

## 잎담배 Hydrocarbon에 관한 연구

장기철, 김용옥, 이운철

한국인삼연초연구소 분석센터

## Studies on the Hydrocarbon from Tobacco Leaves

Gi-Chul Jang, Yong-Ok Kim, Un-Chul Lee

Chemical Analysis Center, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

### ABSTRACT

This study was conducted to develop the method of hydrocarbon analysis and investigate hydrocarbon contents in flue-cured and burley tobacco leaves harvested in Korea and U.S.A.

Tobacco leaf was extract with hexane in soxhlet apparatus. Hydrocarbon was fractionated from hexane extract by silica gel column chromatography, and then separated and indentified by GC, GC/MS using SE-54 fused silica capillary column. The developed method was feasible to analyze neophytadiene, normal and branched hydrocarbons from C<sub>10</sub> to C<sub>36</sub>. The result of recovery test was decane 99%, eicosane 100%, triacontane 102%.

The major hydrocarbon of tobacco leaves were neophytadiene, nC<sub>31</sub>, iC<sub>31</sub>, nC<sub>33</sub>, aC<sub>33</sub>, aC<sub>32</sub>, aC<sub>30</sub> and nC<sub>29</sub>. The amount of total hydrocarbon in burley and flue-cured tobacco leaves harvested in U.S.A. and Korea were 4591, 2931, 2929 and 3015µg/g, respectively.

## 서 론

잎담배 성분 중 탄화수소가 차지하는 비율은 약 0.4% 내외이며<sup>3)</sup>, 주로 잎담배 표면에 존재하는 것으로 알려져 있다<sup>1,2)</sup>. 또한 탄화수소의 주성분은 neophytadiene과  $C_{25} \sim C_{36}$ 으로 밝혀져 있다<sup>1,2,8)</sup>. 잎담배 중 탄화수소 함량은 동일 착엽위치에서 등급이 낮아지면 함량이 증가하는 경향을 보이며<sup>10)</sup>, 껌연시 flavor에 영향을 주지 않거나 부정적인 인자로 작용하며<sup>9)</sup>, 여러고리 방향족 탄화수소의 전구물질이라는 보고도 있다<sup>4, 11,12)</sup>. 잎담배 중 탄화수소는 노르말 또는 가지달린 형태로 존재하는데, 이들의 분포 및 비율은 품종의 유전력에 의해 결정되며, 재배년도, 시비량에 따라서는 영향을 받지 않는 것으로 보고되어 있다<sup>1)</sup>. 잎담배중 탄화수소는 여러 방법으로 분석하여 왔는데, Chrotyk등<sup>5)</sup>은 탄화수소를 석유에텔로 추출하여 Dexsil 300 GC packed column에 의해  $C_{25} \sim C_{36}$ 을 분리하였다. 또한 Serverson등<sup>1)</sup>은 hexane soxhlet과 ultrasonic vibration추출방법을 비교하고, Dexsil 300 GC 및 SE-54 capillary column에 의해 분리방법을 비교하였다. 그러나 Chrotyk등의 분리방법으로는 가지달린 탄화수소를 완전히 분리할 수 없었으며, 또한 Serverson등의 방법은 GC의 주입구 부분을 변형해야 하고  $C_{10} \sim C_{24}$ 사이의 탄화수소는 분석하지 않았다.

그러므로 본 연구에서는 잎담배로부터  $C_{10} \sim C_{36}$ 까지의 모든 노르말 및 가지달린 탄화수소를 분리, 분석할 수 있는 방법을 확립하고, 몇가지 품종의 함량을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 잎담배 시료와 탄화수소의 추출 및 분리

잎담배 시료는 국내 엽조에 많이 사용되는 한국산 황색종, burley종은 후엽 3등을, 미국산 황색종, burley종은 B<sub>3</sub>F를 각각 취하여 담배성

분분석법<sup>6)</sup>에 따라 시료를 조제하였다. 탄화수소의 추출은 시료 20g에 내부표준물질로 0.025% (250 $\mu$ g/ml) docosane(Analab. Inc. 제) 2ml를 첨가한 후 soxhlet 추출장치로 n-hexane(Fisher 제, 1급) 150ml를 가해 8시간 추출하였다. Hexane추출물은 여과하여 감압농축기(40 $^{\circ}$ C, 10 Torr)로 농축한 후 hexane에 녹여 10ml 용량 플라스크에 표선까지 채워 관 크로마토그래피용 시료로 사용하였다.

관 크로마토그래피에 의한 탄화수소의 분리는 silica gel(Merk제, 70-230mesh) 40g을 150 $^{\circ}$ C에서 24시간 건조한 후 hexane과 함께 slurry type으로 만들어 column(300mm $\times$ 22mm ID)에 충전하였다. Hexane에 녹인 시료 5ml를 column에 넣은 후 hexane 800ml로 용리하였다. 용리된 hexane은 농축한 후 hexane 2ml를 가해 GC 및 GC/MS 분석용 시료로 사용하였다.

### 2. GC 및 GC/MS에 의한 탄화수소의 분리 및 확인

탄화수소의 분리는 H/P 5880A GC를 사용하였으며 column은 SE-54 fused silica capillary column(30m $\times$ 0.25mm ID), 운반기체인 질소의 유속은 1ml/min., 주입구 및 검출기(FID) 온도는 각각 280 $^{\circ}$ C, column oven온도는 50 $^{\circ}$ C에서 5분간 유지하고 3 $^{\circ}$ C/min.로 280 $^{\circ}$ C까지 상승시키고 280 $^{\circ}$ C에서 60분간 유지하는 조건으로 시료 3 $\mu$ l를 split mode로 주입하였다. GC/MS에 의한 탄화수소의 분리 및 확인은 Varian 3700 GC와 open split가 연결된 Varian MAT 212 system 및 SS MAT 188 data system을 사용하였으며, GC/MS조건은 ion source로 EI 70eV, ion source 온도는 220 $^{\circ}$ C이었다.

### 3. GC에 의한 잎담배 중 탄화수소의 정량 및 회수율 시험

GC에 의한 잎담배 중 탄화수소의 정량은 내부표준법에 의해 정량하였다. 표준품이 없는 가지달린 탄화수소에 대해서는 Serverson등<sup>1)</sup>의

방법에 따라 정량하였다. 회수를 시험은 decane, eicosane, triacontane을 잎담배에 각각 첨가하여 실험방법에 따라 추출하여 회수율을 실험하였다.

## 결과 및 고찰

GC 및 GC/MS에 의한 잎담배 중 탄화수소를 분리, 확인한 결과는 Fig. 1과 같았다.

Fig. 1에서 나타난 바와 같이 SE-54 fused silica capillary column에 의해서  $C_{10} \sim C_{36}$ 까지의 노르말 및 가지달린 탄화수소를 잘 분리할 수 있었다. 이와같은 분리는 Chrothyk등<sup>5)</sup>이 가지달린 탄화수소를 완전 분리할 수 없었던 점, Serverson등<sup>1)</sup>이  $C_{10} \sim C_{24}$ 까지의 탄화수소를 동시에 분리하지 않은 점을 만족시킬 만한 분리였다. GC에 의해 분리된 각각의 peak를 확인하기 위하여 시료를 GC/MS에 주입하여 각 peak의 mass spectrum을 얻었다. 이중 분자량이 436인  $C_{31}$  이성질체들의 mass spectrum은 Fig. 2와 같았다.

Fig. 2의 a번 mass spectrum은  $\alpha$ -cleavage에 의해  $C_nH^{+}_{2n+1}$  이온(57, 71, 85, 99, 113, ...) 단위의 규칙적인 토막이온으로 부터 이 성분은 n-hentriacontane이라는 것을 확인할 수 있었다. 또한 Fig. 2의 b번 spectrum에서는 mass range 50~390까지는 n-hentriacontane과 같은 토막내기 형태이었다. 그러나 첫번째 탄소가 토막나는 이온인  $C_{30}H^{+}_{31}$ (421)과 2번째 탄소가 토막나는 이온인  $C_{28}H^{+}_{57}$ (393)사이에  $C_{29}H^{+}_{59}$ (407) 토막이온은 볼 수 없었다. 그러므로 이 성분은 2번째

탄소에 methyl기가 가지달린(iso) 2-methyl triacontane( $iC_{31}$ )이라는 것을 확인할 수 있었다. Fig. 2의 c번 spectrum에서도 같은 방법에 따라 두 번째 탄소가 토막나는 이온인  $C_{29}H^{+}_{59}$ (407)과 3번째 탄소가 토막나는 이온인  $C_{27}H^{+}_{55}$ (379)사이에  $C_{28}H^{+}_{57}$ (393) 이온을 찾아볼 수 없어, 이 성분은 3번째 탄소에 methyl기가 가지달린(anteiso) 3-methyl triacontane( $aC_{31}$ )이라는 것을 확인할 수 있었다. 또한  $C_{31}$  이성질체들의 끓는점을 비교하여 보면 2-methyl triacontane, 3-methyl triacontane, n-hentriacontane 순으로 끓는 점이 높아지기 때문에 SE-54 fused silica capillary column에서는 위의 순서와 같은 머무른 시간을 나타낸다. 이상과 같이 표준품이 있는 탄화수소는 GC의 머무른 시간 및 mass spectral data<sup>7)</sup>, 표준품이 없는 가지달린 탄화수소에 대해서는 토막내기 형태와 이성질체들의 끓는점 차이에 따른 머무른 시간 및 여러연구자<sup>1,5)</sup>의 보고로 부터 각각의 peak를 확인하였으며 확인된, 성분을 Fig. 1에 나타냈다.

또한 회수율 시험결과 decane 99%, eicosane 100%, triacontane 102%의 회수율을 나타내었다. 따라서 잎담배로 부터 탄화수소의 분리에는 hexane-soxhlet 및 관 크로마토그래피에 의한 추출방법은 Chrothyk등<sup>5)</sup>이 추출한 방법보다 조작이 간단하면서도, 회수율의 결과는 Serverson등<sup>1)</sup>의 결과와 비슷하였다.

표 1은 전술한 방법으로 한국과 미국산 황색종, burley종 탄화수소 함량을 분석한 결과이다.

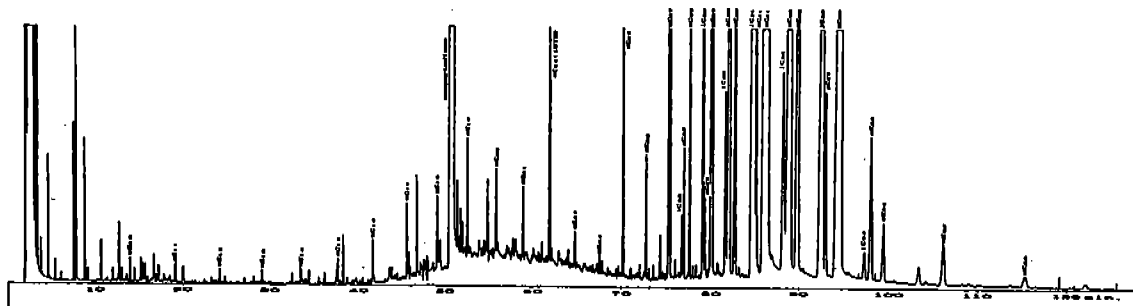


Fig. 1. GC Chromatogram of neophytadiene and hydrocarbons from Burley(USA) tobacco.

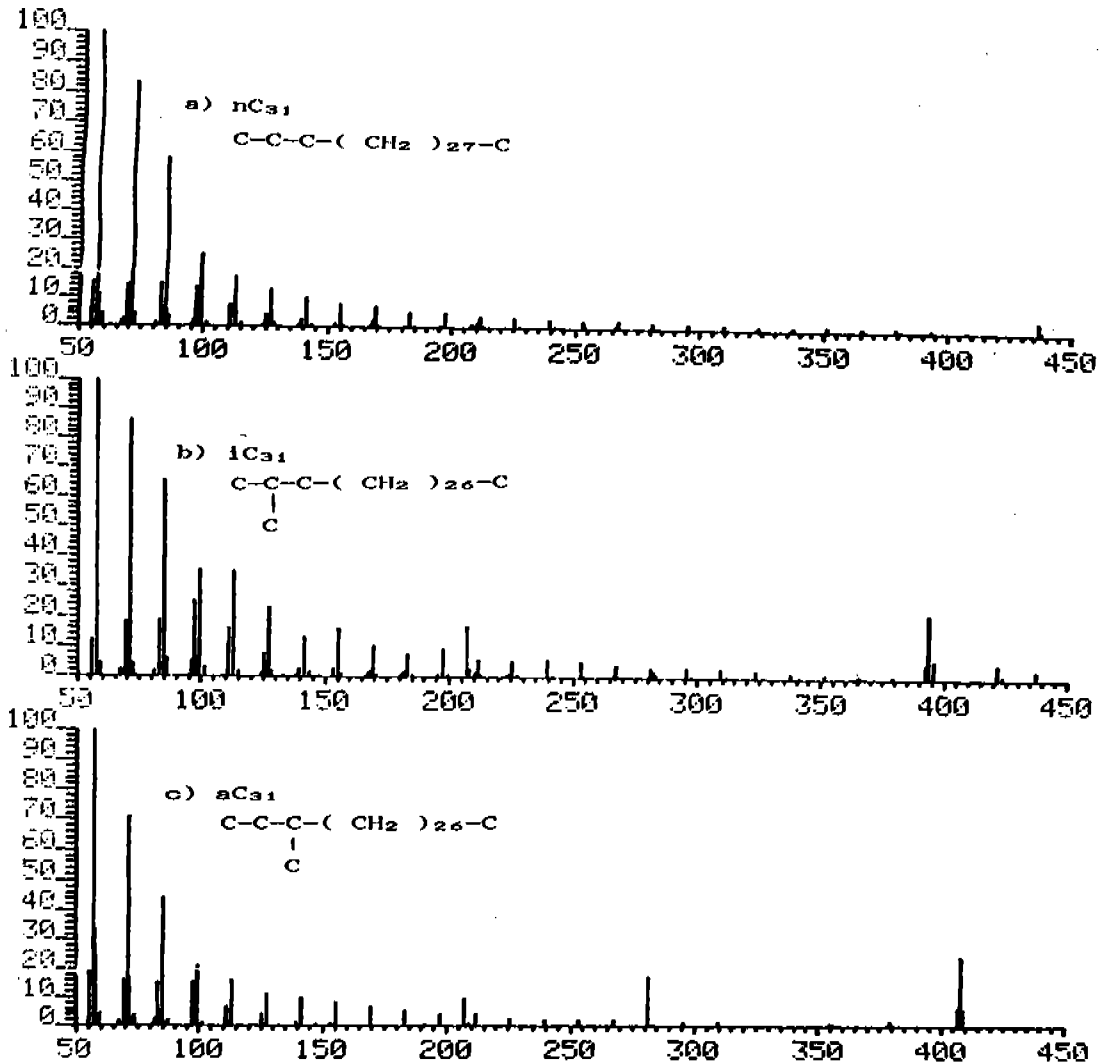


Fig. 2. Mass Spectrum of  $C_{31}$  isomers from Burley(USA) tobacco.

탄소수 별로는  $nC_{10} \sim nC_{24}$ 까지의 전체함량은 23~34 $\mu\text{g/g}$ 으로 함량이 적었다.  $C_{25} \sim C_{36}$ 은 1700~3208 $\mu\text{g/g}$ 이었으며, 이중  $nC_{31}$ ,  $iC_{31}$ ,  $nC_{33}$ ,  $aC_{32}$ ,  $aC_{30}$ ,  $nC_{29}$ 가 주성분이었다. Neophytadiene은 975~1348 $\mu\text{g/g}$ 으로 함량이 가장 많았다. 품종별로 한미간 차이를 비교해보면 한국산 황색종은 미국산 황색종에 비해  $nC_{10} \sim nC_{24}$  및 neophytadiene함량은 적었으나,  $C_{25} \sim C_{36}$  함량은 많았다.  $C_{25} \sim C_{36}$ 중  $nC_{29}$ ,  $aC_{30}$ ,  $iC_{31}$ ,  $nC_{33}$ 등은 한국산 황색종이 많았다. 한국산 burley종은 미국산 bur-

ley종에 비해 대부분 성분함량이 낮았다. 한미 별로 품종간 차이를 비교하여 보면 한국산 황색종과 burley종은 큰 차이를 보이지 않았으나, 미국산 황색종은 burley종에 비해 모든 성분의 함량이 낮았다. 전체 함량면에서는 미국산 burley종이 4591 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높았으나 한국산 황색종은 3015 $\mu\text{g/g}$ , 미국산 황색종은 2931 $\mu\text{g/g}$ , 한국산 burley종은 2929 $\mu\text{g/g}$ 으로 큰 차이가 없었다.

Table 1. Composition of hydrocarbons form cured leaves.

Component	Flue-cured		Burley	
	Korea	USA	Korea	USA
	(μg/g)			
nC <sub>10</sub> Decane	1.26	1.42	1.30	1.74
nC <sub>11</sub> Undecane	1.04	1.31	1.02	1.43
nC <sub>12</sub> Dodecane	1.04	1.21	0.97	1.09
nC <sub>13</sub> Tridecane	1.06	1.36	1.30	1.05
nC <sub>14</sub> Tetradecane	0.77	0.87	0.79	1.18
nC <sub>15</sub> Pentadecane	1.12	1.60	1.31	1.49
nC <sub>16</sub> Hexadecane	2.03	2.41	2.33	2.60
nC <sub>17</sub> Heptadecane	2.47	3.29	2.96	3.82
nC <sub>18</sub> Octadecane	2.40	3.69	3.09	5.12
nC <sub>19</sub> Nonadecane	3.70	3.93	3.30	5.28
nC <sub>20</sub> Eicosane	2.63	2.68	2.14	3.43
nC <sub>21</sub> Heneicosane	2.06	2.86	2.36	3.36
nC <sub>23</sub> Tricosane	0.65	1.70	2.09	1.95
nC <sub>24</sub> Tetracosane	0.27	0.98	1.97	0.79
nC <sub>10</sub> ~nC <sub>24</sub>	22.50	29.31	26.93	34.33
nC <sub>25</sub> Pentacosane	5.22	8.66	7.57	19.06
nC <sub>26</sub> Hexacosane	2.67	3.95	4.01	5.44
nC <sub>27</sub> Heptacosane	40.37	48.54	35.90	71.52
iC <sub>28</sub> 2-Methyl heptacosane	1.07	0.97	2.31	3.02
aC <sub>28</sub> 3-Methyl heptacosane	2.46	3.11	3.99	6.41
nC <sub>28</sub> Octacosane	8.36	11.13	12.53	15.15
iC <sub>29</sub> 2-Methyl octacosane	31.40	25.37	39.31	53.76
aC <sub>29</sub> 3-Methyl octacosane	1.23	2.40	3.58	3.29
nC <sub>29</sub> Nonacosane	103.03	92.24	119.54	166.35
iC <sub>30</sub> 2-Methyl nonacosane	8.61	7.22	13.74	15.58
aC <sub>30</sub> 3-Methyl nonacosane	117.72	99.56	119.17	158.36
nC <sub>30</sub> Triacontane	37.50	34.61	50.38	64.35
iC <sub>31</sub> 2-Methyl triacontane	290.59	229.16	334.43	481.71
aC <sub>31</sub> 3-Methyl triacontane	76.12	39.30	71.18	55.71
nC <sub>31</sub> Hentriacontane	687.10	486.03	613.82	1066.40
iC <sub>32</sub> 2-Methyl hentriacontane	12.14	15.13	15.82	25.94
aC <sub>32</sub> 3-Methyl hentriacontane	161.49	180.34	162.23	263.04
nC <sub>32</sub> Dotriacontane	54.98	62.97	57.38	99.85
iC <sub>33</sub> 2-Methyl dotriacontane	63.24	93.28	80.60	174.52
aC <sub>33</sub> 3-Methyl dotriacontane	9.39	18.26	12.94	24.00
nC <sub>33</sub> Tritriacontane	207.98	191.78	142.12	372.07
iC <sub>34</sub> 2-Methyl tritriacontane	—	2.08	1.94	5.07
aC <sub>34</sub> 3-Methyl tritriacontane	11.51	23.23	12.75	30.32
nC <sub>34</sub> Tetratriacontane	4.83	7.11	4.62	11.76
nC <sub>35</sub> Pentatriacontane	5.67	6.91	4.74	11.88
nC <sub>36</sub> Hexatriacontane	—	6.97	—	4.20
C <sub>25</sub> ~C <sub>36</sub>	1944.68	1700.31	1926.60	3208.76
Neophytadiene	1048.01	1201.49	975.20	1348.35
Total(neophytadiene + C <sub>10</sub> ~C <sub>36</sub> )	3015.19	2931.11	2928.73	4591.44

Table 2. Composition of major hydrocarbons from cured leaves.

Component	Flue-cured		Burley	
	Korea	USA	Korea	USA
	(%)			
nC <sub>10</sub> ~nC <sub>24</sub>	0.75	1.00	0.92	0.75
nC <sub>29</sub> Nonacosane	3.42	3.15	4.08	3.62
aC <sub>30</sub> 3-Methyl nonacosane	3.90	3.40	4.07	3.45
iC <sub>31</sub> 2-Methyl triacontane	9.64	7.82	11.42	10.49
nC <sub>31</sub> Hentriacontane	22.79	16.58	20.96	23.22
aC <sub>32</sub> 3-Methyl hentriacontane	5.36	6.15	5.54	5.73
nC <sub>33</sub> Tritriacontane	6.90	6.54	4.85	8.10
C <sub>25</sub> ~C <sub>36</sub>	64.50	58.01	65.78	69.89
Neophytadiene	34.76	40.99	33.30	29.37

표 2는 탄화수소 중 주요성분이 전체함량에서 차지하는 비율을 백분율로 표시한 것이다.

nC<sub>10</sub>~nC<sub>24</sub>까지를 합한 비율은 1% 내외이었다. C<sub>25</sub>~C<sub>36</sub>까지를 합한 비율은 58~70%를 차지하였고, neophytadiene은 29~41%로 조사된 탄화수소 성분 중 비율이 가장 높았다. 품종별로 한미간 차이를 보면 황색종은 한국산이 미국산에 비해 C<sub>25</sub>~C<sub>36</sub>까지의 비율은 높았으나, neophytadiene은 비율이 낮았다. Burley종은 한국산이 미국산에 비해 C<sub>25</sub>~C<sub>36</sub>비율은 높았으나, neophytadiene비율은 낮았다. 한미별로 품종간 차이는 한국산 황색종과 burley종은 비율에서 큰 차이를 보이지 않았다. 미국산 황색종은 burley종에 비해 C<sub>25</sub>~C<sub>36</sub>의 비율은 낮으나, neophytadiene비율은 높았다.

표1, 2에서 나타난 것과 같이 품종 및 한미간별로 탄화수소의 함량 및 각 성분의 비율은 많은 차이를 보였다. 이러한 함량의 차이는 재배지역, 재배방법 및 품종에 따른 차이로 해석할 수 있을 것이다. 탄화수소는 동일 작엽위치에서 등급이 낮아지면 함량이 감소하는 점, 각연시 flavor에 나쁜 영향을 미치는 점 및 여러고리 방향족 탄화수소의 전구물질로 작용하는 면에서는 한국산 burley종이 미국산 burley종에 비해 탄화수소 함량이 낮은 것은 유리할 것으로 보

인다. 그러나 탄화수소가 여러고리 방향족 탄화수소의 전구물질이라는 보고는 학자에 따라 다른 견해<sup>13)</sup>를 보이고 있다.

따라서 품종별 탄화수소의 함량과 잎담배 품질과의 연관성 및 연중으로의 이행등은 앞으로 계속 검토되어야 할 것으로 사료된다.

## 결 론

Neophytadiene과 C<sub>10</sub>~C<sub>36</sub>까지의 노르말 및 가지달린 탄화수소 분석 방법과 한국 황색종 burley종(후엽 3등) 및 미국 황색종, burley종(B<sub>3</sub>F)의 탄화수소 함량을 조사한 결과는 아래와 같다.

1. Hexane soxhlet, 관 크로마토그래피 및 SE-54 fused silica capillary column에 의한 추출 및 분리방법은 decane 99%, eicosane 100%, triacontane 102%의 회수율을 얻었다.

2. GC, GC/MS에 의해 C<sub>10</sub>~C<sub>36</sub>까지의 노르말 및 가지달린 탄화수소를 분리, 확인하였다.

3. 잎담배 탄화수소 중 neophytadiene의 함량은 975~1308μg/g(29~41%)으로 가장 높았으며, C<sub>25</sub>~C<sub>36</sub>까지의 전체함량은 975~1348μg/g(58~70%)이었으며 이중 nC<sub>31</sub>, iC<sub>31</sub>, nC<sub>33</sub>, aC<sub>33</sub>, aC<sub>32</sub>,

aC<sub>30</sub>, nC<sub>29</sub>이 주성분이었다. nC<sub>10</sub>~nC<sub>24</sub>는 23~34 µg/g으로 낮았다.

4. 황색종은 한국산이 미국산에 비해 nC<sub>10</sub>~nC<sub>24</sub>과 neophytadiene 함량은 낮으나, C<sub>25</sub>~C<sub>36</sub>의 함량은 높았다. 특히 nC<sub>29</sub>, aC<sub>30</sub>, iC<sub>31</sub>, nC<sub>31</sub>, nC<sub>33</sub> 함량이 높았다. Burley종은 한국산이 미국산에 비해 모든 탄화수소 함량이 현저히 낮았다.

5. 한국산 황색종과 burley종은 탄화수소 함량이 큰 차이를 보이지 않았으나, 미국산 황색종은 burley종에 비해 대부분 함량이 현저히 낮았다. 전체 함량은 미국 burley종이 4591µg/g으로 가장 높았으나, 한국 황색종 3015µg/g, 미국 황색종 2931µg/g, 한국 burley종 2929µg/g으로 비슷하였다.

## 참 고 문 헌

1. Severson, R.F., K.L. McDuffie, R.F. Arrendale and O.T. Chortyk, Beitr. Tabakforsch, 11(1), 27-32(1981).
2. Severson, R.F., A.W. Johnson and D.M. Jackson, T.C.R.C., 11, 105-174(1985).
3. Gladding, R.N. and H.E. Wright, Tob. Sci., 3, 81-82(1959).
4. Appleton, R.A., C.R. Enzell and B. Kimland, Beitr. Tabakforsch, 5, 266-274(1970).
5. Chortyk, O.T., R.F. Severson and H.C. Higman, Beitr. Tabakforsch, 8, 204-210(1975).
6. 한국인삼연초연구소, 담배성분분석법, 9-10 (1979).
7. Heller, S.R. and G.W.A. Milne, EPA/NIH Mass Spectral Data Base, U.S Government Printing Office, Washington, D.C., Vol. 1-4 (1978).
8. Stedman, R.L. and W. Rusaniwskyi, Tob. Sci., 3, 167-171(1959).
9. Roberts, D.L. T.C.R.C., 14, 49-81(1981).
10. Stedman, R.L. and W. Rusaniwskyi, Tob. Sci., 4, 17-18(1960).
11. Badger, G.M., J.K. Donnelly and T.M. Spottswood, Aust. J. Chem., 18, 1249(1966).
12. Schlotzhauer, W.S., I. Schmeltz and S.F. Osman, Chem. and Ind., 1377(1970).
13. Roberts, W.J., R.H. Newman, M.D. Edmonds and T.S. Osdene, Beitr. Tabakforsch, 7(3), 154-157(1973).