



分かりマス！LC/MSの基礎② ～よくあるトラブルと日常分析の留意点～

株式会社島津製作所 分析計測事業部



LC/MSラインナップ



シングル四重極型
LCMS-2020

- ・ シンプルなユーザーインターフェイス
- ・ UV検出器よりも高感度、高選択な定量



トリプル四重極型
LCMS-8060NX

- ・ MRMで高選択かつ高感度な定量
- ・ 多量成分の一斉分析に必要な高速性能
- ・ 各種スキャン分析による定性分析



Q-TOF型(ハイブリッドタイプ)
LCMS-9030

- ・ 高い分解能と質量精度を活用した組成推定
- ・ 四重極とTOFを組み合わせた定量
- ・ 精密質量による高選択な質量分離

LC/MS分析における注意点

- ① LC/MSは揮発性移動相を使用する
- ② LC/MSは移動相もイオン化する
- ③ 移動相に使用する有機溶媒はLC/MSグレードを使用する
- ④ イオンペア移動相は流路やインターフェイスを汚染する
- ⑤ 移動相選択では分離とイオン化効率の両方を考える必要がある
- ⑥ 注入量に注意する（サンプル溶媒の影響）
- ⑦ サンプルバイアルの汚れに注意する
- ⑧ サンプル希釈溶媒の影響
- ⑨ マトリクス効果について
- ⑩ 再現性不良

LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 3

LC/MS分析における注意点

- ① LC/MSは揮発性移動相を使用する
- ② LC/MSは移動相もイオン化する
- ③ 移動相に使用する有機溶媒はLC/MSグレードを使用する
- ④ イオンペア移動相は流路やインターフェイスを汚染する
- ⑤ 移動相選択では分離とイオン化効率の両方を考える必要がある
- ⑥ 注入量に注意する（サンプル溶媒の影響）
- ⑦ サンプルバイアルの汚れに注意する
- ⑧ サンプル希釈溶媒の影響
- ⑨ マトリクス効果について
- ⑩ 再現性不良

LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 4

① LC/MSに使用する移動相例

有機溶媒

アセトニトリル
メタノールなどアルコール類

水（高純度）

必要であればpH調整
0.1 % ぎ酸水溶液
2～10 mM ぎ酸アンモニウム水溶液
0.2 % 酢酸水溶液
2～10 mM 酢酸アンモニウム水溶液

* 各濃度は代表的な値

- りん酸，くえん酸緩衝液など不揮発性塩を含む移動相は使用できない。
- 対象化合物が比較的極性を有しているため，水・メタノール・アセトニトリルなどの極性移動相が必要。

① HPLC分離条件の工夫

● カラム分離の最適条件とMS検出の最適条件が異なる

- 溶液中でイオン型であることが望ましいが，逆相分離では分子型が望ましい。
- ポストカラムで pH の調整やイオン化効率をあげる溶液を添加

EX ポジティブイオン分析における酸の添加
ネガティブイオン分析におけるアミンの添加
順相分析におけるメタノールなどの添加

LC/MS分析における注意点

- ① LC/MSは揮発性移動相を使用する
- ② LC/MSは移動相もイオン化する
- ③ 移動相に使用する有機溶媒はLC/MSグレードを使用する
- ④ イオンペア移動相は流路やインターフェイスを汚染する
- ⑤ 移動相選択では分離とイオン化効率の両方を考える必要がある
- ⑥ 注入量に注意する（サンプル溶媒の影響）
- ⑦ サンプルバイアルの汚れに注意する
- ⑧ サンプル希釈溶媒の影響
- ⑨ マトリクス効果について
- ⑩ 再現性不良

LAAN-E-LM083

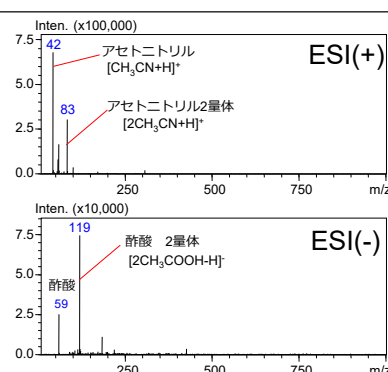
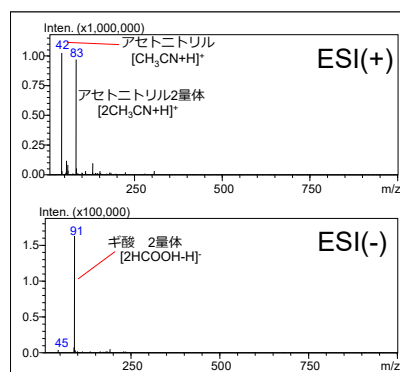
Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 7

② 移動相のイオン化

移動相組成

0.1%ギ酸水/
アセトニトリル = 1/1

5 mM酢酸アンモニウム水/
アセトニトリル = 1/1



LC-MSはイオン化された化合物がバックグラウンドとなりえます

LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 8

LC/MS分析における注意点

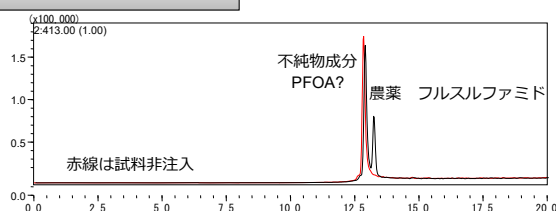
- ① LC/MSは揮発性移動相を使用する
- ② LC/MSは移動相もイオン化する
- ③ 移動相に使用する有機溶媒はLC/MSグレードを使用する
- ④ イオンペア移動相は流路やインターフェイスを汚染する
- ⑤ 移動相選択では分離とイオン化効率の両方を考える必要がある
- ⑥ 注入量に注意する（サンプル溶媒の影響）
- ⑦ サンプルバイアルの汚れに注意する
- ⑧ サンプル希釈溶媒の影響
- ⑨ マトリクス効果について
- ⑩ 再現性不良

LAAN-E-LM083

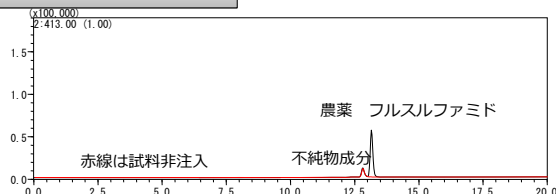
Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 9

③ 有機溶媒のグレード ESI(-) m/z 413

■ 市販 HPLC用 メタノール使用



■ 市販 LCMS用 メタノール使用



Column : Shim-pack FC-ODS (2.00 mm i.d. x 150 mm L.)
 Mobile phase A : 5 mmol/L Ammonium acetate water
 Mobile phase B : 5 mmol/L Ammonium acetate methanol
 Gradient program : 30%B (0 min) → 80%B (6 min) → 95%B (20 min) → 30%B (20.01 min) → STOP (35 min)
 Flow rate : 0.2 mL/min
 Column temp. : 40 °C

LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 10

LC/MS分析における注意点

- ① LC/MSは揮発性移動相を使用する
- ② LC/MSは移動相もイオン化する
- ③ 移動相に使用する有機溶媒はLC/MSグレードを使用する
- ④ イオンペア移動相は流路やインターフェイスを汚染する
- ⑤ 移動相選択では分離とイオン化効率の両方を考える必要がある
- ⑥ 注入量に注意する（サンプル溶媒の影響）
- ⑦ サンプルを入れるバイアルの汚れに注意する
- ⑧ サンプル希釈溶媒の影響
- ⑨ マトリクス効果について
- ⑩ 再現性不良

LAAN-E-LM083

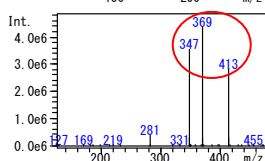
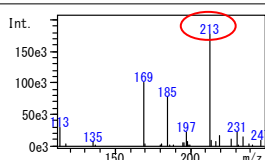
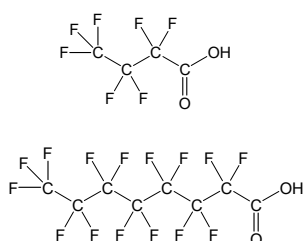
Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 11

④ イオンペア試薬の影響

パーフルオロカルボン酸

- ・塩基性化合物の測定用に使用できるが、LC流路、インターフェイスに長期間残存する
- ・ネガティブイオン測定で $[M-H]^-$ が観察され、他のネガティブイオンの分析に悪影響を及ぼす
- ・使用後、流路洗浄、インターフェイスの洗浄、あるいは交換が必要になる
- ・トリフルオロ酢酸（TFA）もネガティブイオン m/z 113, 227が残るので、他のイオンペア試薬と同様に使用には注意が必要

パーフルオロカルボン酸



LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 12

LC/MS分析における注意点

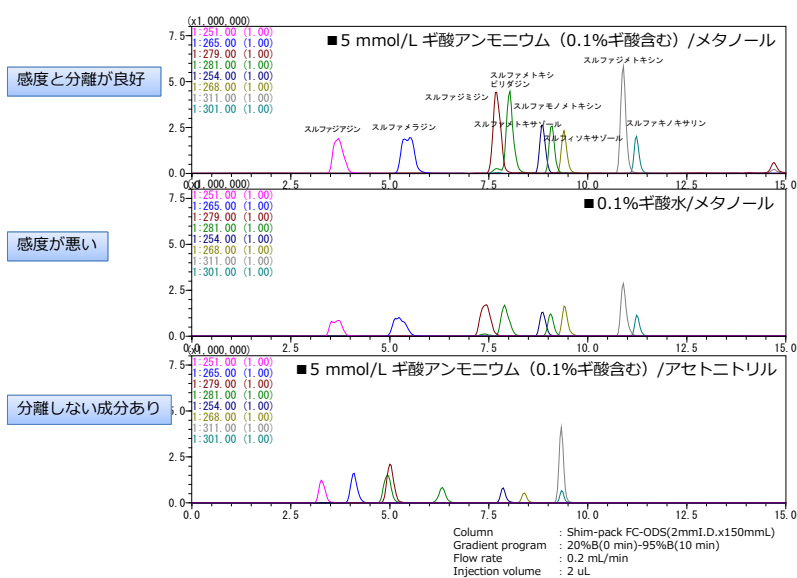
- ① LCMSは揮発性移動相を使用する
- ② LCMSは移動相もイオン化する
- ③ 移動相に使用する有機溶媒はLC/MSグレードを使用する
- ④ イオンペア移動相は流路やインターフェイスを汚染する
- ⑤ 移動相選択では分離とイオン化効率の両方を考える必要がある
- ⑥ 注入量に注意する（サンプル溶媒の影響）
- ⑦ サンプルを入れるバイアルの汚れに注意する
- ⑧ サンプル希釈溶媒の影響
- ⑨ マトリクス効果について
- ⑩ 再現性不良

LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 13

⑤ 移動相検討例

サルファ剤9成分一斉分析 ESI(+)Scan



LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 14

LC/MS分析における注意点

- ① LC/MSは揮発性移動相を使用する
- ② LC/MSは移動相もイオン化する
- ③ 移動相に使用する有機溶媒はLC/MSグレードを使用する
- ④ イオンペア移動相は流路やインターフェイスを汚染する
- ⑤ 移動相選択では分離とイオン化効率の両方を考える必要がある
- ⑥ 注入量に注意する（サンプル溶媒の影響）
- ⑦ サンプルバイアルの汚れに注意する
- ⑧ サンプル希釈溶媒の影響
- ⑨ マトリクス効果について
- ⑩ 再現性不良

LAAN-E-LM083

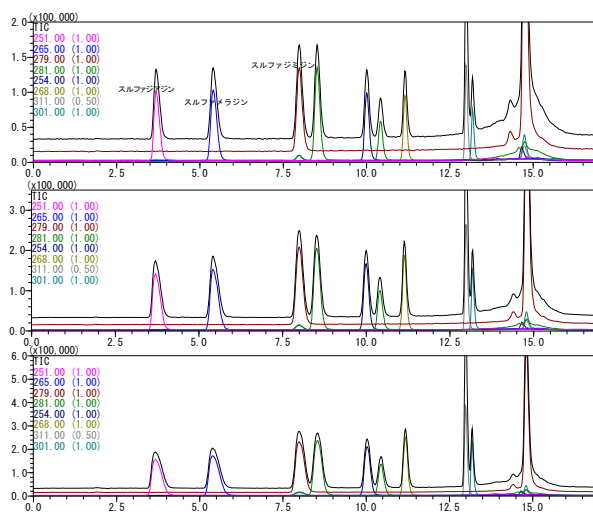
Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 15

⑥ 注入量に関する注意 カラム内拡散

注入量

35%メタノール溶媒

ESI(+)-SIM

5 μ L 注入10 μ L 注入15 μ L 注入

LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 16

LC/MS分析における注意点

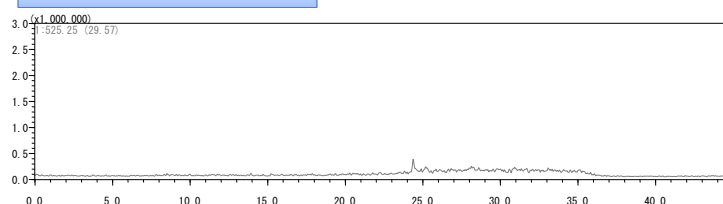
- ① LCMSは揮発性移動相を使用する
- ② LCMSは移動相もイオン化する
- ③ 移動相に使用する有機溶媒はLC/MSグレードを使用する
- ④ イオンペア移動相は流路やインターフェイスを汚染する
- ⑤ 移動相選択では分離とイオン化効率の両方を考える必要がある
- ⑥ セミマイクロカラムを使用する時の注入量には注意する（サンプル溶媒の影響）
- ⑦ サンプルを入れるバイアルの汚れに注意する
- ⑧ サンプル希釈溶媒の影響
- ⑨ マトリクス効果について
- ⑩ 再現性不良

LAAN-E-LM083

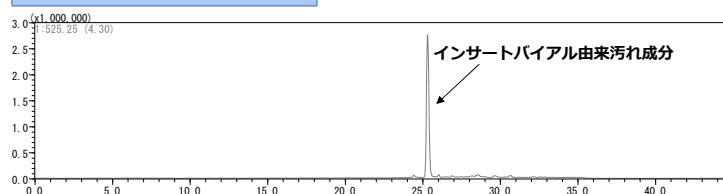
Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 17

⑦ サンプルバイアルの汚れ

■ インサートバイアル不使用



■ インサートバイアル使用



Column : Shimpack FC-ODS (2.00 mm i.d. x 150 mm L.)
 Mobile phase A : 5 mmol/L Ammonium acetate water
 Mobile phase B : 5 mmol/L Ammonium acetate methanol
 Gradient program : 15%B (0 min) → 40%B (1 min) → 95%B (20-30 min) → 15%B (30.01 min) → STOP(45 min)
 Flow rate : 0.2 mL/min
 Column temp. : 40 °C

バイアルはLCMS用など高品質なものを使用する

LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 18

LC/MS分析における注意点

- ① LCMSは揮発性移動相を使用する
- ② LCMSは移動相もイオン化する
- ③ 移動相に使用する有機溶媒はLC/MSグレードを使用する
- ④ イオンペア移動相は流路やインターフェイスを汚染する
- ⑤ 移動相選択では分離とイオン化効率の両方を考える必要がある
- ⑥ セミマイクロカラムを使用する時の注入量には注意する（サンプル溶媒の影響）
- ⑦ サンプルを入れるバイアルの汚れに注意する
- ⑧ サンプル希釈溶媒の影響
- ⑨ マトリクス効果について
- ⑩ 再現性不良

LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 19

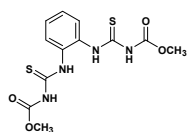
⑧ サンプル希釈溶媒の影響

市販の農薬混合標準品を

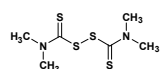
水で希釈

20%アセトリル水で希釈

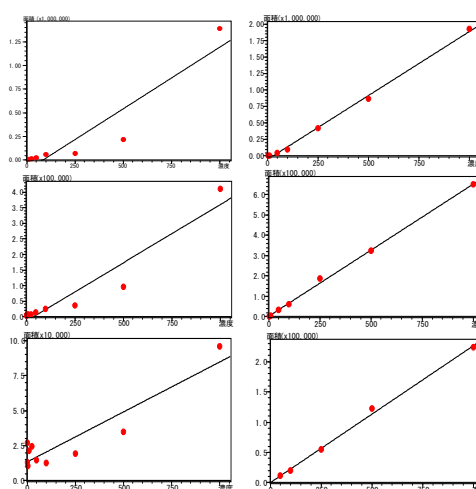
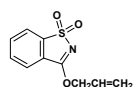
55_THIOPHANATE-METHYL ESI(+) m/z 343



1_THIRAM ESI (+) m/z 241



82_PROBENAZOLE ESI (+) m/z 224



LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 20

LC/MS分析における注意点

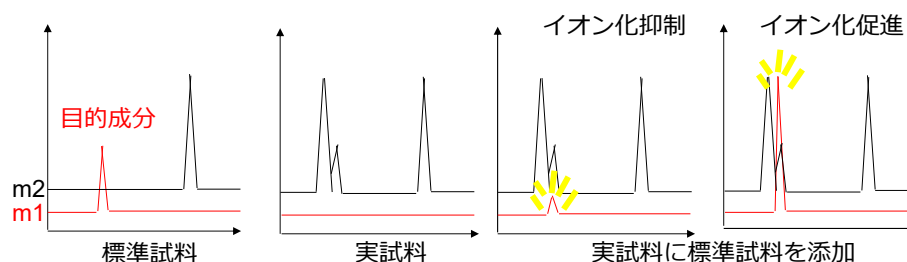
- ① LC/MSは揮発性移動相を使用する
- ② LC/MSは移動相もイオン化する
- ③ 移動相に使用する有機溶媒はLC/MSグレードを使用する
- ④ イオンペア移動相は流路やインターフェイスを汚染する
- ⑤ 移動相選択では分離とイオン化効率の両方を考える必要がある
- ⑥ 注入量に注意する（サンプル溶媒の影響）
- ⑦ サンプルバイアルの汚れに注意する
- ⑧ サンプル希釈溶媒の影響
- ⑨ マトリクス効果について
- ⑩ 再現性不良

LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 21

⑨ LC/MSのマトリクス効果

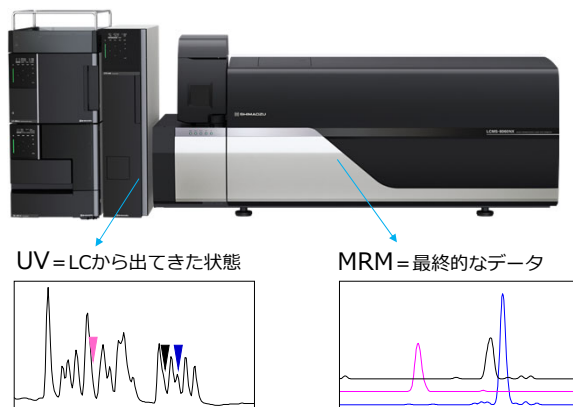
- 実試料中に存在する夾雑成分の影響で目的成分のイオン化が促進されたり、抑制されたりする現象のこと
- 確認方法 実試料に既知量の標準試料を添加し確認する
- 対策
 - ・ 前処理で夾雑成分を除去する
 - ・ クロマトグラフィーで、夾雑成分と目的成分を分離する
 - ・ 実試料を希釈し夾雑成分の濃度を下げる
 - ・ 標準添加法、内部標準法で検量線を作成する



LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 22

⑨ TQでもピーク分離は重要



最終的に得られるデータはMRMのデータ

でもイオン源に導入されるのは質量分離されていない汚い状態・・・

⇒ イオン化が不安定に（マトリックス効果）＝ 定量性が悪くなってしまう

⑨ マトリックス効果の低減

解決方法：

1. 夾雑と目的成分をわけろ

⇒ 前処理の追加もしくは**LCできちんと分離**を行う！！

2. 希釈を行う（1. が無理で感度が十分あるのであれば）

LC/MS分析における注意点

- ① LC/MSは揮発性移動相を使用する
- ② LC/MSは移動相もイオン化する
- ③ 移動相に使用する有機溶媒はLC/MSグレードを使用する
- ④ イオンペア移動相は流路やインターフェイスを汚染する
- ⑤ 移動相選択では分離とイオン化効率の両方を考える必要がある
- ⑥ 注入量に注意する（サンプル溶媒の影響）
- ⑦ サンプルバイアルの汚れに注意する
- ⑧ サンプル希釈溶媒の影響
- ⑨ マトリクス効果について
- ⑩ 再現性不良

LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 25

⑩ 再現性不良

1, LCの超高速化

・ピークの溶出時間が短く、シャープに。

→MSが遅いとシャープなピークに対して十分なデータポイント数が得られず**再現性不良**に

2, 対象化合物の増加

・一度にたくさんの成分を分析しなければいけない

→質量切替*に時間がかかるとデータ採取してる時間**が減り**再現性不良**

・正負それぞれ最適な化合物が混在

→正負切替に時間がかかると1つのデータポイント採取時間***が長くなり**再現性不良**

* 切替時間: **Pause time** ** データ採取している時間: **Dwell time**

***1つのデータポイント採取時間 = Dwell time + Pause time + 正負切替時間

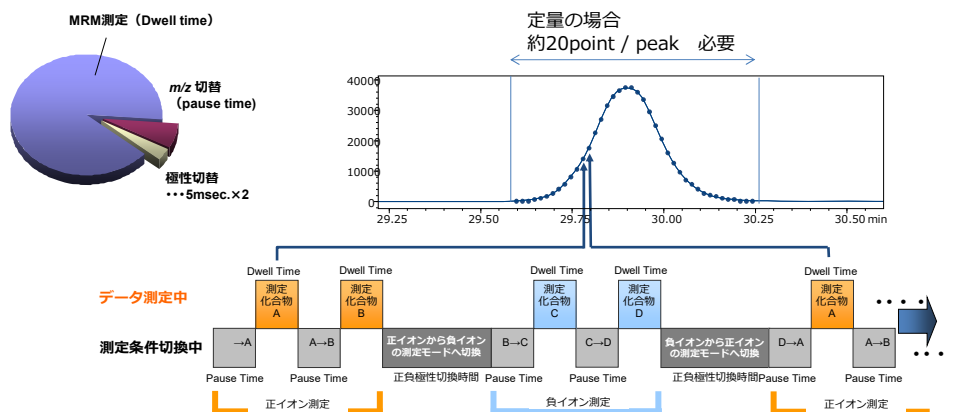
LAAN-E-LM083

Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 26

SHIMADZU

⑩データポイント数の重要性

- 正負イオン化極性切替時間
- m/z 切替時間 (Pause time)



LAAN-E-LM083



- 高速性の高い装置を選択
- 成分数の制限、極性毎に分析を分ける、高速条件の緩和

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY

27

SHIMADZU

島津製作所 LC/MSラインナップ

Speed Beyond Comparison

UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY



LCMS-2020
(single quad)



LCMS-8040
(Triple quad)



LCMS-8045
(Triple quad)



LCMS-8050
(Triple quad)



LCMS-8060NX
(Triple quad)



LCMS-9030
(Q-TOF)

LAAN-E-LM083



ポイントを押さえた使い方、LC/MSの積極活用を

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY

28