

## GC-MS、NDI、官能評価による 煙草のにおい成分分析

中川 裕貴<sup>1</sup>、佐藤 渉<sup>1</sup>



### ■ 要旨

ガスクロマトグラフ質量分析計GCMS-TQ™8040 NXと卓上X線CT装置システムXseeker™ 8000と官能評価を用いて市販紙巻煙草のにおいを統合解析しました(図1、2)。官能評価は時間とコストがかかるうえに主観的な要素が含まれており、結果が環境や状況に影響されます。そのため、客観的な評価方法を確立することが求められています。紙巻煙草の刻み葉の充填度とにおいは密接に関連しており、統合解析によりこれらの要素の関連性を解明することで紙巻煙草の品質向上や新たな製造方法の開発につながります。

### ■ はじめに

煙草の葉には、甘い香りを持つバージニア種、ナッツやココアの香りを持つパーレー種、スパイシーで香り高いオリエンタル種など様々な種類が存在します。同じ種でも、収穫後の乾燥の方法や時間、発酵時の温度や湿度などによって香りは異なることが知られています。また土壌の成分や気候条件によって煙草の葉の栄養価や風味が変わることがあるため地域によっても煙草の葉の組成や化学特性が異なります。

葉の天然の香りに加えて、煙草銘柄によっては味・香りを整えたり煙草特有の気になるにおい成分を抑えるために香料が添加されているものもあります。またフィルター部分に搭載されたマイクロカプセルをつぶすことで、香りの変化を楽しめる製品も販売されています。

これらの葉、香料、マイクロカプセルなどにおいては高温で加熱されると化学反応を起こし、におい成分が変化します。煙草の燃焼温度は800℃前後とされ、におい成分の酸化、熱分解、蒸留を起こします。着火後の煙草の主なにおい成分は低級脂肪酸、シアン化水素、フェノール、ナフタレンなどの揮発性有機化合物で、これらの成分の組成が煙草の味やにおいを形成します。また着火後のにおいは経時変化することが知られており、着火直後のフラットなおいの後、時間とともに少し甘く感じ、最後の数分は酸化された煙のにおいが強く苦い香りになります。また、紙巻煙草の刻み葉の詰まり具合もにおいと関連しています。刻み葉が詰まりすぎると、煙草のにおいが強くなり、刺激的な香りがすることがあります。一方、刻み葉が緩く詰まっていると、煙草のにおいが薄くなり、あまり香りを感じないことがあります。



図1 GCMS-TQ™8040 NX (左) と煙草の葉試料 (右)

<sup>1</sup> 株式会社島津製作所 分析計測事業部 Solutions COE

本アプリケーションでは、3つの異なる銘柄の紙巻煙草の葉のにおいを固相マイクロ抽出（SPME）を用いてガスクロマトグラフ質量分析計GCMS-TQ8040 NXにより分析し、統計ソフトウェアであるマルチオミクス解析パッケージにより主成分分析を用いてそれぞれの銘柄に特徴的なにおい成分を特定しました。また各銘柄の着火後のにおいの経時変化も同システムで分析し、経時変化を可視化し相関分析やボルケーノプロット解析を行いました。さらに刻み葉の充填度とにおいの関連性を確認するためにXSeeker 8000により刻み葉の充填度を測定し、GC-MS測定データと統合解析を行いました（図2）。

3種の異なる銘柄の主成分分析、X線CTシステムによる充填度測定結果を含めたにおい成分分析、3種の異なる銘柄の官能評価を絡めた成分分析、におい成分の経時変化分析などを行った結果を報告します。



図2 Xseeker™ 8000

## 測定方法

市販の3つの異なる煙草銘柄の紙巻煙草を用意し、巻紙をほどき、中に含まれる葉を固相マイクロ抽出用バイアルに500 mg（各銘柄の紙巻煙草3本 n=3）秤量しました。また着火後の経時変化分析用のガス試料は、図3の通り50 mLガスタイトシリンジを煙草にフィルター側から刺し、着火後1分おきに30 mL回収し、10 mLを固相マイクロ抽出用バイアルに封入しました。

Smart Aroma Database™と異臭分析データベースは同じカラムで同じ装置システムを用いて分析でき、保持指標や最適化されたMRMトランジションだけでなく、においの特徴（例：甘い、ナッツ臭など）も記載されています。

### 1) 着火



ガスタイトシリンジをフィルター側から2 cmの深さまで刺しました。毎回同じ深さで回収できるようにガスタイトシリンジの針に2 cmを示すマークをペンで書き目印にしました。

### 2) 吸引



ストップウォッチで時間を図りながら1分毎にプランジャーを引きました。約20-30秒で30 mLを回収しました。

### 3) 封入

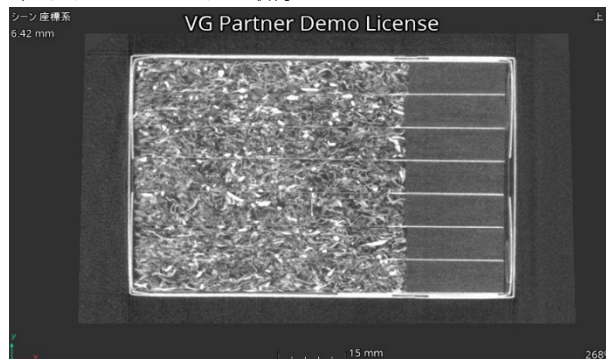


回収された30 mLのうち10 mLはSmart Aroma Database用、もう10 mLは異臭分析データベース用に用意した別々の2つのバイアルに封入しました。

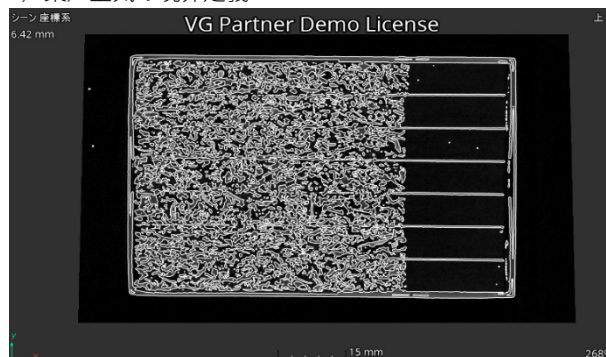
図3 ガス試料採取手順

X線CTシステムによる充填度解析については、CT撮影によってポリウムデータを取得し（4-1）、グレースケール値を閾値で仕分けすることで（4-2）、葉（巻紙を含む）と空気を分離しました（図4）。領域を作成するため煙草の葉部を円筒形状（Φ4.6 mm×60 mm）で囲みました（4-3）。このとき、先端から10 mmの間隔で6区画に小分けします（4-4）。その後、各領域における“葉”の画素数を数えることで各領域（Φ4.6×10 mm）の体積%を算出しました。

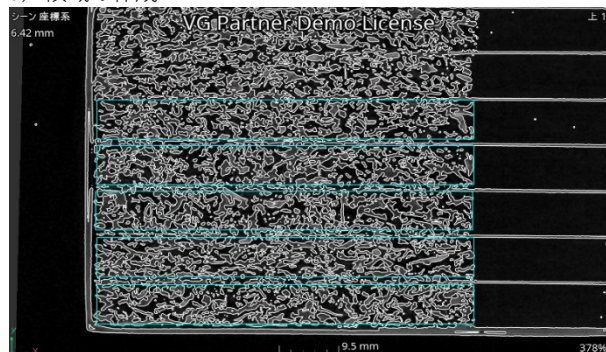
### 1) ポリウムデータの取得



### 2) 葉/空気の境界定義



### 3) 領域の作成



### 4) 充填率の解析

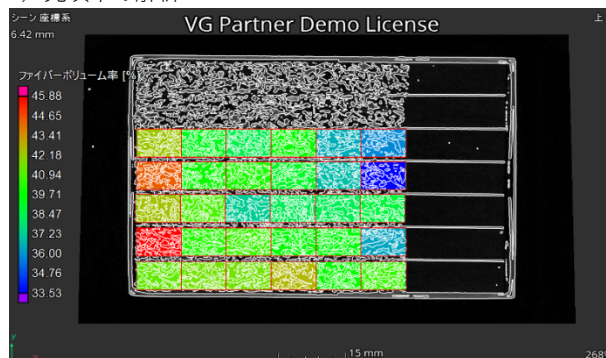


図4 ポリウムデータにおける充填度解析手順



### ■ 煙草の葉による各銘柄の特徴成分分析

Smart Aroma Databaseにより検出された206成分と異臭分析データベースにより検出された89成分を統合し正規化後、マルチオミクス解析パッケージにより主成分分析を行いました。累積寄与率は67.8%と良好で、それぞれの銘柄がクラスターを形成しました(図5)。

図5のローディングプロットに示す通り、各銘柄の特徴的な成分がPC1とPC2の各方向に分布しており、PC1の右では5-methylfurfuralやgeraniolのような甘い成分が多く検出されたことから緑色で示す試料群を「煙草銘柄A(甘い煙草)」としました。同様にPC1の左については、ナッツ臭の2-methylpyrazineやカレー臭のp-vinylguaiacolなどがPC2の上部分で検出されたことから青色で示す試料群を「煙草銘柄B(辛い煙草)」としました。赤色で示した試料群はプラスチック臭のm-xyleneなどが多く「煙草銘柄C(標準煙草)」としました。

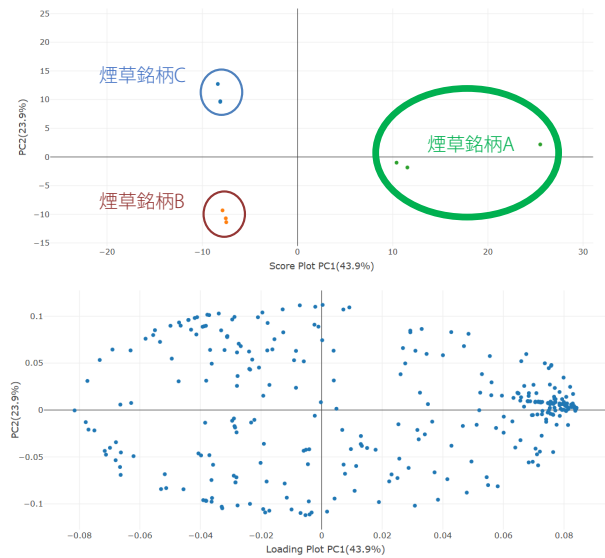


図5 紙巻煙草の葉の主成分分析

また主成分分析で目視で確認したクラスター分離を階級クラスタ解析のデンドログラムで確認しました(図6)。各銘柄がクラスターにまとめられた様子を樹形図で示すだけでなく、ヒートマップで化合物検出濃度を相対比較することで各銘柄に特徴的な成分を検出することができました。

ヒートマップにより検出された各銘柄に特徴的な成分の例を右図7に示します。Furfuralは糖から生成される成分で甘い香りを持つことで知られ、煙草銘柄Aで高濃度で検出されました。また4-ethyl-2-methoxyphenolはスパイスのような香りを持ちますが煙草銘柄Bで高濃度で検出されました。

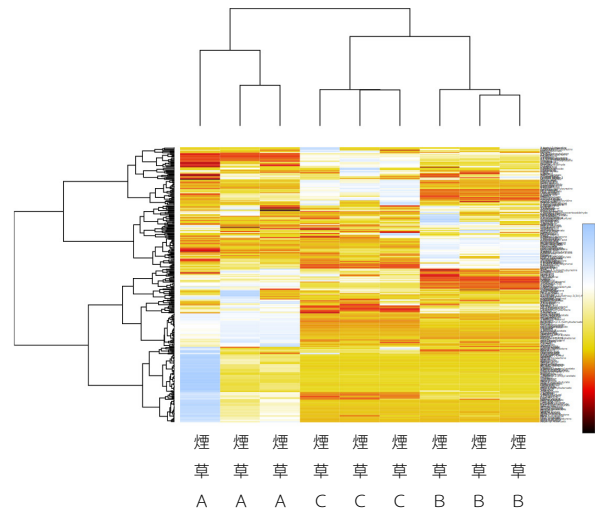
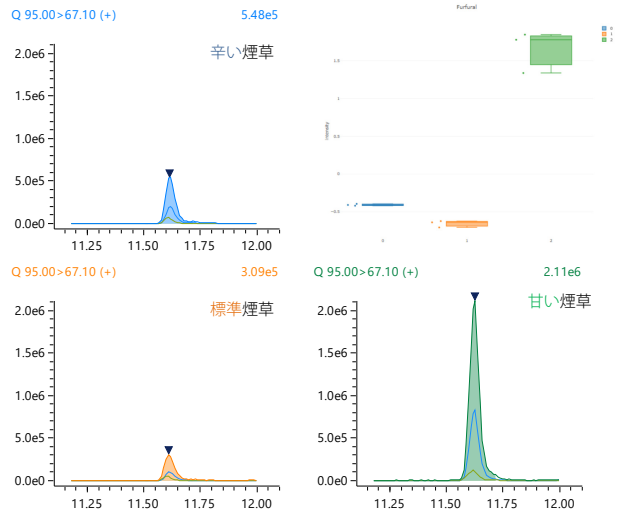


図6 紙巻煙草の葉の階級クラスタ解析

### 甘い香り成分 Furfural



### スパイスのような香り成分

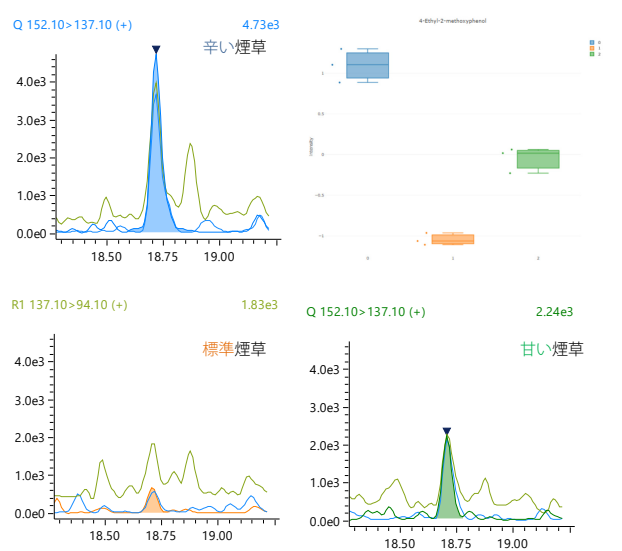


図7 各銘柄に特徴的な成分の例

### ■ ボルケーノプロットによる経時変化解析

甘い煙草を着火し、着火後2分以内に検出された成分濃度と吸い終わる最後2分に検出された成分濃度をボルケーノプロットにより比較しました(図8)。最初2分で特異的に高濃度で検出された化合物はプロットの左上に緑色で示され、最後2分で特異的に検出された化合物はプロットの右上に赤色で示されています。

最初に特異的に検出された成分はフルーツ臭のlimoneneや芝生臭の2-ethylpyridineなど甘い香り成分でした。一方、最後2分に検出された成分は煮た野菜臭であるbenzyl acetateや焦げ臭である2,6-dimethoxyphenolが検出されました。

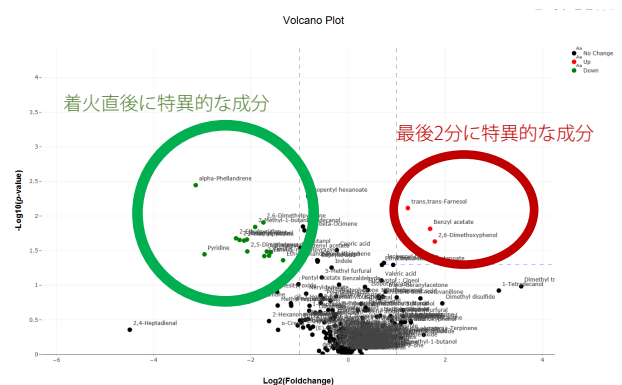


図8 着火直後2分と最後の2分のボルケーノプロット解析

### ■ X線CTシステムとGC-MSの統合解析

XSeeker 8000により得られた刻み葉の充填度を図9のように可視化しました。下から煙草1、2、3、4、5と仮称すると、2と4、3と5はそれぞれ充填度分布が類似していることから、GC-MSとSmart Aroma Databaseと異臭分析データベースにより煙草1、2、3を測定しました。

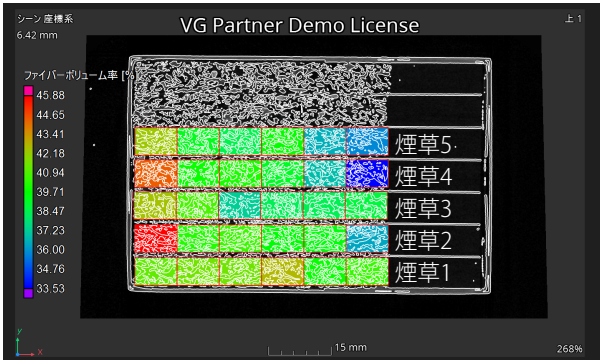


図9 紙巻煙草のサンプル名と位置

煙草1、2、3をそれぞれ着火し、先端から等間隔で煙を先端部分からガスタイトシリンジで採取しました。XSeeker 8000により充填度が高いとされた部分（煙草1の41-50 mm、煙草2の1-10 mm、煙草3の1-10 mm）と残りの部分をボルケーノプロットで2群比較しました。プロットの左上（緑枠）が充填度が低い領域で多い化合物です（図10）。

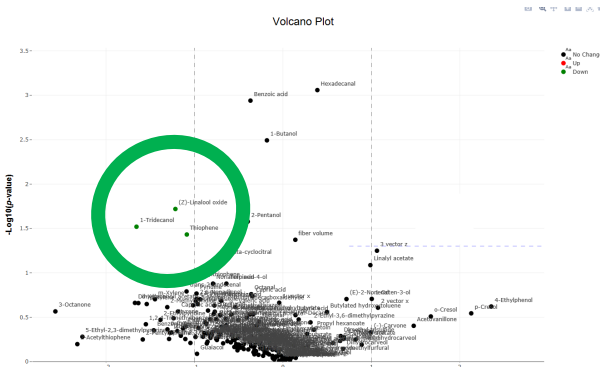


図10 紙巻煙草1~3の充填度が高い部分と低い部分の比較

また煙草2について充填度が高い先端部分1-10 mmの部分が統計的に他部分と異なるのか主成分分析（PCA）で可視化しました（図11）。その結果、累積寄与率6割ほどの良好な結果でクラスターが形成されることが分かりました。充填度が高い部分と低い部分を各成分でボックスプロットで可視化すると焦げ臭成分（例：2-cyclohexen-1-one）などが充填度の高い領域で高濃度で検出されることが分かりました（図12）。

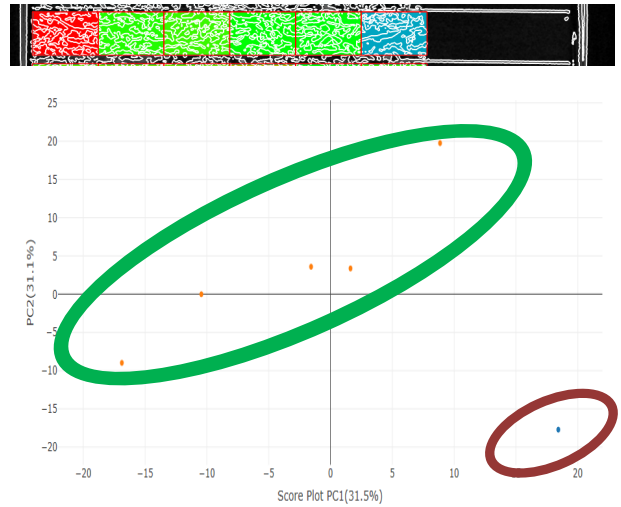


図11 紙巻煙草2の充填度が高い部分と低い部分の比較

焦げ臭成分（2-cyclohexen-1-one）

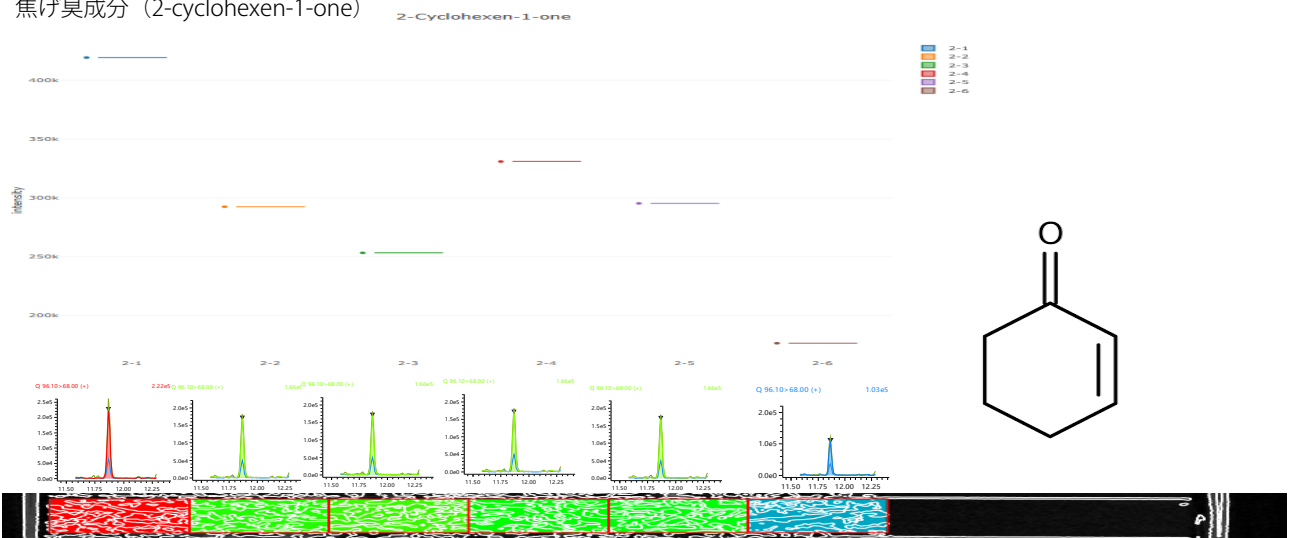


図12 紙巻煙草2の充填度と着火後のにおい成分強度の関係（焦げ臭成分 2-Cyclohexen-1-one）

さらに煙草3も同様に解析すると先端部分1-10 mmの充填度が高い領域で無臭成分hexadecanalが高く検出されました。hexadecanalは無臭でありながら、人が嗅ぐと気分に変化をもたらす化学物質として知られています。

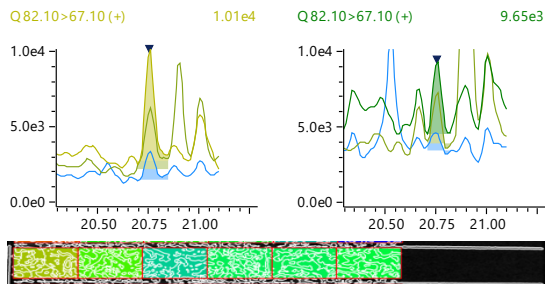


図13 紙巻煙草3の充填度とにおい成分の関連性

しかし、このように各煙草と各におい成分をひとつずつ比較していくことは煩雑な作業となります。そこで下図14のように縦軸をGC-MSにより測定されたにおい成分、横軸をX線CTシステムにより測定された充填度として、各煙草についてヒートマップを描くことで充填度と検出された約300のにおい成分を一斉に解析しました。下図では煙草2を横軸にして解析しています。充填度の高い先端部分1-10 mm領域でのみ高濃度で検出されたにおい成分が多数あることが分かります。一方で充填度の低い先端から最も離れた部分51-60 mm領域でそれらの成分が低く検出されていることからこれらの成分は充填度と相関関係が高いと推測されます。また充填度が中程度である11-50 mmの領域でのみ高く検出される化合物群があることも分かりました。これらをさらに苦味成分・甘味成分・渋味成分など詳細に解析していくことで、紙巻煙草の品質向上や新たな製造方法の開発につながります。

ヒートマップの場合は各煙草を1本ずつ解析しましたが、マルチオミクス解析パッケージの白地図機能を用いることで下図15のように複数の煙草を一斉に棒グラフ化して、相関解析機能によりにおい成分との相関関係を数秒で自動的に色分け（正の相関関係が高いと赤色、負の相関関係が高いと青色、相関関係がないと薄い色）することが可能です。

赤色は煙草1、緑色は煙草2、青色は煙草3としてFiber volume値（充填度）を白地図に読み込みました。充填度とGC-MSの面積値のばらつき度合いを絶対値で比較するとばらつき幅が異なるため、充填度と各化合物の面積値は正規化したものを白地図に読み込みました。その結果、acetovanilloneなどが正の相関関係が強く、ethyl stearateなどが負の相関関係が強いことが分かりました。

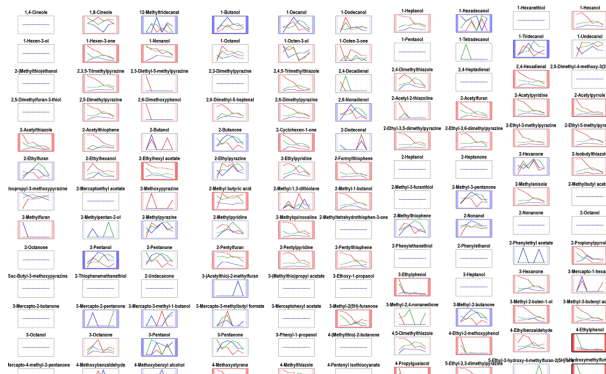


図15 紙巻煙草1～3の充填度とにおい成分の関連性

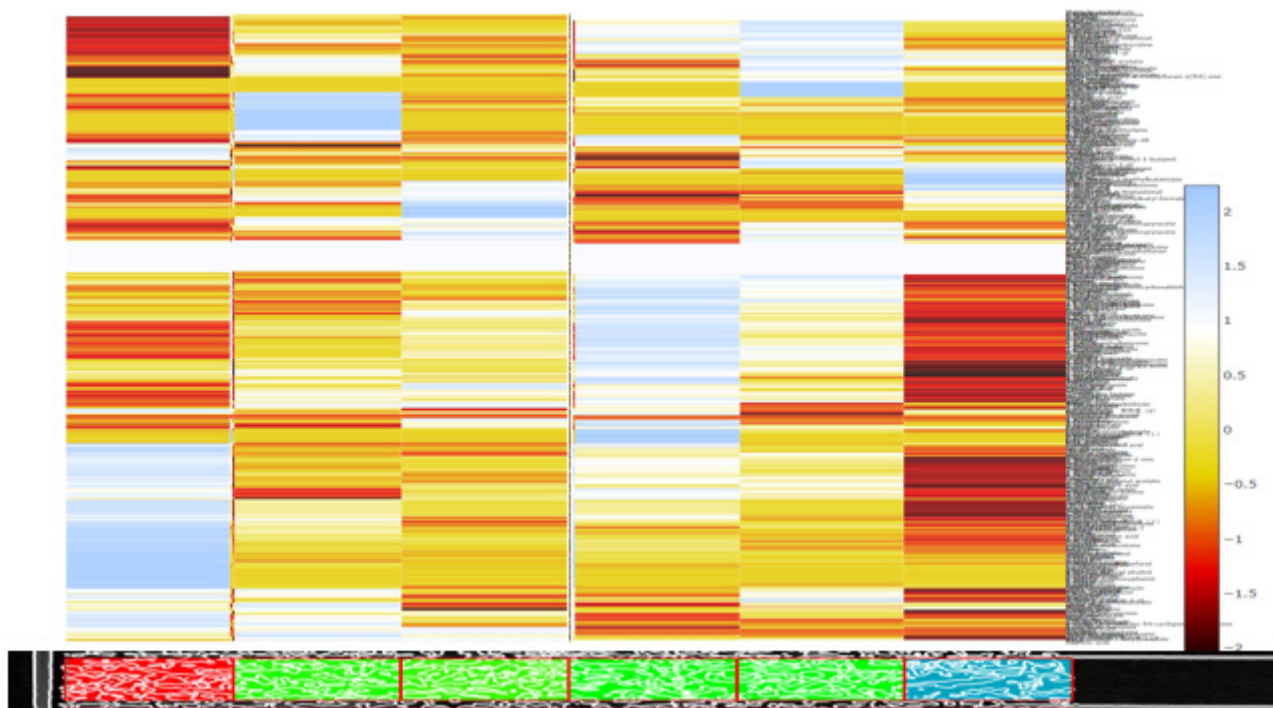


図14 紙巻煙草2の充填度とにおい成分の関連性

### ■官能評価と各成分の相関分析

それぞれの煙草銘柄の葉に関して、年齢や性別の異なる3名により「強さ」、「甘味」、「苦味」、「酸味」の4項目で官能評価を行いました。各項目を3段階（無し、若干あり、有り）で評価し、3名の平均値を表にしました（表1）。官能評価では辛い煙草でも甘味が感じられ2.7と高い値で評価されています。標準煙草は全体的なおおいの強さが最も低く2.3と評価され、甘味も最も低く2.3と評価されています。甘い煙草では甘味が3.0で高い一方で苦味が1.0と低くなっています。

マルチオミクス解析パッケージに各成分の相対定量結果と各銘柄の官能評価結果を棒グラフで可視化しました（図16）。赤色の棒グラフは辛い煙草、青色は標準煙草、緑色は甘い煙草としました。可視化されたデータはマルチオミクス解析パッケージに搭載されている相対分析機能（特定の成分や官能評価と相関関係が高いものを自動で色分けする機能）により解析されました。

図16では「酸味」を基準官能評価として、相関関係の高いおおい成分を自動で色分けしました。棒グラフの背景色が赤色の成分は正の相関関係が高く、背景色が青色の成分は負の相関関係が高いと判断されています。

表1 紙巻煙草の葉の官能評価（3名の平均値）

	強さ	甘味	苦味	酸味
辛い煙草	2.7	2.7	1.7	1.3
標準煙草	2.3	2.3	2.0	2.0
甘い煙草	3.0	3.0	1.0	1.3

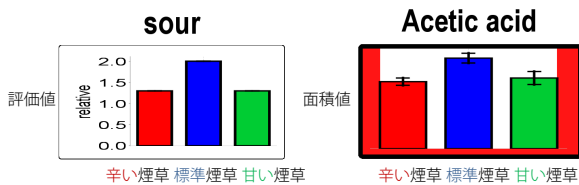


図16 官能評価「酸味」とにおい成分acetic acid

相関関係の色分けは相関関係の強さによりグラデーションで色分けがされており、ピンクは弱い正の相関関係があることを示し、薄い青色は弱い負の相関関係があることを示します。

「酸味」を基準にした場合、acetic acidが強い正の相関関係があることが示されました（図17）。また散布図に「酸味」とacetic acidの相関関係を示すとR=0.92という強い相関関係が示されました（図18）。

同様に「強み」、「甘味」、「苦味」についても相関分析を行い、それぞれ5-methyl furfural、cyclotene、2,3-trimethylpyrazineなどと相関関係が強いことがわかりました。

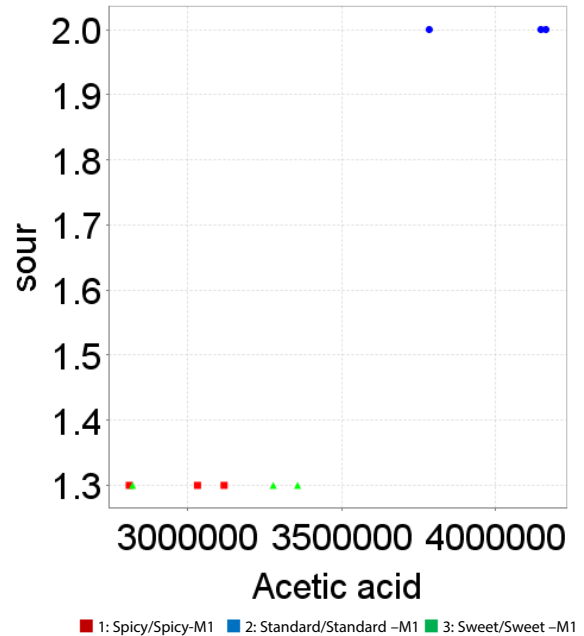


図18 官能評価「酸味」とにおい成分acetic acidの相関関係

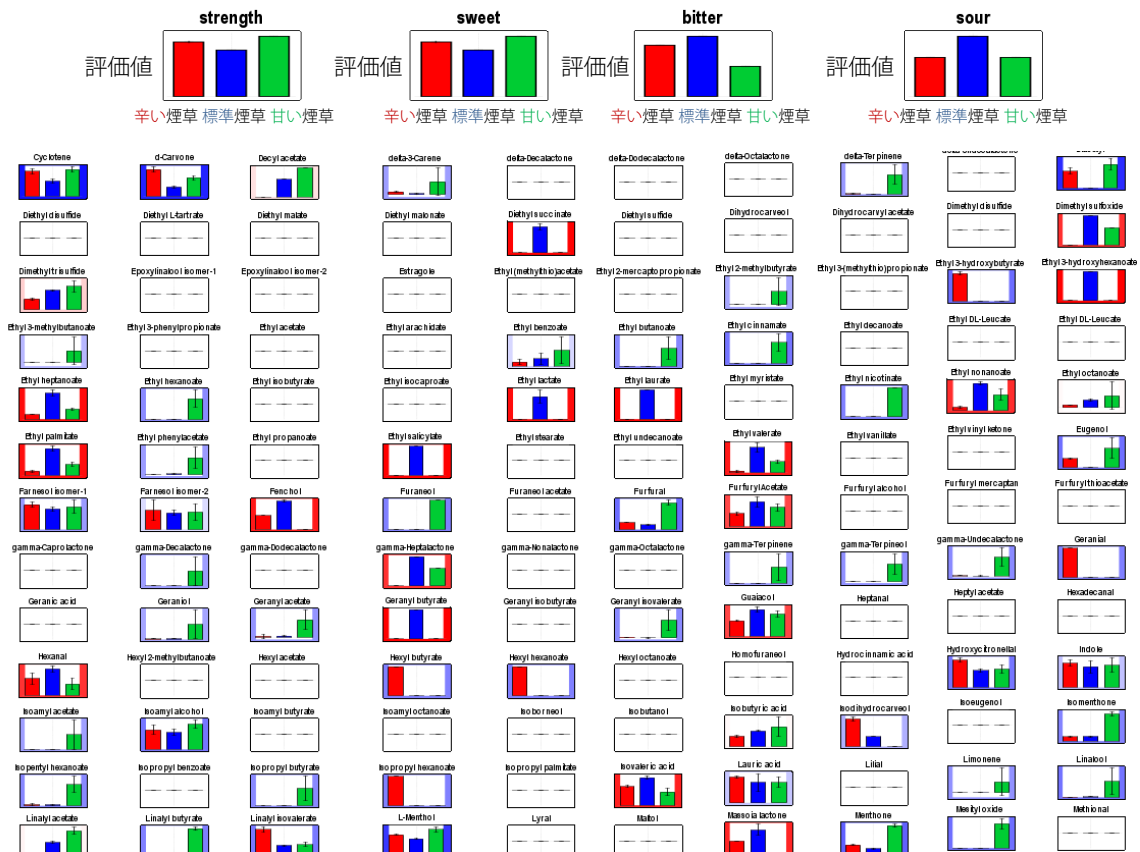


図17 紙巻煙草の葉の官能評価（3名の平均値）と各におい成分の相対定量の可視化



### ■着火後の一呼吸ごとのにおい成分経時変化

ガス試料測定データも前項と同様にマルチオミクス解析パッケージで可視化しました。横軸は着火後の喫煙呼吸を示し、縦軸は成分の面積値を示します。赤色の線グラフは辛い煙草、青色は標準煙草、緑色は甘い煙草としました。上昇傾向がある成分は背景色が赤色で、減少傾向がある成分は背景色が青色にするようにソフトウェアの相関分析機能により自動で色分けしました（図19）。

有機硫黄化合物であるdimethyl trisulfideの濃度が一呼吸ごとに上昇することが分かりました（図20）。Dimethyl trisulfideは腐ったキャベツのような悪臭成分として知られており、着火後時間経過とともに一呼吸ごとの濃度が上昇することは消費者にとって好ましいことではないと推測されます。同様に上昇した成分としてチーズ臭や汗臭のような刺激臭成分であるvaleric acidやガソリンのような不快臭であるthiopheneなどが検出されました。

着火後減少した成分としてリンゴ臭のethyl hexanoateや甘いフルーツ臭の1-butanolなどがあり、甘い匂い成分が時間経過とともに減少することが分かりました。

### ■まとめ

本報では3つの異なる紙巻煙草の刻み葉と着火後のガス試料をガスクロマトグラフ質量分析計（GCMS-TQ8040 NX）と卓上X線CT装置システムXSeeker 8000と官能評価を用いて多角的に評価しました。X線CTシステムによる充填度測定値とGC-MSにより検出された295成分と官能評価値をマルチオミクス解析パッケージにより主成分分析、階級クラスタ解析、ボルケーノプロット解析、相関分析などで統合解析し各銘柄や充填度で特徴的なにおい成分を検出することができました。3種の異なる銘柄の主成分分析、X線CTシステムによる充填度測定結果を含めたにおい成分分析、3種の異なる銘柄の官能評価を絡めた成分分析、におい成分の経時変化分析などを行い、製品を統合的に評価できました。

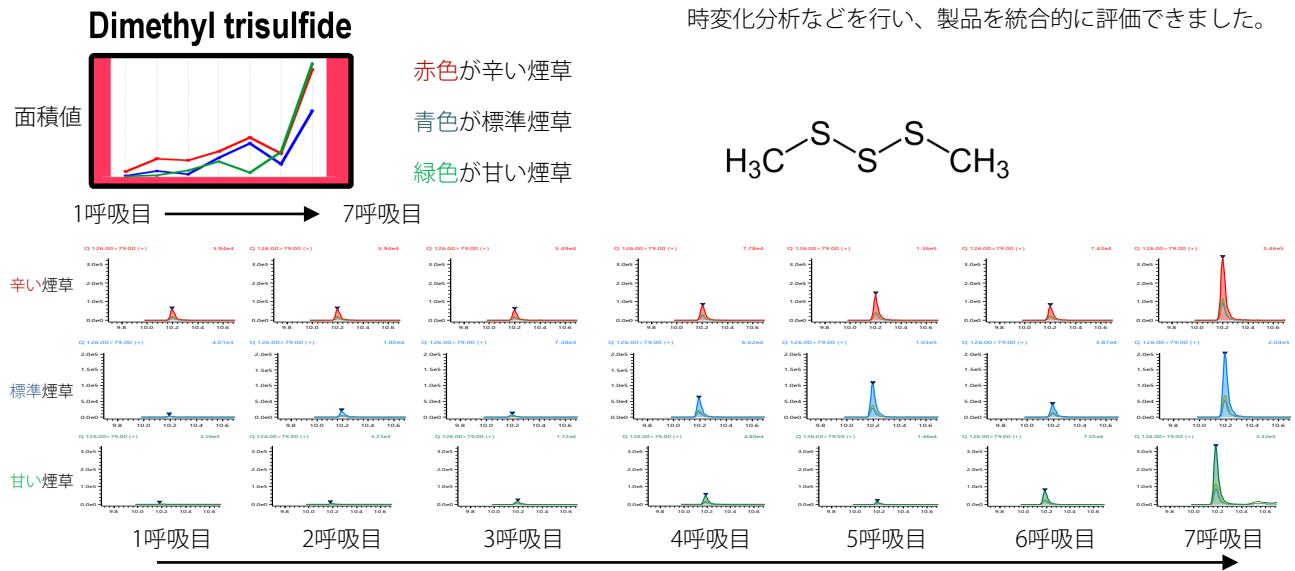


図19 紙巻煙草着火後における一呼吸ごとのdimethyl trisulfideの濃度変化

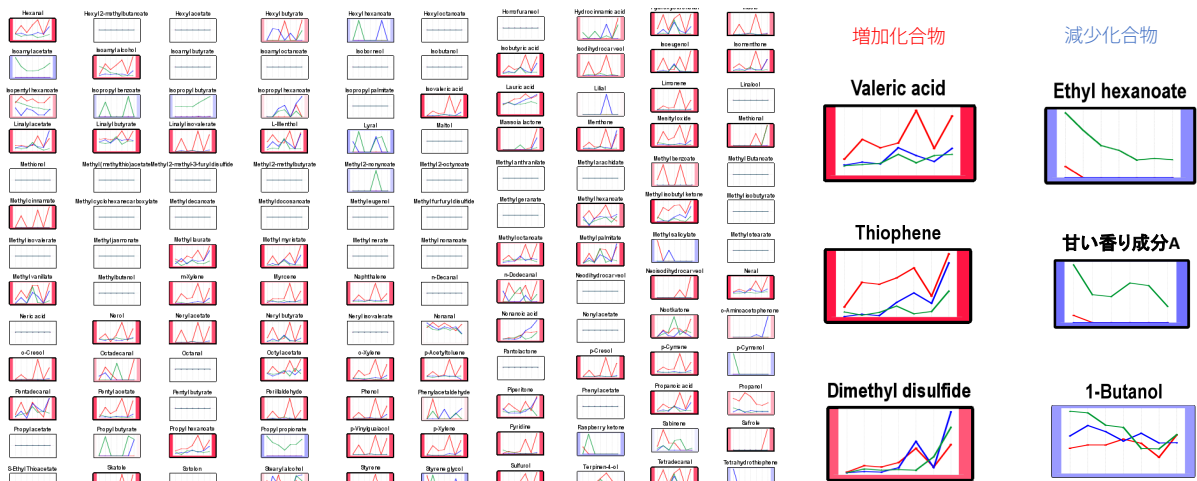


図20 紙巻煙草着火後からの一吸引ごとの濃度変化

GCMS-TQとXSeekerとSmart Aroma Databaseは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

**株式会社 島津製作所** 分析計測事業部 <https://www.an.shimadzu.co.jp/>

初版発行：2023年11月

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。本文中に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していません。

本資料の掲載情報に関する著作権は当社または原著者に帰属しており、権利者の事前の書面による許可なく、本資料を複製、転用、改ざん、販売等することはできません。掲載情報については十分検討を行っていますが、当社はその正確性や完全性を保証するものではありません。また、本資料の使用により生じたいかなる損害に対しても当社は一切責任を負いません。