

추출방법에 따른 잎담배 종류별 휘발성 향기성분 특성비교

이장미^{*} · 이정민 · 이창국 · 복진영 · 황건중

KT&G 연구원

(2010년 11월 10일 접수 ; 2010년 11월 22일 수정 ; 2010년 11월 29일 승인)

Comparison of the volatile flavor compounds in different tobacco types by different extraction methods

Jang-Mi Lee^{*}, Jeong-Min Lee, Chang-Gook Lee, Jin-Young Bock and Keon-Joong Hwang

KT&G Research Institute

(Received November 10, 2010; Revised November 22, 2010; Accepted November 29, 2010)

ABSTRACT - Traditional simultaneous distillation extraction(SDE) and solid-phase micro extraction(SPME) methods using GC/MS were compared for their effectiveness in the extraction of volatile flavor compounds from different tobacco leaves types(flue-cured, burley, oriental). The major volatile flavor compounds of flue-cured and burley tobacco were similar such as neophytadiene, solanone, megastigmatrienone isomers, β -damascenone and β -ionone. On the other hand, volatile flavor compounds such as norambreinolide, sclareolide were specifically identified in oriental tobacco. Each method was used to evaluate the responses of some analytes from real samples and standards in order to provide sensitivity comparisons between two techniques. Among three types of SPME fibers such as PDMS(Polydimethylsiloxane), PA(Polyacrylate) and PDMS/DVB (Polydimethylsiloxane/Divinylbenzene) which were investigated to determine the selectivity and adsorption efficiency, PDMS/DVB fiber was selected for the extractions of the volatile flavor compounds due to its effectiveness. The qualitative analysis showed that the total amount of volatile flavor compounds in SDE method(130 species) was much more than that in SPME method(85 species). SPME method was more efficient for all the highly volatile compounds than SDE method, but on the other hand, low-volatile compounds such as fatty acids or high-molecular hydrocabons were detected in SDE method. SPME method based on a short-time sampling can be adjusted to favor a selected group compounds in tobacco. Furthermore this results could be used to estimate the aroma characteristics of cigarette blending by using a different type of tobacco with more effectiveness and convenience.

Key words : flavor volatile compounds, tobacco, flue-cured, burley, oriental, SDE, SPME, extraction method

*연락처 : 305-805 대전광역시 유성구 신성동 302 번지, KT&G 연구원

*Corresponding author : KT&G Research Institute, 302 Shinseong-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-805, Korea
(phone: 82-42-866-5527; fax: 82-42-866-5544; e-mail: 20060057@ktng.com)

잎담배에 함유되어 있는 정유 성분은 잎담배의 특징적인 향기미를 발현하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 이들 화합물은 흡연 중 단일 화합물로써 담배 맛에 영향을 미칠 수도 있으며, 다른 성분들과 상호작용에 의해 시너지 효과를 나타낼 수도 있다. 특히 원료 잎담배의 향기 특성은 제품담배의 향기 특성과 상호관련성을 갖으며 중요한 품질관리 요소로 평가되고 있다.

많은 담배과학자들(Matsushima, 1979)이 담배 연기성분을 질소화합물, 휘발성 성분, 비휘발성 성분으로 분류하고 이를 각 성분의 잎담배 품종에 따른 차이를 조사한 바 있다. 원료 잎담배의 많은 성분들이 담배의 향과 밀접한 관련이 있음이 보고되어지고 있으며 그 중 neophytadiene은 담배의 diterpene 화합물로서 담배 연소과정에서 생성되는 휘발성 입자들과 함께 담배의 향을 증진시키는 역할을 한다고 알려져 있다.(Leffingwell, 1977) 그 외에도 megastigmatrienone, fanesol, phytol, solanone 등의 화합물이 담배의 향과 깊은 관련이 있는 성분들로 보고되고 있다.(Roberts, 1988)

휘발성 향기성분을 분리하는 방법으로는 동시증류추출(simultaneous distillation & extraction, SDE)법, 용매추출(solvent extraction, SE)법, Headspace법, 고체상미량추출(solid-phase microextraction, SPME)법 등이 있다. SDE법은 소량의 용매로 추출하면서 비교적 향기의 손실이 적은 장점이 있으나 시료를 추출하는 동안 고온을 유지해야 하므로 주요 성분들이 열에 의해 변화될 수 있는 단점이 있기 때문에 비교적 열에 안정된 시료인 경우에는 SDE법이 많이 이용되는 반면, SPME법은 분석 시 유기용매를 사용하지 않고 적은 양의 시료로 간단히 전처리 할 수 있어 최근에 많이 사용되고 있다. 또한 전처리 시에 시료의 특성에 따라 추출온도, 추출시간, fiber의 종류나 코팅된 두께를 변화시킴으로서 선택적인 추출이 가능하므로 다양한 분석법 개발에도 이용할 수 있다.

정유성분에 관한 국내 연구로는 황색종 및 벼리종 담배의 품종별 정유성분 비교 연구(김 등, 1983), 잎담배의 휘발성 정유성분과 담배연기의 관능특성과의 관계(정 등, 2004) 등이 있으나 일반적으로 전통적인 추출방법인 SDE법으로만 향기성분

을 분석하였으며, 시료전처리의 신기술로 불리는 SPME법으로 원료 잎담배 품종에 따른 휘발성 향기성분의 특성 변화에 대한 비교 연구는 거의 찾아볼 수 없는 실정이다.

본 연구에서는 잎담배 품종에 따른 주요 휘발성 향기성분의 특성을 일반적으로 많이 사용되어지는 정유성분의 추출방법인 SDE법과 SPME법에 따라 비교, 분석하여 연기 향기미에 관여하는 원료 잎담배 향미 성분의 분석법 정립을 위한 토대를 마련하고 더 나아가 원료엽의 향기미 특성을 구명하여 제품담배의 향미를 예측하여 향기성분과 관능특성의 상관관계를 연구하는데 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 재료

내부표준물질(n-decanol)은 Sigma사에서 구입하여 사용하였고, 추출용매로 사용한 n-hexane 및 diethyl ether는 Merck사의 것을 사용하였다. 본 실험에 사용한 잎담배 시료로는 2007년산 원료엽 3종(황색종 B10, 벼어리종 B1T, 오리엔트종 Basma AB)을 사용하였다.

SDE법에 의한 휘발성 향기성분의 추출

분쇄된 잎담배 건조 시료 20 g에 2 L의 증류수와 내부표준물질로서 n-decanol 20 µg을 가한 다음 Schultz 등(1977)의 방법에 따라 개량형 simultaneous distillation extraction (SDE) 장치를 사용하여 2시간 동안 증류 추출하였으며, 이 때 추출용매로서는 n-pentane과 diethyl ether 혼합액 (1:1, v/v) 50 mL를 사용하였다. 추출 원료 후 용매총만을 취하여 무수 황산 나트륨으로 탈수한 다음 회전 감압장치(evaporator)를 이용하여 감압농축한 후 질소 가스로 0.5 mL까지 농축하여 GC/MS 분석용 시료로 사용하였다.

SPME법에 의한 휘발성 향기성분의 추출

분쇄된 잎담배 건조 시료 1 g을 headspace 용 vial에 취하여 내부표준물질로 n-decanol 1 µg를 가한 후, 90 °C로 유지한 후 SPME를 수직으로 세

위 30분 동안 시료 내의 휘발성 향기성분을 추출하여 PDMS/DVB fiber (Polydimethylsiloxane/Divinylbenzene 65 μm, Supelco, USA)에 3분 동안 흡착시켰다. 휘발성 향기성분이 포집된 SPME fiber를 GC 주입구에 주입하여 2분간 휘발성 성분을 탈착하여 비분할 방식(splitless mode)로 분석하였다.

휘발성 향기성분의 GC/MS 분석

휘발성 향기성분 분석은 Agilent 6890N GC/5973i MSD system(USA)를 사용하였으며, 시료의 이온화는 electron impact ionization(EI) 방법으로 실행하였다. GC/MS 분석조건은 ionization voltage를 70 eV로 하였고, ion source 온도는 230 °C로 하였다. 또한 분석할 분자량의 범위(m/z)는 40~400으로 설정하였다. 컬럼은 DB-Wax(30 m × 0.25 mm ID, 0.25 μm film thickness, J&W, USA)를 이용하였다. 오븐 온도는 50 °C에서 3분간 유지하고 2 °C/분 속도로 240 °C까지 승온시킨 후 30 분간 유지하였다. 주입구 온도는 250 °C로 설정하여 SDE로 추출한 향기성분은 1 μL를 분할비(30:1)로 주입하였으며, SPME fiber는 2분간 탈착하여 비분할 방식으로 분석하였다. 운반기체는 헬륨을 사용하였으며 유속은 1.1 mL/분으로 유지하였다.

휘발성 향기성분의 확인 및 정량

GC/MS에 의해 total ionization chromatogram (TIC)에 분리된 각 peak의 성분 분석은 chemstation data system에 의한 mass spectrum library searching 및 표준물질의 머무름 시간을 비교하여 분석 data를 확인하였다. 확인된 휘발성 향기성분 화합물의 비율은 내부표준물질(n-decanol) 봉우리 면적에 의한 response ratio(%)로 표기하였다.

결과 및 고찰

SPME Fiber의 종류 및 비교 실험

고체상 미량추출법(SPME)은 두 과정으로 되어 있다. 우선 코팅물(흡수 고정상)과 시료사이에 분석 물이 분배되는 과정이고 또 다른 과정은 흡수된 분석물이 분석기기내에서 탈착이 일어나는 과정이다. 즉 분석물의 chemical potential 차이가 시료에서 fiber로 분석물의 분배계수와 직접적인 관련을 가지므로 fiber 고정상 종류에 따라 흡착되어지는 chemicals의 차이가 있어 물질의 구성 여부와 휘발성 정도를 고려하여 fiber를 선택하는 것이 중요하다.

본 연구에서는 잎담배 휘발성 향기성분 분석을 위한 최적의 fiber를 찾기 위해 fiber 고정상 극성

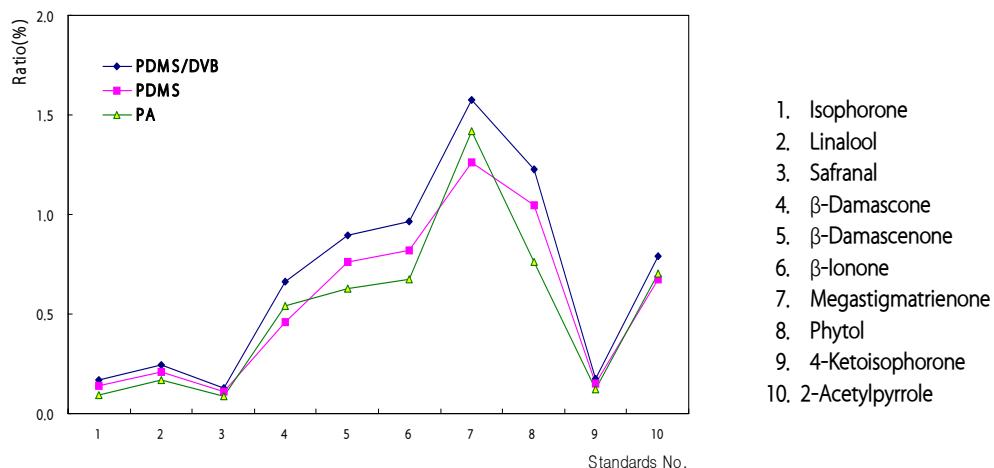


Fig. 1. Response of the three SPME fibers to 10 standards.

1. Isophorone
2. Linalool
3. Safranal
4. β-Damascone
5. β-Damascenone
6. β-Ionone
7. Megastigmatrienone
8. Phytol
9. 4-Ketoisophorone
10. 2-Acetylpyrrole

정도에 따라 세 종류의 fiber를 비교 실험하였다. 10개의 대표적인 잎담배 휘발성 향기성분의 표준물질을 이용하여 우선 비극성(non-polar) 고정상 fiber인 PDMS(Polydimethylsiloxane)와 극성(polar) 고정상 fiber인 PA(Polyacrylate), 그리고 극성과 비극성 성분을 모두 갖고 있어 다양한 범위의 분석물질 추출이 가능한 PDMS/DVB(Polydimethylsiloxane/Divinylbenzene) fiber 종류별로 3분간 흡착, 2분간 털착시간으로 하였고 그 이외는 모두 동일한 조건으로 하여 비교 실험한 결과를 Fig. 1에 나타내었다.

Fiber 종류에 따른 흡착 효율(adsorption efficiency)을 비교한 결과 PDMS/DVB fiber가 다른 fiber에 비해 표준물질 흡착 효율이 크므로 본 연구 수행에는 65 μm PDMS/DVB fiber를 사용하였다.

추출방법에 따른 잎담배 종류별 휘발성 향기성분 비교

황색종, 벼어리종, 오리엔트종의 대표성을 갖는 잎담배 시료를 선정하여 잎담배 종류별로 SDE법 및 SPME법으로 추출한 휘발성 향기성분을 GC/MS로 분석한 결과는 Fig. 2와 Table 1에 나타내었다.

Table 1에서 보는 바와 같이 추출방법과 잎담배 종류에 따른 휘발성 향기성분의 조성과 response ratio(%) 값에 많은 차이가 있음을 알 수 있었다. 동일 시료 간 유사성 지수를 보면 SDE법의 경우 황색종 92.1 %, 벼어리종 91.8 %, 오리엔트종 91.5 % 이었고, SPME법의 경우 황색종 91.2 %, 벼어리종 90.3 %, 오리엔트종 91.0 %으로 상대표준편차(relative standard deviation) 값은 모두 10 % 미만으로 높은 재현성과 반복성을 나타내었다.

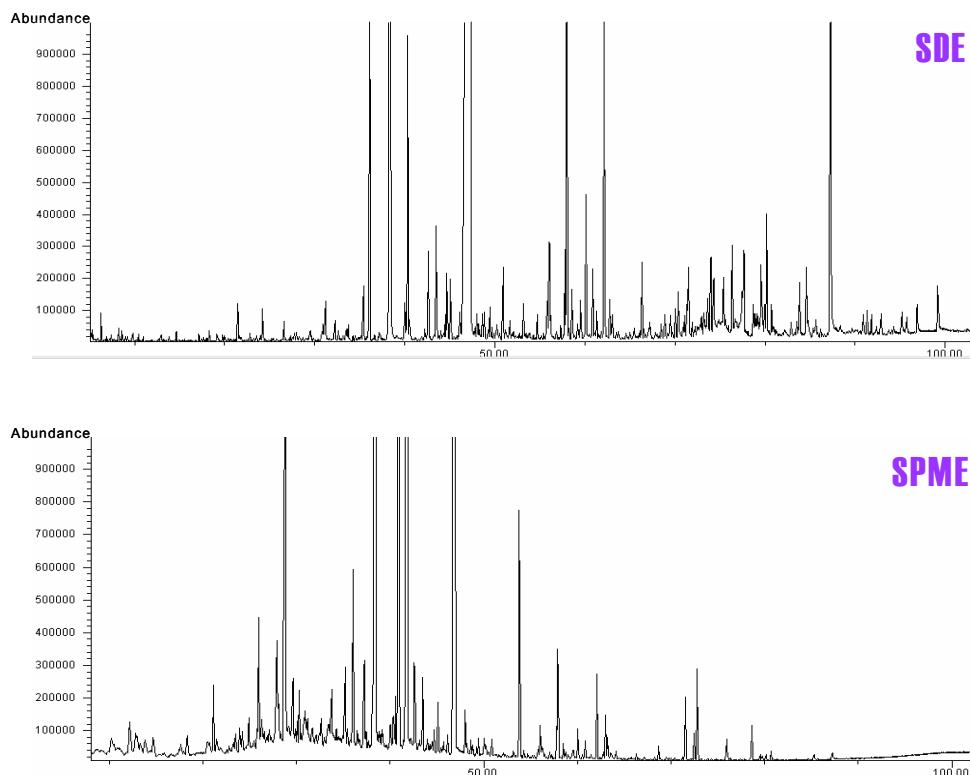


Fig. 2. GC/MS chromatograms of the volatile compounds in flue-cured tobacco by different extraction methods.

Table 1. Volatile compounds identified in three-types tobacco leaf by different extraction methods.

No.	Compounds	R.T (min)	SDE			SPME		
			Response ratio(%)					
			Flue-cured	Burley	Oriental	Flue-cured	Burley	Oriental
1	Citral	7.41	0.1258	0.0004	0.5191			
2	Limonene	8.25	0.1007	0.1092	0.0038	0.0685	0.0709	0.0026
3	n-Dodecane	8.44	0.0423	0.0368	0.1652			
4	Isopentyl alcohol	8.62	0.2491	0.2242	0.1120			
5	2-Hexenal	9.00	0.0603	0.0318	0.1298			
6	2-Hexanol	9.20	0.2293	0.0034	0.0011			
7	2-Pentyl furan	9.74	0.2495	0.2036	0.9473	0.1697	0.1323	0.6536
8	6-Methyl-2-heptanone	9.86	0.1009	0.1234	0.1851			
9	n-Hexanal diethyl acetal	9.80	0.2613	0.6430				
10	2,6-Dimethylpyridine (2,6-Lutidine)	10.08	0.0059	0.0214	1.6453			
11	2,6-Dimethylphenol	10.44	0.1209	0.0718	0.1850			
12	2-Methyldihydro-3(2H)-furanone	10.98	0.1817	0.1534	0.0905	0.1235	0.0997	0.0624
13	1,2,4-Trimethylbenzene	11.69	0.0243	0.0122	0.0964	0.0165	0.0079	0.0665
14	4-Methylpyridine	11.92	-	-	0.0689			
15	2-Isopropylpyridine	12.30	-	-	0.2348			
16	n-Tridecane	12.95	0.1388	0.1136	0.1173	0.0944	0.0738	0.0809
17	cis-2-(2-Pentenyl)furan	13.01	0.0464	0.0689	0.1766	0.0316	0.0448	0.1219
18	2,2,6-Trimethylcyclohexanone	13.19	0.0721	0.0431	0.1296	0.0490	0.0280	0.0894
19	2-(1-Methylbutyl)oxirane	13.54	0.0518	0.0502	0.1258			
20	3-Methyl-2-butanol(Prenyl alcohol)	13.86	0.1482	0.0242	0.1885	0.1008	0.0157	0.1301
21	6-Methyl-5-heptene-2-one	14.63	0.1900	0.1521	1.1294	0.1292	0.0989	0.7793
22	1-Hexanol	15.55	0.0681	0.1055	0.1155	0.0463	0.0686	0.0797
23	Cis-3-Hexenol	17.13	0.2163	0.1058	0.2329	0.1471	0.0688	0.1607
24	4-Methyl-3-penten-1-ol	17.41	0.0599	0.0264	0.1021			
25	3-Pentyl furan	17.59	0.0760	0.0487	0.1522	0.0516	0.0316	0.1050
26	Citronellyl 2-butenoate	18.01	0.0956	0.0071	0.7624			
27	n-Tetradecane	18.25	0.2837	0.3150	0.1776	0.1929	0.2047	0.1226
28	1,4-Dimethyl-3-cyclohexenyl methyl ketone	19.16	0.3209	0.0123	0.1394			
29	Furfural	21.45	2.3998	2.0326	2.8451	2.6319	2.3212	2.9631
30	Acetic acid	21.52	0.3072	0.5273	1.6418	0.2089	0.3427	1.1328
31	β -Ionene	21.84	0.1044	0.0021	0.0034	0.0710	0.0014	0.0023
32	2,4-Heptadienal	22.78	0.3593	0.0443	0.4822			
33	2-Ethylhexanol	23.21	0.1004	0.1236	0.0729			
34	2-Ethyl-5-methylfuran	23.52	0.4215	0.3590	0.5596	0.2866	0.2334	0.3861
35	n-Pentadecane	23.91	0.1514	0.1703	0.1313	0.1030	0.1107	0.0906
36	Benzaldehyde	24.21	1.4098	0.6235	3.6243	0.9586	0.4053	2.5007
37	trans-2-Nonenal	25.19	0.0300	0.0175	0.0895			
38	Nonanal diethyl acetal	25.39	0.1674	0.6159	-			
39	2-Methyl-2-nonen-4-one	25.77	0.0851	0.1503	0.1223	0.0578	0.0977	0.0844
40	Linalool	26.55	0.3578	0.1455	0.2072	0.2433	0.0946	0.1430

Table 1. Continued

No.	Compounds	R.T (min)	SDE			SPME		
			Response ratio(%)					
			Flue-cured	Burley	Oriental	Flue-cured	Burley	Oriental
41	5-Methyl furfural	27.29	0.2920	0.0112	0.4314	0.1986	0.0073	0.2977
42	Isophorone	27.56	0.2462	0.2932	0.3275	0.1674	0.1906	0.2260
43	Hexanoic anhydride	27.75	0.3335	0.0526	1.8777	0.2268	0.0342	1.2956
44	2-Cyclopentene-1,4-dione	27.79	0.2995	-	-	0.2037	-	-
45	6-Methyl-3,5-heptadien-2-one	28.30	0.2188	0.0780	1.3835	0.1488	0.0507	0.9546
46	3,3,5-Trimethylcyclohexene	28.71	0.0473	0.0183	0.2005			
47	p-Ethoxyanisole	29.44	0.1952	0.0382	1.3408	0.1327	0.0248	0.9251
48	n-Hexadecane	29.57	0.2197	0.2677	0.3026	0.1494	0.1740	0.2088
49	4,5,6,7-Tetramethyl-2H-isoindole	29.87	0.0560	0.0104	0.0380			
50	Safranal	30.80	0.2311	0.1358	0.0641	0.1571	0.0883	0.0443
51	Benzeneacetaldehyde	30.95	2.5398	3.3871	1.5265	1.7271	2.2016	1.0533
52	1-Undecanol	31.20	0.5250	0.0313	0.3142	0.3570	0.0203	0.2168
53	Acetaldehyde ethyl amyl acetal	32.24	0.8180	0.4334	0.1657			
54	2-Furanmethanol(furfural alcohol)	32.64	0.1394	0.1203	0.2453	0.0948	0.0782	0.1692
55	Farnesyl alcohol(fanesol)	33.18	0.1077	0.0399	0.3859	0.0733	0.0259	0.2663
56	4-Ketoisophorone	33.45	0.2583	0.6974	0.8785	0.1756	0.4533	0.6062
57	4-Methyl-Valeric acid,methyl ester	33.52	0.4031	0.0002	1.2035			
58	n-Decyl acetate	33.74	0.1910	0.0651	-			
59	Terpineol	34.23	0.0777	0.0241	0.1097	0.0529	0.0157	0.0757
60	Eucarvone	34.87	0.0570	0.0766	0.1240	0.0388	0.0498	0.0856
61	n-Heptadecane	35.13	0.1253	0.1615	0.3864	0.0852	0.1050	0.2666
62	Phenylacetaldehyde	35.43	1.7846	2.6509	-	1.2135	1.7231	-
63	Neophytadiene	35.56	8.8641	6.4515	4.6645	6.0276	4.1935	3.2185
64	Solanone	36.08	4.1531	3.1241	3.3955	2.8241	2.0307	2.3429
65	3,4,7-Trimethyl-1-indanone	36.65	0.1887	-	0.0458			
66	β -Damascone	40.00	0.9705	0.6300	1.0648	0.6599	0.4095	0.7347
67	β -Damascenone	40.32	10.5588	2.8708	8.0433	0.8953	0.4695	0.7368
68	1,5,8-Trimethyl-dihydroronaphthalene	40.52	0.7145	0.0053	0.1732			
69	3-Phenylaniline	41.19	0.0333	0.0155	0.4851			
70	3,3-Dimethyl-6-methylene-1-cyclohexene	42.22	0.1463	0.1496	0.7484			
71	trans-Geranylacetone	42.58	0.9738	0.7748	0.5876	0.6622	0.5036	0.4054
72	n-Hexanoic acid(Caproic acid)	42.75	0.2930	0.0595	1.2606	0.1993	0.0386	0.8698
73	Propanoic acid, 2-methyl-2-ethyl-3-hydroxyhexyl ester	43.21	0.1079	-	0.2905	0.0733	-	0.2005
74	Terpinolene	43.29	0.0396	-	0.4224	0.0269	-	0.2915
75	Benzyl alcohol	43.47	4.0925	0.0584	2.2376	2.7829	0.0380	1.5439
76	Isolimonene	43.98	0.1264	0.0671	0.2063	0.0860	0.0436	0.1423
77	4-Carene	44.47	0.3554	0.7008	0.5900	0.2417	0.4555	0.4071
78	Fenchene	44.67	1.0663	0.9011	2.0019	0.7251	0.5857	1.3813
79	Phenylethyl Alcohol	45.08	4.1846	0.1752	4.4805	2.8455	0.1139	3.0915

Table 1. Continued

No.	Compounds	R.T (min)	SDE			SPME		
			Response ratio(%)					
			Flue-cured	Burley	Oriental	Flue-cured	Burley	Oriental
80	Hydroxy(4-hydroxyphenyl) acetic acid	45.94	0.2270	-	0.6100	0.1544	-	0.4209
81	β -Ionone	46.11	1.4176	0.4860	1.1382	0.9640	0.3159	0.7854
82	Pinene	46.75	1.9552	3.3881	4.5352	1.3296	2.2023	3.1293
83	Caryophyllene oxide	47.59	-	-	0.1536			
84	2-Methyl-1,3-benzenediol	47.76	0.1958	-	-			
85	2-Acetylpyrrole	48.02	1.1639	0.0279	0.3265	0.7915	0.0181	0.2253
86	4,4-Dimethyl-2-cyclohexenone	48.25	0.1560	-	-	0.1061	-	-
87	β -Ionone epoxide	48.63	0.7926	0.4200	0.6093	0.5390	0.2730	0.4204
88	4-Hexyloxyaniline	48.84	0.7989	0.3146	1.6498	0.5433	0.2045	1.1384
89	4-(2,6,6-Trimethylcyclohexyl)but-3-en-2-one	49.26	0.2524	0.1090	0.2249	0.1716	0.0708	0.1552
90	4,6-Quinolinediamine	49.43	0.6538	0.2679	1.0434	0.4446	0.1742	0.7200
91	5-Amino-1-phenylpyrazole	49.63	0.2333	0.0369	0.2794	0.1587	0.0240	0.1928
92	2-Methyl-2,3-dihydrobenzofuran	50.25	0.3140	0.2090	0.3579	0.2135	0.1359	0.2470
93	Methyl myristate	50.54	0.1433	0.0756	0.2128	0.0974	0.0491	0.1468
94	5-Ethyl-m-xylene	50.90	1.4724	0.0277	0.3499	1.0013	0.0180	0.2414
95	Nerolidol	52.09	0.1094	0.0754	0.2047	0.0744	0.0490	0.1412
96	n-Octanoic Acid (Caprylic acid)	53.18	1.1137	0.2571	1.4795	0.7573	0.1671	1.0209
97	N,N-Dimethyl-4-aniline	54.73	0.5417	0.0835	0.2397	0.3684	0.0543	0.1654
98	Methyl pentadecanoate	55.41	0.0938	0.0697	0.0795	0.0638	0.0453	0.0549
99	Hexahydro farnesyl acetone	55.83	0.5910	4.0329	3.6263	0.4018	2.6214	2.5022
100	Megastigmatrienone 1	56.06	1.3497	0.3806	0.5451	0.9178	0.2474	0.3761
101	3-Amino-2-cyclohexenone	57.31	0.3968	0.2619	0.9303	0.2699	0.1703	0.6419
102	Megastigmatrienone 2	57.95	4.9653	0.0985	0.7757	3.3764	0.0640	0.5352
103	Myristic alcohol	58.20	0.1460	0.1346	0.3234	0.0993	0.0875	0.2232
104	4-Vinylguaiacol	58.52	2.4652	-	-	1.6763	-	-
105	3-(4,8,12-trimethyltridecyl) furan	59.49	1.8985	7.9817	12.1338	1.2909	5.1881	8.3723
106	Palmitic acid, methyl ester	60.08	4.3597	0.7982	1.4071	2.9646	0.5188	0.9709
107	Megastigmatrienone 3	60.84	1.0953	0.0148	0.1043	0.7448	0.0097	0.0720
108	1-Vinylcyclododecanol	61.05	0.0008	0.7306	0.6066			
109	3-Isopropenyl-5-methylcyclohexene	61.29	0.2663	0.1516	0.1116			
110	Palmitic acid, ethyl ester	61.76	0.2066	0.3514	0.4291			
111	Megastigmatrienone 4	62.10	5.2565	0.0095	0.1214	3.5744	0.0062	0.0837
112	n-Decanoic acid (Capric acid)	62.73	0.6986	0.1291	0.9816	0.4750	0.0839	0.6773
113	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7-tetrahydro-4,4,7-trimethyl	63.02	0.8249	0.1210	1.6801			
114	Isophytol	63.49	0.2987	0.9806	0.6421	0.2031	0.6374	0.4430
115	Cuminal acetate	63.71	0.0659	-	-	0.0448	-	-
116	7,10,13-Hexadecatrienoic acid, methyl ester	65.45	0.1160	-	-			

Table 1. Continued

No.	Compounds	R.T (min)	SDE			SPME		
			Flue-cured	Burley	Oriental	Flue-cured	Burley	Oriental
117	Farnesyl acetone	66.33	1.3031	1.5025	1.4837			
118	Indole (Benzopyrrole)	68.48	0.4743	0.2460	1.6975	0.3225	0.1599	1.1713
119	Heptadecanoic acid, methyl ester	68.89	0.2810	0.0590	0.0934	0.1911	0.0384	0.0645
120	11-Octadecenoic acid,methyl ester	69.49	0.1685	0.0976	-			
121	8,11-Octadecadienoic acid, methyl ester	71.36	0.4338	0.0689	0.0964			
122	Vanillin	73.23	0.7180	0.0499	0.1107			
123	Thunbergol	73.64	0.3077	0.0826	1.0013			
124	Linolenic acid, methyl ester	73.97	1.0934	0.0799	0.3804	0.7435	0.0520	0.2625
125	Phytol	76.36	1.8064	0.4717	4.9336	1.2284	0.3066	3.4042
126	3-Methyloctadecane	79.92	0.7389	0.3275	2.8630			
127	5-Hydroxy-3-methyl-1-indanone	80.71	1.1057	-	-			
128	Pentadecanoic acid	83.52	0.1903	0.0274	0.5142			
129	Sclaral (sclareolide lactol)	84.24	-	-	0.2260			
130	5-Methyl-1-cyclopentene- 1-carboxylic acid	85.66	0.1375	-	0.0722			
131	Palmitic acid	87.26	7.7973	0.3658	5.9471			
132	Norambreinolid	87.61	-	-	1.3670	-	-	0.9432
133	Oleic Acid	95.21	0.2324	-	0.1188			
134	Diphenyl sulfone	95.74	1.0490	1.5694	-			
135	Linoleic acid	96.88	0.4904	0.0416	0.1792			

본 실험 결과 많은 휘발성 향기 성분들을 확인할 수 있었는데 특히 담배의 향이나 맛과 관련이 깊은 것으로 알려져 있는 ketone류 및 alcohol류 화합물의 확인을 통해서 원료 잎담배의 향 특성을 예측할 수 있는 자료를 얻을 수 있었다. 잎담배 휘발성 향기성분의 특성 및 조성은 잎담배 품종에 따라서 달라지며 이들 중에는 양적으로는 많으나 향각미 발현에는 크게 영향을 미치지 않는 성분이 있고 양적으로는 미량이나 향각미 발현에는 아주 중요한 성분들이 있다. 특히 잎담배 향기성분의 특성은 terpene계 화합물의 종류와 양은 적지만 고급 isoprenoid에서 유래되어 산화적 분해를 거쳐 생성되는 것으로 알려진 탄소수 9, 11, 13개의 화합물에 의해 가장 큰 영향을 받는 것으로 알려져 있다. Megastigmatrienone isomers, neophytadiene,

solanone, phytol, ionone 등의 화합물들은 잎담배 휘발성 향기성분의 중요한 역할을 하고 있다. (Leffingwell, 1977; Roberts, 1988)

황색종 잎담배에서 확인된 주요 휘발성 향기성분 화합물들은 neophytadiene, solanone, megastigmatrienone isomers, β -damascenone, β -ionone 등으로 SDE법 및 SPME법으로 추출방법을 달리 실험한 결과 모두에서 다른 잎담배 종류에 비해 상대적으로 높은 값의 결과를 나타내었다. 버어리종 잎담배에서도 황색종과 유사한 향기성분 화합물들의 결과를 보여주었는데 상대적으로 farnesyl acetone, isophytol 등이 다른 잎담배 종류에 비해 높은 값을 나타내었다. 황색종과 버어리종 잎담배가 diterpenoid 관련 성분 중 solanone과 같은 thunberganoids 화합물이 많이 함유된 반면 오리엔트

Table 2. Comparison of number of functional groups identified in three-types tobacco by different extraction methods.
(Unit : number of compounds)

Functional groups	SDE			SPME		
	Flue-cured	Burley	Oriental	Flue-cured	Burley	Oriental
Ketones	24	21	22	21	19	18
Nitrogenous	11	10	12	7	7	7
Alcohols	22	21	21	15	14	14
Aldehydes	13	12	10	6	5	5
Esters	13	10	9	7	5	6
Acids	11	8	11	5	4	5
Hydrocarbons	17	16	17	11	9	10
Miscellaneous	19	19	20	13	13	14
Total	130	117	122	85	76	79

종 잎담배는 그 외에도 norambreinolide, sclareolide와 같은 labdanoids 화합물의 특이한 휘발성 향기 성분의 결과를 보여주었다. 이는 오리엔트종 잎담배만이 지니는 고유의 향각미인 woody-like 특성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 또한 오리엔트종 잎담배의 향미성분 중 furfural, furfuryl alcohol, acetic acid, 3-methyl valeric acid 등의 화합물들이 다른 잎담배 종류에 비해 높은 결과를 나타내어 특이성을 보여주었다. 이와 같이 잎담배 종류에 따른 일부 휘발성 향기성분들의 분율 차이를 확인하여 이를 토대로 엽배합 특성에 따른 휘발성 향기성분 data base 구축함으로써, 제품담배의 관능특성을 예측할 수 있는 자료로의 활용이 가능할 것이라 예상되어진다.

분석된 성분들을 유사한 화합물 계열로 구분하여 휘발성 향기성분의 작용기(functional groups)에 따른 상대적 비율은 Table. 2에 나타내었다. SDE법으로 추출하여 확인된 잎담배 휘발성 향기성분은 총 130종으로 황색종에서 가장 많은 화합물들이 확인되었고, 그 다음으로 오리엔트종, 베어리종 순이었다. ketone류 및 alcohol류, hydrocarbon류가 전체 구성 중 가장 큰 비율을 나타내었고, 이는 SPME법으로 추출한 결과에서도 유사하게 나타났

다. 이는 담배의 향각미나 맛에 많은 영향을 미치는 megastigmatrienone isomers, solanone, isophorone, β -damascenone, β -ionone, β -damascone, 6-methyl-5-heptene-2-one 등의 ketone류 화합물들이 잎담배 휘발성 향미성분의 주요 인자로 작용하고 있음을 알 수 있다. Benzyl alcohol이나 phenylethyl alcohol은 잎담배의 대표적인 방향족 alcohol류로써 담배의 floral-like한 향을 부여하므로 긍정적인 휘발성 향미성분으로 분류된다.

SPME법으로 추출하여 확인된 잎담배 휘발성 향기성분은 총 85종으로 SDE법으로 추출된 향기성분 총 130종에 비해 다소 적은 수의 향기성분 수를 나타내는데 이는 향기성분을 추출하는데 이용되는 기본적인 원리가 두 방법 간에 다르기 때문에 판단된다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 SDE법으로 추출한 잎담배 휘발성 향기성분들은 SPME법으로 추출한 화합물보다 늦은 머무름 시간까지 많은 화합물을 나타내고 있는데 이는 SDE법이 SPME법에 비해 fatty acid류나 fatty acid ester류와 같은 좀 더 고분자량의 화합물을 확인할 수 있는 추출방법이기 때문이다. 반면에 SPME법은 aldehyde류나 ester류

와 같이 휘발성이 크고, 낮은 분자량을 지닌 화합물을 확인하는데 더 큰 장점을 지닌다.

결 론

본 연구에서는 황색종, 벼어리종, 오리엔트종의 대표성을 갖는 잎담배 시료를 선정하여 잎담배 종류별로 추출방법을 달리하여 휘발성 향기성분 특성을 비교, 분석하였다. SDE법 및 SPME법으로 확인된 휘발성 향기성분은 잎담배 종류별로 황색종이 가장 많았고 오리엔트종, 벼어리종 순이었으며, 잎담배 휘발성 향기성분의 특성 및 조성은 잎담배 품종에 따라 달라지는 결과를 얻을 수 있었다. 황색종과 벼어리종 잎담배의 주요 휘발성 향기성분으로는 neophytadiene, solanone, phytol, megastigmatrienone isomers, β -ionone, β -damascenone 등이었으며, 오리엔트종 잎담배의 경우 norambreinolide, sclareolide와 같은 특이한 향기성분을 추가로 확인할 수 있었다.

SDE법으로 추출한 잎담배 휘발성 향기성분의 경우 고온 가열추출로 인해 열분해와 가수분해 작용이 동반되어지므로 artificial flavor 화합물의 생성이 예상되고, fatty acids류나 fatty acid esters류와 같은 고분자량의 화합물이나 휘발성이 낮은 화합물을 확인하는데 더 적합하였고, 확인 가능한 화합물의 수는 더 많았다. SPME법의 경우 전통적인 SDE법과 비교하여 신속하고 간단하며 유기용매의 소모가 전혀 없어 매우 경제적일뿐 아니라, 용매 없이 시료만 직접 GC/MS에 주입되기 때문에 검출한계도 향상되는 특징을 갖는다. 분자량이 작고 휘발성이 큰 화합물의 확인에 더 적합하며, fiber 고정상 종류나 코팅된 두께를 변화시켜 선택적인 화합물 분석에 가능하므로 원하고자 하는 실험 목적에 맞춰 다양한 추출실험이 가능하다.

본 실험을 통해 SDE법 및 SPME법으로 추출방법을 달리하여 잎담배 휘발성 향기성분을 비교한 결과, 확인되어지는 총 화합물의 수는 달랐으나, 잎담배의 주요 향각미 성분으로 알려져 있는 neophytadiene, solanone, phytol, megastigmatrienone isomers 등 많은 화합물들은 공통으로 확인됨을 알 수 있었다. 따라서 잎담배

종류에 따른 휘발성 향기성분을 비교 분석하여 이를 토대로 업배합 특성에 따른 휘발성 향기성분 data base를 구축함으로써, 제품담배의 관능특성을 예측할 수 있는 자료로 활용하기 위해서는 보다 신속하고 간단한 SPME법을 적용하여 잎담배 종류별 향미 profile index를 설정하는데 유용한 방법인 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Elena E. S. (2007) Sampling volatile compounds from natural products with headspace / solid-phase micro extraction. *J. Biochem. Biophys. Methods.* 70: 235-242.
- Fumin Peng, et al. (2004) Comparison of different extraction methods: steam distillation, simultaneous distillation and extraction and headspace co-distillation, used for the analysis of the volatile components in aged flue-cured tobacco leaves, *Journal of Chromatography A*: 1040, 1-17.
- Hasebe, H., et al. (1999) The quality estimation of different tobacco types examined by headspace vapor analysis, *Beitrage Zur Tabak, Inter.* 18(5): 213-222.
- Jibao Cai, et al. (2001) Comparison of simultaneous distillation extraction and solid-spase microextraction for the determination of volatile flavor components. *Journal of Chromatography A*: 930. 1-7.
- Leffingwell, J.P. (1977) Nitrogenous compounds of leaf and their realtionship to smoke quality and aroma. *Proc. Tob. Chem Res. Conf.* 30th, 1-40.
- Loughrin, J. H., Hamilton-Kemp, T. R., Anderson, R. A. and Hildebrand D. F. (1990) Headspace compounds from flowers of Nicotiana tabacum and related species. *J. Agric. Food Chem.* 38: 455-60.
- Matsushima, S., Ishiguro, S. and Sugawara, S.

- (1979) Composition studies on some varieties of tobacco and their smoke, *Beitr. Tabakforsch Int.* 10(1) : 121-126.
- Mookherjee, B. D. and Wilson, R. A. (1988) Tobacco constituents - Their importance in flavor and fragrance chemistry *Rec. Adv. Tob. Sci.* Vol. 14, Chemical and sensory aspects of tobacco flavor, 42nd TCRC, 49-78.
- Roberts, D. L. (1988) Natural Tobacco Flavor. *Rec. Adv. Tob. Sci.* Vol 14, Chemical and sensory aspects of tobacco flavor, 42nd TSRC, 114-158.
- Schultz, T. H. Flath, R. A., Mon, T. R., Eggling, S. B. and Teranishi, R. (1977) Isolation of volatile components from a model system. *J. Agric. Food. Chem.* 25: 446-449.
- S.S.Yang, et al. (2002) Optimization of headspace sampling using solid-phase microextraction for volatile components in tobacco. *Journal of Chromatography A* 942: 33-39.
- Stephen B. S. and David L. A. (1999) Solid-phase microextraction of alkenylbenzenes and other flavor-realated compounds from tobacco for analysis by selected ion monitoring gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 858: 79-89.
- Weeks, W. W. (1985) Chemistry of tobacco constituents influencing flavor and aroma. *Rec. Adv. tob. Sci.* 11: 175-200.
- 김신일, 오영일, 허일 (1983) 잎담배의 중요 휘발성 정유성분 분석. *한국연초학회지* 5(2) : 47-54
- 정기택, 안대진, 이종률, 제병권 (2004) 황색종 잎 담배의 숙성기간이 색상, 화학성분 및 꺽미에 미치는 영향. *한국연초학회지* 26(1) : 27-43