

근적외 분광분석법에 의한 잎담배의 품질측정 자동화

조래광 · 이경희 · 이정환 · 권영길

경북대학교 농화학과

초록 : 비파괴 측정법의 하나인 근적외 분광분석법을 응용하여 국내산 황색종 잎담배의 품질에 관련된 주요성분인 수분, 니코틴, 전질소, 환원당 및 색깔 등을 신속, 정확하게 동시에 측정하기 위한 가능성을 조사하였다. 근적외 영역의 광학데이터와 기존 습식분석법에 의한 잎담배의 수분, 니코틴, 전질소, 환원당 및 L, a, b 측정치간에 중회귀 분석을 행한 결과, 검정용 시료에 대한 측정오차(SEP)가 각각 0.28%, 0.25%, 0.07%, 0.75%, 1.25, 0.44 및 1.07이며, 시료의 전처리없이 30초 이내에 동시에 측정 가능함을 알 수 있었다. 아울러 잎담배 수매, 원료가공 및 제품담배 제조현장에 활용하기 위한 보급형 근적외 분광분석기의 개발 가능성도 검토하였다(1994년 9월 26일 접수, 1994년 10월 18일 수리).

서 론

최근 잎담배의 품질 평가 기준은 껍미(喫味) 성분에 근거를 둔 전통적 가치뿐만 아니라 소비자의 기호 및 건강을 중시하는 풍조를 고려한 엽조기술 및 니코틴 함량의 저하 등 총괄적 기준으로 확대되고 있는데 그중 원료 잎담배의 화학적 품질 성분에 의한 평가 기준이 가장 중요한 것으로 알려져 있다. 그러나 잎담배의 품질에 크게 관여하는 수분, 니코틴, 전질소, 환원당 및 색깔을 측정하기 위해 이용되고 있는 현행 방법은 시료칭량, 추출, 여과, 가열, 회석, 비색 및 계산 등의 복잡한 조작이 각각 필요하여 분석에 소요되는 인력, 시간 및 비용이 많이 요구되어 상기 성분들을 수매, 원료가공, 제품 담배 제조 공정 중에 동시분석이 불가능하므로, 즉각 현장에서 결과치를 알 수 없어 공정제어 및 품질 관리에 필요한 정확한 자료를 얻지 못하는 결점이 있어 이를 해결할 수 있는 새로운 잎담배의 종합적 품질측정 자동화기술의 개발이 요망되어 왔다. 이러한 종합적 자동화기술을 위해 최근 비파괴측정법 중 근적외 분광법이 도입되고 있는데, 그 응용범위는 고추¹⁾, 커피²⁾ 등의 식품공업³⁾을 포함한 농산물 전반에 연구 및 실용화하고 있다. 특히, 담배에 있어서는 1970년대 후반부터 시작되어 잎담배 중의 수분⁴⁾, 니코틴^{5,6)}, 환원당⁷⁾, 전당⁸⁾, 전질소^{9,10)}, 타르¹¹⁾ 등을 측정하는 정량분석 뿐만 아니라

혼합담배의 판별¹²⁾ 등과 같은 정성분석에 연구가 활발히 진행되고 있다.

따라서, 본 연구에서는 국내산 황색종 잎담배에 대해서 기존의 습식 분석방법을 탈피하여 수분, 니코틴, 환원당, 전질소 및 색도(L, a, b-value)를 구성하고 있는 화학 성분의 관능기를 직접 계측하는 비파괴 분석법인 근적외 분광분석법을 이용하여 잎담배의 품질 성분을 현장에서 신속하게 동시에 측정할 수 있는 가능성을 조사하였다. 아울러, 잎담배 수매, 원료 가공 및 제조 현장에 있어서 제품의 고품질화 및 품질검사를 생력화(省力化)하기 위해 이용될 수 있는 현장용 근적외 분석장치의 개발 가능성도 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 잎담배 시료는 한국인삼연초연구소가 1991년도에 수집한 국내의 각 지방에서 생산된 황색종 담배 275점을 분양 받아 사용하였다.

수분함량 측정

분쇄한 잎담배 시료 5g을 알루미늄 포일을 비이커 모양으로 성형한 간이 용기에 칭량하여 100°C로 조정된 건조기에서 3시간, 또는 80°C로 조정된 건조기에서 3시간

Key words : Near infrared spectroscopy(NIRS), Tobacco leaf quality, Nicotine, Tobacco quality, Non-destructive quality evaluation

Corresponding author : R.-K. Cho

방치한뒤 중량 감소로부터 수분함량을 구하였다.

니코틴 및 환원당 함량 측정

니코틴 함량은 산추출후 Auto Analyzer II(Bran+Luebbe Co., Germany)로 비색 측정하였으며, 환원당의 경우는 시료를 증류수 100 ml에서 30분간 추출한 후 Auto Analyzer II로 측정하여 정량하였다.

전질소 함량 측정

전질소 함량은 시료를 분해 후 Auto Analyzer II로 비색 측정하는 방법과 기존의 Kjeldahl법으로 각각 측정하였다.

색도 측정

분말 잎담배 시료를 유리창이 부착된 근적외 분석용 밀폐 용기에 채운 뒤 색차계(CR-200, Minolta Co., Japan)로 L(밝기 정도), a(붉은 정도), b(황색 정도)값을 각각 측정하였다.

근적외 스펙트럼 측정

잎담배 중에 함유된 품질성분을 근적외 분광분석법으로 측정하기 위한 시료 전처리 및 스펙트럼 측정과정은 Fig.1과 같다.

잎담배 시료를 분쇄치 않고 근적외 분광분석법으로 측정해야만 넓은 의미에서 비파괴 측정기술이 될 것이지만 접혀져 말린 상태의 잎담배 시료의 형상이 아주 다양하여 물리적인 파괴 즉, 분쇄만 마치고 화학적 분석조작을 일체 생략할 수 있다는 혐의의 비파괴 측정법으로 근적외 분광법을 응용하기 위해 본 실험에서는 사이클론 분쇄기(UDY Co., USA)를 사용하여 분말로 한 뒤 실험에 사용하였다.

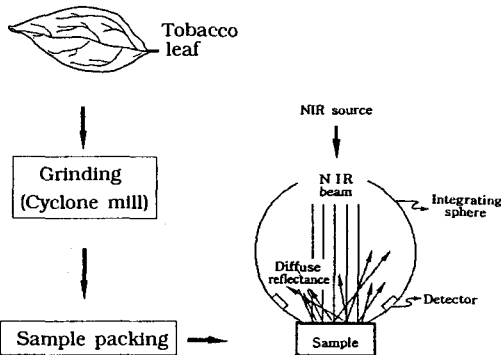


Fig. 1. Procedure of NIR spectrum measurement for tobacco powder samples.

잎담배 분말시료를 근적외 분광분석장치 전용의 확산 반사형 시료 용기에 약 4g을 넣고 연구용 근적외 분광 분석장치를 이용하여 1100 nm에서 2500 nm까지 2 nm 간격으로 701개소에서의 스펙트럼을 측정하여 각 파장에 있어서의 흡광도를 전용 컴퓨터에 기억시켜 검량식 작성에 사용하였다.

검량식 작성

근적외 분광분석법도 광학정보를 응용하는 일종의 정량 분석법에 속하므로 화학 분석치 함량에 차이를 나타내는 복수의 시료를 사용하여 검량식을 작성할 필요가 있다. 검량식 작성용 시료군(200점)의 근적외 스펙트럼 데이터와 상기의 습식 분석법으로 얻어낸 각종 성분치 데이터 상호간에 IDAS(InfraAlyzer Data Analysis Software, Bran+Luebbe Co., Germany) 프로그램을 사용하여 측정하려는 성분치의 변동폭에 가장 상관을 높게 나타내는 파장을 먼저 선발하고 점차 보정 파장을 단계적으로 늘려나가는 step-up 방식으로 중회귀 분석을 행하였다.

각각의 성분치를 측정할 수 있는 복수의 검량식 중에서 중상관계수(multiple correlation coefficient : R)가 높고, 화학분석치와 근적외 분석치간의 표준 오차(standard error of estimate : SEE)가 작은 후보 검량식을 3~5개

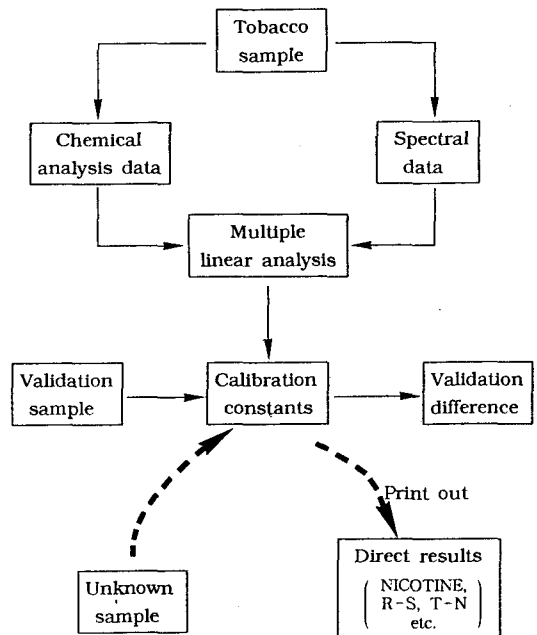


Fig. 2. Flow diagram of calibration and prediction process.

가량 선별한 다음 이들을 검정용 시료군에 적용시켜 실행 정확도를 확인하는 단계에 있어서 화학분석치와 근적외 분석치간의 표준오차(standard error of prediction : SEP)가 가장 작은 검량식을 최종적인 비파괴 측정용 검량식으로 채택하였다.

최종적으로 검량식이 작성되고 난 뒤부터는 분석하려는 시료에 선택된 근적외 파장의 흡광도 데이터만 입력되면 기존의 화학분석 조작을 전혀 거치지 않고 분석결과가 얻어지는 소위 비파괴적 분석이 실현되는 것이다. 중회귀분석에 쓰이는 계산식은 아래와 같으며, 검량식 작성 및 검정에 대한 개략적인 과정을 Fig. 2에 나타내었다.

$$R = \sqrt{1 - \frac{SEE^2 - (n - k - 1)}{SD_{range}^2(n - 1)}}$$

$$SEE = \sqrt{\frac{\sum (NIR_{value} - chemical_{value})^2}{n - k - 1}}$$

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum (NIR_{value} - chemical_{value})^2}{n}}$$

- R : Multiple correlation coefficient
- SEE : Standard error of estimate
- SEP : Standard error of prediction
- SD_{range} : Standard deviation of the range
- n : Number of samples

- k : Number of wavelengths
- NIR_{value} : Predicted value obtained by NIR method
- Chemical_{value} : Analytical value obtained by chemical method

결과 및 고찰

근적외 분광분석법에 의한 잎담배의 성분 측정 결과

잎담배 시료 중의 수분, 니코틴, 전질소, 환원당 및 L, a, b값을 비파괴 측정하기 위해 기존 분석에 의한 측정치와 근적외 데이터(log 1/R)간에 중회귀분석을 행한 뒤 검정용 시료군에 적용시켜 실행 정확도가 가장 양호한 검량식의 결과만을 발췌하여 Table 1에 나타내었다.

Table 1에서 선택된 파장들은 아래의 수분(100℃) 검량식의 예와 같이 중회귀분석 과정에서 계수가 이미 결정되어 있으므로 각 선택된 파장역역의 근적외 분광치만 대입되면, 잎담배의 수분이 즉시 계산됨을 알 수 있었다.

$$\text{Moisture(\%)} = 6.85 + 102.118 \times OD_{\text{at } 1928 \text{ nm}} - 98.846 \times OD_{\text{at } 2044 \text{ nm}}$$

각 성분에 있어 중상관계수는 대부분 0.95이상으로 높은 상관관계를 보이고 있으며, 검정용 시료에 대한 측정 오차는 수분, 니코틴, 전질소, 환원당 및 색도(L, a, b-value) 등에 대해 각각 0.28%, 0.25%, 0.07%, 0.75%,

Table 1. Result of multiple linear regression analysis for determining moisture, nicotine, total nitrogen, reducing sugar contents and color(L, a, b) value in tobacco samples by research-type NIR instrument

Contents	Used wavelengths(nm)	R	SEE	SEP	Range(%)	Mean(%)
Moisture(80℃) ¹⁾	1908, 2316, 2372, 2028, 1760	0.95	0.38	0.47	8.87-15.04	12.24
Moisture(100℃) ²⁾	1928, 2044	0.97	0.26	0.28	10.59-15.65	13.13
Nicotine	2356, 2232, 2248, 2368, 2292, 2228, 1984, 2268, 1884	0.99	0.15	0.25	0.64- 4.35	2.03
T-N(AAI) ³⁾	1280, 1260, 1288, 1172	0.95	0.11	0.19	1.30- 2.90	2.00
T-N(Kjeldahl) ⁴⁾	1828, 2216, 1328, 1220, 1812, 1200, 2024	0.99	0.05	0.07	1.11- 3.02	1.92
R-S	2084, 2272, 2088, 2236, 2280, 2312, 2340	0.99	0.64	0.75	4.80-25.50	16.51
L-value	1180, 1252, 1240, 1276	0.95	1.22	1.25	50.88-67.05	60.17
a-value	2220, 1636, 2384	0.88	0.43	0.44	3.30- 7.31	5.30
b-value	1352, 1280, 1108, 1936	0.91	0.94	1.07	23.29-33.13	29.38

R : Multiple Correlation Coefficient ¹⁾Drying at 80℃ for 3hrs.
 SEE : Standard Error of Estimate ²⁾Drying at 100℃ for 3hrs.
 SEP : Standard Error of Prediction ³⁾Determined by AutoAnalyzer II method.
⁴⁾Determined by Kjeldahl method.

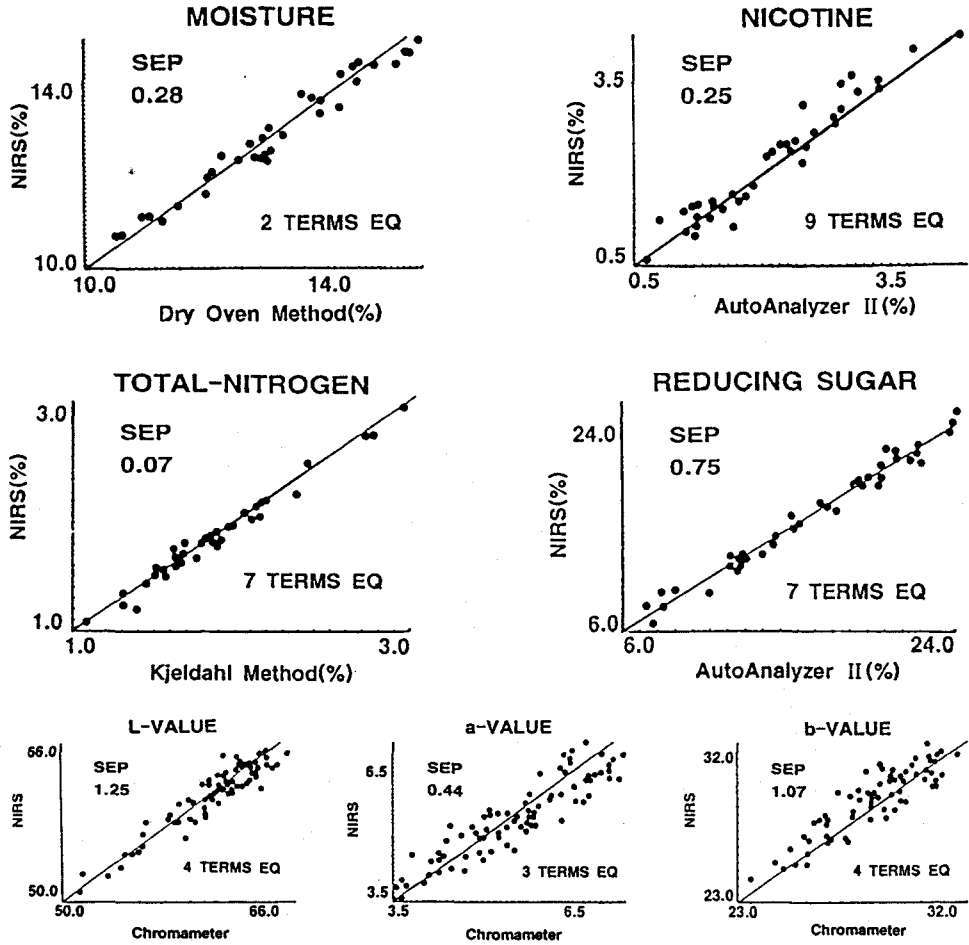


Fig. 3. Relationship between NIRS and chemical analysis methods for moisture, nicotine, total nitrogen, reducing sugar contents and color(L, a, b) value of tobacco sample powder.

1.25, 0.44 및 1.07로 비교적 정확하게 측정됨을 알 수 있었다.

중회귀분석에 사용한 기존의 분석데이터에 있어 수분의 경우 80°C, 3시간 건조처리보다 100°C, 3시간 건조하여 얻은 수분 데이터를 검량식 작성에 적용한 경우가 더욱 상관성이 높고 측정오차가 작으며, 전질소의 경우에도 Auto Analyzer II로 분석한 결과보다 Kjeldahl방법으로 측정된 데이터를 계산에 적용한 검량식이 잎담배 내부의 전질소 함량을 측정하는데 더욱 정확하였다. Fig. 3은 각각의 성분의 측정 정확도를 2차원 평면에 나타낸 것으로 X축이 기존분석방법에 의한 측정치이고, Y축이 근적외 분광분석법에 의한 담배 성분의 측정치이다.

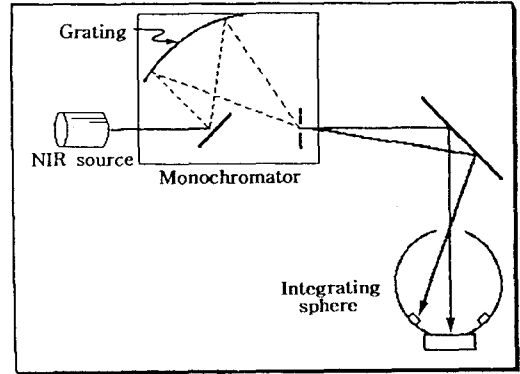
근적외 영역의 광학 데이터와 잎담배 성분간의 관련

잎담배 분말 시료에 조사된 근적외 광선의 특정 파장에 있어서 나타나는 흡광도값이 검량식에 대입되기만 하면 잎담배의 성분치가 바로 산출됨을 앞에서 나타내었으나 이들 파장과 측정하려는 성분의 직접적인 관련을 Fig. 4에 나타내었다. 즉, 스펙트럼을 2차 미분변환한 스펙트럼에서는 피크가 아래로 돌출할수록 흡수가 강함을 나타내는데 환원당 함량이 높은 잎담배 시료일수록 2090 nm 부근의 흡수가 강하며, 2280 nm 부근에서의 흡수도 강함을 알 수 있었다. 이들 파장은 전분이나 설탕, 포도당과 같은 당류의 카르보닐기(CHO)에 유래되는 것으로 알려져 있다. 한편, 니코틴 함량이 많은 시료에서 강한 흡수를 가지는 2356 nm는 니코틴의 C=C구조에 기인된 것으로, 2248 nm에서 흡수가 강한 것은 이 파장이 니코틴의 질소고리 구조에 기인하는 것으로 추정되며, 일

반적으로 잎담배의 내부성분 중 니코틴의 함량이 증가하면 환원당은 적다는 담배연구분야의 일반적인 사실이 이들 근적외 스펙트럼에서도 역상관이 있음이 흡수강도에서 쉽게 인정되며, 근적외 영역에는 특이한 잠재적인 정보가 존재하고 있음을 시사하고 있다. 그 외에도 수분함량 측정에 이용되는 파장인 1928 nm는 물의 OH기와 관련되며, 전질소 측정에 관련되는 파장은 NH기에 유래되는 것으로 잘 알려져 있다. 기타 파장은 좁은 근적외 영역에서 복수의 구성성분에 의해 겹쳐진 피크를 보정하기 위해 도입된 파장인 것으로 알려져 있다.

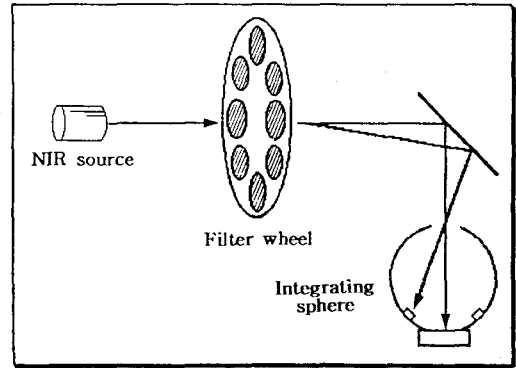
현장 보급형 근적외 분광분석기

앞의 결과들은 연구용 근적외 분광분석장치를 이용하여 취득한 것으로서 측정결과는 만족할만한 수준이라고 인정할 수 있으나 수매 현장이나 원료 공장, 제조공정에



Research-type NIR instrument

↓
Transfer



Filter-type NIR instrument

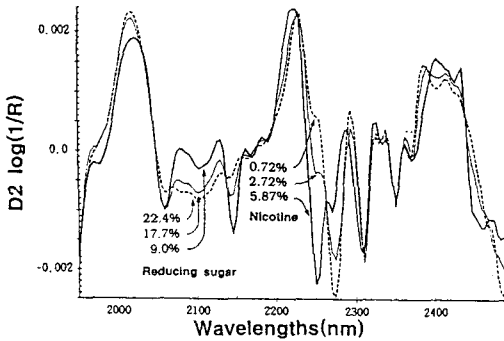


Fig. 4. Second derivatives of near infrared spectra of three ground tobacco samples with different nicotine contents.

Fig. 5. The transferring calibrations from research-type NIR instrument to filter-type NIR instrument.

Table 2. Result of multiple linear regression analysis for determining moisture, nicotine, total nitrogen, reducing sugar contents and color(L, a, b) value in tobacco samples by filter-type NIR instrument

Contents	Used wavelengths(nm)	R	SEE	SEP	Range(%)	Mean(%)
Moisture(100°C)	1940, 2100, 1982, 1840, 1446	0.97	0.27	0.28	10.59-15.65	13.13
Nicotine	2270, 2250, 2230, 1760, 1818	0.98	0.20	0.30	0.64- 4.35	2.03
T-N(Kjeldahl)	2130, 1818, 2140, 1446, 2190, 1680, 1840	0.99	0.08	0.10	1.11- 3.02	1.92
R-S	2310, 2100, 1982, 2336, 2230, 2270	0.96	0.89	0.82	4.80-25.50	16.51
L-value	2180, 2100, 2230, 2336, 1446, 1790, 1840, 2270	0.96	1.14	1.08	50.88-67.05	60.17
a-value	1790, 1818, 2230, 2270, 1446, 1840	0.89	0.42	0.44	3.30- 7.31	5.30
b-value	1446, 2190, 2140, 1940, 1680	0.77	1.30	1.19	23.29-33.13	29.38

R : Multiple Correlation Coefficient
 SEE : Standard Error of Estimate
 SEP : Standard Error of Prediction

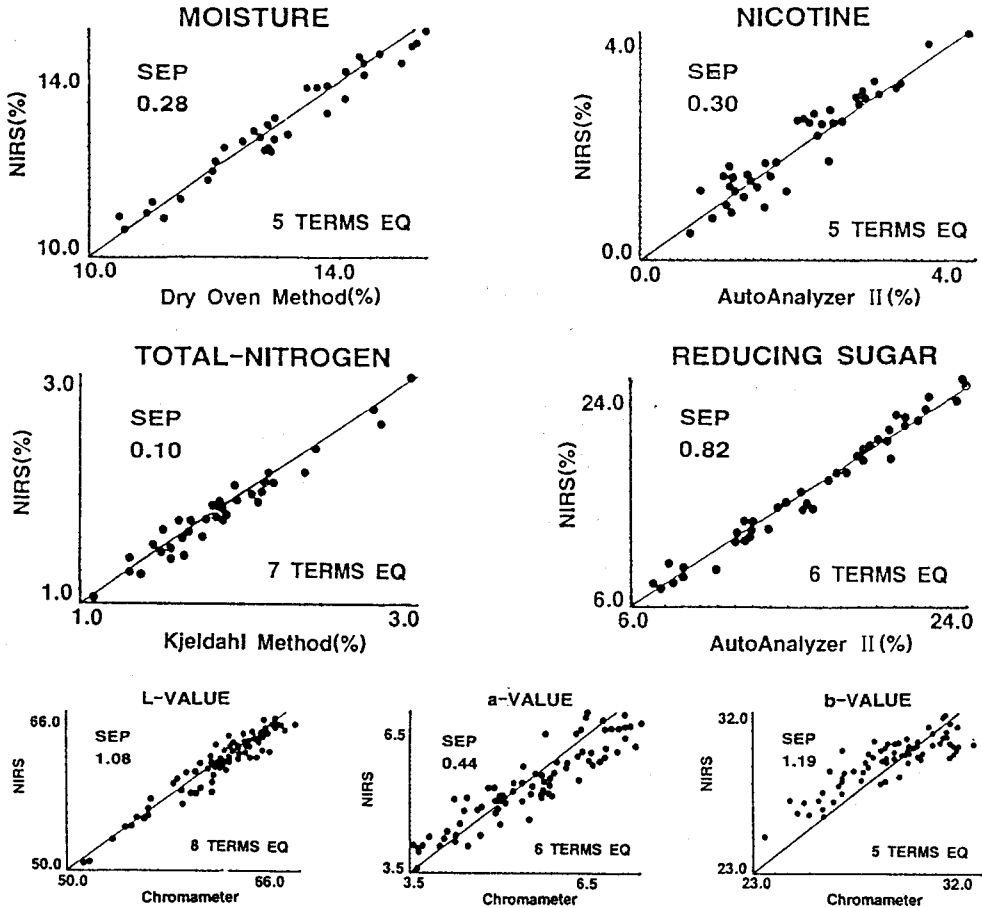


Fig. 6. Relationship between NIRS and chemical analysis methods for moisture, nicotine, total nitrogen, reducing sugar contents and color(L, a, b) value of tobacco sample powder using filter type instrument.

활용하기에는 가격이 비싸며, 조작 및 취급에도 전문적 지식이 필요한 등 어려운 점이 일부 있어 가격이 저렴하고 현장에서 쉽게 활용할 수 있는 보급형 근적외 분광분석장치의 개발 가능성을 검토하였다. 최소한의 파장대수로서 복수의 성분을 측정할 수 있도록 파장 조정을 시도한 결과 Table 2에서와 같이 총 19개의 고정용 필터가 내장된 장치를 사용하면 연구용 근적외 분광분석 장치보다 크게 상관성이 떨어지는 성분은 없으며 다만, b-value에서 상관성이 다소 낮게 측정된다.

만약, 색깔(L, a, b치)만을 측정하고자 할 경우에는 13개의 고정필터를 가진 소형장치로, 니코틴과 환원당의 2가지 성분만을 측정하고자 할 경우에는 9개의 고정필터를 가진 소형장치로 측정 가능함을 의미하는데, 이러한 장치는 근적외 파장영역 전체를 분광할 수 있는 장치가 생략될 수 있으며, 별도의 컴퓨터를 필요치 않고, 본체

만으로 측정되므로 연구용 근적외 분광분석장치에 비해 약 1/4정도의 가격에 구입 가능할 것으로 생각된다.

Fig. 5는 1100 nm에서 2500 nm까지 전파장을 분광하는 연구용 근적외 분광분석장치에서 현장보급형 근적외 분광분석장치로 검량식 이설을 나타내는 것으로서, 검량식 이설이라 함은 잎담배의 내부성분을 측정하기 위해 선택된 파장만으로 구성된 장치로 잎담배의 분석이 가능하도록 전환하는 과정이다. 따라서, 연구용 장치에 대해 현장보급형 장치는 선택된 파장만을 내장시켜 분광하는 고정필터방식을 채택하고 있다. 현장 보급형 장치로 분석하였을 때의 결과와 기존 습식분석치를 비교한 결과는 Fig. 6와 같다.

이상의 결과로부터 현장용 근적외 분광분석기로서도 잎담배의 내부성분을 신속, 정확하게 동시에 측정가능함을 알 수 있었다. 또한, 주성분분석(PCA), PLSR(Partial

least squares regression)¹³⁾ 등의 다변량 해석전용의 소프트웨어(SESAME, UNSCRAMBLER II program)의 개발로 과거에는 극히 해석하기 난해했던 부분까지도 해석할 수 있게 되어, 잎담배에 있어서도 착엽위치 및 내부성분을 근거로 한 잎담배 수매 현장에 응용가능한 종합적 등급판정 자동화가 현재 연구중에 있으며, 제품담배의 배합비, 이물질의 혼입률 등을 감별할 수 있는 연구가 이루어지고 있다.

감사의 말

본 연구는 한국인삼초연구소의 용역 연구비에 의해 수행된 결과로 이에 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

1. Cho, R. K., M. R. Sohn and J. J. Ann (1991) Rapid Determination of Seed and Stem Content in Red Pepper Powder by Near-Infrared Reflectance Spectroscopic Analysis, *Korean J. Food Sci. Technol.* Vol. 23, No. 4, pp. 447-451.
2. Iizuka, K. and H. Hashimoto (1990) Pattern Recognition of NIR Spectra, Varieties and Roasting levels of Coffee beans, The Proceeding of the Second International Near Infrared Spectroscopy Conference, 249, Japan.
3. 조래광 (1987) 食品工業에 있어서 近赤外 分析法の

應用, 食品科學(總說) 20(4), 4.

4. Crowell, E. P., W. F. Kuhn, F. E. Resnik and C. J. Varsel (1961), *Tob. Sci.*, 5, 54-57.
5. Pandeya, R. S., N. Rosa, F. H. White and J. M. Elliott (1978) *Tob. Sci.*, 22, 27-31.
6. Long, T. M. (1983) *Anal. Proc.*, 20, 69-72.
7. McClure, W. F., K. H. Morris and W. W. Weeks (1977) *Beitr. Tabakforsch.*, 9, 13-18.
8. Diffie, J. T., R. J. Reynolds, Tobacco Co., unpublished results.
9. Tonini, A., G. Mellone and S. Comella (1981) *Ann. Ist. Sper. Tab.*, 8, 89-92; C. A., 99, 85365 (1983).
10. Williamson, R. E. and W. F. McClure (1986) *Tob. Sci.*, 30, 109-111.
11. Williamson, R. E., J. F. Chaplin and W. F. McClure (1986) Near-infrared Spectrophotometry of Tobacco Leaf for Estimating Tar Yield of Smoke, Paper presented at the 40th Tobacco Chemists' research Conference, Knoxville, TN, October.
12. Dominguez, L. M. and S. K. Seymour (1991) Discrimination of tobacco blends by using a partial least squares calibration as a discriminant analysis tool, Making Light Work: Advances in Near Infrared Spectroscopy, 178-184, *The 4th International Conference on Near Infrared Spectroscopy*, Aberdeen, Scotland, August. 19-23
13. Harald Martens, Tormod Nas: Multivariate Calibration, Norwegian Food Research Institute, Oslovegen 1, N-1430 Aas, Norway.

A Study for Automatic Analysis of Quality Components in Tobacco Leaves Using Non-destructive Analytical Method

Rae-Kwang Cho, Kyung-Hee Lee, Jung-Hwan Lee, Yong-Kil Kwon (Department of Agricultural Chemistry, Kyung-pook National University, 1370 Sangyuk-dong, Puk-gu Taegu, 702-701, Korea)

Abstract : The present study was conducted to develop the automatic analytical method for determining moisture, nicotine, reducing sugar and total nitrogen contents and color(L, a, b) value in domestic tobacco leaves using near infrared(NIR) spectroscopy. The results of multiple linear regression analysis between chemical and NIR data showed that NIR spectroscopy can determine those quality components of tobacco samples in 30 seconds, non-destructively. The results using developed calibrations are summarized as follows; The standard error of prediction(SEP) for moisture, nicotine, total nitrogen, reducing sugar contents and color(L, a, b) value in domestic tobacco leaves was 0.28%, 0.25%, 0.07%, 0.75%, 1.25, 0.44 and 1.07, respectively. In addition, The possibility of developing the cheaper filter type NIR instrument, for quality evaluation in the procurement from leaf tobacco cultivators and process control was investigated.