

## 버어리엽의 열처리 과정에서 Polyhydroxyalkylpyrazine류 생성에 대한 당류 첨가의 영향

김도연 · 이문용 · 이경순 · 김영희\*

한국인삼연초연구원  
(1997년 11월 28일 접수)

### Effect of Added Sugars on the Generation of Polyhydroxy- alkylpyrazines during Toasting of Burley Tobacco Leaves

Do-Yeon Kim, Moon-Yong Lee, Kyung-Soon Lee and Young-Hoi Kim\*

*Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea.*

*(Received November 28, 1997)*

**ABSTRACT** : Nonvolatile polyhydroxyalkylpyrazines(PHAPs) are known to degrade volatile pyrazine compounds having positive aroma and sensory attributes during cigarette smoking. In this paper, the content of PHAPs in burley tobacco leaves toasted to different levels as temperature and time study were determined by high performance liquid chromatography, and was also investigated effects of added sugars, sucrose, glucose or fructose, on the generation of PHAPs during toasting. The addition of glucose or fructose as casing sauce in burley tobacco leaves resulted in significant increases, especially 2,6-deoxyfructosazine from glucose added leaves and 2,5-deoxyfructosazine from fructose added leaves, in generation of PHAPs during toasting, while control and sucrose added leaves did not observed in generation of PHAPs. Formation rates of PHAPs in glucose or fructose added tobacco leaves, but not sucrose, showed a strong dependence on both toasting temperature and time.

**Key words** : Burley tobacco leaves, polyhydroxyalkylpyrazines, toasting, sugars

버어리 잎담배는 황색종 잎담배와 함께 미국형 담배(American blend)를 제조하는데 사용되는 중요한 원료종의 하나이다. 그러나 버어리 잎담배는 황색종과는 달리 흡연과정에서 자극적인 맛과 향을 생성하기 때문에 특수 가공처리를 하게 되는데 그 중 대표적인 것이 열처리(toasting) 공정이다. 열처리 공정은 버어리 잎담배가 지니고 있는 향각미에 좋지 않은 성분들은 최대한 휘산시켜 제거하거나

향각미에 유용한 성분들로 전환시키는 과정이라고 할 수 있다. 이 과정에서 일어나는 대표적인 반응으로서는 당류의 카라멜화(caramelization)와 당류와 질소화합물간에 일어나는 메일라아드 반응(Maillard reaction)을 들 수 있는데, 이 반응을 촉진시킬 목적으로 각종 당류나 당류와 아미노산류가 많이 함유된 각종 천연 추출물을 사용하게 된다(Samfield, 1984; Sasaki, 1991). 특히 원료 잎담

\* 연락처 : 305-345, 대전광역시 유성구 신성동 302, 한국인삼연초연구원

\* Corresponding author : *Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Sinseong-Dong, Yuseong-Ku, Taejon 305-345, Korea*

배나 연기중에서 발견되는 질소 화합물중의 많은 부분이 메일라이드 반응에 의해 생성되는 것으로 알려져 있는데 그 중에서도 대표적인 것이 원료 잎담배나 제품의 흡연시에 구수한 향취를 발현하는 pyrazine 화합물들이다(Leffingwell, 1976). Bright 등(1975)은 잎담배를 120℃에서 4 시간 열처리 했을 때 아미노산류는 유의적으로 감소하는 반면 휘발성 pyrazine류의 함량은 급격히 증가한다고 보고하였고, Shigematsu 등(1976)은 잎담배의 품질과 관련하여 중요시되고 있으면서 메일라이드 반응의 중간 생성물인 아마도리 화합물(Amadori compound)을 열분해하게 되면 휘발성의 헤테로고리 화합물들이 증가하는데 그 중에서도 대표적인 것이 pyrazine류라고 보고한 바 있다.

한편 당류와 질소화합물을 반응시키게 되면 휘발성의 pyrazine류 이외에도 비휘발성의 pyrazine이면서 fructosazine이라고도 불리워지고 있는 polyhydroxyalkylpyrazine류(PHAPs)도 생성되는 것으로 알려져 있다. Tsuchida 등(1973)은 암모니아와 당류의 반응액으로부터 deoxyfructosazine류를 분리하여 구조를 동정한 바 있으며 이외에도 melanoidin 가수분해물(Tsuchida 등, 1975), fructose와 유기산 암모늄 염의 반응물로부터 deoxyfructosazine류를 확인한 바 있다(Tsuchida 등, 1976). 또한 잎담배중에 존재하는 PHAPs와 관련하여 4종의 fructosazine 유도체가 분리 확인되어 있는데 이 성분들 자체는 비휘발성이면서 향기를 지니고 있지 않으나 담배를 흡연시 열분해되어 휘발성의 각종 pyrazine화합물을 생성하기 때문에 중요시되고 있다(Shigematsu와 Kitami, 1981; Hardt와 Baltes, 1988). 이와같이 잎담배중에 PHAPs의 존재가 오래 전에 알려져 있으나 잎담배의 가공과정에서의 생성기작이나 열처리 과정에서 생성여부 등에 대해서는 구체적으로 밝혀져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 국내산 버어리 잎담배의 품질향상을 목적으로 국내외산 제품중의 PHAPs의 함량을 비교 분석하고 버어리 잎담배의 열처리 과정중 열처리 온도와 시간 및 당류 첨가가 PHAPs의 생성에 미치는 영향을 조사하여 그 결과를 보고한다.

## 재료 및 방법

### 시약

표준품인 2,5- 및 2,6-deoxyfructosazine는 Tsuchida 등의 방법(1976)에 따라 제조하여 사용하였다. 즉 glucose 또는 fructose와 ammonium formate를 함유하는 수용액을 100℃에서 30분간 반응시킨 다음 이온교환 수지(Dowex 50 x 4, H<sup>+</sup> 형)를 이용한 칼럼 크로마토그래피에 의해 분리하였으며, 분리품은 기기분석 및 문헌에 보고된 분석결과와 비교에 의해 구조를 확인하였다(Tsuchida 등, 1976, 1978; Shigematsu와 Kitami, 1981). 2,5-Fructosazine은 Sigma제를 구입하여 사용하였으며 기타 시약은 시판 특급을 사용하였고, HPLC용 용매는 Merck제를 사용하였다.

### 시료조제 및 추출

제조담배는 국내에서 시판되고 있는 제품을 구입하여 사용하였고, 버어리 잎담배는 표준 건조법으로 건조한 1994년 전주산 Burley-21 후엽 1등을 사용하였다. 버어리 잎담배에는 당류로서 glucose, fructose 또는 sucrose가 각각 8%, 수분은 34%±2%가 함유되도록 첨가한 다음 밀폐된 용기에 넣어 실온에서 24 시간 조화시켜 분석시료로 하였다. 열처리 기기는 rapid moisture tester(독일 Brabender 제)를 사용하였다. 즉 직경 8.4cm의 알루미늄제 용기에 시료 5g을 넣은 다음 120℃, 140℃ 및 160℃에서 일정시간씩 열처리하였다. PHAPs의 추출은 16 mesh 이하로 분쇄한 시료 2g에 70% 메탄올 수용액 50ml를 가한 다음 50℃에서 20분씩 2회 초음파처리한 후 여과하였다. 이어서 여과액 20ml를 취하여 감압농축한 다음 증류수 20ml로 희석하였다. 희석액은 dichloromethane (20ml x 3회)으로 추출하여 탈지시킨 다음 감압농축하였다. 잔사는 다시 증류수 4ml에 용해시킨 다음 HPLC 분석용 시료로 하였다.

### 분석

HPLC 기기는 Waters U6K Rheodyne injector 및 Model 510 pump를 사용하였다. 칼럼은 Water 제 Carbohydrate Analysis(3.9mm x 30cm)를 사용하였으며, 용매는 85% acetonitrile 수용액을 사용하였다. 검출기는 UV 검출기를 사용하여 275nm에서 분석하였으며, 감도는 1.00 AUFS로 하여 20ul

를 주입하였다. 각 성분은 표준품을 사용한 절대검량선법에 의해 정량하였다.

### 결과 및 고찰

#### 제조담배종의 PHAPs 분석

제품중의 PHAPs 함유량을 조사하기 위하여 국내에서 시판되고 있는 국내산 제품 2종, 미국산 제품(F-1 및 F-2) 2종 및 일본산 제품(F-3) 1종을 수집하여 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. HPLC chromatogram에서 검출된 4개의 peak중 peak 1과 2는 제조담배로부터 분리후 기기분석 결과 및 문헌상에 보고된 분석자료와 비교했을 때 peak 1은 2,6-deoxyfructosazine, peak 2는 2,5-deoxyfructosazine로 확인되었으며, peak 4는 TMS 유도체의 EI-MS 분석결과 및 표준품과의 머무름 시간 비교에 의해 2,5-fructosazine으로 확인되었다. 또한 peak 3은 UV의 275nm에서 검출되는 점과 문헌에서 보고된 HPLC 분석결과와 유사한 패턴으로 분리되는 것으로 보아 2,6-fructosazine으로 판단되나(Heckmann 등, 1981) 보다 정확한 물질구조 구명을 위한 추가 연구가 필요하다고 할 수 있다. 또한 HPLC에 의해 5개 제품중의 PHAPs 함유량을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 5종의 제품에서 공통적으로 deoxyfructosazine이 많이 검출되었으며 fructosazine은 양적으로도 적게 함유되어 있을뿐 아니라 국내산 2개 제품과 일본산 제품에서는 거의 검출되지 않았다. 따라서 본 실험에서 사용한 제품만으로 본다

면 외산의 2개 제품은 국내산 2개 제품이나 일본산 제품에 비해 PHAPs의 함유량이 약 1.5-2배 정도 많이 함유되어 있었는데 이와같은 차이는 사용 원료나 원료 가공방법의 차이에 기인하거나 또는 이러한 화합물을 인위적으로 첨가하였기 때문으로 판단된다.

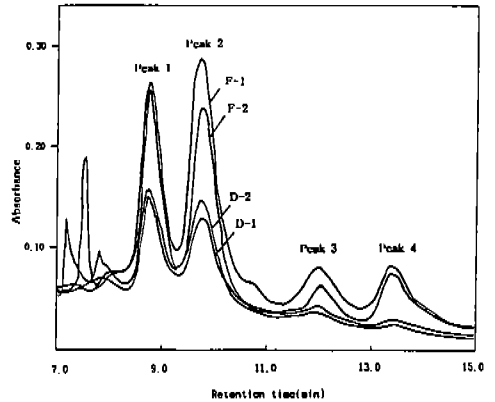


Fig. 1. HPLC profiles of 70% methanol extracts of domestic and foreign commercial cigarette brands.

#### 당류 첨가효과

국내외산 제조담배의 분석결과에서 국내산 제품과 외산제품간에 PHAPs 함량이 차이를 보이는 원인을 구명할 목적으로 버어리 잎담배의 열처리 과정에서 당류 첨가가 PHAPs의 생성에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 당류를 첨가 하

Table 1. Content of PHAPs in domestic and foreign commercial brands

PHAPs	Domestic		Foreign		
	D-1	D-2	F-1	F-2	F-3
2,5-Deoxyfructosazine	521	622	921	758	573
2,6-Deoxyfructosazine	563	496	908	793	539
2,5-Fructosazine	- <sup>a)</sup>	-	350	188	-
2,6-Fructosazine	-	-	154	125	-
Total	1,084	1,118	2,333	1,864	1,112

a) Not detected, unit : ppm

지 않거나 sucrose를 첨가후 140℃에서 20분간 열처리 한 시료에서는 PHAPs가 미량으로 생성되었으나 glucose와 fructose 첨가구에서는 생성량이 급격히 증가하였다. 특히 glucose 첨가구에서는 2,6-deoxyfructosazine이, fructose 첨가구에서는 2,5-deoxyfructosazine이 뚜렷하게 많이 생성되는 경향을 보였는데 이러한 차이는 두 성분의 생성기작이 서로 다르다는 것으로도 해석할 수 있다. 지금까지 문헌상에 보고된 자료에 의하면 deoxyfructosazine류는 당당류에서 유도된 3-deoxyglucosone과 glucosamine 및 암모니아가 반응하여 생성되고, fructosazine은 메일라아드 과정에서 생성된 kletosamine 2분자가 축합되어 생성되는 것으로 알려져 있으나 (Tsuchida등, 1973, 1976; Magaletta와 Ho, 1996) 잎담배의 열처리과정에서 PHAPs의 생성기작에 대해서는 명확하게 밝혀져 있지 않다.

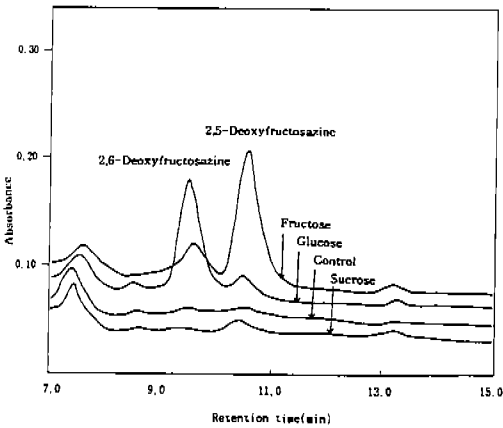


Fig. 2. HPLC profiles of 70% methanol extracts of toasted burley tobacco leaves after sugar addition.

**열처리 조건의 영향**

건조를 완료한 버어리엽에는 당류가 거의 함유되어 있지 않은 반면 질소화합물은 많이 함유되어 있어 이를 흡연시 연기의 pH가 약 알칼리성을 띠고 있기 때문에 자극성이 강한 것으로 알려져 있다. 따라서 버어리엽의 pH를 중화시키고 열처리과정에서 메일라아드 반응을 촉진시키기 위하여 각종 당류나 당이 많이 함유된 천연 추출물을 사용하는 것이 오래전부터 알려져 왔다(Samfield, 1984;

Kaneko, 1980; Sasaki, 1991). 따라서 본 실험에서 버어리 잎담배에 glucose 또는 fructose를 첨가한 다음 120℃ ~ 160℃에서 40분까지 열처리 하면서 경시적으로 전체 PHAPs 생성량을 비교한 결과는 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다. Fig. 3에서 glucose 첨가에 의한 PHAPs의 생성량의 경우 120℃에서 열처리 했을때에는 열처리 시간이 길어질수록 지속적으로 증가하였으나 140℃에서 처리구는 20분 경과시에 최대치에 도달한 다음 그 이후는 감소하는 경향을 보였으며, 160℃에서는 10분 경과시에 최

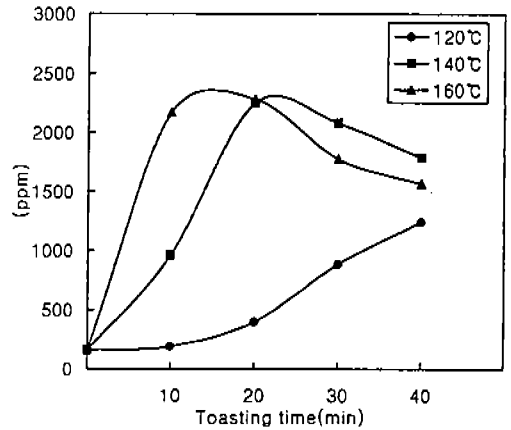


Fig. 3. The effect of added glucose on the generation of total PHAPs during toasting.

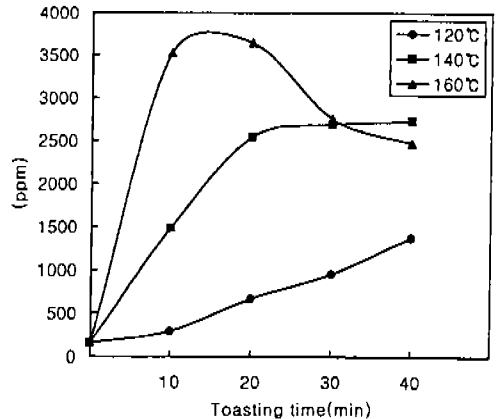


Fig. 4. The effect of added fructose on the generation of total PHAPs during toasting.

대치에 도달한 다음 감소하는 경향을 보였다. 또한 Fig. 4에서 fructose 첨가구의 경우 처리시간별 PHAPs의 생성량은 glucose첨가구와 유사한 경향으로 온도가 높을수록 PHAPs 생성의 최대치에 도달하는 시간이 짧아지는 경향을 보였다. 두 종류의 당 첨가에 따른 PHAPs의 생성은 fructose 첨가구가 glucose 첨가구에 비해 많았으며, 특히 온도가 높아질수록 이러한 차이는 보다 커지는 경향을 보였다.

한편 glucose 첨가에 의한 2,6-deoxyfructosazine 생성량과 fructose 첨가에 의한 2,5-deoxyfructosazine 생성량을 분석한 결과는 각각 Fig. 5 및 Fig. 6과 같다.

120℃에서 열처리 할 경우에는 두 종의 당류 첨

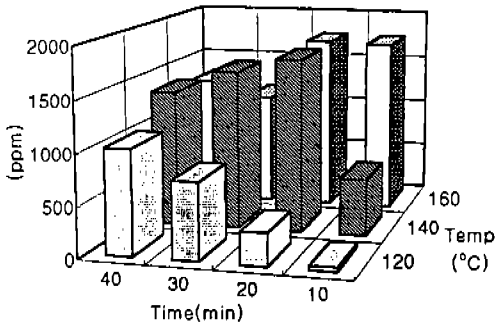


Fig. 5. 3-dimensional plot of 2,6-deoxyfructosazine generation as a function of toasting temperature and time after glucose addition.

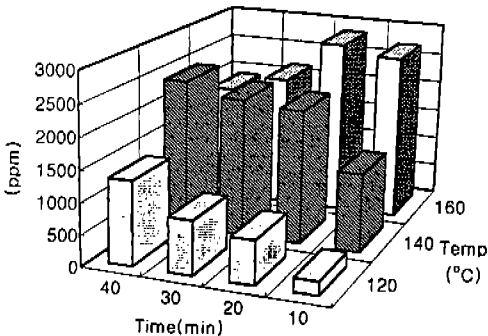


Fig. 6. 3-dimensional plot of 2,5-deoxyfructosazine generation as a function of toasting temperature and time after fructose addition.

가구에서 모두 처리시간이 경과할수록 지속적으로 증가하였으며, 140℃에서 열처리 할 경우 glucose 첨가구는 20분 경과시 최대치에 도달한 다음 그 이후는 감소하는 경향을 보였으나 fructose 첨가구는 20분 경과시에 최대치에 도달한 다음 그 이후는 큰 변화가 없었다. 반면에 160℃에서 열처리할 경우는 두 종의 당류 첨가구에서 모두 10분 이내에 최대치에 도달한 다음 그 이후는 급속히 감소하는 경향을 보였다. 본 실험 결과에서 첨가된 당의 종류나 열처리 온도 및 시간에 따라 생성되는 PHAPs의 종류나 생성량에 많은 차이를 나타내는 것으로 밝혀졌기 때문에 앞으로 당류의 첨가량이나 열처리 조건 및 잎담배에서 PHAPs의 생성기작에 대한 보다 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 판단된다.

## 결론

버어리 잎담배의 열처리(toasting) 과정에서 당류 첨가가 polyhydroxyalkylpyrazine류(PHAPs) 생성에 미치는 영향을 조사하였다. 당을 첨가하지 않은 잎담배나 sucrose 첨가구에서는 PHAPs가 미량 생성되었으나 glucose 첨가구에서는 2,6-deoxyfructosazine, fructose 첨가구에서는 2,5-deoxyfructosazine이 특징적으로 많이 생성되었다. 120℃에서 40분간 열처리할 경우는 glucose 또는 fructose 첨가구에서 공통적으로 2,6- 또는 2,5-deoxyfructosazine의 생성량이 처리시간이 길어질수록 지속적으로 증가하였으나 140℃에서는 20분 경과후에 그리고 160℃에서는 10분 경과시에 생성량이 최대치에 도달한 다음 그 이후에는 감소하는 경향을 보였다. 양적으로는 glucose 첨가에 의한 2,6-deoxyfructosazine 생성량 보다는 fructose 첨가에 의한 2,5-deoxyfructosazine의 생성량이 많은 경향을 보였다.

## 참고 문헌

- Bright, M. N., T. M. Larson and C. I. Lewis (1975) Analytical method for determination of pyrazine and alkyl pyrazines in shredded tobacco. 29th TCRC, College Park, Maryland. Oct. 8-10.

- Hardt, R. and W. Baltes (1988) Curie-point pyrolysis-capillary gas chromatography-mass spectrometry of polyhydroxyalkylpyrazines. *J. Anal. Appl. pyrolysis* 13:191-198.
- Heckman, R. A., M. F. Dube, D. Lynn and J. M. Rivers (1981) The role of tobacco leaf precursors in cigarette flavor. *Rec. Adv. Tob. Sci.* 7:107-152.
- Kaneko, H. (1980) Tobacco leaf components and tobacco flavoring. *Koryo* 128:23-33.
- Leffinglell, J. C. (1976) Nitrogen compounds of leaf and their relationship to smoking quality and aroma. *Rec. Adv. Tob. Sci.* 2:1-31.
- Magaletta, R. L. and C. T. Ho (1996) Effect of roasting time and temperature on the generation of nonvolatile (polyhydroxyalkyl) pyrazine compounds in peanuts, as determined by high performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 44:2629-2635.
- Samfield, M. (1984) The casing and flavoring of cigarettes. *TJI* 5:380-384.
- Sasaki, N. (1991) Tobacco. *Koryo* 170(6):215-224.
- Shigematsu, H., S. Shibata, T. Kurata, H. Kato and M. Fujimaki (1977) Thermal degradation products of several Amadori compounds. *Agric. Biol. Chem.* 41:2377-2385.
- Shigematsu, H. and H. Kitami (1978) Identification of polyhydroxypyrazines in tobacco leaves and tobacco flavor prepared by sugar-amine reaction. *Sci. Papers Cent. Res. Inst. Japan Tobacco & Salt Publ. Corp.* 120:7-14.
- Tsuchida H., M. Komoto, H. Kato and M. Fujimaki (1973) Formation of deoxyfructosazine and its 6-isomer on the browning reaction between glucose and ammonia in weak acidic medium. *Agric. Biol Chem.* 37:2571-2578.
- Tsuchida H., M. Komoto, H. Kato and M. Fujimaki (1975) Isolation of deoxyfructosazine and its 6-isomer from the nondialyzable melanoidin hydrolyzate. *Agric. Biol Chem.* 39:1143-1148.
- Tsuchida H., S. Tachibana, K. Kitamura and M. Komoto (1976) Formation of deoxyfructosazine and its 6-isomer by the browning reaction between fructose and ammonium formate. *Agric. Biol. Chem.* 40:921-925.
- Tsuchida, H., K. Kitamura and M. Komoto (1978) Gas liquid chromatography and mass spectrometry of trimethylsilyl ethers and butaneboronate-trimethylsilyl derivatives of polyhydroxyalkylpyrazines. *Carbohydr. Res.* 67:549-563.