

フォトダイオードアレイ検出器を用いた インテリジェントピークデコンボリューション

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

フォトダイオードアレイ検出器を用いた インテリジェントピークデコンボリューション

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。

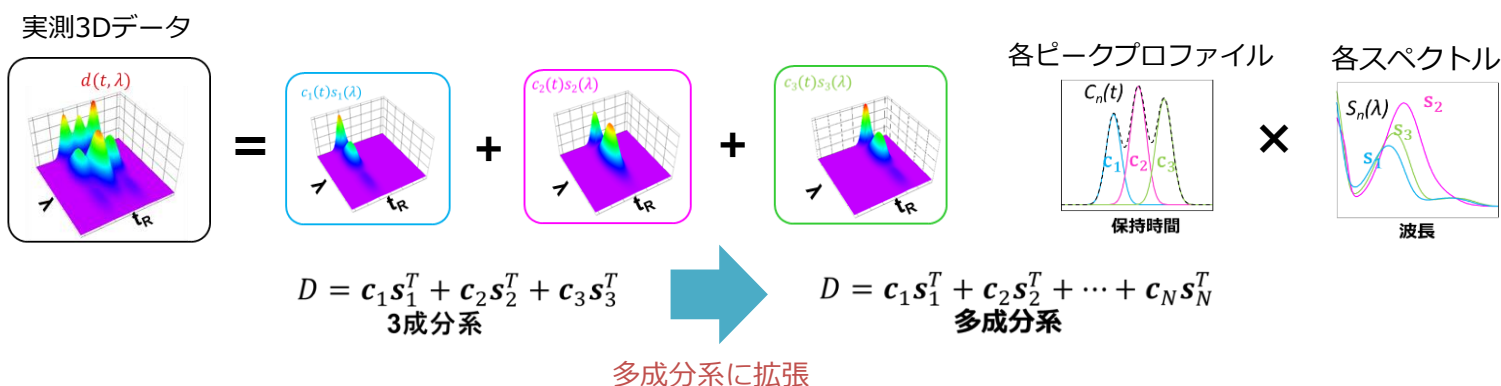
本発表では、i-PDeA IIによるピーク分離の原理と、三成分系の異性体試料への適用例、ならびにスペクトル同定と定量の性能評価、実試料を用いた応用例について報告する。

フォトダイオードアレイ検出器を用いた インテリジェントピークデコンボリューション

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

$$d_i^T = \alpha_i s_1^T + \beta_i s_2^T + \gamma_i s_3^T = (\alpha_i \quad \beta_i \quad \gamma_i) \begin{pmatrix} s_1^T \\ s_2^T \\ s_3^T \end{pmatrix} \rightarrow \begin{pmatrix} \text{第1測定スペクトル} \\ \vdots \\ \text{第n測定スペクトル} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \text{第1成分プロファイル} \\ \text{第2成分プロファイル} \\ \text{第3成分プロファイル} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \text{第1成分純スペクトル} \\ \text{第2成分純スペクトル} \\ \text{第3成分純スペクトル} \end{pmatrix}$$



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, S^T: 実スペクトル

推定による3Dデータの表現

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

必ず誤差(実データとの差異)を伴う

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E²を最小化するS^Tを見つける。次にそのS^Tを固定してf_kを走査する。これをE²が収束するまで繰り返す。

$$E^2 = (D - \sum f_k S_k^T)^2$$

S_k^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) ← 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) = ∫₀[∞] 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)

$$f(k) = bemg(t, a, b) = \int_{-\infty}^0 e^{ax} * emg(t - x, b) dx$$

モデルとなる修正ガウス関数(指数関数による双方向畳み込み、リーディング対応を追加)

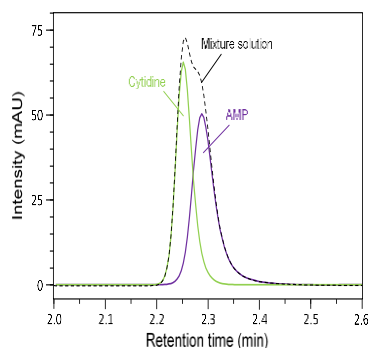
フォトダイオードアレイ検出器を用いた インテリジェントピークデコンボリューション

3. 実験と結果(1)

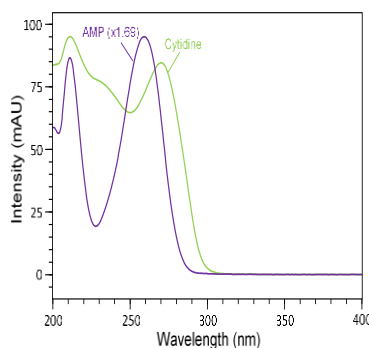
2-成分系

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

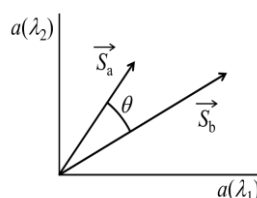
クロマトグラム



スペクトル



一致度 (similarity) とは?

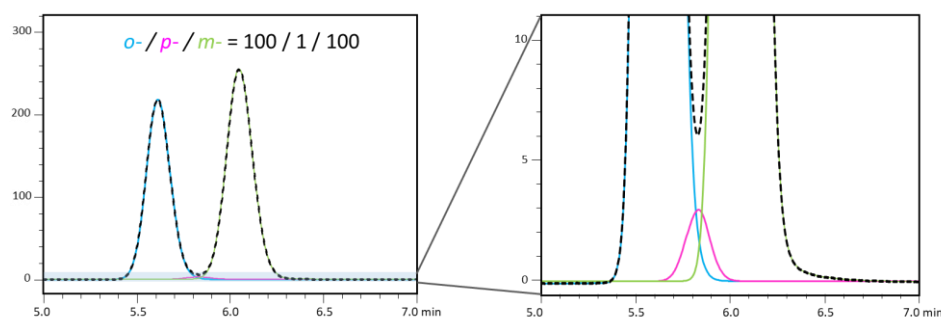


$$\text{一致度} = \cos\theta = \frac{S_1 \cdot S_2}{|S_1||S_2|}$$

Component	Individual		Mixture (Deconvolution)		Error %	Similarity
	Area(μAU·s)	%RSD (n=6)	Area(μAU·s)	%RSD (n=6)		
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)



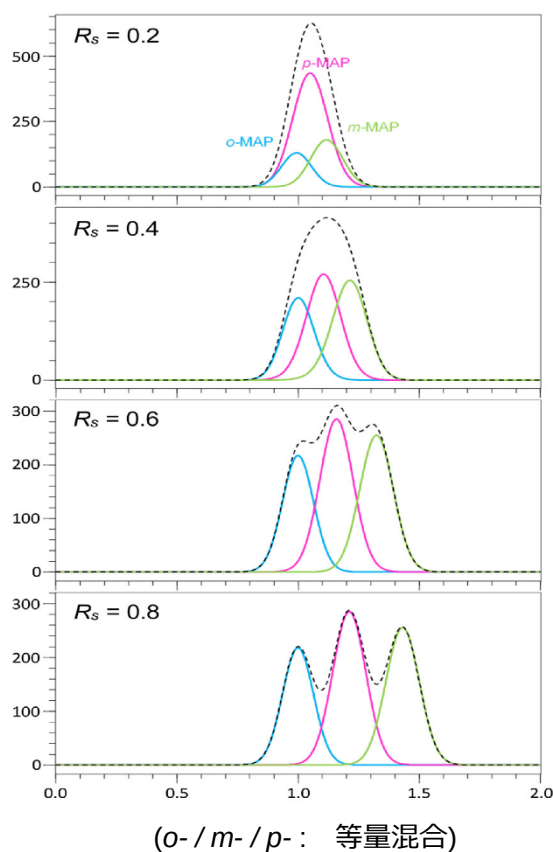
Component	Area (μAU·s)		Error %	Similarity
	Individual	Mixture		
o-MAP	2,090,806	2,080,405	-0.50%	1.0000
p-MAP	27,666	26,639	-3.71%	0.9996
m-MAP	2,658,837	2,656,836	-0.08%	1.0000

フォトダイオードアレイ検出器を用いた インテリジェントピークデコンボリューション

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 (R_s : 0.2-0.8)



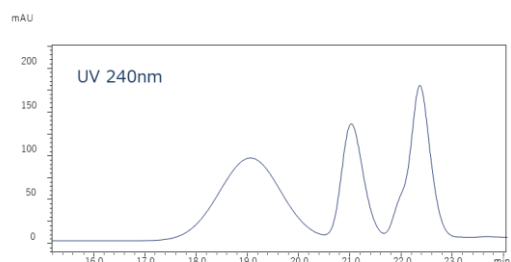
Resolution		<i>o</i> -MAP	<i>m</i> -MAP	<i>p</i> -MAP
	Individual	2.091	2.937	2.658
0.2	Area	1.204	4.698	1.784
	Error	-42.41 %	+59.98 %	-32.90 %
0.4	Area	2.046	2.900	2.740
	Error	-2.16 %	-1.23%	+3.06%
0.6	Area	2.083	2.950	2.652
	Error	-0.36 %	+0.46 %	-0.23 %
0.8	Area	2.091	2.936	2.658
	Error	0.00 %	0.00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

※ 面積: $\times 10^6$ ($\mu\text{V} \cdot \text{sec}$)

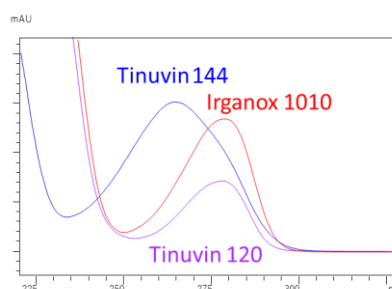
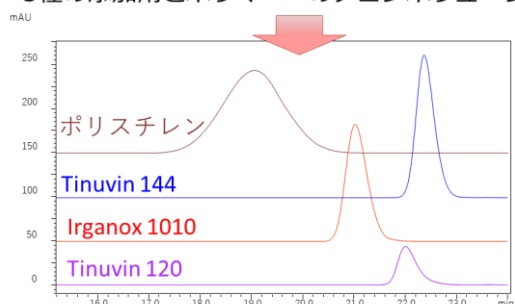
フォトダイオードアレイ検出器を用いた インテリジェントピークデコンボリューション

3. 実験と結果(3)

合成ポリマーと添加剤のGPC同時分析



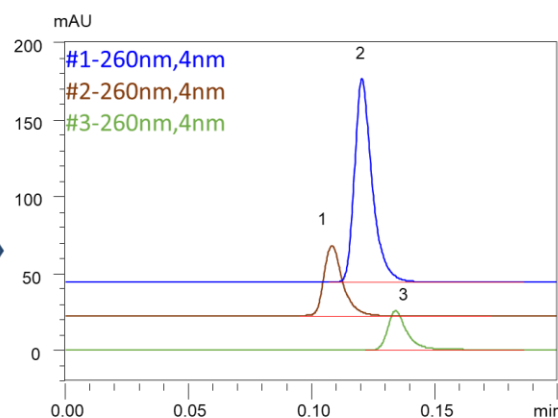
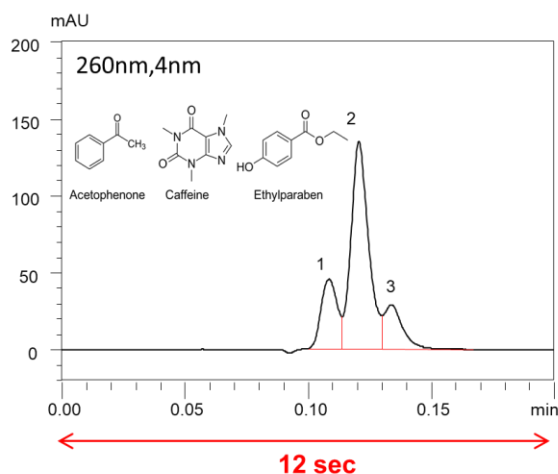
3種の添加剤とポリマーへのデコンボリューション



スペクトルのデコンボリューション

Additive	Irganox 1010	Tinuvin 144	Tinuvin 120
Linearity of calibration curve (r^2)	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精度向上



Component	t_R	Individual	Deconvolution		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%

フォトダイオードアレイ検出器を用いた インテリジェントピークデコンボリューション

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. Chromatogr A* 1469(2016) 35

First Edition: May, 2021