

## 담배연기 응축물중 phenolic fraction의 분리와 확인

이 문수 · 임 홍 빈 · 장 기 철

한국인삼연초연구소 화학부

### The Identification & Separation of Phenolic fraction in Cigarette Smoke Condensate

Rhee, M. S., Lim, H. B. and Jang, K. C.

Division of Chemical Analysis, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

(Received May 10, 1988)

#### ABSTRACT

The phenolic compounds were isolated from the cigarette smoke condensate using two immiscible organic solvents by a partition coefficient. Of them, 20 phenolic compounds were identified by GC and GC/MS. The amount of the phenolic compounds was phenol, *p*-cresol, hydroxybenzoic acid in order.

And there was no difference in composition of these compound dependent on leaf tobacco. About 70% amount of these compounds were absorbed to cellulose acetate filter used. The contents and composition of these compounds were various in the commercial cigarette.

## 서 론

담배연기에 대한 연구중에서 특히 담배연기의 한 성분인 페놀류(phenolic compounds)의 연구가 담배분야에서 관심의 대상이 되고 있는 것은 페놀류가 담배의 flavor나 aroma와의 관련<sup>1,6)</sup>이 클 뿐만 아니라 그 biological activities<sup>2, 19)</sup> 때문이다. 페놀류의 분석에 대한 연구로는 cellulose smoke condensate에서 페놀류의 조성을 분석한 Sakuma<sup>11)</sup> 등의 보고나 Snook<sup>16)</sup> 등이 보고한 담배연기 응축물(CSC)로부터 gas chromatography(GC)를 사용하여 catechols을 분리한 것, 또 gel chromatography에 의한 분리방법<sup>17)</sup>을 대표적인 연구로 들 수 있으며 최근까지 주류연과 부류연에서 페놀류의 조성비교, 분석<sup>3,10,12)</sup> 되는 등 페놀류에 대한 연구가 계속 이어져 왔다. 그러나 국내에서의 담배연기중 페놀류에 대한 연구는 나<sup>9)</sup> 등이 CSC의 semi-volatile phase에서 페놀류의 몇 성분을 분석한 것과 polyphenols의 열분해에 대한 연구<sup>8)</sup> 등이 단편적으로 보고되었을 뿐이다.

따라서 본 연구는 CSC를 분획하는 방법과 페놀성 분획에서 페놀류의 구성성분에 대한 분리, 확인하는 방법을 연구하고 그 결과를 담배에 적용하여 CSC중 페놀류 함량을 단엽별로 조사하고 또 제품담배에 적용하여 페놀류의 생성수준을 필터와 연계하려는 것이다.

## 재료 및 방법

본 연구에 사용한 단엽담배는 국내의 황색종(NC 2326)과 버어리종(Br-21)의 후 3등 엽을 각각 0.9mm로 절각하여 Molins Mark 9N의 cigarette making machine으로 만들었으며 제품담배는 시판품을 사용하였다. 시료 선별은 단엽담배와 제품담배 공히 CORESTA<sup>4)</sup> 표준법에 따라 smoking machine(Heineborgwaldt.

RM/CS 20, W.Germany)으로 직연하고 CSC는  $\phi 92\text{mm}$ 의 cambridge filter에 각각 포집하였다.

## 시약 및 장치

각 성분 확인을 위한 페놀류의 표준품으로는 Fluka(Swiss)사 제품인 순도 99% 이상인 것을 사용하였다.

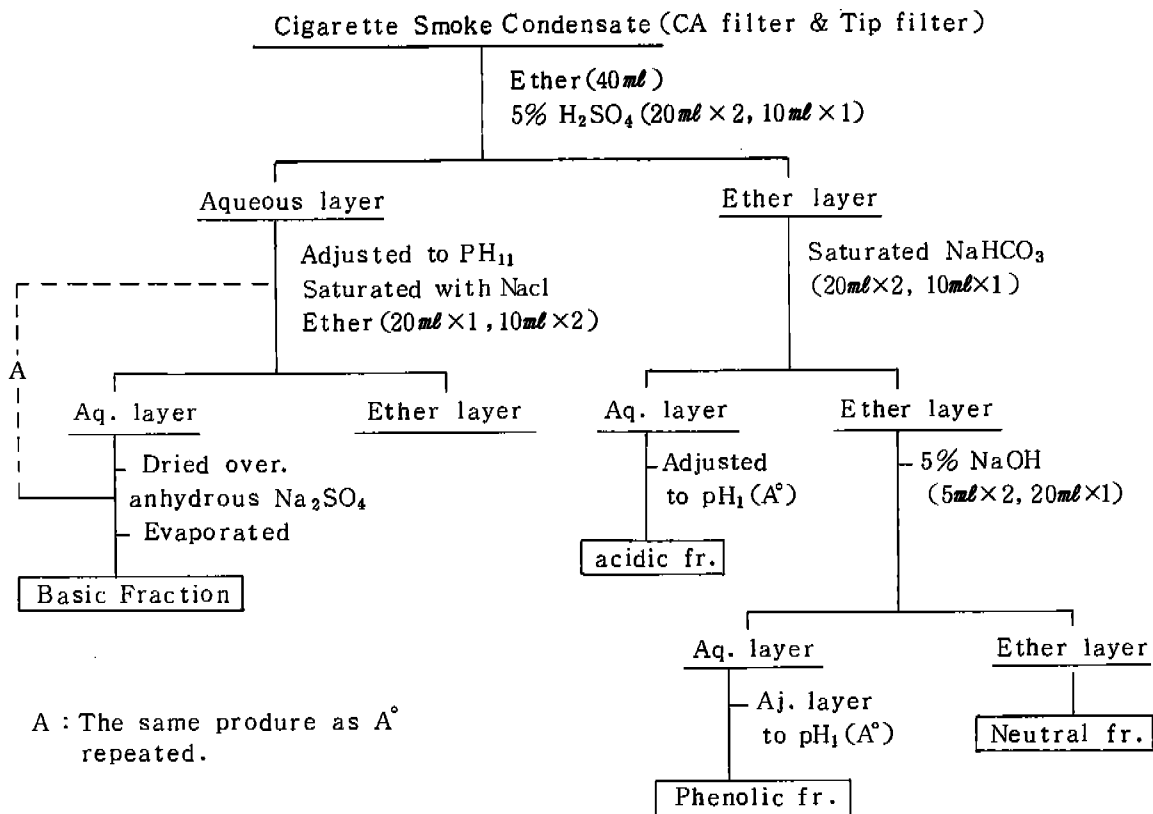
GC는 flame ionization detector가 장비된 Hewlett Packard 5880A와 model 5880A GC terminal을 사용하였다. Column은 SE-54 fused silica capillary(50m×0.28mm I.D.)을 사용하여 column온도는 40°C에서 10분간 머뭇 후 240°C까지 4°C/min.로 programming 하였다. 시료는 1 $\mu\text{l}$ 씩 splitless mode로 주입하고 0.9 ml/min.의 질소기체를 운반기체로 사용하였다.

페놀류의 성분 확인을 위해 GC/MS는 Varian MAT 212 system을 사용하여 다음과 같이 분석하였다.

Column은 SE-54 fused silica capillary(50m×0.33mm I.D.)를 사용하고 운반기체인 helium은 1ml/min.로 조절하였다. Column온도는 40°C에서 5분간 머뭇 후 240°C까지 4°C/min.로 programming 하였다. MS분석 조건으로 ion source pressure는  $1.8 \times 10^5$  torr로 하고 ionization voltage는 70 eV, emission current는 1mA, 그리고 ion source 온도는 250°C이었다.

## 페놀류의 분획

단엽담배와 제품담배의 smoking으로 부터 cambridge filter와 각 담배의 filter에 흡착된 CSC는 Fig. 1과 같이 Isiguro<sup>5)</sup>방법을 변형하여 페놀성분, 산성분, 중성분 및 염기성분으로 각각 분획하였다. 각 분획성분은 -4°C로 보관하였다가 분석시료로 사용하였다.



A : The same proudre as A° repeated.

Fig. 1. Scheme of TPM fractionation.

## 결과 및 고찰

황색종과 버어리종 단엽담배의 CSC를 Fig.1의 scheme으로 liquid-liquid partitioning하여 SE-54 column으로 분석한 페놀류의 GC chromatogram을 Fig. 2와 3에 각각 나타냈다.

Fig. 2와 3에서 알 수 있는바와 같이 두 잎담배에서 생성된 페놀류는 각각 30여 개의 성분이 분리되었으며, 또 두 그림을 비교해 보면 chromatogram의 pattern으로 보아 두 잎담배의 페놀류는 성분조성이 비슷함을 알 수 있다. 그러나 4, 5, 15, 22 등 봉우리에서는 넓이의 차이가 나타나고 있는데 이는 페놀성분의 생성량이 다른

때문이며 황색종과 버어리종의 품종차이에서 오는 결과라고 생각된다. Fig. 4는 column을 바꾸어 황색종에 대하여 OV-101 fused silica capillary column으로 분석한 것이다. 이와같은 현상은 Chortyk<sup>3)</sup>의 보고에서도 같은 결과이다. 그러나 Sakuma<sup>11)</sup> 등에 의하면 페놀성분의 BSTFA(silylation reagent) 유도체를 OV-101 column으로 분석하여 SE-54 column과 같은 분리효과를 얻을 수 있다. 따라서 CSC의 페놀성분을 GC로 분석할 때 SE-54 column을 이용하는 것이 OV-101 column보다 유용한 방법이라고 판단된다.

GC chromatogram상의 각 봉우리는 GC/MS와 표준물질에 대한 retention time으로

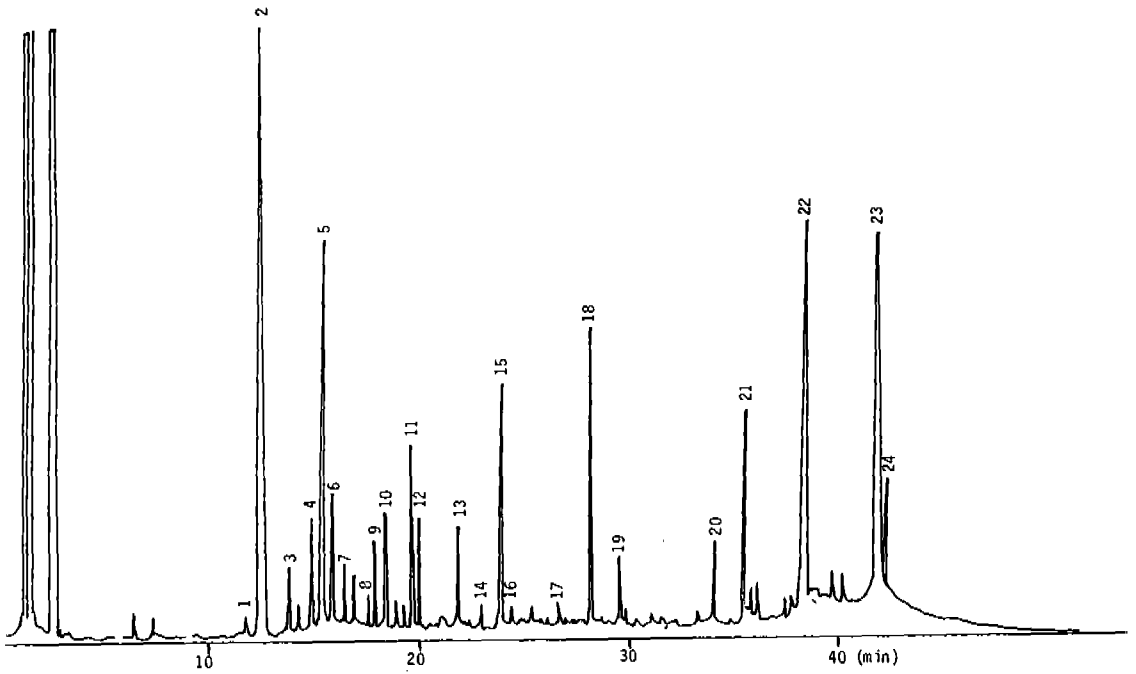


Fig. 2. Gas chromatogram of the phenolic fraction in Flue-cured smoke condensate.

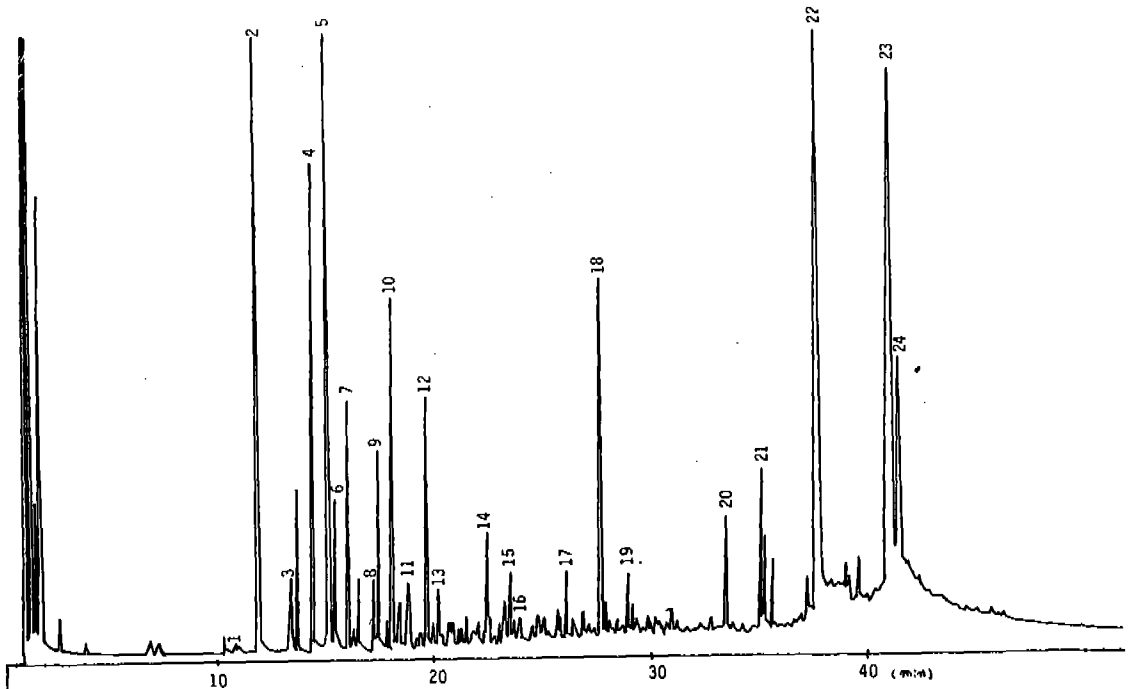


Fig. 3. Gas chromatogram of phenolic fraction in Burley smoke condensate.

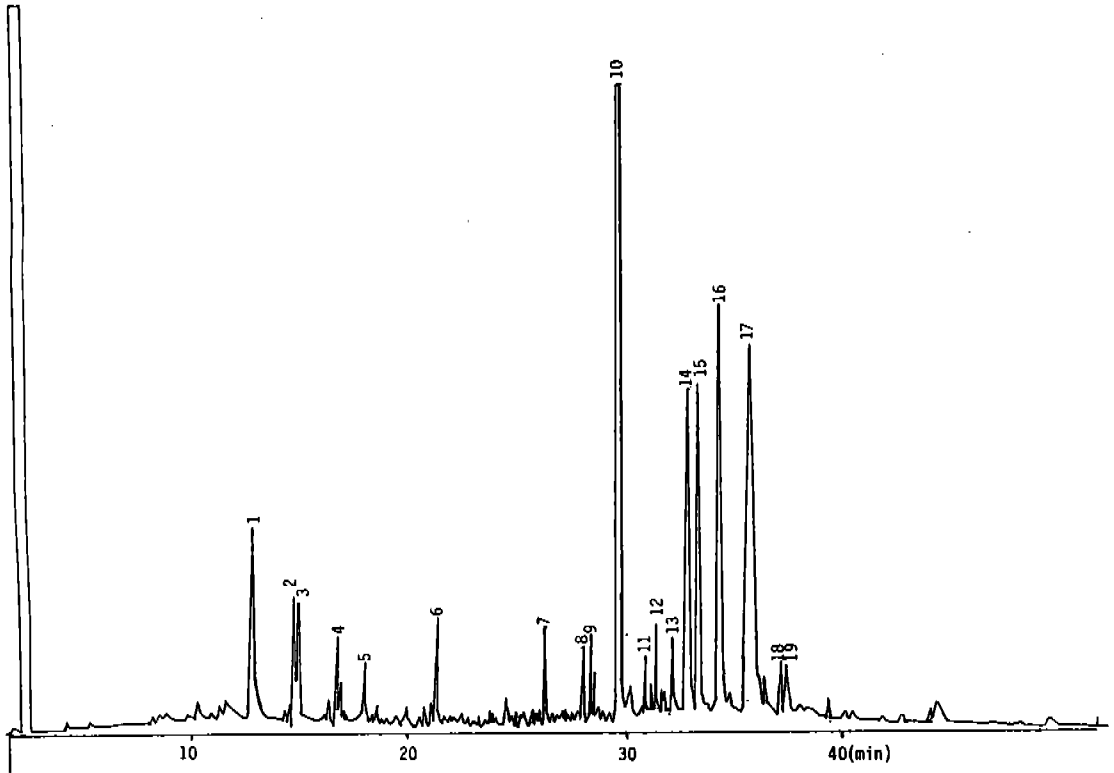


Fig. 4. Gas chromatogram of the phenolic fraction in Flue-cured smoke condensate on a fused silica OV-101 coated capillary column.

확인하였다. GC/MS 확인에는 EPA/NIH mass spectral data base를 이용하였으며 mass spectrum의 fragmentation pattern을 서로 비교하였다. 이와 같이 확인된 페놀류에 대하여 Table 1에 정리하였다.

Table 1의 확인된 페놀류는 조성비로 볼 때 phenolic fraction의 약 90%에 해당하는 것으로서 CSC중 주요 페놀성분은 거의 동정되었다고 할 수 있으며 이미 보고<sup>13-15)</sup>된 연구결과로도 확인되었다. 따라서 이 연구의 fractionation (Fig. 1)으로부터 GC로 분리 확인하는 분석방법은 담배연기중 페놀류에 대한 유용한 분석방법이라고 생각된다. 담배를 태울 때 페놀류의 생성은 전구물로서 cellulose나 pigment, lignine등을 들 수 있다. 잎담배를 물이나 에탄올과

같은 극성이 큰 용매를 사용하여 얻은 추출물의 열분해에서 Table 1에 나타난 페놀류의 생성이 확인<sup>14)</sup>된 바 있다.

Table 2는 황색종과 버어리종의 단엽담배에서 생성된 페놀함량을 비교한 것이다. CSC의 주된 페놀성분은 phenol, *p*-cresol, hydroxybenzoic acid, hydroquinone, catechol의 순으로 나타났으며 두 품종을 비교해 보면 페놀류 전체 함량은 비슷하지만 성분별 생성량은 phenol, *p*-cresol 등 몇 성분을 제외하고는 대체적으로 황색종이 높았다.

페놀류에 대한 cellulose acetate filter의 흡착능은 평균 70% 전후의 흡착률을 보였고 Staba<sup>18)</sup> 등의 보고와 비슷한 수준으로서 이는 cellulose acetate filter의 페놀류 흡착능

Table 1. Phenols and other acidic components identified in figure 2.

Peak no	GC RT	Compound	M.W.	EPA/NIH no	<sup>a</sup> Evidence
2	12.37	Phenol	94	108-95-2	MS. St.
3	13.04	Cyclotene	112	80-71-17	-
4	14.86	m-Cresol	108	108-39-4	" "
5	15.64	p-Cresol	108	106-44-5	" "
6	15.96	Methoxy phenol	124	90-05-1	" "
7	17.02	Xylenol	122	526-75-0	" "
8	18.61	3,5-Dimethyl phenol	122	90-00-6	" "
9	19.09	2,5-Dimethyl phenol	122	620-7-7	" "
10	10.39	m-Ethyl phenol	122	620-7-9	" "
11	19.77	Catechol	110	120-80-9	" "
12	20.16	3,4-Dimethyl phenol	122	2033-89-8	" "
13	22.18	Pyrocatechol	110	1617-89-7	" "
14	23.16	o-Cresol	108	95-48-7	" "
15	24.25	Hydroquinone	110	123-31-9	" "
16	25.04	Dimethoxy phenol	154	2033-89-8	" "
17	26.71	2-M-4, Propenyl phenol	136	89-84-9	" "
18	27.46	2-t-butyl-4-methyl phenol	150	135-19-13	" "
20	34.19	Hydroxy benzoic acid	138	-	" "
21	35.14	unknown	-	-	-
22	37.32	Naphthol	144	135-19-3	MS. St.
23	42.19	unknown	-	-	-
24	43.04	unknown	-	-	-

<sup>a</sup>Identified by MS and GC retention time (St.)

을 가늠케 하는 결과라고 생각된다. 또한 흡착능을 페놀류의 분자량별로 보면 분자량이 큰 hydroquinone이나 hydroxybenzoic acid들 보다는 저급일 수록 흡착능이 큰 것을 알 수 있었고, 나 등의 연구에서도 같은 경향으로 나타나고 있다.

Table 3은 제품담배에서 페놀류 생성에 대한 결과를 요약한 것이다. 일반적으로 제품담배는 엽 배합이나 필터의 형태에 따라 제품간 차이가 클 뿐만 아니라 생성되는 연기성분의 matrix<sup>7)</sup> 또한 크게 달라진다. 이와 같은 현상은 페놀류 생성에

서 (Table 3)도 예외는 아니다. 중요한 것은 국내외 제품담배간의 차이인데 Table 3에서 보는 바와 같이 phenol과 cresol 함량은 국내담배가 2~3배 높은 반면 2-t-butyl-4-methyl-phenol은 미국담배가 4~15배 높아 앞담배 질적 차이를 실감케 한다. 특히 제품담배가 킁미에 의하여 평가됨을 상기할 때 페놀류와 aroma와의 상관성은 보다 체계적인 연구가 이루어져야 할 것이며, 이를 위해 이 연구는 유용한 분석방법을 제시하였다고 생각한다.

Table 2. Level of phenolic compound removed from cigarette smoke ( $\mu\text{g}/\text{cig.}$ )

Compound	Flue-cured			Burley		
	<sup>a</sup> CA filters	Cambridge filter	Total	CA filters	Cambridge filter	Total
Phenol	86.2	21.4	107.6	93.2	49.2	142.4
m-Cresol	14.3	2.4	16.7	15.5	12.7	28.2
p-Cresol	43.3	17.2	60.5	69.4	20.1	89.5
Methoxy phenol	12.8	6.5	19.3	12.8	4.1	16.9
3,5-Dimethyl phenol	11.7	6.5	18.2	13.2	2.1	15.3
Catechol	15.1	4.2	19.3	6.7	4.8	11.5
3,4-Dimethyl phenol	3.8	2.4	6.2	2.9	1.3	4.2
Pyrocatechol	13.6	7.2	20.8	8.9	7.6	16.5
Hydroquinone	18.5	4.7	23.2	11.4	9.2	20.6
2-t-butyl-4-methyl phenol	7.2	6.1	13.3	10.4	8.1	18.5
Hydroxybenzoic acid	18.4	8.6	27.0	16.3	7.6	23.9

<sup>a</sup> Cellulose acetate filter.Table 3. Level of several phenols in CSC of the commercial branded cigarette with various filters ( $\mu\text{g}/\text{cig.}$ ).

Compound	Domestic brand		U.S.A brand
	<sup>a</sup> E type	<sup>b</sup> S type	<sup>c</sup> CA type
Phenol	197.1	119.4	107.3
p-Cresol	67.8	71.6	13.9
Catechol	18.3	24.8	7.6
Hydroquinone	141.6	116.1	63.1
2-t-butyl-4-methyl phenol	18.7	4.6	67.9

<sup>a</sup> Acetate + Charcoal filter<sup>b</sup> Paper + Acetate filter<sup>c</sup> Cellulose Acetate filter

## 결 론

담배의 키크미와 관련하여 페놀류의 GC 분석방법을 정립하고 이를 제품담배에 적용하려는 것이며 일차적으로 황색종과 버어리종의 페놀류 생성을

분석하였으며 제품담배의 필터에 의한 페놀류 흡착효과를 고찰하였다.

1. 주요 페놀성분을 분리 확인하기 위하여 fractionation scheme을 제안하였다.
2. Liquid-liquid partion coefficient를

이용한 용매추출을 통해 페놀류를 분리하고 20 여 성분을 GC와 GC/MS로 확인하였다.

3. 주요 페놀성분은 phenol, *p*-cresol, hydroxybenzoic acid 순이었으며 전체 페놀류 함량은 황색종과 버어리종이 같은 수준이나 성분별 생성은 황색종이 높았다.

4. Cellulose acetate filter의 페놀류 흡착능은 70%(w/w%) 수준이었으며 저급 페놀류의 흡착이 높았다.

## 참 고 문 헌

1. Baggett, M. S. and G. P. Morie., Tob. Sci., 17, 30-32 (1973).
2. Bock, F. G., A.P. Swain and R.L. Stedman, J. Natl. cancer Inst., 47, 429-426 (1971).
3. Chortyk, O.t. and S. Schlotzhauer, Tob. Sci., 30, 122-126 (1986).
4. CORESTA standard method No. 10, ISO 3308 (1977).
5. Ishiguro, S., 日本專賣中研報, 121, 13-72 (1979).
6. Kallianos, A.T., Recent Adv. Tob. Sci., 2, 61-79 (1976).
7. Morie, G.p., C.H. Sloan and M.S. Baggett, FTR-33, Eastman codak Co., Tennessee (1974).
8. Park, J.W., Yanhak Hoeji, 26(2), 123-128 (1982).
9. Rah, H.H., Oh, S. J. and S.C. Che, Annual Research Report of K.G.T.R. I, 23-60 (1983).
10. Sakuma, H., M. Kusama, S. Munakata, T. Obsumi and S. Sugawara, Beitrage Zur Tabakforschung Int., 12(2), 63-71 (1983).
11. Sakuma, H., M. Kusama, S. Sato and S. Sugawara, Agr. Biol. Chem., 40 (10), 2013-2020 (1976).
12. Sakuma, H., T. Obsumi and S. Sugawara, Agr. Biol. Chem., 43(12), 2619-2621 (1979).
13. Schlotzhauer, W.S., I. Schmeltz and L.C. Hickey, Tob. Sci., 11, 31-34 (1967).
14. Schlotzhauer and O.T. Chortyk, Tob. Sci., 25, 6-10 (1981).
15. ibid., J. Anal. Toxicol., 7, 92-95 (1983).
16. Snook, M.E., W.S. Schlotzhauer and W.J. Chamberlain, Tob. Sci., 22, 106-108 (1978).
17. Snook, M.E., P.J. Fortson and O.T. Chortyk, Tob. Sci., 24, 30-36 (1980).
18. Staba, M.C. and G.P. Morie, FTR-9, Eastman codak Co. Tennessee (1982).
19. Waters, D.B., W. J. Chamberlain, F.T. Akin, M.E. Snook and O.T. Chortyk, Anal. Chim. Acta., 99, 143-150 (1978).