

## 근적외선 투과 분광분석법을 이용한 가향액 중 가향제 분석

한정호\* · 정한주 · 양범호 · 이문수 · 김용옥  
KT&G 중앙연구원  
(2006년 11월 29일 접수)

### Rapid Near Infrared Transmittance Analysis of Ingredients on the Casing Materials

Jungho Han\*, Han-Joo Jung, Burm-Ho Yang, Moon-Soo Rhee and Yong-Ok Kim  
KT&G Central Research Institute  
(Received November 29, 2006)

**ABSTRACT** : It is very important to add uniformly casing materials on tobacco for taste and flavor. However, analysis of casing materials was spent much time, effort and money. The object of this study was the development of a rapid method for the determination of glycerine, propylene glycol(PG), sucrose, glucose, fructose and water in the casing materials using the NIR transmittance method. Hundreds of calibration samples, with extended ranges (50 %, 75 %, 100 %, 125 %, and 150 % of standard addition) in each constituent, were prepared in the casing materials at the various temperatures (25 °C and 30 °C). Calibration equation was developed by modified partial least square (MPLS) method using second derivative. The standard error of calibration and  $R^2$  between added value and NIR estimated value results were 0.007~0.034 and 0.996~1.000 for the casing sample set, respectively. The standard error of prediction and  $R^2$  between added value and NIR estimated value results were 0.010~0.034 and 0.997~1.000 for the casing sample set, respectively. The analysis result was not different significantly between the NIR and added value. These results show that the NIR measurement system is an effective tool to ensure quality on the casing materials.

**Key words** : casing, near infrared spectroscopy, transmittance

근적외선 분광법(Near InfraRed Spectroscopy : NIR)은 품질관리에 필요한 화학성분을 분석하기 위하여 시료의 근적외광의 흡수 특성을 이용하는 기법이다. 1960년대 초 미국 농무성의 Karl Norris가 컴퓨터 산업의 발전에 힘입어 처음으로 실용화한 후에 응용 범위가 확대되어 농업, 식품 및 사료분야 뿐만 아니라 현재는 화학, 생화학, 화장품, 의학, 석유화학, 제약, 고분자, 제지 및 섬유

분야까지 널리 보급되어 사용되고 있다. 기존분석법에 비해 근적외 분광분석법은 시료 전처리 및 분석 시간이 빠르고, 동시에 여러 성분 분석이 가능한 장점을 가지고 있어 제조 현장에서 실시간으로 품질 분석에 활용 할 수 있다. 근적외선 분광분석법으로 담배에 적용된 예로는 수분, 전당, 전알 칼로이드, 전질소, 전휘발성 염기, 석유 에틸추출물, 회분, 전분, 섬유소, 탈, 멘톨, 트리아세틴, 보습제

\*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

및 무기성분 등의 화학성분 분석과 엽배합비 분석 등에 관해 보고(Bense et al., 1983; Delac et al., 1990; Hamid et al., 1973; Heckman et al., 1987; Long et al., 1978, 1983; McClure et al., 1977, 1982, 1984, 1986; Pandeya et al., 1978; Williamson et al., 1986)된 바 있다. 국내에서도 원료엽의 화학성분과 잎담배 및 제품 담배의 판별분석 등의 연구(김 등, 1994, 1995, 1998, 1999, 2005; 장 등, 1998)가 수행되었다.

담배의 향각미 증진과 맛보완 및 공정 중 물리성을 개선하기 위해 첨가되는 가향제의 균일한 가향은 각연 시 담배 맛과 향의 균일화한 발현을 위해 매우 중요하다. 담배에 균일한 가향을 위해 먼저 해결하여야 할 문제는 가향제 첨가 표준에 의한 가향액의 균일한 조제이다. 그러나 기존 분석방법으로 제조된 가향액 중 가향제 함량을 분석하고 이를 feed back하여 가향액을 균일화 시키는 방법은 분석에 소요되는 시간이 길어 담배 제조 현장에서 적용하기 어려운 실정이기 때문에 가향액의 균일한 조제 여부에 대한 시험 결과는 거의 없는 실정이다. 따라서 기존 분석법의 문제점을 해결하기 위해 제조 현장에서 실시간으로 적용 가능한 근적외선 분광분석법(Near Infrared Spectroscopy)으로 가향액 분석 연구가 필요한 실정이다.

본 연구는 근적외선 분광분석법으로 가향액 중 glycerine, PG, sucrose, glucose, fructose 및 물의 함량을 분석하기 위해 가향제별로 함량을 조절하여 혼합가향액을 조제하였다. 첨가된 가향제 양과 투과반사법에 의한 근적외 스펙트럼으로 검량식을 작성하고 작성된 검량식의 정확도를 검증하여 담배 제조 현장에서 가향액 중 각각의 가향제 분석을 통하여 가향액 조제 공정진단 및 개선을 하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시료 준비

본 시험에 사용된 glycerine(99.5%), PG(99%), sucrose(98%), glucose(96%) 및 fructose(98%) 등의 가향제는 Sigma-Aldrich(St. Louis, USA)

제품 시약으로 준비하였다. 검량식 작성에 필요한 검량시료를 조제하기 위해 각 가향제별로 glycerine(1.0 g), PG(1.0 g), sucrose(1.0 g), glucose(1.0 g), fructose(1.0 g) 및 물(10.0 g)로 기준을 설정하였다. 실험계획법의 factorial design을 활용하여 glycerine, PG, sucrose, glucose, fructose 및 물의 6인자와 가향제 함량 기준의 50%, 75%, 100%, 125%, 150% 범위의 5수준으로 설계하여 혼합 가향액을 조제(97종)하였다. 조제한 검량시료는 60 °C에서 2시간 동안 교반 후에 사용하였다. 개별 가향제의 스펙트럼 특성을 확인하기 위해 각각의 가향제를 무게비 50%로 물에 녹여 25 °C에서 측정하였다. 또한 검량식의 정확도를 확인하기 위해 검량식 작성에 사용되지 않는 시료를 임의로 조제(30종)하였다.

### NIR 스펙트럼 측정, 검량식 작성 및 정확도 검증

NIR 스펙트럼 측정은 light pathlength 4 mm의 cuvette cell에 시료를 담아 NIRSystem 6500(Foss NIRSystems, USA)의 transmittance module을 사용하여 파장 400~2500 nm에서 측정하였다. 온도에 의한 스펙트럼 변이를 보정하기 위해 교반 항온수조(JSR, Korea)를 이용하여 시료를 25 °C와 30 °C에서 각각 측정하였다. 검량식 작성 및 통계 분석은 WINISI 소프트웨어(version 1.50; Infrasoft International, USA)를 사용하였다.

검량식 작성은 스펙트럼을 선택된 영역(700~1350 nm, 1550~1870 nm)에서 2차 미분(second derivative)하고 10 mm 간격으로 5개 점을 smooth 한 후, 산란보정(Standard normal variant (SNV) and Detrend)하여 시료를 4개의 상호확인그룹(cross validation groups)으로 나누어 실제 첨가량과 modified partial least square (MPLS) 방법(Infrasoft international, 1992)으로 각 가향제별로 작성하였다. 검량식 작성시료와 검량식 정확도 확인 시료의 분석의 정확도는 근적외 분광분석 결과와 가향제별 첨가량 간 표준오차와 결정계수( $R^2$ ) 및 기울기(slope)로 나타내었다.

### 결과 및 고찰

동일한 시료를 온도 25 °C, 30 °C에서 NIR 스펙트럼을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 온도 25 °C에 비해 30 °C는 스펙트럼의  $\text{Log}(1/T)$  값이 낮아지며 스펙트럼 밴드 shift가 나타났는데, 이러한 결과는 온도 변화에 따른 액상 시료의 근적외 스펙트럼 변이에 의한 것으로 분자 간 또는 분자 내 수소결합의 흡수밴드에 영향을 주어 스펙트럼의 shift가 일어나는 보고(Peinado et al., 2006; Starzaka et al., 2003; Osborne et al., 1993)와 비슷하였다. 따라서 온도에 의한 스펙트럼의 변이를 보정해주기 위해서는 실제 시료 분석 온도를 감안하여 동일 시료를 온도 범위를 달리하여 측정하면 가능할 것으로 판단된다.

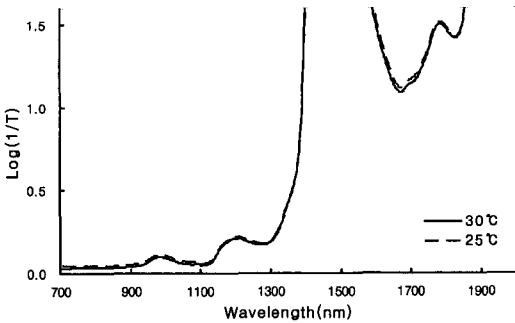


Fig. 1. Effect of temperature at 25 °C and 30 °C of casing materials on near infrared transmittance spectroscopy.

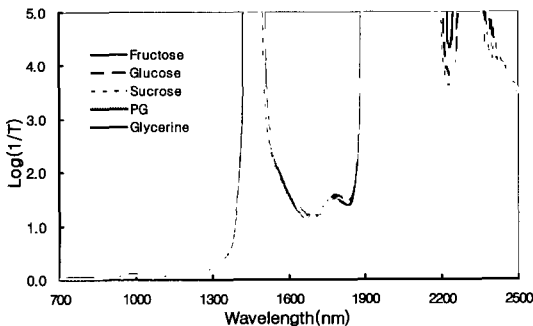


Fig. 2. NIR spectra of casing material components (50 wt. % in water, 25 °C).

검량식 작성에 사용된 각각의 가향제별 스펙트럼은 Fig. 2와 같다. 파장 700-1350 nm에서는 가향제별로 육안적 스펙트럼이 큰 차이를 보이지 않았으나, 파장 1550-1870 nm 영역에서는 각각 가향제별로 스펙트럼이 차이를 나타내어 이 영역에서 검량식을 작성하는 것이 바람직 할 것으로 판단되었다. 파장 1350-1550 nm, 1810-2500 nm는 물에 의한 스펙트럼이 saturated 되어 검량식 작성에 부적합 한 것으로 판단되었다.

각각의 가향제를 혼합한 시료들의 근적외선 스펙트럼은 Fig. 3(a)과 같다. 위의 단일 시료와 같이 혼합 시료에서도 700-1350 nm와 1550-1870 nm에서는 검량식 작성이 가능하고, 파장 1350-1550 nm와 1810-2500 nm에서는 스펙트럼이 saturated 되어 검량식 작성에 부적합하였다. 따라서 검량식 작성을 위한 파장의 영역은 Fig 2, 3의 결과를 종합하여 볼 때 파장 700~1350 nm와 1550~1870 nm가 적당한 것으로 판단되었다. 실제 검량식 작성에는 파장 700~1350 nm와 1550~1870 nm의 스펙트럼을 2차 미분(Fig. 3(b))하여 사용하였다.

가향액의 스펙트럼과 실제 첨가량으로 검량식을 작성한 결과는 Table 1과 같다. 근적외 분광분석 결과와 실제 첨가량 간의 가향제별 표준오차 (SEC), 결정계수( $R^2$ ) 및 표준오차를 실제 첨가량 평균과 나눈 값의 백분율은 fructose 0.012, 0.999, 1.2 %, glucose 0.012, 0.999, 1.2 %, sucrose 0.034, 0.996, 2.4 %, PG 0.007, 1.000, 0.7 %, glycerine 0.010, 0.999, 1.1 %, 물 0.007, 1.000, 0.1 %로 나타나 각 가향제별 표준오차가 작고 결정계수가 높은 검량식을 얻었다.

검량식의 정확도를 확인하기 위해 작성된 검량식을 사용하여 검량식에 사용되지 않고 첨가량을 알고 있는 임의의 가향액 시료를 분석한 결과는 Table 2와 같다. 근적외 분광분석 결과와 실제 첨가량 간의 가향제별 표준오차(SEP), 결정계수( $R^2$ ) 및 표준오차를 실제 첨가량 평균과 나눈 값의 백분율은 fructose 0.017, 0.998, 1.8 %, glucose 0.029, 0.997, 3.0 %, sucrose 0.034, 0.998, 3.5 %, PG 0.011, 1.000, 1.0 %, glycerine 0.025, 0.994,

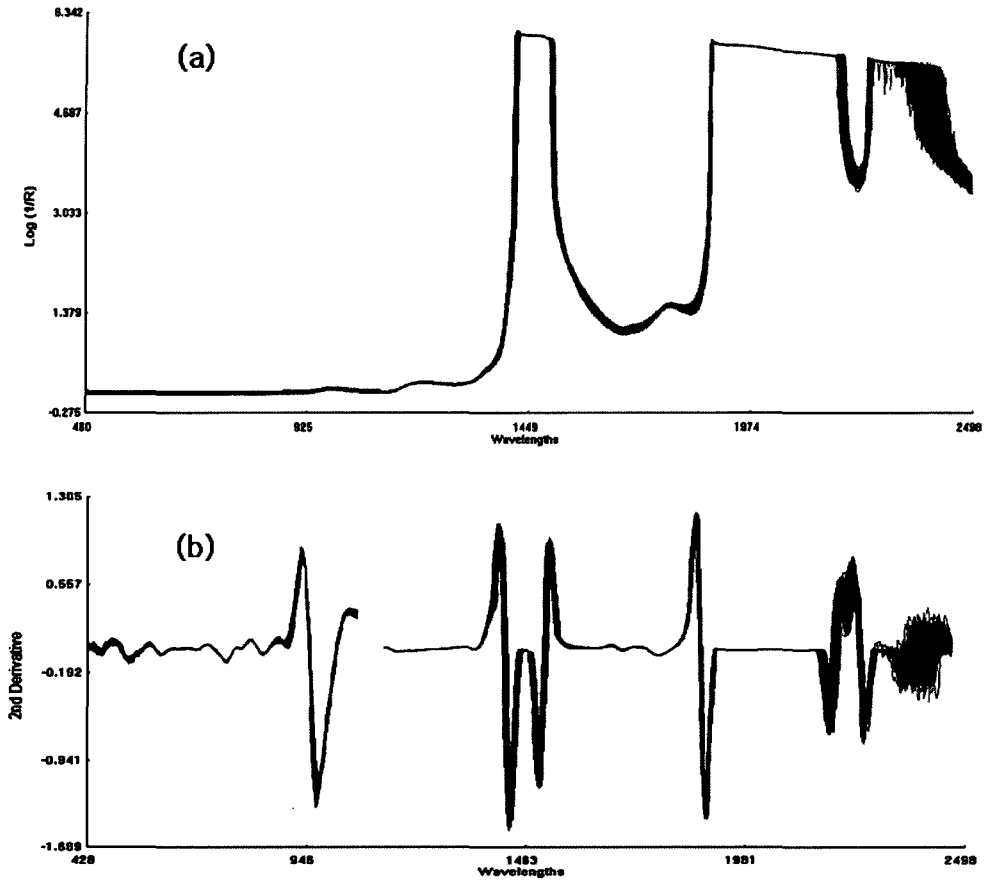


Fig. 3. The log1/T (a) and second derivative (b) near infrared transmittance spectra of casing sample set.

Table 1. The calibration results of casing material between NIR result and added value

Casing materials	Number of samples	Mean $\pm$ SD <sup>1)</sup> (g)	SEC <sup>2)</sup> (g)	SEC/Mean (%)	R <sup>2</sup> <sup>3)</sup>
Fructose	165	0.986 $\pm$ 0.378	0.012	1.227	0.999
Glucose	161	0.988 $\pm$ 0.376	0.012	1.235	0.999
Sucrose	161	0.974 $\pm$ 0.385	0.034	2.414	0.996
PG	165	0.961 $\pm$ 0.374	0.007	0.718	1.000
Glycerine	164	0.960 $\pm$ 0.377	0.010	1.083	0.999
Water	158	10.062 $\pm$ 0.694	0.007	0.069	1.000

1) Added mean value and standard derivation of casing materials.

2) Standard error of calibration between NIR analytical result and actual added value of casing materials.

3) Coefficient of determination.

Table 2. The prediction results of casing materials between NIR result and actual added value

Casing materials	Number of samples	Mean $\pm$ SD <sup>1)</sup> (g)	SEP <sup>2)</sup> (g)	SEP/Mean (%)	Slope	R <sup>2</sup> <sup>3)</sup>
Fructose	30	0.967 $\pm$ 0.327	0.017	1.758	1.004	0.998
Glucose	30	0.967 $\pm$ 0.327	0.029	2.999	1.016	0.997
Sucrose	30	0.970 $\pm$ 0.303	0.034	3.505	1.006	0.998
PG	30	1.050 $\pm$ 0.300	0.011	1.048	1.106	1.000
Glycerine	30	0.987 $\pm$ 0.313	0.025	2.533	1.010	0.994
Water	30	10.060 $\pm$ 0.692	0.010	0.099	1.001	1.000

1) Added mean value and standard derivation of casing materials.

2) Standard error of prediction between NIR analytical result and actual added value of casing materials.

3) Coefficient of determination.

2.5 %, 물 0.010, 1.000, 0.1 %로 나타나, 가향제의 근적외 분광분석 값과 실제 첨가량 간의 표준오차가 작고 결정계수가 높아 비교적 정확도가 높은 검량식으로 확인되었다.

이상의 결과에서 근적외선 분광분석법에 의한 분석값과 실제 첨가량간 표준오차 및 결정계수가 높게 나타나므로, 근적외 분광법을 이용한 가향액 중 가향제 함량분석 기술을 제조 현장에서 적용 사용함으로써 가향제의 모니터링을 통하여 공정진단 및 공정 개선이 가능할 것으로 판단된다.

## 결 론

투과방식 근적외선 분광법으로 가향액 중 fuctose, glucose, sucrose, PG, glycerine 및 물을 제조 현장에서 신속하게 분석할 수 있는 새로운 방법을 확립하였다.

근적외선 분광법으로 작성한 검량식의 표준오차 (SEC)는 0.007~0.034, 결정계수(R<sup>2</sup>)는 0.996~1.000 그리고, 표준오차를 실제 첨가량 평균과 나눈 값의 백분율은 0.1~2.4 %로 표준오차가 작고 결정계수가 높은 검량식을 얻었다. 또한 확인시료로 검량식을 검증한 결과 표준오차(SEP)는 0.010~0.034, 결정계수(R<sup>2</sup>)는 0.994~1.000 그리고, 표준오차를 실제 첨가량 평균과 나눈 값의 백분율은 0.1~3.5 %로 나타나 검량식의 정확도가 높았다.

따라서, 투과 방식 근적외선 분광 분석법을 사용

하여 가향액 중 보습제 및 당 성분을 제조현장에서 실시간 분석으로 공정진단 및 개선이 가능할 것으로 판단된다.

## 참 고 문 헌

- Bense, T. and Gastellu C. (1983) Estimation of total volatile bases in tobacco by near infrared (NIR) reflectance spectrophotometry. *Tob. Sci.* 27: 92-94.
- Delac, S. (1990) Determination of total alkaloids and total nitrogen by near infrared reflectance spectroscopy. 7-11th International Coresta Symposium. Kallithea, Halkidiki, Greece.
- Hamid, A., McClure W. F. and Weeks W. W. (1978) Rapid spectrophotometric analysis of the chemical composition of tobacco. part 2; total alkaloid. *Beitrag zur Tabakforschung* 9: 267-274.
- Heckman, R. T., Differ J. T. and Milhous L. A. (1987) Transfer of near-infrared monochromator calibrations for tobacco constituents to tilting-filter instruments. *Analytica Chimica Acta* 192: 197-203.
- Long, T. M. and Sadler P. (1978) Infrared reflectance to the tobacco industry. The

- 8th Technicon International congress. London.
- Long, T. M. (1983) Application of near infrared reflectance spectroscopy to tobacco analysis. *Anal. Proc.* 20: 69-72.
- McClure, W. F. and Norris K. H. (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 Williamson R. E. (1982) Rapid spectrophotometric analysis of the chemical composition of tobacco, part 3: polyphenols. *Beitrag zur Tabakforschung* 11: 219-227.
- McClure, W. F. (1984) Status of near infrared technology in the tobacco industry. 15-16th International Symposium on Near Infrared Spectroscopy. Melbourne, Australia.
- McClure, W. F. and Williamson R. E. (1986) Rapid spectrophotometric analysis of the chemical composition of tobacco, part 4: Total nitrogen. *Tob. Sci.* 30: 109-111.
- Osborne B. G., Fearn T, and Hindle P. H. (1993) Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis. p. 227. Longman Scientific & Technical, Essex, England.
- Pandeya, R. S., Nestorrosa F. H. W. and Elliot J. M. (1978) Rapid estimation of some flue-cured tobacco chemical characteristics by infrared-reflectance spectroscopy. *Tob. Sci.* 22: 27-31.
- Peinado A. C., F. van den Berg. Blanco M. and Bro R. (2006) Temperature-induced variation of NIR tensor-based calibration. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 83: 75-82.
- Starzaka M. and Mathlouthi M. (2003) Cluster composition of liquid water derived from laser-Raman spectra and molecular simulation data. *Food Chem.* 82: 3 - 22.
- 김용옥, Barton F. E. (1994) 근적외선 분광법을 이용한 제품담배 판별 연구. *한국연초학회지* 16(2): 163-171.
- 김용옥, 정한주, 백순옥, 김기환 (1995) 근적외선 분광법을 이용한 버어리 토스트엽의 화학성분 분석. *한국연초학회지* 17(2): 177-183.
- 김용옥, 이경구, 장기철, 김기환 (1998) 근적외 분광분석법을 이용한 황색종 잎담배의 화학성분 분석. *한국연초학회지* 20(2): 183-190.
- 김용옥, 장기철, 이경구 (1999) 근적외 분광분석법을 이용한 버어리종 잎담배 화학성분 분석. *한국연초학회지* 21(1): 95-101.
- 김용옥, 장기철, 이철희, 정한주 (2005) 근적외 분광분석법을 이용한 담배 중 전취발성염기 분석. *한국연초학회지* 27(2): 207-211.
- 장기철, 김용옥, 이경구 (1998) 근적외 분광분석법을 이용한 한국산과 미국산 잎담배의 판별 분석. *한국연초학회지* 20(2): 191-197.