

## 버어리엽 건조과정에서 비휘발성 유기산, 지방산 및 폴리페놀화합물의 함량변화

김도연<sup>\*</sup> · 배성국<sup>1</sup> · 이정일 · 지상운<sup>2</sup> · 김영희<sup>2</sup>  
한국인삼연초연구원 분석부, 전주시협장<sup>1</sup>, 기획부<sup>2</sup>  
(2000년 11월 25일 접수)

## Changes in the Contents of Non-Volatile Organic Acids, Fatty Acids and Poly phenolic Compounds during Air-Curing in Burley Tobacco

Do Yeon Kim, Seong Kook Bae<sup>1</sup>, Jung Il Lee, Sang Un Ji<sup>2</sup> and Young Hoi Kim<sup>2</sup>  
*Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Division of Analysis,  
<sup>1</sup>Chonju Experiment Station, <sup>2</sup>Division of Research planing*  
(Received November 25, 2000)

**ABSTRACT :** This study was carried out to investigate the changes in composition of the non-volatile organic acid, fatty acid and polyphenolic compounds during air-curing in burley tobacco leaves, and the effect of curing methods on the contents in air-cured leaves. The air-cured variety, (*Nicotiana tabacum* cv KB108) was normally grown at the Chonju tobacco experiment station in 1998. Plants designated for the each curing methods were harvested on the same date, and the ripe leaves for primed curing were harvested at the tenth leaf position from the top on the stalk. The major compounds of non-volatile organic acid and fatty acid were malic, citric, oxalic, palmitic, and linolenic acid. The concentrations of malic acid, unsaturated fatty acids, chlorogenic acid and rutin in cured leaves were remarkably decreased during curing, while citric acid was increased. The changes of these compounds showed the similar pattern during both primed and stalk curing. In connection with curing methods, the contents of malic, linoleic and linolenic acid were higher in excessive cured leaves than those in primed cured or stalk cured leaves, while the content of citric acid was lower in excessive cured leaves than that in primed cured or stalk cured leaves.

**Key words:** Burley tobacco, curing, organic acids, fatty acids, polyphenolic compounds

잎담배의 건조는 단순히 생엽중에 존재하는 수분을 제거하는 역할뿐만 아니라 제조담배 원료로서의 특성과 용도에 적합한 품질을 지니도록 색상, 내용성분, 물리성 등의 변화를 꾀하는 작업

이다. 버어리종은 자연환경 조건에서 음건하므로 내용성분이 서서히 분해되는데 건조과정에서 생엽중에 함유되어 있던 내용성분들은 화학적, 생화학적 작용에 의해 많은 변화가 일어나며 이러한

\*연락저자 : 305-345 대전 광역시 유성구 신성동 302번지 번지 한국인삼연초연구원

\*Corresponding author : Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, 302 Shinseong-Dong, Yusong-Ku, Taejon, 305-345, Korea

내용성분들의 변화는 각 건조단계별 건조시간, 온도, 상대습도, 건조실내의 공기순환 속도에 따라 많은 영향을 받는다(Burton *et al.*, 1983).

한편 잎담배에서 비휘발성 유기산은 양적으로 많이 함유되어 있을 뿐만 아니라 퀘련을 흡연시 연기의 pH를 조절해 주는 역할을 하기 때문에 잎 담배의 품질과 관련하여 중요시되고 있다 (Kaneko, 1980; Mendell *et al.*, 1984; Tso, 1990). 특히 버어리엽에서 많이 함유되어 있는 비휘발성 유기산은 malic, citric 및 oxalic acid 등을 들 수 있고 건조과정 동안 oxalic acid 함량은 큰 변화가 없으나 malic acid 함량은 큰 폭으로 감소하고 citric acid 함량은 증가하는 것으로 알려져 있다 (Burton and Wright, 1961; Hamilton, 1974). 지방 산은 비휘발성 유기산에 비해 대체로 함량이 적은 편이며 황색종이나 오리엔트종에 비해 버어리 종에는 아주 적은 양이 존재한다.

또한 잎담배에서 polyphenol 화합물들 역시 흡연시 향각미에 영향을 미치며 근래에는 흡연과정에서 열분해에 의해 생성되는 휘발성 페놀화합물들의 안전성과 관련하여 연구의 대상이 되어 왔다(Schlotzhauer and Chortyk, 1981; Court *et al.*, 1983). 특히 버어리엽에 있어서는 건조과정에서 polyphenol 화합물들이 산화, 중합됨으로써 버어리엽 고유의 갈색색소 형성에 중요한 역할을 하는데(Peele *et al.*, 1995), 버어리엽에 양적으로 많이 함유되어 있는 것은 chlorogenic acid, neochlorogenic acid 및 rutin 등이다.

국내의 경우 농산물의 수입 자유화 추세에 따라 잎담배의 경우도 머지 않아 수입이 자유화될 것으로 예상되고 있으며, 따라서 국산 잎담배의 국제 경쟁력 제고를 위해서는 생산비 절감과 함께 잎담배 품질을 향상시킬 수 있는 기술개발이 중요한 과제로 대두되고 있는 실정이다. 버어리 종의 경우 그 동안 국내의 기후조건을 감안한 대 말림 건조법이 개발되어 기존의 줄말림 건조법을 대체하여 일부 농가에 보급되고 있으나 건조방법별 건조과정에서 성분변화나 건조를 완료한 버어리엽의 품질과 관련된 내용성분 조성에 대해서는 구체적으로 조사되어 있지 않은 실정이다.

따라서 본 연구에서는 버어리엽 품질개선을

위한 기초자료로 활용할 목적으로 버어리엽을 줄말림과 대말림법으로 건조하는 과정에서 비휘발성 유기산과 지방산 및 polyphenol류의 함량변화를 조사하였다. 이율리 현재 국내 버어리종 산지에서 건조기간을 단축시키기 위하여 차광량을 줄임으로서 내용성분의 분해나 향각미 발현이 불충분하여 문제가 되고 있는 급건엽(하우스 건조)의 비휘발성 유기산과 지방산 함량차이를 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 공시재료 및 재배조건

공시품종은 버어리종인 KB108로서 잎담배의 건조와 재배는 한국인삼연초연구원 전주시험장에서 수행하였다. 종자는 98년 2월에 파종하여 4월 17일 본포에 이식하고 절충말칭법으로 재배하였으며, 재식거리를 120 cm × 40 cm (2,200주/10a)로 하였다. 시비는 기비로서 연초용 복합비료 ( $N-P_2O_5-K_2O$ ; 18.2-9.8-35.0)를 10a당 140kg 사용하였으며, 기타 재배조건은 버어리종 표준 재배법에 준하였다. 잎담배는 적십 후 30일이 경과하여 하위로부터 9~10매가 성숙한 시기인 7월 20일에 수확하여 줄말림과 대말림으로 나누어 건조하였다.

### 시료채취 및 건조

줄말림 시료는 상위로부터 10매째 위치의 엽만을 수확하여 달줄로 엮어 건조하였다. 대말림 시료는 오후 3시경에 대를 베어 예비 탈수한 후 그 다음날 9시경에 대걸기하여 건조하였으며, 분석용 시료는 줄말림 시료와 같이 상위로부터 10 매째 엽만을 채취하였다. 줄말림은 지붕을 슬레이트로 하여 햇볕을 차단한 20평형 음건실에서 실시하고, 대말림은 수평 대말림으로 50평형 대말림실에서 3.3 m<sup>2</sup>당 90~100주가 들어가도록 하였다. 또한 산지조건을 감안한 급건은 15평형 비닐 하우스에서 실시하였다. 분석용 시료는 예비 탈수후 건조시작에서 건조가 완료되는 단계인 25 일까지 5일 간격으로 채취하였으며, 산지 건조조건을 감안한 급건시료는 건조단계를 구분하지 않

고 건조시작 후 17일이 경과하여 건조가 완료된 엽을 채취하였으며 분석에 사용된 시료는 건물중의 함량으로 정량하였다.

### 비휘발성 유기산 및 지방산 함량 분석

비휘발성 유기산 및 지방산은 Court와 Hendel(1978)의 방법에 따라 황산-메탄올로 메틸 에스테르화한 다음 담배성분 분석법(한국인삼연초연구소, 1991)에 준하여 분석하였다. 즉 시료 10 g을 내부 표준용 glutaric acid-메탄올 용액 40 ml와 12% 황산-메탄올 혼합용액 60 ml를 가하여 상온에서 20 시간 진탕시켜 여과한 후 50 ml를 취해 중류수 100 ml와 혼합하여 분액 깔대기에 넣고 클로로포름 10 ml씩 4회 추출하였다. 추출액은 여지(Toyo 5B)에 무수 황산나트륨 3g을 채운 뒤 여과하여 클로로포름으로 50 ml로 맞추어 시료용액으로 하였다. Gas chromatography(GC)는 flame ionization detector(FID)가 장착된 Hewlett-Packard(HP) 5890Ⅱ를 사용하였고 칼럼은 Supelcowax 10 fused silica capillary(30m × 0.25mm, film thickness : 0.25 μm)를 사용하였으며 칼럼온도는 90°C에서 5분간 유지후 230°C까지 분당 8°C로 승온한 다음 230°C에서 30분간 유지하였다. 주입기와 검출기 온도는 230°C로 하였으며 운반기체는 N<sub>2</sub>(1.0 ml/min)를 사용하였고 시료는 1 μl를 주입하였으며 함량은 절대 검량선법으로 정량하였다.

### Polyphenol 함량분석

Polyphenol 화합물은 담배성분분석법(한국인삼연초연구소, 1991)에 준하여 분석하였다. 즉 시료 25 mg에 메탄올 3 ml를 가한 다음 20분간 초음파를 처리하고 내부표준 용액(7-hydroxy coumarin, 200 μg/증류수 2 ml)을 가하여 membrane filter로 여과하여 HPLC로 분석하였다. HPLC는 Waters 510 펌프와 U6K Rheodyne 주입기 및 486형 UV 검출기를 사용하여 340 nm에서 측정하였다. 칼럼은 μ-Bondapak C<sub>18</sub>(3.9 × 30 cm)을 사용하였고 이동상으로 55% 메탄올과 0.1 N KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>를 gradient mode로 하여 분량 1.0ml 유속하에서 분석하였으며 시료는 10 μl를 주입하였고 함량은 표준 품을 사용하여 절대검량선법으로 정량하였다.

### 결과 및 고찰

#### 건조과정에서 비휘발성 유기산, 지방산 및 폴리페놀화합물의 함량 변화

수확 후 건조하기 전의 버어리 생엽에서 양적으로 많이 함유되어 있는 유기산은 malic acid이었고 그 다음으로 citric acid, oxalic acid이었다(Table 1). 줄말립법으로 건조한 잎담배의 전체 유기산 함량은 수확엽에 비해 증가하였고 대말립법으로 건조한 시료 역시 유사한 경향으로 증가하였다. 건조단계별로는 줄말립법과 대말립법에서 공통적으로 oxalic, malonic, fumaric 및 citric acid 함량은 증가하는 반면 succinic, malic 및 ketoglutaric acid 함량은 감소하는 경향을 보였다. 건조과정에서 뚜렷한 변화는 malic acid와 citric acid의 함량변화이며 건조가 진행됨에 따라 malic acid 함량은 급격히 감소하고 citric acid 함량은 증가하였다. 줄말립의 경우 건조시작 후 10일 이전까지 malic acid 함량의 감소 및 citric acid 함량의 증가 현상이 뚜렷하였으며, 대말립의 경우는 줄말립보다 5일 정도가 늦은 15일까지 malic acid와 citric acid 함량의 증감 현상이 지속되었다(Fig. 1). 이와 같은 현상은 Hamilton(1974)이 버어리엽 건조과정에서 malic acid 함량은 감소하고 citric acid 함량은 증가한다고 보고한 결과와 일치하고 있다.

잎담배 건조과정에서 malic acid와 citric acid 함량의 증감은 malic acid가 citric acid로 변환되기 때문으로 판단되는데 malic acid는 oxaloacetic acid로 변한 다음 Krebs cycle에서 acetyl CoA와 반응하여 citric acid로 변환된 것으로 보고되고 있다(Burton and Wright, 1961; Hamilton, 1974; Burton et al., 1983).

지방산은 건조가 진행됨에 따라 급격히 감소하는 경향을 보였다(Table 2). 전체 지방산 함량의 경우 수확 직후의 생엽에서는 21.4 mg/g이었으나 두 건조방법으로 건조한 시료에서 공통적으로 건조 완료 후에는 5.0 mg/g 수준까지 감소하였다. 건조 단계별로는 건조시작 후 10일 이내의 감소폭이 컸으며, 5일 경과시까지의 감소폭은 대말립보다 줄말립에서 컸다(Table 2). 지방산 중에서도 불포화지방산인 linoleic acid와 linolenic acid 함량 감소가

Table 1. The changes of non-volatile organic acid concentration in burley tobacco leaves during air-curing (mg/g)

| Organic acids | HL    | Primed curing(days) |       |       |       |       | Stalk curing(days) |       |       |       |       |
|---------------|-------|---------------------|-------|-------|-------|-------|--------------------|-------|-------|-------|-------|
|               |       | 0                   | 5     | 10    | 15    | 20    | 25                 | 5     | 10    | 15    | 20    |
| Oxalic        | 22.2  | 26.6                | 28.7  | 27.9  | 31.4  | 32.7  | 27.7               | 27.8  | 30.7  | 31.4  | 32.9  |
| Malonic       | 2.0   | 2.6                 | 3.3   | 3.4   | 3.5   | 3.7   | 2.8                | 3.2   | 3.5   | 3.4   | 3.7   |
| Fumaric       | 0.9   | 0.3                 | 0.6   | 0.6   | 0.9   | 1.0   | 0.4                | 0.5   | 0.6   | 0.8   | 1.0   |
| Succinic      | 2.7   | 1.1                 | 0.8   | 0.8   | 0.7   | 0.9   | 2.0                | 1.4   | 1.0   | 0.8   | 0.7   |
| Malic         | 130.5 | 107.3               | 97.9  | 96.6  | 91.5  | 92.9  | 131.9              | 101.9 | 96.6  | 88.0  | 83.5  |
| Citric        | 41.1  | 61.5                | 70.2  | 83.0  | 89.2  | 91.9  | 61.6               | 83.2  | 96.1  | 88.4  | 91.8  |
| Ketoglutaric  | 0.5   | 0.6                 | 0.1   | 0.6   | 0.8   | 0.6   | 0.6                | 0.6   | 0.7   | 0.6   | 0.7   |
| Total         | 199.9 | 200.0               | 201.6 | 212.9 | 218.0 | 223.7 | 227.0              | 218.6 | 229.2 | 213.4 | 214.3 |

\* HL : Harvested leaves

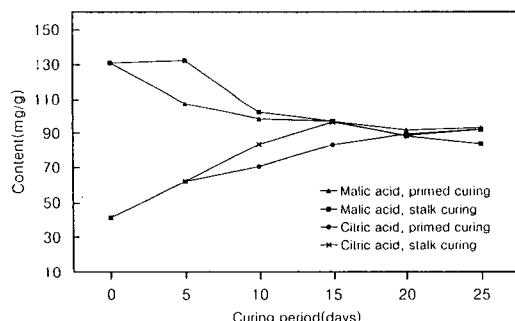


Fig. 1. The changes of malic acid and citric acid contents in burley tobacco leaves during air-curing.

심한 것으로 나타났는데 줄말림 건조과정에서 linoleic acid함량은 5일 이내에 약 50%가 감소하였고, linolenic acid함량은 5일 이내에 약 70%가 감소하였다. 대말림 건조의 경우 줄말림 건조에 비해 건조과정에서 linoleic 및 linolenic acid함량의 감소속도가 늦은 편이었다. Linoleic acid는 분자내에 2개, linolenic acid는 3개의 이중결합을 가지고 있어 비교적 불안정한 물질이면서 식물체내에서는 지방산 산화효소인 lipoxygenase에 의해 hydroperoxide를 생성한 다음 hydroperoxide lyase에

의해 분해되어 끗냄새를 지니는 저급의 C<sub>6</sub> aldehyde나 C<sub>6</sub> alcohol을 생성하는 것으로 알려져 있다(Hatanaka, 1979; Wahlberg *et al.*, 1977). 또한 건조 초기단계에 linolenic acid함량의 감소폭이 큰 것은 식물체에 존재하는 lipoxygenase와 hydroperoxide lyase의 활성이 30~40°C 부근에서 최대치에 도달하고 수분감소와 함께 효소활성이 급격히 감소하기 때문에 이 기간에 관련 효소의 작용을 받아 감소 폭이 커울 것으로 판단된다(Sekiya *et al.*, 1984; Sekiya, 1985).

한편 건조한 버어리업 고유의 갈색색소 형성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 polyphenol류로서 양적으로 많이 함유된 화합물은 chlorogenic acid, neochlorogenic acid 및 rutin 이었다(Fig. 2). Chlorogenic acid와 neochlorogenic acid 함량은 건조 초기단계부터 감소하기 시작하여 줄말림의 경우 10일이 경과했을 때에는 거의 검출되지 않았다. 대말림의 경우는 줄말림보다 약간 늦은 15일 경과한 시점에서 chlorogenic acid가 검출되지 않았다. Rutin함량은 건조시작부터 건조가 완료되는 단계까지 지속적으로 감소하여 25일 경과 후 건조가 완료된 시점을 기준으로 비교했을 때 줄말림에서는 수확엽에 비해 약 49%가 감소하였고, 대말림에서는 64%가 감소하였다(Fig. 2).

버어리엽 건조과정에서 비휘발성 유기산, 지방산 및 폴리페놀화합물의 함량변화

Table 2. The changes of fatty acid concentration in burley tobacco leaves during air-curing (mg/g)

| Organic acids | HL | Primed curing(days) |     |     |     |     | Stalk curing(days) |      |     |     |     |
|---------------|----|---------------------|-----|-----|-----|-----|--------------------|------|-----|-----|-----|
|               |    | 0                   | 5   | 10  | 15  | 20  | 25                 | 5    | 10  | 15  | 20  |
| Palmitic      |    | 4.8                 | 2.1 | 1.5 | 1.6 | 1.4 | 1.4                | 2.8  | 1.8 | 1.4 | 1.4 |
| Heptadecanoic |    | 0.2                 | 0.2 | 0.3 | 0.2 | 0.3 | 0.3                | 0.3  | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| Stearic       |    | 0.3                 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.4                | 0.4  | 0.4 | 0.3 | 0.4 |
| Oleic         |    | 0.2                 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.3 | 0.3                | 0.2  | 0.2 | 0.2 | 0.3 |
| Linoleic      |    | 2.6                 | 1.3 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8                | 1.7  | 0.9 | 0.8 | 0.7 |
| Linolenic     |    | 13.0                | 4.0 | 1.7 | 1.8 | 1.5 | 1.5                | 5.9  | 2.8 | 1.7 | 1.6 |
| Arachidic     |    | 0.3                 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.3                | 0.4  | 0.4 | 0.2 | 0.3 |
| Total         |    | 21.4                | 8.5 | 5.2 | 5.3 | 5.0 | 5.0                | 11.7 | 6.8 | 4.9 | 4.9 |
|               |    |                     |     |     |     |     |                    |      |     |     | 5.0 |

\* HL : Harvested leaves

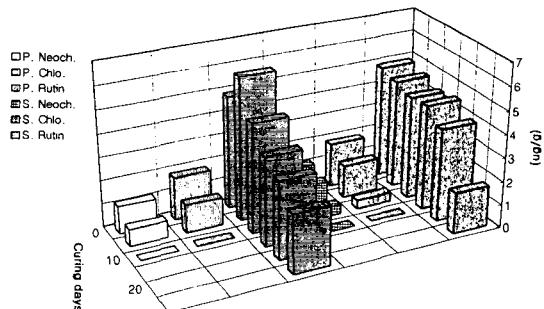


Fig. 2. The changes of polyphenolic compounds in burley tobacco leaves during air-curing.

\* P : primed curing, S : stalk curing

#### 건조방법별 비휘발성 유기산 및 지방산 함량 비교

국내의 경우 버어리종의 대부분은 줄말림법으로 건조하여 왔고 최근에 국내 기후조건을 감안한 대말림 건조법이 개발되어 일부 농가에 보급되고 있다. 그러나 일부 산지에서는 건조기간을 단축시키기 위하여 급건조함으로서 내용성분의 분해나 향미 발현이 불충분하여 품질이 저하되는 원인이 되고 있다.

따라서 버어리엽을 수확 후 건조방법을 달리하여 건조한 엽종의 주요 비휘발성 유기산과 지

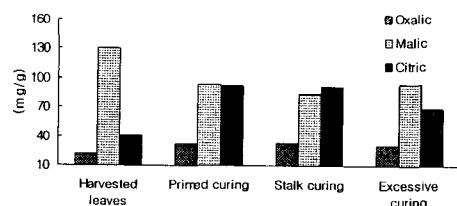


Fig. 3. The effects of curing methods on oxalic, malic and citric acid contents in burley tobacco leaves.

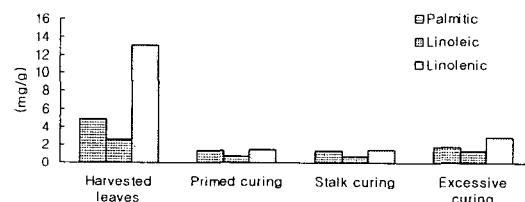


Fig. 4. The effects of curing methods on palmitic, linoleic and linolenic acid contents in burley tobacco leaves.

방산 함량을 분석한 결과는 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다.

Fig. 3에서 건조를 위하여 수확한 생엽을 기준으로 판단할 때 malic acid의 감소량은 대말림이

가장 크고 급건엽이 가장 적었다. 반면에 citric acid의 증가량은 대말림에서 가장 크고 급건엽에서 가장 적었다. 지방산에 있어서도 역시 불포화 지방산인 linoleic acid와 linolenic acid 함량은 줄말림과 대말림 시료에서는 유사한 수준으로 감소하였으나 급건 시료에서는 줄말림과 대말림의 경우보다 높았다. 이러한 결과는 버어리엽의 건조 과정에서 비휘발성 유기산이나 지방산의 생화학적 대사가 줄말림이나 대말림에 비해 급건엽에서는 원활하게 이루어지지 않기 때문인 것으로 판단된다.

## 결 론

본 연구에서는 버어리엽 품질개선을 위한 기초자료로 활용할 목적으로 버어리엽을 줄말림과 대말림법으로 건조하는 과정에서 비휘발성 유기산과 지방산 및 polyphenol화합물의 함량을 분석하고, 아울러 건조방법이 버어리엽 중 비휘발성 유기산과 지방산 함량변화에 미치는 영향을 조사하였다. 총 비휘발성 유기산 함량은 수확엽과 건조완료간에 큰 차이는 없었으나 양적으로 많이 함유된 malic acid함량은 건조과정에서 감소한 반면 citric acid함량은 오히려 증가하였으며, 건조완료후 malic acid함량의 감소와 citric acid함량의 증가폭은 줄말림엽보다 대말림엽이 컸다. 총 지방산 함량은 수확 직후 21.5 mg/g에서 건조완료시에는 두 가지 건조방법에서 모두 5 mg/g 수준으로 감소하였고 특히 건조시작 후 5~10일 경과시에 감소폭이 커으며, 포화 지방산보다는 특히 불포화 지방산인 linoleic acid 및 linolenic acid함량의 감소폭이 뚜렷하였다. 폴리페놀 화합물인 rutin함량은 건조와 함께 급격히 감소하여 건조완료시 줄말림엽은 수확엽에 비해 49%, 대말림엽은 64%가 감소하였고 chlorogenic acid함량은 두 건조방법에서 모두 건조시작 후 15일이 경과한 시점에서 대부분이 소실되었다. 이러한 결과는 건조방법이 버어리엽의 성분변화에 크게 영향을 미치고 있음을 나타내며, 특히 급건은 급격한 탈수와 높은 온도로 인해 줄말림이나 대말림에 비해 내용성분의 분해, 대사가 원활하게 이루어지지

않음으로서 품질악화의 원인으로 작용하고 있는 것으로 판단된다. 따라서 버어리엽 건조는 대말림이나 충분한 차광하에서 서서히 curing과정에 따라 줄말림하여 건조함으로서 양질의 버어리종 잎담배를 생산 할 수 있을 것이다.

## 참 고 문 헌

- 김찬호, 나효환, 박영수, 한상빈, 이문수, 이운철, 김용옥, 복진영, 안기영, 김용하, 백순옥, 장기철, 지상운(1991) 담배성분분석법, p.118-122, 한국인삼연초연구소.
- Burton, W. R. and H. E. Wright, Jr.(1961) Burley tobacco: The effects of harvesting and curing procedures on the composition of the cured leaf. *Tob. Sci.*, 5:49-53.
- Burton, H. R., L. P. Bush and J. L. Hamilton. (1983) Effect of curing on the chemical composition of burley tobacco. *Rec. Adv. Tob. Sci.*, 9:91-153.
- Court, W. A., M. R. Binns and J. G. Hendel, (1983) Examination of the influence of curing and stalk position on the phenolic constituents of flue-cured tobacco. *Tob. Sci.*, 27:51-55.
- Hamilton, J. L. (1974) Changes during curing of burley tobacco. Ph D Thesis. University of Kentucky.
- Hatanaka, A. (1979) Study on the organic chemistry and biochemistry of the mechanism produced characteristic flavors in plants. *Koryo*, 125:11-18.
- Mendel, S., E. C. Bourlas and M. Z. Debardeleben. (1984) Factors influencing tobacco leaf quality: An investigation of the literature. *Beitr. Tabakforsch.*, 12(3):153-167.
- Peele, D. M., D. A. Danehower and D. A. Goins. (1995) Chemical and biochemical changes during the flue-curing of tobacco. *Rec. Adv. Tob. Sci.* 21:81-133.
- Schlotzhauer, W. S. and O. T. Chortyk. (1981)

- Pyrolytic studies on the origin of phenolic compound in tobacco smoke. *Tob. Sci.* 25:6-10.
- Sekiya, J., T. Kajiwara and A. Hatanaka. (1984) Seasonal changes in activities of enzyme responsible for the formation of C<sub>6</sub>-aldehyde and C<sub>6</sub>-alcohols in tea leaves and the effects of environmental temperature on the enzyme activities. *Plant & Cell Physiol.*, 25(2):269-273.
- Sekiya, J. (1985) Studies on shoot differentiation in higher plants and flavor formation in green leaves. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 59(11):1161-1165.
- Tso, T. C. (1990) Production, physiology and biochemistry of tobacco plants. *IDEALS, Inc.* Maryland. USA. pp. 615-634.