

목포, 남원, 예산지방 Burley 엽중 형별
질소의 경향 조사 연구

김 신 일 · 김 찬 호

한국연초연구소 화학분석실

(1979. 9. 10 접수)

**Investigation of Some Forms of Nitrogen in Burley Tobacco Leaf
Cultivated in Mokpo, Namwon and Yaesan District.**

Sin Il Kim and Chan Ho Kim

Lab. of Chemical Analysis, Korea Tobacco Research
Institute, Seoul, Korea

(Received Sept. 10, 1979)

초 록

목포, 남원, 예산지방에서 각각 재배한 Burley 엽중의 nitrate form nitrogen, alkaloid form nitrogen, ammonia form nitrogen, protein form nitrogen과 amide form nitrogen의 함량을 조사하였다.

Total nitrogen 중에서 protein form nitrogen이 차지하는 비율이 30-33%로써 가장 높았고, nitrate form nitrogen이 10~23%, alkaloid form nitrogen이 8~16%, ammonia form nitrogen이 6~9%, 그리고 amide form nitrogen이 2~3%였다.

Nitrate form nitrogen의 함량 비율은 예산, 남원, 목포 순으로 증가하는데 반하여 alkaloid form nitrogen은 반대되는 현상을 보였다.

등급에 따라서는 alkaloid form nitrogen과 ammonia form nitrogen의 함량 비율의 순위는 H5 > 3 > 1 > L1 > 3 > 5이었으며 nitrate form nitrogen은 이와 반대되는 경향이였다.

Abstract

The nitrogen contents of some forms in Burley tobacco leaf cultivated in Yaesan, Mokpo and Namwon district were investigated.

The rate of each form in total nitrogen contents were as follows ;

Protein form nitrogen	30~33 %
Nitrate form nitrogen	10~23 %
Alkaloid form nitrogen	8~16 %
Ammonia form nitrogen	6~9 %
Amide form nitrogen	2~3 %
Other form nitrogen	26~44 %

The order of nitrate form nitrogen content on the nitrogen of each tobacco cultivated in three area was Yaesan > Namwon > Mokpo, but that of alkaloid form nitrogen was reverse order of nitrate form nitrogen.

As for quality (grade), the orders of alkaloid and ammonia form nitrogen content on total nitrogen were H5 > 3 > 1 > L1 > 3 > 5, but that of nitrate form nitrogen was reversed.

서 론

잎담배의 품질 평가에 이용되고 있는 Schmu-
uck 계수와 Pyriki 계수는 다같이 질소화합
물의 값이 역수(분모)로 관여하고 있어서 질소
화합물이 잎담배 품질의 저해요인으로 작용하고
있음은 잘 알려진 사실이다.

Leffingwell의 잎담배 중의 질소화합물과
smoking quality 그리고 aroma와의 상관관계
의 조사보고에 의하면(9), glutamine이나 ala-
nine과 같은 질소 화합물이 aroma, flavor,
mildness에 다같이 역상관 관계로 나타나서
이들의 값이 커질때 향각미의 효과가 감소합
을 계수적으로 보고한 바 있다.

이와같은 질소화합물에 대한 국내산 잎담배중
의 total nitrogen, total alkaloid에 대한 보
고(11,12)에 의하면 Burley엽종의 total alk-
aloid는 목포지방에서 재배한 것이 가장 많으며
total nitrogen은 예산 지방이 가장 많은 것으
로 조사보고한 것과 Y. S. A 및 Orient엽인
Izmir에 대한 total amino acid를 분석하여
그 조성 및 함량을 비교 검토한 것이었고(18)
외국산 잎담배중의 nitrosamine(13,10), am-
monia, amine (1, 3), nitrate nitrogen(6),
amino compounds (2) 등에 대해서도 이들을

각품종간 함량을 비교한 예가 많다. 이외에도
Schmelts와 Hoffmann(7)은 잎담배와 담배
연기중의 질소화합물을 amide, amino sugar,
aliphatic amine, aromatic amine, N-hetero-
cyclic compound, amino acid, nitrile, nitro-
alkane, N-nitrosamine, miscellaneo-
us-N-containing compound의 10group으로
정리 하였는데, 이는 잎담배중의 질소 화합물을
구조별로 체계화 하여 질소 화합물의 형성과정,
정성정량방법, 질소화합물들이 인체에 미치는 영
향등을 고찰하였다.

본 연구에서는 위와같은 방법들을 참고로 하
여 우리나라에서 재배한 Burley 엽에 대하여 to-
tal nitrogen으로 표시되는 alkaloid form
nitrogen, nitrate form nitrogen, ammonia
form nitrogen, protein form nitrogen, ami-
de form nitrogen을 산지별로 조사하여 등급별
로 표시되고 있는 품질과의 관계를 고찰 하였다.

실 험

시료 및 시약

시료로 사용한 잎담배는 목포, 남원, 예산 지
방에서 1978년에 재배한 것으로 1차 건조한 후
엽(heavy leaf) 1, 3, 5등 (grade)과 박엽(li-
ght leaf) 1, 3, 5등을 취하여 실온에서 충분히

히 건조하고 지름 1 mm 이하가 되도록 분쇄하였다(Wiley mill, Model 3). 분석시료는 분쇄한 시료를 그대로 취하되 건조기에서 ($80 \pm 1^\circ\text{C}$), 3 시간 건조시켜서 수분함량을 측정하고 분석에 사용된 시료를 측정된 수분의 값으로 보정하여 대건물(dry base)기준의 값으로 하였다.

trichloro acetic acid(Wako), silicotungstic acid(Cica), potassium nitrate(Cica), 3,4-dimethyl phenol(Tokyo - Kasei)은 특급시약을, Dowex - 50 W - X 8 (20-50 mesh Baker 제)를 사용하였으며, 그밖의 시약은 1급시약을 사용하였다.

3,4-dimethyl phenol 용액의 조제는 위시약 2.5g을 0.2N NaOH 용액 100ml에 용해하여 2일 이내에 사용하였으며, 질산형(nitrate form)의 질소 표준원액(stock solution)과 표준용액(working solution)은 질산 칼륨(KNO_3) 7.219g을 1/1000 눈금 플라스크에 정확히 달아서 취하고 소량의 물에 녹인뒤 1/1000 수용액이 되도록 조제하였으며, 이 원액을 200 ml 눈금 플라스크에 각각 0에서 6ml 까지 5개 취하고, 10% 삼염화초산 25 ml씩 각각 넣은 다음 정확하게 증류수로 200 ml 되도록 조제하였다.

이온교환수지관 (ion exchange resin column): Dowex - 50 W - X 8 (20-50 mesh) 500 g을 취하여 삼각플라스크에 넣고 0.1N 수산화나트륨(NaOH) 용액 50ml를 가해서 저어주고 15분간 두었다가 윗물을 버린다. 같은 조작을 3회 되풀이 하였다. 여기에 500ml의 물을 다시 넣고 저어주고 5분간 두었다가 윗물을 버린다. 이 조작은 5회 되풀이 하여서 리트머스 종이 가 변색하지 않도록 하였다. 다시 0.2M 인산 원용액 300ml를 넣고 저어주고 10분간 두었다가 윗물을 버린다. 이 조작을 3회 되풀이 하였다.

과잉의 원용액을 없애기 위해 탈염수를 넣고 저어주고 5분간 두었다가 윗물을 버린다. 이 조작을 3회 되풀이 하였다.

갈색 유리병에 400ml의 물을 넣고 이렇게 조작을 한 수지를 옮겨 담아서 두께를 한 다음 어두운 곳에 보관한다. 수지의 현탁액을 받

지름이 1.2cm의 유리관에 수지부분의 높이가 21cm가 되도록 채워서 이온교환수지관을 만들었다.

살리실산-황산 용액은 황산 40ml에 살리실산(salicylic acid) 2g을 녹혀 만든다.

실험방법

Total nitrogen (15, 20) : 시료 약 0.4g을 정확히 달아서 100ml Kjeldahl 플라스크에 넣고 살리실산-황산용액 8.0ml를 가하여 내용물이 완전히 섞이도록 흔들어서 30분 이상 방치하였다.

결정 티오황산나트륨 1g을 가하여 섞이도록 하고 다시 5분정도 그대로 두었다가 약하게 가열하여서 기포가 일어나지 않을때까지 계속 하였다.

가열을 멈추고 서서히 식혀서 황산구리와 황산칼륨 혼합분말 2g을 넣고 분해시켜 증류하고 전질소를 정량하였다.

Protein form nitrogen (21, 14) : 시료 0.5g을 정확히 달아서 5% 삼염화초산용액 100ml를 가한 다음 때때로 흔들어 주면서 실온에서 12시간 방치하고 거른다. 침전은 몇번 씻어서 침전과 거름종이를 같이 약 60°C 에서 5시간 건조하고 거름종이와 함께 Kjeldahl 방법으로 질소를 정량하였다.

Nitrate form nitrogen : 시료 약 1g을 정확히 달아서 물로 30분간 추출하고 10% 삼염화초산 25ml를 넣어서 3분간 추출한 다음 거르고 물을 가하여 정확히 200ml가 되게 한다. 이 용액 10ml를 증류플라스크에 넣고 3,4-dimethyl phenol 용액 2ml와 80% 황산용액 40ml를 가한 다음 30분간 실온에서 방치하고 물 100ml를 넣어서 bumping stone을 넣고 수직 리비히 냉각관을 부쳐서 증류한다. 미리 0.2N 수산화나트륨 10ml를 가한 100ml 눈금플라스크(mess flask)에 증류액을 약 50ml 될때까지 받는다. 정확히 100ml 되도록 증류수로 채우고 질산구리의 표준용액을 취하여 같은 조작을 한후 두께 1cm의 흡수

용기를 이용하여 파장 432nm에서 흡광도 (spectrophotometer, Beckman Du)를 측정하였다.

Ammonia form nitrogen (16, 17) : 시료 약 1g를 정확히 취하여 60% 알코올을 50ml에 넣고 물중탕에서 10분간 환류 냉각시킨다.

이 용액을 거른후, 60% 알코올로 씻어내린 용액을 원액에 합하여서 40°C에서 감압농축한다. 용액의 염산농도가 약 0.3% 되도록 염산을 가하고 12% silicotungstic acid 용액으로 알카로이드를 완전히 침전시킨 다음 24시간 방치한후 거른다. 거른용액에 포화탄산나트륨 수용액을 가하여 알카리성으로 하고 상온에서 흡수병을 이용하여 (공기중의 암모니아등을 제거하기 위하여 따로 1N 황산용액을 담은 흡수병을 연결) 증류시켜서 발생한 암모니아를 0.01N 황산용액에 포집한다. 포집한 용액중 과잉의 황산을 methyl red, methylene blue 혼합지시약을 가하여 0.01N 수산화나트륨 표준액으로 적정하여 정량하였다.

Amide form nitrogen (22) : 시료 약 1g을 정확히 취하여 60% 알코올로 ammonia form nitrogen을 분석할 때와 같이 추출농축하고 농축액을 정확하게 10ml가 되도록 거른다. 거른용액 5ml를 Dowex - 50W 수지판에 붓고 탈염한 물 약 20ml를 사용하여 25ml 눈금플라스크에 받는다. 정확하게 눈금을 맞춘뒤 일정량을 취하여 황산의 최종 농도가 1N이 되도록 6N 황산으로 조정을 하고 물중탕에서 3시간 가열한뒤 ammonia form nitrogen을 분석할 때와 같이 포화탄산나트륨액을 넣고 같은 조작으로 암모니아 구조의 질소를 정량하였다.

Total alkaloid (4, 8, 5, 19) : 시료 0.5g을 정확히 취하여 증류플라스크에 넣고 물 25ml를 사용하여 씻어내린다. 염화나트륨 30g과 8N 수산화나트륨 5ml를 가하고 2N 황산 15ml를 넣은 200ml 눈금플라스크에 유출액 약 150ml를 받아서 포선까지 물을 넣어 맞춘다. 이 용액 10ml를 정확히 취하여 100ml 플라스크에 넣고 0.05N 황산용액으로 포선까지 맞추고 잘 섞는다. 이 용액의 흡광도를 파장 236nm

(A_{236}), 259nm (A_{259}), 282nm (A_{282})에 측정하였다.

2N 황산 15ml를 250ml로 묽힌 용액에 대한 공실험을 같이하여 보정하였다.

total alkaloid C는

$$C(\%) = \frac{A_{259} \frac{1}{2} (A_{236} + A_{282} \times 0.06175)}{\text{sample}(\%)} \times 1000$$

식으로 계산하였다.

결과 및 고찰

3개 지역별의 Burley 엽의 total nitrogen은 Table 1과 같았다.

Table 1. Total Nitrogen Content on Grades (Quality) of Burley Leaf

Grade	Nitrogen (%)			
	Mokpo	Namwon	Yaesan	Mean Value
H 5	3.71	4.07	4.65	4.14
3	4.31	3.54	4.89	4.25
1	4.33	4.23	4.46	4.34
L 1	3.92	4.07	5.24	4.41
3	4.38	5.00	5.25	4.88
5	4.03	3.46	2.59	3.36

각 지방별 평균값이 예산지방이 4.51%로서 목포, 남원 지방 4.11%와 4.06%에 비하여 0.4%이상 높았다.

3개 지방의 total nitrogen 함량을 등급별로 평균한 값을 보면 H5등에서 L3등으로 갈수록 4.14%에서 4.88%까지 증가하는 경향이었는데 착엽위치와 관련시켜 보면 total nitrogen은 착엽위치가 낮을수록 증가하는 현상이었다고 할수 있다.

alkaloid 구조중의 nitrogen은 alkaloid를 정량하여 환산한 값이며 Table 2와 같았다.

Table 2. Alkaloid form Nitrogen Content on Grades (Quality) of Burley Leaf

Grade	Nitrogen (%)			
	Mokpo	Namwon	Yaesan	Mean Value
H 5	0.87	0.54	0.37	0.59
3	0.94	0.51	0.39	0.61
1	0.79	0.66	0.37	0.61
L 1	0.56	0.44	0.45	0.48
3	0.48	0.44	0.33	0.42
5	0.24	0.22	0.13	0.20

The value is calculated for nitrogen contents by total alkaloid

재배지역별로는 목포 0.65%, 남원 0.47%, 예산 0.34%의 순으로 nitrogen 함량이 낮았으며 그중 목포지방에서 재배한 Burley 엽이 가장 높았다. 착엽위치별로 정리한 등급간의 경향은 착엽위치가 높을수록 그 함량이 많았으며 nicotine 이 tip 부분에서 가장 높다는 일반적인 견해와 잘 일치하였다. (11, 12).

nitrate form nitrogen의 함량을 보면 Table 3과 같았다.

Table 3. Nitrate form Nitrogen Content on Grades (Quality) of Burley Leaf

Grade	Nitrogen (%)			
	Mokpo	Namwon	Yaesan	Mean Value
H 5	0.16	0.26	1.21	0.54
3	0.79	0.26	0.71	0.59
1	0.47	0.35	0.87	0.56
L 1	0.41	0.69	1.14	0.75
3	0.22	1.22	1.13	0.86
5	0.51	0.35	1.18	0.68

등급간에는 차이가 없으나 재배지역에 따라서는 현저한 차이가 있었다.

재배지역이 목포와 남원의 Burley는 평균값

이 0.43~0.52%로서 서로 비슷하였지만 예산 지방의 Burley는 1.04%로서 두지역에서 재배한 Burley 엽에 비하여 2배에 가까웠다. 이와 같은 결과는 Table 1에서 total nitrogen 이 목포와 남원엽에 비하여 예산엽이 0.4% 정도 높은 값을 보였는데 이는 nitrate nitrogen 의 값이 높았기 때문인 것으로 생각된다. 그러나 지역에 따라 함량의 차이가 현저한 것에 대해서는 추후에 보다 상세한 원인 규명을 하고자 한다.

ammonia form의 nitrogen을 조사한 결과 Table 4와 같았다.

Table 4. Ammonia form Nitrogen Content on Grades (Quality) of Burley Leaf.

Grade	Nitrogen (%)			
	Mokpo	Namwon	Yaesan	Mean Value
H 5	0.24	0.35	0.56	0.38
3	0.25	0.27	0.62	0.38
1	0.31	0.28	0.34	0.31
L 1	0.29	0.28	0.53	0.37
3	0.28	0.35	0.32	0.32
5	0.18	0.37	0.12	0.22

지역에 따른 평균값을 보면 목포 0.26%, 남원 0.32%, 예산 0.42%로서 nitrate form nitrogen의 경우와 같이 예산 지방이 가장 높았다.

등급으로 표시된 착엽위치별로 보면 low stalk leaf로 갈수록 ammonia form nitrogen은 낮은 값을 보였다.

protein type nitrogen은 Table 5에서 보는 바와 같이 등급간에는 현저한 경향이 보이지 않았으며 지역별로는 목포 1.25%, 남원 1.35%, 예산 1.45%의 순으로 예산지방에서 재배한 Burley가 가장 높은 값을 보였다.

amide form nitrogen은 Table 6과 같았다.

등급간에는 0.07~0.142%의 범위에서 차이가 없었으나, 지역에 따라서는 목포 0.13%, 남원 0.16%, 예산 0.098%로서 nitrate form

Table 5. Protein form Nitrogen Content on Grades(Quality) of Burley Leaf

Grade	Nitrogen (%)			
	Mokpo	Namwon	Yaesan	Mean Value
H 5	1.12	1.85	1.61	1.49
3	1.55	0.99	1.55	1.36
1	1.38	1.40	1.30	1.36
L 1	1.00	1.24	1.64	1.29
3	1.37	1.36	1.73	1.49
5	1.07	1.37	0.89	1.11

Table 6. Amide form Nitrogen Content on Grades (Quality) of Burley Leaf

Grade	Nitrogen (%)			
	Mokpo	Namwon	Yaesan	Mean Value
H 5	0.074	0.098	0.157	0.110
3	0.120	0.190	0.068	0.126
1	0.189	0.118	0.115	0.141
L 1	0.213	0.019	0.091	0.108
3	0.111	0.216	0.098	0.142
5	0.096	0.057	0.058	0.070

nitrogen, ammonia form nitrogen, protein form nitrogen 과는 반대되는 경향을 보였고, alkaloid form nitrogen 의 경향과 같았다.

이들 5개 형별 질소의 total nitrogen 에 대한 함유비를 보면 Table 7과 같았다.

total nitrogen 중에서 확인되지 않은 형의 nitrogen 을 빼면 protein 형 질소가 30~33%로 가장 높은 값을 보였으며 nitrate form nitrogen 과 alkaloid form nitrogen 이 각각 10~23%, 8~16%였고 ammonia form nitrogen 은 6~9%, amide form nitrogen 은 불과 2~3%였다.

Table 7. Relationship of Total Nitrogen and Each form Nitrogen Content of Tobacco Leaf Cultivated in Mokpo Namwon and Yaesan

Nitrogen form	Nitrogen ratio (%) in Total Nitrogen		
	Mokpo	Namwon	Yaesan
Nitrogen N.	10	13	23
Alkaloid N.	16	12	8
Ammonia N.	6	8	9
Protein N.	30	33	32
Amide N.	3	3	2
Other form N.	35	31	26
Total	100	100	100

이중에서 nitrate form nitrogen 과 alkaloid form nitrogen 의 함량비율은 그 범위가 넓으면서 서로 반대경향을 보였는데 두질소화합물간의 metabolism 이 앞으로 연구되어야만 그 경향에 대한 이론이 정립되리라 사료된다.

그리고 등급에 따라 각형별 nitrogen 의 total nitrogen 에 대한 함유비를 보면 Table 8과 같다.

alkaloid form nitrogen 과 ammonia form nitrogen 은 tip 에 가까운 H 5 등에서 높은 값을 보였고 low stalk leaf 인 L 5 등으로 내려갈수록 점차로 감소하는 현상을 나타냈다.

nitrate form nitrogen 은 이와는 반대로 low stalk leaf 쪽인 L 5 등에 가까울수록 높은 값을 보였으며 후엽쪽이 낮았다.

30% 이상을 차지하고 있는 protein form nitrogen 은 tip leaf 에 해당하는 H 5 등과 low stalk leaf 에 해당하는 5 등에서 그 값이 크고 중위엽에 해당하는 부분이 낮은 값을 보였지만 현저한 차이를 보이지는 않았다.

Table 8. Nitrogen Ratio in Total Nitrogen Content on Leaf Grades

Grade	Mean Nitrogen Value (%)						Total
	Alkaloid N.	Nitrate N.	Ammonia N.	Protein N.	Amide N.	Other N.	
H 5	14.25	14.04	9.17	35.99	2.65	23.90	100
3	14.35	13.88	8.94	32.00	2.96	27.87	100
1	14.05	12.90	7.14	31.33	3.24	31.34	100
L 1	10.89	17.00	8.36	29.25	2.44	32.02	100
3	8.60	17.62	6.55	30.55	2.91	33.77	100
5	5.99	20.23	6.54	33.03	2.08	32.13	100

참 고 문 헌

- Collins P. F., Lamrence W. W. and Williams J. F., Beiträge zur Tabakforschung, Band 6, Heft 4, 167 (1972)
- Collins P. F., Sarji N. M. and Williams J. F., Beiträge Zur Tabakforschung, Band 7, Heft 4, 228 (1974)
- Cora W. Agers, Talanta, Vol. 16, 1085 (1969)
- CORESTA Standard Method, No. 20, 1 (1968)
- Griffith, Tobacco Sci., 1: p. 130~137 (1957)
- Gerald P. Morie and Cephas H. Sloan, Beiträge zur Tabakforschung, Band 7, Heft 2, 61 (1973)
- Irwin Schmeltz and Dietrich Hoffmann, Chemical Reviews, Vol 77, No. 3, 295 (1977)
- International Standard, I. S. O., p. 2881 (1977)
- John C. Leffingwell, The 30th Tobacco Chemists Reserch Conference (1976)
- Nashville, Tennessee
- John W. Rhoades, and Donald E. Johnson, J. of Chromato. Science, Vol 8, 616 (1970)
- 김용태 · 양광규 · 박찬홍 : 전매기술연구보고서, 161. (1976)
- 김용태 · 양광규 · 배봉휘 : 전매기술연구보고서, 245. (1977)
- Kadar R. Sintef, Beiträge zur Tabakforschung, Band 6, Heft 3, 117. (1972)
- 神立誠 · 保井忠彦, 農化, 25, 27. (1951)
- Official Methods of Analysis of the A. O. A. C., 11th ed, 16. (1970)
- ibid, 11th ed., 18. (1970)
- Paul R. Henderlong et. al., Plant physiol., 41, 1102 (1966)
- 서철원 · 이영중 · 남윤면, 전매기술연보, Vol. 16, 51 (1976)
- Seehofer and Borosk, Beiträge zur Tabakforschung, 2: 37 (1963)
- たばこ分析法, 葉たばこ成分編, 日本専賣公社, p. 9~10 (1975)
- ibid, p. 14~15 (1975)
- Vickery H. B., Biochem. J. 29: 2710 (1935)