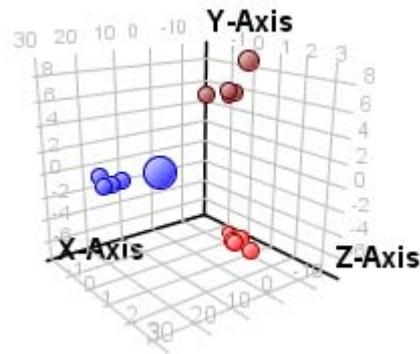




GC/MS 分析における多変量解析の活用 — 日本酒保管試験をモデルとした PCA (主成分分析) による解析手法 —



<要旨> 日本酒の保管試験の結果を多変量解析ソフトウェア Mass Profiler Professional (MPP) の PCA (主成分分析) を用いて調べました。褐色バイアルおよび透明バイアルにて保管し、ブラックライトで 1 ヶ月照射したものと、照射はせずに冷蔵庫にて保管したサンプル (対象区) の 3 グループについて PCA を行った結果、各サンプルに特徴的な化合物を見つけることができました。

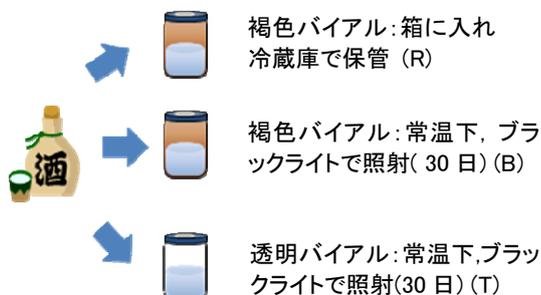
Key Words: 多変量解析, MPP, Mass Profiler Professional, PCA, 主成分分析, 3 群以上の比較, GC/MS, メタボロミクス, 食品分析, 品質管理

1. はじめに

PCA (主成分分析) は多数の要因を単純化 (少数の総合指数に集約) し、分布状況から、ばらつき度合いやグループ間の傾向を捉えるツールです。クロマトグラムのデータに対して PCA を適用する場合は、化合物ピークの強度の変動を少数の合成スコアの変動にまとめます。各サンプル (データファイル) の違いを比較するとき、単に各ピーク強度を合計した得点で判断するのではなく、サンプル間の違いが表れるように各ピーク強度に「重みづけ」をして合計したピーク強度をスコアとして判断することで、サンプル間の違いを知ることができます。

2. 実験方法

清酒を不活性処理済みバイアルビンに入れて保管



<前処理方法>

条件の異なる保管条件の清酒を各 10 μ l ずつ分取し、オキシム化、トリメチルシリル化を行い試験溶液としました。また、試験は試行回数 n=5 で行いま

した。GC/MS 測定条件は 3. に示しました。

<ピーク抽出>

NIST の AMDIS を用いてデコンボリューションを行いました。

3. 測定条件

装置: 7890 GC/5975C TAD MSD

カラム: DB-5ms 30m, 0.25mm, 0.25 μ m, 10m デュラガード

注入量: 1 μ l

注入法: スプリット, 10:1

注入口温度: 250 $^{\circ}$ C

オープン : 60 $^{\circ}$ C (1min) - 10 $^{\circ}$ C/min - 325 $^{\circ}$ C (10min)

カラム流量: 1.1ml/min (定流量モード)

インターフェース温度 : 290 $^{\circ}$ C

イオン源温度 : 250 $^{\circ}$ C

質量範囲: m/z 50-600

4. PCA

PCA は、グループ間の傾向を捉えるツールで、サンプル間の違いが出来るだけ大きくなるような重みづけができます。グループ間の違いを代表する化合物を見つけるためには、PCA を行う前に、再現性がよく、各サンプルの違いをよく表す質の良いデータが必要となります。

そこで、まず「Filter by Frequency」を使い、最低 1 グループで 100% 出現する (Frequency が 100%) のピークを対象としました。このフィルターによって、ピーク抽出時に得られた 418 成分から 203 成分に解析の対象を絞り込むことができました。

次に「Filter on Sample Variability」によるフィルターで CV (%) (変動係数) が 25% 以下となる条件



で、179成分を対象を絞り込みました。最後に、ANOVA (p<0.05)によるフィルタリングで174成分から95成分に絞り込みを行いました。

Fig. 1はANOVAの結果に対し、Post-hocテストを行った結果を示したものです。各グループ間のt検定の結果が表示されます。

Result Summary			
Group Name	[T]	[R]	[B]
[T]	95	88	33
[R]	7	95	68
[B]	62	27	95

Fig. 1 Turkey HSDによるPost-hoc Analysis (右上の青は有意差のあるEntity数を示す)

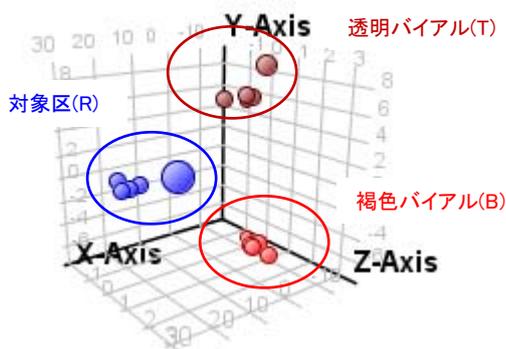


Fig. 2 PCA 3Dスコアプロット

次にPCAを2Dで表示した結果をFig. 3に示します。第一主成分の寄与率は64.58%、また第二主成分の寄与率も25.26%あり、グループ間の違いは第一主成分と第二主成分でほぼ決定されていることが分かりました。Fig. 2のサンプル分布状況から、第一主成分は保管温度もしくはブラックライト照射による違い、第二主成分は保管容器による違いであろうことが推測されました。

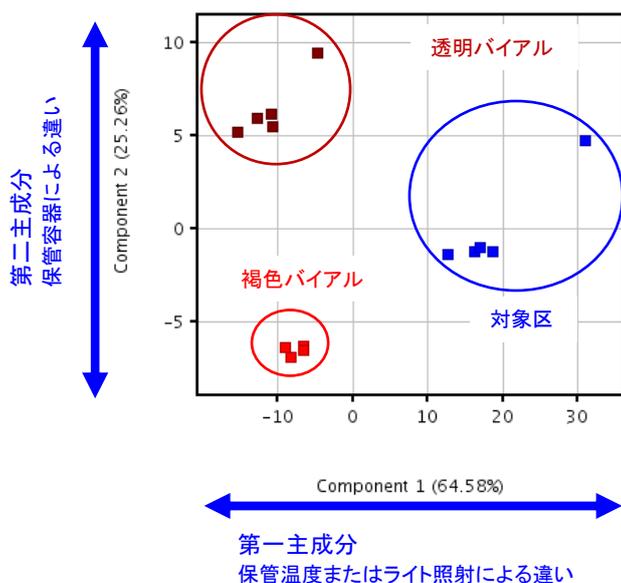


Fig. 3 PCA 2Dスコアプロット

5. Loading Plot

PCAスコアプロットでは、各グループ間の違いを大きく視覚化することはできませんが、どの化合物がグループ間の差に寄与しているのかは分かりません。Fig. 4はLoading Plot (Plot List Associated Values) で表示した結果で、1つのプロットが1つの化合物を表します。各化合物が第一・第二主成分のLoadingに配置され、各サンプルに特徴的な化合物を見つけ出すことができます。

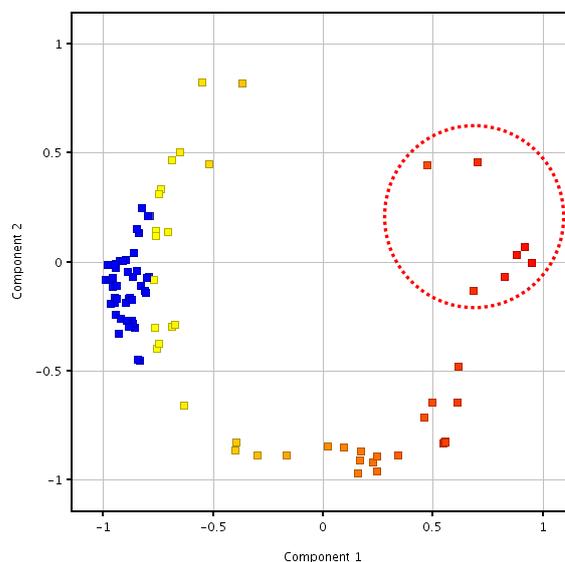


Fig. 4 Loading Plot

Fig. 3で囲った、第一主成分に寄与率の高いEntity (化合物) リストをTable 1に示しました。

Table 1 第一主成分に寄与率の高い化合物

Compound	Mass	Retention Time	Search for library
102.0@8.795	102	8.795	Glycine
144.0@16.472	144	16.472	L-Val-L-Leu
267.0@11.885	267	11.885	
117.0@12.570	117	12.570	Lactic acid
102.0@11.441	102	11.441	4-Aminobutyric acid
170.0@8.247	170	8.247	

5. まとめ

保管温度および保管容器による成分の変化PCAを用いて解析を行いました。その結果これら3グループでは、保管温度もしくはブラックライト照射の有無による違いが一番大きく寄与しており、次に保管容器による違いが2番目に寄与していることが推測されました。さらにローディングプロットを用いることで、それぞれの条件に特徴的な化合物を見つけることが可能でした。

【GCMS-201010SG-002】

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1

www.agilent.com/chem/jp2



Agilent Technologies