

항산화 필터 제조 및 주류연증 free radicals 제거 효과

김수호* · 차성제 · 심원택 · 정봉수 · 서만석 · 송인범 ·
장행현 · 신창호 · 김종열 · 김정열 · 최윤주
KT&G 중앙연구원
(2009년 6월 12일 접수)

The Manufacture of Antioxidant Filter and Removal Efficiency of the Free Radicals in Mainstream Smoke

Soo-Ho Kim*, Sung-Je Cha, Weon-Tack Shim, Bong-Su Cheong, Man-Seok Seo, In-Beom
Song, Hang-Hyun Jang, Chang-Ho Shin, Jong-Yeol Kim, Chung-Ryul Kim and
Yoon-Joo Choi

KT&G Central Research Institute, Daejeon 305-805, Korea
(Received June 12, 2009)

ABSTRACT : This study describes the manufacturing method of antioxidant filter and evaluate the reduction of free radical and biological activity from mainstream smoke. When we used spray-brush for the application of antioxidant solution to the filter, cv(coeffcient of variation) levels of antioxidant added to filter ranged within 3 %, which means stable and constant feeding process.

0.3~0.5mg per cigarette of antioxidant were sprayed to acetate and active carbon part in the filter plug, respectively. It was considered that the use of antioxidant added filter resulted in the reduction of the gaseous compounds of free radicals from 17 % to 19 % in the mainstream smoke. Variation for removal efficiency of free radical in antioxidant filter added to acetate part was more pronounced than that of filter added to active carbon part. Smoking deliveries of tar, nicotine for the antioxidant added filters were similar when comparing to the non-antioxidant added filter, but the delivering amounts of isoprene were significantly reduced.

The estimation of consumed GSH(glutathion) showed that the gaseous toxicity of the antioxidant added filter was 14 % ~ 23 % lower than that of non-antioxidant added filter. No significant differences were observed for the total taste quality in sensory evaluation.

Key words : antioxidant, free radicals, filter, smoking delivery.

담배연기는 4,700종 이상의 화합물로 구성된 것으로 알려져 있으며, 그 중 많은 성분은 라디칼 형태로 존재한다고 보고되고 있다(Bluhm 등,

1971; Church and Pryor, 1985). 자유 라디칼은 통상적으로 짝짓지 않은 활성전자를 갖는 분자단을 일컬으며 이로 인해 반응성이 매우 크고 수명이

*연락처 : 305-805 대전광역시 유성구 신성동 302 번지, KT&G 중앙연구원

*Corresponding author : KT&G Central Research Institute, 302 Shinseong-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-805, Korea (phone: 82-42-866-5560; fax: 82-42-866-5426; e-mail: shkim@ktng.com)

짧은 특징을 가지고 있으며(Takanami 등, 2002), 최초로 발견된 자유 라디칼은 트리페닐 메틸로 알려져 있다.

담배 주류연중 자유 라디칼이 주목 받는 이유는 빠른 반응성에 의해 발암성 및 돌연변이 유발 가능성이 있을 수 있다고 보고되고 있기 때문이다(Pryor 등, 1983). 주류연중에는 알콕시, 알킬 라디칼 등이 주로 존재한다고 보고되고 있으며 (Church and Pryor, 1985), NO 및 isoprene은 가스상 자유 라디칼 생성에 있어 중요한 역할을 한다고 보고되어 있다(Takanami 등, 2002). 담배 주류연중 입자상에는 주로 PAHs(polycyclic aromatic hydrocarbon)과 quinone 같이 보다 안정적인 프리 라디칼 종류가 포함되어 있는데 이중 일부는 담배 필터로 제거된다(Zhao, 1989).

담배 주류연중에 포함된 자유 라디칼은 매우 짧은 시간 동안 존재하지만 특정 물질을 생성하는데 있어 전구체 역할을 수행하기 때문에 이와 같은 자유 라디칼을 제거함으로써 특정 유해성분을 감소시킬 수 있다.

담배 주류연중에 포함되어 있는 자유 라디칼을 분석하기 위해서는 전자 회전 공명 분광법(ESR, Electron Spin Resonance)(Bluhm 등, 1971)을 주로 사용하고 있다. 특히 가스상 자유 라디칼과 같이 소멸시간이 매우 짧은 것들은 회전 포집법에 의해 shelf life가 긴 보다 안정한 상태의 화합물을 형성시켜 분석을 수행한다. 이와 같은 스핀 포집 용액은 분석하고자 하는 자유 라디칼의 종류에 따라 DMPO(5,5-dimethyl-1-pyrroline-*N*-oxide), TEMPO(2,2,6,6-tetramethyl-1-piperinyloxy), PBN (*N*-tertbutyl-2-phenyl nitron) 등이 사용되고 있다(Baum 등, 2003).

담배 연기중에 포함된 자유 라디칼을 감소시키는 방법은 생성 자체를 억제시키거나 생성된 화합물을 필터 등에 흡착제나, 항산화제 등을 첨가함으로써 제거가 가능한 것으로 알려져 있다 (Zhao 등, 2002). 최초로 Lyons에 의해 주류연중 자유 라디칼의 존재가 보고된 이후 통상의 켈런에서 약 10^{16} 개 이상의 자유 라디칼이 존재한다고 알려져 있다(Lyons 등, 1958).

1995년 바이오피직스 인스티튜트 및 베이징 시

가렛 팩토리가 공동연구를 통해 허브 식물에서 추출한 폴리페놀, 비타민 C 및 활성탄 혼합물을 함유한 주류연중 자유 라디칼 제거용 필터를 개발하였으며, 이 필터를 이용하여 주류연중 자유 라디칼을 약 14% 이상 감소시켰다고 보고 하였고, 현재 "中南海" 라는 제품으로 중국 및 일본에 판매하고 있다. 또한 2003년 중국의 Zhao 등은 프랑스의 호르파그사에서 발명한 자연산 항산화제인 proanthocyanidines(소나무 껍질 추출물)을 필터에 처리하여 주류연중에 포함된 자유 라디칼과 반응시켜 제거하는 방법에 대한 특허를 출원 하였으며, 반응 후의 proanthocyanidins는 인체에 무해하며, 특허상의 주요 target 물질은 알킬, 알콕실, 페록실 및 일산화질소 자유 라디칼로 저자는 주로 PAHs 계열 및 TSNAs(tobacco specific nitrosamine) 계열에 대한 선택적 제거능을 보인다고 주장하였다(Zhao 등, 2002).

국내에서는 2006년부터 자유 라디칼 제거 연구를 시작 하였으며, 다양한 항산화제에 대한 자유 라디칼 제거 효과 연구가 수행 되었다. 따라서 본 연구에서는 이들 결과를 토대로 실제 제품 개발 시 제품 적용에 필요한 항산화제 용액의 필터 적용방법 및 필터의 대량 생산성을 확보하고 이들 적용 방법에 대한 장단점 및 자유 라디칼 제거 효과를 비교하였다.

재료 및 방법

항산화제 및 항산화제 용액

본 실험에 사용한 항산화제는 백색 분말 형태의 비타민 유도체로서 1990년 일본의 Hayashibara사에 의해서 개발되었다. 이 비타민 유도체는 ascorbic acid에 효소(glucosidase)를 처리하여 합성한 것으로 ascorbic acid의 2번 탄소에 위치한 수산기를 glucose로 치환시킨 것이며, 이 유도체는 자체로써도 대단히 안정하고, 산화반응 하에서도 그 안정도가 우수한 것으로 알려져 있다. 또한 김치 숙성중 발생하며, 생체 내에서 효소에 의해 가수 분해되어 세포와 조직중에서 비타민 C와 같은 생리활성을 발휘하고, 자유 라디칼 감소에 의한 산화적 손상을 억제하며, 면역력

증가, 미백, 주름 개선효과가 있으며, 비타민 C 본래의 효능과 효과는 유지하면서 비타민 C 보다 수용액에서 안정성이 매우 높아 건강식품 및 화장품 등에 널리 사용되고 있다(Takebayashi 등, 2002; Yamamoto 등, 2002).

필터에 적용하기 위해서 비타민 유도체를 증류수에 녹여 사용하였으며, 이때 사용한 비타민 유도체의 농도는 중량 퍼센트로 20.0 %(w/v)인 용액을 사용하였다.

또한 현장 작업자들이 손쉽게 항산화제 용액의 농도를 확인 할 수 있는 방법을 탐색하기 위하여 실험에 사용한 20.0 %(w/v) 용액(용매는 1차 증류수)의 pH, 비중, 당도 분석을 하였으며, 그 결과는 Table 1에 나타내었다.

Table 1에서 보는 바와 같이 pH는 농도에 따른 차이가 크지 않아 참고 자료로 활용 가능하며, 비중은 용액농도에 따라 유의적인 차이가 나타났으나, 정확한 무게측정기가 필터제조 현장에는 없으므로 현장 적용에는 곤란하다. 마지막으로 디지털 당도계(RA-250/KEM사/일본, 굴절률 이용)를 이용하여 당도를 측정된 결과 높은 신뢰성을 보였고, Fig. 1에서 보는 바와 같이 용액농도와 당도가 직선관계를 나타내어 현장에서 손쉽게 이용 가능할 것으로 판단된다.

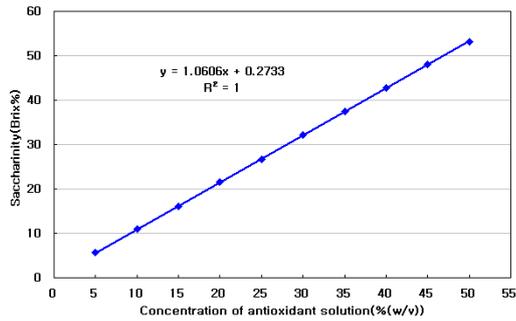


Fig. 1. Saccharinity with concentration of antioxidant solution.

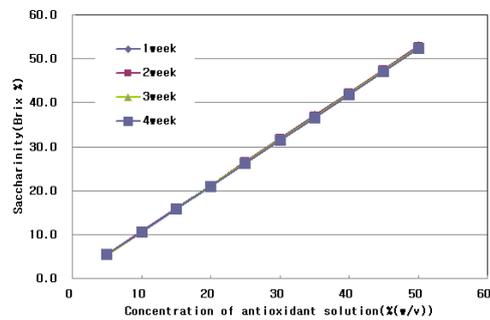


Fig. 2. Saccharinity with storage time of antioxidant solution.

Table 1. Saccharinity, specific gravity and pH of antioxidant solution.

Concentration of solution (%(w/v))	Saccharinity	Specific gravity	pH	weight (100ml)
0	-	1.0000	-	100.00
5.0	5.6	1.0179	1.95	101.79
10.0	10.9	1.0392	1.75	103.92
15.0	16.1	1.0603	1.61	106.03
20.0	21.2	1.0829	1.54	108.29
25.0	26.7	1.1065	1.49	110.65
30.0	32.2	1.1311	1.42	113.11
35.0	37.4	1.1566	1.33	115.66
40.0	42.7	1.1828	1.26	118.28
45.0	48.1	1.2098	1.19	120.98
50.0	53.2	1.2397	1.14	123.97

또한 항산화제 용액의 안정성을 알아보기 위하여 저장기간에 따른 당도 변화를 측정하여 Fig. 2에 나타내었다. 그 결과 20.0 %(w/v) 용액의 경우 1개월 저장 후 당도는 21.2 에서 21.0으로 0.2 brix(0.94%) 감소하는 결과를 나타내어 매우 안정한 것으로 나타났다.

항산화 필터 제조 방법

항산화제 필터를 제조하기 위하여 transport jet nozzle 분무 방법, thread 필터 적용 방법, 가소제 분무 방식과 동일한 brush type 분무방법을 비교 검토하였으며, 각각의 적용방법의 특징을 Table 2에 나타내었다.

본 실험에 적용한 transport jet nozzle 분무 방법은 Fig. 3에서 보는바와 같이 transport jet의 끝부분에 노즐을 장착하여 압축공기로 용액을 분사시키는 방법이다. 이 방법으로 제조한 필터 반제품에 첨가된 항산화제를 분석한 결과 필터에 정확한 양을 공급하는 것이 가능하며, 생산성 및 필

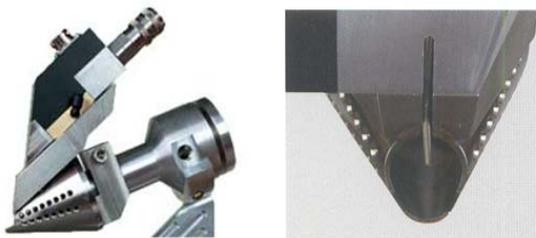


Fig. 3. Apparatus of Transport Jet Nozzle for antioxidant application in filter.

터 제조 작업성에서도 좋은 결과를 나타냈지만, Table 2에서 나타낸 것과 같이 thread 필터와 마찬가지로 항산화제 용액이 중앙에 위치함으로 인해 연기성분과의 접촉 면적이 작아서 자유 라디칼 제거 효과가 거의 없는 것으로 나타났다.

따라서 항산화제 용액을 필터 전체에 균일하게 분무시켜 주기 위하여 Fig. 4에서 보는 바와 같이 가소제(triactin)와 혼합 분무시 용액 변색 등의 문제점을 보완하고 대량 생산 체제를 구축하기 위하여 기존의 가소제 분무 방식(brush type)과 동일한 별도의 brush type 분무설비를 추가 설치하였다. 본 분무 설비에 사용된 재질은 항산화제 용액의 변색에 원인이 되는 철, 구리 등의 금속이 포함되어 있지 않은 stainless steel을 사용하였으며, 용액의 이송 pump도 PVC 재질의 diaphragm type의 metering pump(DMA-02/동일 MT/한국)을 사용하였다.

필터제조 방식은 Fig. 4에 나타낸 바와 같이 가소제가 먼저 토우에 분무되고 이어서 항산화제 용액이 토우에 분무되는 방식으로 본 연구에 사용한 필터에는 항산화제 필터 tip 당 0.4 mg이 투입되도록 제조하였다.

필터 제조시 첨가되는 20.0 %(w/v) 항산화제 용액의 양은 96 mm 반제품 필터플럭 기준으로 16 mg/rod[16 mg 항산화제 용액/rod(20.0 wt%) = 3.2 mg/rod 항산화제 = 0.4 mg x 8 tip/rod]으로 매우 작기 때문에 필터 무게 기준으로 첨가량을 조절하기가 어렵다. 따라서 항산화제 용액의 균일한 첨가를 위하여 용액 공급 brush roller의 RPM에 따라 필터를 제조한 후 항산화제 투입량을 분

Table 2. Characteristics with filter application method of antioxidant solution

application method	Transport Jet Nozzle spray	Thread Filter	Brush type spray
advantage	added uniformly antioxidant in filter	possible use of present process	spray of antioxidant in filter cross section
weakness	a location of antioxidant in filter center	a location of antioxidant in thread filter center	need of spray equipment
applicability	good	good	good
effect (vs. control)	no	no	about 17 % reduction of free radicals

석 하였다. 그 결과 RPM에 따른 항산화제 첨가량이 Fig. 5에서 보는바와 같이 2차 회귀 식으로 나타나 이를 적용한다면 안정적으로 항산화제를 필터에 첨가시킬 수 있는 것으로 확인되었으며, 이 결과를 토대로 하여 항산화제 필터제조 조건을 설정하였다.



Fig. 4. Apparatus of brush type atomizer for antioxidant application to filter.

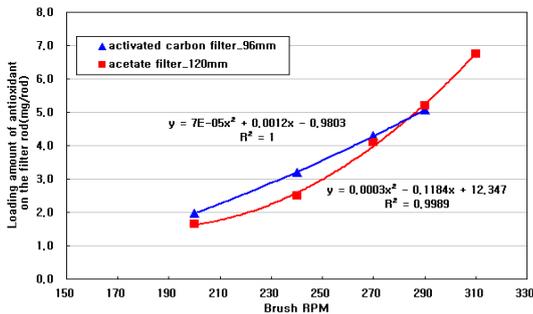


Fig. 5. Loading amounts of antioxidant on the filter rod with brush roller rpm.

필터중 항산화제 분석

본 실험에 사용한 필터는 이중 복합 필터로서 구부의 아세테이트 필터에 항산화제를 적용한 경우에는 정확한 항산화제의 첨가량을 분석할 수 있지만, 각초부의 탄소 필터에 적용한 경우에는 추출용매로 필터중 항산화제를 추출할 때 활성탄에 의한 항산화제의 흡착으로 정확한 분석을 할

수 없었다. 따라서 본 실험에 사용한 탄소 반제품 필터에 첨가된 항산화제의 분석을 위해 필터 제조시 활성탄의 투입부를 막은 후 아세테이트 토크와 항산화제만으로 필터를 제조하여 항산화제 분석에 사용하였다.

필터중 항산화제의 분석 방법은 다음과 같다.

- 시료 전처리
 - 시료량 : 필터 플럭 2 Rod.
 - 추출용매 : 0.1% Acetic acid 50 mL
 - 추출 방법 : 30분 진탕 추출
- HPLC 분석
 - Column : C18, 250 x 4.0 mm, 4 μ m (Synergi 4u Hydro-RP 80Å)
 - 이동상 : 0.1% Acetic acid
 - Detector : UV absorbance(파장 252 nm)

주류연중 free radical 분석

담배 주류연중 자유 라디칼은 ESR을 이용하여 분석 하였다. ESR은 긴 수명을 갖는 자유 라디칼(고체, 액체 및 기체)을 직접 분석 할 수 있는 가장 민감한 분석 방법으로 알려져 있다(Muller 등, 2003). 담배 주류연중 반응성을 갖는 라디칼들은 spin trapping법을 이용하여 안정한 상태의 spin 화합물을 형성시켜 긴 수명을 갖는 라디칼로 변환되며, 이 긴 수명을 갖는 라디칼을 ESR로 분석 하게 된다.

담배 주류연중 자유 라디칼의 분석방법은 다음과 같다.

- 흡연 장치 : Borgwaldt RM 20/CS rotary smoking machine (20개비 흡연 : ISO 3308 흡연 조건)
- 입자상 자유 라디칼 포집 : 92 mm Cambridge filter pad
- 가스상 자유 라디칼 포집 : 10 $^{\circ}$ C cold trap
- Impinger : 5 mL trapping solution 4 개
- 가스상 스핀 트랩 용액 : 0.01 M PBN/Benzene
- 포집용액을 Ar 가스로 3 분간 Purging
- 4mm quartz ESR tube에 넣고 ESR 분석

주류연중 가스상 분획의 제조 및 독성 평가

담배연기로부터 가스상 분획(gas/vapor phase,

GVP)의 포집을 위해 100 mL gas washing bottle 을 사용하였다. ISO 흡연조건(puff volume: 35 mL, puff frequency: 60 sec, puff duration: 2 sec) 에 따라 10 개비 담배시료를 자동흡연장치 (Heinrich Borgwaldt RM20/CS ; Germany)를 이용하여 연소시킨 후, Cambridge filter pad를 통과한 가스상 성분들을 10 mL의 ice-cold PBS(phosphate buffered saline, pH 7.4) 용액이 있는 gas washing bottle에 포집하였다. 최종 GVP의 농도가 10 mg TPM equivalent/ml PBS가 되도록 PBS의 용량을 조정하였다. 가스상 분획에 대한 GSH 소모율을 측정하여 각 시료들에 대한 가스상 독성을 비교 조사하였다. GSH 소모율은 DTNB[5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid), Sigma Chemical Co, St. Louis, MO]를 이용하는 비색법에 따라 측정하여 각 시료의 가스상 독성을 비교 하였다(Park 등, 2007).

결과 및 고찰

항산화제 필터 및 시제품 제조

본 연구에 사용된 필터는 이중 필터로서 항산화제 수용액은 brush type 분무 방식을 적용하였으며, Table 3에서 나타낸 바와 같이 아세부(15 mm)와 탄소부(12 mm)에 각각 첨가하여 자유 라디칼 제거 효과를 비교하였다.

필터에 첨가된 가소제 및 항산화제의 첨가량을 분석한 결과 가소제는 변동율(cv) 3 % 이내로 매우 균일하게 첨가되는 것으로 나타났다. 또한 항산화제의 첨가량 분석 결과도 변동율 3 % 이내로 가소제 첨가량과 같은 수준으로 나타났다. 따라서 항산화제 필터제조시 가소제 분무방식과 동일한 brush type 분무방식을 적용하여 안정적으로 필터를 제조할 수 있을 것으로 판단된다.

항산화제 시제품은 시판중인 특정제품의 각 초

Table. 3. Physical properties of filter samples used for experiments.

sample	Filter physical properties														
	Dual filter		acetate mono filter						activated carbon mono filter						
	PD ¹⁾	C ²⁾	PD	C	TA ³⁾	antioxidant	PD	C	TA	AC ⁴⁾	antioxidant	PD	C	TA	AC ⁴⁾
	mmWG	mm	mmWG	mm	%	cv(%)	mg/tip	cv(%)	mmWG	mm	%	cv(%)	mg/mm	mg/tip	cv(%)
control	464.3 (9.8)	24.20 (0.034)	440.2	23.67	4.8	1.48	-	-	506.8	23.66	5.0	1.12	1.8	-	-
0.40 mg/ AC part	454.8 (11.6)	24.22 (0.045)	438.3	23.68	4.8	1.04	-	-	515.3	23.72	4.9	2.18	2.0	0.40	0.85
0.54 mg/ AC part	456.3 (10.2)	24.19 (0.039)	438.3	23.68	4.8	1.04	-	-	517.8	23.68	4.5	1.85	2.0	0.54	0.64
0.31 mg/ A ⁵⁾ part	468.2 (9.0)	24.18 (0.043)	421.2	23.67	3.9	2.50	0.31	2.97	514.2	23.71	5.0	0.66	2.0	-	-
0.51 mg/ A part	470.2 (10.1)	24.20 (0.043)	416.2	23.70	4.6	0.84	0.51	0.41	514.2	23.71	5.0	0.66	2.0	-	-

- 1) PD : pressure drop () : standard deviation
- 2) C : circumference
- 3) TA : triacetin
- 4) AC : activated carbon
- 5) A : acetate

Table 4. Physical properties of cigarette samples used for experiments.

Sample name	cigarette physical properties						
	weight			Vent	EPD ¹⁾	UPD ²⁾	C
	Total	material	tobacco				
	mg	mg	mg	%	mmWG	mmWG	mm
control	876(16)	293	584	78.6(1.0)	173.2(4.1)	67.8(2.4)	24.6(0.053)
0.40 mg/AC part	881(17)	293	588	80.6(1.0)	176.3(4.9)	66.2(2.4)	24.5(0.051)
0.54 mg/AC part	877(17)	293	583	80.5(0.9)	171.7(5.0)	66.1(2.6)	24.6(0.053)
0.31 mg/A part	875(15)	293	583	81.9(0.8)	169.5(4.2)	62.3(3.3)	24.6(0.045)
0.51 mg/A part	869(18)	293	577	81.1(1.1)	171.6(6.4)	64.0(3.6)	24.6(0.110)

1) EPD : Encapsulated pressure drop

() : standard deviation

2) UPD : Unencapsulated pressure drop

및 재료품을 사용하여 제조하였으며, 시제품 제조 내역은 Table 4에서 보는 바와 같다.

실험에 사용하기 위한 시제품 선별조건은 총중량 876 ± 10 mg, EPD 172 ± 5 mmWG, 공기 회석을 80 ± 2 %의 조건으로 선별을 하였으며, 연기성분 등의 분석을 위하여 선별된 시료는 22 ± 1 °C, 60 ± 1 %RH의 항온 항습실에서 48시간 조화 후 분석용 시료로 사용하였다.

Free radicals 분석 결과

항산화제를 처리한 시제품의 자유 라디칼 분석 결과를 Fig. 6에 나타내었다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 항산화제를 0.31 ~ 0.54 mg 필터 팁에 적용한 결과 11.8~19.0 % 자유 라디칼이 감소하는 결과를 얻었다. 항산화제를 탄소부에 0.40 및 아세부에 0.31 mg/tip 첨가한 시료가 약 0.50 mg/tip 이상 첨가한 시료보다 자유 라디칼 제거 효율이 높게 분석되었는데, 이는 이전 연구 결과 (Park 등, 2007)에서 밝힌 바와 같이 항산화제를 0.4 mg 첨가한 경우 자유 라디칼 제거 효과가 가장 크다는 연구 결과와 일치한다. 본 연구에 사용된 시제품중 최대 자유 라디칼 제거율을 나타낸 시료는 아세부에 항산화제를 0.31 mg 적용한 시료로 이는 이전 연구 결과(Park 등, 2007)에서 밝힌 바와 같이 탄소부의 활성탄에 의한 효과와 아세부의 항산화제 처리에 의한 복합 효과의 영향

으로 판단된다. 또한 항산화제를 아세부에 적용한 경우 자유 라디칼 제거율에 대한 변동율이 높게 나타나는데 그 이유는 첫째, 높은 공기 회석을 적용에 따른 주류연 연기의 유속이 구부에서 더 빠르게 나타나고, 둘째, 주류연이 중앙으로 치우쳐 통과하는 현상이 주된 원인으로 판단된다. 따라서 항산화제 적용시 품질과 제거효과 측면에서 탄소부에 0.40 ± 0.1 mg/tip 수준으로 첨가하는 것이 바람직하다고 판단된다.

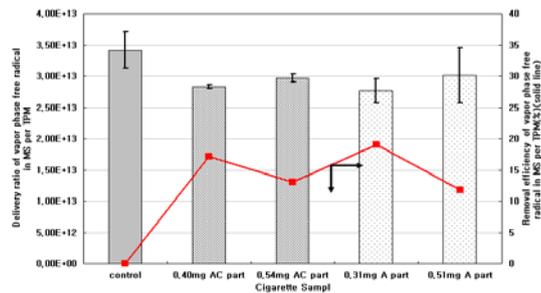


Fig. 6. Delivery ratio and removal efficiency of vapor phase free radicals in mainstream smoke per TPM.

일반 연기성분 분석 결과

일반 연기성분 분석결과 Table 5에서 보는 바와 같이 항산화제 시제품의 경우 대조구 대비 tar

Table 5. Delivery amounts of general smoke components in mainstream smoke.

Sample No.	general smoke components						
	TPM	Tar	Nicotine	CO	Puff	Water	NO
	mg/cig.	mg/cig.	mg/cig.	mg/cig.	number	mg/cig.	µg/cig.
control	1.3	1.10	0.10	1.10	7.00	0.1	40.0
0.40 mg/AC part	1.1	1.00	0.07	0.90	7.10	0.1	38.7
0.54 mg/AC part	1.2	1.00	0.08	0.90	7.00	0.1	40.7
0.31 mg/AC part	1.0	0.80	0.07	0.80	7.00	0.1	37.3
0.51 mg/AC part	1.0	0.90	0.08	0.80	7.00	0.1	41.3

및 nicotine 분석 값이 다소 감소하는 경향을 나타내는데 이는 시제품 물리성에서 나타난 바와 같이 공기 희석율의 증가에 따른 결과로 사료된다. 자유 라디칼의 생성은 연기성분중 NO와 매우 밀접한 상관성을 갖는다고 알려져 있지만(Pryor 등, 1984) 본 실험 결과에서는 자유 라디칼의 생성과 NO와의 상관성은 없는 것으로 나타났으며, 이러한 결과는 동일 tar 수준에서는 NO와 자유 라디칼간의 상관성을 보여주지 않는다는 이전 연구 결과와 잘 일치한다(Park 등, 2007).

Hoffmann's 연기성분 분석 결과

Fig. 7에서는 호프만 성분중 휘발 성분(VOCs, volatile organic compounds)의 이행량을 대조구에 대한 상대값으로 나타내었다. Fig. 7에서 보는 바와 같이 항산화제를 첨가한 시제품에서 isoprene

의 이행량이 크게 감소하였으며, 이는 자유 라디칼 감소 경향과 같은 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 isoprene이 가스상 자유 라디칼 생성에 있어 중요한 역할을 한다는 연구 결과와 잘 일치하고 있다(Takanami 등, 2002). 그러나 tar 당 VOCs의 총 이행량은 항산화제의 적용 위치 및 적용량에 따라서는 대등한 것으로 분석되었다.

Carbonyls 화합물 이행량은 항산화제의 첨가량이 많을수록 감소하는 경향으로 나타났으며, tar 당 TSNAs 이행량은 항산화제를 첨가한 시료의 경우 약간 증가하는 경향을 나타내지만 오차 범위내로 분석되었다. 이외의 Hoffmann's list 성분은 대조구와 편차 이내의 대등한 수준으로 분석되었다. 주류연중 carbonyls 화합물과 TSNAs의 이행량 분석결과를 각각 Fig. 8과 9에 나타내었다.

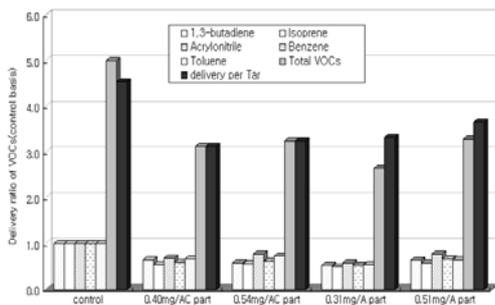


Fig. 7. Delivery amounts of VOCs in mainstream smoke.

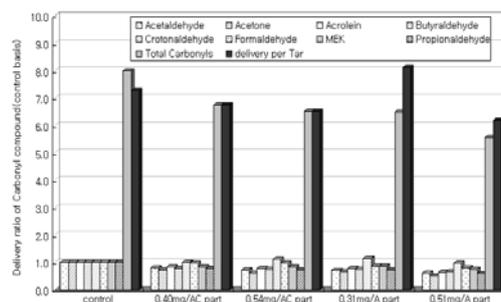


Fig. 8. Delivery amounts of carbonyl compounds in mainstream smoke.

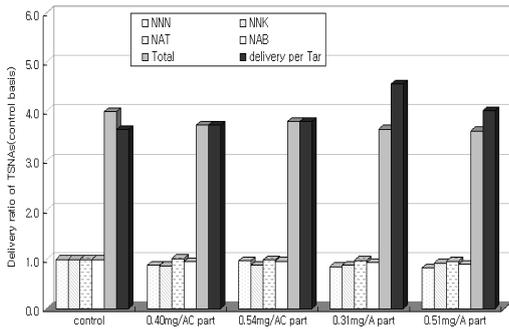


Fig. 9. Delivery amounts of TSNA in mainstream smoke.

안전성 평가 결과

항산화제 시제품의 안전성 평가를 위하여 가스상 분획의 GSH 소모량을 측정하였다. GSH 소모량은 세포독성 측정 지표 중의 하나로 소모량이 증가할수록 세포독성이 증가한다고 알려져 있다(Cahours 등, 2006; Cristin 등, 2003). 본 연구에서는 담배 주류연의 가스상 분획에 대한 GSH 소모량을 측정하여 가스상 독성 평가를 실시하였다.

GSH 산화에 대한 시제품의 영향 평가 결과, 가스상의 GSH 소모량은 Table 6에서 보는 바와 같이 항산화제를 0.31~0.54 mg/tip 첨가한 시제품에서 16~33 % 감소되는 결과를 나타내었다. 또한 이중복합 필터중 아세부에 적용시 효과가 다소 상승되는 경향으로 나타나지만 유의한 차이는 없는 것으로 판단된다.

관능평가 결과

항산화제 첨가에 의한 담배 맛의 변화 가능성을 알아보기 위하여 관능평가를 실시하였다. 관능평가는 항목 차이 식별 방법으로 흡연 전 이취, 흡연중 이취미, 킁미강도, 자극성, 전체 담배 맛, 흡연 후 뒷맛의 깨끗함을 평가하였으며, 관능평가 패널은 잘 훈련된 20명의 패널에 의하여 blind 평가를 하였으며, 그 결과를 Fig. 10에 나타내었다. Fig. 10에서 보는 바와 같이 주요 담배속성에서 항산화제에 의한 변화는 없는 것으로 평가되었다.

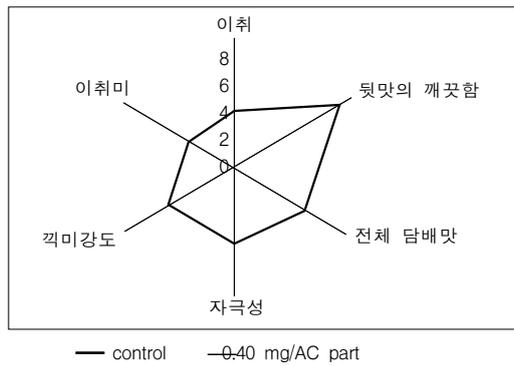


Fig. 10. Comparison of sensory evaluation for control vs. antioxidant sample cigarette.

결 론

본 연구에서는 최근 들어 연구가 활발히 진행되고 있는 자유 라디칼의 감소 방법과 실제 담배

Table 6. Comparison of GSH consumption on an equal TPM basis.

sample	consumption of the Glutathione (μmol/mg TPM)	ratio of GSH consumption (sample/control)
control	0.0332 ± 0.0032	1.00
AC part 0.40mg/tip	0.0279 ± 0.0012	0.84
AC part 0.54mg/tip	0.0271 ± 0.0013	0.82
A part 0.31mg/tip	0.0255 ± 0.0020	0.77
A part 0.51mg/tip	0.0268 ± 0.0012	0.81

에 적용하기 위한 필터 제조 방법에 대한 연구를 수행하였다. 본 연구에 사용한 비타민 유도체의 항산화제는 수용액 상태로 필터에 첨가되었으며, 금속에 의한 항산화제 용액의 변색을 방지하기 위하여 필터 제조기에 stainless steel 재질로 제조한 brush type의 공급 설비를 별도로 제작하여 사용하였다. 분무 RPM에 따른 항산화제의 필터 첨가량 변동율은 3 % 이내로 분석되었으며, 안정적으로 항산화제를 필터에 첨가시킬 수 있는 것으로 확인되었다.

항산화제 시제품의 자유 라디칼 제거 효과는 항산화제를 아세부와 탄소부에 각각 0.31, 0.40 mg/tip으로 처리시 주류연중 가스상 자유 라디칼을 17~19 % 감소시키는 결과를 얻었으나, 아세부에 적용한 경우에는 편차가 큰 것으로 나타났다. 따라서 항산화제 적용시 품질과 제거효과 측면에서 탄소부에 0.40 ± 0.1 mg/tip 수준으로 첨가하는 것이 바람직하다고 판단된다. 연기성분 분석 결과 일반 연기성분은 대조구와 대등한 결과를 나타내었으며, Hoffmann's 성분중 isoprene의 이행량이 크게 감소하였고, 그 밖의 성분은 대조구와 편차 이내의 대등한 결과를 나타내었다.

시제품의 가스상 분획 독성을 평가하기 위해 GSH 소모량을 측정된 결과, 대조구에 비해 항산화제 적용 시제품의 GSH 소모량이 유의적으로 감소하였으며, GSH 독성을 14~23 % 감소시키는 결과를 나타내었다. 관능평가 결과 주요 담배 맛속성에서 항산화제 처리에 의한 변화는 없으므로 나타났다.

이러한 결과들은 향후 차별화 제품개발 및 첨가제의 필터 적용을 위한 단위기술로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

Baum, S.L., Anderson, G.M., Baker, R.R., Murphy, D.M. and Rowlands, C.C. (2003) Electron spin resonance and spin trap investigation of free radicals in cigarette smoke: development of a quantification procedure, *Analytica Chimica Acta*. 481:

1-13.
 Bluhm, A.C., Weinstein, J. and Sousa, J.A. (1971) Free radicals in tobacco smoke. *Nature* 229: 500.
 Cahours, X., Blanchet, M., Haond, C., Marchand V. and Dumery, B.A. (2006) Cell-free method to assess the gaseous phase cytotoxicity of cigarette smoke. *Coresta Conference Paris*, France.
 Church, D.F. and Pryor, W.A. (1985) Free radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ. Health Pespect.* 64: 111-130.
 Cristin, A., Daniela, G. and Alfredo, N. (2003) A review of in vitro methods to assess the biological activity of tobacco smoke with the aim of reducing the toxicity of smoke. *Toxicol. In vitro* 17: 587-594
 Lyons, M.J., Gibson, J.E. and Ingram, D.J.E. (1958) Free-Radicals produced in Cigarette Smoke, *Nature* 181: 1003-1004.
 Müller, C. and Intorp, M. (2003) Free radicals in mainstream cigarette smoke : methodology and influencing parameters, *CORESTA Congress Freiburg*
 Park, C.H., Shon, H.O., Shin, H.J., Lee, H.S., Min, Y.K. and Hyun, H.C. (2007) Toxicity assessment of gas phase cigarette smoke using cell-free method. *J. Kor. Soc. Tob. Sci.* 29: 110-117
 Park, J.W., Kim, J.Y., Lim, S.H., Kim, C.R., Rhee, M.S. and Kim, Y.H. (2007) 주류연중 자유 라디칼 제거용 아스코르빈산 유도체 함유 킬런 필터, 대한민국 특허, 10-0903951.
 Park, J.W., Kim, S.H., Kim, J.Y., Kim C.R. and Rhee, M.S. (2007) The scavenger effects of various antioxidants in cigarette filters on the free radicals in mainstream smoke, *61ST Tobacco Science Research Conference*, Charlotte, North Carolina, USA.
 Pryor W. A, Tamura M, and Church D. F.

- (1984) ESR spin trapping study of radicals produced in NO_x/olefin reactions: a mechanism for the production of he apparently long-lived radicals in the gas phase cigarette smoke. *J Am Chem Soc.*, 106: 5073 - 5079.
- Pryor, W.A., Prier, D.G. and Church, D.F. (1983) Electron-spin resonance study of mainstream and sidestream cigarette smoke: Nature of the free radicals in gas-phase smoke and in cigarette tar. *Environ. Health Perspect.* 47: 345-355.
- Takanami, Y., Takahashi, H. and Shibagaki, M. (2002) Studies on free radicals formation in vapour phase cigarette smoke, Proceedings of the Paper Presented at the 56th Tobacco Science Research Conference, Lexington, KY, USA,, Programme Booklet and Abstracts(abstract no. 74).
- Takebayashi, J., Tai, A. and Yamamoto, I. (2002) Long-Term Radical Scavenging Activity of ascorbic acid derivative against 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, *Biol. Pharm. Bull.* 25(11): 1503-1505.
- Yamamoto, I., Tai, A., Fujinami, Y., Sasaki, K. and Okazaki, S. (2002) Synthesis and Characterization of a Series of Novel Monoacylated Ascorbic Acid Derivatives, 6-O-Acyl-2-O-r-D-glucopyranosyl-L-ascorbic Acids, as Skin Antioxidants, *J. Med. Chem.*, 45: 462-468.
- Zhao, B., Rohdewald, Peter and Li, J. (2002) Cigarette filter with Scavenging Effect on Free Radical in Cigarette Smoke and Its Preparation method, US Patent, 0074009 A1.
- Zhao, B. L. (1989) Cigarette free radicals and cancer. *Nature*, 12:453-460.