^{1†}

수자원공사, ¹한중대학교

Spectrophotometric Determination of Allyl Isothiocyanate after Ultrasonic Solvent Extraction

Joon-Ho Hyun and Jong-Moon Choi^{1†}

Daesan Industrial Water Supply Construction Office, Korea Water Resources Corporation, Seosan, Chungnam 330-912, Korea

¹Department of Korean Medicine & Processing, Hanzhong University, Donghae, Gangwon 240-713, Korea

Received September 14, 2012/Revised September 27, 2012/Accepted September 30, 2012

Allyl isothiocyanate as an irritant quantified by spectrophotometry after ultrasonic solvent extraction as a pre-concentration were studied. For this purpose, the experimental conditions of allyl isothiocyanate need to be reviewed, comparing the extracting organic solvents solubility and extraction efficiency, the change of the maximum absorption wavelength according to extracting organic solvents and ultrasonic solvent extraction time were optimized. Results obtained using the standard sample, optimum extraction organic solvent was dichloromethane, and obtained significant absorbance spectrum by this ultraviolet light/sight lines without interfering which make applying by this method. For ultrasonic solvent extraction time of allyl isothiocyanate was sufficient in 15 minutes. Based on the experimental conditions of reviews, the calibration curve using a series of concentrations of the standard solution was made for quantitative analysis. Finally, determination of Allyl Isothiocyanate and reliable level of results could be obtained by applying this method in the domestic two-party products.

Key words: Allyl Isothiocyanate (Mustard oil), Spectrophotometric determination, Ultrasonic solvent extraction

1. 서 론

1996년 미국에서 호신용 분사기의 판매, 보유 및 사용이 합법화¹⁾된 이래로 국내에서도 매년 호신용품 판매량이 증가하고 있다. 이는 불 특정인을 상대로 한 범죄가 증가하는 사회적 현상 때문에 불안한 개인 특히 여성들을 중심으로 호신용품의 구매가 급증하고 있기 때문이다. 이런 목적을 위해 사용하는 호신용품들은 내장된 압축가스 또는 물리적인 힘이나 제품상단의 펌프를 압축시킴으로서 자극성 약제를 분사하는 기기이며 분사기와 스프레이 형태가 가장 많다.

일반적으로 호신 및 진압용품에 사용하는 자극성 약제는 물질의 상태에 따라 액체식과 분말식으로 나눌 수 있으나 자극성 약제가 분사될 경우 눈을 자극하여 눈

물이 나오거나 피부 따가움, 피부 발적, 호흡곤란, 기관지 손상을 야기하며 특히 일부 약제성분은 독성이 강하여 행정기관의 엄격한 승인과정을 거쳐야 한다.

국내에서 시판되는 호신용품에 내장된 자극성 약제는 주로 겨자에서 추출한 allyl isothiocyanate나 마늘, 후추 및 고추에서 추출한 oleoresin capsicum이며 이들에 노출될 경우 눈물이 나거나 호흡장애 등과 같은 무능화 효과가 나타난다. 그러나 치안목적용으로 사용되는 약제는 대부분 *o*-chlorobenzylidene malononitrile로 약효의 지속성과 암 발생 의혹 때문에 가능한 저농도로 사용할 것을 권장하고 있으며 이에 대한 법적 규제가 진행되고 있다.

지금까지 언급한 세 가지 자극성 약제 성분의 화학적 구조는 Fig. 1과 같다.

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: jmchoi@Hanzhong.ac.kr

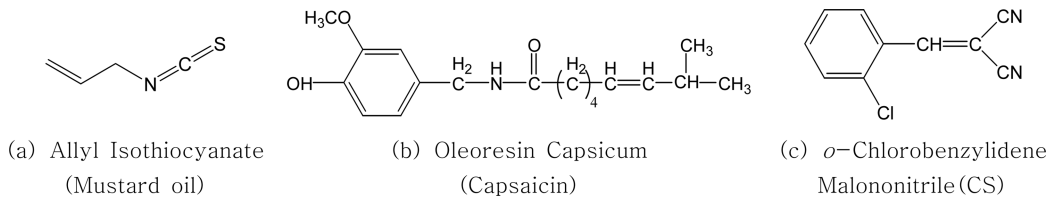


Fig. 1. The chemical structures of pungent materials.

그러나 호신 및 치안을 목적으로 자극성 약제가 내장된 호신용품을 사용할지라도 오·남용으로 인한 사고와 범죄, 긴급 및 구급의 수요가 날로 증가한다면 바람직한 사회 현상이라 보기 어렵다. 또한 수요량 증가에 따라 제조업체의 품질관리에도 문제를 야기할 가능성이 많다. 이미 언급한 바와 같이 분사기에 사용하는 약제는 대단히 유독한 물질이 많고, 보관 도중 첨가된 물질과의 부 반응으로 인해 인체에 유독한 물질을 형성할 수 있으므로 효과적인 품질관리와 약제의 독성을 평가를 위해 신속한 분석 기법을 확립할 필요가 있다.

지금까지 호신용품 내장 약제로 널리 사용되는 자극성 약제 성분에 대한 연구는 다음과 같다.

Barbero 등²⁾은 후추에 포함된 capsaicin을 역상 HPLC로 분리한 후 형광 분석하였다. Spicer 등³⁾은 에어졸 분사기 약제 중 capsaicin을 고체상 마이크로 추출법과 용매추출법의 결과를 상호 비교하였다. Kopec 등⁴⁾은 온도변화에 따른 capsaicin의 성분변화에 대해 연구하였다. Lia 등⁵⁾은 allyl isothiocyanate와 α - 및 β -cyclodextrin과의 사이에 발생하는 착물형성 반응을 headspace 기체크로마토그래프로 연구하였다. Troncoso 등⁶⁾은 양배추에 포함된 isothiocyanate를 고체상 마이크로 추출한 후 기체크로마토그래피-질량분석기로 정량하였다. Cejpek 등⁷⁾은 ally isothiocyanate를 황산화제인 hydrogensulphite와의 반응속도를 연구하였다. Recer 등¹⁾은 호신용 분사기 약제인 oleoresin capsicum, *o*-chlorobenzylidene malononitrile 및 2-chloroacetophenone의 공중보건학적 평가를 하였다. Nagarkatti 등⁸⁾은 단기간 *o*-chlorobenzylidene malononitrile에 의한 독성 평가를 쥐를 이용하여 검토하였다. Punte 등⁹⁾들도 역시 *o*-chlorobenzylidene malononitrile의 독성평가를 실시하였다. Park 등¹⁰⁾은 *o*-chlorobenzylidene malononitrile, chloroacetophenone 및 bromophenylacetone의 이성질체 같은 최루성 약제의 가수분해, 산화, 환원, 열분해 화합물에 대한 분석을 분광학적, 전기화학적 방법으로 확인하였다.

지금까지 수행된 방법을 보면 기체크로마토그래프,

기체크로마토그래프-질량분석법 및 고성능액체크로마토그래프 등을 이용하였고, 이처럼 고가 연구장비를 이용하면 효과적인 분석이 가능하지만 분석 시간, 분석단가 또는 많은 노력이 필요하다. 따라서 보다 신속하고, 간단한 방법으로 자극성 약제를 효율적으로 분석하는 방법이 필요하다.

본 연구에서는 호신용품에 내장된 자극성 약제 성분인 allyl isothiocyanate를 초음파 용매추출법으로 분리 추출한 후 추출용매에 따른 최대흡수파장을 구하여 자외선/가시선 분광기로 정량하였다. 이를 위해 필요한 실험조건인 allyl isothiocyanate 추출에 필요한 유기용매의 종류와 용매에 따른 최대 흡수파장을 검토하여 스펙트럼 방해의 유무를 결정하였고, allyl isothiocyanate 분석에 이용되지 않았던 초음파 용매추출을 시도하였다. 실험조건이 최적화되면 일련의 표준용액들을 조제하여 흡광도를 측정 후 검정곡선을 작성하였다. 마지막으로 시판되는 호신용품에 내장된 자극성 액체시료 2가지로부터 allyl isothiocyanate를 초음파 용매추출법으로 예비 농축하여 자외선/가시선 분광광도기로 정성 및 정량분석을 시도하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약 및 기기

2.1.1. 시약

실험에서 사용된 시약들은 특급 또는 시약급을 사용하였다. 실험 과정에서 사용한 정제수는 일차 증류한 물을 Barnstead NANO pure ultrapure water system 로 처리한 2차 정제수를 사용하였다.

Allyl isothiocyanate은 미국 Fluka사의 시약급 시약 사용하였고 추출용매인 ethyl alcohol, benzene, n-hexane, dichloromethane은 일본 Junsei사의 특급시약을 정제하지 않고 그대로 사용하였다.

실제시료로 사용한 자극성 액체는 온라인 판매점으로부터 구매한 호신용 스프레이 2 종류에 내장된 액체를 사용하였다.

Table 1. Operating conditions of UV/Vis spectrophotometer

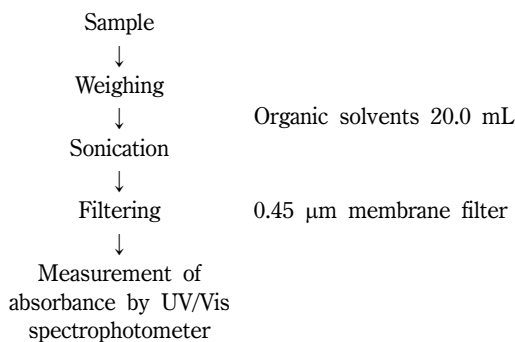
| Meas. mode | Scan Mode, Absorbance | Slit | 4 nm |
|---------------|-----------------------|------------------|-----------|
| Range(nm) | 190~1100 | Delta lambda(nm) | 1 |
| Speed(nm/sec) | 50 | Correction | Reference |

2.1.2 기기

사용한 자외선/가시선 분광광도계는 독일 Analytikjena 사 모델 Specord 201을 사용하였고, 기기측정조건을 Table 1에 수록하였다. 셀(cell)은 그 회사의 석영셀을 사용하였고, 초음파 용매추출을 위해 사용한 Ultrasonicator는 미국 Branson사의 모델 3210 ultrasonicator를 이용하였다. 사용한 화학저울은 영국 Precisa사, 모델 205A SCS를 사용하였다.

2.2. 실험방법

자극성 액체시료는 화학저울을 이용하여 각각 일정량 분취하여 마개가 있는 고밀도폴리에틸렌(HDPE) 용기에 넣은 후 ethanol, benzene, n-hexane, dichloromethane을 일정량 씩 가하고, 15분간 초음파 용매추출을 시도하였다. 초음파 용매추출을 한 다음 용해되지 않은 잔류물이 존재하면 0.45 μm 막필터로 여과하여 20.0 mL 부피플라스크에 넣고, 해당하는 용매로 표선까지 묽혀 사용하였다. 미리 세척한 석영셀에 시료 용액 일정량을 취하여 자외선/가시선 분광광도기로 시료에 포함된 각 성분의 최대흡수파장과 흡광도를 측정하였다(Fig. 2).

**Fig. 2.** Experimental procedure.

실제시료 분석을 위해 사용하는 검정곡선은 각 화합물에 대해 일련의 농도가 다른 표준용액을 조제하여 얻어진 흡광도를 이용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 추출용매의 선택

일반적으로 호신용품에 사용하는 자극성 약제는 무리화 효과를 극대화하기 위해 단일성분을 사용하기도 하고, 여러 가지 성분을 혼합하여 사용할 수 있으므로 약제 시료로부터 분석하고자 하는 특정성분을 적절한 유기용매를 이용하여 정량적으로 분배·농축시켜야 한다.

이런 조건을 만족시킬 수 있는 유기용매를 찾고자 allyl isothiocyanate는 0.1600 g 정도를 정확히 취하여 마개가 있는 고밀도 폴리에틸렌 용기에 넣은 후 용매의 극성에 따라 선택한 hexane, benzene, dichloromethane 및 ethyl alcohol을 각각 20.0 mL씩 넣고, 마개를 닫은 다음 초음파 세척기에 넣어 15분간 초음파 용매추출을 시도하였다. 초음파 용매추출을 끝내고, 맑은 유기용매층을 분취하여 자외선/가시선 분광광도계로 200~800 nm까지 흡광도를 측정하였다(Fig. 3).

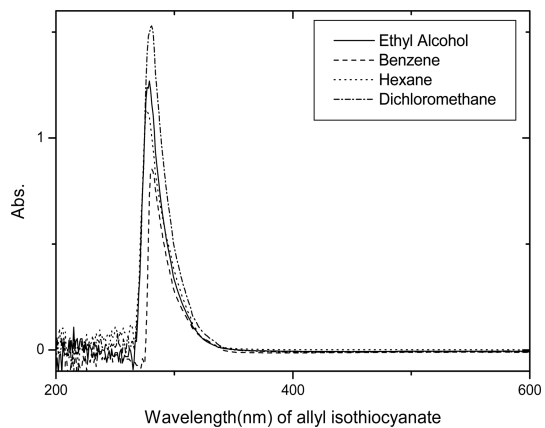
**Fig. 3.** Absorption spectrum of allyl isothiocyanate.

Fig. 3에서 보듯이, allyl isothiocyanate의 최대흡수파장은 hexane에서는 277 nm, benzene에서는 281 nm, dichloromethane에서는 281 nm, ethyl alcohol에서는 279 nm에서 나타났다. 이때 각 용매에 분배된 allyl isothiocyanate의 최대흡수파장은 거의 근접하였으나 흡광도의 크기로 볼 때 dichloromethane의 흡광도가 높게 나타난 것으로 보아 다른 용매에 비해 dichloromethane에 allyl isothiocyanate이 잘 분배된다는 것을 알 수 있었다.

이로써 allyl isothiocyanate를 초음파 용매추출할 때 추출용매로는 dichloromethane이 다른 용매에 비해 2 가지 자극성 성분들이 잘 분배된다는 것을 알 수 있었

다. 따라서 이후의 추출용매는 dichloromethane를 선택하였다.

3.2. 초음파 추출시간

용매추출법에서는 분석성분을 유기용매층으로 분배시킬 때 추출시간에 따른 영향이 크다. 이는 시료의 매트릭스 차 때문이기도 하지만 대부분 유기용매와 분석성분의 극성 차에 의해 분배되는 속도가 차이이기 때문이다. 따라서 물리적 혼합에 의한 추출보다 초음파를 이용한 추출이 더 우수할 것으로 생각되어 액체시료에 유기용매를 가한 후 이를 초음파 세척기에 넣고, 시료에 초음파를 주는 시간변화에 따른 분석성분들의 추출정도를 흡광도의 변화로 검토해 보았다.

이를 위해 제안된 실험방법에서 초음파 추출시간 변화에 따라 dichloromethane에서 얻어진 최대흡수파장에서 분석성분의 흡광도 변화를 고찰해 보았다(Fig. 4).

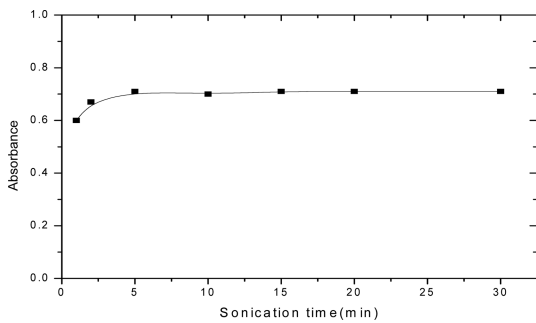


Fig. 4. Variation of absorbances for allyl isothiocyanate (210.0 µg/mL) according to ultrasonic extraction time.

Fig. 4에서 보듯이, 초음파 추출시간이 5분 이상이면 분석성분의 흡광도가 일정하게 나타나는 결과를 얻었다. 이는 초음파 용매추출시간이 5분 이상이면 분석성분이 정량적으로 dichloromethane으로 분배됨을 알 수 있었다. 따라서 이후 실험에서는 allyl isothiocyanate가 충분히 유기용매층으로 분배시키는 추출시간을 15분으로 하였다.

3.3. 실제시료의 분석

이상과 같이 검토한 추출조건을 바탕으로 실제시료 분석에 이용하는 검정곡선을 작성하기 위해 필요한 표준용액은 다음과 같이 조제하였다.

Allyl isothiocyanate를 일정량 취하여 dichloromethane에 녹여 각각 8,000 µg/mL 용액을 만들고, 이를 단

계별로 희석하여 검정곡선 작성용 표준용액을 조제한 후 기기측정조건에 맞추어 흡광도를 측정하여 검정곡선을 작성하였다(Fig. 5).

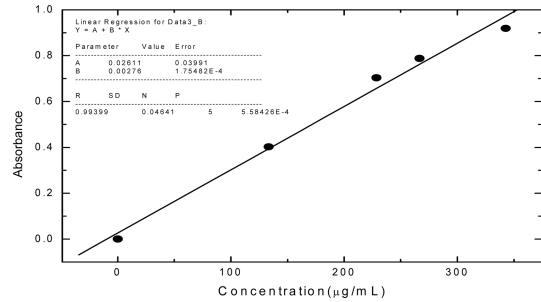


Fig. 5. Calibration curves of allyl isothiocyanate in dichloromethane.

Fig. 5에서 보듯이, 작성된 검정곡선은 회귀분석 결과 상관계수가 0.99399로 대단히 좋은 직선성을 나타내었다.

마지막으로 지금까지 검토한 조건을 바탕으로 제안된 방법을 실제시료에 응용해 보았다. 이를 위해 온라인에서 판매되는 호신용 스프레이 2가지를 구매하였고, 회수된 내장 액체들을 각각 0.1039 g 정도를 정확히 무게를 달아 폴리에틸렌 용기에 넣고, dichloromethane을 20.0 mL 가한 후 초음파 용매추출을 15분 간 실시하였다. 액체시료들에는 눈에 보일만큼의 불용성 성분은 없었으나 미세한 불용성 성분이 흡광도 측정 시 빛의 산란효과를 유발할지 모르므로 초음파 용매추출 후 0.45 µm 막필터로 걸러 맑은 유기용매층을 회수하여 자외선/가시선 분광광도계로 흡광도를 측정하였다(Fig. 6).

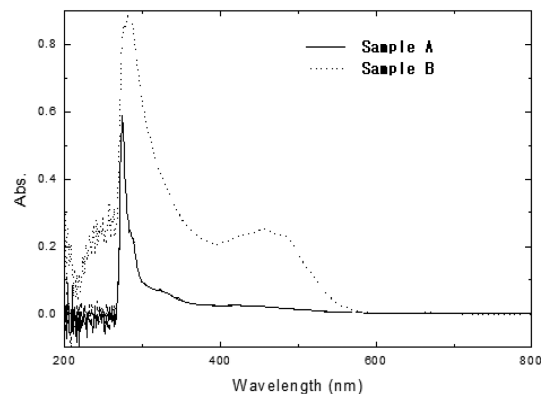


Fig. 6. UV spectra of real samples.

Fig. 6에서 볼 수 있듯이, Sample A 시료는 allyl isothiocyanate의 흡수파장과 정확히 일치하는 흡수파장

을 보여주지 않고, 최대흡수파장이 273 nm에서 나타났는데 이는 시료의 변질이나 다른 자극성 물질로 추정된다. 따라서 Sample A에 대해 관능검사를 실시한 결과, 상당한 자극성을 나타내었고, 이로부터 추측하건데 비록 본 실험에서 검토했지는 않았으나 이는 Capsaicin 성분으로 추정된다.

그러나 Sample B 시료의 경우, 최대 흡수파장이 283 nm에서 흡광도가 출현하였고, 이는 allyl isothiocyanate로 판단되며 희석비율을 고려한 환산농도는 38.8 %로 나타났다. 이 결과를 Table 3에 수록하였다.

Table 3. Analytical results of real samples (%)

| Samples | Component | Concentration |
|---------|----------------------|---------------|
| A | *capsaicin | - |
| B | allyl isothiocyanate | 38.8 |

*Estimated by sensory evaluation

4. 결 론

최근 불안한 사회정서를 반영하듯 인종기관의 인증을 받지 않는 호신용품들이 난립하고 있어 내장된 약제에 대한 정확한 품질관리가 필요하다. 따라서 유통되는 몇 가지 호신용품에 내장된 약제에 포함된 자극성 성분인 allyl isothiocyanate(Mustard oil)에 대해 초음파 용매추출을 시도하여 자외선-가시선 분광광도기로 신속한 분석기법을 제시하였다. 이에 다음과 같은 몇 가지 결론을 얻을 수 있었다.

- 스프레이 형태의 호신용품에 내장된 자극성 약제로는 allyl isothiocyanate(Mustard oil)와 확인되지 않는 성분이었다.
- 내장 약제를 용매추출할 때 가장 유용한 유기용매로는 dichloromethane이었고, allyl isothiocyanate (Mus-

tard oil)는 280 nm의 최대흡수파장을 나타내었다.

- 내장 약제를 초음파 추출을 시도할 때 추출시간으로 5분 이상 이면 충분하였다.
- 내장 액체에 포함된 성분의 농도는 allyl isothiocyanate가 38.8%정도였다.
- 일부 내장약제는 첨가물에 의한 가수분해로 인한 변질이거나 다른 자극성 약제성분을 사용했을 가능성이 있었다.

참고문헌

1. G. M. Recer, T. B. Johnson and A. K. Gleason, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **2002**, 36, 1-11.
2. G. F. Barbero, A. Liazid, M. Palma and C. G. Barroso, *Food Chemistry*, **2008**, 107, 1276-1282.
3. O. Spicer Jr. and J. R. Almirall, *Talanta*, **2005**, 67, 377-382.
4. S. E. Kopeca, R. J. DeBellis and R. S. Irwina, *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, **2002**, 15, 529-534.
5. X. Lia, Z. Jina and J. Wanga, *Food Chemistry*, **2007**, 103, 461-466.
6. R. Troncosoa, C. Espinozaa, A. Sanchez-Estrada, M. E. Tiznadoa and H. S. Garcia, *Food Research International*, **2005**, 38, 701-708.
7. K. Cejpek, J. Urban, J. Veliöek and H. Hrabcova, *Food Chemistry*, **1998**, 62, 53-57.
8. M. Nagarkatti, P. S. Nagarkatti and C. D. Raghuvellan, *Toxicology Letters*, **1981**, 8, 73-76.
9. C. L. Punte, J. T. Weimer, T. A. Ballard and J. L. Wilding, *Toxicology and Applied Pharmacology*, **1962**, 4, 656-662.
10. S. W. Park, N. Y. Kim, D. H. Kim, S. W. Hong, N. D. Sung, I. K. Kim and I. K. Oh, *Analytical Science & Technology*, **1992**, 5, 443-454.