

纖維素 分解酵素 및 니코틴 分解細菌을 利用한 잎담배의 醱酵促進효과

이태호 · 성낙계*

한국인삼연초연구소 · 경상대학교 식품공학과*

Studies on the promoted Aging of flue-cured leaf tobacco by cellulolytic Enzyme and Nicotinophiles

T. H. Lee and N. K. Sung*

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejeon, Korea

Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Chinju, 660-701, Korea

ABSTRACT

For the quality enhancement of harvested-year leaf tobacco to the quality of 2-year naturally aged leaf tobacco, cellulose and nicotine degradative bacteria were isolated and identified. Effects of artificial fermentation treated cellulase and nicotine degradative bacteria on the quality of leaf tobacco were investigated from the chemical and sensory points of view.

1. Changes in chemical composition of leaf tobacco resulted from the addition of cellulase extracted from *Cellulomonas* sp. [3ml(μ m D-glucose/ml. ml⁻¹) of enzymes solution / 100g of leaf tobacco] and nicotine degradative bacteria, *Pseudomonas* sp. 2ml(1×10^9 cells \div 100g of leaf tobacco), and subsequently fermented at 40°C, 65% R.H. for 40 days are as follows :

1) Content of crude fiber decreased 12%

It took 9 min. 53 sec. to reach full combustion in control group but took only 7 min. 47 sec. in the treated group, taking almost equal time to 2-year naturally aged leaf tobacco(7 min. 35sec.).

2) Light intensity of control group was 60.96% with bright lemon color but that of treated leaf tobacco accounted for 47.69 with orange to dark brown color series, which was almost equal to the value, 45.69, of 2-year naturally aged leaf tobacco.

3) Linoleic acid, serving mild taste among organic acids, amounted to 1.11mg/g in control group but increased to 1.35mg/g in the treated leaf tobacco, identical to the content(1.35mg/g) of 2-year naturally aged leaf tobacco.

4) Content of solanone, one of the typical leaf tobacco flavor compounds, accounted for 2.95% in control group but increased to 4.87% in treated group.

5) Methyl furan, useful flavor compound in smoke composition, accounted for 17.6 μ g/cig. in control group but increased to 35.9 μ g/cig. in treated group. However, acroleine decreased from 69.3 μ g/cig. in control group to 58.6 μ g/cig. in treated group

2. In sensory test, mild taste evaluation of control group scored 5.47 and treated group 7.93 which was evaluated almost equal to the value(8.00) of 2-year naturally aged leaf tobacco. Aroma evaluation of control group scored 5.60, treated group 8.20, and 2-year naturally aged leaf tobacco 8.33. In addition, total harmony taste of control group showed 5.67, treated group 8.07 ($p < 0.01$), and 2-year naturally aged leaf tobacco 8.00.

From these results, it can be said that quality of treated leaf tobacco is not inferior to that of 2-year naturally aged leaf tobacco.

서 론

저장 숙성 중에 일어나는 잎담배 성분의 변화는 저장환경의 온·습도^{10, 12, 18, 23)}와 염중 수분함량 그리고 저장기간에 따라서 크게 달라지게 된다. 그러나 장기간 숙성시킬 경우에는 막대한 경비가 소요된다. 그러므로 이러한 제경비를 감소시키기 위해서 미생물에 의한 Alkaloid 특히 Nicotine분해와 같은 인공적으로 조기에 발효시키는 연구가 꾸준히 이루어지고 있다.^{2, 4, 8)}

최근 세계적으로 저니코틴 담배가 등장하고 있지만 이러한 제품을 개발하는데는 원료잎담배의 맛을 손상시키지 않으면서 니코틴만을 감소시키는 연구가 중요하게 되어왔다. 그러나 미생물에 의한 방법은 과격한 처리를 하지 않고 선택적으로 니코틴을 감소시킬 수 있는 가능성에 있어서 Frankenburg⁵⁾는 잎담배에서 알카로이드 변화에 의한 기작은 초기단계에는 화학적인 요인보다는 미생물의 효소에 의한다고 했으며, 발효과정에서 알카로이드 변화가 90% 이상이 미생물에 의한 것이라고 하였다. 따라서 미생물에 의한 알카로이드의 변환은 주로 미생물의 생물학적 특성을 중심으로 니코틴의 산화기작이 연구되었다.⁶⁾ 또한 니코틴 분해세균을 잎담배에 처리해서 제조담배를 저니코틴화하여 이용하고자 in vitro 실험에서 배양액의 pH 및 온도의 변화와 니코틴 분해력과의 상관관계를 연

구한 바 있으며, Uchida 등²²⁾은 니코틴 분해세균의 특성과 잎담배증 생장에 대하여 그리고 Newton 등¹³⁾은 니코틴 분해세균을 잎담배에 대량으로 처리하여 니코틴을 감소시킨바 있다. 지금까지도 잎담배에 대한 미생물 이용과 화학성분 및 효소의 활성도에 관한 부분적인 연구는 물론이고, 연구된 것도 잎담배의 함수분이 많은 조건에서 연구된 것이므로 실제로 잎담배 제조공정에 적합하지 못하여 사용이 불가능하고 또한 품질이 자연숙성에 미치지 못하였다.

따라서 본 연구에서는 cellulase 생성세균 및 니코틴 분해세균의 분리, 선정과 황색종 잎담배의 발효촉진에 관한 연구로서 cellulase와 니코틴 분해세균을 잎담배에 처리하여 온도별로 단기간에 발효촉진 시킨 것에 대한 물리성, 일반화학성분, 향기성분 및 관능검사에 대한 몇가지 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험재료인 잎담배는 경남 진주지방에서 재배된 1986, 1987, 1988년산으로 황색종 KF 103종 비교적 품질이 균일한 것을 채취하여 줄거리(stem)를 제거한 잎담배만을 시료로 하였다.

2. Cellulase 및 니코틴 분해세균의 처리

가. Cellulase생성세균의 분리선정

PY-CMC배지에서 clear zone을 형성하는 균주 350개를 선정하여 PY-CMC액체배지에서 40°C 3일간 진탕배양(200rpm)한 후 원심분리한 상침액으로 CMCase, avicelase β-glucosidase 및 xylanase의 효소 활성도를 측정하여 비교적 효소활성이 높은 15개 균주를 선정하여 Table 1에 나타내었으며 Petridish에서 배양할 때 균주의 형태나 생육상태 및 기질에 따른 효소활성도를 고려하여 LTH-10과 LTH-203을 재선정하였고, 선정된 균주의 형태적, 배양학적 및 이화학적 특성은 Table 2와 3에 나타난 것과 같이 rod형이며 gram음성으로 Bergey's manual of determinative bacteriology에 의하여 cellulomonas sp.로 동정되었다. 최종 선정균주는 LTH-203을 선정하였다.

나. 니코틴 분해세균의 분리선정

잎담배 중에 함유되어 있는 alkaloid성분인 니코틴을 미생물을 이용하여 선택적으로 분해시킬 수 있다는 점에서 니코틴 배지에서 성장능이 우수한 34균주를 선정하였다. 선발된 균주를 진탕배양한 후 니코틴 분해력을 조사한 결과 60% 이상의 분해율이 높은 것은 11주였으며 그 선정균주의 활성을 Table 4에 나타냈다. 그중 가장 효과가 있을 것으로 판단된 니코틴 분해 세균으로서 Alcaligenes와 T-8-6을 선정하였다. Alcaligenes는 uchida²²⁾ 등에 의하여 니코틴 분해력이 있다고 인정된 세균으로서 종균협회에서 분양받았으며 담배밭에서 분리한 세균 T-8-6은 니코틴 분해력이 우수한 것으로 선정된 것이다. 이들 분리세균의 미생물학적 특성을 Table 5에 나타냈으며 니코틴 분해력이 가장 우수하고 생물학적 특성으로 보아 Pseudomonas sp.로 동정되었다.

Table 1. Enzyme activity of cellulolytic bacteria

Strains No.	Enzyme activities(Unit)				Optimal temp. °C
	CMCase	Avicelase	β-Glucosidase	Xylanase	
LSW- 1	4.0	2.4	4.2	9.5	37
LSW- 13	3.8	2.5	4.5	10.7	37
PCK- 1	4.6	2.0	4.8	12.0	37
LTH- 10	4.5	2.6	5.2	15.6	42
CYC- 53	4.0	2.0	5.0	13.4	42
CYC- 56	3.9	1.8	4.2	12.5	45
CYC- 78	4.4	1.9	6.2	11.8	45
CYC- 87	4.1	1.8	6.2	12.5	45
CYC-104	4.2	2.4	5.7	9.8	37
LBC- 3	4.7	2.2	6.0	10.5	37
LTH-203	4.8	2.9	6.3	13.2	42
HSW- 16	3.9	2.4	6.0	13.0	42
HSW- 24	4.2	2.0	6.1	11.8	42
HSW- 52	4.5	2.5	5.8	9.2	45
HSW- 68	4.5	2.5	5.2	8.4	45

Strains were cultured at the indicated temperature for 3 days with shaking in PY-CMC medium.

Table 2. Morphological and cultural characteristics of isolated strains

Strains	LTH-10	LTH203
Morphological characteristics		
Form	Rod	Rod
Size(μ m)	0.5×1.7-2.3	0.5×1.4-2.2
Motility	+	+
Spore	-	-
Gram staining	-	-
Cultural characteristics		
Nutrient broth	+	+
Nutrient agar	+	+
Gelatine liquefaction	+	+
Filter paper degradation	+	+
Pepton water	+	+
Temp. for growth($^{\circ}$ C)		
Range	15-54	15-55
Optimal	42	42
Optimal pH	7.0	6.8

Identified to be *Cellulomonas* sp.

Table 3. Biochemical characteristics and carbohydrate assimilation of isolated strains

Strains	LTH-10	LTH-203
Biochemical characteristics		
Starch hydrolysis	+	+
Nitrate reduction	+	+
Methyl red test	+	+
Indol test	+	+
Catalase	+	+
Urease	+	+
H ₂ S	-	-
Voges proskauer	-	-
Carbohydrate assimilation		
Glucose	+	+
Fructose	+	+
Mannose	+	+
Galactose	+	+
Rhamnose	+	+
Ribose	+	+
Arabinose	+	+
Xylose	+	+
Maltose	+	+
Sucrose	+	+
Lactose	+	+
Raffinose	+	+
Sorbitol	+	+
Mannitol	-	-
Cellulose	+	+

Table 4. Nicotine degradative activity of selected strains

Strains №	Growth (A600)	Degradation (%)	Catalase activity
T-8-6	0.420	81.5	+++
T-7-3	1.424	71.1	++
T-8-3	0.335	67.5	+
T-9-3	0.321	68.6	+
T-8-1	0.324	69.6	+
L-5-3	0.342	62.5	++
L-5-4	0.351	64.6	+
L-6-3	0.321	67.7	+
L-6-5	0.541	74.3	++
LS-6	0.443	70.1	+
Alcaligenes	0.493	78.8	++

Table 5. Characteristics of isolated strain, L-6-5 and T-8-6

Characteristic	L-6-5	T-8-6
Motility	+	+
Gram staining	-	-
Urease	-	-
Oxidase	+	+
Catalase	+	+
Denitrification	-	-
Fluorescence pigment	+	+
Gelatin hydrolysis	-	-
Temp. for growth		
Range(°C)	20~48	20~48
Optimal	35	35
pH for growth		
Range	6.0~8.0	6.0~8.0
Optimal	7.0	7.0
Hydro carbon utilization		
Glucose	+	+
Mannose	±	±
Arabinose	+	+
Maltose	-	-
Rhamnose	-	-
Manitol	-	-

Identification : *Pseudomonas* sp.

3. 내용성분 분석 및 물리적 성질 측정

Nicotine¹⁹⁾, Crude fiber²⁰⁾는 상용법에 준하여 분석하였고, 연기성분은 CORESTA Standard method에 의하였으며, 연기중 Tar과 Nicotine^{9, 27)}, pH²⁶⁾을 분석하였다. 연소성은 연소성 측정기(Filtrona, 영국), 색상은 (S₂-Σ80 color measuring system(일본)을 사용하여 각각 측정하였다.

지방산 및 잎담배중 향기성분은 Flame ionization detector가 장비된 Hewlett packard 5880 A와 model 5880A GC terminal을 사용하여 분석하였고 담배 연기성분 확인을 위한 GC/MS는 Varian MAT 212 system을 사용하여 분석하였다.

4. 결과 및 고찰

가. Cellulase 및 니코틴 분해세균의 처리에 의한 이화학적 변화

잎담배 100gr당 祖 cellulase액을 3ml($\mu\text{m D-glucose/ml. min}^{-1}$)을 첨가하고 니코틴 분해세균을 100gr당 2ml(1×10^9 cells/ml)를 첨가하여 40°C, RH 65%에서 40일간 숙성하였을때 대조구 및 1년, 2년 자연숙성된 것과 비교한 주요 성분 변화에 대한 결과는 다음과 같으며 잎담배를 40°C, RH 65%의 조건에서 40일간 조기숙성 시켰을 때의 모든 성분 변화는 1년 자연숙성된 것과 거의 같았다.

1) 일반성분과 연기성분

황색종 잎담배(KF-103)의 일반성분과 연기성분에 대한 변화는 Table 6과 같다.

조심유는 대조구 10.20%에서 처리구 8.98%로 감소되었으나 1년 및 2년 자연숙성된 구는 10.21%로 변화가 거의 없었다.

연소성은 9분 23초에서 7분 47초로 감소되었다.

2) 연기중 pH변화

잎담배의 연기중 pH의 변화는 Table 7과 같다.

Table 6. Change of chemical and smoke compositions of flue-cured leaf tobacco

Item	Crude Fiber (%)	Nicotine (%)	Burning Rate (m. s/3cm)	Smoke(mg/cig.)		
				Tar	Nicotine	CO
Control ^b	10.20	1.85	9' 23"	21.7	1.57	20.3
1year ^c	10.21	1.67	8' 37"	19.8	1.39	18.5
2year ^d	10.21	1.59	7' 35"	17.7	1.27	16.7
treated ^e	8.98	1.56	7' 47"	18.6	1.25	17.0

^anon-aging leaf tobacco

^bone year natural aging leaf tobacco

^ctwo years natural aging leaf tobacco

^dnon-aging leaf tobacco treated with selected two strains of bacteria (T-8-6 and LTH-203) under the condition of 40°C, R. H. 65% for 40days

Table 7. Changes of pH value in tobacco smoke

Control ^b	1 year ^c	2 year ^d	Treated ^e
5.22 ± 0.014	5.17 ± 0.018	5.02 ± 0.021	5.08 ± 0.01

^anon-aging leaf tobacco

^bone year natural aging leaf tobacco

^ctwo years natural aging leaf tobacco

^dnon-aging leaf tobacco treated with selected two strains of bacteria (T-8-6 and LTH-203) under the condition of 40°C, R. H. 65% for 40days.

재건조 직후 잎담배의 pH값이 5.22였으나 1년간 자연발효 후에는 5.17, 2년째에는 pH 5.02로 저하되었으며, 또한 가온에 의하여 처리된 시료에서도 pH 5.08로 저하되었다.

3) 잎담배의 색상

잎담배의 색은 품종, 건조구분에 따라 특유의 색과 광택을 가지고 있으며, 육안감정에서 가장 중요한 요소로 잎담배의 화학성분과 관계가 깊다.

색을 정확하게 비교하기 위해서 색채의 삼속성 즉 명도(L), 색도(a), 채도(b)를 측정하여 잎담배의 기본색에 대한 변화된 결과는 Table 8과 같다.

대조구는 색의 밝기에서, 명도는 레몬색으로 밝으며, 색도는 레몬색에서 연한 청색을 띠고 있는 것으로 單純하나 2년간 자연숙성된 잎담배와 처리구는 명도와 채도가 낮아서 짙은 오렌지색 내지 암갈색을 나타내며, 색도는 높아져서 여러가지의 색을 가졌다.

Table 8. Change of color of leaf tobacco

Color	Control ¹	1 year ²	2 years ³	Treated ⁴
L	60.96	50.70	45.95	47.69
a	2.84	5.69	6.13	5.80
b	26.99	20.93	19.57	20.46

L : Lightness

a : Green - Red

b : Blue - Yellow

¹non-aging leaf tobacco

²one year natural aging leaf tobacco

³two years natural aging leaf tobacco

⁴non-aging leaf tobacco treated with selected two strains of bacteria

(T-8-6 and LTH-203) under the condition of 40°C, R. H. 65% for 40 days.

4) 유기산 및 지방산

황색종 잎담배의 비휘발성 유기산 및 고급 지방산을 분석한 결과는 Table 9와 같다.

담배품질의 저하인자²¹⁾인 Malic, oxalic, citric acid는 대조구에 비하여 처리구가 적었다. 한편 품질에 양호한 성분인 고급지방산 linoleic acid는 1년 자연성숙에 1.11mg/g, 2년 자연성숙 및 가온 처리시 1.35mg/g으로 대조구 1.09mg/g보다 증가하였다.

이러한 결과는 Rhee 등¹⁶⁾의 결과와 일치되는 경향이였으며, 이러한 성분은 황색종 잎담배 고유의 乾燥臭, 果實臭와 유사한 官能的 특성²⁵⁾을 가지고 있다.

5) 잎담배중 향기성분

향기성분의 분리는 비교적 저온에서 증류하

였기 때문에 가열에 의한 성분변화를 줄일수 있었고 잎담배 자체의 향기와 유사한 정유성분을 얻을 수 있는 감압증기 증류법을 이용하여 얻어진 精油成分은 황색종 잎담배 특유의 乾燥臭, 꽃향기 및 果實臭²⁵⁾가 있다.

분리된 정유의 79개 성분은 Table 10에 나타냈다.

분리된 정유의 성분 중 무처리구에서 1% 이상을 차지하고 있는 성분은 furfural, solanone, β-damascenone, 2-acetyl purrole, neophytadiene, palmitic acid 등 6개 성분이었다. Ishiguro⁷⁾는 carotenoid系에서 유래하는 성분 중 damascenone과 megastigmatrienoleol, thunberganoid系에서 유래하는 성분 중 salanone이 황색종 잎담배의 대표적인 향기성분이라고 하였다. 향기성분 중 대표적 성분인 solanone은 대조구 2.95%, 처리구 4.87%, 2년

Table 9. Changes of non-volatile organic acid fatty acids of flue-cured leaf tobacco

Acids	mg/g			
	Control ^b	1 year ^c	2 years ^d	Treated ^e
Oxalic acid	22.20	20.15	16.80	14.7
Malonic acid	1.80	1.90	2.30	1.50
Succinic	0.38	0.41	0.35	0.31
Citric acid	4.20	4.10	3.90	3.70
Malic acid	41.50	34.40	36.2	35.9
Stearic acid	0.52	0.51	0.54	0.53
Oleic acid	0.62	0.57	0.19	0.17
Linoleic acid	1.09	1.11	1.35	1.35
Linolenic acid	3.48	3.46	3.11	3.14
Myristic acid	t*	t	0.05	0.05
Palmitic acid	4.10	4.10	3.60	3.70

* t : trace

^bnon-aging leaf tobacco^cone year natural aging leaf tobacco^dtwo years natural aging leaf tobacco^enon-aging leaf tobacco treated with selected two strains of bacteria

(T-8-6 and LTH-203) under the condition of 40°C, R. H. 65% for 40days.

Table 10. Change of volatile aroma components of flue-cured tobacco leaves

Compounds	Peak area(%)			
	Control ^b	1 year ^c	2 years ^d	Treated ^e
Ethyl formate	0.01	0.01	0.01	0.01
Ethyl acetate	0.03	0.02	0.04	0.03
iso-Propyl alcohol	0.03	t	t	t
Ethanol	0.28	2.06	1.37	0.55
iso-Valeraldehyde	0.03	t	t	t
n-Valeraldehyde	0.04	t	t	t
Toluene	0.05	0.02	t	t
n-Butanol	0.03	0.03	0.03	0.03
trans-2-Pentenal	0.04	t	t	t
pyridine	0.04	t	t	t
iso-Amyl alcohol	0.05	0.03	t	0.04
Limonene	0.04	t	t	0.03
2-Pentyl furan	0.10	0.06	t	0.03
trans-2-Hexanol	0.03	t	t	0.02
n-Pentanol	0.02	t	t	t
2-Methyl tetrahydrofurane-3-one	0.03	0.02	t	0.02

Table 10. Continued

Compounds	Peak area(%)			
	Control [†]	1 year [‡]	2 years [‡]	Treated [‡]
n-Hexanol	0.08	0.04	t	0.04
cis-3-Hexen-1-ol	0.04	0.03	t	0.02
6-Methyl-5-hepten-2-one	0.12	0.07	0.05	0.09
Acetic acid	0.06	0.04	0.07	0.06
Furfural	1.38	0.85	0.15	0.66
2-Ethyl hexanol	0.18	0.09	0.19	0.29
2-Acetyl furan	0.15	0.09	0.06	0.06
n-Pentadecane	0.06	0.08	0.08	0.07
Benzaldehyde	0.09	0.09	0.08	0.10
n-Propionic acid	0.17	0.19	0.33	0.27
Linalool	0.26	0.17	0.40	0.39
5-Methyl furfural	0.16	0.14	0.20	0.20
Protoanemonin	0.22	0.18	0.25	0.23
n-Hexadecane	0.41	0.36	0.20	0.29
Pulegone	0.10	0.09	0.14	0.11
Phenylacetaldehyde	0.17	0.11	0.09	0.31
Pentadecanolide	0.65	0.52	0.55	0.68
Furfuryl alcohol	0.51	0.47	0.23	0.54
3-Methyl butyric acid	0.26	0.24	0.11	0.27
2, 6, 6-Trimethyl-2-cyclohexen-1, 4-dione	0.21	0.22	0.28	0.38
α -Terpineol	0.06	0.11	0.08	0.15
5-Methyl fufuryl alcohol	0.03	0.04	0.05	0.09
Benzyl acetate	0.04	0.05	0.06	0.12
n-Valeric acid	0.08	0.08	0.05	0.08
Solanone	2.95	3.35	6.31	4.87
Methyl salicylate	0.26	0.32	0.45	0.39
α -Damascenone	0.08	0.07	0.11	0.08
2-Butenoic acid	0.06	0.01	0.26	0.21
Cyclotene	0.17	0.15	0.23	0.18
β -Damascenone	3.19	3.63	4.07	3.19
Benzyl alcohol	0.41	0.46	0.58	0.50
Geranyl acetone	0.78	0.69	0.81	0.72
β -Phenylethyl alcohol	0.35	0.56	0.71	0.58
BHT (artifact)	0.38	0.28	0.20	0.30
α -Ionone	0.02	0.78	0.09	a
2-Acetyl pyrrole	5.01	5.74	4.28	5.21

t : Trace

a : Not detected

Table 10. Continued

Compounds	Peak area (X)			
	Control [†]	1 year [‡]	2 year [‡]	Treated [‡]
Neophytadiene	59.31	58.23	60.80	58.80
β -Ionone epoxide	0.07	0.42	0.23	0.21
phenol	0.16	t	t	t
O-Cresol	0.31	0.34	0.37	0.30
3, 4-Dihydro- β -ionol	0.19	0.20	0.24	0.21
Caprylic acid	0.20	0.20	0.13	0.17
Pentadecanol	0.69	0.72	0.71	0.82
Methyl iso-eugenol	0.19	0.20	0.19	0.22
Megastigma-4, 6, 8-trienone	0.20	0.17	0.25	0.29
Nonanoic acid	0.31	0.21	0.26	0.30
2,3-Dimethyl-4-Pentyl-2-butenolide	0.25	0.21	0.28	0.34
4-Vinyl guaiacol	0.44	0.36	0.35	0.36
Methyl palmitate	0.42	0.32	0.39	0.42
Megastigma-4, 6, 8-trienone	0.90	0.99	1.41	1.45
Megastigma-4, 6, 8-trienone	0.30	0.22	0.38	0.35
Megastigma-4, 6, 8-trienone	0.51	0.50	0.65	0.75
Dihydroactinidiolide	0.62	0.62	0.35	0.38
Farnesyl acetate	0.22	0.15	0.08	0.15
Benzoic acid	0.12	0.10	0.06	0.11
Diethyl phthalate	0.09	0.04	0.04	0.08
Farnesyl acetate	0.14	0.17	0.13	0.15
3-oxo- α -ionol	0.34	0.36	0.31	0.37
Indole	0.25	0.25	0.15	0.21
Dibutyl phthalate	0.40	0.42	0.24	0.32
Palmitic acid	4.14	3.87	1.13	1.72

[†]non-aging leaf tobacco

[‡]one year natural aging leaf tobacco

[‡]two years natural aging leaf tobacco

[‡]non-aging leaf tobacco treated with selected two strains of bacteria

(T-8-6 and LTH-203) under the condition of 40°C, R. H. 65% for 40days.

자연숙성된 것은 6.31%였다.

6) 담배연기성분

GC-MS에 의한 담배연기 중 확인된 chromatogram과 그 성분을 Fig 1, 2, 3, 4와 Table 11에 나타냈다.

Peak No. 33, acrolein은 aldehyde系로서 주로 조섬유의 열분해에 의하여 발생하는 것으로 흡연시 자극성과 쓴맛을 주게된다. 대조구는 69.3 μ g/cig이며, 처리구는 58.6 μ g/cig이었으나 2년간 자연숙성된 것은 56.6 μ g/cig이었다.

纖維素 分解酵素 및 니코틴 分解細菌을 利用한 잎담배의 醱酵促進효과

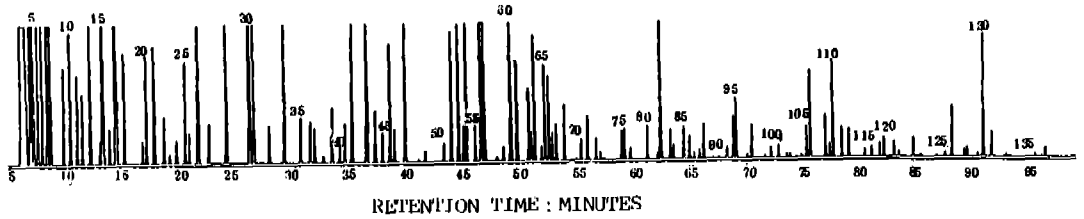


Fig.1. Gas chromatogram of aroma components in smoking material of cigarette manufactured with non-aging flue-cured leaf tobacco(Control).

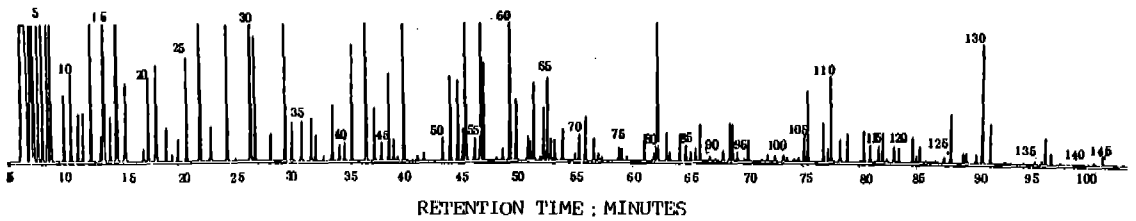


Fig.2. Gas chromatogram of aroma components in smoking material of cigarette manufactured with 1-year aged flue-cured leaf tobacco.

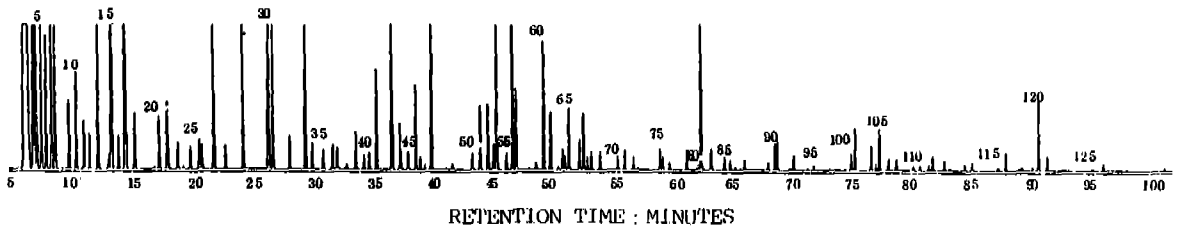


Fig.3. Gas chromatogram of aroma components in smoking material of cigarette manufactured with 2-year aged flue-cured leaf tobacco.

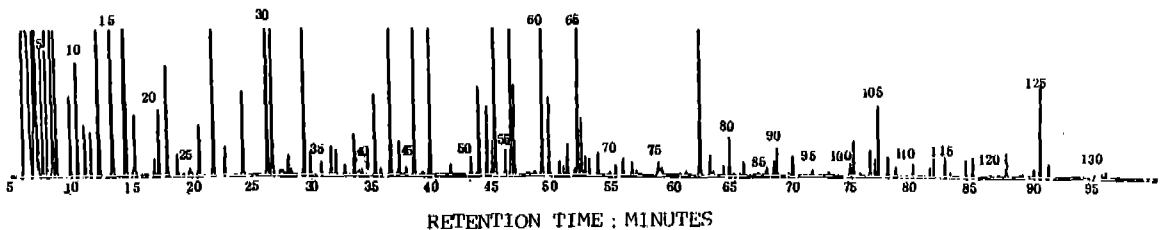


Fig.4. Gas chromatogram of aroma components in smoking material of cigarette manufactured with flue-cured leaf tobacco treated with selected two strains of bacteria.

Table 11. Compounds identified in flue-cured tobacco smoke

Peak No.	Compound	Identification	Peak No.	Compound	Identification
15	Ethanol	GC/MS	61	HCN	GC/MS
17	Isoprene	GC/MS	62	Iso butyronitrile	GC/MS
18	Hexane	GC/MS	63	Propionitrile	GC/MS
20	Pentadiene	GC/MS	65	2, 5 dimethyl furane	GC/MS
26	Methyl formiate	GC/MS	67	Pentanal-2	GC/MS
27	Cyclopentadiene	GC/MS	67	Pentanal	GC/MS
29	Propanal	GC/MS	68	Prntanone-3	GC/MS
30	Acetone	GC/MS	71	Butenal	GC/MS
31	Furane	GC/MS	72	Ethyl vinylcetone	GC/MS
32	Heptane	GC/MS	76	Nonane	GC/MS
33	Acroleine	GC/MS	77	Propanol	GC/MS
35	Methyl acetate	GC/MS	81	Toluene	GC/MS
43	Methanol	GC/MS	82	N-butyronitrile	GC/MS
46	Methyl furane	GC/MS	93	Hexanal	GC/MS
47	Butanone	GC/MS	105	Cyclopentanone	GC/MS
50	Octane	GC/MS	106	Ethyl benzene	GC/MS
51	Butenone	GC/MS	108	P-xylene	GC/MS
52	Methyl-3-butanol	GC/MS	110	M-xylene	GC/MS
54	Acetonitrile	GC/MS	117	Cumene	GC/MS
56	Benzene	GC/MS	119	O-xylene	GC/MS
57	Acetonitrile	GC/MS	126	Styrene	GC/MS
59	Methacrylonitrile	GC/MS	130	Limonene	GC/MS
60	Diacethyle	GC/MS			

Table 12. Sensory evaluation of flue-cured leaf tobacco

Item	Control [†]	1 year [‡]	year [§]	Treated [*]
Aroma	5.60	6.73	8.33	8.20
Mild	5.47	6.20	8.00	7.93
Taste	5.40	6.20	8.00	7.93
Total harmony	5.67	6.20	8.00	8.07

[†]non-aging leaf tobacco

[‡]one year natural aging leaf tobacco

[§]two years natural aging leaf tobacco

^{*}non-aging leaf tobacco treated with selected two strains

(T-8-6 and LTH-203) under the condition of 40°C, R.H.65% for 40days.

纖維素 分解酵素 및 니코틴 分解細菌을 利用한 잎담배의 醱酵促進효과

담배연기중 향기와 맛에 완화성을 주는 peak No. 46. methyl furan은 대조구 17.0 μ g/cig에서 처리구 35.9 μ g/cig로 증가되었다.

나. 담배의 관능검사
대조구와 처리구 그리고 1년 및 2년간 자연

숙성된 잎담배로 구분하여 제조된 담배를 9점 비교법으로 키크미를 상호비교 평가한 결과는 Table 12, 13, 14와 같다.

향각미 평가에서 대조구는 5.60이었으나 처리구는 8.20로 有意性이 있었으며 2년간 자연숙성된

Table 13. Score of sensory evaluation

Sample penal	(Mild)			
	Control ^a	1 year ^b	2 year ^c	Treated ^d
1	7	7	8	9
2	5	6	9	
3	6	5	8	8
4	6	7	9	9
5	5	7	8	7
7	5	6	8	8
8	5	6	8	7
9	6	6	8	7
10	5	6	9	8
11	5	6	7	8
12	5	4	8	8
13	6	8	7	8
14	5	6	8	7
15	6	7	7	9
Total	82	93	120	119
Mean	5.47	6.2	8	7.93

^anon-aging leaf tobacco

^bone year natural aging leaf tobacco

^ctwo years natural aging leaf tobacco

^dnon-aging leaf tobacco treated with selected two strains of bacteria (T-8-6 and LTH-203) under the condition of 40°C, R. H. 65% for 40days.

Table 14. Analysis of Variance

Factor	df	SS	V	FO	S	%	F
Total	59	103.0	1.75	3.74			(0.01)
Sample	3	72.3	24.10	51.50**	52.7	100	4.29
Personal	14	11.4	.814	1.74			2.48
Error	42	19.7	.468				
		25.4	Sum		52.7	100	

** P : 0.01

담배는 8.33으로 처리구와 대등하게 평가되었다.^{23,17)}

완화된 평가에서 대조구는 5.47, 처리구 7.93, 2년 자연숙성된 담배는 8.00이었다.

품질 전체평가에서는 대조구 5.67, 처리구 8.07 그리고 2년간 자연발효 숙성된 담배는 8.00으로 평가되었다.

5. 결 론

1988년 생산된 잎담배를 2년간 자연발효 숙성된 잎담배 수준으로 품질을 향상시키기 위하여 cellulase 및 니코틴 분해세균을 잎담배에 일정량 첨가한 다음 발효촉진시킨 효과에 대하여 검토한 결과는 다음과 같다.

가. 잎담배 100g당 cellulase 3ml($\mu\text{m D-glucose} / \text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$)와 니코틴 분해세균 2ml(1×10^9 cells/ml)를 첨가하여 40°C, RH 65%에서 40일간 발효숙성하여 대조구와 비교한 결과는 다음과 같다.

1) 잎담배 중 조섬유는 12% 감소되었으며 담배의 연소성은 대조구는 9분 53초, 처리구 7분 47초로 2년간 자연숙성된 잎담배 7분 35초와 비슷하였다.

2) 색상의 변화는 대조구의 명도가 60.96으로 밝은 레몬색이었으며, 처리구는 47.69로 2년간 자연숙성된 잎담배의 45.95와 비슷한 오렌지색 내지는 담갈색이었다.

3) 지방산중 맛의 완화성분인 linoleic acid는 대조구 1.09mg/g에서 처리구 1.35mg/g로 증가되어 2년간 자연숙성된 잎담배와 같은 효과가 있었다.

4) 잎담배의 향기성분은 solanone은 대조구 2.95%, 처리구가 4.87%로 증가되었다.

5) 담배연기성분중 향기가 좋은 methyl furan은 대조구 17.6 $\mu\text{g}/\text{cig}$ 에서 처리구 35.9 $\mu\text{g}/\text{cig}$ 로 증가된 반면, 저해성분인 acroleine은 대조구 69.3 $\mu\text{g}/\text{cig}$ 에서 처리구 58.6 $\mu\text{g}/\text{cig}$ 로 감소되었다.

나. 담배의 관능검사 결과 완화성은 대조구 5.47, 처리구 7.93, 2년간 자연숙성구는 8.00이었고 향기는 대조구 5.60, 처리구 8.20, 2년간 자연숙성구는 8.33이었다. 한편 조화미에 있어서는 대조구 5.67, 처리구 8.07로서 위렴을 1%에서 유의성이

인정되었으며, 2년간 자연숙성된 담배는 8.00이었다.

이상과 같이 종합적으로 보았을 때 처리구는 대체로 2년간 자연숙성된 잎담배 품질과 비슷한 것으로 평가되었다.

참 고 문 헌

1. CORESTA STANDARD METHOD, 13, 1968
2. Choman, B. R., Pennsylvania State Univ., State College, Pa., 1954
3. Cochran, W. G. & G. M. —Cox., Experimental Desegns. J. W., N. Y., 1957
4. Dixon, I. F. et al., Ind. Eng. Chem., 28, 2, 180, 1936
5. Frankenburg, W. G. & Vaitekunas, A. A., Arch. Biochem. Biophys., 58, 152, 1955
6. Hylin, J. W., N. SP. J. Bacteriology, 76, 36, 1959
7. Ishiguro, S. & Sugawara, S., Tobacco smoke and tobacco smoke flavor. Koryo, 130, 1, 31, 1981
8. Joergensen, A. C. P., Micro organisms & Fermentation, 5th Rev. LONDON, 1925
9. Miyake, Y., et al., Bull. Utsnomia Tob. Exp. Stn., 17, 51, 1979
10. Miyake, Y., et al., Bull. Utsnomia Tob. Exp. Stn., 16, 41, 1978
11. Miyake, Y., et al., Bull. Utsnomia Tob. Exp. Stn., 18, 25, 1981
12. Miyake, Y., et al., Bull. Utsnomia Tob. Exp. Stn., 18, 49, 1981
13. Newton, et al., U. S. Pat. NO. 4037609, 1977
14. Noguchi, M., et al., Sci. Paper. Central Res. Inst. Jap, 109, 9, 1967
15. Peterenoko, A. G., et al., Nauch-Isseldovatel Tabakai Makhoki, 150, 289, 1958
16. Rhee, M. S., et al., Kor. Soci. Tob. Sci., 4, 2, 75, 1982

17. Scheffe, H., Journal of Am. State College, Ames., 1956
18. Shinohara, T., et al., Bull. Morioka Tob. Exp. Stn., 6, 11, 1971
19. Sears, A. W. et al., 19th Tobacco Chemists Res. Conf. Lexington, Kentucky, 29, 1965
20. Spuros, P. L., Journal of Bacteriology, 69, 28, 1955
21. Tso, T. C. & G. B. Gori., Beitrage fur tabak forschung, 8, 167, 1975
22. Uchida, S., et al., Sci. Pap. Centr. Res. Inst. Japan Monop. Crop., 118, 197, 1976
23. Voges E., Storage & Ageing Tob. Encyclop., 406, 1984
24. Wada, E & Yamasaki, K., Journal of Ame. Chem. Soc., 76, 155, 1953
25. Wilson, R. A. et al., Tobacco Report., 10, 42, 1983
26. 한국인삼연초연구소, 담배연기성분분석법, 65, 1980
27. 한국인삼연초연구소, 담배연기성분분석법, 12, 1980
28. 허일, 한국연초연구소, 담배성분분석법, 1979