

근적외선분광법을 이용한 벼어리 토스트엽의 화학성분 분석

김용욱*, 정한주, 백순욱, 김기환

한국인삼연초연구원

(1995년 10월 20일 접수)

Determination of Chemical Composition of Toasted Burley Tobacco by Near Infrared Spectroscopy

Yong Ok Kim*, Han Joo Chung, Soon Ock Back, Kee Hwan Kim

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute

(Received Oct. 20, 1995)

ABSTRACT : This study was conducted to develop the most precise NIR(near infrared spectrometric) calibration for rapid determination of chemical composition in ground samples of toasted burley tobacco using stepwise, stepup, principal component regression(PCR), partial least square(PLS) and modified partial least square(MPLS) calibration method. The number of wavelength(W) selected by stepup multiple linear regression using second derivative spectra was as follows:total sugar(TS)-4 W, nicotine-9 W, total nitrogen(TN)-2 W, ash-8 W, total volatile base(TVB)-5 W, chlorine-4 W, L of color-6 W, a of color-6 W and b of color-7 W. Comparing the calibration equations followed by each chemical components, the most precise calibration equation was MPLS for TS, a and b of color, PLS for nicotine, ash, TVB, chlorine and L of color and stepup for TN. The standard error of calibration(SEC) and standard error of performance(SEP) between result of near infrared analysis and standard laboratory analysis were 0.18, 0.40% for TS, 0.06, 0.08% for nicotine, 0.18, 0.16% for TN, 0.33, 0.46% for ash, 0.04, 0.03% for TVB, 0.08, 0.06% for chlorine, 0.54, 0.58 for L of color, 0.22, 0.22 for a of color and 0.27, 0.27 for b of color, respectively. The SEC and SEP of ash and TVB were within allowable error of standard laboratory analysis, nicotine, TN and chlorine were 1.2~2.0 times and TS were 2.1~4.0 times larger than allowable error of standard laboratory analysis. The ratio of SEC and SEP to mean were 1.5, 1.6% for L of color, 3.7, 3.8% for a of color and 1.8, 1.8% for b of color, respectively.

Key words : burley tobacco chemistry, near infrared spectroscopy.

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

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

근적외선분광 분석방법은 1960년대부터 컴퓨터 산업의 발전과 더불어 관능기(C-H, N-H, O-H, C=O) 결합음(combination band)과 배음(overtone)의 정보 해석이 가능해지면서 급속히 발전하기 시작하여(Osborne 등, 1986; Birth 등, 1987; Burns 등, 1992) 현재 농산물, 식품, 의약품 및 석유화학 등(Martens 등, 1992; Murry 등, 1992) 여러분야에서 이용되고 있다.

근적외선분광 분석방법은 기존 분석방법에 비해 시료준비와 분석방법이 간단하여 전문적인 분석 인력이 요구되지 않고, 화학약품을 사용하지 않기 때문에 환경공해를 야기 시키지 않는다. 또한 시료회수가 가능하고, 일단 기존 분석방법으로 분석된 성적과 근적외선 스펙트럼으로 검량식이 작성되면 여러 화학성분이 동시에 신속하게 분석되기 때문에 농산물 품질평가, 공장현장에서 원료품과 재료품 전수검사, 공정관리와 품질관리가 가능한 장점(Osborne 등, 1986; Birth 등, 1987; Burns 등, 1992)이 있다.

선진국의 경우 근적외선분광 분석방법으로 담배 경작방법연구, 신품종 육성, 잎담배 품질평가, 제품 담배 생산현장에서 공정관리 및 품질관리에 필요한 화학성분을 분석하여(McClure 등, 1977; Pandeya 등, 1978; McClure 등, 1982; McClure 등, 1986; Heckman 등, 1987) 분석에 소요되는 시간, 경비 및 노력을 절감하고 있는 실정이다.

근적외선분광 분석방법으로 국내 잎담배와 제품 담배의 화학성분을 분석하기 위해서는 각 성분별 검량식이 필요하나(Osborne과 Fearn, 1986), 이에 대한 국내의 연구는 거의 없는 실정이며(조, 1992), 외국 담배를 대상으로 개발된 검량식을 국산 잎담배나 제품담배에 그대로 적용하게 되면 시료특성이 상이하여 분석의 정확도가 낮을 것으로 예상된다(Osborne과 Fearn, 1986).

따라서 본 연구는 근적외선분광 분석방법으로 벼 어리종 토스트 전후 엽종 화학성분을 분석하기 위해 여러 검량식 작성방법으로 각 성분별 검량식을 작성하고, 이를 검량식으로 시료를 분석하여 가장 정확도가 높은 검량식을 선발하여, 벼어리 토스트 엽 시료 화학성분을 분석하여 공정관리 및 품질평가에 이용하고자 수행하였다.

재료 및 방법

벼어리 21제맥 후숙엽, 토스트 전후 시료 227점을 75°C로 건조, 분쇄(Cyclotec, 1093 sample mill) 후 근적외선분광기(NIRS사, Model 6500) 시료컵에 시료를 채운 후, 확산반사방법으로 파장 400~2500nm의 근적외선 스펙트럼을 얻었다. 근적외선 스펙트럼을 ISI 3 software 통계 프로그램을(Infrasoft international, 1992) 이용 first derivative 스펙트럼으로 변형후 스펙트럼 특성이 상이한(center sample: mahalanobis distance 3.0이상) 2점 시료를 제외하고, 검량식 작성시료(calibration) 146점을 선발하고(select sample: mahalanobis distance 0.6) 나머지 79점을 검량식 확인(validation)시료로 사용하였다. 검량식 작성과 검량식 확인시료 기준 분석방법은(김찬호 등, 1991) 전당, 니코틴, 전질소는 자동분석법(autoanalyzer), 회분은 회화법, 전휘발성염기는 수증기증류법, 염소는 전위차적정법, 색상(L,a,b)은 색차계(color difference meter)로 각각 분석하였다. 검량식 작성시료는 각 성분별 기존 분석성적과 근적외선 스펙트럼(first 및 second derivative)으로 stepwise, stepup, principal component regression (PCR), partial least square(PLS)와 modified partial least square (MPLS) 방법으로(Infrasoft international, 1992) 검량식을 작성하고, 작성된 검량식으로 검량식 확인시료를 분석하여 근적외선분광 분석성적과 기존 분석성적을 비교하여 오차가 가장 작은 검량식을 각 성분별로 선발하였다. 검량식 작성에 사용된 파장범위는 색상(L,a,b)은 400~700nm, 전당, 니코틴, 전질소, 회분, 전휘발성염기, 염소는 400~2500nm 이었다.

결과 및 고찰

검량식 작성(calibration) 및 확인(validation)시료의 근적외선 스펙트럼 특성을 주성분(principal component) 1, 2, 3의 좌표상에 나타낸것은 Fig. 1과 같았다.

Fig. 1과 같이 검량식 작성에 사용된 시료는(×표) 검량식 확인시료를(*표, 그림에서 ×표와 겹침) 포함한 여러영역에서 선발된 것으로 나타났다. 검량

1,2,3 : Principal component

X : Calibration samples

* : Validation samples

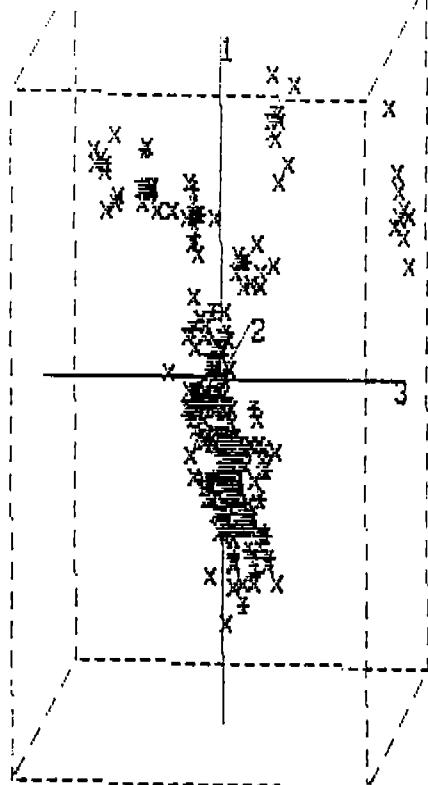


Fig. 1 Principal component analysis of calibration and validation samples

식 작성에 사용된 시료는 분석하려는 시료의 변이 인자를 완전히 포함하여야 분석의 정확도가 높기 때문에(Osborne 등, 1986; Williams 등, 1987), 스펙트럼 특성으로(select sample, mahalanobis distance 0.6) 선발한(Infrasoft international, 1992) 검량식 시료가 검량식 확인시료를 포함한 여러영역에서 선발된 것은 검량식 작성시료 선발의 타당성을 확인할 수 있었다.

각 성분별 기존 분석성적과 근적외선 스펙트럼으로 stepup(second derivative) 방법으로 작성한 검량식의 각 성분별 파장을 F값 크기 순으로(최소 F값 : 10 이상) 나타낸것은 Table. 1과 같았다.

선발된 파장은 전당은 2364nm(F값이 가장 큰 값) 외 3파장, 니코틴은 1644nm외 8파장, 전질소는 2092nm외 1파장, 회분은 2148nm외 7파장, 전휘발성 염기는 2156nm외 4파장, 염소는 680nm외 3파장, 색상중 L은 570nm외 5파장, a는 412nm외 5파장, b는 506nm외 6파장이었다. 각 성분별로 선발된 F값이 가장 큰 파장은 전당은 Long(1983), 전알칼로이드는 Hamid 등(1978), 전질소는 Williamson 등(1986), 전휘발성 염기는 Bense 등의 결과(1983)와 비슷한 것으로 나타났으나, 파장이 일치하지 않았는데 이는 사용된 시료의 생산지역, 품종, 경작년도, 재배방법, 스펙트럼 변형방법 및 사용된 파장범위가 상이한데 기인된(Osborne 등, 1986; Williams 등, 1987) 것으로 고찰된다.

니코틴 함량이 3.21%, 1.86%, 0.70%인 시료 3점의 근적외선 스펙트럼(second derivative)을 조사한 결과는 Fig. 2와 같았다.

Table 1. Selected wavelengths for Stepup regression in toasted burley tobacco.

Component	Wavelengths(nm) ¹⁾
Total sugar	2364, 1452, 1604, 800
Nicotine	1644, 2244, 1668, 1188, 1924, 1164, 1436, 1732, 1172
Total nitrogen	2092, 1676
Ash	2148, 1684, 1948, 2356, 1260, 1228, 2140, 848
TVB	2156, 2316, 1612, 2012, 1820
Chlorine	680, 1428, 920, 1820
L(Color)	570, 434, 604, 578, 586, 554
a(Color)	412, 586, 570, 450, 542, 576
b(Color)	506, 586, 494, 602, 570, 436, 576

1) Wavelength range - L,a,b : 400 – 700nm, The other component : 400 – 2500nm

니코틴 함량이 높을수록 니코틴 검량식에서 F값이 가장 큰 파장인 1644nm에서 균적외선 스펙트럼 second derivative 값이 커지는 것으로 나타나, 니코틴 함량에 따른 균적외선 스펙트럼 차이를 확인할 수 있었다. 본 그림에서는 나타내지 않았지만 니코

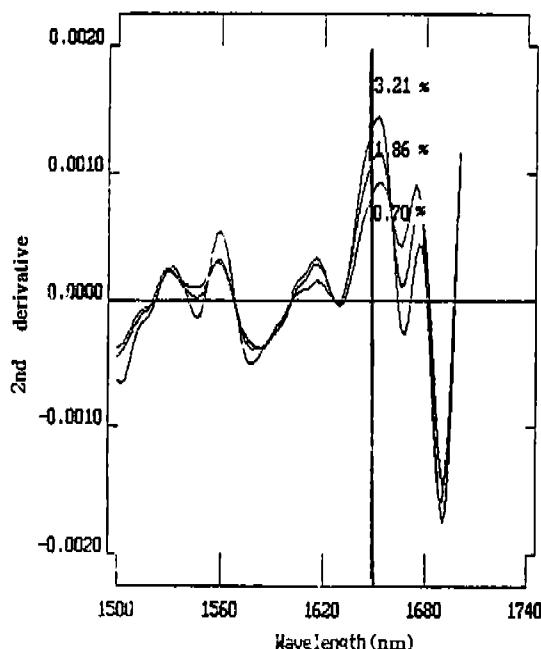


Fig. 2 Effect of the different level of nicotine on second derivative spectra in toasted burley tobacco

틴 표준물질에서도 second derivative 스펙트럼에서 1644nm 부근에서 peak(Burns 등, 1992)가 나타나는 것으로 미루어 파장선정의 신뢰성을 확인할 수 있었다.

색상중 b를 기준 분석성적과 균적외선 스펙트럼(first, second derivative)으로 검량식을 작성하고, 작성된 검량식으로 검량식 작성과 확인시료를 균적외선분광법으로 분석한 결과를 기준 분석성적과 비교한 것은 Table. 2와 같았다.

검량식 작성방법간에는 stepup과 stepwise(다중회귀) 방법으로 작성한 검량식은 기존 분석성적과 검량식 작성시료 표준오차(SEC)가 0.32, 0.33, R^2 는 0.86, 0.85로, 검량식 확인시료의 표준오차(SEP)가 0.38, 0.40, 기울기(Slope)가 1.05, 1.11, R^2 는 0.82, 0.81로 각각 나타나, PCR, PLS, MPLS 방법에 비해 정확도가 낮았다. 검량식 작성방법중 PCR, PLS, MPLS 방법 간에는 큰 차이는 없으나 MPLS 방법으로 작성한 검량식은 검량식 작성시료 표준오차가 0.27, R^2 값이 0.90으로, 검량식 확인시료 표준오차가 0.27, 기울기(Slope)가 1.00, R^2 값이 0.91로 가장 높아 색상중 b 분석시에는 MPLS 방법으로 작성한 검량식을 선발, 사용하였다.

각 성분별로 기존 분석성적과 균적외선 스펙트럼으로 Table. 2와 같은 방법으로 각 성분별 검량식을 선발, 선발된 검량식으로 검량식 작성시료를 분석하여 기존 분석성적과 비교한 결과는 Table. 3과 같았다.

Table 2. Comparison of calibration equations for b of color in toasted burley tobacco.

Regression	No. ¹⁾	Mean	SEC ²⁾	SEP(C) ³⁾	R^2	SECV ⁴⁾	Slope
Stepup	Cal ⁵⁾	142	15.24	0.32	0.86	0.33	1.05
	Val ⁶⁾	79	15.08	0.38			
Stepwise	Cal	144	15.23	0.33	0.85	0.33	1.11
	Val	79	15.08	0.40			
PCR	Cal	140	15.23	0.27	0.90	0.29	1.02
	Val	79	15.08	0.28			
PLS	Cal	128	15.22	0.27	0.89	0.29	1.02
	Val	79	15.08	0.28			
MPLS	Cal	141	15.23	0.27	0.90	0.29	1.00
	Val	79	15.08	0.27			

1) Sample numbers 2) Standard error of calibration 3)Standard error of performance(corrected for bias)

4)Standard error of cross validation 5)Calibration samples 6)Validation samples

Table 3. The most precise calibration equation and NIR calibration statistics for toasted burley tobacco.

Component	Cal ¹⁾	No ²⁾	Mean	SEC ³⁾	AE ⁴⁾	R ²	SECV ⁵⁾
Total sugar(%)	MPLS	84	3.18	0.21	0.10	0.89	0.35
Nicotine(%)	PLS	143	2.50	0.06	0.05	0.99	0.07
Total nitrogen(%)	STUP	139	3.96	0.18	0.10	0.77	0.18
Ash(%)	PLS	141	20.02	0.33	0.50	0.98	0.42
TVB(%)	PLS	74	0.89	0.04	0.05	0.88	0.06
Chlorine(%)	PLS	60	1.12	0.08	0.04	0.93	0.12
L(Color)	PLS	137	36.83	0.54	-	0.93	0.61
a(Color)	MPLS	136	6.00	0.22	-	0.89	0.26
b(Color)	MPLS	141	15.23	0.27	-	0.90	0.29

1) Calibration equation 2) Sample numbers 3) Standard error of calibration
 4) Allowable error of standard laboratory analysis 5)Standard error of cross validation

검량식 작성방법 중 기존 분석성적에 비해 검량식 작성과 확인시료 표준오차가 가장 작은 것은(Table 2와 동일한 방법) 전당과 색상중 a와 b는 MPLS 방법, 니코틴, 회분, 전휘발성염기, 염소 및 색상중 L은 PLS 방법, 전질소는 stepup 방법으로 작성한 검량식이었다. 각 성분별로 검량식 작성 시료를 근적외선분광 분석과 기존 분석방법으로 분석한 성적을 비교한 결과 검량식 표준오차(SEC)는 전당은 0.21%, 니코틴은 0.06%, 전질소는 0.18%, 회분은 0.33%, 전휘발성염기는 0.04%, 염소는 0.08%, 색상중 L은 0.54, a는 0.22, b는 0.27로 나타났다. 이 결과를 기존 분석방법의 허용오차(AE)와(김찬호 등, 1991) 비교해보면 회분과 전휘발성염기는 허용오차 범위내에, 니코틴, 전질소, 염소는 허용오차 1.5 - 1.6배로, 전당은 허용오차 범위내, 니코틴, 전질소, 염소는 허용오차 1.2 - 2.

0배, 전당은 허용오차 2.1배로 나타났다.

각 성분별로 선발된 검량식으로 검량식 확인시료를 근적외선 분광법으로 분석하여 기존 분석성적과 비교한 결과는 Table 4와 같았다.

검량식 확인시료의 근적외선분광 분석성적과 기존 분석성적의 표준오차(SEP)는 전당은 0.40%, 니코틴 0.08%, 전질소 0.16%, 회분 0.46%, 전휘발성염기 0.03%, 염소 0.06%, 색상중 L은 0.58, a는 0.22, b는 0.27로 나타났다. 이 결과를 기존 분석방법의 허용오차(AE)와(김찬호 등, 1991) 비교해보면 회분과 전휘발성염기는 허용오차 범위내에, 니코틴, 전질소, 염소는 허용오차 1.5 - 1.6배로, 전당은 허용오차 4.0배로 나타났다.

근적외선분광 분석법으로 분석한 검량식 작성 및

Table 4. NIR validation statistics for toasted burley calibrations

Component	No ¹⁾	Mean	Bias	SEP(C) ²⁾	AE ³⁾	R ²	Slope
Total sugar(%)	64	3.41	-0.03	0.40	0.10	0.68	0.96
Nicotine(%)	79	2.62	0.00	0.08	0.05	0.97	1.05
Total nitrogen(%)	77	3.90	0.00	0.16	0.10	0.79	0.97
Ash(%)	78	19.18	-0.05	0.46	0.50	0.66	0.84
TVB(%)	76	0.92	0.00	0.03	0.05	0.78	1.00
Chlorine(%)	11	1.21	0.04	0.06	0.04	0.91	1.07
L(Color)	79	36.60	0.00	0.58	-	0.89	1.05
a(Color)	79	6.18	0.02	0.22	-	0.83	0.96
b(Color)	79	15.08	-0.02	0.27	-	0.91	1.00

1) Sample numbers 2) Standard error of performance(corrected for bias)
 3) Allowable error of standard laboratory analysis

확인시료 표준오차를(기존 분석성적 대비, Table. 3, 4 참조) 기존분석의 허용오차와 비교하면 회분과 전휘발성염기는 허용오차 범위내, 니코틴, 염소, 전질소는 허용오차의 1.2~2.0배 범위에 속하여 근적외선분광법으로 이들 성분을 신속하게 분석하여, 베어리 토스트엽의 품질평가와 공정관리를 할 수 있을 것으로 판단된다. 전당 함량은 기존 분석의 허용오차에 비해 2.1~4.0배로 나타나 근적외선분광법의 정확도가 낮았는데, 이는 베어리 토스트엽은 인위적으로 당이 첨가되나(6%) 고온의 토스트 과정을 거치기 때문에 당함량이 4.0% 미만으로 낮아지고(김 등, 1994), 일부 시료는 함량이 매우 낮아 자동분석법의 분석 한계범위에 속하여 기존 분석성적의 정확도가 낮아진데 기인된 것으로 고찰된다. 색상의 L,a,b값은 기존 분석 허용오차값이 없기 때문에 직접적인 비교는 불가능하나 평균값에 비해 검량식 작성 및 확인시료 표준오차값이 상대적으로 낮은(1.5~3.7%) 것으로 미루어 근적외선분광 분석 방법으로 분석이 가능할 것으로 판단된다.

결 론

베어리종 토스트 전후 잎담배 시료 227점을 건조, 분쇄후 근적외선분광기(NIRS사, Model 6500)로 파장 400~2500nm 범위의 근적외선 스펙트럼을 얻어 ISI 3 통계 프로그램으로 stepup, stepwise, principal component regression(PCR), partial least square(PLS), modified partial least square (MPLS)방법으로 검량식을 작성하고, 시료를 분석하여 기존 분석성적과 비교한 결과는 아래와 같다.

Stepup 방법(second derivative)으로 작성한 검량식의 성분별 파장수는 전당은 2364nm(F값이 가장 큰 값)의 3파장, 니코틴은 1644nm의 8파장, 전질소는 2092nm의 1파장, 회분은 2148nm의 7파장, 전휘발성염기는 2156nm의 4파장, 염소는 680nm의 3파장, 색상중 L은 570nm의 5파장, a는 412nm의 5파장, b는 506nm의 6파장이었다. 작성된 검량식으로 검량식 작성과 확인시료를 분석하여 기존 분석성적과 비교한 결과, 검량식 작성과 확인시료 표준오차가 가장 작은 검량식은 전당, 색상중 a 와 b는 MPLS, 니코틴, 회분, 전휘발성염기, 염소, 색상중 L은 PLS, 전

질소는 stepup 방법으로 작성한 검량식이었다. 선발된 검량식으로 검량식 작성 및 확인시료를 근적외선분광 분석방법으로 분석하여 기존 분석방법 성적과 비교한 결과 검량식 작성과 확인시료 표준오차는 전당 0.18, 0.40%, 니코틴 0.06, 0.08%, 전질소 0.18, 0.16%, 회분 0.33, 0.46%, 전휘발성염기 0.04, 0.03%, 염소 0.08, 0.06%, 색상중 L은 0.54, 0.58, a는 0.22, 0.22, b는 0.27, 0.27로 각각 나타났다. 근적외선분광 분석오차(기존 분석성적과 대비)를 기준 분석 허용오차와 비교하면, 회분, 전휘발성염기는 허용오차 범위내에, 니코틴, 염소, 전질소는 허용오차 1.2~2.0배, 전당은 2.1~4.0 배로 나타났다. 색상의 L,a,b는 평균값에 비해 검량식 작성과 확인시료 표준오차 값이 상대적(1.5~3.7%)으로 낮았다.

참 고 문 헌

1. Bense, T. and C. Gastellu (1983) Estimation of total volatile bases in tobacco by near infrared(NIR) reflectance spectrophotometry. *Tob. Sci.* 27 : 92~94.
2. 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. Iwamoto, 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.
3. 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. Diffey (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.
4. 조래광 (1992) 비파괴측정법에 의한 잎담배 품질 측정 자동화연구. p.1~32, 용역과제 연구보고서, 한국인삼연초연구소.
5. Hamid, A., W. F. McClure and W.W. Weeks (1978) Rapid spectrophotometric analysis of the chemical composition of tobacco, part 2 : total alkaloid.

- Beiträge zur Tabakforschung* 9 : 267 – 274.
- 6. Heckman, R. T., J. T. Diffee and L. A. Milhous (1987) Transfer of near-infrared monochrometor calibrations for tobacco constituents to tilting-filter instruments. *Analytica Chimica Acta* 192 : 197 – 203.
 - 7. 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.
 - 8. 김찬호, 나효환, 박영수, 한상빈, 이문수, 이운철, 김용옥, 복진영, 안기영, 김용하, 백순옥, 장기철, 지상운 (1991) 담배성분분석법. p.30 – 220, 한국인삼연초연구소.
 - 9. 김기환, 박영수, 한정성, 김병구, 김용옥, 김천석, 정한주, 오인혁. (1994) 각초부풀성 향상공정 개발연구. 담배연구보고서(제조분야) p. 207 – 217, 한국인삼연초연구원.
 - 10. Long, T. M. (1983) Application of near infrared reflectance spectroscopy to tobacco analysis. *Anal. Proc.* 20 : 69 – 72.
 - 11. 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.
 - 12. McClure, W. F. and K. H. Norris (1977) Rapid spectrophotometric analysis of the chemical composition of tobacco, part 1 : total reducing sugar. *Beiträge zur Tabakforschung* 9 : 13 – 18
 - 13. McClure, W. F. and R. E. Williamson (1982) Rapid spectrophotometric analysis of the chemical composition of tobacco, part 3 : polyphenols. *Beiträge zur Tabakforschung* 11 : 219 – 227.
 - 14. McClure, W. F. and R. E. Williamson (1986) Status of near infrared technology in the tobacco industry. Proceeding of symposium of 40th TCRC, p.3 – 53, Knoxville, TN, U.S.A.
 - 15. Murray, I and I. A. Cowe et. al (1992) Making light work : Advances in NIR spectroscopy. p.1 – 638, 1st ed., I. Murray and I. A. Cowe Ed., VCH Publishers, New York, U.S.A.
 - 16. Osborne, B. G. and T. Fearn (1986) Near infrared spectrscoopy in food analysis. p.1 – 182, 1st ed., B. G. Osborne and T. Fearn Ed., Longman Scientific & Technical, Harlow Essex, U.K.
 - 17. Pandeya, R. S., F. H. W. Nestorrosa and J. M. Elliot (1978) Rapid estimation of some flue-cured tobacco chemical characteristics by infrared-reflectance spectroscopy. *Tob. Sci.* 22 : 27 – 31.
 - 18. Williamson, R. E. and W. F. McClure (1986) Rapid spectrophotometric analysis of the chemical composition of tobacco, part 4 : total nitrogen. *Tob. Sci.* 30 : 109 – 111.