

담배 엽 중 칼륨 분석법의 평가

조성일* · 김미주 · 지상운 · 김용하 · 민영근

KT&G 중앙연구원
(2006년 6월 12일 접수)

Evaluation of Analytical Method for Determination of Potassium in Tobacco Leaf

Sung-Eel Cho*, Mi-Ju Kim, Sang-Un Ji, Yong-Ha Kim and Young-Keun Min

(KT&G Central Research Institute)

(Received June 12, 2006)

ABSTRACT : This study was carried out to improve and evaluate the analytical method for determination of potassium in tobacco leaf by various pre-treatment techniques. The time requirement of various pre-treatments was about 10 hour for dry ashing and 6 hour for microwave digestion and 3 hour for sonication. The results of recovery in both pre-treatment techniques, microwave digestion and sonication, is greater than 85 % stably with reproducibility(RSD %) on replicates of less than 3 %. However the mean values for microwave digestion were lower than certified standard value of NIST SRM. Compared to the other pre-treatment techniques, analytical results for sonication technique strictly improved the accuracy and precision. In conclusion, the use of the simple sonication technique seems to be efficient for the determination of potassium in tobacco leaf in consideration for both the accuracy and reproducibility.

Key words : potassium, pre-treatment, dry ashing, microwave digestion, sonication

현재 담배 엽의 화학성분은 약 3,000가지 정도 확인되었으며 앞으로 약 4,000 가지에 정도의 성분이 존재할 것으로 예상하고 있다(Davis, 1999). 그 중 무기 성분으로 칼슘, 마그네슘, 칼륨 등이 상당량이 존재하며 소량으로는 아연, 알루미늄, 티타늄, 스트론튬, 납, 철, 크롬 등 여러 가지의 미량 무기 원소가 존재한다(Johnson & Plimmer, 1959 ; Stedman, 1968) 이러한 무기 원소들은 담배 잎의 연소 특성에 영향을 주며 칼륨의 경우 조연제로

작용함으로 담배 잎의 품질을 평가하는데 있어 중요한 요소로 알려져 있다(Tso, 1972; Tso, 1990).

일반적인 무기원소 분석에 있어서 전통적인 방법인 무게법이나 부피분석법 및 비색법 등이 과거에 이용되었으나 현재에는 분석 장비의 발달로 유도 결합플라스마 원자방출분광법(Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry: ICP-AES)이나 원자흡수 분광광도법(Atomic Absorption Spectrophotometry: AAS) 등이 사용되고 있으며

*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

시료의 전처리 방법도 시료의 화학적 특성에 따라 전석회화법, 습석회화법, 알칼리용융법 등이 사용되고 있다. 그리고 최근에는 마이크로파 분해법과 같은 편리한 기술이 이용되고 있다(김선태, 2005). 담배 엽 중 칼륨 분석의 경우, 일반적인 식물 시료에 대한 무기 성분을 분석하는 과정에 적용할 수 있으며, 이러한 분석과정에 적용되는 전처리 방법으로는 전석회화법과 마이크로파 분해법 외에 본 연구에서 사용한 초음파 추출법을 들 수 있다. 전석회화법의 경우 전통적인 방법으로 시료를 연소 시킨 후 남아 있는 재에서 산을 이용하여 금속 성분을 추출한다. 이러한 전통적인 전처리 방법은 정밀하고 정확하며 그리고 재현성 있는 결과를 얻기 위해서는 많은 시간과 비용을 필요로 할뿐만 아니라 외부로부터의 오염이나 휘발성 원소의 손실을 유발시킬 가능성을 내포하고 있다(Kingston 등, 1988). 마이크로파 분해법의 경우, 밀폐된 용기 안에서의 분해를 통한 빠른 분해시간, 높은 효율, 외부로부터의 오염배제 그리고 상대적 적은 비용 등 많은 장점을 갖고 있어 다양한 분야에서 응용되고 있다. 마지막으로 초음파 추출법의 경우, 화학분야에서 유기 성분의 추출이나 세척 등에 사용되고 있으며 본 연구에서와 같이 무기 성분의 추출에는 사용된 예가 드물다(Bermejo 등, 2004). 그러나 본 연구에서는 나트륨이나 칼륨과 같은 알칼리 금속의 경우 산에 쉽게 용해되는 성질을 이용하여 초음파 추출을 담배 엽의 칼륨분석에 적용하였다(김선태, 2004).

본 연구는 담배 엽 중 칼륨 분석법에 대한 평가 및 개선을 위해 다양한 전처리 방법을 적용하였으며, 새로운 방법의 적용을 통해 분석효율 및 정확성과 재현성의 향상 그리고 분석소요시간과 에너지의 절감을 도출시킬 수 있는 방안을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

기기 및 시약

본 실험에 사용된 유도결합플라즈마 원자방출분광기(Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometer:ICP-AES, PerkinElmer)의 실험 조건

은 Table 1에 나타내었다. 시료의 분해에 사용된 마이크로파 분해장치는 미국 CEM사의 모델 MAR X로 분해용기는 PFA 제질이며 260 °C/33 bar의 조건까지 견딜 수 있도록 제작되었다. 마이크로파 분해장치를 이용한 분해 프로그램은 일반적인 온도 제어방식을 이용하여 3단계로 순차적으로 분해하였으며 자세한 내용은 Table 2에 나타내었다. 초음파 추출법에 사용된 초음파 추출기는 국내 고도기연에서 제작한 JAC ULTRASONIC 4020 모델을 사용하였다.

Table 1. Optimized ICP-AES instrumental operating conditions

Instrument	Perkin Elmer, Optima 5300 DV
R.F. frequency	40.68MHz
Operating power	1300W
Plasma gas flow rate	15 L/min
Auxiliary gas flow rate	0.2 L/min
Torch type	Demountable torch
Carrier gas flow rate	0.8 L/min
Nebulizer type	Babinton Nebulizer
Spray chamber	Concentric type chamber
Pump speed	20 rpm
Spectral lines	
Potassium	769.896 nm

실험에 사용된 질산(69.1~71.0 %, electronic grade)은 Kanto사(일본)의 제품을 정제하지 않고 그대로 사용하였으며, 검정곡선 작성을 위한 표준 칼륨 용액은 PerkinElmer사의 분광분석용 표준용액 (1 mg/L)을 묽혀 사용하였다. 실험에 사용된 시료는 KT&G 중앙연구원에서 분석 중인 원료 엽을 이용하였으며 실험방법에 대한 유효화 검증을 위해 사용된 NIST(National Institute of Standards & Technology)의 SRM(Standard Reference Material)은 Spinach Leaves 1570a를 사용하였다. 실험에 사용된 모든 증류수는 specific resistance가 18.2 MΩcm⁻¹ 이상의 Millipore Milli-Q system을 통과한 2차 증류수를 사용하였다.

Table 2. Program of the microwave digestion system

First digestion program					
Step	Type	Temp. (°C)	Power (%)	Ramp (min)	Dwell (min)
1	Time to temp	140	60	10	10
2	Time to temp	180	60	10	10
3	Cooling	---	---	---	30
Secondary digestion program					
Step	Type	Temp. (°C)	Power (%)	Ramp (min)	Dwell (min)
1	Time to temp	140	60	10	10
2	Time to temp	180	60	10	10
3	Time to temp	200	60	10	20
4	Cooling	---	---	---	30

실험 과정

본 연구에서 원료 엽 중 칼륨 분석을 위해 사용된 전처리 방법은 건식회화법, 마이크로파 분해법 그리고 초음파 추출법을 사용하였으며 실험과정은 다음과 같다. 건식회화법의 경우, 시료를 약 3 g을 사기도가니에 넣고 열판에서 1시간 정도 예비 가열하여 탄화시킨 다음 회화로에서 서서히 550 °C까지 가열하고 3시간 정도 유지하여 완전히 회화시킨다. 남아 있는 재를 열판에서 염산(30 %, ultrapure) 10 mL를 가하여 분석 성분을 용출 하였다. 용출된 용액을 여과하고 100 mL로 정용한 후 20~30배 희석하여 분석하였다. 마이크로파 분해법의 경우 시료 0.2~0.3 g을 분해용기에 넣고 질산(65 %, ultrapure) 10 mL를 가한 후 마이크로파 분해장치를 이용하여 2단계로 분해한 다음 100 mL로 정용한 후 3~5배 희석하여 분석하였다.

초음파 추출법의 경우 시료 0.1~0.2 g을 테프론 용기에 넣고 증류수 30 mL를 가한 후 30분간 초음파 추출을 하였다. 이 추출용액을 0.45 μm의 테프론 여과지로 여과한 후 3~5배 정도 희석하여 분석하였다. 분석방법의 유효화 검증을 위해 사용된 CRM의 경우도 위의 방법과 동일하게 실행하여 분석하였다.

결과 및 고찰

전처리 방법에 따른 소요 시간 검토

일반적으로 분석 방법은 분석치(값)의 정확성과 재현성에 영향을 미친다. 그 이유는 분석과정의 단계가 증가함에 따라 소요 시간이 증가하게 되고 각 분석 단계에서는 발생하는 우발오차에 따른 불확도를 갖게 된다. 동일한 실험자가 두 가지의 분석 방법에 따라 분석을 하였을 경우, 최대한 분석 과정에서 발생될 수 있는 불확도를 줄이기 위한 노력을 하여 얻은 분석치의 불확도는 일반적으로 분석과정의 단계가 적은 분석 방법이 적은 불확도를 갖게 되고 분석치도 더 높은 정밀성과 재현성을 갖는다. 따라서 분석 방법은 측정값의 재현성을 향상시키고 분석효율을 높일 수 있는 분석 방법을 선택하는 것이 중요하다. Fig. 1은 각각의 전처리 방법의 실험 과정을 나타내었다. 실험 과정에서 보는 것과 같이 건식회화법의 경우 많은 전처리 단계가 필요하며 마이크로파 분해법과 초음파 추출법은 건식회화법과 비교하여 비교적 적은 단계를 거쳐 시료를 처리하고 있다. 소요시간은 건식회화법의 경우 열판에서의 예비 가열 시간과 회화로에서의 회화과정에 의해 10시간 이상이 소요되고 마이크로파 분해법은 분해 장치를 이용한 분해시간과 완전 냉각 시간에 의해 6시간 이상

이 소요된다. 초음파 추출법은 초음파 추출장치를 이용한 추출시간(30분)과 ICP-AES을 이용한 측정 과정을 제외하고 많은 시간을 소비하는 단계가 없으므로 3시간 이내에 완전한 분석이 이루어진다. 따라서 초음파 추출법의 경우 다른 전처리 방법에 비교하여 가장 간편한 분석 방법(Isabel et al., 2004)이며 재현성과 정확성이 높은 결과를 얻을 것으로 예상된다.

전처리 방법에 따른 측정 결과 값의 비교

전처리 방법에 따른 분석 값의 차이를 비교하기 위해 본 연구원에서 분석 중인 원료 엽의 시료 중 8개씩 두 그룹을 선정하여 각각의 전처리 방법에 따른 칼륨의 함량을 측정하여 Table 3에 나타내었다. 동일한 시료를 사용하여 세 가지의 분석 방법의 비교가 필요하나 실험과정에서 오류로 인하여 각각 다른 시료를 적용하였다. 건식회화법과 마이크로파 분해법의 비교하였을 경우 8개의 시료에 대한 결과 값은 차이는 최대 $\pm 0.05\%$ 로 나타났고 마이크로파 분해법과 초음파 추출법의 경우 최

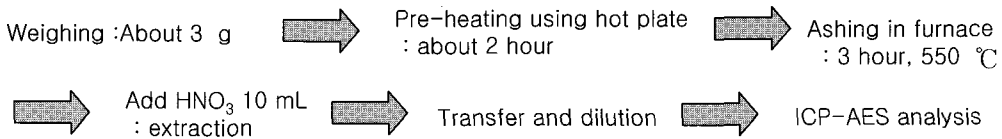
대 $\pm 0.20\%$ 의 결과 값을 얻었다. 두 방법에 대한 결과 값의 차이가 크다는 것은 각 전처리 방법에 포함된 불확도 요인의 차이가 크다는 것을 의미하며 따라서 상대적 의미로 값 차이가 적다는 것은 두 방법 간의 결과 값이 갖는 불확도는 유사하다고 판단할 수 있다.

따라서 정확성의 측면에서 건식회화법과 마이크로파 분해법의 경우 결과 값의 적은 차이로 볼 때 두 방법을 통해 얻는 결과 값의 정확성은 유사할 것으로 판단되며 초음파 추출법과 차이를 보일 것으로 판단된다.

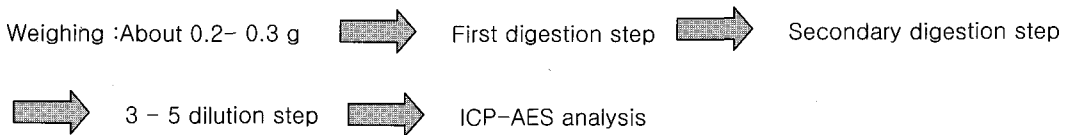
재현성 검토

건식회화법과 마이크로파 분해법의 경우 측정 결과 값이 유의적인 차이를 보이지 않았기 때문에 마이크로파 분해법과 초음파 추출법에 대해서만 반복측정을 통한 재현성 검토를 하였다. Table 4는 두 방법에 대해 담배 엽 시료 3종에 대해 5회 반복을 통한 재현성을 검사를 실시한 결과이다. 두 방법 모두 상대표준편차가 3% 미만의 우수한

- Dry ashing -



- Microwave digestion -



- Sonication -

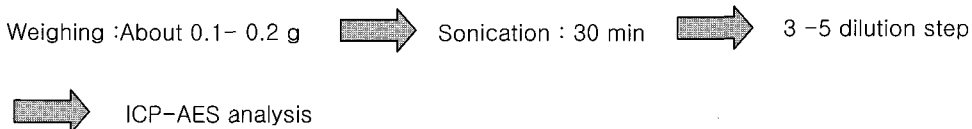


Fig. 1. Comparison of experimental procedure for various pre-treatment techniques.

담배 엽 중 칼륨 분석법의 평가

Table 3. Comparison of K concentration analyzed by different pre-treatment method

(unit : %)

Pre-treatment method		Sample							
		A	B	C	D	E	F	G	H
Exp 1	Dry ash	3.49	3.51	3.55	3.50	3.55	3.61	3.52	3.63
	Microwave digestion	3.48	3.54	3.54	3.54	3.59	3.65	3.57	3.66
		variation : ± 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Exp 2	Microwave digestion	7.18	6.39	7.02	9.30	4.20	4.06	4.85	6.80
	Sonication	7.52	6.58	7.16	9.53	4.31	4.29	4.99	6.92
		variation : ± 0.20							

Table 4. Reproducibility test for microwave digestion and sonication method

(unit : %)

Sonication				Microwave digestion			
Run	A	B	C	Run	A	B	C
1	7.52	7.16	4.31	1	7.18	7.02	4.20
2	7.44	7.29	4.46	2	7.36	7.03	4.18
3	7.62	7.14	4.31	3	7.40	7.02	4.15
4	7.43	7.22	4.26	4	7.35	7.02	4.16
5	7.50	7.31	4.20	5	7.54	6.93	4.20
Average	7.50	7.22	4.31	Average	7.37	7.00	4.18
SD	0.08	0.08	0.09	SD	0.13	0.04	0.02
RSD(%)	1.02	1.06	2.17	RSD(%)	1.74	0.62	0.51

SD : Standard deviation, RSD : Relative standard deviation

재현성을 나타내었으며 마이크로파 분해법의 경우 0.51 %의 가장 낮은 상대표준편차를 나타내었다. 이것은 두 방법 모두 시료간의 재현성이 우수함을 의미하며 그리고 두 방법 모두 전처리 과정이 비교적 짧기 때문에 실험자가 갖는 분석과정에서 발생할 수 있는 불확도의 값이 반복 시료의 분석에서도 동일하게 유지됨을 의미한다. 그러나 두 전처리 방법에 대한 반복 시료의 평균 측정값을 비교할 경우 대략 0.2 %의 차이를 보이고 있어 두 방법이 갖고 있는 정확도는 차이를 보일 것으로 판단된다.

표준물질을 이용한 회수율의 비교

담배 엽 중 칼륨 분석에 대한 회수율을 검토하기 위해 식물 시료인 시금치 표준물질(NIST SRM Spinach Leaves 1570a)을 이용하여 두 방법으로 전처리 한 후 회수율을 검사하였으며 그 결과를 Table 5에 나타내었다. 마이크로파 분해법은 89.2 % 그리고 초음파 추출법은 105.5 %의 회수율을 얻었으며, 두 방법에 대한 평균 측정값을 표준시료의 보증값(2.903 %)과 비교하였을 경우 재현성 검사에서와 같이 마이크로파 분해법의 평균 측정값이 낮게 측정되었다. 따라서 재현성 시험에서

Table 5. Comparison of recovery rate using NIST SRM Spinach Leaves 1570a

(unit : %)

Run	sample				
	1	2	3	4	5
Microwave digestion	2.44	2.87	2.83	2.19	2.58
	average : 2.59 recovery : 89.2				
sonication	3.11	3.02	3.16	3.06	2.97
	average : 3.06 recovery : 105.5				

Certified Concentration Value : 2.903

언급했던 바와 같이 마이크로파 추출법은 초음파 추출법에 비해 약 0.2 %의 낮은 측정값과 표준시료의 보증값과는 0.3 % 차이(계통오차)를 나타내고 있다. 이러한 결과는 전처리 과정에서 초음파 추출법에 비해 마이크로파 추출법이 측정 원소에 대한 손실이 크다는 것을 의미하며 % 농도 수준의 분석에서 큰 희석배율(3,000 -10,000배)인한 효과가 크게 작용한 것으로 판단된다.

결 론

본 연구는 담배 잎 중 칼륨 분석법에 대한 평가 및 개선을 목적으로 여러 전처리 방법(건식회화법, 마이크로파 분해법, 초음파 추출법)을 적용하여 기존의 방법보다 분석효율이 높고 간편하며 분석 소요시간이 짧게 걸리는 방법을 찾고자 하였다. 분석 소요시간의 경우 마이크로파 분해법과 초음파 추출법이 건식회화법에 비해 짧은 분석 소요시간을 갖었으며 재현성 측정결과도 두 방법이 상대표준편차 3 % 미만의 우수한 결과를 얻었다. 표준시료를 이용한 회수율 측정 결과는 초음파 추출법이 표준시료의 보증값과 비교하여 105.5 %의 안정된 회수율을 얻었다. 마이크로파 분해법과 초음파 추출법을 분석효율 측면에서 비교할 때 재현성과 회수율은 비슷한 결과를 얻었지만 동일 시료의 반복 분석 결과 마이크로파 분해법의 결과 값은 초음파 추출법에 비해 약 0.2 % 그리고 표준

시료의 보증값보다는 0.3 % 낮은 결과값을 얻었다. 따라서 초음파 추출법은 다른 전처리 방법과 비교하여 간단한 전처리 과정에 의한 측정 성분의 손실을 최대한 줄일 수 있어 정확성과 재현성의 향상을 보였다.

담배 잎 중 칼륨의 분석법에 대한 초음파 추출법의 응용은 여러 단계의 전처리 과정에 대한 어려움과 소요시간을 단축하고 정확성과 재현성을 향상시킬 수 있을 것으로 판단되며, 이러한 새로운 전처리 방법의 응용은 분석 방법의 평가와 개선에 적절하게 사용될 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

Bermejo, P. Capelo, J.L. Mota, A. Madrid, Y. and Camara, C. (2004) Enzymatic digestion and ultrasonication : a powerful combination in analytical chemistry. *Trends in Analytical Chemistry*, 23(9) : 654.

Davis, D. L. and Nielsen, M. T. (1999) Tobacco Production, chemistry and technology. p. 266

Kingston, H.M. and Jassie, L.B. (1988) Introduction to Microwave Sample Preparation, Theory and Practice. American Chemical Society, Washington, DC.

Isabel, T., Loose, M. D. and Bockstaele, E. V. (2004) Trend in quality in the analytical

laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance *Trends in Analytical Chemistr*, 23(8): 535

Johnstone, R.A.W. & Plimmer, J.R. (1959) The chemical constituents of tobacco and tobacco smoke. *Chem. Rev.*, 59: 885-936.

Stedman, R.L. (1968) The chemical composition of tobacco and tobacco smoke. *Chem. Rev.*, 68(2): 153-207.

Tso, T.C. (1972) *Physiology and Biochemistry of Tobacco Plants*. Dowden, Hutchinson and Ross, Stroudsburg, Pa.

Tso, T.C. (1990) *Production, Physiology and Biochemistry of Tobacco Plants*. Ideals, Inc., Beltsville, Md.

김선태 (2005) 원자 분광법을 이용한 시료 전처리 p. 118, 자유아카데미