

分かりマス！LC/MSの基礎① ～LCユーザー目線からのアプリケーション解説～

株式会社島津製作所 分析計測事業部

本日の内容

質量分析概要

LC/MSの基礎

SHIMADZU

本日の内容

質量分析概要

LC/MSの基礎

3

SHIMADZU

質量分析計と吸光度検出器

- 吸光度検出器は、**化合物の光吸収**によって検出する。
- 質量分析計は、**化合物を質量で分離**し検出する。

UV検出器の原理

吸光度 = $\epsilon \cdot C \cdot L = -\log (E_{out} / E_{in})$

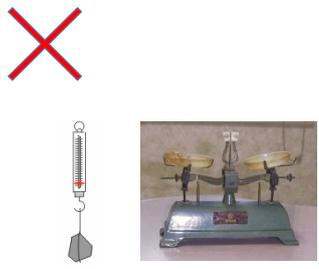
光吸収がない化合物は検出できない
同時に溶出した場合、別々に検出できない ➡ 質量分析計では可能

4

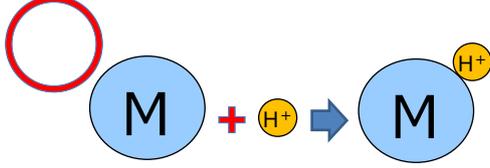
SHIMADZU

分子の“質量”をはかるとは

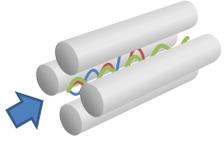
- 物質をイオン化して真空中で分離・検出する質量分析法を用いる。
- LCに接続して測定できる装置を、液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS）と呼ぶ。



分子量を直接測定することは不可能



分子そのままでは測定できないのでイオン化



電場をかけてイオンを質量で分離

5

SHIMADZU

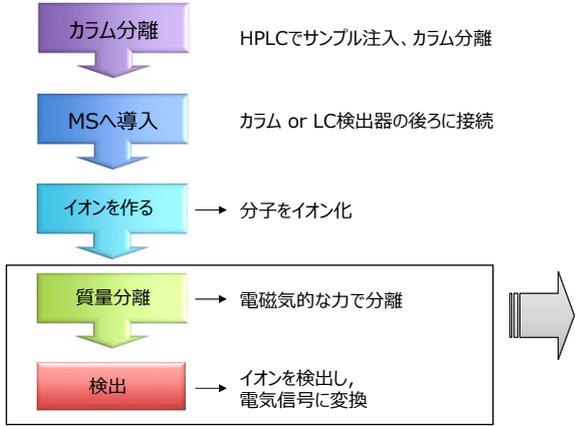
HPLC + MSの構成

- HPLCシステムの後ろに直接MSを接続し、カラムから溶出した液を分析する。

HPLC



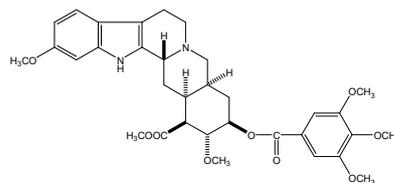
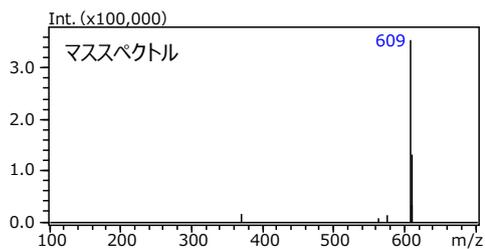
Nexera Series + LCMS-8060NX



6

質量分析計で何がわかる？

- カラムからの溶出液に含まれる化合物の**質量情報**がわかり、定性が可能。
- 得られた質量情報（横軸）と検出強度（縦軸）のデータを**マススペクトル**と呼ぶ。

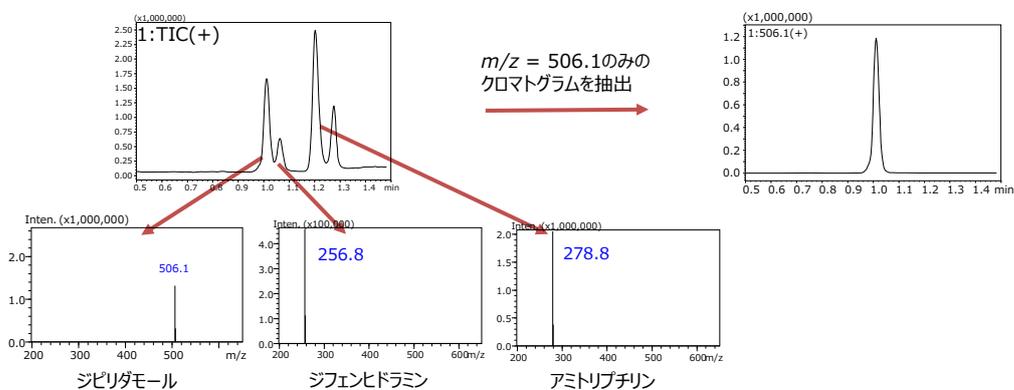


レセルピン
MW: 608

7

質量分析計で何がわかる？

- カラムから溶出した溶液を連続的に測定する。
溶出時間（横軸）と検出強度（縦軸）のデータを**マスクロマトグラム**と呼ぶ。
ピーク面積・ピーク強度から、定量を行うことも可能です。



8

SHIMADZU

質量分析計で何がわかる？

- PDA検出器では**PDAスペクトルとLCクロマトグラム**、MSでは**マススペクトルとマスクロマトグラム**を得られる。

● LC-MS

マスクロマトグラム

マススペクトル

● PDA (フォトダイオードアレイ)

LCクロマトグラム

UVスペクトル

9

SHIMADZU

LC-MSを使うことによるメリット

- 光吸収の有無に依存しないため**光吸収がない化合物を検出・定量可能**（糖など）
- 質量で分離できるため、**同時に溶出しているも別ピークとして検出可能**

UVクロマトグラム (254 nm)

MSクロマトグラム

光吸収がない化合物はUV検出器では検出されないが、LC-MSでは検出できている。

UV検出器では1つのピークに見えるが、LC-MSでは2成分同時に溶出していることがわかる。

10

SHIMADZU

本日の内容

質量分析概要

LC/MSの基礎

11

SHIMADZU

HPLC + MSの構成

- HPLCシステムの後ろに直接MSを接続し、カラムから溶出した液を分析する。

HPLC

MS



Nexera Series + LCMS-8060NX

カラム分離

↓

MSへ導入

↓

イオンを作る

↓

質量分離

↓

検出

HPLCでサンプル注入、カラム分離

カラム or LC検出器の後ろに接続

→ 分子をイオン化

→ 電磁気的な力で分離

→ イオンを検出し、電気信号に変換

→

真空下でのプロセス

12

SHIMADZU

LC/MSのイオン化について

- イオン化とは、化合物にイオンを付加・脱離させることで化合物自体をイオンにすること

■ 分子量MをLC/MSで分析した場合 (カテキン M.W. 290)

ポジティブ ネガティブ

$m/z : M+1$ $m/z : M-1$

[M+H]⁺ : プロトン化分子 [M-H]⁻ : 脱プロトン化分子

13

SHIMADZU

イオン化法

- カラムから溶出した化合物をイオン化するために、様々な手法がある。
 - 液相からイオンを作る。(Spray法)
 - …Electrospray(ESI)
 - …Thermospray
 - 気相でイオンを作る。
 - …大気圧化学イオン化(APCI)
 - …大気圧光イオン化(APPI)
 - …電子衝撃(Electron Impact)
 - …化学イオン化(Chemical Ionization)
 - 固相からイオンを作る。(Desorption法)
 - …FD(Field desorption)
 - …SIMS/FAB(Fast Atom Bombardment)
 - …MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization)

14

SHIMADZU

ESI法とAPCI法の原理

- ESI法 : 液相でのイオン化。細かい霧状の帯電液滴を形成しイオン化を行う。
- APCI法 : 気相でのイオン化。移動相中の溶媒をイオン化し、化合物と化学反応させられる。

ESI法 (Electrospray Ionization)

NEBライザーガス (窒素) 高電圧

LCより

N2 (窒素)

N2 (窒素)

+++++

+++++

電荷を帯びた液滴が飛んでくる

イオン蒸発

APCI法 (Atmosphere Pressure Chemical Ionization)

NEBライザーガス (窒素) ヒーター(200~400°C)

LCより

N2 (窒素)

N2 (窒素)

ガス体

コロナニードル

高電圧

15

SHIMADZU

ESI法、APCI法の比較

- 分析対象の化合物の特性によって、イオン化法を選択する。
- 基本、逆相クロマトグラフィーの対象化合物の多くはESI法でイオン化可能

イオン化法と対象化合物

分子量

100,000

10,000

1,000

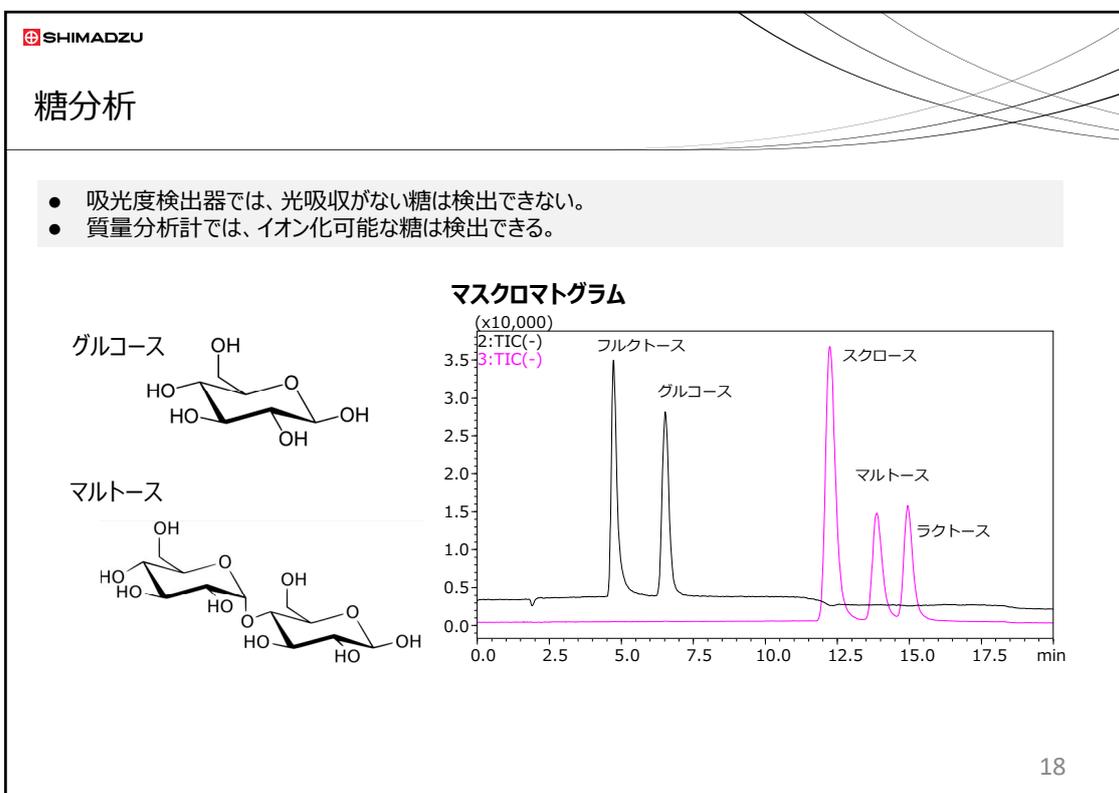
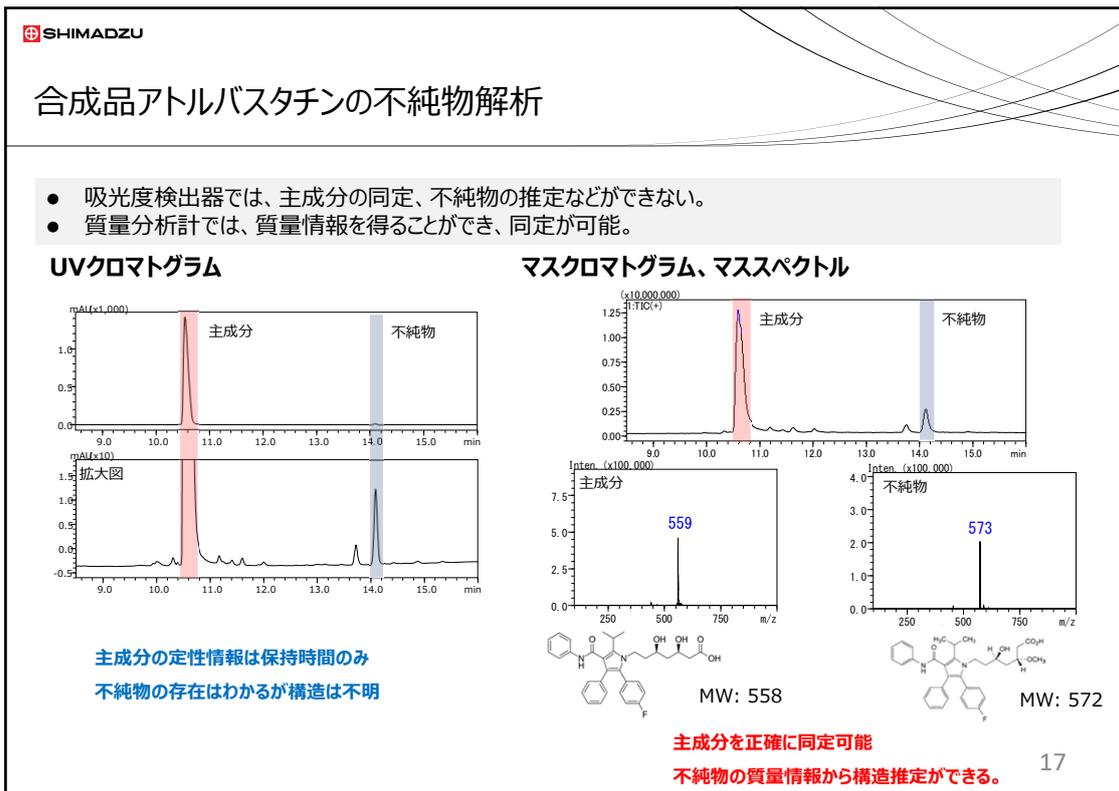
100

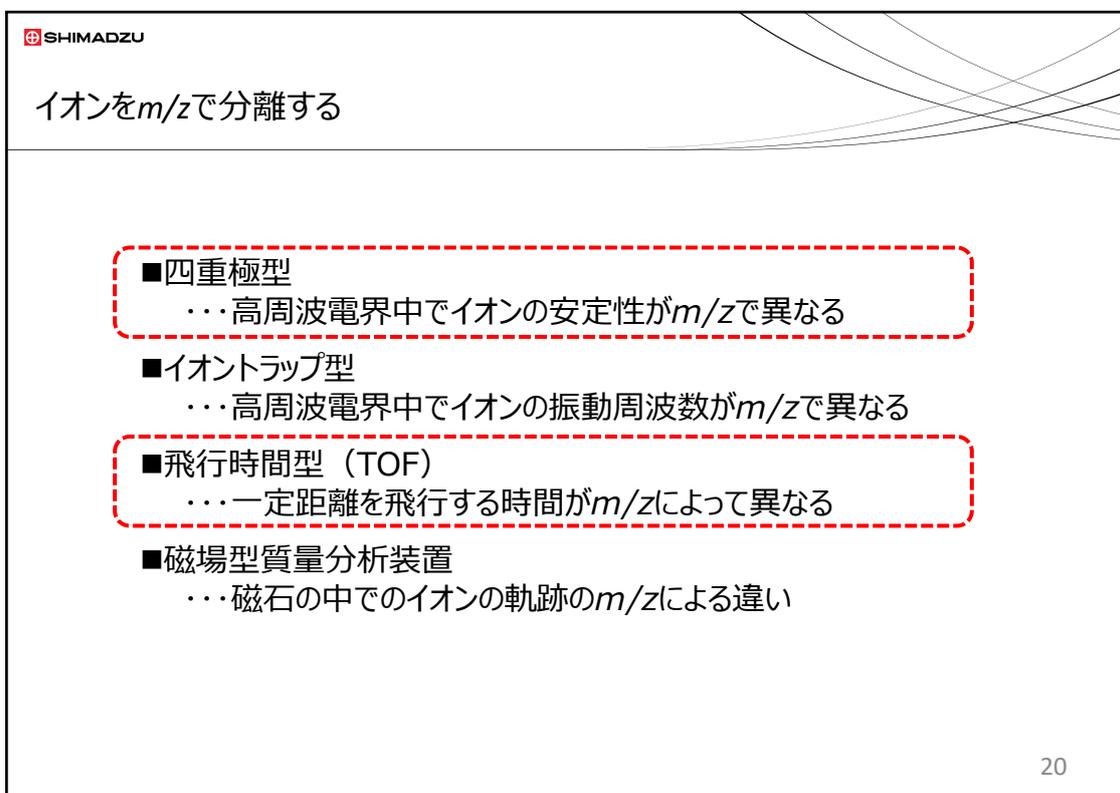
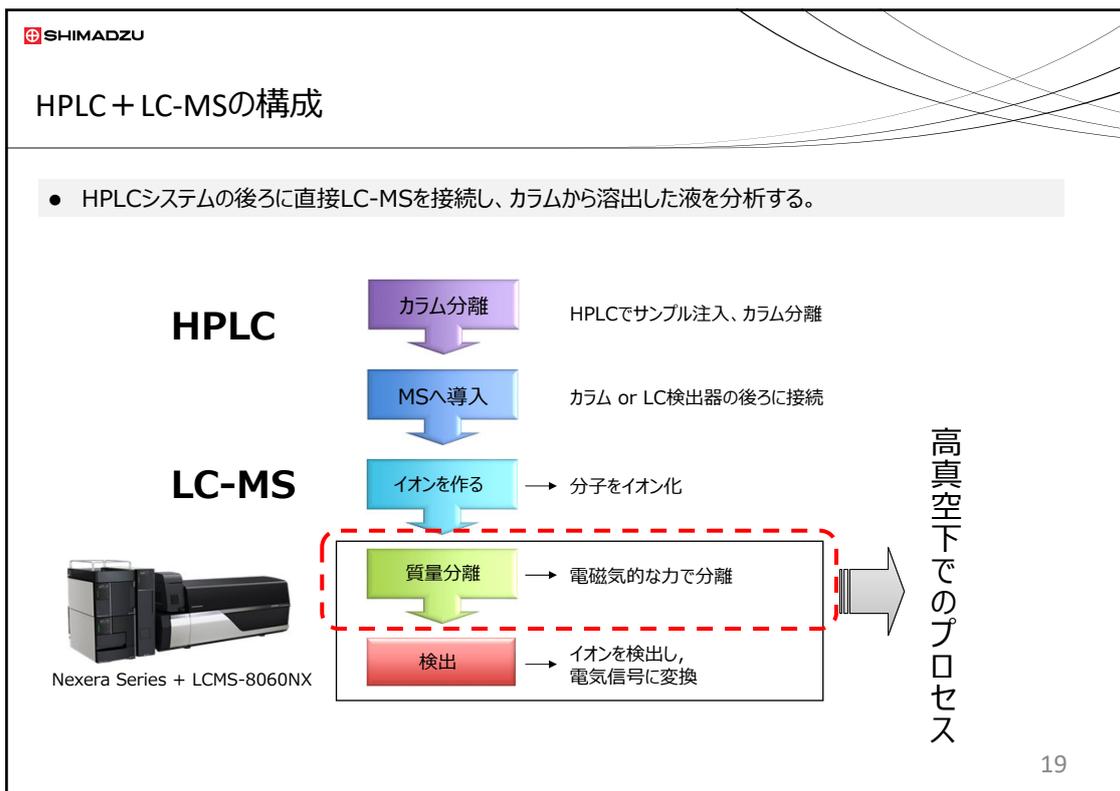
ESI法

APCI法

低極性 中極性 高極性

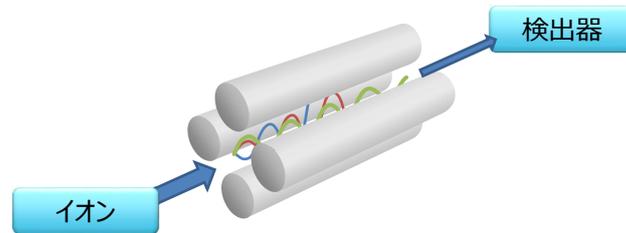
16





四重極 (QP:Quadrupole)型

- 4本の金属棒が等間隔に並べられ、対称にある棒の間に交流・直流電圧が印加されている。
- 電圧を調整することで、特定の質量電荷比のイオンのみを通過させることができる。



特定の電圧で印加することで、特定のイオンのみを通過させ高感度に測定できる。

➡ 定量用途に使用する (SIMモード)

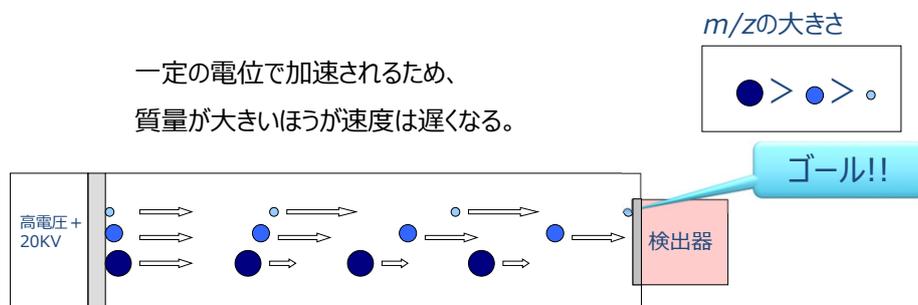
印加電圧を走査することで、複数のイオンを同時に測定しマススペクトルを描画できる。

➡ 定性用途に使用する (スキャンモード)

21

飛行時間 (TOF:Time-of-Flight) 型

- 一定距離を検出器に向かって飛行させると、イオンは m/z の小さいものから順番に検出器に到着する。
- イオンを加速してから到着するまでの時間を測定することで、そのイオンの m/z を求める。
- 精密質量測定が可能。



22

SHIMADZU

質量分離部を連結したMS/MS

- 質量分離部を2つ以上連結させることで、より高精度・高感度な分析が可能
- **四重極型2つ**を質量分離部として有するLC-MS/MSは、**より高感度に定量が可能**

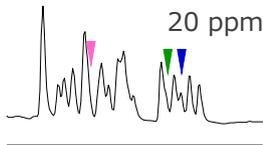
LC-MSは質量分離部として四重極を1つ有する
⇒バックグラウンドが高い場合がある

LC-MS/MSは質量分離部として四重極を2つ有する
⇒バックグラウンドが低くなり、S/N比が高いデータが得られる



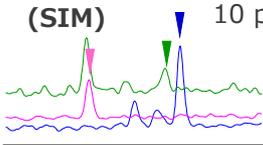
LCMS-8060NX

PDA
20 ppm



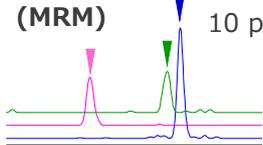
感度低く、バックグラウンドも高い

LC-MS (SIM)
10 ppb



高感度だが、バックグラウンドが高い

LC-MS/MS (MRM)
10 ppb



バックグラウンドを取り除き、高いS/Nで微量定量が可能

←
低
選択性・感度
高
→

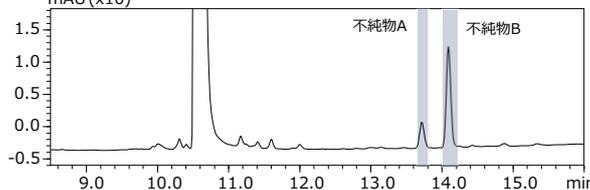
23

SHIMADZU

質量分離部を連結したMS/MS

- **四重極型と飛行時間型**を質量分離部として使用したLC-MS/MSは、**より高精度に定性が可能**

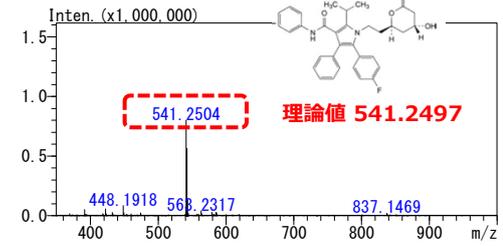
UVクロマトグラム
mAU (x10)



不純物A 不純物B

LCMS-9030

不純物A



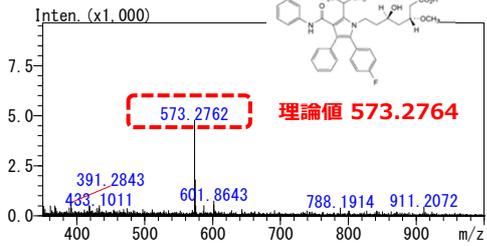
Inten. (x1,000,000)

理論値 541.2497

541.2504

448.1918 568.2317 837.1469

不純物B



Inten. (x1,000)

理論値 573.2764

573.2762

391.2843 433.1011 601.8643 788.1914 911.2072

QTOFではより小さい質量まで正確に測定できるため、**化合物の構造推定が可能**

24

SHIMADZU

各種質量分離部の特徴

	測定範囲	取扱い易さ	精密質量測定	MS ⁿ 測定	定性	定量
四重極型	~ m/z 2000	◎	×	×	△	◎
飛行時間型	理論的に無制限	△	◎	×	◎	△
イオントラップ型	~ m/z 2000	○	×	○	○	○
磁場型	~ m/z 10000	×	◎	×	◎	△

25

SHIMADZU

島津製作所 LC/MSラインナップ

Speed Beyond Comparison
UIMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY



LCMS-2020
シングル四重極

LCMS-8060NX
トリプル四重極

LCMS-9030
四重極 + 飛行時間型

26

まとめ

- 質量分析は、化合物をイオン化し電場をかけることで分離します。
- 得られるマススペクトル、マスキロマトグラムから、定性・定量が可能です。
- 質量分析計のポイントは、イオン化する部分と、質量で分離する部分の2つ。
イオン化法：ESI法、APCI法
質量分離：四重極型、飛行時間型など
それぞれ特徴があるので目的に応じて選んでください。