

# 담배 泥粉 중 Essential Oil의 활용 연구(제 1보)

## — 정유의 향각미 증진 성분에 관하여 —

이 경 구 · 박 진 우\*

한국인삼연초연구소, 원료연구실, \*분석연구실

### A Study on the Use of Essential Oil from Tobacco Powder (I)

#### — On the Flavouring Agent in Essential Oil Components —

Kyung Ku Lee and Jeen Woo Park

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute,  
Seoul 110, Korea

(Received for Publication, September 23, 1982)

### ABSTRACT

Essential oil components from tobacco powder were investigated as flavouring agent. The essential oil was isolated from tobacco powder by a simple distillation/extraction method. The extracted essential oil was fractionated into basic, acidic and neutral groups. And the neutral group of essential oil was separated by column chromatography into 10 fractions. Above groups and fractions were tested for tobacco aroma and smoke aroma. The neutral group except most nonpolar fraction displays good flavouring properties which make them highly suitable for improving the flavour and aroma of tobacco and tobacco smoke. The most nonpolar fraction from neutral group was carefully investigated using preparative column, thin layer and gas chromatography aided by GC/MS coupling. The major subfraction was identified as hydrocarbons on the basis of the IR spectrum. The 58 hydrocarbon components were identified by their mass spectra and gas chromatographic retention times.

### 서 론

일반적으로 식물은 isoprene 형태를 가진 lipid를 생성하는데 이를 isoprenoid라 하며 탄소수에 따라 mono(10), sesqui(15), diterpenoid(20), .....rubber(n)로 분류하며 이중 탄소수 10-20개의 terpenoids는 휘발성이 강하며 그 식물의 특징적인 향을 가져 정유라 하는데 이것은

배당체, 알칼로이드와 같이 식물의 2차 대사물질이다.

엽연초의 경우 정유는 monoterpenoids, cyclic sesquiterpenoids, trichomes에서 생합성된 diterpenoids, cytoplasmic triterpenoids, pytosterols, carotenoids와 acyclic isoprenoids로 대별될 수 있고 이외에 지방산과 neophytadiene을 포함한 hydrocarbons도 주요한 부분을 차지한

다(6). 또한 엽연초의 각 품종에 대해 정유의 성분 및 생성기작에 관한 많은 연구가 진행되어 왔으며 (1, 2, 5, 7, 9-12, 15, 16) 이들 성분들이 재배, 건조, 숙성, 발효 및 공정방법에 따라서도 많은 차이가 있음이 밝혀졌다 (1, 8, 9, 11-17).

본 연구에서는 담배 특유의 향을 나타내는 정유를 제조과정중 부산물로 산출되는 이분(tobacco powder) 으로부터 추출하고 이를 인위적 조작에 의해 향끼미 증진 성분만을 선별하여 일반 담배 및 특수담배 (관상엽, H. L. C. 관상엽, 초저탈 담배등)에 기호성 부가를 위한 flavouring agent로 제조키 위한 방법 및 그 효과에 대해 연구하였다.

## 재료 및 방법

### 시료 및 시약

시료는 81년도 수원제조창 거북선 권상단계 이분을 이용하였고, petroleum ether는 Wako (EP) 제를, ethyl ether, ethyl acetate 및 benzene은 EP급의 anhydrous sodium sulfate는 GR 급의 Katayama 제품을 각각 사용하였다.

### 정유의 추출

물 증류장치로 증류율 3.5hours/cycle로 하여 Florentine flask에서 얻어진 정유를 petroleum ether로 회수하였고 증류시 시료 배합은 1 : 10 (시료 : 물)으로 하였다.

### 정유의 액성별 분리

얻어진 정유를 그림 1과 같이 중성, 산성 및 알칼리성 군으로 분리하고 각 군의 용매층을 anhydrous sodium sulfate로 탈수후 감압농축하여 수율 및 관능적 특성을 조사하였다.

### 관능검사

최소 감량 시험방법 중 최소감미량(absolute threshold) 시험에 의해 선정된 인원으로 외향은 원액 및 1% ethanol 용액을 smelling paper에

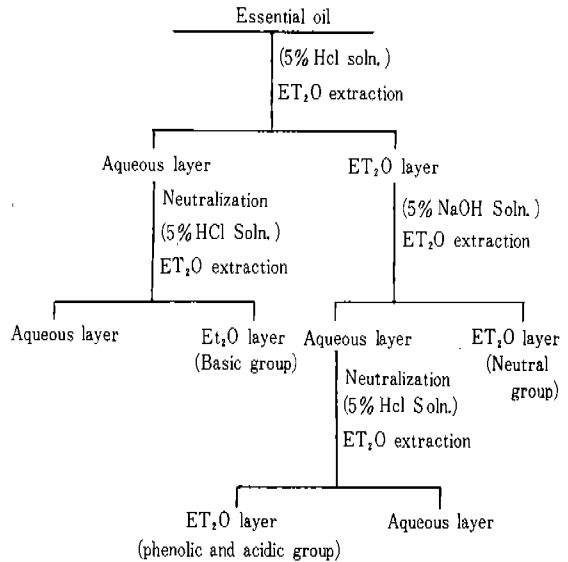


Fig. 1. Separation scheme for tobacco powder essential oil.

일정량 점적하여 시료를 제조하였고 연향은 거북선 재료소품을 이용하여 무가향 Hicks 후 1등을 권장하여 본당 0.01% (ethanol 용액) 이하의 농도로 가향후 시료를 제조하여 관능검사를 실시 하였다.

### Column chromatography

중성 군 : Florisil 100~200 mesh (Sigma) 150g을 200°C에서 5시간 동안 활성화후 중성 군 7.44g과 최초의 용매인 benzene을 가하여 충전, 세척된 column을 이용하였으며 용매의 극성도가 증가되는 benzene, ethyl acetate, methanol의 순으로 10ml/min의 속도로 규출시켰다. 총 34분획을 10분획으로 모았으며 분획과정에서 TLC를 이용하여 분리정도를 추적하였다.

Fraction neutral-1 : Silica gel 100~200mesh (Sigma) 25g을 200°C에서 3시간 활성화시킨 후 분획, 중성-1 (F.N-1) 2.44g을 가하고,

benzene으로 충전, 세척, 전개시켰으며 총 11개 분획을 TLC로 확인후 3개 분획으로 모았다.

#### Thin layer chromatography

TLC plate로는 20×20cm(두께 0.2mm) 규격의 G-60 F<sub>254</sub>(Merck)을 이용하였고 전개용매로는 petroleum-ether-ethyl ether(4:1)를 사용하였으며 anisaldehyde-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-ethyl acetate(2:1:90)로 확인하였다.

#### Infra-red spectrophotometry

IR spectrum은 Beckmann IR-9 형의 spectrophotometer를 사용하여 측정하였으며 KRS-5 cell을 이용하였다.

#### G. C에 의한 정유의 성분분석

G. C는 flame ionization detector가 부착된 Hewlett-Packard Model 5840A GC와 Model 5840A terminal을 사용하였다. column은 wall coated open tubular (W.C.O.T) SP-2100 fused silica capillary column(50cm×0.20mm i. d.)을 이용하였고 분석조건으로 injector 및 detector 온도는 300°C로 동일하게 하였으며 column은 30°C~120°C는 6°C/min, 120°C~150°C는 2°C/min, 150°C~200°C는 6°C/min, 200°C~215°C는 2°C/min, 그리고 280°C까지는 6°C/min의 속도로 온도를 증가시키는 multistep programming하였다. 또한 injection은 0.5μl를 split mode(split ratio=100:1)로 하였으며 질소가스의 유속은 0.7ml/min로 하였다.

#### GC/MS에 의한 정유성분의 확인

GC/MS는 Varian 3700 GC에 open split로 연결된 Varian MAT 212 MS를 사용하였다. GC/MS에서의 GC조건으로는 column은 W. C. O. T인 SE-54 glass capillary(20m×0.25mm. i. d.), carrier gas인 helium의 유속은 1.0ml/min, column 온도는 30°C에서 280°C까지 3°C/min로 증가시켰다. injection은 0.5μl를 split mode(sp-

lit ratio=100:1)로 주입하였다. MS 조건으로 ion source pressure는 1.2×10<sup>-5</sup> torr, ionization voltage는 70eV, emission current는 1mA, ionization mode는 electron impact, 그리고 ion source 온도는 280°C를 유지하였다. 이러한 분석조건에 의해 얻어진 각 peak의 성분확인 은 GC/MS에 연결된 SS MAT188 data system을 이용한 Biemann Library Research, mass fragmentography 및 GC의 retention time으로 시도하였다.

#### 결과 및 고찰

정유는 추출조건 및 장치에 따라 그 수율 및 성분조성이 다소 차이가 있으나(13, 15) 본 실험에 사용된 증류조건으로 이분의 정유를 시간 별로 추출한 결과 시간의 경과에 따라 정유의 양이 계속 증가하는 경향이 있었으며 12-15시간이 최적시간이었으며 그때의 수율은 0.33-0.38%(w/w)였다.

정유를 액성별로 분리하여 관능접사를 한 결과 표 1과 같이 산성 군은 외향으로 볼 때 정유 원액 및 중성 군과 유사하나 산취(acrid)가 있었으며 연향은 자극취(harshness, burnt)가 생성되어 이를 포함한 원액의 사용은 정유의 향각미 효과를 저해시킬 우려가 있어 이를 제거하거나 제거후 인위적 조작(에테르화등)으로 변형후 사용하여야 할 것으로 생각된다. 중성 군은 원액과 비교할 때 외향은 대차 없으나 연향은 타는듯한 느낌(burnt) 대신 건조냄새(hay)가 있고 전체적인 평가는 원액보다 중성 군이 더 양호하였다. 그러나 중성 군의 주향은 oily, green, fruity, smoothing 등이었으나 부향으로 musty, harshness 등 좋지 못한 향취도 포함되어 있어 그향취를 유발하는 성분을 규명코져, 좀더 세부적인 연구를 위해 column chromatography로 그림 2와 같이 중성 군을 세분하였다. 분리과정에서 TLC로 전개한 결과 각 분획의 극성도에 따른 R<sub>f</sub>치의 차이를 그림 3과 같이 볼 수 있었으며 이에 대한 관능접사 결과는 표 2와 같다.

Table 1. The yield and organoleptic properties of each group.

		Original	Neutral	Acidic	Basic
Yield (%)		-	73.3	25.57	0.83
Sensory Test	Aroma	Oily Floral Smoothing Green	Oily Green Fruity Smoothing	Oily Green Fruity Acrid	Musty Green Smoothin Pyrazine-like
	Smoke Aroma	Green Oily Floral Burnt Smoothing	Green Oily Floral Smoothing Hay	Burnt Harshness Farthy Pungent Green	Musty Green Smoothing Nicotine-like

Table 2. The yield and organoleptics of each fraction.

fraction		N-1	N-2	N-3	N-4	N-5	N-6	N-7	N-8	N-9	N-10
item											
Yield		30.33	7.02	10.41	3.95	15.26	6.71	7.88	3.03	6.56	9.85
Sensory Test	Flavor	Waxy Musty Harshness	Oily Green Fruity Floral	Green Floral Spicy	Green Fruity Floral Oily	Green Waxy Fruity	Fruity Green Oily	Spicy Cheese Floral Resin	Spicy Smoothing (Honey) Green Fatty	Green Weak Floral Fruity	Honey Fruity (apple) Oily Smoothing
	Smoke aroma and Taste	Cold Burnt Harshness	Cold Cold Soapy Waxy	Spicy Weak cold Fruity Spicy Honey	Waxy Fresh Fruity Floral Hay	Spicy Green Fruity Floral Oily	Pungent Fruity Pungent Oily	Pungent Fruity Oily	Spicy Smoothing Waxy	Pungent Smoothing Hay	Green Smoothing Waxy
	Preference	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+

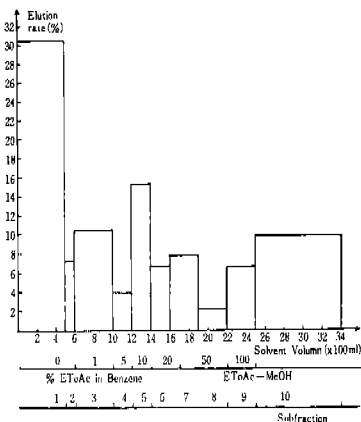


Fig. 2. Column chromatography of Neutral group.

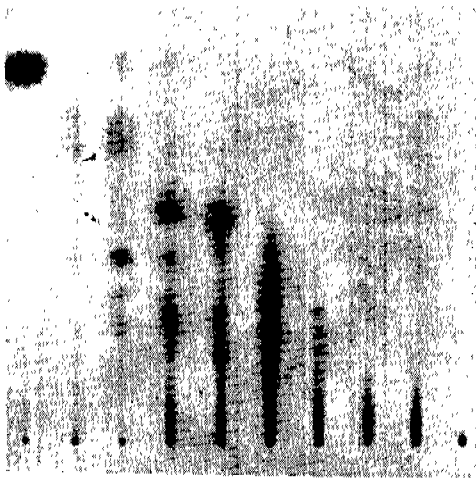


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for neutral fractions. Spots from left to right (N-1 to N-10).

각 분획에 대한 선호도로 볼때 각미 저해 분획은 T.L.C에서 Rf치가 가장 큰 분획 N-1 이었으며 각미증진 분획은 N-3~8, 10 이었고 이들의 수율은 각각 30%, 56%였다. 특히 분획 N-1 은 그림 4의 IR spectrum에서의  $2840\sim 3000\text{cm}^{-1}$  (alkanes  $-\text{CH}_3, \text{CH}_2 : \text{C-H}$  stretch),  $1350\sim 1470\text{cm}^{-1}$  (alkanes  $-\text{CH}_3, \text{CH}_2 : \text{C-H}$  bend),  $1645\sim 1670\text{cm}^{-1}$  (alkenes  $:\text{C}=\text{C}$  stretch),  $3000\text{cm}^{-1}$  (aromatics  $:\text{C}-\text{H}$  stretch),  $1475\sim 1610\text{cm}^{-1}$  (aromatics  $:\text{C}-\text{C}$  ring stretch),  $75\sim 10\text{cm}^{-1}$  (C-H out of plane bending vibration of polynuclear compounds) 등의 흡수띠로 미루어 탄화수소(3,4) 계통 화합물임을 알 수 있었다.

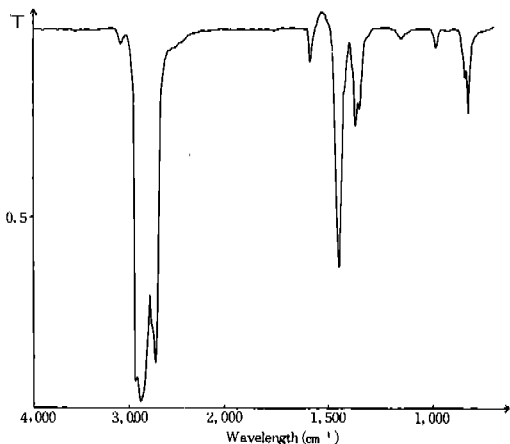


Fig. 4. IR spectrum of fraction N-1.

분획N-1의 탄화수소 분획을 상기서술한 TLC 조건으로 전개시킨후 UV등과 요오드 증기로 각각 발색시켜보니 Rf가 다른 점적이 있어 이를 좀더 세부적으로 연구코져 그림 5 와 같이 column chromatography로 3개의 분획으로 나눈 결과 분획 N-1-1 은 흰색고체의 Wax로 거의 외향은 느낄수 없으며 포화탄화수소로 생각되었으며 분획 N-1-2는 약간의 회색을 띤 액체로 분획 N-1의 주향성분 이었으며 고무와 같은 냄새 (rubber-like) 가 심하고 자극취(harshness) 가 있었다.

이들의 성분을 확인하기 위해 GC 및 GC/MS로 분리 확인한 결과 그림 6 및 표 3 과 같이 alkyl benzene, naphthalene 및 그 유도체들인 방향족탄산화수소. 여러고리 방향족탄산화수소(PAH)와 포화탄화수소등 이었는데 PAH는 엽연초의 원래의 내용성분이 아니고 대기오염및 전조, 공업적 제조과정중에서 오염된 것으로 알려져있으며 (1, 12, 16) neophytadiene은 양적으로 가장 많은데 이는 엽록소의 하나인 phytol로부터 생성되는 것으로 알려지고 있으며 (8, 12, 17) 이를 flue-cured tobacco note 라고도 하나 (11) 이러한 성분을 제거하여야 양호한 가향료를 제조할수 있을것으로 생각되며 또한 이를 인위적인 조작 (오존처리, 강산화제처리등)으로 phytofuran (9), farnesyl acetone (8) 등과 같은 성분으로 변형후 사용하는 방법도 생각할수 있을 것이다.

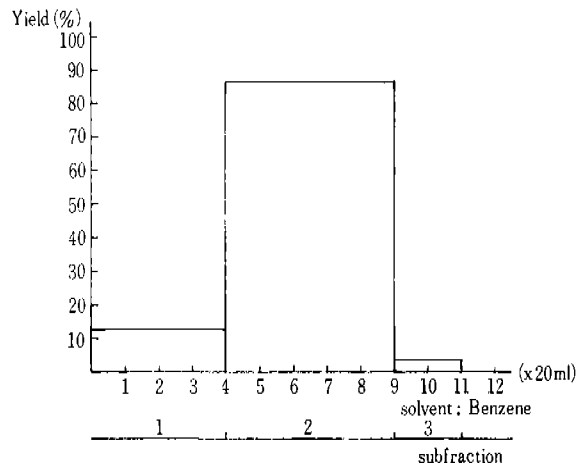


Fig. 5. Column chromatography of F-N-1

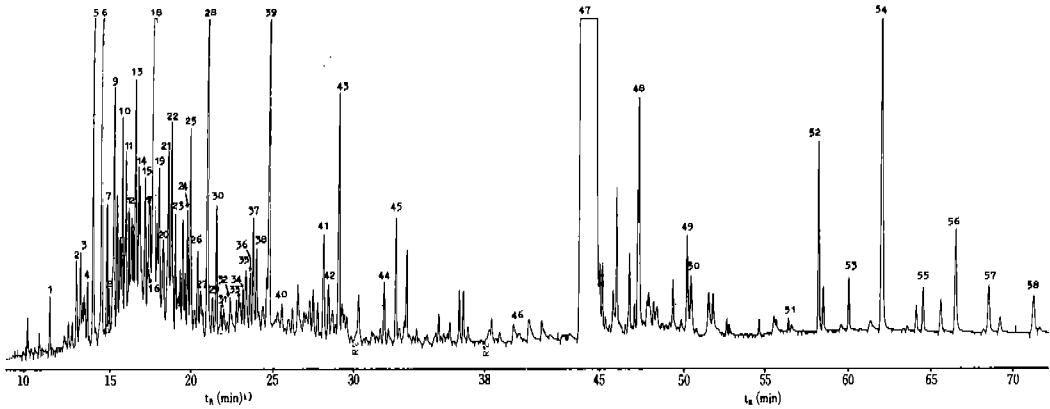


Fig. 6. Gas chromatogram of fraction N-1-2.

Table 3. Identified components in fraction N-1-2.

Peak No. (Fig. 6)	Compound	Molecular weight	Retention time (min)	Peak No. (Fig. 6)	Compound	Molecular weight	Retention time (min)
1	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub>	124	12.04	30	1,4-Dimethylnaphthalene	156	21.65
2	Ethylbenzene	106	13.47	31	1,5-Dimethylnaphthalene	156	21.93
3	p-Xylene	106	13.70	32	1,2-Dimethylnaphthalene	156	22.48
4	o-Xylene	106	14.05	33	n-Propylnaphthalene	170	22.68
5	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub>	122	14.41	34	Isopropylnaphthalene	170	23.25
6	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	138	14.89	35	Methylethylnaphthalene	170	23.43
7	Monoterpene	136	15.06	36	C <sub>7</sub> -Alkylbenzene	176	23.68
8	o-Ethyltoluene	120	15.20	37	Methylethylnaphthalene (isomeric)	170	23.86
9	1,2,4-Trimethylbenzene	120	15.58	38	Trimethylnaphthalene	170	24.09
10	1,2,3-Trimethylbenzene	120	16.06	39	Trimethylnaphthalene (isomeric)	170	24.86
11	Diethylbenzene	134	16.23	40	C <sub>4</sub> -Alkylnaphthalene	184	25.61
12	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub>	132	16.79	41	C <sub>8</sub> -Alkylbenzene	190	28.14
13	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	16.98	42	s-Butylnaphthalene	184	23.43
14	Tetramethylbenzene	134	17.09	43	Diethylnaphthalene	184	29.08
15	Tetramethylbenzene	134	17.39	44	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	31.83
16	Tetralin	132	17.57	45	Tetramethylnaphthalene	184	32.55
17	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub>	146	17.68	46	C <sub>5</sub> -Alkylnaphthalene	198	39.74
18	Naphthalene	128	17.95	47	Neophytadiene	278	44.58
19	Methyltetralin	146	18.44	48	Diterpene	272	47.42
20	Sesquiterpene	204	18.63	49	Phenanthrene	178	50.33
21	2-Methylnaphthalene	142	18.77	50	Anthracene	178	50.56
22	1-Methylnaphthalene	142	18.96	51	C <sub>6</sub> -Alkylnaphthalene	212	54, 72
23	Biphenyl	154	19.20	52	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	352	58.39
24	1-Ethylnaphthalene	156	19.91	53	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	366	60.20
25	Dimethylnaphthalene (isomeric)	156	20.11	54	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	380	62.26
26	1,7-Dimethylnaphthalene	156	20.52	55	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	394	64.72
27	C <sub>6</sub> -Alkylbenzene	162	20.68	56	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	408	66.73
28	1,6-Dimethylnaphthalene	156	21.13	57	C <sub>30</sub> H <sub>62</sub>	422	68.76
29	2,3-Dimethylnaphthalene	156	21.42	58	C <sub>31</sub> H <sub>64</sub>	436	71.50

참 고 문 헌



Fig. 7. Thin-layer chromatogram for terpenless oil and neutral group. Spots from left to right (terpenless oil to neutral group).

이와 같은 중성 군중 탄화수소분획을 실험실적 방법인 column chromatography로 제거한(그림 7) terpenless oil을 천연물의 추출물등과 배합료를 가향료로 제조하여 거북선 및 판상엽에 가향하여 껌미시험을 하여본 결과 현행에 비해 양호한 결과를 얻었으며 이를 이용한 일반담배 및 특수담배에 가향함으로써 담배의 품질향상을 기할수 있을것으로 사료되며 소형의 공장규모의 증류장치에 의한 정유의 경제적인 최적 조건 선정 시험과 이온교환 수지등을 이용한 원액에서의 중성군 추출방법 및 냉각된 알콜처리, 용액-용액 추출 등에 의한 탄화수소의 제거, 제거된 탄화수소 및 유기산 군의 재활용 방법등과 같은 광범위한 연구가 뒤따라야 할것으로 사료된다.

1. Appleton, R. A., C. R. Enzell and B. Kimland, *Beit. Tabakforsch.*, 4 : 266-274 (1970).
2. Chortyk, O. T., R. F. Severson and H. C. Higman, *Beit. Tabakforsch.*, 9 : 204-210 (1975).
3. Devreux, M. et D. Esnault. *A. du Tobac, Set 1* : 159-165 (1974).
4. Devreux, M. et D. Esnault. *A. du Tabac, Set 1* : 111-115 (1974).
5. Demole, E. and D. Berthet, *Heiv. Chim. Acta.*, 55 : 1866-1874 (1972).
6. Ellington, J. J., P. F. Schlotzhauser and A. I. Schepartz, *J. Chromatogr. Sci.*, 15 : 295-300 (1977).
7. Enzell, C. R., A. Rosengren and I. Wahlberg, *Tob. Sci.*, 14 : 127-129 (1970).
8. Fugimori, T. and H. Kaneko, *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 53 : 95-121 (1979).
9. Fugimori, T. and R. Kasuga, *Agr. Biol. Chem.*, 40 : 303-315 (1976).
10. Matsushima, S. and S. Ishiguro, *Nippon Nogeikagaku Kaish*, 54 : 1027-1035 (1980).
11. Robert, A. and W. C. Lloyd, *Tob. Sci.*, 20 : 40-48 (1976).
12. Robert, A., W. Johnstone and J. R. Pulmann, *Medical Research Council, The University, Exter, England*, 885-936 (1959).
13. Roberts, D. L. and W. A. Rhode, *Tob. Sci.*, 16 : 107-112 (1972).
14. Schepartz, A. L., J. J. Ellington, R. L. Wilson and J. F. Chaplin, *Tob. Sci.*, 26 : 47-50 (1982).
15. Schumacher, J. N. and L. Vestal, *Tob. Sci.*, 18 : 43-48 (1974).
16. Stedman, R. L., *Chem. Rev.*, 153-207 (1968).
17. Wahlberg, I., K. Karlsson and D. J. Austin, *photochem.*, 16 : 1217-1231 (1977).