Journal of the Korean Society of
Tobacco Science. Vol.11. No.2 (1989)
Printed in Republic of Korea.

황색종 잎담배의 숙성에 따른 아미노산의 조성

이 미 자 · 조 대 휘 · 이 상 하

한국인삼연초연구소 담배제조부

Amino Acid Composition of Flue-cured Leaf Tobacco before and after the Aging

M.J. Lee, D.H. Cho and S.H. Lee

Division of Tobacco Manufacturing, Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Daejon, Korea

(Received Oct. 19, 1989)

Abstract

The amino acid content and constitution of domestic flue-cured tobacco before and after the aging were investigated.

The major amino acids of domestic flue-cured tobacco were histidine, serine, aspartic acid and proline and leucine, isoleucine and qlycine were minority in them.

Phenylalanine was the most changeable components through the aging.

While the contents of tryptophan, serine and proline which have herbaceous, harsh and bitter taste and aroma in smoke were reduced, tyrosine which adds smoothing and enhances smoke aroma was increased after the aging.

The leaf tobacco aged at 40℃ for 30days had a amino acid composition as good as leaf tobacco storaged in natural condition for 2 years.

서 론

담배의 향기와 맛에 영향을 주는 성분은 매우 많지만 크게 alkaloids, carbohydrates, 아미노산, 아미노산-당의 복합체, 휘발성 유지류, 가로틴계 화합물, heterocyclic compounds, 방향족 알콜류, 유기산들을 꼽을 수 있다.[1] 이들중 어느것도 과대평가 할 수 없고 모든 성분들이 조화를 이룰 때 비로서 담배의 제맛을 살릴 수 있으나 필지등은 황색종 잎담배의 조기숙성에 관한 연구중, 잎담배의 아미노산 조성이 숙성이 진행됨에 따라 달라지고 이것이 결국 담배의 완숙한 맛에 적지 않은 영향을 미치는 결과를 얻을 수 있었다.

잎담배중의 아미노산과 단백질은 생화학적으로 중요한 성분으로써 일단은 성장과정중 Krebs cycle의 전이산물로써 생성되어 건조와 숙성, 담배제조 공정 및 끽연시 열분해를 거치면서 변화를 받게 된다. 44종의 아미노산이 잎담배중에 존재하고 이중 15성분이 연기성분중에서 검출되었다.[2]

Tomita등[3], Cousin[4], Leffingwell[2], Reynolds[5]는 숙성중 아미노산과 환원당의 상호작용과 분해 및 이들이 미치는 관능효과에 대하여 보고하였고 Hertz[6]는 당과 아미노산 화합물이 열분해에 의해 특유의 향기를 생성시킨다고 밝혔다. Dixon등[7]과 Frankenburg[8]는 2~3년의 자연숙성을 통하여 20~30%의 아미노산 감소가 있다고 하였다.

이에 국내산 황색종 후, 박, 2,4등급의 주요 아미노산을 분리정량하고 인공숙성과 자연숙성 전후의 변화를 추적하였다.

재료 및 방법

1. 잎 담 배

NC.82 ('87년산) 후엽 2등(B_2O), 박엽 2등(C_2L), 후엽 4등(AB_4OR), 박엽 4등(CD_4L)의 잎담배를 인공숙성은 40℃, 함수분 12%, RH 80%의 조건으로 30일간 실시하였고 대조구로써 숙성시키지 않은 동일 잎담배와 2년 자연저장, 숙성된 잎담배를 사용하였다.

2. 아미노산의 분석

분쇄한 시료 3 g을 정확히 취하여 60% 에탄올 100 ml를 가하여 환류냉각 추출장치로 20분 동안 추출한 후 동양여지 No.5B에 여과하여 잔사를 100 ml의 60% 에탄올로 씻고 다시 20분 동안 추출, 여과하였다. 약 50 ml의 60% 에탄올로 잔사를 씻고 잔여액과 함께 40℃에서 감압농축하였다. 20~30 ml 정도로 농축되면 동량의 benzen을 가하여 2회 분획, 탈지하고 40℃로 다시 감압농축 후 5 ml의 0.2 N Sodium citrate buffer soln. (pH 2.2)에 녹여 전량을 10 ml 되도록 하였다. 10,000 rpm으로 10분 동안 원심분리하여 얻은 상등액을 0.1%의 TFA 등으로 전처리 한 SepPak C18으로 정제하여 분석시료로 사용하였다.

o 아미노산 자동분석기의 조건

Instrument : Amino acid analyzer (LKB 4150 Alpha)
Column : Ultrapac-Ⅱ Cation exchange resin
Intergrator : LKB 2380
Standard : Authentic standard amino acids
Injection volum : 30 μl

결과 및 고찰

1. 아미노산의 조성

잎담배 중의 아미노산 및 아미노산-당의 복합체는 끽연시 열분해 되어 각각 특이한 맛을 내므로 담배의 향취에 영향을 미친다. 44종의 아미

노산이 잎담배중에 존재하며 연기성분으로 부터 α, β-alanine, glutamine, glutamic acid, γ-aminobutyric acid, asparagine, glycine, aspartic acid, leucine, ornithine, phenylalanine, proline, serine, threonine, valine의 15성분이 검출되었다.[2] 이중 황색종의 주된 아미노산은 proline, asparagine등으로 알려졌는데[1] Fig. 1과 Table 1에서 볼 수 있는 것과 같이 국내산 황색종으로 부터 검출된 주요 아미노산은 histidine의 13종으로 나타났다. Koiwai 등[10]이 황색종으로 부터 histidine을 분리정량한 바 있으나 근년의 황색종 잎담배에 histidine의 함량이 현저히 높고 serine의 함량이 proline보다 많은 점은 새로운 사실이었다.

아미노산의 함량에 영향을 미치는 인자들인 일조량, 성장시기 및 기간, 생리적 장해, 병, 영양상태등이 식물체의 단백질과 아미노산의 생합성에 직접 관여하며 그후 건조와 저장을 거치는 동안 단백질 분해 및 성분간의 interconversion, decarboxylation, oxidative deamination, deamination-decarboxylation에 의하여 조성이 변하므로 획일적으로 논하기는 어려우나 품종에 따라 그 조성의 차이는 명백히 밝혀졌다.[9] 총아미노산의 함량의 등급간의 차이는 없었으나 박엽보다 후엽에 높게 나타난 점은 잎의 두께가 유리아미노산의 함량에 영향을 준다는 Burde등[11]의 이론으로 설명될 수 있다. Leucine, isoleucine, glycine은 미량의 유리 아미노산으로 나타났는데 이들은 품종에 관계없이 소량성분인것으로 알려졌다.[9]

Table 1. Free Amino Acids Content of Flue-cured Leaf Tobacco, AB_4OR and CD_4L, before and after the Aging.

(㎎/g)

Amino acids	AB_4OR Before aging	AB_4OR Aged, 40℃, 30 days	AB_4OR Aged 2 years	CD_4L Before aging	CD_4L Aged, 40℃, 30 days	CD_4L Aged*** 2 years
Aspartic acid	0.94	0.54	0.27	0.94	0.47	0.19
Serine	2.47	1.98	1.50	2.45	1.74	1.06
Glutamic acid	0.58	0.22	0.15	0.59	0.21	0.12
Proline	0.38	0.44	0.36	0.38	0.28	0.49
Glycine	0.03	0.02	trace**	0.04	trace	N.D.*
Alanine	0.55	0.26	0.25	0.56	0.23	0.25
Valine	0.19	0.09	0.07	0.18	0.10	0.04
Iso leucine	0.05	trace	trace	0.05	trace	trace
Leucine	0.02	trace	trace	0.02	trace	trace
Tyrosine	0.14	0.47	0.39	0.14	0.47	0.43
Phenylalanine	0.72	N.D.	N.D.	0.70		N.D.
Histidine	1.38	1.24	1.09	1.36	0.98	1.02
Tryptophan	0.23	0.10	trace	0.22	0.09	trace
Lysine	0.09	0.07	trace	0.09	0.04	trace

* N.D.; not detected ** trace; below 0.01
*** Aged 2 years in nature condition

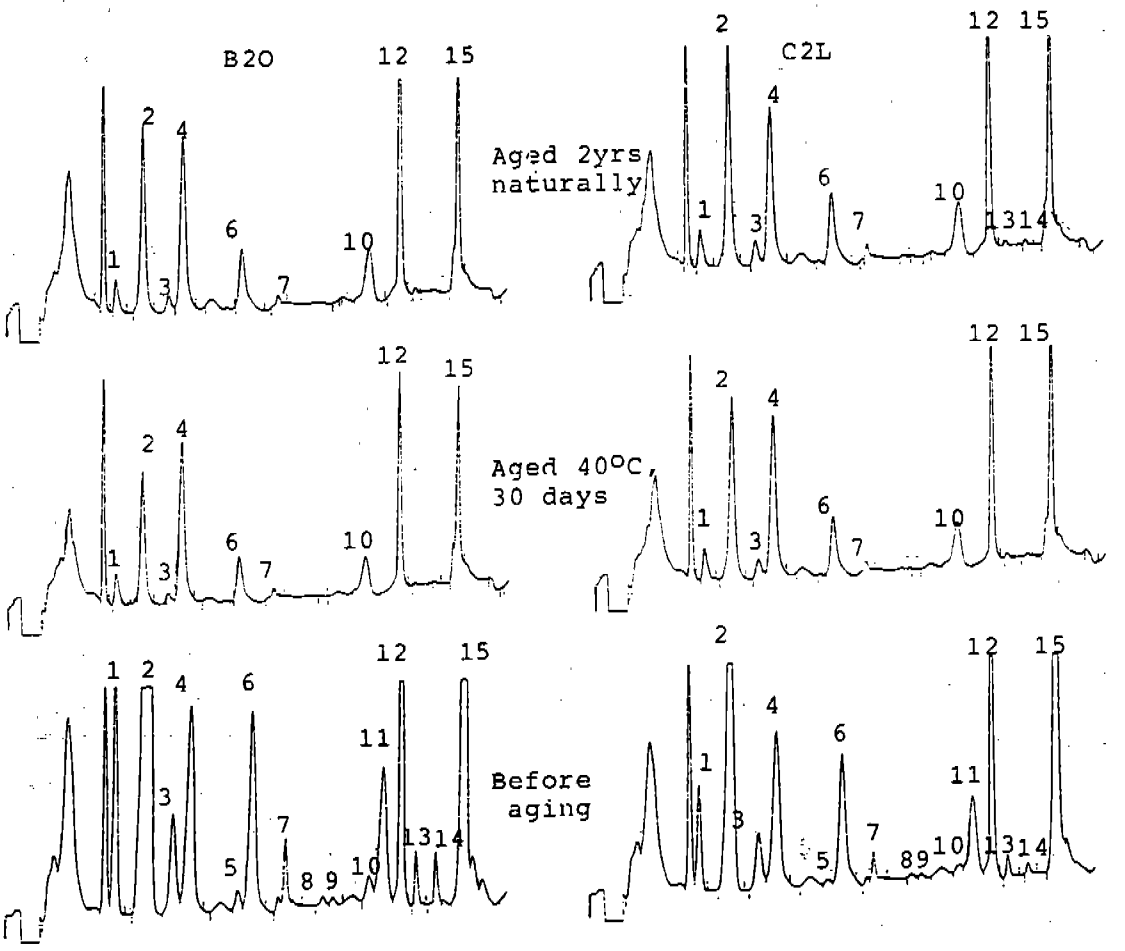

Fig. 1. Automatic Amino Acid Analysis of Flue-cured Leaf Tobacco, B_2O and C_2L.

1 ; Aspartic acid 2 ; Serine 3 ; Glutamic acid 4 ; Proline
5 ; Glycine 6 ; Alanine 7 ; Valine 8 ; Leucine 9 ; Iso leucine
10 ; Tyrosine 11 ; Phenylalanine 12 ; Histidine 13 ; Tryptophan
14 ; Lysine 15 ; Ammonis

2. 숙성을 통한 변화

잎담배 숙성의 표면적인 변화는 aroma의 향상, 중량의 감소, 암색화, 잎의 연화등을 들 수 있고 실제로 이산화탄소, 암모니아, 질소화합물, 메탄올의 발생, 산소의 흡수, pH의 감소등을 측정할 수 있다. 鄭口등[12]은 잎담배의 숙성도 판정의 지표로써 pH를 중요시 하였다.

Fig. 2와 Table 2에 가온처리 기간중의 pH와 색상의 변화를 나타내었다. 국내산 황색종의 경우, 18개월 자연숙성을 통하여 0.3～0.4의 pH감소를 보인 결과[13]와 비교할 때 42℃, 30일 처리로 0.4～0.5의 pH감소는 괄목할 만하다. 색상에서 명도(L)와 황색도(b)는 떨어지고 적색도(a)는 높아진 결과로 부터 갈색화 현상이 급속히 진행되었음을 알 수 있다. 한편 Table 1에서 숙

Table 2. Change of Leaf Tobacco Color before and after the aging.

Leaf tobacco	Color							
	Grade	L	a	b	Grade	L	a	b
Before aging	B 2 O	52.31	5.22	23.94	AB 4 OR	45.74	5.80	21.43
	C 2 L	52.92	5.36	24.35	CD 4 L	48.29	5.65	22.62
Aging 40℃, 30days	B 2 O	43.81	7.01	20.07	AB 4 OR	43.38	6.66	20.00
	C 2 L	50.23	6.31	23.15	CD 4 L	44.40	6.50	20.43
Aging 2 years	B 2 O	45.83	7.17	22.11	AB 4 OR	43.22	6.50	20.01
	C 2 L	48.81	6.28	22.24	CD 4 L	42.14	6.91	19.82

* L ; White 0～100 Black a ; Green −80～+100 Red
b ; Blue −70～+70 Yellow

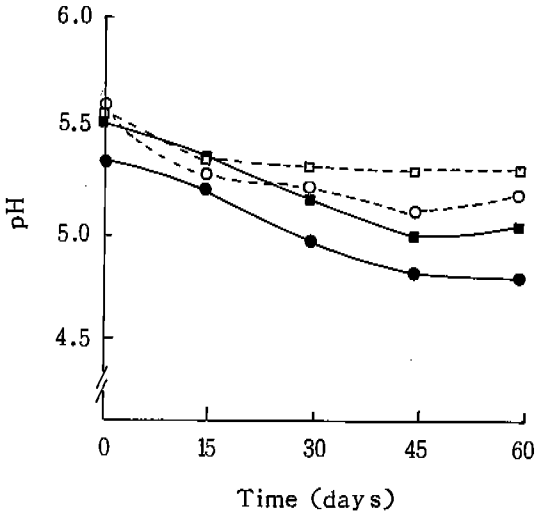

Fig. 2. pH Profile of Leaf Tobacco depends on Aging Time at 40℃
● —— ● ; B_2O
○ ---- ○ ; C_2L
■ —— ■ ; AB 4 OR
□ ---- □ ; CD 4 L

성을 통한 아미노산 총함량의 변화 - 40% 이상의 감소 - 로 부터 가온에 의하여 단기간에 아미노산의 변환 및 분해반응이 촉진되었다고 생각하며 기초실험결과로 부터 갈변반응의 효과면에서 가습보다 가온의 영향이 더 큼을 알 수 있었다.

아미노산의 소실경로는 크게 둘로 추정되는데 첫째 아미노산과 당의 결합에 의한 비효소적 갈변반응으로 인정된다.[9] 즉 아미노산은 환원당과 쉽게 반응하여 mellanoid compound 를 이루며 황색종 잎담배 건물중의 약 2% 정도를 점유한다.

Leffingwell[2] 은 이들이 주로 proline, phenylalanine, asparagine, valine 과 fructose 와의 화합물이라고 동정하였고 Tomita 등[3] 은 glutamine, proline, threonine, alanine 과 fructose 와의 화합물이라고 추정하였다.

이와 관련하여 건조후의 황색종 잎담배의 유리당 조성은 glucose > fructose > sucrose 의 순으로 존재하나[13] 숙성이 진행됨에 따라 sucrose 는 급격히 분해되어 glucose 와 fructose 로 되며 이중 glucose 는 잎담배 중의 대부분 자연미생물의 탄소원으로 쉽게 이용되고 fructose 는 보다 불안정하므로 아미노산등과결합하여 mellanoid reaction 을 거쳐 소실된다고 생각한다. 다른 또 하나는 효소적 갈변화에 따르는 과정으로써 polyphenol oxidase 에 의하여 산화형 폴리페놀과 아미노산이 축합한 후 deamination 에 의하여 무질소 화합물로 소실되는 경로를 생각할 수 있다. Table 1 과 Fig.

1과 같이 aspartic acid, serine, valine, alanine, phenylalanin, tryptophan 등의 감소량이 많았다. 거의 모든 아미노산의 함량이 감소하였으나 tyrosine은 숙성결과 증가하였다. 이는 tyrosine이 단백질분해의 주요산물이고 phenylalanine으로 부터 합성되기 때문이라고 해석한다. Phenylalanine은 tyrosine으로 전환, fructose와의 반응, cinnamic acid, phenylacetaldehyde등과 결합하여 방향성 화합물로 전환, 이용되므로 그 함량이 현저히 감소했다고 생각한다. 이상과 같이 숙성 후 전아미노산의 함량이 변환된 것을 알 수 있는데 Leffingwell[14] 외 열분해에 따른 각 아미노산의 taste와 aroma를 참고할 때 대체로 매운맛, 쓴맛, 풋내의 원인이 되는 serine, proline, tryptophan등은 감소하였고 청량감과 aroma를 증진시키는 tyrosine과 같은 성분은 증가한 결과를 얻었다. 즉 숙성을 통한 아미노산 관련 물질만의 거동을 관찰한 결과 단백질과 같은 고분자화합물의 분해, 각 아미노산 자체의 변환 및 분해 그리고 아미노산-당 복합체의 생성등으로 인하여 건조후 보다 매우 완숙한 맛과 향취를 갖는 잎담배로 변환된다고 생각한다.

요 약

국내산 황색종의 숙성 전후의 아미노산 조성을 검토한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

주요 아미노산은 histidine, serine, aspartic acid, proline이고 leucine, isoleucine, glycine은 소량성분이었다.

숙성에 의하여 가장 감소가 큰 아미노산은 phenylalanine이었고 끽연시 청취미와 혐끽미의 원인이 되는 tryptophan, serine, proline 등은 감소하고 청량감을 주는 tyrosine은 증가하였다.

40℃, 함수분 12%, 30일 처리로 2년 자연숙성 잎담배에 근접하는 아미노산의 조성을 나타내었다.

References

1. Alan Cornell, W.F. Cartwright and T.A. Bertinuson; "Chemistry of tobacco constituents influencing flavor and aroma", 39th TCRC (1985).
2. Leffingwell, J.C.; Tob. Sci., 5, 1-31 (1976).
3. Tomita, H., M. Noguchi and E. Tamaki; Agr. Biol. Chem., 29, 959-961 (1965).
4. Cousins, A.R.; Chem. Ind., 19-20 (1972).
5. T.M. Reynolds; Advance Food Res., 12, 1 (1963).
6. W.G. Herts, R.S. Shallenberger; Food Res., 25, 49 (1960).
7. L.F. Dixon, F.R. Darkis et al.; Ind. End. Chem., 28, 180 (1936).
8. W.G. Frankenburg; Advance in Enzymol., 10, 325 (1950).
9. T.C. Tso; Physiology and Biochemistry of Tobacco Plants, Dowden, Huchinson and Ross, Inc., Stroudburg, Pa. (1972).
10. Koiwai, A., K. Nashida, M. Noguchi and K. Arima; Tob. Sci., 15, 4, 1-43 (1971).
11. De la Burde, R., E.H. Poindexter, JR., Bell; "Relationship between free amino acid content" 17th TCRC (1963).
12. 野口正雄등; 日전매연보; 10, 3, 1-6 (1968).

13. 李相夏등 ; 담배연구보고서, 한국인삼연초연구소, 409-459 (1985).
14. Leffingwell, J.C.; " Smoke taste and smoke aroma in tobacco flavor, Winston-Salem, 1-17 (1971).