

잎담배중의 휘발성 유기산 분석에 관한 연구(I)

손현주 · 김신일

한국인삼연초연구소 재료분석부

A STUDY ON THE ANALYSIS OF VOLATILE ORGANIC ACIDS IN TOBACCO LEAVES (I)

Hyun-Joo Sohn and Shin-Il Kim

Dept. of Material and Analysis

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute

(Received for publication, April 20, 1985)

Abstract

Extraction efficiencies of volatile organic acids in tobacco leaves according to several extraction methods were investigated and contents of volatile organic acids in 16 kinds of tobacco leaf varieties were compared.

Extraction efficiency according to simultaneous distillation and extraction was 5 to 10 times higher than that according to solvent extraction, steam distillation, essential oil extraction or continuous extraction and distillation.

Total contents of volatile organic acids were 1.62 to 12.94mg per 100g of sample in aromatic tobacco varieties, 0.12 to 2.08mg in flue-cured tobacco leaves, and trace in burleys.

Among the Korean aromatic tobacco varieties, total contents of volatile organic acids in ST374-3 were the highest, 4.66mg per 100g of sample, and those in Sohyang and Hyangcho were low, 1.69mg and 1.62mg, respectively.

Among flue-cured tobacco varieties, those in NC2326 were the highest, 2.08mg per 100g of sample, but those in the other varieties were not more than 0.80mg per 100g of sample.

Total contents of volatile organic acids in acidic hydrolysis with 0.1M tartaric acid were higher than in non-acidic condition in all kinds of tobacco varieties.

서 론

잎담배중의 정유성분에 관한 연구는 1899년

Thomas¹⁾가 수종의 저급지방산을 최초로 동정한 이래, 현재까지 약 900종의 성분이 확인되었다²⁾. Sabetay 등¹⁰⁾은 터어키 잎담배로

부터 저급지방산을 분리하였는데, 이 중 3-methyl pentanoic acid는 강렬한 향기를 갖는 잎담배 특유성분으로 잎담배 향기에 큰 영향을 미친다고 알려져 있다³⁾. 籀木등¹²⁾은 터어키 잎담배에는 2-methyl butanoic acid, 3-methyl butanoic acid, 3-methyl pentanoic acid가 다량 함유되어 있는데, 이 중 3-methyl pentanoic acid의 함량은 미국산 황색종에 비해 10배가량 높았으며, 버어리종 및 재래종의 휘발성유기산 함량은 터어키 잎담배에 비해 매우 낮았다고 보고하였다. 3-methyl pentanoic acid는 담배연기중의 산성부에서도 확인되었다⁶⁾.

김등⁷⁾은 한국산 황색종에서, 최등²⁾은 한국산 버어리종에서 2-methyl butanoic acid와 3-methyl butanoic acid를 동정하였으나, 품종별 휘발성 유기산 함량에 관한 보고는 아직 없는 실정이다.

본 연구에서는 잎담배중의 휘발성 유기산 주요성분인 2-methyl butanoic acid, 3-methyl butanoic acid, 3-methyl pentanoic acid의 정량을 목적으로 용매 추출법¹³⁾, 수증기 증류법^{2,4,7,10)}, 정유 정량장치법¹³⁾, 동시 추출법⁵⁾ 등에 의한 휘발성 유기산의 추출효율을 비교하고, 가장 추출효율이 높은 동시추출법에 의하여 품종별 잎담배중의 휘발성 유기산을 추출하고 그 함량을 비교하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

휘발성 유기산 추출효율 비교에 사용한 잎담배는 83년산 KA 101(I/III)이었고, 품종별 함량 비교에 사용한 잎담배는 향각미종 7종, 버어리종 2종 및 황색종 7종등 16종이었다. 잎담배시료의 등급, 산지 및 년산은 Table 1과 같다.

1차 건조한 시료를 실온에서 충분히 건조시키고 지름 1mm이하가 되도록 분쇄한 다음 80°C±1°C에서 3시간 건조시키고 갈색 시료병에 넣어 냉암소에 보관하였다¹⁵⁾.

2. 방 법

1) 휘발성 유기산 추출효율 비교

잘 분쇄한 KA 101 잎담배 시료중의 휘발성 유기산을 용매 추출법, 수증기 증류법, 정유 정량장치법, 동시 추출법, 연속 추출 증류법등에 의하여 추출하고, 내부 표준물질로서 n-hexanoic acid를 가한 후 김등¹⁵⁾의 방법으로 산성부를 분취하였다. 산성부는 diazomethane법¹⁴⁾으로 esterification시켜 gas chromatograph로 분석, 2-methyl butanoic acid 3-methyl butanoic acid 및 3-methyl pentanoic acid의 함량을 구하였다. gas chromatograph는 Hewlett-Packard 5840 A를 column은 SP 2340, 0.25 mm ID×60 m fused silica capillary를 사용하였고, carrier gas는 N₂, flow rate는 0.7 ml/min., 분석온도는 80°C 등온이었다.

① 용매 추출법

시료 일정량에 5배량의 ether를 가하여 실온에서 48시간 2회 반복 침출 후 여과하고, 여액을 합하여 N₂ gas를 통하면서 40 ml로 농축하였다.

② 수증기 증류법

시료 일정량에 증류수를 가하고 Fig.1과 같이 수증기 증류하여 ice-water bath상에서 포집한 증류액 500 ml를 dichloromethane 40ml로 추출하였다.

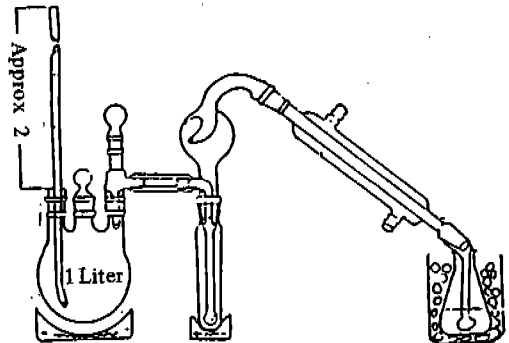


Fig. 1. Steam distillation apparatus

Table 1. Description of tobacco leaf samples

Variety	Grade	Site	Year
<u>Aromatic</u>			
Basma	I/III	Greece	'81
Izmir	B/G	Turkey	79
Sohyang	Upper	Tae-gu	82
Hyangcho	Upper	Tae-gu	84
KA 101	I/III	Tae-gu	83
KA 102	I/III	Tae-gu	83
ST 374-3	Upper	Jin-ju	83
<u>Burley</u>			
Br 21	H ₃ ¹⁾	Chun-cheon	84
Br 21 (U.S.A.)	C ₃ F	U.S.A.	80
<u>Flue-cured</u>			
F.C. (U.S.A.)	B ₃ F	U.S.A.	80
NC 2326	H ₃	Cheong-ju	80
By 4	H ₃	Cheong-ju	80
NC 82	H ₃	Cheong-ju	80
Va 115	H ₃	Tae-gu	80
Py	H ₃	Jin-ju	80
KF 101	H ₃	Chun-cheon	80

1) H₃ : Heavy, 3 Grade

③ 정유 정량장치법

시료 일정량에 증류수 500 ml를 가하고 Fig. 2와 같은 정유 정량장치로 5시간 가열 추출하여, 추출물을 장치내의 xylene 1 ml에 포집한 후, xylene 층을 0℃로 냉각한 ether 40 ml와 혼합하였다.

④ 동시 추출법

시료 일정량에 증류수 500 ml를 가하고 Fig. 3과 같은 동시 추출장치를 사용하여 ether 40 ml로 6시간 추출하였다.

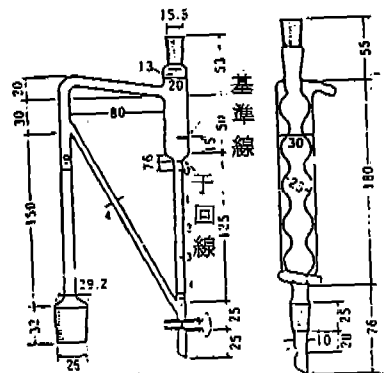


Fig. 2. Essential oil extraction apparatus

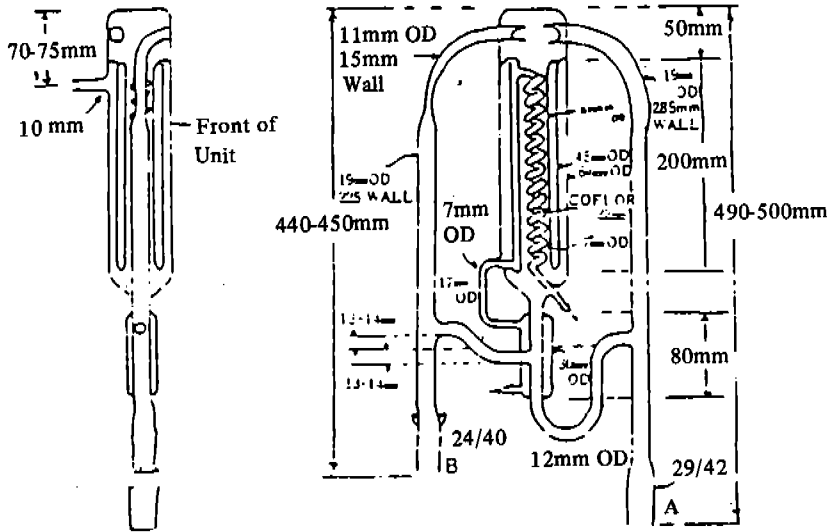


Fig. 3. Simultaneous distillation and extraction apparatus

⑤ 연속 추출 증류법

시료 일정량에 증류수 500 ml를 가하고 Fig. 4와 같은 장치를 사용하여 90분간 환류 추출한 후, 냉각수 대신 65°C의 물을 통과시키면서 60분간 연속 증류하여 ice-water bath 상에서 포집한 증류액을 dichloromethane 40 ml로 추출하였다.

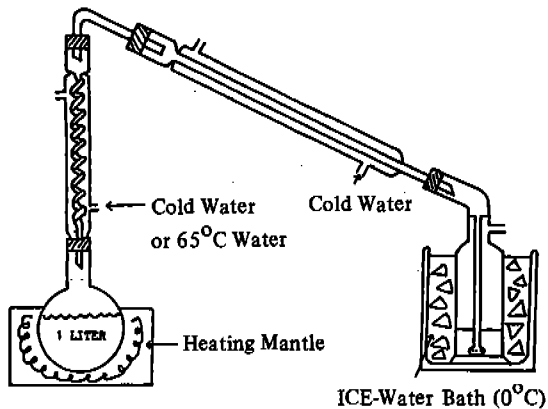


Fig. 4. Continuous extraction and distillation apparatus

2) 품종별 휘발성 유기산 함량 비교

품종별 잎담배 시료 일정량에 증류수 또는 0.1 M tartaric acid 수용액 500 ml를 가하여 동시추출법에 의하여 ether 40 ml로 6시간 추출하고 상기 방법으로 산성부를 분취, 2-methyl butanoic acid, 3-methyl butanoic acid 및 3-methyl pentanoic acid의 함량을 구하였다.

결과 및 고찰

한국산 향각미종 KA 101 잎담배중의 휘발성 유기산의 gas chromatogram은 Fig.5와 같이 주요성분은 2-methyl butanoic acid, 3-methyl butanoic acid, 3-methyl pentanoic acid이었고 이 중 3-methyl pentanoic acid의 peak가 가장 높았다.

휘발성 유기산 표준 혼합용액의 검량선은 Fig. 6와 같이 정량적인 관계를 보였다.

1. 휘발성 유기산의 추출효율 비교

Table 2는 추출법에 따른 KA 101 잎담배중의 휘발성 유기산 함량 및 추출효율을 나타낸 것이다.

Table 2. Volatile organic acid contents and relative extraction efficiencies between extraction methods

(Contents unit: mg/100g of smaple)

Method	Contents (Relative efficiency)			Total
	2-methyl butanoic	3-methyl butanoic	3-methyl pentanoic	
A	t (+)	t (+)	0.28 (0.09)	0.28 (0.08)
B	t (+)	t (+)	0.33 (0.10)	0.33 (0.09)
C	t (+)	t (+)	0.27 (0.09)	0.27 (0.07)
D	0.19 (1.00)	0.30 (1.00)	3.16 (1.00)	3.65 (1.00)
E	0.14 (0.74)	0.16 (0.53)	0.62 (0.20)	0.92 (0.25)

Method A; Solvent extraction

B; Steam distillation

C; Extraction with essential oil extraction apparatus

D; Simultaneous distillation and extraction

E; Continuous extraction and distillation

t; trace, no more than 0.005mg per 100g of sample

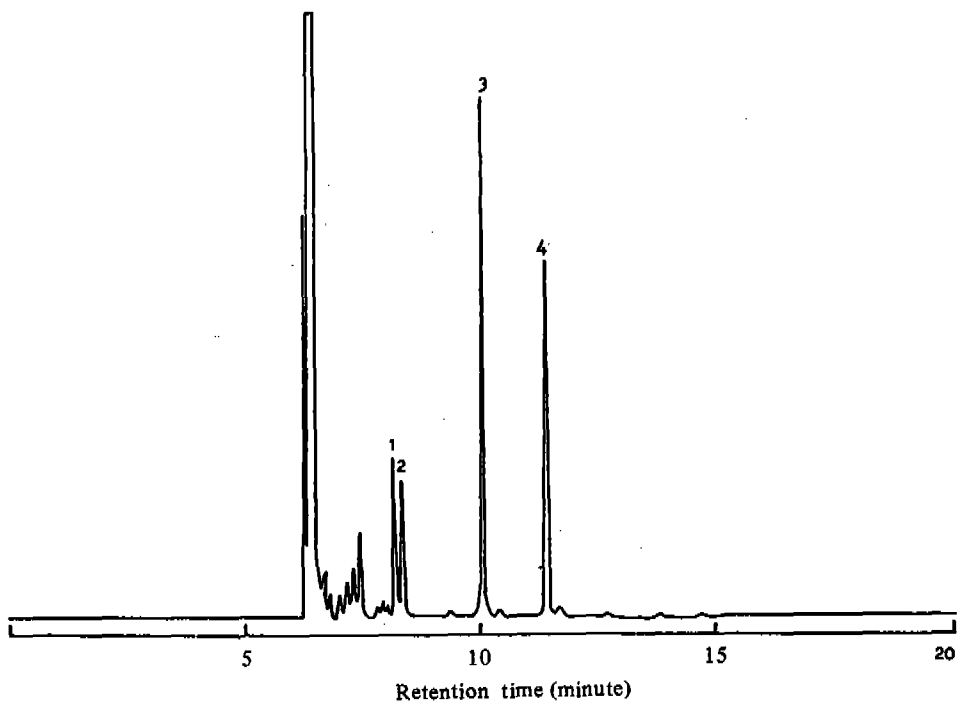


Fig. 5. Gas chromatogram of volatile organic acids in KA 101 tobacco leaves

1; 2-methyl butanoic acid

2; 3-methyl butanoic acid

3; 3-methyl pentanoic acid

4; n-hexanoic acid (internal standard)

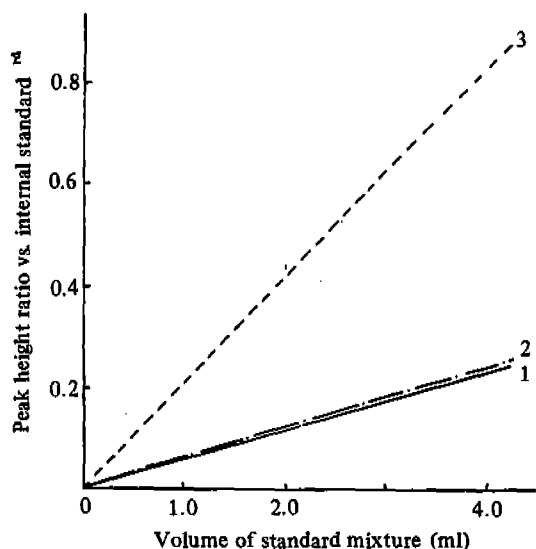


Fig. 6. Calibration curves of volatile organic acid standard solution

- 1; 2-methyl butanoic acid (0.199mg/ml)
- 2; 3-methyl butanoic acid (0.200mg/ml)
- 3; 3-methyl pentanoic acid (0.846mg/ml)

일담배 특유성분의 하나인 3 - methyl pentanoic acid(10)의 함량은 동시 추출법에서 시료 100 g 당 3.16 mg으로, 용매 추출법, 수증기 증류법, 정유 정량장치법 및 연속 추출증류법에서보다 5 ~ 10 배 높은 추출효율을 보였다. 2 - methyl butanoic acid와 3 - methyl butanoic acid의 함량도 동시 추출법에서 가장 높았고, 연속 추출 증류법에서는 동시 추출법에 비해 각각 74 %, 53 %의 추출효율을 보였으며, 병매 추출법, 수증기 증류법 및 정유 정량장치법에서는 거의 추출되지 않았다. 일담배중의 정유성분 추출에 中馬³⁾은 용매 추출법을, 김등⁷⁾, 최등²⁾ 및 Creasy 등⁴⁾은 수증기 증류법을 사용하였으나, 정유성분중 휘발성 유기산의 추출은 동시 추출법이 훨씬 효율적인 것으로 판단된다.

2. 품종별 휘발성 유기산의 함량 비교

동시 추출법에 의하여 추출한 품종별 일담배중의 휘발성 유기산의 함량은 Table 3 과 같다.

휘발성 유기산의 총합량은 향kick미종이 시료 100 g 당 1.62 ~ 12.94 mg으로 가장 높았고, 황색종은 NC 2326 을 제외하고는 0.12 ~ 0.60 mg으로 낮았으며 버어리종은 혼적정도로 확인되었다. 0.1 M tartaric acid에 의한 산 가수분해시 향kick미종은 품종에 따라 차이가 심하였으나, 대체로 2 - methyl butanoic acid, 3 - methyl butanoic acid, 3 - methyl pentanoic acid의 함량이 모두 증가하였다. 이는 일담배중에 염의 형태나 결합형태로 존재하는 휘발성 유기산이산에 의해 가수분해된 데에 기인한 것으로 판단되며, 산 또는 알칼리에 의한 가수분해 조건하의 휘발성 유기산의 함량 고찰이 더 필요하다고 본다.

향kick미종의 휘발성 유기산의 총합량은 소향, 향초가 시료 100 g 당 각각 1.68 mg, 1.62 mg으로 낮았으나, 산 가수분해시 소향은 7.95 mg으로 오히려 Izmir 보다도 더 높았다. 한국산 향kick미종 중에서는 ST 374-3의 휘발성 유기산의 총합량이 4.66 mg으로 가장 높았으며, 특히 3 - methyl pentanoic acid의 함량은 Izmir 와 비슷하였다. KA 101 및 KA 102의 휘발성 유기산 총합량은 각각 3.65 mg, 3.76 mg으로 비교적 높았고, 산 가수분해시 Izmir보다 높거나 비슷하였다. Basma, Izmir, 소향 및 향초의 3 - methyl pentanoic acid의 함량은 methyl butanoic acid의 총합량의 2 ~ 3 배로 中馬³⁾의 보고와 유사하였으나, KA 101, KA102 및 ST 374-3 등은 5 ~ 6 배를 보였다.

한국산 황색종 NC 2326의 휘발성 유기산의 총합량은 시료 100 g 당 2.08 mg으로, 소향이나 향초보다도 높았으나, 3 - methyl pentanoic acid의 함량은 낮았으며, 향kick미종에 비해 2 - methyl butanoic acid의 함량이 높았다. 버어리종은 산 가수분해시 methyl butanoic acid의 함량이 크게 증가하였다.

Table 3. Volatile organic acid contents in various tobacco leaves

(Unit: mg/100g of sample)

Varieties	2-methyl butanoic		3-methyl butanoic		3-methyl pentanoic		Total	
	Tr 1	Tr 2	Tr 1	Tr 2	Tr 1	Tr 2	Tr 1	Tr 2
Aromatic								
Basma	2.08		1.72		9.14		12.94	
Izmir	0.90	0.76	0.84	0.87	3.98	3.66	5.72	5.29
Sohyang	0.10	0.95	0.30	2.27	1.28	4.73	1.68	7.95
Hyangcho	0.14	0.31	t	0.48	1.48	1.54	1.62	2.33
KA 101	0.19	0.91	0.30	0.76	3.16	4.18	3.65	5.85
KA 102	0.08	0.76	0.42	1.05	3.26	3.55	3.76	5.36
ST 374-3	0.32		0.42		3.92		4.66	
Burley								
Br 21	t	0.35	t	0.41	t	0.07	t	0.83
Br 21 (U.S.A.)	t	0.41	t	1.64	t	0.15	t	2.20
Flue-cured								
F.C. (U.S.A.)	t	0.31	0.30	0.31	0.30	0.15	0.60	0.77
NC 2326	0.82	0.99	0.22	0.34	1.04	0.11	2.08	1.44
By 4	0.04	0.39	0.02	0.28	0.06	0.07	0.12	0.74
NC 82	0.08	0.48	t	0.22	0.08	0.14	0.16	0.84
Va 115	0.24	0.35	0.16	0.22	0.40	0.18	0.80	0.65
Py	0.04	0.36	0.02	0.21	0.06	0.19	0.12	0.76
KF 101	t	0.33	t	0.28	t	0.14	t	0.75

Tr 1; Distilled water was treated to the sample.
 Tr 2; 0.1M tartaric acid was treated to the sample.
 t; trace, no more than 0.005mg per 100g of sample.

결 론

추출법에 따른 잎담배종의 휘발성 유기산의 추출효율을 검토하고, 품종별 휘발성 유기산의 함량을 비교하였다.

동시 추출법의 추출효율은 용매 추출법, 수증기 증류법, 정유 정량장치법 및 연속 추출 증류법보다 5~10 배 높았다.

휘발성 유기산의 총합량은 향각미종이 시료 100g 당 1.62~12.94 mg으로 가장 높았고, 황색종은 0.12~2.08 mg이었으며, 버어리종은 혼적정도로 확인되었다. 한국산 향각미종 중에서 ST 374-3의 휘발성 유기산의 총합량이 시료

100 g 당 4.66 mg으로 가장 높았고, 소향은 1.68 mg, 향초는 1.62 mg, KA 101은 3.65 mg, KA 102는 3.76 mg이었다.

한국산 황색종 중에서 NC 2326의 휘발성 유기산의 총합량은 시료 100 g 당 2.08 mg으로 가장 높았고, 기타 황색종은 0.80 mg이하이었다.

0.1 M tartaric acid에 의한 산 가수분해 시 휘발성 유기산의 총합량은 증가하였다.

참 고 문 헌

1. 阿部悦子, 伊東哲雄, 小田切 敏, 日農化,

- 54 (9), 761-764(1980).
2. 최세찬, 박준영, 한국연초학회지, 6 (2), 97-116(1984).
 3. 中馬達二, 日專賣中研報, 119, 45-91(1977).
 4. Creasy, P.J. and M.J. Saxby, *Phytochemistry*, 8, 2427-2429 (1969).
 5. Fath, R.A. and R. Forrey, *J. Agric. Food Chem.*, 25, 103 (1977).
 6. 石黑繁夫, 日專賣中研報, 121, 13-67(1979).
 7. 김영희, 박준영, 김용태, 김옥찬, 한국연초학회지, 6 (1), 25-32(1984).
 8. Onishi, I., Fukuzumi, T., Yamamoto, K. and Takahara, H., *Bull. Inform. Coresta*, 3, 32 (1961).
 9. 門田利作, 中村武彦, 日食工, 18(12), 569-573(1971).
 10. Sabetay, S. and J. Panouse, *Compt. rend.*, 225, 887 (1947).
 11. Thomas, H., *Chem. Ztg.*, 23, 852 (1899).
 12. 鎗木陽一, 佐藤由利子, 日農化, 36, 865(1962).
 13. 韓國生藥學會, 생약요람, 녹지사, 293(1980).
 14. 實驗化學講座(續) gas chromatography, 丸善, 340(1965).
 15. 한국인삼연초연구소, 화학분석의뢰시험, 20(1984).