



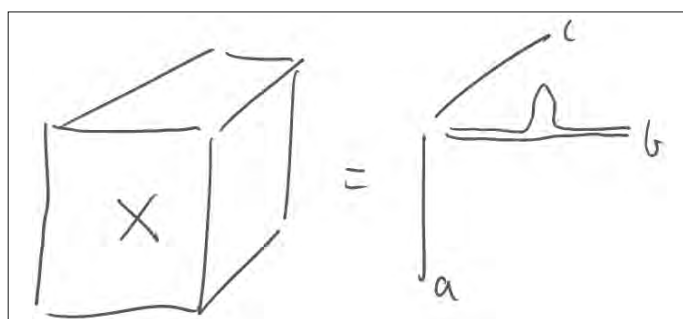
PARAFAC2: Et nyt kromatografisk redskab

Retentionstidsskift i kromatografi kan gøre det vanskeligt at udnytte PARAFAC til at adskille overlappende toppe. Her præsenteres en løsning på det problem.

Af Rasmus Bro, Søren Balling Engelsen, Institut for Fødevarervidenskab, Københavns Universitet og Lars Nørgaard, FOSS

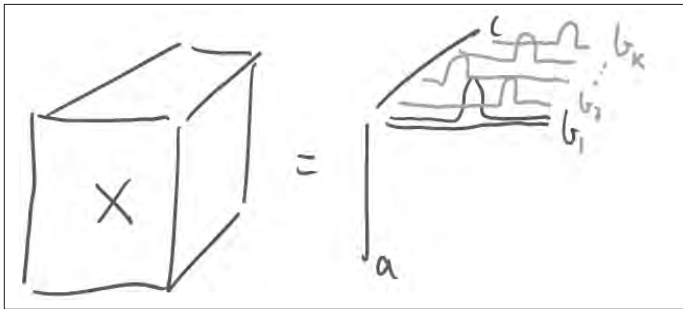
Som nævnt i seneste klumme er PARAFAC et fantastisk redskab til at resolve overlappende kromatografiske toppe. Desværre kræver det dog, at retentionstiderne forbliver konstante i forskellige kørsler, og det er langt fra altid tilfældet.

En PARAFAC-komponent kan illustreres som i figur 1. I denne model er loadingvektoren i anden mode (**b**) et bud på elueringsprofilen af et kemisk stof. En måde at fortolke en sådan én-komponent model på, er at alle elueringsprofiler i hele **X** – altså i enhver prøve – skal kunne beskrives ved den samme profil. En sådan model kan således ikke beskrive, at et stof har forskellig elueringsprofil i forskellige prøver. Det samme gælder i øvrigt for alle andre gængse multivariate modeller. Direkte eller indirekte antages, at underliggende fænomener holder sig på samme (horisontale) sted fra prøve til prøve.



Figur 1. En én-komponent PARAFAC-model.

Hvis elueringsprofilen for samme stof flytter sig horisontalt fra prøve til prøve, så kan man visualisere en passende model, som vist i figur 2. Her er prøverne lidt uvant placeret i det, der kaldes tredje mode (bagud). I denne model kræves det ikke, at elueringsprofilen er den samme i forskellige prøver. En sådan model findes faktisk, og den hedder PARAFAC2 [1,2].

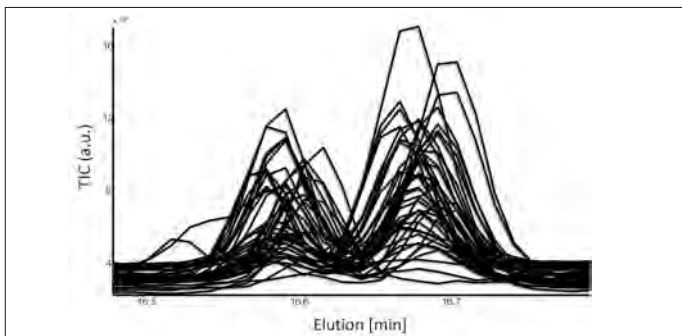


Figur 2. En alternativ én-komponent-model, der kan håndtere retentionstidsskift.

PARAFAC2 blev udviklet af R. A. Harshman tilbage i 1972, og den har mange interessante egenskaber. Én af dem er desværre, at de algoritmer, der findes til at beregne modellen, er temmelig langsomme, så en del udvikling mangler på den front. En anden og mere væsentlig egenskab er, at PARAFAC2 meget ofte kan beskrive retentionstidsvariationer og basislinjevariationer [3,4].

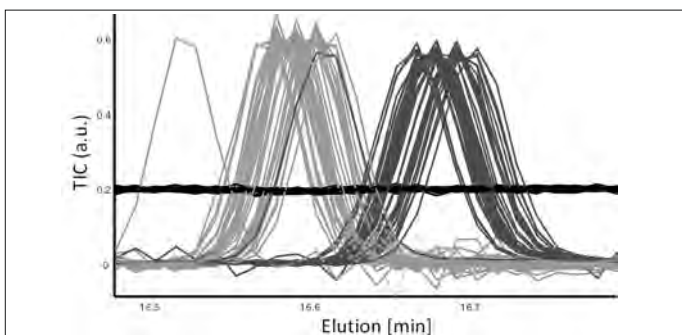
Eksempel på PARAFAC2

I figur 3 ses et eksempel på LC-MS-elueringsprofiler (TIC- Total Ion Chromatogram) af en række prøver. I dette tilfælde er prøverne rødvine fra forskellige regioner i verden [4]. Det ses, at der i hvert fald er to stoffer, der eluerer i dette område, og at de overlapper og varierer fra prøve til prøve. PARAFAC kan ikke give gode modeller af sådanne data.



Figur 3. TIC af udsnit af kromatogrammer af 44 rødvinprøver.

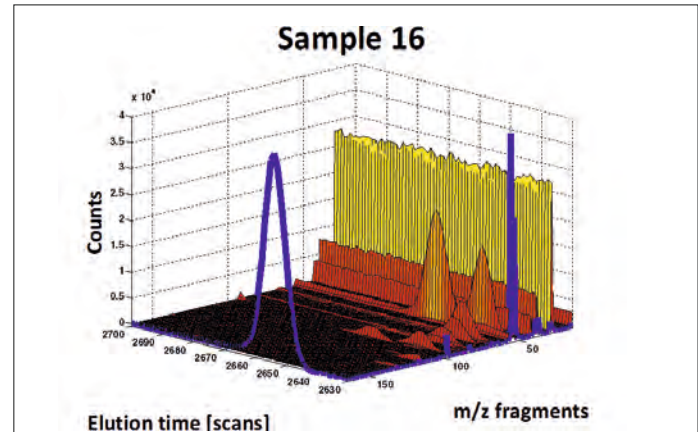
PARAFAC2 derimod er designet til at håndtere sådanne data. Laver man en tre-komponent PARAFAC2-model på disse data (inkl. den massespektrometriske retning), så får man en model, der beskriver stort set al variationen. I stedet for én elueringsprofil for hver af de tre komponenter, så får man en elueringsprofil for hver komponent i hver prøve. I dette tilfælde er der 44 prøver, så for hver komponent får man 44 profiler. Disse er vist i figur 4, som jo på sin vis er lidt overvældende. Men det skyldes, at modellen netop passende beskriver variationerne



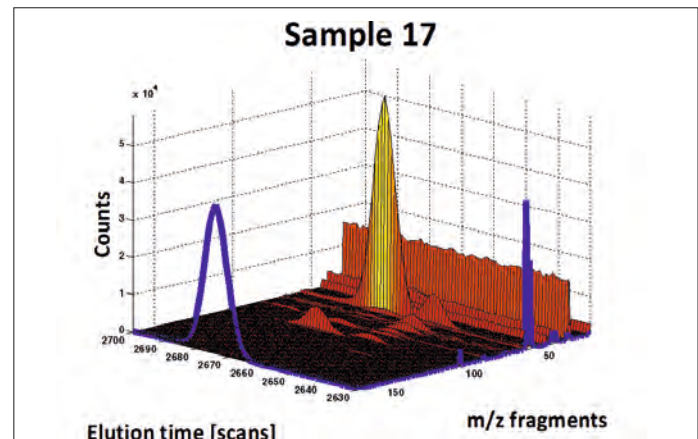
Figur 4. Estimerede profiler (normaliserede) fra PARAFAC2. De tre komponenter afspejler to kemiske komponenter og basislinjen. De tre profiler for hver af de 44 kørsler er vist i sort, mørk og lys grå

i figur 3. Bemærk at én af komponenterne beskriver variationer i basislinjen, som således også håndteres umiddelbart af PARAFAC2.

I figur 5 og 6 kan man se to forskellige vinprøver, hvor den samme PARAFAC2-komponent er vist. Man ser tydeligt, at den kemiske komponent eluerer på helt forskellige tidspunkter, og at PARAFAC2 håndterer dette ved at anvende forskellige elueringsloadings (vist i blå).



Figur 5. Kromatogram for én prøve (nr. 16). Estimat af én af de tre PARAFAC2-komponenter vist i blå.



Figur 6. Kromatogram for én prøve (nr. 17). Estimat af én af de tre PARAFAC2-komponenter vist i blå.

Outro

PARAFAC2 er et fantastisk redskab til analyse af overlappende toppe. I mange tilfælde kan man resolve stoffer, der ikke traditionelt ville kunne adskilles og også gøre det med større nøjagtighed og præcision end traditionelle metoder.

E-mail

Rasmus Bro: rb@life.dk.

Søren Balling Engelsen: se@life.ku.dk

Lars Nørsgaard: lno@foss.dk

Referencer

1. R. A. Harshman. PARAFAC2: Mathematical and technical notes. UCLA working papers in phonetics 22:30-47, 1972.
2. R. Bro, C. A. Andersson, H. A. L. Kiers. PARAFAC2 - Part II. Modeling chromatographic data with retention time shifts. Journal of Chemometrics. 13:295-309, 1999.
3. J. M. Amigo, T. Skov, R. Bro. ChroMATHography: Solving Chromatographic Issues with Mathematical Models and Intuitive Graphics. Chemical Reviews 110:4582-4605, 2010.
4. J. M. Amigo, T. Skov, J. Coello, S. Maspoeh, R. Bro. Solving GC-MS problems with PARAFAC2. Trac-Trends in Analytical Chemistry 27 (8):714-725, 2008.