

## 황색종 담배중 전알카로이드와 환원당 분석에 대한 불확도 측정

백순옥 · 장기철 · 이운철 · 한상빈

한국인삼연초연구원  
(2001년 6월 10일 접수)

### Uncertainty of Total Alkaloids and Reducing Sugar Determination in Flue-cured Tobacco

Soon Ok Baik\*, Gi Chul Jang, Un Chul Lee and Sang Bin Han

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

(Received June 10, 2001)

**ABSTRACT** : This study was carried out to evaluate the uncertainty in the analysis of total alkaloids and reducing sugar content in flue-cured tobacco. The sources of uncertainty associated with the analysis of total alkaloids and reducing sugar were the weighing of sample, the preparation of extracting solution, the addition of extracting solution into the sample, the preparation of standard solution, the precision of calibration curve for standard solution, the reproducibility of analysis, and the determination of water content in tobacco, etc. For the calculating uncertainties, Type A of uncertainty was evaluated by the statistical analysis of a series of observation, and Type B by the information based on supplier's catalogue and/or certificated of calibration. It was shown that the main source of uncertainty was caused by the calibration curve of standard solution, the reproducibility of analysis, the volume measurement of 1ml, and the purity of nicotine reference material in the preparation of standard solution. The uncertainty in the addition of extracting solution, the sample weighing, the volume measurement of 100ml, and the determination of water content of tobacco contributed relatively little to the overall uncertainty. The expanded uncertainty of total alkaloids and reducing sugar in flue-cured tobacco at 95% level of confidence was  $\pm 0.12\%$  and  $\pm 0.54\%$ , respectively.

**Key words** : uncertainty, total alkaloids, reducing sugar, auto-analyzer

불확도에 대한 정의를 간단히 표현하면 측정값에 대한 충분한 타당성 있는 이유에 의해 측정량에 영향을 미칠 수 있는 인자를 숫자화하여 표현하는 것이라 할 수 있으며, 국제표준화기구(ISO,

1993)의 기준과 불확도에 대한 설명은 전보(장 등, 2000)에서 상세히 기술한 바 있다.

담배중의 전알카로이드 및 환원당을 분석하는 방법은 무게분석법, 부피분석법, AA법, GC나

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

\*Corresponding author : Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, 302 Shinseong-Dong, Yusong-Ku, Taejon 305-345, Korea

HPLC법 등 여러가지가 있으나, 각 방법마다 특성이 있어 분석하고자 하는 대상이나 시료수에 따라 그 방법을 선택하여 사용하고 있다.

본 시험에 사용한 방법은 CORESTA에서 고시한 공정분석법으로, 담배시료 추출액을 자동분석기로 발색시킨 후 각 파장의 필터를 사용하여 UV-자외선 검출기로 농도를 측정하는 방법이다. 이 분석법의 경우 연속비색을 하기 때문에 많은 시료를 한꺼번에 처리할 때 아주 유용하게 사용되지만 시료의 절대값에 대한 오차는 비교적 많이 발생하는 분석법이라 생각된다.

따라서 본 연구는 황색종 담배 중의 전알칼로이드와 환원당을 분석하는 과정에서 분석오차가 발생할 수 있는 요인으로 시료무게 측정, 추출용액 첨가, 표준용액 조제, 표준용액의 검량선 및 시료중의 수분함량 측정 등에 대한 불확도 값을 구함으로써 분석값에 대한 신뢰도를 높이고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

본 시험에 사용된 시료는 1999년산 국내산 황색종 상업2등 재건조 원료엽(A4R)으로 40°C에서 6~8 시간 건조 후 분쇄하여 1mm의 체를 통과시켜 사용하였다.

시료 중의 전알칼로이드 및 환원당 함량은 CORESTA No. 35 및 No. 38방법에 준하여 시료 0.25g을 정확히 달아 50ml 삼각 플라스크에 넣고 5% 초산용액 25ml를 가하여 30분간 진탕한 후 여과지(whatman 40)로 여과한 여액을 Auto Analyzer II(Bran+Lubbe)로 분석하였다. 시료 중의 수분 함량은 ISO 6488 방법으로 50g의 담배시료를 400ml의 cyclohexane으로 3시간 증류하여 포집된 물의 부피를 측정하여 정량하였다.

표준용액 조제시에 사용한 전알칼로이드 표준물질은 순도 98.5%의 니코틴 주석산염( $C_{10}H_{14}N_2 \cdot 2C_4H_6O_6$ , Sigma 5260)을 사용하였고, 환원당 표준물질은 순도 99.5%의 글루코오스(Aldrich 25307-3)를 사용하였다.

불확도의 계산은 각각의 분석과정에서 발생할 수 있는 불확도 인자들에 대하여 A type과 B

type 표준불확도를 먼저 구한 다음 이를 합성하여 합성불확도를 계산하고, 합성불확도를 각 인자들의 특정값으로 나누어 상대 표준불확도를 구한 후 최종 확장불확도는 각 인자들의 상대불확도를 다시 합성하고 포함인자( $k=2$ , 95% 신뢰수준)와 측정결과를 곱하여 구하였다.

## 결과 및 고찰

### 시료 무게 측정에 대한 불확도

저울에 대한 불확도는 95% 신뢰수준에서 교정 성적서상의 불확도 값이  $\pm 0.125\text{mg}$ 를 가지고 있으므로, 이 값을 2로 나누어 줌으로써 B type의 표준불확도는  $6.25 \times 10^{-5} (0.000125/2)\text{g}$ 이 된다. 따라서 250mg의 시료를 측정하는데 있어 상대 표준불확도는  $2.5 \times 10^{-4} (0.0000625/0.25)$ 이었다.

### 시료 추출용액 조제에 대한 불확도

담배시료에 대한 전알칼로이드 및 환원당을 연속으로 자동 비색정량함에 있어 시료추출용 5% Acetic acid 용매는 순도 99.7%이상의 acetic acid (Sigma, ACS급)를 사용하여 2000ml를 일반적으로 조제한다. 5% acetic acid 용액의 농도변화에 대한 불확도는 95% 신뢰수준에서의 허용오차인  $\pm 0.25\%$  수준에서는 정량값에 영향이 없다는 보고(Bran+Lubbe, 1995)에 따라 시료 추출용액 조제에 대한 불확도는 고려하지 않았다.

### 시료 추출용액 첨가량에 대한 불확도

시료에 추출용액을 25ml 첨가하므로 25ml 부피에 대한 불확도를 고려하였다. 즉, 25ml 피펫 사용에 대한 개인 불확도인 A type 표준불확도( $Up_1$ ), B type 표준불확도( $Up_2$ ), 표준기물에 대한 사용 피펫의 표준불확도( $Up_3$ ) 및 물의 부피팽창계수( $Up_4$ )를 각각 구하고 각 불확도 인자를 합성하였다.

25ml 피펫 사용에 대한 A type 표준불확도( $Up$ ) 값을 구하기 위하여 25ml 피펫에 표선까지 증류수를 채운 후 흘러나온 증류수의 무게를 10회 반복 측정하고 그 결과를 표 1에 나타내었다. Modeling equation(Y)는 사용 피펫(a)에서 교정값(b)을 뺀값으로 구하였고, 감응계수는 Modeling equation에서

황색종 담배중 전알카로이드와 환원당 분석에 대한 불확도 측정

Table 1. Reproducibility in the volume measurement of 25ml pipet

Repeat No.	Weight(g)	Volume*(ml)
1	25.0301	25.0646
2	25.0321	25.0666
3	25.0295	25.0640
4	25.0288	25.0633
5	25.0331	25.0676
6	25.0320	25.0665
7	25.0298	25.0643
8	25.0290	25.0635
9	25.0285	25.0630
10	25.0290	25.0635
Mean		25.0647
Standard Deviation(SD)		0.001623
Type A(SD/ $\sqrt{n}$ )		0.000513

\* The density of water at 18°C is 0.998625

편미분하면 1이 되기 때문에 고려하지 않았다.

피펫 사용에 따른 개인 불확도인 A type 표준 불확도( $U_{p1}$ )는 표 1에서와 같이  $5.13 \times 10^{-4} \text{ml}$ 이었다. B type 표준불확도( $U_{p2}$ )는 피펫의 반범위가 0.04ml이고, 신뢰구간이 주어지지 않으므로 직사각형 분포(ISO, 1993)로 간주하여, 이것을  $\sqrt{3}$ 으로 나누면  $2.31 \times 10^{-2} \text{ml}$ 이었다. 따라서 표준기물에 대한 사용 피펫의 표준불확도( $U_{p3}$ )는 고정성적시상의 표준불확도 0.02ml를 2로 나눈값 0.01ml과 B type 불확도를 합성하면 표준불확도는  $2.52 \times 10^{-2} (\sqrt{0.02309^2 + 0.01^2}) \text{ml}$ 이었다.

온도변화에 따른 물의 부피변화에 대한 불확도( $U_{p4}$ )는 실험실의 온도변화가  $\pm 3^\circ\text{C}$  (95% 신뢰수준)이고 물의 팽창계수는  $2.1 \times 10^{-4}/^\circ\text{C}$ 이다. 따라서 95% 신뢰수준으로 온도에 따른 부피변화의 불확도는  $\pm 5 \times 3 \times 0.00021$ 이므로 25ml 피펫의 불확도는 95% 신뢰수준에서  $0.01575(25 \times 3 \times 0.00021) \text{ml}$ 이고 표준불확도는  $7.88 \times 10^{-3} (0.01575/2) \text{ml}$ 이었다.

이상에서 25ml 부피에 대한 합성표준불확도( $U_p$ )는 각각의 불확도 값을 불확도 전파의 법칙에

따라 제곱합의 제곱근으로 합성하면  $2.64 \times 10^{-2} (\sqrt{(5.13 \times 10^{-4})^2 + (2.52 \times 10^{-2})^2 + (7.88 \times 10^{-3})^2}) \text{ml}$ 이 되고, 25ml 부피의 상대 불확도는  $1.06 \times 10^{-3} (0.0264/25)$ 이었다.

표준용액 조제에 대한 불확도

표준용액은 니코틴 주석산염 3.0722g과 글루코오스 5.000g을 각각 정확히 달아 100ml 플라스크에 넣고 5% 초산용액으로 표선까지 채운 후, 이 용액을 1, 2, 3 및 4ml 씩 취해 100ml 플라스크에 각각 넣고 5% 초산용액으로 표선까지 채워 조제하였다. 따라서 본 표준용액은 담배시료 1g에 대하여 전알카로이드와 환원당이 각각 1%와 5%(10, 50mg), 2%와 10%(20, 100mg), 3%와 15%(30, 150mg), 및 4%와 20%(40, 200mg)에 상당하며, 표준용액 조제시에 불확도가 나타날 수 있는 인자는 표준물질의 순도, 표준물질의 무게측정, 1ml와 2ml 그리고 100ml 부피 측정에 대한 불확도를 고려하였다.

니코틴 표준물질의 순도 : 시약 제조회사의 규격에서 니코틴 주석산염의 순도는 98.5%이므로  $0.985 \pm 0.015$ 로 가정하고, 신뢰구간이 주어지지 않으므로 직사각형 분포로 간주하여 순도에 대한 표준불확도는  $8.66 \times 10^{-3} (0.015/\sqrt{3})$ 이었다. 또한 CORESTA No 39의 공정분석법에 의한 니코틴 주석산염의 순도 측정에서 600°C에서 회화 후 얻어진 값으로 구한 A Type의 불확도(표 2)는  $1.58 \times 10^{-3}$ 이었다. 따라서 니코틴 표준물질 순도의 합성 표준불확도는  $8.80 \times 10^{-3} (\sqrt{0.00866^2 + 0.00158^2})$ 이 되고 상대 표준불확도는  $8.93 \times 10^{-3} (0.0088/0.985)$ 이었다.

글루코오스 표준물질의 순도 : 시약 제조회사의 규격에서 글루코오스의 순도는 99.5%이므로  $0.995 \pm 0.005$ 로 가정하고, 신뢰구간이 주어지지 않으므로 직사각형 분포로 간주하여 순도에 대한 표준 불확도는  $2.89 \times 10^{-3} (0.005/\sqrt{3})$ 이 되고 상대 표준 불확도는  $2.90 \times 10^{-3} (0.00289/0.995)$ 이었다.

표준물질의 무게측정 : 저울의 B Type 표준불확

도는  $6.25 \times 10^{-5}$  (0.000125/2)g이므로 니코틴 주석 산염 3.0722g을 측정하는데 있어서의 상대표준불확도는  $2.034 \times 10^{-5}$ 이었으며, 글루코오스 5.000g에 대한 상대표준불확도는  $1.25 \times 10^{-5}$ 이었다.

Table 2. Reproducibility in the measurement of nicotine salt weight after ashing at 600°C

Repeat No.	Weight(g)
1	0.8534
2	0.8610
3	0.8570
4	0.8598
5	0.8502
6	0.8641
7	0.8653
8	0.8625
9	0.8559
10	0.8634
Mean	0.8592
Standard Deviation(SD)	0.004985
Type A(SD/ $\sqrt{n}$ )	$1.58 \times 10^{-3}$

표준용액 조제시 부피 측정 : 100ml 부피의 A type 불확도( $U_{v1}$ )는 앞서의 시료 추출용액 첨가량에 대한 불확도에서 25ml 피펫 부피 측정과 마찬가지로 구한 결과  $1.39 \times 10^{-2}$ ml 이었다. B type 불확도( $U_{v2}$ )는 먼저 100ml 플라스크의 반법위 0.08 ml를  $\sqrt{3}$ 으로 나누어  $4.62 \times 10^{-2}$ ml 이고, 표준기물에 대한 사용 플라스크의 불확도( $U_{v3}$ )는 교정성적서상의 불확도 0.06ml를 2로 나눈값이 0.03ml 이므로 B type 불확도를 합성하면  $5.51 \times 10^{-2}$  ( $\sqrt{0.0462^2 + 0.03^2}$ )ml 이었다. 따라서 100ml 플라스크 부피에 대한 A type 과 B type의 합성표준불확도( $U_{p1}$ )는  $5.68 \times 10^{-2}$  ( $\sqrt{0.0139^2 + 0.0551^2}$ )ml이었다. 100ml 용량플라스크의 사용횟수는 니코틴과 글루코오스 표준용액 원액을 조제할 때 1회, 이 용액을 희석하여 4수준의 검량선 작성용 표준용액을

조제할 때 4회, 모두 5회 사용하게 된다. 따라서 100ml 부피에 대한 합성표준불확도( $U_{vtask}$ )는  $0.127(\sqrt{0.0568^2 \times 5})$ ml이었다. 온도 변화에 따른 물의 부피변화에 대한 불확도( $U_{v4}$ )는 앞에서 언급한 바와 같은 방법으로 구하면 100ml 부피의 불확도는 95% 신뢰수준에서  $6.30 \times 10^{-2}$  ( $100 \times 3 \times 0.00021$ )ml이고 표준불확도는  $3.15 \times 10^{-2}$  (0.063/2)ml 이었다. 따라서 100ml 부피의 A 와 B type 및 온도변화의 합성불확도는  $0.1308(\sqrt{0.127^2 + 0.0315^2})$ ml 이 되고 상대불확도는  $1.31 \times 10^{-3}$  (0.1308/100) 이었다.

1ml 부피의 A type 불확도( $U_{v1}$ )는 앞서의 시료 추출용액 첨가량에 대한 불확도에서 25ml 피펫 부피 측정과 마찬가지로 구한 결과  $4.81 \times 10^{-3}$ ml 이었다. B type 불확도는 반법위 0.01ml를  $\sqrt{3}$ 으로 나누어  $5.77 \times 10^{-3}$ ml를 구하고 교정성적서상의 불확도 0.01ml를 2로 나누면 0.005ml이 되므로 B type 합성불확도( $U_{p1}$ )는  $7.62 \times 10^{-3}$  ( $\sqrt{0.005774^2 + 0.005^2}$ )ml 이었다. 따라서 1ml 피펫 부피에 대한 A type 과 B type의 합성표준 불확도( $U_{p1}$ )는  $9.01 \times 10^{-3}$  ( $\sqrt{0.02967^2 + 0.007616^2}$ )ml 이었다. 1ml 피펫의 사용횟수는 니코틴 1%와 클루코오스 5% 용액 조제시 1회, 니코틴 3%와 클루코오스 15% 용액 조제시 1회, 모두 2회 사용하므로 1ml 부피의 합성표준불확도는  $1.27 \times 10^{-2}$  ( $\sqrt{0.00901^2 \times 2}$ )ml이 되고, 상대불확도는  $1.27 \times 10^{-2}$  (0.0127/1) 이었다.

2ml 부피의 A type 불확도( $U_{v1}$ )는 앞서의 시료 추출용액 첨가량에 대한 불확도에서 25ml 피펫 부피 측정과 마찬가지로 구한 결과  $4.28 \times 10^{-3}$ ml 이었다. B type 불확도는 반법위 0.015ml 를  $\sqrt{3}$ 으로 나누어  $8.66 \times 10^{-3}$ ml를 구하고, 교정성 적서 상의 불확도 0.01ml를 2로 나누면 0.005ml이므로 B type 합성불확도( $U_{p2}$ )는  $9.99 \times 10^{-3}$  ( $\sqrt{0.008660^2 + 0.005^2}$ )ml이었다. 따라서 2ml 피펫 부피에 대한 A type 과 B type의 합성표준불확도 ( $U_{p2}$ )는  $4.39 \times 10^{-3}$  ( $\sqrt{0.00428^2 + 0.00999^2}$ )ml 이었다. 2ml 피펫의 사용횟수는 니코틴 2%와 클루코오스 10% 용액 조제시 1회, 니코틴 3%와 클루코오스 15% 용액 조제시 1회, 니코틴 4%와 클루코오스 20% 용액 조제시 2회, 모두 4회 사용하므로 2ml 부

황색종 담배중 전알카로이드와 환원당 분석에 대한 불확도 측정

피의 합성표준불확도는  $8.78 \times 10^{-3} (\sqrt{0.00439^2 \times 4})$  ml 이 되고, 상대불확도는  $4.39 \times 10^{-3} (0.00878/2)$  이었다.

전알카로이드 및 환원당 검량선에 대한 불확도

전알카로이드 및 환원당과 같이 표준물질에 대한 미지시료의 농도를 상대비색법으로 정량함에 있어서는 calibration data를 활용하여 EURO CHEM (1995)에서 제시된 다음의 식에 따라 계산된 linear least square fitting procedure로 불확도  $U(C_0)$ 를 계산한다.

$$U = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{a^2(n-2)} \cdot \left(1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_{obs} - \hat{y})^2}{a^2 [\sum (x_i)^2 - (\sum x_i)^2/n]}\right)}$$

따라서 본 연구에서는 각 성분별 4개의 표준용액을 제조하여, 3회씩 반복측정한 결과는 표 3~4

와 같다.

전알카로이드에 대한 1차 회귀식  $Y = aX + b$ 에서 계수 a 값은 1.00287이었고 상수 b 는  $-8.58 \times 10^{-3}$ 이었다. 본 식을 편미분하면 1 이므로 감응 계수는 고려하지 않았다. 표준용액의 농도에 대한 측정값과의 상관계수(r)는 0.9999로 높은 정상관을 보였으며 표준불확도값은  $2.28 \times 10^{-2}\%$ 이었다. 또한 담배시료에 대한 5반복 실험에서의 측정값은 3.18( $Y_{obs}$ )%로  $8.81 \times 10^{-3} (2.28 \times 10^{-2}/3.18)$ 의 상대표준불확도 값을 보였다.

환원당의 1차 회귀식에서 계수 a의 값은 0.4251 이었고 상수 b 값은 0.1921이었으며 상관계수(r)는 0.9996으로 표준용액의 농도별 반응면적도 높은 정상관을 보였다. 따라서 상기식에 의한 환원당 검량선에 대한 표준불확도는 0.2004% 이었고 담배시료에 대한 5반복 측정값은 3.4( $Y_{obs}$ )%로 상대표준불확도는  $5.89 \times 10^{-2} (0.2004/3.4)$ 이었다.

Table 3. Total alkaloid measurements depending upon the calibration standard solution

Measurement (x)	Concentration (y)	$(y_i - \hat{y}_i)^2$ [ $y_i - (aX+b)$ ] <sup>2</sup>	( $y_{obs} - \hat{y}$ )	$\sum(x_i^2)$	$(\sum x_i)^2/n$
0.9908	1.0	$2.23 \times 10^{-4}$		0.9817	
2.0212	2.0	$3.39 \times 10^{-4}$		4.0852	
3.0087	3.0	$7.67 \times 10^{-5}$		9.0523	
3.9849	4.0	$1.50 \times 10^{-4}$		15.8794	
SUM	n=4, $\bar{y} = 2.5$	$7.89 \times 10^{-4}$	0.68	29.9986	25.0280

Table 4. Reducing sugar measurement depending upon the calibration standard solution

Measurement (x)	Concentration (y)	$(y_i - \hat{y}_i)^2$ [ $y_i - (aX+b)$ ] <sup>2</sup>	( $y_{obs} - \hat{y}$ )	$\sum(x_i^2)$	$(\sum x_i)^2/n$
11.3	5.0	$1.44 \times 10^{-10}$		127.69	
23	10.0	$8.77 \times 10^{-4}$		529	
35	15.0	$5.20 \times 10^{-3}$		1225	
46.5	20.0	$1.50 \times 10^{-3}$		2162.25	
SUM	n=4, $\bar{y} = 12.5$	$7.59 \times 10^{-3}$	-9.1	4043.94	3352.41

**반복분석에 대한 불확도**

국내산 황색종 원료엽중의 전알카로이드 및 환원당 함량을 5회 반복분석한 결과를 표 5에 나타내었다. 전알카로이드의 반복분석에 대한 A type 표준불확도는  $4.90 \times 10^{-3}\%$  이고 상대불확도는  $1.54 \times 10^{-3}$  (0.0049/3.18)이었으며, 환원당은  $5.48 \times 10^{-2}\%$ 의 표준불확도와  $1.61 \times 10^{-2}$  (0.0548/3.4)의 상대 표준불확도를 각각 보였다.

전알카로이드의 반복분석에 대한 상대불확도 값은 표준용액 조제시 100ml 플라스크에 포함된 불확도 인자와 유사하였으나, 환원당인 경우는 검량선 다음으로 상대불확도 값이 높았는데, 이는 담배에 함유되어 있던 개별당이나 다당류가 시료 추출 후 효소분해 등으로 미세하게나마 반응하거나 방해물질에 기인된 것으로 생각되며 향후 담배 중 전알카로이드와 환원당 분석에 있어서 반드시 반복분석은 필요할 것으로 판단된다.

Table 5. Total alkaloid and reducing sugar contents depending upon the repeated analysis on flue-cured leaf tobacco

Repeat No.	Total alkaloid (%)	Reducing sugar (%)
1	3.18	3.3
2	3.20	3.3
3	3.18	3.4
4	3.17	3.4
5	3.18	3.6
Mean	3.18	3.4
SD	0.01095	0.12247
Type A (SD/ $\sqrt{n}$ )	$4.90 \times 10^{-3}$	$5.48 \times 10^{-2}$

**수분함량 분석에 대한 불확도**

ISO6488(1981)에 의한 담배중 수분함량 분석은 일정량의 시료를 cyclohexane으로 증류 추출하여 수기에 얻어진 수분량을 측정하는 방법으로 시료의 무게와 수기에 포집된 물의 량을 측정함에 있어 기기 고유의 오차와 개인적인 반복측정 등에서

불확도 요인이 발생할 수 있다.

시료의 무게 측정에 따른 저울의 B type 표준 불확도는 앞서 기술한 바와 같이  $6.25 \times 10^{-5}g$  이므로 50g의 시료측정에 대한 상대표준불확도는  $1.25 \times 10^{-6}$  ( $6.25 \times 10^{-5}/50$ ) 이었다.

수분측정용 10ml 수기의 교정성적서 상의 불확도는 95% 신뢰수준에서  $\pm 0.03ml$  이므로 표준불확도는 0.015 (0.03/2)ml이다. 본 연구에서 사용된 황색종 원료엽의 수분함량은 9.9%였으며, 일반적으로 국내 재건조 원료담배의 경우 5ml 내외로 포집되므로 5ml 눈금 읽기에 대한 개인불확도는 앞서의 25ml 피펫과 같은 방법으로 구하였는데  $6.53 \times 10^{-3}ml$  이었다. 온도 변화에 따른 5ml 물 부피 변화의 불확도는  $3.15 \times 10^{-3}$  ( $5 \times 3 \times 0.00021$ )ml 이고, 표준불확도는  $1.58 \times 10^{-3}$  (0.000315/2)ml 이다. 따라서 5ml 부피의 합성표준불확도는  $1.64 \times 10^{-2}$  ( $\sqrt{0.015^2 + 0.00653^2 + 0.00158^2}$ )ml이고 상대 표준불확도는  $3.3 \times 10^{-3}$  (0.0164/5) 이었다.

**확장불확도**

확장 불확도는 각 불확도 인자들의 상대표준불확도 값을 불확도 전파의 법칙에 따라 제곱합의 제곱근으로 합성하고, 합성된 값에 측정값과 포함인자 2(95% 신뢰수준)를 곱하여 표시한다(ISO, 1993).

표 6은 잎담배중의 전알카로이드와 환원당을 분석하는 과정에서 나타난 각 인자들의 불확도 값을 요약하여 정리한 것이다.

1999년산 국내 황색종 상업2등 원료담배를 대상으로 전알카로이드와 환원당을 분석함에 있어 각각의 불확도 인자를 조사한 결과 전알카로이드의 경우 표준용액 조제에 따른 1ml 피펫 부피>표준물질의 순도>검량선>표준용액 조제에 따른 2ml 피펫 부피>수분측정에서의 수기 부피>시료 반복 분석>표준용액 조제에 따른 100ml 플라스크 부피>시료 추출용액 첨가 등의 순서로 불확도 값에 영향을 미치고 있는 것으로 나타났다. 시료중의 전알카로이드 측정값이 3.18%이었을 때 최종 확장불확도는 95% 신뢰수준에서 0.12 ( $1.88 \times 10^{-2} \times 2 \times 3.18$ )%의 불확도 값을 보였다. 이는 황색종 상업2등 재건조 원료엽중 전알카로이드 함량은 3.06

황색종 담배중 전알카로이드와 환원당 분석에 대한 불확도 측정

- 3.30% 범위에 분포될 확률이 95% 인 것을 의미한다.

또한 환원당을 분석함에 있어서는 환원당 표준물질의 검량선>시료 반복분석>표준용액 조제에 따른 1ml 피펫 부피>표준용액 조제용 2ml 피펫 부피>수분측정에서의 수기 부피>표준용액 조제용 100ml 플라스크 부피> 시료추출 용액첨가 등의 순으로 불확도에 영향을 미치는 것으로 조사되었으며, 수분 측정과 시료 및 표준물질 측정용 저울의 불확도 요인은 비교적 경미한 것으로 조사되었다. 따라서 본 원료업에 대한 환원당 측정값이 3.4%이었을 때 최종 확장불확도 값은 95% 신뢰수준에서  $0.54(7.97 \times 10^{-2} \times 2 \times 3.4)\%$ 의 비교적 높은

불확도 값을 보였는데, 측정치와 비교할 때  $\pm 15.8\%$  ( $0.54/3.4 \times 100$ ) 정도가 불확도로서 존재하는 것으로 나타나 담배중 환원당 분석에 있어 오차요인이 많음을 시사한다고 하겠다.

이상의 본 연구에서 도출된 분석과정별 불확도 인자들은 우리가 일상적으로 임하는 분석과정에서의 무심코 지나치기 쉬운 각 오차요인을 분명히 인식할 수 있는 계기가 되었으며, 시료채취에서부터 표준용액 조제나 시료 추출 및 수분정량 등에 임할 경우 반드시 검증된 초자류나 장비를 사용함은 물론 정기적인 검교정을 반드시 수행하여 분석 결과의 신뢰성 제고에 대비하여야 할 것으로 생각된다.

Table 6. Overall uncertainty in the analysis of total alkaloids and reducing sugar contents in leaf tobacco.

Description		Value	Standard Uncertainty	Relative Standard Uncertainty	
Sampling	Weighing of tobacco	0.250g	$6.25 \times 10^{-3}$	$2.50 \times 10^{-4}$	
Addition of extracting solution	Pipet	25ml	$2.64 \times 10^{-2}$	$1.06 \times 10^{-3}$	
Preparation of standard solution	Nicotine salt	Purity	0.985	$8.80 \times 10^{-3}$	$8.93 \times 10^{-3}$
		Weighing	3.0722g	$6.25 \times 10^{-3}$	$2.03 \times 10^{-3}$
	Glucose	Purity	0.995	$2.89 \times 10^{-3}$	$2.90 \times 10^{-3}$
		Weighing	5.000g	$6.25 \times 10^{-3}$	$1.25 \times 10^{-3}$
	Flask	100ml	0.1308	$1.31 \times 10^{-3}$	
Pipet	1ml	$1.27 \times 10^{-2}$	$1.27 \times 10^{-2}$		
	2ml	$8.78 \times 10^{-3}$	$4.39 \times 10^{-3}$		
Calibration curve	Total alkaloid	3.18%	$2.28 \times 10^{-2}$	$8.81 \times 10^{-3}$	
	Reducing sugar	3.4%	0.2004	$5.89 \times 10^{-2}$	
Reproducibility of anal.	Total alkaloid	3.18%	$4.90 \times 10^{-3}$	$1.54 \times 10^{-3}$	
	Reducing sugar	3.4%	$5.48 \times 10^{-2}$	$1.61 \times 10^{-2}$	
Water content of tobacco	Weighing of tobacco	50.0g	$6.25 \times 10^{-3}$	$1.25 \times 10^{-6}$	
	Adapter	5ml	$1.64 \times 10^{-2}$	$3.30 \times 10^{-3}$	
Overall uncertainty	Total alkaloids	0.0188			
	Reducing sugar	0.0796			

## 결 론

원료 잎담배중 전알카로이드와 환원당을 분석하여 얻어진 결과에 대한 신뢰성 정도를 알아보고자 분석과정에서 나타날 수 있는 각 인자별로 불확도를 구하였다. 상기 성분분석은 5% 초산 용액으로 추출한 용액을 표준물질의 농도에 따라 자동 분석기로 분석하는 방법으로, 미지시료에 대한 상대적 비색정량법이다. 분석과정에서 불확도 인자로는 시료의 무게측정, 추출용 용매의 조제 및 첨가, 표준용액의 조제, 검량선 작성, 시료의 반복분석 및 시료중 수분정량 등을 들 수 있으며, 각 인자들에 대한 실험과정에서의 반복성에 대한 표준편차를 이용한 A type 불확도와 초자류나 저울 등이 가지는 교정성적서 상의 B type 불확도를 구하고 이를 합성한 후 95% 신뢰수준에서의 상대불확도를 구하였다. 요인별 이들의 상대불확도를 최종 확장불확도 값으로 구한 결과, 국내산 황색종 상업 2등 원료엽의 전알카로이드 3.18%를 분석하는데 있어 확장불확도 값은 0.12(k=2)% 이었고, 환원당 3.4%를 분석하는데 있어서의 확장불확도 값은 0.54(k=2)% 이었다.

## 참 고 문 헌

- Bran+Lubbe(1995) Full automatic water analyzer  
CORESTA Recommended Method N° 35 (1994)  
Determination of total alkaloids(as nicotine) in tobacco by continuous flow analysis  
CORESTA Recommended Method N° 38 (1994)  
Determination of reducing carbohydrates in tobacco by continuous flow analysis.  
CORESTA Recommended Method N° 39 (1994)  
Determination of the purity of nicotine and nicotine salts by gravimetric analysis -tungstonsilic acid method.  
EURACHEM (1995) Quantifying uncertainty in analytical measurement. 1st ed. pp.1-86. Laboratory of the Government Chemist, London.  
ISO 6488(1981) Tobacco - Determination of water content. *International Organization for Standardization*. Switzerland.  
ISO(1993) Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement. *International Organization for Standardization*. Geneva, Switzerland.  
김찬호 등(1991) 담배성분분석법, *한국인삼연초연구* 64-101.  
장기철, 이운철, 백순옥, 한상빈 (2000) 담배 중 멘톨 분석에 대한 불확도 측정. *한국연초학회지* 22(1):91-98.