

Gas Chromatography에 의한 잎담배와 담배연기응축물 중의 유기산 정량

이 문 수 · 이 윤 철 · 오 세 열 · 이 규 서

한국인삼연초연구소

A Gas Chromatographic Determination of Organic acids in Tobacco leaves and Cigarette Smoke Condensate

RHee, M. S., Lee U. C., Oh S. Y. and RHee, K. S.

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute Seoul, Korea.

(Received for publication, March 18, 1983)

ABSTRACT

A gas chromatographic procedure is described which permits separation and determination of nonvolatile organic acids and higher fatty acids simultaneously in tobacco leaves and cigarette smoke condensate.

The transfer rates from cigarettes to main stream smoke were examined for eight of the nonblending cigarettes.

Average transfer rates for three varieties tobacco leaves, respectively were linolenic 31 and 62% linoleic 21 and 59% palmitic 29 and 38% malic 4 and 6%.

서 론

많은 담배과학자들은 잎담배의 화학성분과 연기응축물과의 관계에 대해서 많은 관심을 갖고 있다. 담배는 품종, 재배방법, 건조방법 등에 따라서 이들이 갖는 화학적 조성은 많은 차이를 갖는 것은 주지의 사실이다.^{1,14)} 그렇기 때문에 잎담배와 연기와와의 관계를 직접적인 방법으로 연구하기에는 여러가지 분석적인 문제가 수반되고 있다. 특히 제조담배에서는 잎담배의 화학성분조성과 연기성분과의 관계를 추적하는 것은 더 복잡한 여러가지 인자가 작용하는게 사실이다. 제조담배에서는 품질을 유지하고 각연기호에 맞는 flavor와 taste를 발현시키는 일은 잎담배와 연기의

조성이 어떠한 관계를 갖는가에 따라서 달라질수 있기 때문에 이들의 관계를 연구 분석하는 것은 궁극적으로 품질이 우수한 담배를 생산하는 첨경이 될 수 있다. 현재까지 잎담배에서는 2,480, 연기중에서는 3,675성분, 잎담배와연기중 공통으로 확인된 화학성분이 1,550여 성분으로 밝혀지고 있다. 이와같이 많은 화학성분을 대별하여 보면 sugar와 cellulose가 각각 12.5%, 10.0%수준이며 각종 acid화합물이 9.0% 정도 존재하는 것으로 보고 되고 있다.⁶⁾ 이와같이 유기산은 다시 휘발성유기산, 비휘발성유기산, 그리고 지방산으로 대부분이 조성되어 진것으로 보고되고 있다. 이러한 산들은 잎담배가 성장하는 여러단계에서 생합성되며 각종의 건조방법에 따라서 양적

으로 서로 다른 조성을 갖게 된다. 제조담배에서는 이들성분이 껍연시 연기 PH와 직접관련이 있고 smoke aroma와 flavor에 많은 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다. 즉 껍연시 담배의 aroma와 taste에 어느 만큼 영향을 주는가에 대해서는 여러가지 조사방법이 있겠지만 잎담배에 존재하는 화학성분이 껍연시 얼마나 주류연으로 이행되는가에 따라서 조사되어야 할 것으로 생각된다. 이러한 관점에서 몇가지 잎담배를 선정하여 엽중 유기산의 함량을 조사하고 이들 유기산의 연중이행율을 고찰하였으며 실험방법의 단순화도 함께 연구하였다.

실험 및 방법

본 실험에 사용된 잎담배 시료는 Table 1과 같다.

Table 1. Sample

Varieties	Grade
Flue-cured	
Korea NC.-2326	Low 3
By.-4	Low 3
U. S. A. Flue-cured	B3F
Aromatic	
Izmir	B / G
Basma	I / III
So-hyang	Hevey 2
Burley	
U. S. A. Br.	C2F
Korea Br.-21	Low 3

— 시제담배의 조제 및 껍연조건 —

각 원료엽을 각폭 0.9mm로 절각하여 Molins Mark 9 N Cigarette making machine으로 둘레 25mm 길이 60mm가 되게 양절담배로 권상하였다. 껍연조건은 중량 0.95±0.2g, 흡인저항 40±5 mm H₂O로 선별한 후 온도 20±1℃ 상대습도 60±5%의 조화실에서 48시간 조화시킨 후 Smok-

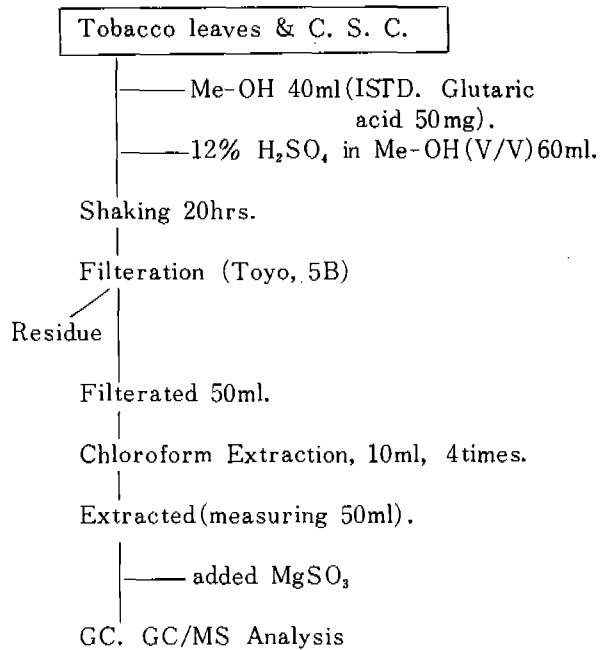


Fig 1. Fractionation Scheme for isolation of fatty acid methyl ester from tobacco leaves and cigarette smoke condensate.

ing machine (Filtrona Model 302 England)를 이용하여 5개씩 CORESTA[®] 표준조건으로 Smoking하여 cambridge filter에 흡착시킨후 분석에 사용하였으며 실험의 오차를 감안하여 5회 반복하여 실시하였다.

— 추출시료의 조제 —

잎담배 시료와 Cambridge filter에 흡착된 연기는 축물중의 유기산을 추출하기 위해서 Fig. 1과 같이 추출 및 methylation 시켰다. 추출된 클로로포름 용액은 -4℃에서 보관하면서 gas chromatography 분석용 시료로 하였다.

시약 및 장치

비휘발성유기산 및 지방산 표준시약은 동경화학 (Tokyo KASEI, Japan) 특급시약을 사용하였으며 그 이외의 추출용매는 Merck 제 Chromatography용 이었다.

Gas chromatography는 flane ionization detector가 장비된 Hewlett packard 5840A GC와

model 5840 A GC terminal을 사용하였다. Column은 5% silar 10C 100/200WHP (18m×6 mm O. D. 2 mm I. D. glass)이었다.

분석조건은 injector temp, 230°C, detector temp, 250°C, Column oven temp는 90°C에서 5분간 유지한후 230°C까지 8°C/min로 programing 하였다.

Carriergas는 30ml/min, N₂를 사용하였다. 각각 유기산들의 정량은 다음식으로 계산하였다.

Absolute amount Y(a) =

$$\left(\frac{Y \text{ Area}}{\text{ISTD area}} \right) \times \left(\frac{Y \text{ response}}{\text{ISTD response}} \right) \times$$

ISTD (b) amount × DF (c)

(a) = individual compound

(b) = internal standard

(c) = dilution factor

결과 및 고찰

잎담배로 부터 추출된 시료용액을 gas chromatography로 분리한 결과는 Fig. 2와 같이 나타났다. 이 실험조건에서 분리된 성분은 총20여

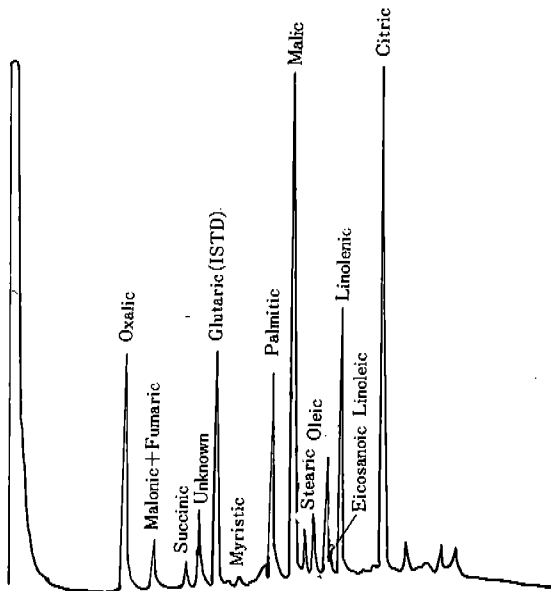


Fig 2. GC Chromatogram of fatty acid in tobacco leaves.

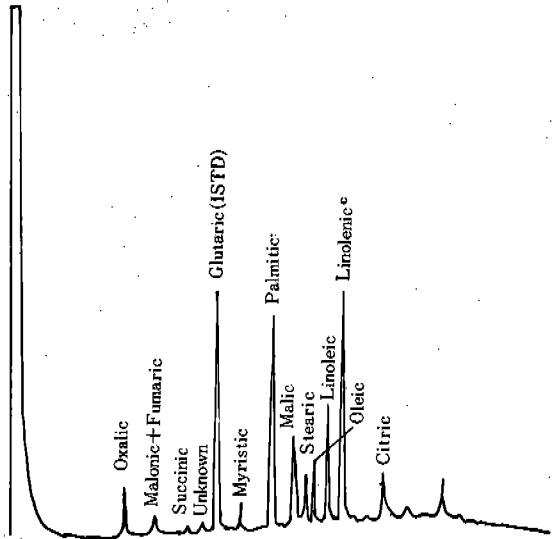


Fig 3. GC Chromatogram of fatty acid in cigarettes smoke condensate.

개 peak를 나타냈으며 각 표준물질로 확인한 결과 비휘발성유기산으로는 oxalic, malonic (fumaric), succinic, citric, Eicosanoic, malic acid였으며 지방산으로는 myristic, Palmitic, Stearic, Oleic, linoleic, linolenic acid로써 총 12개 성분을 확인하였다.

Harvey⁷⁾와 일본의 sugawara¹¹⁾ 등이 10% 황산메탄올용액으로 methylation 한 후 클로로포름으로 추출하여 3.5% carbowax 20M GL column으로 oxalic, malic, citric acid 등 7개 성분을 확인정량하였지만 본 실험에서는 잎담배시료 10g을 사용하였을때 총12개 성분을 동시에 분석정량할 수 있었다. 이러한 결과는 william, A. court⁴⁾의 분석법과 비슷한 결과를 보였다. 또한 연기응축물로 부터 추출된 유기산의 GC Chromatogram은 Fig. 3과 같이 나타났다. 잎담배로부터 얻은 Fig. 2의 GC Chromatogram과 서로 비교하여 보면 비휘발성유기산의 함량이 매우 적은 것을 알 수 있다. 이러한 결과는 열중에 함유된 비휘발성유기산들이 지방산에 비하여 직연시 주류연으로 이행되는 양이 상대적으로 적고 부류연으로 휘발되는 양이 많은 것은

검작케 한다. 다음 Table 2는 각종 잎담배에 함유된 비휘발성유기산과 지방산의 함량을 표시한 것이다. Major acid로는 각 품종에 따라서 다소 차이는 있지만 malic, oxalic, citric, linolenic, malonic acid였으며 minor acid로는 palmitic, Oleic, linelic, stearic, eicosanoic acid로 밝혀졌다. 각 품종에 따른 함유특성은 Burley종이 황색종보다 citric acid 함량이 평균 5~10배 정도의 높은 함량으로 나타났다. 그리고 국내산 황색종에서도 BY-4보다 NC2326이 3배 정도 높게 나타났다. 이러한 함량차이는 품질 지수면에서 상기 성분만으로 고찰해 보면 BY-4가 좋은 원료 잎담배로 생각된다. Linolenic acid는 citric acid와는 반대로 황색종이 Burly 종보다 3~4배 정도의 높은 함량이었다. 이 두 성분의 특징적인 함량차이가 재배방법 및 건조방법의 차이에서 오는 결과로 생각되며 Vickery¹⁵⁾의 보고와 함량수준의 차이는 있었지만 이 두 성분이 품종에 따른 함유특성이라고 말할 수 있겠다. 향각미종인 소향과 orient엽과의 함량수준은 서로 비슷한 경향이 있으나 citric acid 함량이 Basma 나 Izmer에 비하여 3배 정도의 높은

값을 보였다. 그러나 linolenic acid 함량은 g당 2~3mg정도 높은 함량이었다.

다음 Table 3은 잎담배 품종별로 잎담배와 연기응축물 중에서 각각의 유기산들을 분석하여 꺾연시 연중이행율을 조사한 것이다. 이 표에서 알 수 있듯이 잎담배에서는 비휘발성 유기산들이 지방산보다 높은 값이지만 담배가 연소되면서 대부분이 휘발되어 주류연으로의 이행이 평균 10% 미만의 낮은 값을 보였다.

이러한 결과는 꺾연시 비휘발성유기산들이라 할 지라도 90%이상이 휘산되는 것을 알 수 있다. 이러한 점에서 smoke taste에는 영향이 적게 미치고 aroma와 flavor에 더 많은 영향을 줄 것으로 생각된다. 이러한 결과는 Hoffmann과 woziwodzki⁸⁾의 보고와 비슷한 경향이었다. 또한 일본의 Ishiguro¹⁰⁾등이 발표한 보고에는 oxalic acid의 4개성분의 함량이 564 μ g/cig~250 μ g/cig 정도의 수준으로 발표한 값보다는 높은 값이었다. 이러한 차이는 잎담배 함량차이 또는 권련의 상태와 꺾연조건에서 발생할 수 있는 차이로 보여진다.

지방산 계열의 linoleic acid와 linolenic acid는

Table 2. Amounts of non volatile and higher fatty acid in several tobacco leaves
Unit : mg/g

Compound Varieties	Oxalic	Malonic	Succinic	Malic	Citric	Palmitic	Straric	Oleic	Linoleic	Linolenic
Basma	28.53	1.52	0.40	31.66	14.78	1.91	0.64	0.91	0.58	4.36
Izmir	24.55	1.03	0.42	39.39	12.59	2.06	0.61	0.94	0.67	5.67
Sohyang	20.02	2.25	0.55	46.37	36.16	1.38	0.43	1.04	0.48	7.97
Korea	35.99	2.87	0.46	27.08	40.87	1.08	0.31	0.45	0.24	1.51
Br. -21										
U. S. A.	24.25	3.84	0.41	30.60	58.30	0.61	0.21	0.38	0.19	1.28
Br.										
Korea	12.98	2.05	0.32	38.72	8.98	1.53	0.37	1.18	0.84	5.71
By. -4										
Korea	15.27	2.36	0.47	51.55	28.69	1.74	0.43	0.93	0.69	6.21
Nc. -2326										
U. S. A.	12.78	2.48	0.27	23.71	5.62	1.55	0.32	0.89	1.16	6.20
F. C										

Table 3. Transfer rates for nonvolatile organic acid and higher fatty acid into main stream smoke of several tobacco leaves. Unit : ug/g

Compound	Aromatic tobacco			Burley			Flue-cured		
	Tobacco	C.S.C	Transfer	Tobacco	C.S.C	Transfer	Tobacco	C.S.C	Transfer
Oxalic	24,430	1,368	5.6	35,990%	3,311	9.2%	13,670	437	3.2%
Malic	39,440	1,654	4.2	27,080	1,652	6.1	37,990	1,823	4.8
Citric	21,180	720	3.4	40,870	1,300	3.18	14,430	461	3.2
Malonic	1,160	147	9.2	2,870	203	7.1	2,300	170	7.4
Palmitic	1,780	818	46.2	1,080	418	38.7	1,610	478	29.7
Oleic	960	364	38.5	450	117	26.7	1,000	420	42.6
Linoleic	570	339	59.6	240	50.4	21.2	89.	504	56.7
Linolenic	6,210	3,570	57.5	1,510	471	31.2	6,040	3,775	62.5

* C. S. C. : Cigarette Smoke Condensate

Barley종을 제외하고는 약 56%이상의 높은 이행율을 보였다. 즉 엽중에 함유된 지방산이 주류연으로 1/2 이상이 연기응축물로 이행됨을 알 수 있다. 이러한 결과는 Serverson¹⁰이 상품담배에서 조사한 지방산의 연중 이행율은 양절담배일 때 14%가 이행하며 필터가 부착되어 있을 때에는 8%의 연중 이행율을 보고한 결과로 미루어 볼 때 본 실험에서 얻은 값은 다소 차이가 있었다. 이와같이 본 실험에서의 높은 이행율은 단엽담배도 제조된 담배와 엽배합이 된 담배와는 각초에 의한 흡착현상이 서로 다르고 serverson의 분석법과 본 실험에서의 분석상의 차이로 생각된다. 이 linolenic acid와 palmitic acid가 이처럼 높은 이행율은 sugawara¹¹ 등이 보고한 orient 종과 flue-cured 품종에서 essentialoil 성분중 Smoking aroma와 taste에 관련이 깊은 성분으로 주장하였고, 프랑스의 Devreux와 Esnault⁵ 등도 1976년 상기의 두성분에 대한 각미연관성을 발표하였다. 이상이 보고와 본 실험에서 얻은 결과로 미루어 볼 때 상기의 두성분은 각연시 담배의 맛에 상당한 영향을 줄 것으로 생각되며 특히 Smoothing taste와 aroma에 깊은 관련이 있는 것으로 추정된다.

적 요

Gas Chromatography를 이용하여 잎담배와연

기응축물 중의 비휘발성유기산과 지방산을 정량 분석 하였다.

특히 이들 유기산들은 단엽담배일 때 주류연으로 이행율을 조사하였는 바 linolenic acid, 31~62%, linoleic, 21~59% palmitic 29~38%, malic acid 4~6% 정도의 이행율을 보였다.

참 고 문 헌

1. Chaplin, J F., BEITR. TABAKFORSCH 8(4), 233-240 (1975)
2. Charles, R. G., 31th TCRC report, 427-470 (1977)
3. CORESTA method, No. 10 (1968)
4. Cosrt, W. A., and J. G. Hendel, J. of Chroma. Sc., 16, 314-317 (1978)
5. Devreux, M. G., D. Esnault and F. Gastal, A. du Tobac-SEITA, 1-14, 111-117 (1976)
6. Enzell, C. R. 30th TCRC report 43-79 (1976)
7. Harvey, W. R., R. W. Hale and R. M. Ikeda, Tobacco Sci., 14, 141-144 (1970)
8. Hoffmann, D. and H. Woziwodzki,

- Beiträge Zur Tabakforschung, 4, 167—175 (1968)
9. Severson, R. F., R. F. Arrendale O. T. Chortyk and M. E. Snook, Tob. Sci., 12, 130—133 (1978)
 10. Shigeo, Ishiguro, Shizuko Yano, Shiro Sugawara and Yoichi Kaburaki, Agr. Biol. Chem., 40(10), 2005-2011 (1976)
 11. Shiro Sugawara, Sanji Matusushima and Kaishi, Nippon Nogeiku gaku Kaishi 54((12), 1027—1035 (1980)
 12. Shiro Sugawara, W. Kabashi and Y. Kaburaki, J. Jap. Monop. Corp. Cent. Res. Inst. Sci. Pap., 114, 61-67. (1972)
 13. Stedman, R. L., Chem. Review, 68, 153—207 (1968)
 14. Tso, T. C., Physiology and Biochemistry of Tobacco Plants, Dewden, Hutchenson and Ross, Inc. Stroudsburg pa. (1972)
 15. Vickery, H. B., J. Biol. Chem., 238, 2453—2457 (1963)