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

Leucine 또는 Isoleucine과 Glucose간의 가열 반응에서 생성된 휘발성화합물에 관한 연구

곽 재 진 · 김 영 회 · 양 광 규

한국인삼연초연구소 화학부

Studies on Volatile Compounds Formed in Heating Reaction between Leucine or Isoleucine and Glucose

Jae-jin Kwag, Young-Hoi Kim and Kwang-Kyu Yang

Division of Chemistry, KGTRI

(Received Sep. 23, 1989)

Abstract

Leucine and isoleucine were reacted with glucose in a propylene glycol solution and volatile compounds produced from these reaction were analysed by gas chromatography and mass spectrometry.

A total of 24 compounds were identified in the leucine reaction volatiles and the major components were 2-isopropyl-5-methyl-2-hexenal, methylbutyraldehyde PGA, butyraldehyde PGA, 5-methylfurfural, isopropylmethylhexenal PGA and 2-acetylpyrrole.

From the isoleucine reaction volatiles, 20 compounds were identified and the major components were methylbutyraldehyde PGA, butyraldehyde PGA and 2-acetylpyrrole.

The amino acids chosen for this study were considered as giving fruity and cocoa aroma when heated with glucose.

서 론

식품은 가공 및 저장중에 식품 성분간의 상호 작용에 의해 영양가의 손실 이외에도 관능적 특성에 영향을 미치는 맛, 색상 등에 변화가 일어나기도 하는데 그중 가열 처리시 아미노산과 당류 등의 카르보닐 화합물 간에 일어나는 마이야르반응은 향기성분의 생성과 밀접한 관계가 있으며[8,12] 특히 코코아, 차, 땅콩, 커피, 감자나 육류 등과 같이 볶거나 튀기는 과정을 거치는 식품에 있어서는 본래의 향기와는 다른 새로운 향기발현물질을 생성하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.[11,29] 잎담배 중에도 마이야르반응에 의해 생성되는 것으로 알려진 성분들이 보고된 바 있는데[5,20,27] 이들 성분은 잎담배의 숙성 및 toasting과 같은 열처리시 생성되는 것으로 알려져 있다.[26,30]

최근의 제품담배는 저타르, 저니코틴 담배의 선호추세와 잎담배 품질의 저하 등으로 인해 담배의 맛과 향의 질적 저하를 가져오고 있어 이에 대한 보완으로 담배의 주요 향기성분을 이용한 enhancer류, 담배추출물 등을 이용한 casing류 및 reaction flavor 등과 같은 다양한 종류의 가향료의 사용이 중요시 되고 있으며 효과적인 가향료의 선택 또한 중요시 되고 있다.[22,23] 근래에 들어와서 식품 및 담배첨가용 향료의 개발을 목적으로 당류와 아미노산을 가열반응 시킨 reaction flavor의 개발을 위한 연구가 활발히 진행되어 왔는데[3,6,24,25] 이들 reaction flavor는 원료로 쓰이는 당류와 아미노산을 쉽게 구할 수 있고 공업적으로 제조가 간편하며 당과 아미노산의 조성 및 반응조건에 따라 다양한 향 특성을 발현할 수 있다는 여러 이점 때문에 폭넓게 사용되고 있다.[2,15,33]

특히 glucose 같은 당류와 반응시 강한 cocoa 및 fruity 향을 발현하는[1,33] leucine과 그의 이성체인 isoleucine은 다양한 종류의 향기성분의 생성이 예견되는데 이들 아미노산의 휘발성성분에 관해서는 여러 연구가 발표되었으나 생성된 향기성분 전체를 분석한 보고보다 주로 수용액하에서 Strecker분해에 의해 생성되는 aldehyde에 대한 것이며[4,16,21] Hartman[9]등이 leucine을 glucose와 반응시 생성되는 휘발성성분을 확인한 바 있으나 정량적인 고찰은 없었고 isoleucine에 대해서는 보고된 바 없다. 본 실험에서는 leucine과 isoleucine을 수용액에 비해 반응속도가 빠른 propylene glycol을 용매로 사용하여[13,14] glucose와 각각 가열반응 시킨 다음 생성된 휘발성성분들을 분리 및 확인하고 두 이성체간 휘발성성분의 조성에 있어서 차이점을 검토하였다.

재료 및 방법

시 약

본 실험에 사용한 D-(+)-glucose, L-leucine (2-amino-4-methylvaleric acid), L-isoleucine (2-amino-3-methyl-valeric acid) 및 propylene glycol은 Fluka제(Switzerland) 특급을 사용하였고 기타 시약은 특급을 사용하였다.

반응액의 조제

500㎖ 용량의 둥근바닥 플라스크에 0.1 M의 glucose (18.0 g)와 0.1 M의 leucine (13.1 g) 또는 0.1 M의 isoleucine (13.1 g)을 함유한 propylene glycol (PG) 용액 300㎖를 넣고 냉각관을 부착한 후 자석젓개로 계속 교반하면서 100℃에서 2시간 동안 가열반응 시켰다. 또한 0.1 M의 glucose (18.0 g)와 0.05 M의 leucine (6.55 g) 및 isoleucine (6.55 g)을

함유한 PG용액 300 ml를 위에서와 동일한 조건으로 가열반응 시켰으며 반응시 냉각수의 온도는 −5℃를 유지하였고 반응 완료후 반응액은 급속히 냉각시킨 다음 휘발성성분 분리시료로 하였다.

휘발성 성분의 분리

반응액 50 g을 취한 다음 증류수 150 ml를 가하여 희석한 후 내부표준 물질로서 n-pentadecane (300 μg/ml)을 함유한 methylene chloride 1 ml를 가하고 용매로서 methylene chloride (150 ml × 4회)를 사용하여 추출하였다. 추출된 methylene chloride 획분은 무수 황산나트륨으로 탈수후 감압농축 하였고 농축물은 용매로서 diethyl ether를 사용하여 silica gel column chromatography에 의해서 색소 등을 제거한 후 30℃에서 감압농축하여 휘발성성분 분석시료로 하였다.

사용기기 및 조건

Gas chromatography (GC)는 flame ionization detector가 부착된 Hewlett-Packard사제 (U.S.A) 모델 5880A GC를 사용하였다. 컬럼은 Supelcowax 10 fused silica capillary (60 m × 0.32 mm I.D)를 사용하였고 분석조건으로 컬럼온도는 50℃에서 3분간 머문 후 220℃까지 3℃/min의 속도로 승온하였다. 주입구 및 검출기 온도는 250℃로 하였고 시료는 0.5 μl를 split mode (split ratio = 50 : 1)로 주입하였으며 운반기체는 질소기체 (18 psi)를 사용하였다.

GC-MS는 Varian Mat 212 MS와 SS Mat 188 data system을 사용하여 다음과 같이 분석하였다. 컬럼은 Supelcowax 10 fused silica capillary (30 m × 0.25 mm I.D)를 사용하고 운반기체인 helium은 1 ml/min로 조절하였으며 컬럼온도는 50℃에서 220까지 3℃/min 속도로 승온하였고 GC의 기타 조건은 위에서와 동일한 조건으로 하였다. MS조건은 ion source pressure는 1.8×10^{-5} torr로 하고 ionization voltage는 70 eV, emission current는 1 mA 그리고 ion source 온도는 250℃로 하였다.

결과 및 고찰

Leucine, isoleucine 및 leucine과 isoleucine혼합액 각각을 glucose와 가열반응 시켜 생성된 반응생성물에서 분리된 휘발성성분들의 gas chromatogram은 그림 1과 같고 GC 및 GC/MS 분석에 의해서 확인된 성분은 표1과 같다. 표1에서 보면 leucine과의 반응액에서는 aldehyde 4종, aldehyde PGA 11종, pyrazine 4종 및 기타 성분으로 2-acetylfuran 외 4종 등 24종의 성분이 확인되었으며 그중 각 성분의 peak 면적과 내부표준물질의 면적과의 상대적인 비로 볼때 많이 생성된 성분들은 2-isopropyl-5-methyl-2-hexenal, methylbutyraldehyde propylene glycol acetal (PGA), butyraldehyde PGA, 5-methylfurfural, isopropylmethylhexenal PGA, 2-acetylpyrrole 등이었다. 한편 isoleucine과의 반응액에서는 aldehyde 3종, aldehyde PGA 8종, pyrazine 4종 및 기타 성분으로 2-acetylfuran 외 4종 등 20종의 성분이 확인되었으며 비교적 많이 생성된 성분은 methylbutyraldehyde PGA, butyraldehyde PGA, 2-acetylpyrrole 등이었다.

Leucine과 그의 이성체인 isoleucine간의 확인된 성분들에 있어 차이를 보면 가장 큰 차이로는 leucine 반응생성물에서 PG와 PG monoacetate를 제외하고 chromatogram상에서 가장 많이 생성된 것으로 나타난 2-isopropyl-5-methyl-2-hexenal이 iso형에서는 확인이 않된 것을 들 수 있는데 이는 2-isopropyl-5-methyl-2-hexenal의 생성이 isovaleralde-

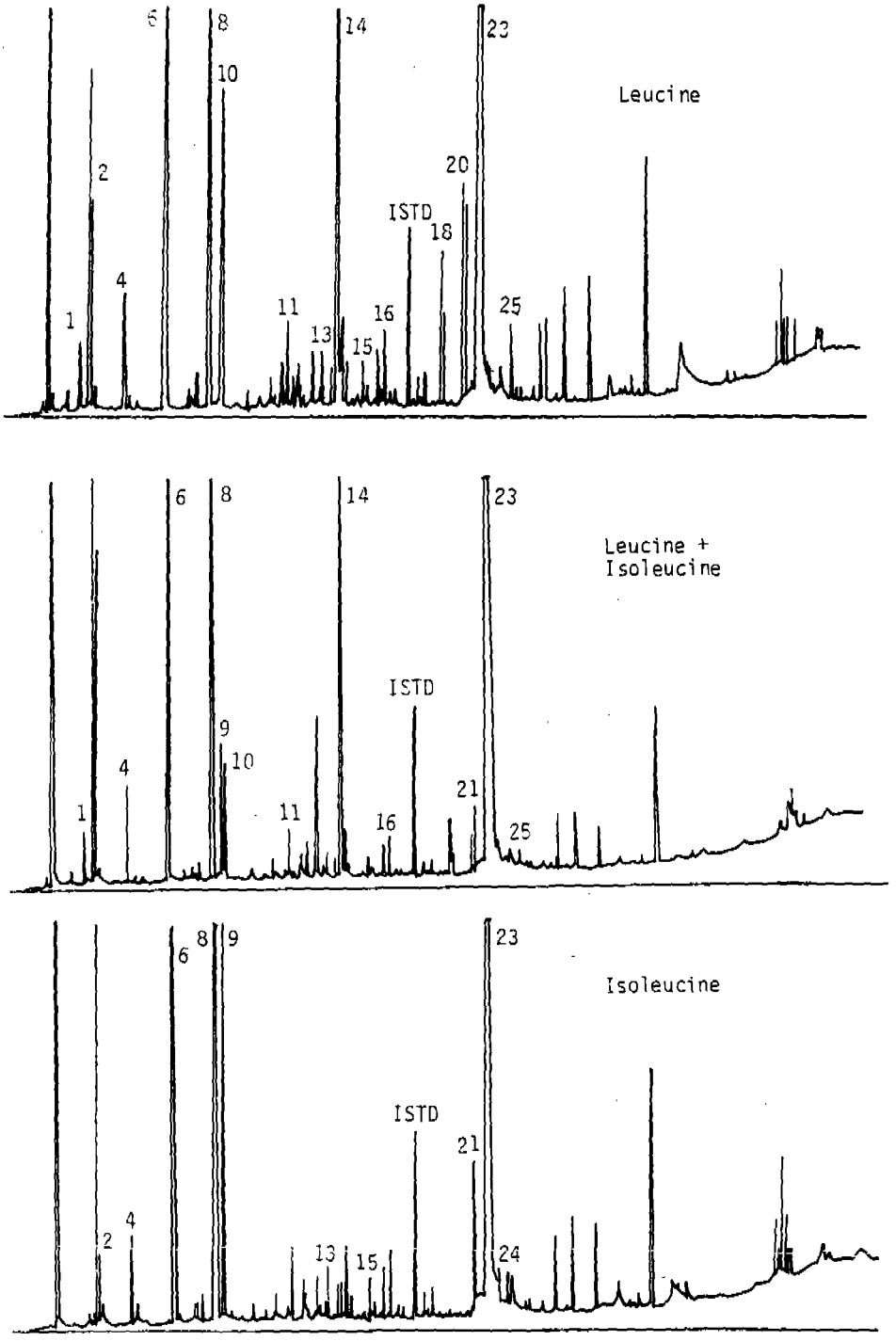

Fig. 1. Gas chromatograms of volatile compounds formed in heating reactions of leucine or isoleucine with glucose.

Table 1. Compounds identified from the reaction products of glucose with leucine or isoleucine.

Peak No.	Compounds	Leucine	Leucine+ Isoleucine	Isoleucine
1[a]	Isovaleraldehyde	44[c]	29	t
2	Acetaldehyde PGA[b]	85	156	9
3	Acetaldehyde PGA	13	6	3
4	Propionaldehyde PGA	60	51	39
5	Propionaldehyde PGA	t	t	6
6	Butyraldehyde PGA	431	438	471
7	Butyraldehyde PGA	-	-	t
8	Methylbutyraldehyde PGA	729	907	1,408
9	Methylbutyraldehyde PGA	-	114	298
10	Methylbutyraldehyde PGA	145	64	-
11	2-Methyl pyrazine	40	29	36
12	2,5-Dimethyl pyrazine	9	t	10
13	2,6-Dimethyl pyrazine	30	22	29
14	2-Isopropyl-5-methyl-2-hexenal	3,254	796	-
15	Trimethyl pyrazine	22	16	22
16	Furfural	38	23	35
17	2-Acetylfuran	8	t	6
18	Isopropylmethylhexenal PGA	74	37	-
19	Isopropylmethylhexenal PGA	44	12	-
20	Isopropylmethylhexenal PGA	102	25	-
21	5-Methylfurfural	120	54	74
22	Isopropylmethyl hexenal PGA	11	t	-
23	PG+PG monoacetate	8,442	9,137	8,615
24	PG monoacetate	12	14	19
25	5-Methylfurfurylalcohol	31	17	29
26	2-Acetylpyrrole	105	77	118

a : Peak No. in Fig. 1
b : Propylene glycol acetal
c : Peak area of each compound×100/peak area of internal standard
t : Trace

furfural 및 5-methylfurfurylalcohol등은 glucose와 같은 당류 가열시에 생성되는 대표적인 성분들로서 [7,32] 반응생성물의 caramel취 및 burnt sugar-like향에 영향을 미치나 [8,11] 확인된 다른 성분들에 비해 상대적으로 양은 적게 나타났다.

이상의 결과에서 볼 때 leucine과 isoleucine을 glucose와 함께 가열반응 시켜 생성된 반응물의 향특성은 강한 cocoa향과 함께 특징적인 fruity향을 지니고 있었으며 이와같은 향

hyde 두 분자가 aldol type의 축합에 의해 생성되는 것임을 감안할 때[9] 2-isopropyl-5-methyl-2-hexenal 생성의 전구 물질인 isovaleraldehyde가 leucine의 경우와는 달리 isoleucine에서는 생성량이 많지 않은 것으로 추정할 수 있으며 이는 아미노산의 구조적 차이 즉 측쇄로 붙어있는 methyl기의 위치가 탄소수 4번이 아닌 3번 위치에 붙어 있기 때문에 isoleucine의 가열반응시에는 Strecker 분해에 의해 isovaleraldehyde (3-methylbutyraldehyde)보다는 2-methylbutyraldehyde의 생성이 주로 일어나기 때문이다.[4,16,21]

또 다른 차이로는 isoleucine에서는 isopropylmethylhexenal의 PGA 및 isovaleraldehyde 등이 생성되지 않은 반면 leucine에 비해 methylbutyraldehyde PGA와 butyraldehyde PGA 등이 상대적으로 많이 생성된 점을 들 수 있고 이들 성분들이 표1에 나타낸 것처럼 두 아미노산의 주요 생성물로 확인된 점으로 미루어 이러한 차이들이 이들 두 이성체간의 관능적 특성을 좌우하는 주 요인 중의 하나이며 이는 Lipparini[16] 등의 연구결과에서도 잘 설명되고 있다.

또한 leucine과 isoleucine을 1:1로 혼합하여 glucose와 반응시켜 생성된 혼합반응액에서 분리된 휘발성성분 중에서는 그림1의 chromatogram상에서 보면 3종의 methylbutyraldehyde PGA 이성체가 분리된데 반해 두 아미노산을 각각 반응시킨 생성물에서는 각각 2종의 methylbutyraldehyde PGA가 분리되고 또한 각각 1종의 chromatogram상에서 머무름 시간이 다른 methylbutyraldehe PGA가 분리되었는데 이는 구조적으로 isovaleraldehyde PGA와 2-methylbutyraldehyde PGA의 차이로 생각되며 이와같은 차이는 PGA 화합물들의 생성이 aldehyde와 반응용매인 PG와의 탈수 축합에 의한 것임을 감안할 때[17] 위에서 설명한 것처럼 이들 성분의 전구물질이 되는 aldehyde가 Strecker 분해에 의해 leucine에서는 주로 isovaleraldehyde가 생성되고 isoleucine에서는 주로 2-methylbutyraldehyde가 생성되기 때문이다.

확인된 성분들 중에서 isovaleraldehyde나 2-isopropyl-5-methyl-2-hexenal 등은 특유의 cocoa 향을 갖는 열처리된 코코아열매의 주요 향기성분인데[4,28] 특히 isovaleraldehyde는 또 다른 아미노산인 phenylalanine의 Strecker 분해 aldehyde인 phenylacetaldehyde와 aldol type의 축합반응을 거쳐 코코아[28], 참깨[19], 땅콩[31]과 같은 열처리 과정을 거치는 식품의 주요 향기성분으로 알려진[19] 5-methyl-2-phenyl-2-hexenal을 생성하는 것으로 보고된 바 있다.

한편 반응용매인 PG와의 축합반응에 의해 생성되는[17] aldehyde PGA 화합물들은 두 아미노산에서 모두 주요 생성물로 확인되었는데 이들 PGA 화합물들의 대부분은 관능적으로 독특한 특성을 가져 최근 식품이나 담배산업에서 향료로서의 용도가 중요시 되고 있으며[10] 이중 표1에 나타낸 것처럼 가장 많은 생성을 보인 methylbutyraldehyde PGA는 과실향 특히 살구 및 melon-like향을 갖고 있어 살구향 등의 조합시 원료향으로 사용되고 있고 있고 isopropylmethylhexenal PGA는 과실향, painty 및 apple-like향 특성을 나타낸다.[9]

그밖에 확인된 성분들중 마이야르반응 과정중 생성되는 대표적인 향기성분인 pyrazine류는 두 아미노산 모두 2-methyl-pyrazine외 3종이 확인되었는데 표1의 결과에서 보면 pyrazine류는 확인된 다른 성분들에 비해 상대적으로 생성량은 적은 편이나 최소 감지량이 낮아[18] reaction flavor의 전체적인 향특성에 미치는 영향은 크며 특히 담배에 첨가시에는 특유의 roasted, nutty한 향 특성과 함께 담배맛에 완화감을 부여하고 burley-note를 증진시키는 효과가 있는 것으로 알려져 있다.[5]

한편 furfural, 2-acetylfuran, 5-methyl-

특성은 주로 isovaleraldehyde, methylbutyraldehyde PGA, 2-isopropyl-5-methyl-2-hexenal 및 그의 PG acetal 등에 기인하는 것으로 볼 수 있으며 담배첨가용 향료로 사용시 담배의 향끽미에 chocolate aroma와 함께 신선감을 부여할 것으로 생각된다.

결 론

Leucine과 isoleucine을 propylene glycol 용액에서 glucose와 100℃에서 2시간 동안 가열반응 시켜 생성된 반응물중의 휘발성 향기성분을 GC 및 GC-MS에 의해 분석하였다.

Leucine과의 반응생성물에서는 isovaleraldehyde외 23종의 성분이 확인되었는데 그중 2-isopropyl-5-methyl-2-hexenal, methylbutyraldehyde PGA, butyraldehyde PGA 및 isopropylmethylhexenal PGA 등이 주요 생성물이었고 isoleucine에서는 20종의 성분이 확인되었는데 그중 leucine의 주요 생성물인 2-isopropyl-5-methyl-2-hexenal 및 그의 PGA의 생성은 확인되지 않았으며 대신 methylbutyraldehyde PGA, butyraldehyde PGA 및 2-acetylpyrrole 등이 주요 생성물로 나타났다.

또한 glucose와 두 아미노산을 가열반응 시켰을 때 생성되는 강한 cocoa향과 특징적인 fruity 향은 주로 반응과정에서 생성된 methylbutyraldehyde, 2-isopropyl-5-methyl-2-hexenal 및 이들의 PGA화합물에 기인하는 것으로 추정되었다.

참 고 문 헌

1. Arnoldi, A., Arnoldi, C., Baldi, O. and Griffini, A., J. Agric. Food Chem., 35(6) : 1035 (1987).
2. Arnoldi, A., Arnoldi, C., Baldi, O. and Griffini, A., J. Agric. Food Chem., 36(5) : 988 (1988).
3. Danehy, J.P. and Wolnak, B., The Maillard Reaction in Foods and Nutrition, Waller, G.R. and Feather, M.S. (ed), ACS symp. Ser., Washington, D.C., 215 : 303 (1983).
4. Darsley, R.R. and Quesnel, V.C., J. Sci. Fd Agric., 23 : 215 (1972).
5. Dickerson, J.P., Roberts, D.L., Miller, C.W., Lloyd, R.A. and Rix, C., E., Tob. Sci., 20 : 59 (1976).
6. Dworschak, E. and Tarjan, V., The Maillard Reaction in Foods and Nutrition, Waller, G.R. and Feather, M.S. (ed), ACS symp. Ser., Washington, D.C., 215 : 159 (1983).
7. Fagerson, I.S., J. Agric. Food Chem., 17(4) : 747 (1969).
8. Fors, F., The Maillard Reaction in Foods and Nutrition, Waller, G.R. and Feather, M.S. (ed), ACS Symp. Ser., Washington, D.C., 215 : 185 (1983).
9. Hartman, G.J., Scheide, J.D. and Chi-Tang Ho., Perfumer and Flavorist., 8 : 81 (1983).
10. Heydanek, M.G. and Min, D.B.S., J. of Food Sci., 41 : 145 (1976).
11. Hodge, J.E., Mills, F.D. and Fisher, B.E., Cereal Sci. Today., 17 : 34 (1972).
12. Hurrell, R.F., Food Flavors Part A. Introduction., Morton, I.D. and Macleod, A.I., P399., Elsevier Scientific Publishing Company,

Amsterdam, Netherlands., (1982).
13. 김영회, 김옥찬, 이정일, 양광규., 한국식품과학회지, 20 : 157 (1983).
14. 김영회, 김옥찬, 이정일, 양광규., 한국연초학회지, 10(2) : 123 (1988).
15. Lane, M.J. and Nusten, H.E., The Maillard Reaction in Foods and Nutrition., Waller, G.R. and Feather. M.S. (ed)., ACS symp. Ser., Washington, D.C., 215 : 141 (1983).
16. Lipparini, L. Cavana, M.R., Gennaio-Febbraio., 19 (1978).
17. Macleod, G., Seyyedain-Ardebili. M. and Macleod, A.J., J. Agric. Food Chem., 28 : 441 (1980).
18. Maga, J.A. and Sizer, C.E., "Fenaroli's handbook of flavor Ingredients", 2nd Ed. Vol. 1, p47, Furia, T.E. and Bellanca, N.E., CRC Press, Ohio, U.S.A.(1975).
19. Manley, C.H., Vallon, P.P. and Erickson, R.E., J. of Food Sci., 39 : 73 (1974).
20. Noguchi, M., Satoh, Y., Nishida, K., Andoh, S. and Tamaki, E., Agric. Biol. Chem., 35 : 65 (1971).
21. Rooney. L.W., Salem, A. and Johnson, J.A., Cereal Chem., 44 : 539 (1967).
22. Samfield. M., Tob. J. Int., June : 513 (1982).
23. Samfield. M., Tob. J. Int., May : 380 (1984).
24. Sano, M. and Mastuyama, S., 일본전매중연보, 120 : 1 (1978).
25. Shigematsu, H., 일본전매중연보, 118 : 119 (1976).
26. Shigematsu, H. and Kitami, H., 일본전매중연보, 120 : 7 (1978).
27. Siddiqui, I. R., Rosa, N. and Benzing, L., Carbohydr. Res., 98 : 57 (1981).
28. Van praag, M., Stein, H.S. and Tibbetts, M.S., J. Agric. Food Chem., 16 : 1005 (1968).
29. Vernin, G. and Parkanyi, C., "Chemistry of heterocyclic compound in Flavors and Aromas", p151, Vernin, G., John Wiley and Sons, New York, U.S.A.(1982).
30. Wahlberg, I., Karlsson, K., Austin, D.J., Junker, N., Roeraade, J. and Enzell, C.R., Phytochem., 16 : 1217 (1977).
31. Walradt, J.P., Pittet, A.O., Kinlin, T.E., Muralidhara, R. and Sanderson, A., J. Agric. Food Chem., 19 : 972 (1971).
32. Walter, R.H. and Fagerson, I.S., J. of Food Sci., 33 : 294 (1968).
33. Wiener, C., The Flavor Chem., September/October., 237 (1974).