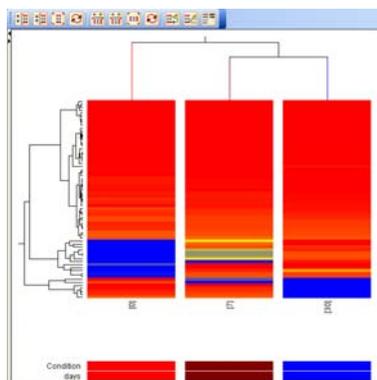


# GC/MS 分析における多変量解析の活用 — 日本酒保管試験をモデルとした 階層型クラスタツリーによる解析手法 —



<要旨> ブラックライトを照射して1週間、1ヵ月保管した日本酒、および照射せずに冷蔵庫で保管した日本酒を用い、日本酒の経時変化を多変量解析ソフトウェア Mass Profiler Professional (MPP) の階層型クラスタツリーを用いて調べました。階層型クラスタツリーでは似た挙動の化合物をクラスタとしてつないでいきますので、全期間で変動しない化合物、1週間では変化しないが、1ヵ月後には大きく減少する化合物などをまとめて解析することが可能でした。

**Key Words:** 多変量解析, MPP, Mass Profiler Professional, 階層型クラスタツリー, GC/MS, メタボロミクス, 食品分析, 品質管理

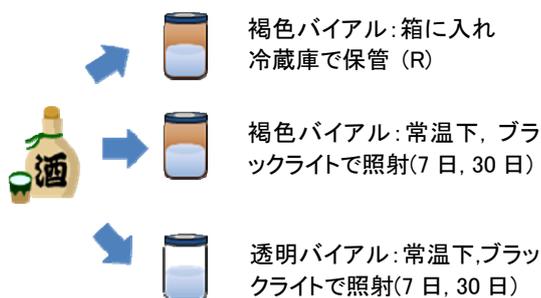
\* \* \* \* \*

## 1. はじめに

階層型クラスタツリーは、サンプル間の変動パターンの類似度を計算して、似た変動パターンのピークをまとめる手法です。今回は階層型クラスタツリー (Hierarchical) を用いましたが、Mass Profiler Professional では他に、k-Means, Self Organization Map があります。1週間後、1ヵ月後の変化を階層型ツリーで解析し、似た変動をする化合物を探索しました。

## 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 $\mu$ 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 $\mu$ m, 10m デュラガード  
注入量: 1 $\mu$ 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. 階層型クラスタツリー

透明バイアルにおける経時変化を調べるために、サンプルは冷蔵庫で保管した対象区を 0 日としました。対象区、透明バイアルの 7 日後、30 日後を使用して階層型クラスタツリーを作成しました。

階層型クラスタツリーを用いる前に、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り、ピーク抽出時に得られた 393 化合物から、266 化合物に対象を絞り込みました。

また分散分析によりすべてのグループ間で、平均値に有意差がないものを除去する ANOVA (p-value<0.05) によって、対象成分を 65 成分に絞り込みました。

Fig.1 は作成した階層型クラスタツリーを表します。ツリーの横方向がサンプル、縦方向が Entity (化合物) を表します。



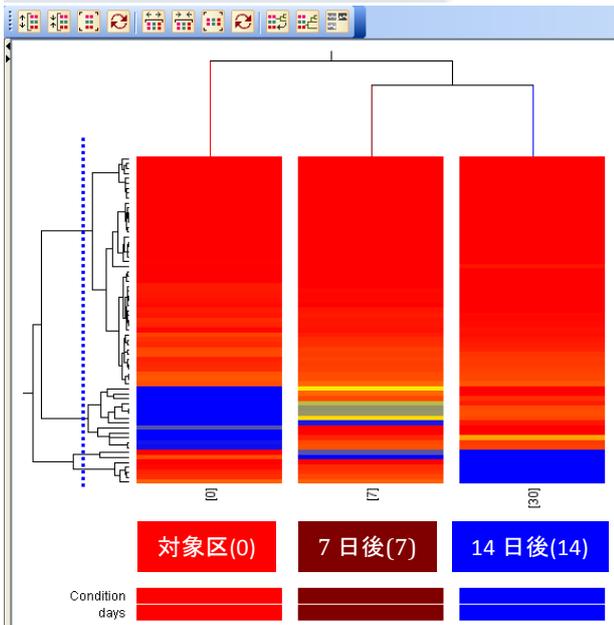


Fig.1 階層型クラスタツリー

クラスタツリーは類似度の高いものをクラスタとしてまとめていきます。よって、クラスタツリーで左側の距離の長いところは、クラスタで分けた時に差が大きいことを表しています。このツリーから同じ経時変化を示す化合物グループのクラスタを Fig.2 のようにまとめることが可能です。

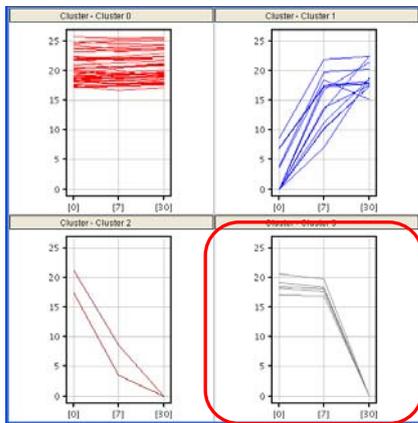


Fig.2 クラスタリングのグループ分け

Table 1 赤枠で示した挙動の Entity(化合物)リスト

Compound	Mass	Retention Time	Search for library
174.0@7.678	174	7.678	Pyruvic acid
202.0@18.558	202	18.558	N-Acetylglucosamine
329.0@23.621	329	23.621	
176.0@14.298	176	14.298	L-Methionine

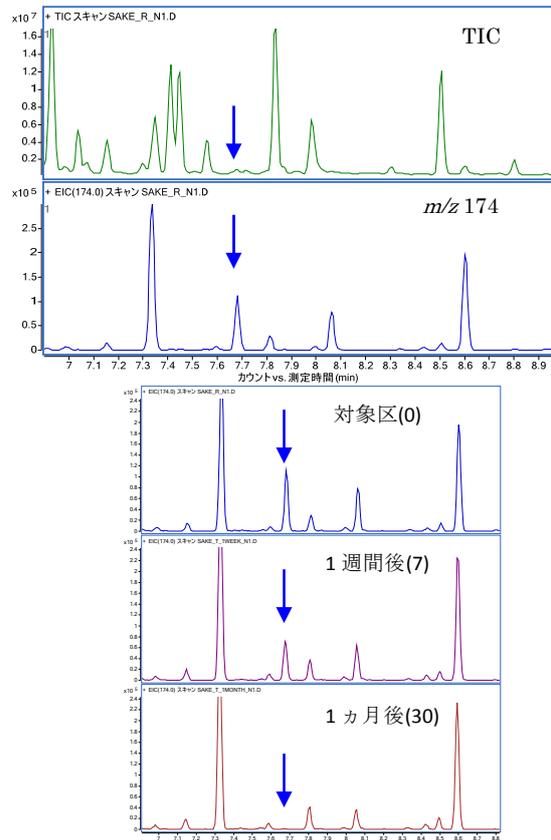


Fig.3 上段：対象区(TIC)と  $m/z$  174 のマスクロマトグラム 下段：ピルビン酸の経時変化

最後に、透明バイアルで変化のあったピルビン酸について、褐色バイアルでの挙動も調べたところ、褐色バイアルでは1ヵ月保管しても変化がないことが分かりました。

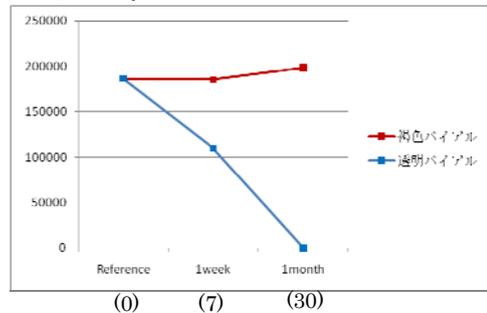


Fig.4 透明バイアルと褐色バイアルの経時変化の違い

## 5. まとめ

階層型クラスタツリーでは、各グループで差のある化合物を可視化して見つけるだけでなく、同じ経時変化を示す化合物をグループとしてまとめて解析することができました。

### 【GCMS-201010SG-003】

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/jp



Agilent Technologies