

技術論文

主成分得点を用いる有機溶媒混合比の決定

三井 利幸¹

主成分分析法による混合物の非分離定量法は、既に主成分回帰分析 (PCR) に応用されているが、PCR では 3 種類以上の化合物が混合している場合には、混合比の明らかな多数の既知試料で検量線を作成しても精度の良い定量結果を得ることは困難である。それに対し、混合している可能性のある各化合物の純品と未知試料で主成分分析を行い、得られた最終主成分の既知試料の主成分得点を用いて定量する本方法は、複数の化合物が混合している未知試料中の各化合物の混合比を精度良く定量できる方法である。本方法を質量分析の測定値に応用したところ、有機溶媒中の各化合物の混合比を極めて精度良く定量できることが明らかとなった。更に、本方法を回収された有機溶媒の産業廃棄物に応用したところ、迅速に精度良く定量できた。

1 緒言

非分離分析法で得られたデータから統計的手法を用いて定量した例としては、既に検量線を作成する方法として重回帰分析¹⁾²⁾、主成分回帰分析 (PCR)^{1)~3)} や partial least squares (PLS)^{1)~3)} がある。しかし、重回帰分析は 1 試料から得られる測定値数が多いと精度の良い定量が難しく、PCR や PLS は 3 種類以上の化合物が混合した未知試料については、検量線作成のために混合比の明らかな多くの既知試料を用いても精度の良い定量結果⁴⁾ は得られない。

それに対して、測定値 (補正值) をスケーリング処理しないで、混合している各化合物の純品を既知試料とし、主成分分析法 (PCA) で得られた主成分得点に注目して定量する本方法は新しい分析法である。この方法は、未知試料と各既知試料の測定値が持つ内容量の共通性を主成分として順次抽出排除していくと、最終的に累積寄与率が 100% となる最終主成分の主成分得点として未知試料と個々の既知試料が持つ固有の内容量が示されてくるので、これを用いて定量する方法である。したがって、共存物質や試料間で 1~2 個の測定値が重複していても、未知試料中の各既知試料の混合比に相当する内容のみが、各既知試料の各測定値間の相対的な感度比の関係から最終主成分の主成分得点として計算されてくるので定量結果には影響しない。このことは、未知試料の最終主成分の主成分得点に定量目的以外の化合物の内容が含まれていても、未知試料中の定量目的とする各既知試料に相当する内容と同じになるように、各既知試料の最終主成分得点が計算されていくことを意味している。したがって、共存物質やノイズ等が含まれ

ている未知試料の測定値からでも精度の良い定量結果を得ることができる。

PCA に使用する測定値 (説明変数) は、未知試料と既知試料とも同数としなければならないので、検出されないピークの数値は 0 とする。定量は 1 個の未知試料と $m-1$ 個の既知試料を合わせた $m \times n$ 行列を用いて主成分分析を行い、得られた既知試料の最終主成分である第 m 主成分の主成分得点を使用する。したがって、未知試料に混合している化合物が 3 種類で測定値が 9 個ならば、1 個の未知試料と 3 個の既知試料を合わせた 4×9 行列を用いて主成分分析を行い、得られた 3 個の既知試料の最終主成分である第四主成分の主成分得点を用いて定量することになる。

今回は、本方法を質量分析法で測定した酢酸エチル、アセトニトリル、エタノールが混合した有機溶媒に適用して、未知試料中の各化合物の混合比を定量した。

2 定量計算の理論と計算方法

2.1 定量計算の理論

PCA は説明変数である n 個の測定値を m 個の総合特性値 (主成分, $Z_1, Z_2, \dots, Z_m$) に要約する方法⁵⁾⁶⁾ である。最初に、 n 次元の空間に分布している m 個の試料から直線に下ろした垂線の長さの二乗和の合計が最小となるように Lagrange の未定乗数法で直線が引かれ、これが第一主成分となる。その結果、 m 個の試料が持つ n 個の測定値の共通する部分が抽出され第一主成分得点として示される。

次に、最初の直線 (第一主成分) と直交し、 m 個の試料から直線に垂らした垂線の長さの二乗和の合計が最小となるように直線が引かれ、これが第二主成分となる。第二主成分は最初の直線と直交していることから、第一主成分で全試料に共通する内容を抽出した残査から第一主成分と

¹ 数値解析研究所: 475-0833 愛知県半田市花園町 1-18-28

ル：エタノールの混合比 9:1, 1:9 のものを作製し使用した。各試料の混合比はすべて容量パーセント (vol%) である。

3・2 ガスクロマトグラフィー/質量分析 (GC/MS) の測定条件

GC/MS の測定条件は酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールを分離する必要がないので, 短時間で測定が終了するようにカラムは DB-5ms の $30\text{ m} \times 0.25\text{ mm}$, カラム温度・気化室温度・インターフェイス温度はすべて 300°C , イオン化は多数のピークが得られる電子イオン化 (EI) 法, He を用いたキャリアーガスの流量は 1.0 mL/min , スプリット比は 50:1, 機種は島津製 QP-5050A で行った。

この条件で未知試料, 酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールを測定した結果と定量に用いたピークに番号を付け Fig. 1 に示した。

PCA に使用したソフトウェアは, ジーエルサイエンス社が販売している Pirouette V.2.6 を使用した。

4 結果及び考察

4・1 検出器に対する各化合物の相対感度補正 (相対感度補正值)

同一濃度の化合物を GC/MS で測定しても化合物ごとに検出器に対する各化合物の相対感度は異なっている。本方法では非分離で測定し, 得られた測定値中で最大面積を示したピークの値が 1.00000 になるように各測定値を補正して使用しているので, 主成分得点から計算で求めた値は混合している化合物の相対的な感度補正值 (相対感度補正值) で補正する必要がある。

相対感度補正值は, 混合している化合物間の混合比が明らかな試料を未知試料 (相対感度補正值計算のための試料) とし, 混合している各化合物を既知試料として主成分分析を行い, 得られた既知試料の最終主成分の主成分得点と未知試料 (相対感度補正值計算のための試料) の混合比から相対感度補正值を計算する。通常は混合している既知試料の比が同一になるような試料を未知試料 (相対感度補正值計算のための試料) としている。

計算方法は, 混合している既知試料のいずれかの相対感度補正值を 1.00000 とし, 相対感度補正值 1.00000 とした既知試料の主成分得点でそれ以外の既知試料の主成分得点を除し, 得られた数値をそれぞれの既知試料の相対感度補正值とする。このことから明らかなように, 相対感度補正值は指定した既知試料に対する相対値で示されている。したがって, 混合している既知試料が異なっている場合は, 各既知試料の相対感度補正值も異なってくるので, 混合している既知試料の比が同一となるような未知試料 (相対感

度補正值計算のための試料) を用いて, 各既知試料の相対感度補正值を計算しておかなければならない。

今回行った未知試料中の酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールの混合比の定量では, 相対感度補正值を酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールの混合比が 1:1:1 の未知試料 (相対感度補正值計算のための試料) と酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールの計 4 試料を用いて主成分分析を行い, 得られた酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールの第四主成分の主成分得点と, 酢酸エチル:アセトニトリル:エタノールの混合比 1:1:1 から相対感度補正值を計算した。今回は, エタノールの相対感度補正值を 1.00000 としたので, エタノールの主成分得点で酢酸エチルとアセトニトリルの各主成分得点を除した値が酢酸エチルとアセトニトリルの相対感度補正值になる。Table 2 に酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールの相対感度補正值の計算方法と結果を示した。

4・2 定量結果

未知試料, 酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールを GC/MS で測定し, 各試料の m/z の面積が最大値を示したピーク面積で各ピーク面積を除した結果を Table 1 に示した。主成分分析は, Table 1 に示した未知試料, 酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールの 4 試料を用いた 4×9 行列で行った。その結果, Table 3 に示したように, 各未知試料に対する各既知試料の第四主成分の主成分得点が得られた。既に式 (1) で説明したように, 最終主成分は測定値 (説明変数) の数に関係なく主成分分析に使用した試料数によって決まるので, 今回の場合は第四主成分が最終主成分となる。

Table 3 に示した各既知試料の主成分得点と酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールの相対感度補正值 1.4669₅, 1.0606₂, 1.000₀ を用いて式 (2), (3), (4) で未知試料の混合比を定量した。Table 3 の試料番号 1 に対する混合比の計算過程を Chart 1 に示した。最初に Table 3 に示した酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールの主成分得点の合計 -0.08986 で酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールの各主成分得点を除した。得られた数値 0.4174₂, 0.2980₂, 0.2845₅ が未知試料中の酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールの最終主成分得点の混合比 (A'_{AcOEt} , A'_{MeCN} , A'_{EtOH}) となる。次いで, 酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールの (A'_{AcOEt} , A'_{MeCN} , A'_{EtOH}) 値 0.4174₂, 0.2980₂, 0.2845₅ をそれぞれの相対感度補正值 (B_{AcOEt} , B_{MeCN} , B_{EtOH}) である 1.4669₅, 1.0606₂, 1.000₀ で除すと, 相対感度補正值で補正した酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールの最終主成分得点の混合比 (A''_{AcOEt} , A''_{MeCN} , A''_{EtOH}) が得られる。未知試料は既知試料のみで混合比が 100% となるので, 酢酸エチル, アセトニトリル,

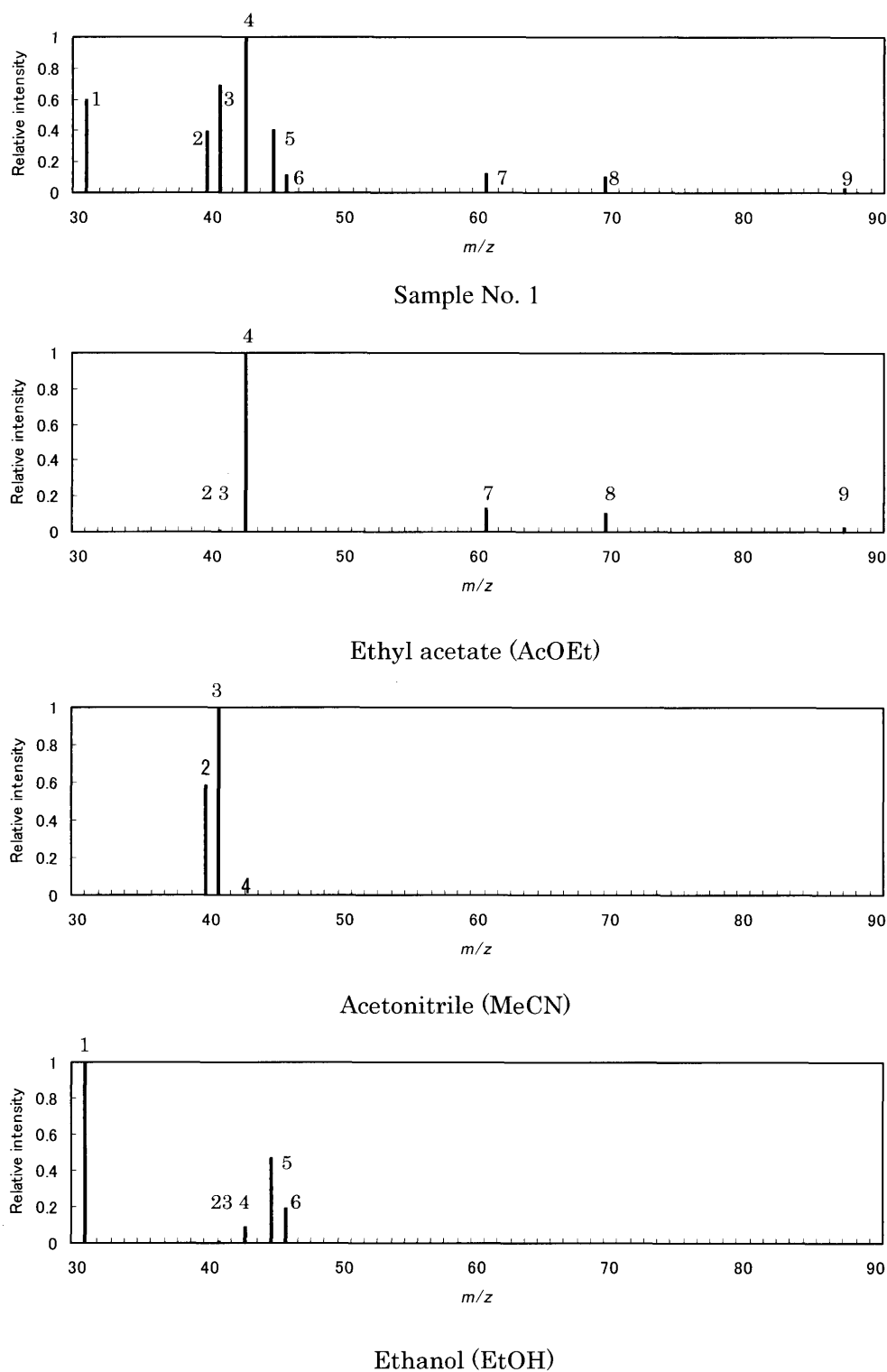


Fig. 1 Mass spectra of the sample, ethyl acetate, acetonitrile, and ethanol

エタノールの真の百分率 (A_{AcOEt} , A_{MeCN} , A_{EtOH}) は (A''_{AcOEt} , A''_{MeCN} , A''_{EtOH}) 値 0.2845₄, 0.2809₉, 0.2845₅ の合計 0.8500₈ で (A''_{AcOEt} , A''_{MeCN} , A''_{EtOH}) 値 0.2845₄, 0.2809₉, 0.2845₅ を除し 100 倍して求めた。その結果, 未知試料中の酢酸エチル, アセトニトリル, エタノールの真の混合比 33.47₂ vol%, 33.05₅ vol%, 33.47₃ vol% が得られた。

Chart 1 と同様の方法で他の未知試料の混合比を計算し

た結果を Table 4 に示した。Table 4 から明らかなように, PCA は PCR や PLS と比較して精度良く定量できた。特に PCR や PLS は 3 種類の化合物が混合した未知試料に対しては, 11.11% 混合している化合物の混合比でも負の値を示しており, 定量結果の信頼性は極めて低い。試料番号 3 の未知試料は試料番号 2 や試料番号 4 と比較して Table 3 に示したように主成分寄与率が 0.10775% とやや大きく,

Table 1 Corrected m/z value of ethyl acetate, acetonitrile, and ethanol mixture

Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9 ^{a)}
	31	40	41	43	45	46	61	70	88
1	0.60114	0.38560	0.68403	1.00000	0.40208	0.10572	0.13484	0.09898	0.03031
2	0.19885	0.57653	1.00000	0.87664	0.21944	0.03712	0.13596	0.09710	0.03124
3	0.37099	0.08395	0.15407	1.00000	0.31627	0.07201	0.14438	0.10382	0.03252
4	1.00000	0.40986	0.71093	0.44241	0.56138	0.18206	0.05466	0.03914	0.01150
AcOEt	0.00000	0.00082	0.00457	1.00000	0.00000	0.00000	0.13350	0.10465	0.02988
MeCN	0.00000	0.58657	1.00000	0.00168	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
EtOH	1.00000	0.00257	0.01068	0.08759	0.47328	0.18516	0.00000	0.00000	0.00000

a) Peak number of Fig. 1; AcOEt: Ethyl acetate; MeCN: Acetonitrile; EtOH: Ethanol

Table 2 Calculation method of relative sensibility compensation of ethyl acetate, acetonitrile, and ethanol to detector

Principal component score of 1 : 1 : 1 mixing ratio

AcOEt	MeCN	EtOH
-0.03752	-0.02712	-0.02557
Calculation of relative sensibility		
AcOEt	$(-0.03752)/(-0.02557) = 1.4669_5$	
MeCN	$(-0.02712)/(-0.02557) = 1.0606_2$	
EtOH	$(-0.02557)/(-0.02557) = 1.0000_0$	

The sample of 1 : 1 : 1 mixing ratio (AcOEt : MeCN : EtOH) was used for calculation of relative sensibility compensation. AcOEt: Ethyl acetate; MeCN: Acetonitrile; EtOH: Ethanol

Table 3 Fourth principal component score to each sample

Sample No.	Fourth principal component score			
	AcOEt	MeCN	EtOH	CD%
1	-0.03751	-0.02678	-0.02557	0.07466
2	-0.03593	-0.04146	-0.01028	0.08288
3	-0.05401	-0.00783	-0.22130	0.10775
4	-0.01061	-0.02100	-0.03111	0.04139

AcOEt: Ethyl acetate; MeCN: Acetonitrile; EtOH: Ethanol;
CD%: Coefficient of determination

測定値の分散が大きいことを示しており、Table 4に示したように、PCRやPLSの定量結果の信頼性は極めて低い。

参考として、2種類の化合物が混合している未知試料の定量結果も併せてTable 4に示した。この結果から明らかのように、2種類の化合物が混合した試料では、PCRやPLSもPCAと同様精度良く定量することが可能であった。

4・3 再現性

酢酸エチル、アセトニトリル、エタノールが55.56 : 11.11 : 33.33 vol%の割合で混合した試料を5回測定した結果からのPCAの再現性は、酢酸エチルの相対標準偏差

Sum of each principal component score (sample No.1)

AcOEt: -0.03751; MeCN: -0.02678; EtOH: -0.02557
 $(-0.03751) + (-0.02678) + (-0.02557) = -0.08986$

Calculation of provisional mixing ratio (A'_{AcOEt} , A'_{MeCN} , A'_{EtOH})

AcOEt: $(-0.03751)/(-0.08986) = 0.4174_2$

MeCN: $(-0.02678)/(-0.08986) = 0.2980_2$

EtOH: $(-0.02557)/(-0.08986) = 0.2845_5$

Provisional mixing ratio by relative sensibility (A''_{AcOEt} , A''_{MeCN} , A''_{Et})

AcOEt: $0.4174_2/1.4669_5 = 0.2845_4$

MeCN: $0.2980_2/1.0606_2 = 0.2809_9$

EtOH: $0.2845_5/1.0000_0 = 0.2845_5$

Real mixing ratio (A_{AcOEt} , A_{MeCN} , A_{EtOH})

$0.2845_4 + 0.2809_9 + 0.2845_5 = 0.8500_8$

AcOEt: $(100 \times 0.2845_4)/0.8500_8 = 33.47_2 \text{ vol\%}$

MeCN: $(100 \times 0.2809_9)/0.8500_8 = 33.05_5 \text{ vol\%}$

AcOEt: $(100 \times 0.2845_5)/0.8500_8 = 33.47_3 \text{ vol\%}$

Chart 1 Determination method of the mixing ratio by PCA

AcOEt: Ethyl acetate; MeCN: Acetonitrile; EtOH: Ethanol

(RSD) が2.48%, アセトニトリルのRSDが0.34%, エタノールのRSDが3.75%であった。このことから、本方法は質量分析の測定値に対しても精度良く定量できることが明らかとなった。

4・4 産業廃棄物の定量

本方法を用いて産業廃棄物の混合比を定量した結果、酢酸エチルが74.5 vol%, アセトニトリルが23.4 vol%, エタノールが2.1 vol%であった。ガスクロマトグラフィーで分離し検量線を作成し定量した結果は、酢酸エチルが75.2 vol%, アセトニトリルが24.6 vol%, エタノールは検出されなかった。

本方法は含有している可能性のあるすべての化合物の純品を用いて定量すれば、含有されていない化合物の定量値はほぼゼロとなるので、定量結果に影響を与えることはな

Table 4 Analytical results of ethyl acetate, acetonitrile, and ethanol mixture

Sample No.	PCA			PCR			PLS			Theoretical value		
	AcOEt	MeCN	EtOH	AcOEt	MeCN	EtOH	AcOEt	MeCN	EtOH	AcOEt	MeCN	EtOH
1	33.47	33.06	33.47	45.23	34.12	38.03	45.30	34.10	38.06	33.33	33.33	33.33
2	32.96	53.24	13.79	32.21	67.40	-1.73	31.58	66.16	-1.76	33.33	55.56	11.11
3	54.07	11.25	34.68	69.27	-2.36	36.10	69.17	-2.36	36.22	55.56	11.11	33.33
4	12.41	34.38	53.21	-1.89	35.45	68.69	-1.44	36.80	68.51	11.11	33.33	55.56
5	100.00	0.00	0.00	87.60			97.87			100.00	0.00	0.00
6	0.00	100.00	0.00		91.27			92.47		0.00	100.00	0.00
7	0.00	0.00	100.00			95.22			95.24	0.00	0.00	100.00
8	89.39	10.61	0.00	89.52	10.18		91.67	11.05		90.00	10.00	0.00
9	10.52	89.48	0.00	3.07	88.98		9.59	89.86		10.00	90.00	0.00
10	0.00	11.14	88.86		9.55	94.86		9.47	94.84	0.00	10.00	90.00
11	0.00	90.13	9.87		93.56	9.54		91.23	9.35	0.00	90.00	10.00
12	49.74	50.26	0.00	59.12	46.45		47.60	47.80		50.00	50.00	0.00
13	25.95	74.05	0.00	28.12	84.64		26.69	82.49		25.00	75.00	0.00

PCA : Principal component analysis ; PCR : Principal component regression analysis ; PLS : Partial least squares analysis ; AcOEt : Ethyl acetate ; MeCN : Acetonitrile ; EtOH : Ethanol

く資源回収を目的とした産業廃棄物から目的とする資源の含有量を容易に推定することが可能である。更に、本方法は非分離分析なので分離条件を検討する必要がなく、回収した有機溶媒資源から目的とする化合物の含有量を迅速に定量することが可能である。

本方法はあらかじめパーソナルコンピュータに計算式のソフトウェアを組み込んでおけば、測定値を代入するだけで瞬時に混合比が定量できることから、有機溶媒等の産業廃棄物の処理現場での分析には適した方法と考えられる。

5 結 論

スケーリング処理をしないで主成分分析で計算し得られた最終主成分得点を使用する本方法は、検量線を作成しないで非分離で精度良く混合比を定量することができた。更に、非分離で定量できる PCR や PLS では定量困難な 3 種類以上の化合物が混合した試料からでも、各化合物の混合

比を精度良く定量することが可能であった。本方法は質量分析の測定値のみでなく、それ以外の測定機器から得られる測定値にも応用できるものと考えられる。

GC/MS の測定にご協力いただいた愛知県警察本部科学捜査研究所の奥山修司博士に深謝します。

文 献

- 1) 相島鉄郎：“ケモメトリックス”，(1992)，(丸善)。
- 2) 宮下芳勝，佐々木眞一：“ケモメトリックス—化学パターン認識と多変量解析”，(1995)，(共立出版)。
- 3) 三井利幸：“ケモメトリックスの基礎と応用”，p. 42，(2003)，(アイピーシー)。
- 4) M. Hida, S. Okuyama, T. Mitsui, Y. Minami, Y. Fujimura: *J. Chromatogr.*, **38**, 436 (1994)。
- 5) 奥野忠一，久米 均，芳賀敏郎，吉澤 正：“多変量解析法”，(1983)，(日科技連)。
- 6) 奥野忠一，芳賀敏郎，矢島敬二，奥野千恵子，橋本茂司，古河陽子：“続多変量解析法”，(1981)，(日科技連)。

Determination of Mixing Ratio in Organic Solvent Using Principal Component Score

Toshiyuki MITSUI¹

¹ Data Analysis Laboratory, 1-18-28, Hanazono-cho, Handa-shi, Aichi 475-0833

(Received 2 June 2008, Accepted 29 July 2008)

A determination of the mixing ratio of two or more compounds in each sample was carried out using the principal component score. The determination method of the mixture by the principal component analysis method has already been applied to principal component regression analysis (PCR). In PCR, principal component analysis is carried out using 4 or 5 known samples of clear mixing ratio and the unknown samples. However, in this method, the mixing ratio of an unknown sample is determined using the principal component score of the last principal component of the obtained known sample. The mixing ratio of ethyl acetate, acetonitrile, and ethanol in an organic solvent was determined by this method. Regarding the result, this method was able to determine the mixing ratio in an unknown sample with comparable high precision.

Keywords : principal component analysis ; principal component score ; mixing ratio in an organic solvent ; industrial waste ; GC/MS.