

## 第31回クロマトグラフィー科学会議

P-17

渡部 悦幸、堀江 真之介、早川 禎宏、周 毅婷、岩田 奈津紀 島津製作所 分析計測事業部



## 1. 緒言

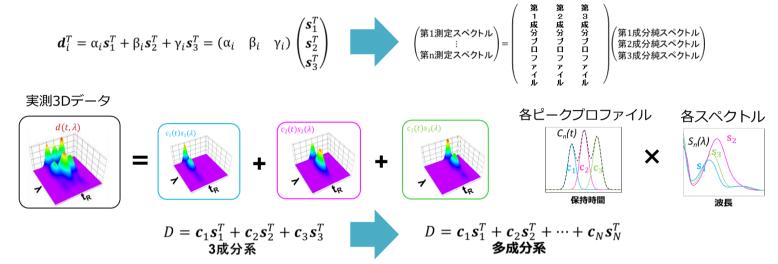
ケモメトリクスのMCR-ALS(Multivariate Curve Resolution Alternating Least Squares)法とEM(Expectation–Maximization)法をフォトダイオードアレイ(PDA)検出器データに適用し、未分離のピークから目的ピークを抽出するデータ解析手法i-PDeA II(Intelligent Peak Deconvolution Analysis II)を開発した。

本発表では、i-PDeA IIによるピーク分離の原理と、三成分系の異性体試料への適用例、ならびにスペクトル同定と定量の性能評価、実試料を用いた応用例について報告する。



## 2. 計算原理

### 3成分理想系の3Dデータは3つのピークプロファイルとスペクトルのベクトル積で表せる



多成分系に拡張

各ベクトルを要素とする行列で表現すると

$$D = CS^T$$

D: 3D実データ, C: 実ピークプロファイル, ST: 実スペクトル

推定による3Dデータの表現

↓

必ず誤差(実データとの差異) を伴う

$$D = C_E S_E^T + E$$

 $C_E$ : 推定ピークプロファイル,  $S_E^T$ : 推定スペクトル, E: 誤差

MCR-ALS 法と EMを用いて実測データと推定モデルの誤差の二乗を最小化するピークプロファイルとスペクトルの組み合わせを探す。最初に $f_k$ をモデルで固定して $S^T$ をモデルをベースに走査して $E^T$ を最小化する $E^T$ を見つける。次にその $E^T$ を固定して $E^T$ を走査する。これを $E^T$ が収束するまで繰り返す。

$$E^2 = \left(D - \Sigma f_k S_k^T\right)^2$$

 $\mathbf{S}_{k}^{\mathbf{T}}$ : 各成分のスペクトルモデル (PDAデータの溶出初期または終期の実測スペクトル)

 $f_k = bemg(t,a,b)$   $\leftarrow$  数学的なピークプロファイルの候補モデル (ピークのテーリングとリーディングの双方を考慮)

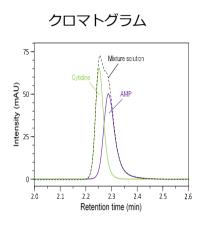
$$emg(t,b) = \int_0^\infty e^{-bx} * e^{-(t-x)^2} dx$$
 修正ガウス関数(指数関数による一方向畳み込み、テーリング対応)  $f(k) = bemg(t,a,b) = \int_{-\infty}^0 e^{ax} * emg(t-x,b) dx$ 

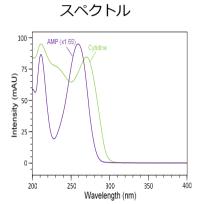


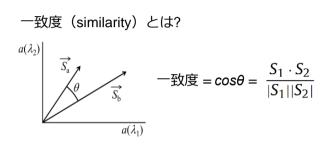
# 3. 実験と結果(1)

#### 2-成分系

CytidineとAdenosine monophosphate(AMP)のデコンボリューション



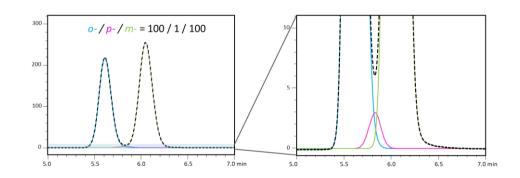




Component	Indiv	idual	Mixture (Deco	<b>5</b>	O'maille aite a	
	Area(µAU∙s)	%RSD (n=6)	Area(µAU∙s)	%RSD (n=6)	Error %	Similarity
Cytidine	154,514	0.14%	154,934	2.46%	0.27%	1.0000
AMP	171,643	0.22%	168,590	2.79%	-1.78%	0.9995

#### 3-成分系で存在比が大きく異なる場合

o-, m-, p-methylacetophenone(MAP) のデコンボリューション(存在比 100/100/1)

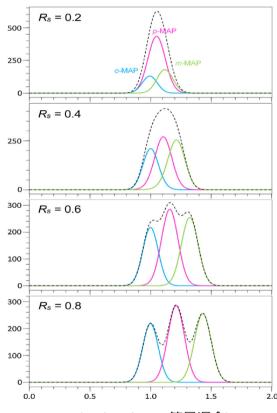


	Area (μΑ	<b>U∙</b> s)		
Component	Individual	Mixture	Error %	Similarity
o-MAP	2,090,806	2,080,405	-0.50%	1.0000
<i>p</i> -MAP	27,666	26,639	-3.71%	0.9996
<i>m</i> -MAP	2,658,837	2,656,836	-0.08%	1.0000



# 3. 実験と結果(2)

ピーク分離度とデコンボリューション正確さの関係 o-, m-, p-MAP のデコンボリューション (Rs: 0.2-0.8)



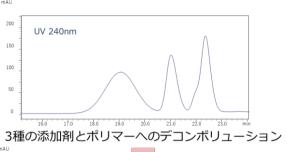
(o-/m-/p-: 等量混合)

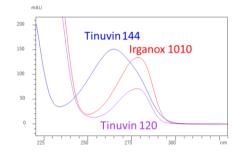
Resolution		o-MAP	m-MAP	p-MAP
	Individual	2.091	2.937	2.658
0.2	Area	1.204	4.698	1.784
0.2	Error	-42.41 %	+59.98 %	-32.90 %
0.4	Area	2.046	2.900	2.740
0.4	Error	-2.16 %	-1.23%	+3.06%
0.6	Area	2.083	2.950	2.652
0.6	Error	-0.36 %	+0.46 %	-0.23 %
0.8	Area	2.091	2.936	2.658
	Error	0.00 %	0.00 %	0.00 %



# 3. 実験と結果(3)

#### 合成ポリマーと添加剤のGPC同時分析



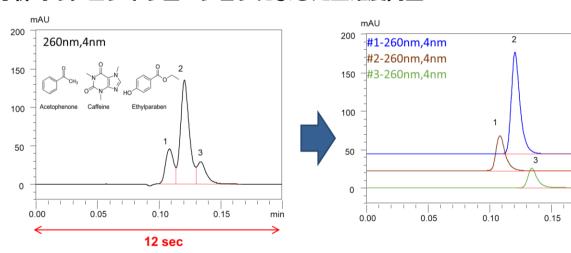


スペクトルのデコンボリューション

<b>ン</b> 作	
mAU	
250	
200	
150	ポリスチレン
100	Tinuvin 144
50	Irganox 1010
0	Tinuvin 120
	16.0 17.0 18.0 19.0 20.0 21.0 22.0 23.0 min

Additive	Irganox 1010	Tinuvin 144	Tinuvin 120
Linearity of calibration curve (r²)	0.999	0.995	0.998
Determined content (mg/g)	49.2	23.1	27.4
%RSD	1.28	1.93	1.47

#### 超高速分析時のデコンボリューションによる定量確度向上



Component	<b>t</b> <sub>R</sub>	Individual	Deconvo	lution	Vertical cut	
		Area	Area	Error	Area	Error
1.Caffeine	0.109	24680	24812	+0.5%	20486	-12.8%
2.Ethylparaben	0.121	65368	66111	+1.1%	66812	+2.9%
3.Acetophenone	0.134	13679	13912	+1.7%	15010	+13.1%



## 4. 結言

- 1. MCR-ASM法をPDAデータに適用してクロマトグラムとスペクトルのデコンボリューションを行うアルゴリズムi-PDeA II を開発した
- 2. 未分離ピークの正確かつ信頼性の高い迅速定量分析が任意の波長で可能となった
- 3. 同一分子量の構造異性分離にも適用できるため、同一m/zを示す成分間のMS検出における代替検出法となり得ることを確認した
- 4. ピーク同様、各成分のUVスペクトルに関しても信頼性の高いデコンボリューションが可能となった

# 参考文献

S. Arase et.al, J. Chromatgr A 1469(2016) 35



First Edition: May, 2021

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedure.

This publication may contain references to products that are not available in your country. Please contact us to check the availability of these products in your country.

The content of this publication shall not be reproduced, altered or sold for any commercial purpose without the written approval of Shimadzu. Company names, product/service names and logos used in this publication are trademarks and trade names of Shimadzu Corporation or its affiliates, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "@". Third-party trademarks and trade names may be used in this publication to refer to either the entities or their products/services. Shimadzu disclaims any proprietary interest in trademarks and trade names other than its own.

The information contained herein is provided to you "as is" without warranty of any kind including without limitation warranties as to its accuracy or completeness. Shimadzu does not assume any responsibility or lability for any damage, whether direct or indirect, relating to the use of this publication. This publication is based upon the information available to Shimadzu on or before the date of publication, and subject to change without notice.