

근적외 분광분석법을 이용한 버어리종 잎담배 화학성분 분석

김용옥* · 장기철 · 이경구
한국인삼연초연구원
(1999년 5월 31일 접수)

Determination of Chemical Composition of Burley Tobacco by Near Infrared Spectroscopy

Yong-Ok Kim*, Gi-Chul Jang and Kyung-Ku Lee

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute

(Received May 31, 1999)

ABSTRACT : This study was carried out to analyze chemical components in burley tobacco using near infrared spectroscopy(NIRS). Samples were collected in '96 and '97 crop year. Calibration equations were developed by modified partial least square. The standard error performance(SEP) of '96 crop year samples between NIRS and standard laboratory analysis were 0.25% for nicotine, 0.18% for total nitrogen, 0.59% for crude ash, 0.32% for ether extracts, and 0.14% for chlorine, respectively. The analytical results of '97 crop year samples were similar to those of '96 crop year samples. The analytical result of '97 crop year samples analyzed by '96 calibration equation was more inaccurate than that of '96 crop year samples. The SEP of '96 or '97 crop year samples applying calibration equation derived from '96 plus '97 crop year samples was similar to that of '96 or '97 crop year samples analyzed by '96 or '97 calibration equation, respectively. The SEP of '97 crop year samples analyzed by calibration equation derived from '96 plus '97 crop year samples was more accurate than that of '97 crop year samples analyzed by '96 calibration equation. To improve the analytical inaccuracy caused by the difference of crop year between calibration and prediction samples, we need to include the prediction sample spectra which were different from calibration sample spectra in recalibration sample spectra, and then develop recalibration equation. The NIRS can apply to analyze burley leaf tobacco, leaf process or tobacco manufacturing process which were required the rapid analytical result.

Key Words : burley tobacco, near infrared spectroscopy, chemical component

근적외 분광분석법은 분자(-CH, -NH, -OH 등) 진동에너지의 결합대(combination band)와 배음대(1st~4th overtone band)에서 광 에너지를 흡수하는 특성을 이용하여 시료를 분석하는 방법이다(Birth 등, 1987). 이 분석법은 1960년대 초 Karl

Norris 등이 농산물 성분 분석을 실용화(Osborne and Fearn, 1986) 시킨 이후 급속히 발전하여 현재에는 농산물, 식품, 사료, 석유화학, 제약, 제지 및 섬유 등(Birth 등, 1987; Osborne과 Fearn, 1986) 산업의 여러 분야에서 응용되고 있다.

* 연락저자 : 305-345 대전광역시 유성구 신성동 302번지, 한국인삼연초연구원

* Corresponding author : Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, 302 Sinseong-Dong, Yusong-Ku, Taejeon 305-345, Korea

근적외 분광분석법으로 담배에 적용된 성분으로는 수분, 전당, 전알칼로이드, 전질소, 전휘발성 염기, 석유에텔추출물, 회분, 전분, 섬유소, 탈, 멘톨, 트리아세틴, 보습제 및 무기성분 등이 보고(Bense 등, 1983; Hamid 등, 1978; Heckman 등, 1987; Long, 1983; McClure 등, 1977, 1982, 1986; Pandeya 등, 1978; Williamson 등, 1986) 되어 있다. 국내에서는 버어리 토스트엽(김 등, 1995)과 황색종 잎담배(조 등, 1992; 김 등, 1998) 중 니코틴, 전당, 전질소, 조회분, 에텔추출물, 염소 및 색상 등의 분석 연구가 수행되었다. 근적외 분광분석법으로 버어리종 담배 분석시 분석의 정확도를 높이기 위해서는 분석시료의 변이(지역, 재배 연도, 등급, 건조 방법 및 재배 방법 등)를 포함한 검량식 작성이 필요하며(Birth 등, 1987), 외국 버어리종을 분석하기 위해 작성된 검량식으로 국내 버어리종 성분을 분석하면 시료변이로 인하여 분석 정확도가 낮을 것으로 (Osborne 등, 1986) 예상된다.

따라서 본 연구에서는 근적외 분광분석법으로 버어리종 잎담배의 니코틴, 전질소, 조회분, 에텔추출물 및 염소를 분석하고자, 재배 연도가 상이한 '96년과 '97년산 버어리종 잎담배 시료를 수집하여, 검량식 작성에 사용된 시료와 분석 시료간 재배 연도 차이에 따른 분석 정확도를 검토하고, '96년과 '97년 시료 스펙트럼을 합한 후 검량식을 재작성하고 시료를 분석하여 분석의 정확도를 비교하고, 재배 연도 및 지역 등의 시료변이를 포함하는 범용적인 검량식을 작성하고자 수행하였다.

재료 및 방법

본 시험에 사용된 버어리종 잎담배의 '96년과 '97년산 시료는 각각 15개, 16개 생산조합에서, 각 조합 당 하엽과 상엽은 3, 4, 5등을, 중엽과 본엽은 1, 2, 3등을 수집하였다. 시료를 건조, 분쇄(Cyclotec, model 1093)한 후 근적외분광기(NIRS, model 6500) 표준시료컵에 채우고, 파장 400~2500 nm에서 확산반사 스펙트럼을 측정하였다. '96년과 '97년 시료 스펙트럼을 각각 center sample 방법(Shenk와 Westerhaus, 1991)을 사용하여 스펙트

럼 특성이 상이한(mahalanobis distance 3.0 이상) 1점, 3점을 제외하였다. Select sample 방법(Shenk와 Westerhaus, 1991)을 사용하여 '96년 시료는 검량식작성(calibration) 시료 120점과 검량식확인(prediction) 시료 59점으로, '97년 시료는 검량식작성 시료 113점과 검량식확인 시료 76점으로 각각 나누었다. '96년과 '97년 시료 스펙트럼을 합하여(372점) 동일방법으로 시료 1점을 제외하고 검량식작성 시료 208점과 검량식확인 시료 163점으로 나누었다. 검량식작성과 확인 시료 성분분석 방법(기존 분석방법)은 니코틴, 전질소는 자동분석법, 조회분은 회화법, 염소는 전위차정법, 에텔추출물은 용매추출법으로 각각 분석하였다(김 등, 1991). 검량식은 시료 스펙트럼을 1차 미분(first derivative)하고 8 nm 간격으로 4 개점을 평균(smooth)한 후(259 data point), 4개 상호확인그룹(cross validation groups)으로 나누고, 각 시료 주 성분 점수(principal component score)와 기존 분석 성적을 수정부분최소자승(modified partial least square) 방법(Infrasoft international, 1992)에 의해 각 성분별로 작성하였다. 작성된 검량식으로 검량식작성 시료와 확인 시료를 분석하여 기존 분석방법으로 분석된 성적과 표준오차, bias, 기울기(slope) 및 결정계수(R^2)를 구하여 근적외 분광분석법의 분석 정확도를 나타내었다.

결과 및 고찰

'96년 검량식작성 시료 스펙트럼과 기존 분석방법으로 분석된 성적으로 각 성분별 검량식을 작성하고, 작성된 검량식으로 검량식작성 시료와 검량식확인 시료를 근적외 분광분석법으로 분석하여 기존 분석방법으로 분석한 성적과 비교한 결과는 Table 1과 같다.

검량식작성 시료를 근적외 분광분석법과 기존 분석방법으로 분석한 성적간의 표준오차(SEC)를 기존 분석방법의 허용오차(김 등, 1991)와 비교하면 모든 성분에서 표준오차가 높게 나타나 분석정확도가 낮았다. 그러나 결정계수(R^2)가 높은 것으로 나타나(0.93~0.99) 근적외 분광분석법과 기존 분석방법간에는 고도의 상관성이 있었다. 검량식확

근적외 분광분석법을 이용한 버어리종 잎담배 화학성분 분석

Table 1. The calibration and prediction statistics for burley tobacco derived from the samples of '96 crop year

Component	Mean ¹⁾	SEC ²⁾	R ²	Mean	SEP ³⁾	Bias	Slope	R ²
	(%)	(%)		(%)	(%)			
	----- Calibration -----			----- Prediction -----				
Nicotine	2.45	0.19	0.99	2.68	0.25	0.05	1.00	0.98
Total nitrogen	4.26	0.14	0.95	4.32	0.18	0.03	0.97	0.92
Crude ash	20.30	0.64	0.98	20.10	0.59	0.05	1.02	0.99
Ether extracts	6.10	0.36	0.95	6.07	0.32	-0.01	1.02	0.96
Chlorine	1.03	0.13	0.93	1.06	0.14	-0.01	0.99	0.93

1) mean of standard laboratory analytical result 2) standard error of calibration
 3) standard error of performance

인 시료 표준오차(SEP)는 검량식작성 시료 표준오차에 비해 조회분과 에텔추출물은 약간 작아졌고, 니코틴과 전질소는 검량식작성 시료에 비해 커지는 것으로 나타났다. 이러한 경향은 황색종의 경우(김 등, 1998)와 비슷하였다. 모든 성분에서 bias가 작고, 기울기(slope)가 1 부근이고, 결정계수가 높았는데, 이는 근적외 분광분석법과 기존분석방법 간에 차이가 크지 않았기 때문인 것으로 생각된다. '97년 시료로 각 성분별 검량식을 작성하고, 작성된 검량식으로 검량식작성 시료와 확인 시료를 근적외 분광분석법으로 분석하여 기존 분석방법으로 분석한 성적과 비교한 결과는 Table 2와 같다.

'97년 검량식작성 시료의 표준오차는 '96년

(Table 1) 검량식작성 시료의 표준오차에 비해 니코틴과 에텔추출물은 컸고 조회분은 작았다. 검량식확인 시료 표준오차를 '96년 검량식확인 시료 표준오차와 비교하면 에텔추출물은 커진 반면, 다른 성분은 약간 작아졌다. 전체적으로 성분간 다소 차이를 보이거나 동일 연도('96년 또는 '97년) 시료로 검량식을 작성하고 시료를 분석한 결과는 비슷한 것으로 생각된다.

'97년 시료를 '96년 시료로 작성한 검량식으로 분석하여 기존 분석방법으로 분석한 성적과 비교한 결과는 Table 3과 같다.

'97년 시료의 표준오차를 '96년 검량식확인 시료의 표준오차(Table 1)와 비교하면 니코틴(2.64배),

Table 2. The calibration and prediction statistics for burley tobacco derived from the samples of '97 crop year

Component	Mean ¹⁾	SEC ²⁾	R ²	Mean	SEP ³⁾	Bias	Slope	R ²
	(%)	(%)		(%)	(%)			
	----- Calibration -----			----- Prediction -----				
Nicotine	1.97	0.23	0.98	2.14	0.19	-0.01	0.99	0.98
Total nitrogen	4.50	0.12	0.99	4.57	0.13	0.01	1.02	0.98
Crude ash	20.95	0.53	0.99	20.52	0.51	0.08	1.01	0.99
Ether extracts	6.50	0.53	0.87	6.67	0.54	-0.01	1.04	0.90
Chlorine	0.67	0.12	0.89	0.65	0.10	0.00	1.01	0.92

1) mean of standard laboratory analytical result 2) standard error of calibration
 3) standard error of performance

Table 3. NIR prediction statistics for burley tobacco produced in '97 crop year applying calibration equation derived from the samples of '96 crop year

Component	Mean ¹⁾ (%)	SEP ²⁾ (%)	Bias (%)	Slope	R ²
Nicotine	2.04	0.66	-0.45	0.82	0.95
Total nitrogen	4.51	0.33	0.16	1.15	0.93
Crude ash	20.85	1.15	0.21	0.89	0.96
Ether extracts	6.61	0.68	-0.23	0.91	0.85
Chlorine	0.68	0.21	-0.10	0.93	0.77

1) mean of standard laboratory analytical result
2) standard error of performance

전질소(1.83배), 조회분(1.95배), 에텔추출물(2.13배) 및 염소(1.5배)에서 모두 높게 나타나 분석 정확도가 낮았다. 또한 '96년 검량식확인 시료(Table 1)에 비해 bias가 커지고 기울기도 모든 성분이 1.0에서 벗어나는 정도가 심하여 분석의 정확도가 낮았다. 이와 같이 검량식작성 시료와 분석 시료가 재배 연도가 다를 경우 분석 정확도가 낮아졌는데, 이는 Williams 등(1985)과 김 등(1998)의 보고와 비슷하였다.

검량식작성 시료와 분석 시료간 재배 연도가 동일한 경우에 비해 상이할 경우 분석 정확도가 낮아지는 원인을 구명하기 위해, '96년 검량식작성 시료 스펙트럼으로부터 주성분(principal component) 3개를 구하고(스펙트럼 변이 98% 이상 설명), '96년 검량식작성 시료와 '97년 분석 시료 스펙트럼의 주성분 점수(score)를 계산하여 스펙트럼 특성 차이를 Fig. 1로 나타냈다.

'96년 검량식작성 시료와 '97년 분석 시료 대부분은 주성분 점수가 겹쳐 있어 스펙트럼 특성이 비슷하였으나, 그림의 좌측과 우측 하단과 같이 '97년 시료 일부가 '96년 시료 주성분 점수와 겹쳐 지지 않아 스펙트럼 특성이 상이한 것으로 나타났다. 따라서 이러한 스펙트럼 특성이 다른 시료가 '96년 검량식에 포함되지 않아 '97년 분석시료의 분석 정확도를 떨어뜨린 원인으로 작용한 것(Osborne과 Fearn, 1986)으로 생각된다.

×: '96 burley
※: '97 burley

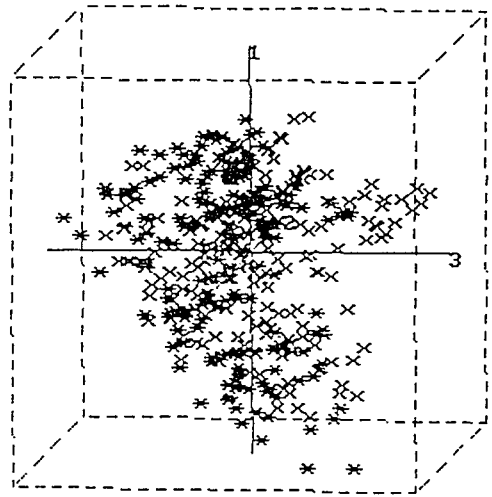


Fig. 1. The comparison of principal component scores derived from NIR spectrum between '96 and '97 burley tobacco.

검량식작성 시료와 분석 시료간 재배 연도가 다르기 때문에 발생하는 스펙트럼 특성차이(Fig. 1)를 검량식에 포함하기 위해 '96년과 '97년 시료 스펙트럼을 합하여 검량식을 작성하고, 검량식작성시료를 분석하여 기존 분석방법으로 분석한 성적

Table 4. The calibration statistics for burley tobacco derived from the samples of '96 plus '97 crop year

Component	Mean ¹⁾ (%)	SEC ²⁾ (%)	R ²
Nicotine	2.33	0.24	0.98
Total nitrogen	4.41	0.17	0.96
Crude ash	20.51	0.55	0.99
Ether extracts	6.34	0.48	0.91
Chlorine	0.83	0.11	0.94

1) mean of standard laboratory analytical result
2) standard error of calibration

Table 5. NIR prediction statistics for burley tobacco produced in '96 and '97 crop year applying calibration equation derived from the samples of '96 plus '97 crop year

Component	Mean ¹⁾	SEP ²⁾	Bias	Slope	R ²	Mean ¹⁾	SEP ²⁾	Bias	Slope	R ²
	(%)	(%)	(%)			(%)	(%)	(%)		
	----- '96 crop year -----					----- '97 crop year -----				
Nicotine	2.77	0.30	0.06	1.00	0.98	2.00	0.32	-0.05	0.91	0.97
Total nitrogen	4.25	0.20	-0.04	0.88	0.91	4.54	0.19	0.05	1.02	0.96
Crude ash	20.13	0.67	-0.12	1.05	0.98	20.68	0.63	0.00	0.98	0.98
Ether extracts	6.04	0.36	-0.07	1.02	0.95	6.59	0.59	-0.05	0.99	0.86
Chlorine	1.04	0.15	0.00	1.01	0.92	0.68	0.12	0.02	0.99	0.89

1) mean of standard laboratory analytical result 2) standard error of performance

과 비교한 결과는 Table 4와 같다.

'96년 또는 '97년 검량식작성 시료 표준오차를 '96년(Table 1) 또는 '97년(Table 2) 검량식작성 시료 표준오차와 각각 비교하면 니코틴은 1.26배와 1.04배, 전질소 1.21배와 1.42배, 조회분 0.86배와 1.04배, 에텔추출물 1.33배와 0.91배, 염소 0.85배와 0.92배로 나타났다. 이러한 결과는 Osborne 등(1982, 1983)의 연구 결과와도 비슷한 경향이였다.

'96년과 '97년 시료를 합하여 검량식을 작성하고, 작성한 검량식으로(Table 4) '96년과 '97년 각각의 검량식확인 시료를 분석한 결과는 Table 5와 같다.

'96년과 '97년 검량식확인 시료 표준오차를 검량식작성 시료와 확인 시료가 동일 연도에 생산된 '96년(Table 1) 또는 '97년(Table 2) 검량식확인 시료 표준오차와 각각 비교하면 각 성분별로 표준오차가 다소 변이를 보였으나, 전체적으로는 분석 정확도가 비슷한 것으로 나타났다. '97년 검량식확인 시료 표준오차는 '96년 시료로 작성된 검량식으로 재배 연도가 다른 '97년 분석시료를 분석한 결과(Table 3)에 비해 분석 정확도가 높았다. 이상의 결과는 '96년과 '97년 시료를 합하여 작성된 검량식은 '96년과 '97년 검량식확인 시료의 변이(스펙트럼 특성)가 충분히 포함되었기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 검량식작성 시료와 분석 시료의 재배 연도 차이에 의해 분석정확도가 낮아지는 것은, 본래 작성된 검량식에 재배 연도에 따른 스펙

트럼 특성의 차이(mahalanobis distance 3.0 이상)를 보이는 시료를 더하여 검량식을 재작성(Marten 등, 1989) 하면 해결이 가능할 것으로 판단된다. Osborne 등(1982, 1983)은 밀 시료를 4년간에 걸쳐 수집하여 수분 및 단백질 분석 검량식을 작성하여, 재배 연도가 다른 수년간의 밀 시료를 분석한 결과 재배 연도 차이에 따른 분석오차가 발생하지 않은 것으로 보고한 바 있다. 근적외 분광분석법으로 버어리종 잎담배 성분을 분석할 경우 분석 정확도를 높이기 위해서는 검량식에 재배 연도, 지역, 건조 방법 및 재배 방법 등의 시료변이를 포함하여야 하기 때문에 장시간이 소요되나 해결이 가능할 것으로 보이며, 근적외 분광분석법은 버어리종 잎담배 분석, 원료엽 가공 또는 제품담배 공정관리 등에서 다량의 시료에 대한 신속한 성분분석이 요구되는 경우, 적용이 가능할 것으로 판단된다.

결 론

근적외 분광분석법으로 버어리종 잎담배의 화학성분을 분석하기 위해, '96년과 '97년산 시료를 근적외 분광기(NIRS, Model 6500)로 확산 반사 스펙트럼을 측정하여 검량식을 작성하고 시료를 분석하여, 기존방법으로 분석한 성적과 비교한 결과는 아래와 같다.

'96년 검량식 확인시료를 근적외 분광분석법과

기존 분석방법으로 분석한 성적간의 표준오차는 니코틴이 0.25%, 전질소 0.18%, 조회분 0.59%, 에텔추출물 0.32%, 그리고 염소 0.14%로 나타났다. '97년 검량식 확인시료 분석 결과는 '96년 시료와 비슷하였다. '97년 시료를 '96년 검량식으로 분석한 결과는 '96년 시료를 '96년 검량식으로 분석한 결과에 비해 분석 정확도가 낮았다. '96년과 '97년 시료 스펙트럼을 합하여 검량식을 작성하고 '96년과 '97년 시료를 분석한 결과는, 동일 재배 연도 시료로('96년 또는 '97년) 검량식을 작성하고 시료를 분석한 결과와 큰 차이를 보이지 않았으나, '97년 시료를 '96년 검량식으로 분석한 결과에 비해 분석 정확도가 높았다. 따라서 검량식 작성시료와 분석시료의 재배 연도 차이에 의해 분석 정확도가 낮아지는 것은 본래 작성된 검량식에 재배 연도가 다른 시료를 더하여 검량식을 재작성하면 해결이 가능할 것으로 고찰된다. 근적외 분광분석법을 이용하면 버어리종 잎담배 분석, 원료엽 가공 또는 제품담배 공정관리 등에서 다량의 시료에 대해 여러 성분 분석이 신속하게 요구되는 경우, 적용이 가능할 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

김찬호, 나효환, 박영수, 한상빈, 이문수, 이운철, 김용욱, 복진영, 안기영, 김용하, 백순옥, 장기철, 지상운 (1991) 담배성분분석법. p.30-220. 한국인삼연초연구소.

김용욱, 정한주, 백순옥, 김기환 (1995) 근적외선분광법을 이용한 버어리 토스트엽의 화학 성분 분석. *한국연초학회지* 17(2); 177-183.

김용욱, 이경구, 장기철, 김기환(1998) 근적외 분광 분석법을 이용한 황색종 잎담배의 화학 성분 분석. *한국연초학회지* 20(2); 183-190.

조래광 (1992) 비파괴측정법에 의한 잎담배 품질측정 자동화연구. *용역과제 연구보고서*. p.1-32. 한국인삼연초연구소.

Bense, T. and C. Gastellu (1983) Estimation of total volatile bases in tobacco by nearinfrared (NIR) reflectance spectrophotometry. *Tob. Sci.* 27; 92-94.

Birth, G. S., I. Murry, R. H. William, H. Martens, W. F. McClure, P. C. Williams, F. E. Barton II, B. G. Osborne, J. A. Panford, V. P. Krischenko, M. Iwamoto, S. G. Stevenson, R. Trachuk and K. H. Norris (1987) Near-infrared technology in the agricultural and food industries. p.1-246. 1st ed., P. C. Williams and K. H. Norris Ed., Amer. Asso. of Cereal Chem., Minnesota, U.S.A.

Hamid, A., W. F. McClure and W.W. Weeks (1978) Rapid spectrophotometric analysis of the chemical composition of tobacco. part 2; total alkaloid. *Beitrag zur Tabakforschung* 9; 267-274.

Heckman, R. T., J. T. Differ and L. A. Milhous (1987) Transfer of near-infrared monochromator calibrations for tobacco constituents to tilting-filter instruments. *Analytica Chimica Acta.* 192; 197-203.

Infrasoft international (1992) ISI 3: Routine operation, calibration and network system management software for near infrared instrument. p.1-145. 1st ed., *Infrasoft international*, MD, U.S.A.

Long, T. M. (1983) Application of near infrared reflectance spectroscopy to tobacco analysis. *Anal. Proc.* 20; 69-72.

Marten, G .C., J. S. Shenk and F. E. Barton II (1989) Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Analysis of forage quality. *USDA-ARS Agricultural handbook* No. 643; 1-105.

McClure, W. F. and K. H. Norris (1977) Rapid spectrophotometric analysis of the chemical composition of tobacco, part 1: total reducing sugar. *Beitrag zur Tabakforschung* 9; 13-18.

McClure, W. F. and R. E. Williamson (1982) Rapid spectrophotometric analysis of the chemical composition of tobacco, part 3:

- polyphenols. *Beitrag zur Tabakforschung* 11: 219-227.
- McClure, W. F. and R. E. Williamson (1986) Status of near infrared technology in the tobacco industry. *Proceeding of symposium of 40th TCRC*, p.3-53. Knoxville, TN, U.S.A.
- Osborne, B. G., Sturat Douglas, T. Fearn and K. H. Willis (1982) The development of universal calibrations for measurement of protein and moisture in UK home-grown wheat by near-infrared reflectance analysis. *J. Sci. Food Agric.* 33: 736-740.
- Osborne, B. G. (1983) Investigation of the performance of an improved calibration for the determination of protein in U.K home-grown wheat by near-infrared reflectance analysis. *J. Sci. Food Agric.* 34: 1441-1443.
- Osborne, B. G. and T. Fearn (1986) Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis. p.1-182. 1st ed., B. G. Osborne and T. Fearn Ed., Longman Scientific & Technical, Harlow Essex, U.K.
- Pandeya, R. S., F. H. W. Nestorrosa and J. M. Elliot (1978) Rapid estimation of some flue-cured tobacco chemical characteristics by infrared-reflectance spectroscopy. *Tob. Sci.* 22: 27-31.
- Shenk, S. J and M. O. Westerhaus (1991) Population structuring of near infrared and modified partial least squares regression. *Crop Sci.* 31: 1548-1555.
- Williams, P. C. and H. M. Cordeiro (1985) Effect of Calibration practice on correction of errors induced in near-infrared protein testing of hard red spring wheat by growing location and season. *J. Agric. Sci. Camb.* 104: 113-123.
- Williamson, R. E. and W. F. McClure (1986) Rapid spectrophotometric analysis of the chemical composition of tobacco, part 4: total nitrogen. *Tob. Sci.* 30: 109-111.