

근적외 분광분석법을 이용한 한국산과 미국산 잎담배의 판별분석

장기철* · 김용옥 · 이경구

한국인삼연초연구원
(1998년 10월 10일 접수)

Discriminant Analysis of Korean and American Tobacco by Near Infrared Spectroscopy

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

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute

(Received October 10, 1998)

ABSTRACT : Discriminant analysis using near infrared spectra derived from Korean Flue-cured(KF) and American Flue-cured(AF), and also Korean Burley(KB) and American Burley(AB) tobacco was done to classify flue-cured and burley tobacco as either grown in Korea or grown in the USA. Samples were scanned in the wavelength of 400~2500 nm by near infrared analyzer(NIRSystem Co., model 6500). The discrimination equations for flue-cured and burley tobacco were developed using partial least square 2 method in Infracsoft International NIRS 3 software package. KF samples used for the development of the discrimination equations were higher contents of total sugar, crude ash and chlorine, and higher value of leaf density and brightness, but lower contents of nicotine, total nitrogen and ether extracts, and higher value of redness than those of AF samples. KB samples were higher contents of nicotine, crude ash and chlorine, but lower contents of ether extracts and value of brightness than those of AB samples. On 3 dimensional graph drawn with 3 principal component scores calculated with 3 principal component from KF and KB sample spectra, KF sample spectra were significantly different from AF, and also KB sample spectra were significantly different from AB. The discrimination equations of flue-cured and burley were developed with 3 principal component, respectively. The discrimination equations for flue-cured and burley had a standard error of 0.03 and 0.04, and a R^2 of 0.88 and 0.84, respectively. The tobacco samples used for the development of discrimination equation were perfectly classified as KF and AF by flue-cured discrimination equation, and also perfectly classified KB and AB by burley discrimination equation, respectively. The correct classification rates of KF and AF samples not used for the development of discrimination equations were 95%(828 out of 869 samples) and 98%(98 out of 100 samples) by flue-cured discrimination equations, and KB and AB samples were 94%(345 out of 368 samples) and 100%(42 out of 42 samples) by burley discrimination equations, respectively.

Key Words : flue-cured tobacco, burley tobacco, near infrared spectroscopy, discriminant analysis

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

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

근적외 분광분석법은 대부분 농산물, 식품, 폴리머 및 섬유산업 등에서 화학성분 정량분석에 이용(Birth 등, 1987; Burns 등, 1992; Marten 등, 1989; Martens 등, 1992; Osborne 등, 1986)되고 있으나, 최근 근적외 스펙트럼을 통계적으로 해석하여(chemometric), 기지의 시료로부터 판별식을 얻어 미지의 시료를 신속하게 구분하는 연구(Devaux 등, 1988; Fearn, 1997과 1998; Mark, 1987)가 활발히 수행되고 있다. 근적외 스펙트럼을 통계처리하여 농산물 판별분석에 활용한 예는, 오렌지 주스의 원산지 구분(Twomey와 Downey, 1995), 의약품 원료로서 적당성 유무 판별(Mark와 Tunnel, 1985; Monfre와 Brimmer, 1992), 커피 품종의 구분(Downey와 Boussion, 1996), 참기름의 원산지 구분(김, 1996), 녹차의 원산지 구분(김, 1997), 그리고 제빵 품질이 우수한 밀 품종의 판별(Birth 등, 1987) 등이 있으며, 담배의 경우는 황색종과 버어리종의 구별(Hana 등, 1997), 제품담배 엽배합 판별(Dominguez, 1996), 제품담배 구분(김, 1994), 그리고 재배산지의 확인(Hana 등, 1997) 등의 연구 결과가 보고되어 있다.

한국산 황색종은 미국산에 비해 염소와 benzyl alcohol, phenyl acetaldehyde 및 α -terpinene 함량이 높으며, 상엽과 하엽간 전알칼로이드 함량 편차가 크고, 에틸추출물과 향기성분 함량이 낮으며, 한국산 버어리종은 미국산에 비해 염소와 고분자 탄소계 화합물 함량이 높으며, 상엽과 하엽간 알칼로이드 함량 편차가 크고, 또한 에틸추출물, 향기 성분 전구체 및 chlorophyll 함량이 낮은 것으로 보고되어 있다(박 등, 1995; 1997).

근적외(파장 700~2500nm) 스펙트럼은 -CH, -NH, -OH 등의 관능기가 분자진동 에너지의 결합대(combination band)와 1차에서 4차 배음대(1st~4th overtone band)에서 광 에너지를 흡수하는 특성을 이용하여 얻어진 것이기 때문에(Burns 등, 1992), 한국산과 미국산 잎담배의 화학적 조성 차이는 근적외 스펙트럼에도 영향을 미칠 것으로 예상된다.

따라서 본 연구에서는 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종 잎담배의 화학성분 차이를 검토하고, 근적외 스펙트럼으로부터 한국산과 미국산 황색종

및 버어리종 잎담배를 구별할 수 있는 각각의 판별식을 얻어 시료를 구분하였다.

재료 및 방법

본 시험에 사용된 시료는 한국산과 미국산 잎담배를 구분할 수 있는 판별식을 얻기 위해 황색종의 경우, 한국산은 '95년산 시료 48점(12개 생산조합, 각 조합당 상엽 3등, 본엽 1등, 중엽 1등, 하엽 3등)을, 미국산은 '94년과 '95년산 엽분별 시료(B, C, H, X) 49점을 사용하였고, 버어리종의 경우 한국산은 '95년산 시료 40점(10개 생산조합, 각 조합당 상엽 3등, 본엽 1등, 중엽 1등, 하엽 3등)을, 미국산은 '94년과 '95년산 엽분별 시료(B, C, X, T) 50점을 사용하였다. 얻어진 황색종과 버어리종의 판별식의 정확도를 예측하기 위한 시료는 황색종의 경우 한국산은 '96년산 432점과, '97년산 444점은 각각 36개와 37개 생산조합에서 각 조합당 하엽과 상엽은 3, 4, 5등, 중엽과 본엽은 1, 2, 3등이었으며, 미국산은 '96년산 엽분별 시료(P, B, C, H, X) 100점이었다. 또한 버어리종인 경우 한국산은 '96년산 180점과 '97년산 192점은 각각 15개와 16개 생산조합에서 각 조합당 하엽과 상엽은 3, 4, 5등, 중엽과 본엽은 1, 2, 3등이었으며, 미국산은 '96년산 엽분별 시료(X, C, B, T) 42점이었다.

수집된 잎담배 시료를 건조하여 분쇄(Cyclotec, 1093 sample mill)한 후 근적외분광기(NIRS사, model 6500)의 표준시료 용기에 시료를 채우고 파장범위 400~2500 nm에서 스펙트럼을 얻었다. 얻어진 시료 스펙트럼으로 Infracsoft International NIRS 3 소프트웨어 통계 프로그램(1992) 중, 판별분석(discriminant analysis)을 사용하여 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종을 각각 구분하기 위해 수치 1(no identification)과 2(perfect identification)를 입력하였다. 즉 황색종의 경우 한국산은 2, 1을 미국산은 1, 2를 각각 입력하고, 버어리종의 경우도 황색종과 마찬가지로 한국산은 2, 1을 미국산은 1, 2를 각각 입력하였다. 판별식을 작성하기 전에 먼저 시료 스펙트럼을 1차 미분(first derivative)하고 8 nm 간격으로 4개 점을 smooth한 후(259 data point), 5개 상호확인그룹(cross validation group)으

로 나누어 주성분(principal component)을 추출하고 주성분 점수(score)를 계산하여 입력된 수치와 부분최소제곱 2(partial least square 2)방법으로 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종을 각각 구분할 수 있는 판별식을 각각 작성하였다.

판별식 작성시료의 성분분석은 니코틴, 전당, 전질소는 자동분석법, 에텔추출물은 용매추출법, 조회분은 회화법, 염소는 전위차적정법으로(김 등, 1991), 밀도는 pycnometer 1000 (Quantachrome)으로, 색상(L, a, b)은 Hunter 색차계로 각각 측정하였다.

결과 및 고찰

판별식 작성에 사용된 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종의 화학성분, 물리성 및 색상의 차이를 비교한 결과는 표 1과 같다.

황색종인 경우 한국산이 미국산에 비해 전당, 조회분 및 염소 함량, 그리고 밀도와 색상중 명도(L) 및 황색도(b)는 높은 반면에 니코틴, 전질소 및 에텔추출물 함량과 색상중 적색도(a)는 낮았고, 버어리종인 경우 한국산이 미국산에 비해 니코틴, 조회분 및 염소 함량이 높았으나 에텔추출물 함량과 색상중 명도(L)는 낮았다. 이러한 결과는 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종 성분차이를 비교한 박 등(1995, 1997)의 연구결과와 비슷한 경향이였다.

판별식 작성에 사용된 한국산 황색종의 스펙트럼에서 3개의 주성분을 구하고, 한국산과 미국산 황색종의 스펙트럼으로부터 주성분 점수를 계산하여 3차원 그래프로 나타낸 것은 그림 1과 같다.

× : Korean flue-cured
 ※ : American flue-cured

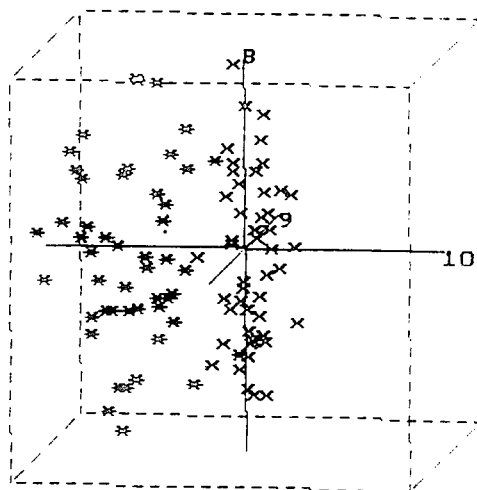


Fig. 1. The comparison of principal component scores derived from NIR spectrum between Korean and American Flue-cured tobacco

주성분 점수가 한국산은 대부분 우측에 미국산은 좌측에 위치하여 2개의 그룹으로 나누어져 스펙트럼 특성에서 차이가 나타남을 알 수 있었다.

판별식 작성에 사용된 한국산 버어리종의 스펙트럼에서 3개의 주성분을 구하고, 한국산과 미국산 버어리종의 스펙트럼으로부터 주성분 점수를 계산하여 3차원 그래프로 나타낸 것은 그림 2와 같다.

버어리종의 경우 한국산은 대부분 주성분 점수가 중앙과 우측하단에 위치하고 미국산은 좌측과 상단에 위치하여 스펙트럼 특성이 다르게 나타났다.

Table 1. The comparison of chemical composition of flue-cured and burley tobacco produced in Korea and the USA used for discriminant equation

Area	Nicotine	Total sugar	Total nitrogen	Ether extracts	Crude ash	Chlorine	Density	L	a	b
	----- % -----						(cc/g)			
KF ¹⁾	1.67	21.6	2.09	5.77	12.7	0.83	1.54	55.1	1.92	24.1
AF ²⁾	1.96	18.5	2.56	8.57	10.3	0.35	1.49	50.2	4.38	23.2
KB ³⁾	3.44	-	4.70	6.10	22.1	1.16	1.61	38.4	5.43	16.6
AB ⁴⁾	2.76	-	4.82	7.40	19.8	0.36	1.58	40.7	5.64	16.9

1) Korean flue-cured tobacco
 3) Korean burley tobacco

2) American flue-cured tobacco
 4) American burley tobacco

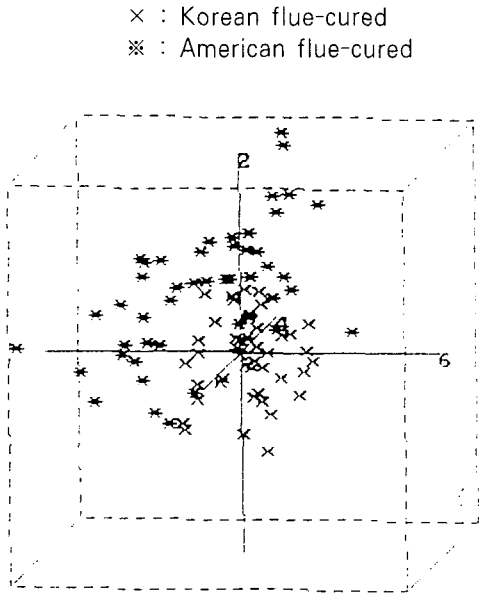


Fig. 2. The comparison of principal component scores derived from NIR spectrum between Korean and American burley tobacco.

한국산과 미국산 황색종(Fig 1 참조) 및 버어리종의(Fig 2 참조) 스펙트럼 차이는 화학성분, 물리성 및 색상(Table 1 참조) 차이에 기인된 것으로 고찰되며, 이러한 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종의 스펙트럼 차이를 통계적으로 해석하면 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종의 구분이 가능할 것으로 판단된다.

한국산과 미국산 황색종 및 버어리종의 스펙트럼 차이를 이용하여 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종을 구분하기 위해 시료 스펙트럼으로 각각의 판별식을 작성한 결과는 Table 2와 같다.

황색종인 경우 표준오차(SEC)는 0.03, 결정계수(R^2)는 0.88, 사용된 주성분(terms)은 3개로 나타났고, 버어리종의 경우 표준오차는 0.04, 결정계수는 0.84, 사용된 주성분은 3개로 나타나 정확도가 높은 판별식을 얻었다.

한국산과 미국산 황색종 및 버어리종에 대한 각각의 판별식을 이용하여 판별식 작성에 사용된 시료 스펙트럼으로 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종을 각각 구분한 결과는 Table 3과 같다.

Table 2. The discriminant calibration statistics to flue-cured and burley tobacco produced in Korea and the USA

Tobacco	No. of sample	SEC ¹⁾	R ²	Terms ²⁾
Flue-cured	97	0.03	0.88	3
Burley	90	0.04	0.84	3

1) standard error of calibration

2) number of principal component

Table 3. The calibration result of flue-cured and burley tobacco produced in Korea and the USA by discriminant equation

Actual group	No. of sample	Predicted group membership	
		KF ¹⁾	AF ²⁾
KF	48	48	0
AF	49	0	49
		KB ³⁾	AB ⁴⁾
KB	40	40	0
AB	50	0	50

1) Korean flue-cured tobacco

2) American flue-cured tobacco

3) Korean burley tobacco

4) American burley tobacco

결론

황색종의 경우 한국산과 미국산 시료는 모두 한국산과 미국산으로 100% 구분되었고, 버어리종의 경우도 황색종과 마찬가지로 한국산과 미국산 시료는 모두 한국산과 미국산으로 100% 구분이 가능하였다. 이러한 결과는 미국과 기타 국가에서 생산된 버어리종의 근적외 스펙트럼으로부터 신경회로망(artificial neural network)을 이용하여 원산지를 판별한 Hana(1997) 등의 연구 결과와 비슷하였다.

한국산과 미국산 황색종 및 버어리종 각각의 판별식으로 재배연도, 재배지역 및 등급이 다를 경우 판별식의 정확도를 예측하기 위하여 시료 스펙트럼으로 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종을 각각 구분한 결과는 Table 4와 같다.

근적외 스펙트럼으로 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종 잎담배를 각각 구분하고자, 파장 400 ~ 2500 nm의 스펙트럼을 얻어 ISI NIRS 3 소프트웨어 통계 프로그램 중 판별분석의 PLS2 방법으로 황색종과 버어리종 각각의 판별식을 작성하여, 한국산과 미국산 잎담배를 구분한 결과는 아래와 같다.

판별식 작성에 사용된 황색종 시료인 경우 한국산이 미국산에 비해 전당, 조회분, 염소, 밀도 및 색상 중 명도(L)와 황색도(b)는 높았으나 니코틴, 전질소, 에텔추출물 및 색상중 적색도(a)는 낮았고, 버어리종 시료인 경우는 한국산이 미국산에 비해

Table 4. The prediction result of flue-cured and burley tobacco produced in Korea and the USA by discriminant equation

Actual group	No. of sample	Predicted group membership	
		KF ¹⁾	AF ²⁾
KF	869	828(95.3%)	41(4.7%)
AF	100	2(2%)	98(98%)
		KB ³⁾	AB ⁴⁾
KB	368	345(93.8%)	23(6.2%)
AB	42	0	42(100%)

1) Korean flue-cured tobacco
3) Korean burley tobacco

2) American flue-cured tobacco
4) American burley tobacco

황색종의 경우 한국산 시료 869점 중에서 828점을 한국산으로 구분하여 95.3%의 정확도를 나타내었고, 미국산 시료 100점 중에서 98점을 미국산으로 구분하여 98%의 정확도를 얻었다. 버어리종의 경우 한국산 시료 368점 중에서 345점을 한국산으로 구분하여 93.8%의 정확도를 나타내었고, 미국산 시료 42점은 모두 미국산으로 구분하여 100%의 정확도를 얻었다. 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종 시료는 판별식 작성시료와 재배연도, 재배지역 등의 차이가 있음에도 불구하고 높은 정확도로 한국산 또는 미국산으로 각각 구분되었는데, 이는 근적외 스펙트럼을 사용할 경우 객관적이고도 간편한 방법으로 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종의 구분이 가능할 것으로 판단된다.

니코틴, 조회분 및 염소가 높았으나 에텔추출물과 색상중 명도(L)가 낮았다. 판별식 작성에 사용된 한국산 황색종과 버어리종의 스펙트럼으로부터 각각 3개의 주성분을 구하여, 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종 주성분 점수를 각각 계산하여 3차원 그래프로 나타낸 결과, 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종의 스펙트럼 특성이 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 작성된 판별식은 황색종과 버어리종 모두 3개의 주성분으로, 각각의 판별식 표준오차는 0.03과 0.04이었고, R² 값은 0.88과 0.84이었다. 작성된 황색종과 버어리종 판별식으로 판별식 작성에 사용된 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종 잎담배를 각각 구분한 결과 황색종과 버어리종 모두 각각 한국산과 미국산으로 100% 구분되

었다. 황색종과 버어리종 각각의 판별식을 사용하여 판별식 작성에 사용되지 않은 시료인 한국산과 미국산 황색종 및 버어리종 잎담배를 구분한 결과, 황색종의 경우 한국산은 95% (828점/869점), 미국산이 98% (98점/100점), 버어리종의 경우 한국산은 94% (345점/368점), 미국산이 100% (42점/42점)로 각각 구분이 가능하였다.

참 고 문 헌

- 김찬호, 나효환, 박영수, 한상빈, 이문수, 이운철, 김용옥, 복진영, 안기영, 김용하, 백순옥, 장기철, 지상운 (1991) *담배성분분석법*, p.30-220, 한국인삼연초연구소.
- 김영수 (1996) 한국산 참기름의 진위성 판별을 위한 NIR 분석. *식품기술* 9(4);87-93.
- 김영수 (1997) 녹차의 원산국 판별을 위한 NIR 분석. *식품기술* 10(1); 94-101.
- 김용옥, F.E. Barton (1994) 근적외선 분광법을 이용한 제품담배 판별연구. *한국연초학회지* 16(2) ; 163-171.
- 박태무, 이윤환, 안동명, 김상범, 이경구, 양영일 (1995) 원료잎담배 품질분석 및 개선에 관한 연구. *담배연구보고서(재배편)*, p.7-121. 한국인삼연초연구원.
- 박태무, 이윤환, 안동명, 김상범, 이경구, 김용규 (1997) 원료잎담배 품질분석 및 개선에 관한 연구. *담배연구보고서(제조분야)*, p.810-813. 한국인삼연초연구원.
- 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. Ivamoto, 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.
- Burns, D. A., E. W. Ciurczak, J. M. Olinger, J. J. Workman, G. J. Kemeny, H. Mark, W. F. McClure, P. C. Williams, W. R. Hruschka, J. S. Shenk and J. T. Diffie (1992) *Handbook of Near-Infrared Analysis*, p.1-474, 1st ed., D. A. Burns and E. W. Ciurczak Ed., Marcel Dekker Inc, New York, U.S.A.
- Devaux, M. F., D. Bertrand, P. Robert and M. Quannari (1988) Application of multidimensional analyses to the extraction of discriminant spectral patterns from NIR spectra. *Applied spectroscopy* 42(6); 1015-1069.
- Dominguez L. M. and S.K. Seymour (1991) Discrimination of tobacco blends by using a partial least squares calibration as a discriminant analysis tool p.178-184, 1st ed., I. Murray and I. A. Cowe Ed., VCH Publishers, New York, U.S.A.
- Downey, G. and J. Boussion (1996) Authentication of coffee bean variety by near-infrared reflectance spectroscopy. *J. Sci. Food Agric.* 71; 41-49.
- Fearn, T. (1997) Qualitative analysis I. *NIR news* 8(6); 4-6.
- Fearn, T. (1998) Qualitative analysis II. *NIR news* 9(1); 3-4.
- Fearn, T. (1998) Qualitative analysis III. *NIR news* 9(2); 8-9.
- Hana, M., W. F. McClure, T.B. Whitaker, M.W. White, D.R. Bahler (1997) Applying artificial neural networks: Part II. Using near infrared data to classify tobacco types and identify native grown tobacco. *J. Near Infrared Spectrosc.* 5; 19-25.
- 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.
- Mark, H.L. and D. Tunnell (1985) Qualitative near-infrared reflectance analysis using mahalanobis distances. *Anal., Chem.* 57; 1449-1456.
- 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.
- Martens, H., et. al (1992) Near infra-red spectroscopy, p.1-463, 1st ed., K. I. Hildrum, T. Isaksson, T. Naes, and A. Tandberg Ed., Ellis Horwood Limited, West Sussex, U.K.
- Monfre, S. L. and P.J. Brimmer (1991) Qualitative near infrared analysis of pharmaceuticals using principal component based spectral comparison: Some practical examples. p.577-583, 1st ed., I. Murray and I. A. Cowe Ed., VCH Publishers, New York, U.S.A.
- 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.
- Twomey M., G. D. P. McNulty (1995) The potential of NIR spectroscopy for the detection of the adulteration of orange juice. *J. Sci. Food Agric.* 67:77-84.