

**Zeitschrift:** Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 78 (1987)

**Heft:** 1

**Artikel:** Analyse statistique multivariée de profils "headspace" de tabacs bruts = Multivariate statistical analysis of GC-profiles of tobacco headspace

**Autor:** Heinzer, F. / Maître, H.P. / Rigaux, M.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-982974>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 01.04.2025

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

*F. Heinzer, H. P. Maître, M. Rigaux et J. Wild, F. J. Burrus SA, Boncourt*

## **Analyse statistique multivariée de profils «headspace» de tabacs bruts\***

Multivariate Statistical Analysis of GC-Profiles of Tobacco Headspace

Cet exposé qui résume nos travaux dans le domaine de l'analyse statistique multivariée de profils chromatographiques est divisé en trois parties: d'abord, la présentation de notre étude dans un contexte général; puis, une description de notre technique analytique pour obtenir les profils «headspace» et finalement, l'interprétation de ces profils par des méthodes statistiques multivariées.

Cette étude s'inscrit dans la série croissante d'articles publiés ces derniers temps décrivant des techniques de «pattern recognition» pour corrélérer des profils chromatographiques avec une propriété spécifique de l'objet analysé. Quelques exemples sont donnés dans le tableau 1.

Dans les domaines intéressant le tabac, on trouve énormément d'articles ayant trait à l'analyse de milliers de substances contenues dans la feuille ainsi que dans la fumée de tabac. Par contre, seules quelques publications (6–9) décrivent l'analyse «chimométrique» de profils chromatographiques du tabac et essayent de corrélérer ces profils avec des qualités gustatives ou autres. Pourtant, les applications possibles d'une telle méthode dans le domaine du tabac sont nombreuses:

- évaluation de la qualité des tabacs bruts
- contrôle des mélanges dans la production de cigarettes
- contrôle de qualité journalier des cigarettes produites
- assistance au «panel» de dégustation
- identification de substances présentes à l'état de traces dans le tabac mais importantes pour la caractérisation des groupes de qualité.

Le présent travail décrit nos tentatives de trouver une corrélation entre les profils «headspace» d'une série de tabacs bruts et leur qualité telle qu'elle était jugée par un «panel» de dégustation. Le but étant la considération objective et l'assistance au jugement de la qualité organoleptique d'un tabac brut.

\* Un article décrivant les détails de ce travail paraîtra dans «Beiträge zur Tabakforschung International» (11).

Tableau 1. Quelques exemples d'application de la technique «pattern recognition» pour la classification de profils chromatographiques

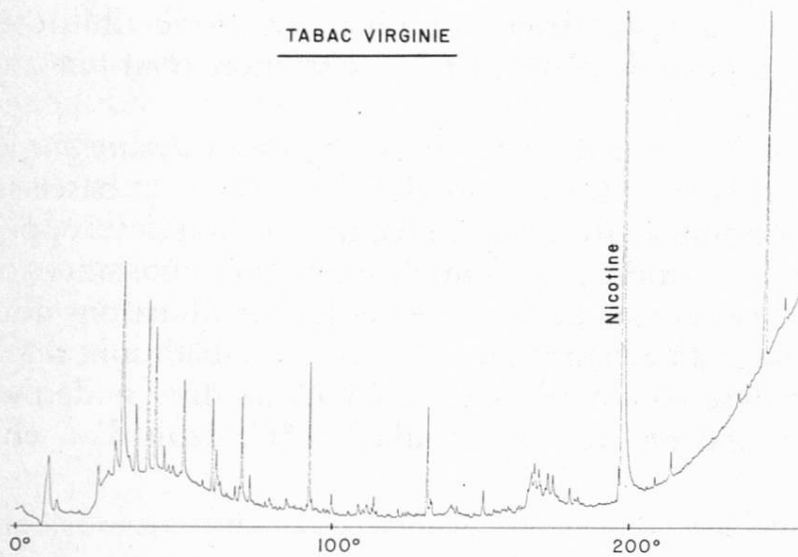
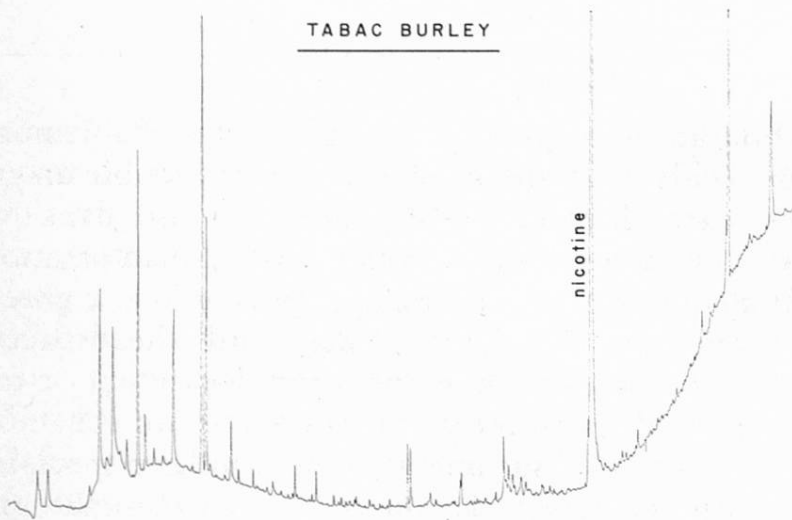
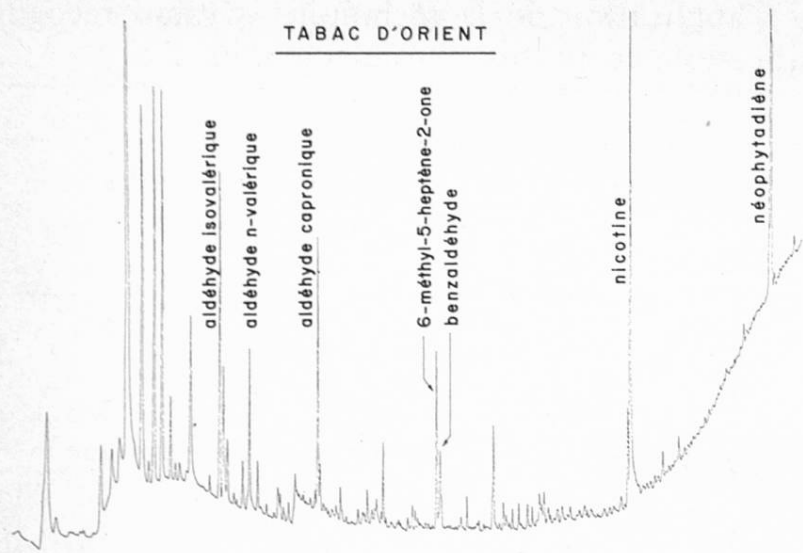
Objet analysé		Propriété corrélée
Liquide physiologique (Salive, sang, urine)	↔	Maladies ou troubles physiologiques (1)
Vin (Profil «headspace»)	} ↔	Évaluation organoleptique (qualité) (2-4)
Huiles essentielles		
Arômes de fruit (P. ex. profil «headspace»)		
Pétrole	↔	Provenance du pétrole (5)

Nous avons choisi la technique «headspace» parce que c'est probablement la façon la plus simple et la plus rapide d'extraire de manière reproductible un groupe de substances sélectionnées parmi la foule de substances présentes dans un tabac brut. En plus, ces substances volatiles sont importantes sur le plan organoleptique et elles sont facilement analysables par chromatographie en phase gazeuse.

Nos toutes premières tentatives, en 1983, d'obtenir des profils «headspace» de tabac, se basaient sur une méthode *statique*, sans étape d'enrichissement: le tabac est chauffé à 75 ° pendant 2 heures dans un récipient fermé, puis un échantillon de 1,0 ml (head-space gaz) est injecté à 0 ° sur une colonne capillaire spéciale revêtue d'un film épais de 1,0  $\mu$ . Par cette méthode, on obtient des chromatogrammes qui permettent de distinguer facilement différentes variétés (sortes) de tabac tels Orient, Burley et Virginia (voir fig. 1). Par contre, il est évident que ces profils chromatographiques sont assez pauvres (peu et petits pics) et qu'il serait difficile de comparer des échantillons de la *même* variété. En plus, la reproductibilité est délicate et il est pratiquement impossible d'enrichir des substances pour une analyse GC/MS ultérieure.

Ces considérations nous ont amenés à développer une méthode *dynamique*, en y incorporant une étape d'enrichissement. La méthodologie utilisée est basée sur le principe du «closed loop stripping analyzer» (CLSA), un appareil développé à l'origine par K. Grob (10) pour le «stripping» et l'enrichissement de substances organiques volatiles, dans l'eau.\* Le schéma de l'appareil et les modifications qui y ont été apportées pour l'analyse d'un échantillon solide (p. ex. tabac) sont représentés sur la figure 2. Une analyse «standard» avec le CLSA modifié se déroule dans les conditions suivantes: 250 mg de tabac coupé, 25 °C, débit d'air env.

\* Le CLSA est commercialisé par Brechbühler SA, Schlieren, Zürich.



*Fig. 1.*

Profils «headspace» de différentes variétés de tabac obtenus par méthode statique (conditions expérimentales: voir texte)

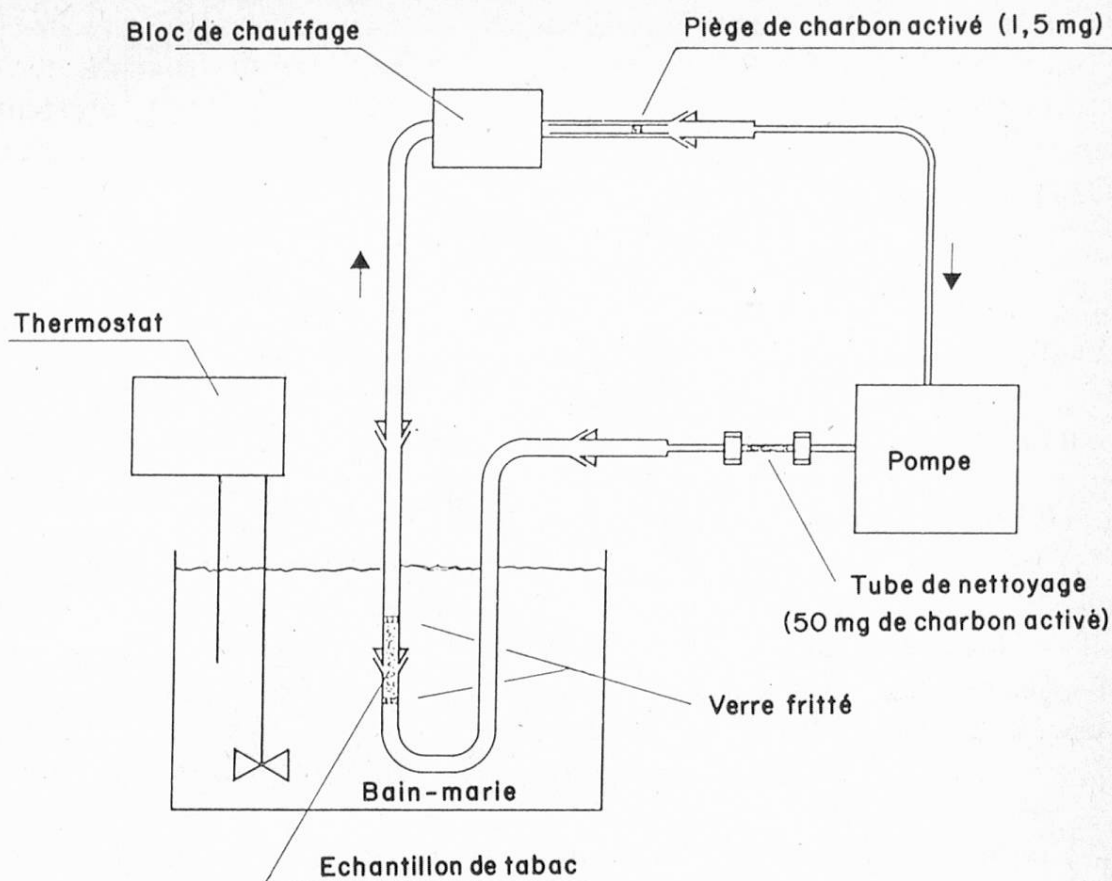


Fig. 2. «Closed loop stripping analyzer» (CLSA) modifié pour l'analyse de tabac (conditions expérimentales: voir texte)

1,4 l/min pendant 15 minutes; extraction du piège avec un total de 20  $\mu$ l de  $CS_2$  contenant du 1-chlorodécane comme étalon interne. En respectant strictement ces conditions, on obtient des chromatogrammes bien reproductibles (fig. 3) qui sont nettement plus riches (150–200 pics séparés!) que les profils obtenus par la méthode statique. L'identification de tous ces pics n'a jamais été le but principal de cette étude puisque la connaissance de leur identité n'est pas une condition pour un classement «a priori» des profils chromatographiques par analyse statistique multivariée. Néanmoins, nous avons bien entendu prévu, dans une deuxième étape, l'identification sélective de pics qui contribuent à la distinction des différents groupes de qualité.

Pour tester l'hypothèse que des différences dans les propriétés organoleptiques de tabacs bruts se manifestent par des profils «headspace» différents, une série de neuf tabacs, tous de la sorte Virginia ont été sélectionnés et analysés préalablement par notre «panel» de dégustation. Les neuf tabacs ont ainsi été classés en trois groupes de qualité:

Tabac No	Groupe de qualité
1, 2, 3, 4	I
5, 6	II
7, 8, 9	III



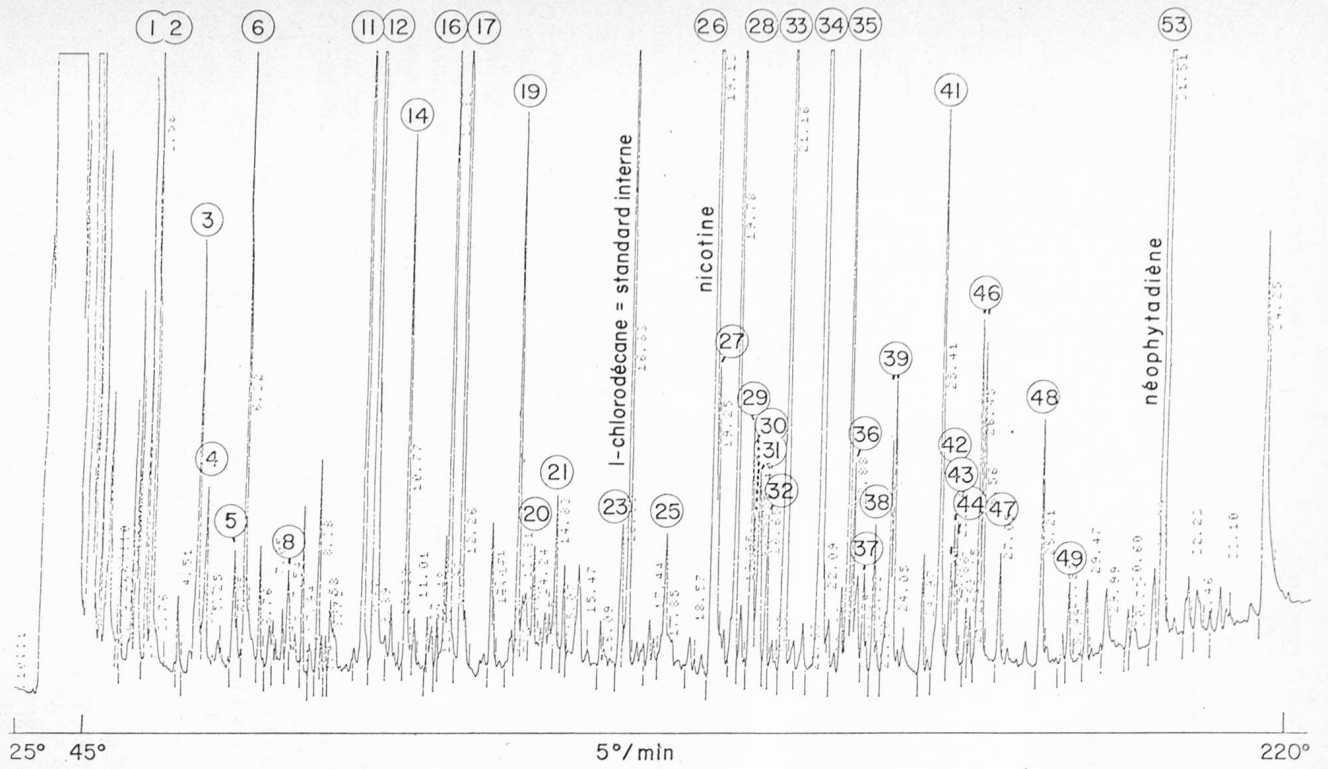


Fig. 3. Profil «headspace» d'un tabac Virginia (flue-cured) obtenu par la méthode CLSA. Les pics numérotés ont été retenus pour l'analyse statistique multivariée. Conditions chromatographiques: colonne capillaire en verre 35 m x 0,30 mm, SE-54, 0,5  $\mu$ m. Injection à 25°; après 1,5 min chauffage rapide à 45°, puis à 5°/min jusqu'à 220°C

Ces neuf tabacs ont été analysés par la suite (3 répétitions par tabac!) par la méthode «headspace» dynamique. Quelques profils typiques obtenus pour les trois groupes de qualité sont présentés dans la figure 4. A l'oeil déjà, on constate des différences mineures mais clairement visibles entre les trois échantillons de tabac. Pourtant, l'interprétation détaillée et la sélection des pics qui permettraient une distinction entre les 3 classes de qualité semble impossible sans l'application de méthodes mathématiques.

Nous avons donc décidé d'étudier cette série de chromatogrammes avec deux différentes techniques de l'analyse factorielle: *l'analyse en composantes principales* et *l'analyse discriminante*. Les programmes utilisés ont été développés dans nos laboratoires. Le tableau 2 résume quelques remarques générales concernant l'analyse statistique multivariée de nos données.

L'analyse en composantes principales permet de démontrer des groupements naturels des échantillons dans l'espace multidimensionnel des variables (17 dimensions dans notre cas). Par des combinaisons linéaires cette méthode réduit le nombre des variables tout en essayant de maintenir le maximum d'information originale. Les combinaisons linéaires des variables ainsi obtenues sont appelées composantes principales; elles permettent une projection des vecteurs décrivant la position des tabacs dans un plan défini par des paires de composantes principales.

La figure 5 montre le plan des deux composantes les plus importantes F 1 et F 2, elles retiennent ensemble 57,0% (34,8% + 22,2%) de l'information originale. On voit que la reproductibilité des analyses est excellente (proximité des trois mêmes chiffres qui représentent les trois répétitions) et que F 1 sépare bien les différentes qualités de tabacs (à l'exception du tabac No 9 qui se place parmi les tabacs de classe I!).

Basées sur les mêmes composantes principales, les positions des *variables* (pics) peuvent aussi être projetées dans un plan (voir par exemple la fig. 6). Un

Tableau 2. Description de la base de données pour l'analyse statistique multivariée des profils «headspace» des neuf tabacs Virginia

No d'échantillons: 9 répétitions: 3	} →	9 x 3 = 27 chromatogrammes (individus)
No de pics sélectionnés de chaque chromatogramme:		40 (variables)
→ matrice de données		27 x 40 points
Après élimination de pics corrélés: (matrice de corrélation)		27 x 17 points
→ chaque échantillon (tabac) est décrit par 17 variables (surfaces de pics).		

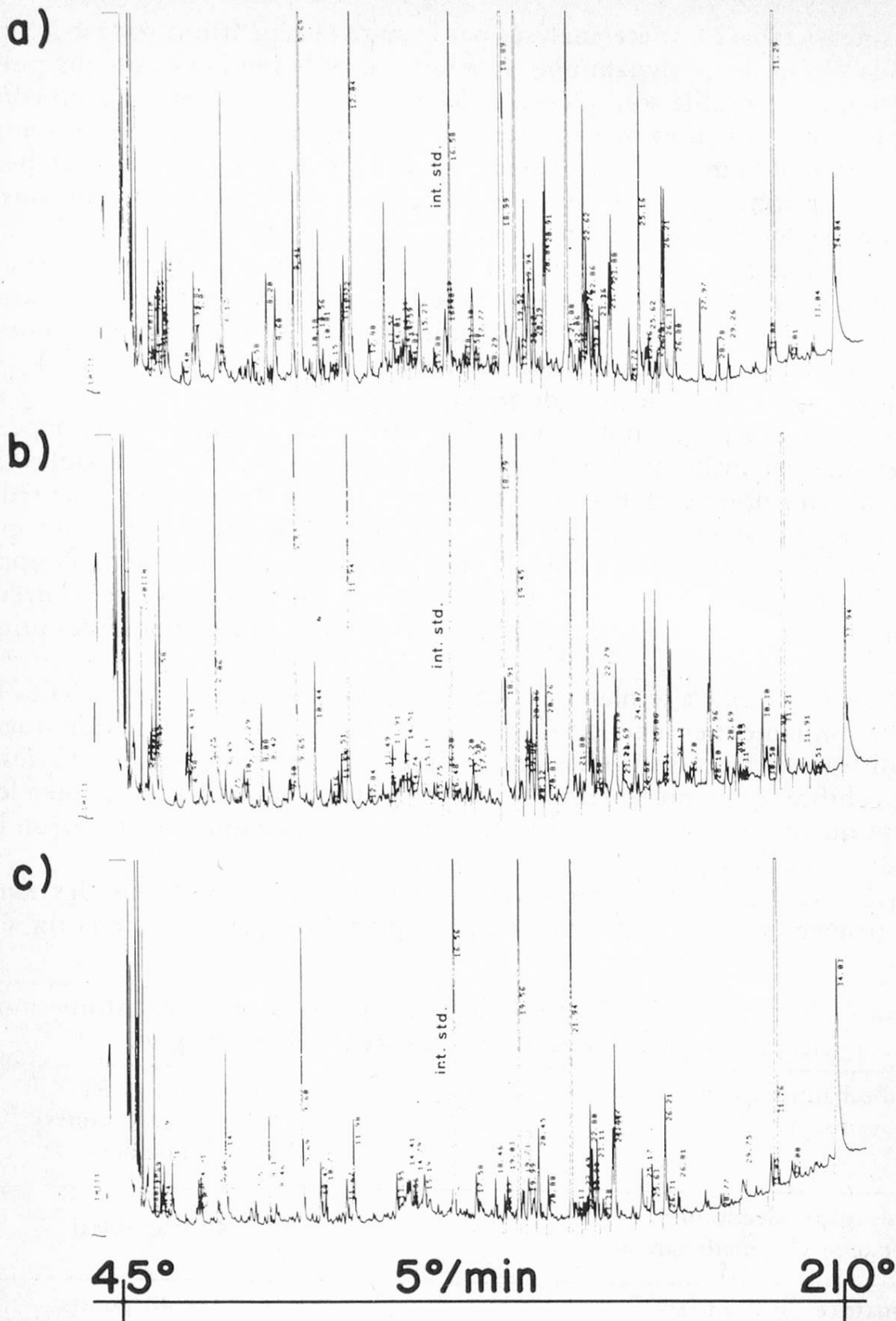


Fig. 4. Comparaison des profils «headspace» de trois tabacs du type Virginia appartenant à différents groupes de qualité (conditions expérimentales voir fig. 3)  
 a) Virginia américain (tabac No 2)  
 b) Virginia brésilien (tabac No 6)  
 c) Virginia yougoslave (tabac No 8)



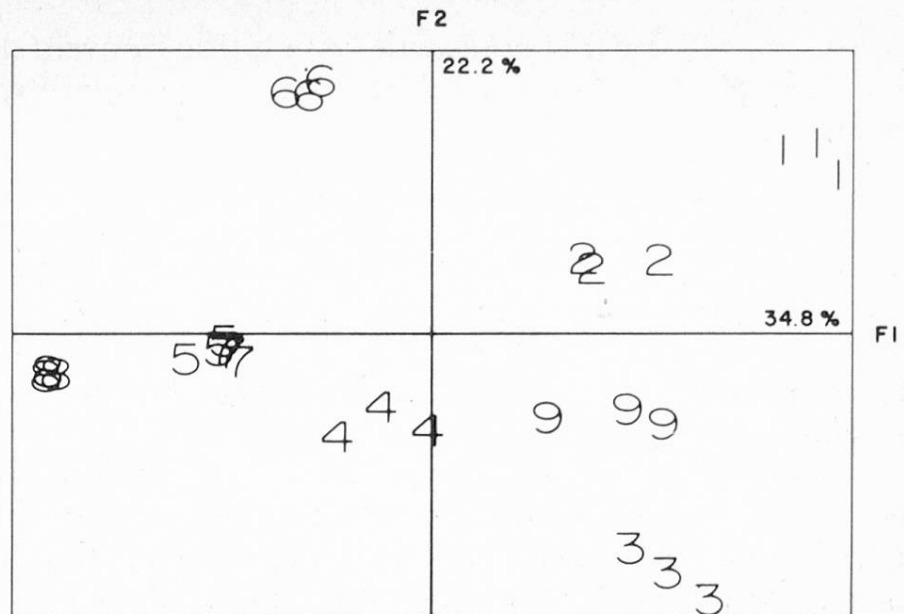


Fig. 5. Analyse en composantes principales. Projection des neuf tabacs analysés dans le plan de la première (F 1) et de la deuxième (F 2) composante principale. Les numéros correspondent à la numérotation des tabacs dans le texte, chaque tabac a été analysé trois fois. Les pourcentages indiquent l'information originale retenue par chaque composante principale

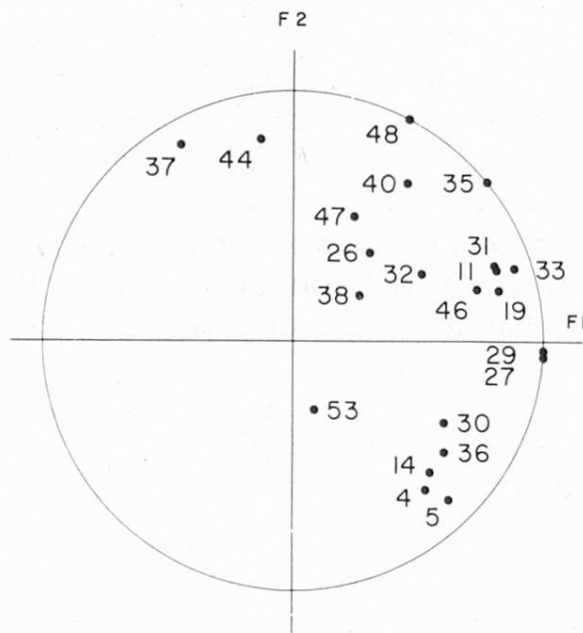


Fig. 6. Analyse en composantes principales. Coefficients des 17 variables retenues (= pics) avec le cercle de corrélation dans le plan des deux premières composantes principales F 1 x F 2. La numérotation des pics correspond à celle de la figure 3

pic est représentatif et est important pour la classification lorsqu'il se rapproche du cercle de corrélation (coefficient = 1,0).

En superposant la figure 6 sur la figure 5 qui montre la répartition des tabacs, on peut déceler la contribution des différents pics au positionnement d'un tabac.

Un tabac est caractérisé par la *présence* des pics qui se trouvent dans la même «hémisphère» du graphique et/ou par l'*absence* des pics qui se trouvent du côté opposé du cercle de corrélation.

*Exemples:*

- Les tabacs Nos 1, 2, 3 (classe I) et 9 (!) sont caractérisés par la foule des pics avec coefficients élevés sur F 1.
- Le tabac No 6 est caractérisé par les pics Nos 37 et 44.
- Les tabacs Nos 5, 7 et 8 sont caractérisés par l'*absence* des pics avec des coefficients élevés sur l'axe F 1.

Après l'analyse en composantes principales, une analyse discriminante a été effectuée. L'analyse discriminante est une technique où les différents échantillons (tabacs) sont *a priori* classés dans des groupes bien définis; dans notre cas les classes de qualité I, II et III (voir plus haut). Les variables sont combinées de façon à permettre une séparation *maximale* des échantillons appartenant aux différentes catégories définies.

La figure 7 montre que déjà les deux premières fonctions discriminantes (axes 1 et 2 du graphique) sont capables de séparer parfaitement les trois classes de tabacs définies par le «panel» de dégustation.

Ces résultats positifs et encourageants nous avaient rendus optimistes et nous espérions ainsi arriver à classer des tabacs Virginia inconnus en nous basant sur leur profil «headspace». Pourtant un premier essai de classification de 6 Virginia, dont on ignorait les résultats de dégustation, a abouti à des résultats non-interprétables. Pour l'instant, nous expliquons cet échec par une détérioration de la performance de la colonne capillaire utilisée entre les deux séries d'analyses. De ce fait, l'intégrateur n'a probablement pas «reconnu» tous les pics exactement de la même façon dans ces chromatogrammes complexes. Il est évident qu'une surface correcte attribuée à chaque pic est un point de départ indispensable pour une analyse statistique multivariée.

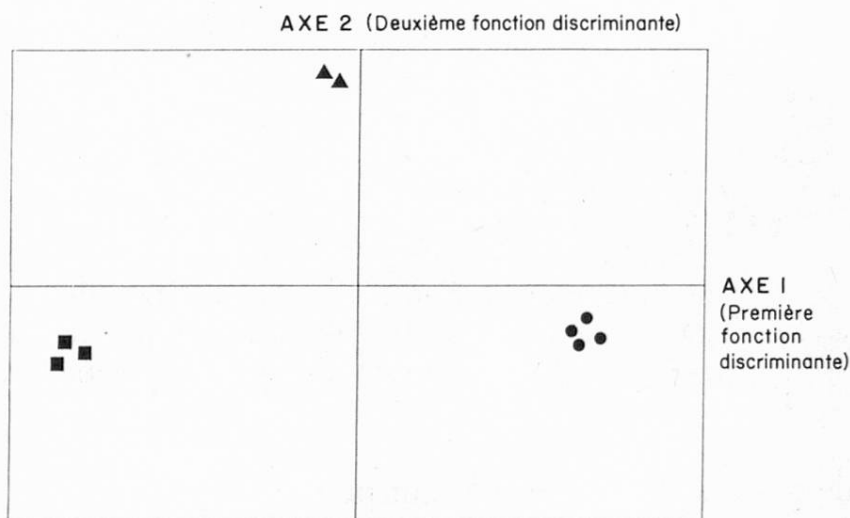


Fig. 7. Analyse discriminante. Positionnement des neuf tabacs analysés dans le plan des deux premières fonctions discriminantes. Classification selon les trois groupes de qualité: I (●), II (▲) et III (■)

Nous essayons maintenant de modifier les spécifications de la colonne et d'obtenir un outil de travail analytique suffisamment solide pour nous permettre de continuer cette prometteuse étude. Nous sommes convaincus que des possibilités intéressantes, qui permettront de façon générale d'objectiver la qualification organoleptique, résident dans le genre d'approche analytique décrite dans cet article.

### *Remerciements*

Nous remercions l'équipe de M. *Fridez* pour les dégustations des tabacs bruts et Mlle *Juillerat* pour la rédaction du manuscrit.

### *Résumé*

La première partie de l'article décrit une nouvelle méthode permettant d'obtenir des profils «headspace» enrichis; cette méthode est basée sur un appareil pour «closed loop stripping analysis» (CLSA) modifié. La deuxième partie compile les résultats analytiques ainsi obtenus sur une série de neuf tabacs Virginia. Les chromatogrammes complexes ont été interprétés et classés en se basant sur des méthodes chimiométriques: Après élimination des pics corrélés, la matrice des données résultante était analysée pour détecter des groupes naturels parmi les neuf tabacs en utilisant un logiciel élaboré dans notre laboratoire pour l'analyse en composantes principales (ACP). En analyse discriminante des mêmes données, on obtenait des fonctions discriminantes, dont les deux premières permettaient déjà de séparer parfaitement les 9 tabacs en trois groupes de qualité tels qu'ils étaient définis préalablement par le panel de dégustation.

### *Zusammenfassung*

Im ersten Teil des Artikels wird eine neuartige Methode basierend auf einem «closed loop stripping analyzer» (CLSA) beschrieben, die es ermöglicht, reproduzierbare und aussagekräftige Headspace-Profile von Rohtabaken zu gewinnen. Der zweite Teil fasst die Resultate eines Versuches zusammen, mit chemometrischen Methoden die so erhaltenen Headspace-Chromatogramme einer Serie von 9 Virginia-Tabaken verschiedener Herkunft und Qualität zu interpretieren und zu klassieren. Die resultierende Datenmatrix wurde mit einem selbstentwickelten Programm für Hauptkomponentenanalyse auf natürliche Gruppierungen untersucht. Eine anschliessend durchgeführte Diskriminantenanalyse klassierte die 9 Tabake 100%ig korrekt in die drei Qualitätsgruppen, welche das Degustationspanel zu Beginn dieser Arbeiten definiert hatte.

### *Summary*

The first part of the paper describes a new method to obtain enriched and meaningful headspace profiles of raw tobacco by using a modified closed loop stripping apparatus

(CLSA). The second part summarizes the results of a chemometrical approach to interpret the chromatograms obtained by this way from a series of nine Virginia flue cured tobaccos from different origins and belonging to different quality groups. After elimination of peaks containing redundant information the resulting data set was analyzed to detect natural groupings using an in-house programme for principal component analysis. A subsequent discriminant analysis yielded two discriminant functions capable of separating the 9 Virginia tobaccos into three quality groups as defined by a conventional organoleptic analysis by a smoking panel. All the tobaccos could be classified correctly.

### Bibliographie

1. Gordon, S. M., Szidon, J. P., Krotoszynski, B. K., Gibbons, R. D. and O'Neill, H. J.: Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer. *Clin. Chem.* (Winston-Salem, N. C.) **31**, 1278–1282 (1985).
2. Noble, A. C., *In: Analysis of foods and beverages*, p. 203. Academic Press, New York 1978.
3. Cantagrel, R.: Application de l'analyse statistique multidimensionnelle à la différenciation des huiles essentielles de lavandes et de lavandins. *Parfums, cosmétiques, arômes* **61**, 73–76 (1985).
4. Mayfield, H. T., Bertsch, W., Mar, T. and Staroscik, J. A.: Application of chemometrics to the classification of orange essence oil varieties by GLC. *J. High. Res. Chromatogr. & Chromatogr. Commun.* **9**, 78–83 (1986).
5. Oygard, K., Grabl-Nielsen, O. and Ulvoen, S.: Oil/oil correlation by aid of chemometrics. *Org. Geochem.* **6**, 561–567 (1984).
6. Sakaki, T., Niino, K., Sakuma, H. and Sugawara, S.: Analysis of tobacco headspace volatiles using tenax GC or active carbon. *Agric. Biol. Chem.* **48**, 3121–3128 (1984).
7. Parrish, M. E., Good, B. W., Jeltema, M. A. and Hsu, F. S.: Pattern recognition and capillary gas chromatography in the analysis of the organic gas phase of cigarette smoke. *Anal. Chim. Acta* **150**, 163–170 (1983).
8. Sakaki, T., Fukubara, K., Niino, K., Sakuma, H. and Sugawara, S.: Changes in the composition of headspace volatiles of flue-cured tobacco by aging. *Agric. Biol. Chem.* **49**, 1785–1791 (1985).
9. Sakaki, T., Kusama, M., Niino, K., Sakuma, H. and Sugawara, S.: Classification of tobaccos with analytical data of nitrogen containing compounds in their headspace volatiles. *Agric. Biol. Chem.* **49**, 1321–1326 (1985).
10. Grob, K.: Organic substances in potable water and its precursors. Part I. Methods for their determination by gas-liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **84**, 255 (1973).
11. Heinzer, F., Maître, H. P., Rigaux, M. and Wild, J.: Pattern recognition of GC-profiles of tobacco headspace – a potential new analytical tool to classify raw tobaccos. *Beitr. Tabakforsch. Int.* (1987, en préparation).

F. Heinzer, Dr. sc. nat. ETH  
Dépt. recherche et analyses  
F. J. Burrus SA  
Route de France, 17  
CH-2926 Boncourt