



「分かりマス！LCMSの基礎」 基礎知識，運用ノウハウから，最新の小型化技術 まで完全網羅の50分

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

LC/MS分析における注意点

本日の内容

質量分析概要

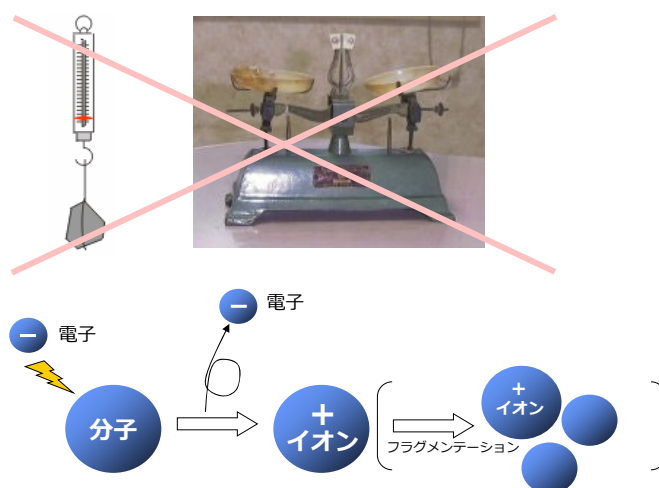
LC/MSの基礎

LC/MS分析における注意点

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 3

そもそも、分子の“質量”をはかるとは・・・



分子の質量をはかるには、物質を気相状態に（イオン化）して真空中で分離・検出する質量分析法（計）を用いる

荷電粒子の挙動を観測

HCQB-0007

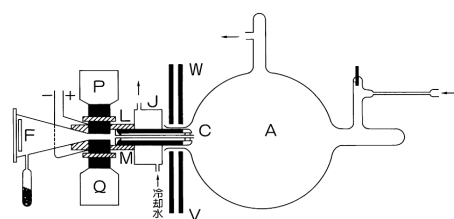
Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 4

質量分析の起源

1897年 「電子の電界による進行方向の変化」の実験 (J.J. Thomson)
陰極線の正体は荷電粒子 (電子の発見)

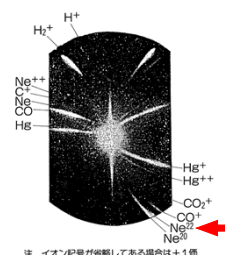
↓
粒子の電荷と質量の比に応じて電界の中や磁界の中で曲がる

1913年 ^{20}Ne と ^{22}Ne を区別して観測・同位体の発見 (J.J. Thomson)
→ この手法が質量分析へ発展



トムソンの質量分析装置

A. 陰極線発生管、F. 陰極線、C. 陰極線を通させる際に絶縁を穿った陰極、
L.M. は二重の絶縁膜片でP.Q.なる電磁石の極の一部をなす。
電磁石L及びMの間にかける。W.V. 陰極を利用した絶縁装置、J. 冷却器



注 イオン記号が省略してある場合は+1価

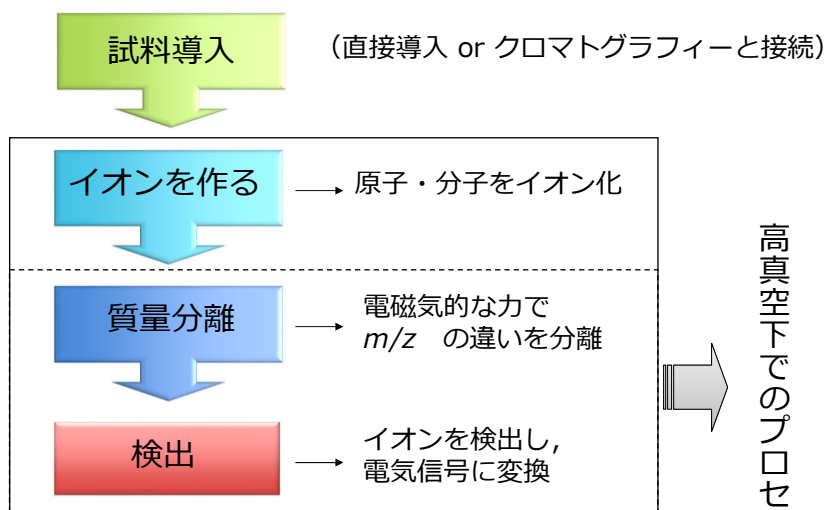
— 3 — トムソンの質量分析装置の
放射線写真

出典： 菊池 正士、「原子核及び元素
の人工転換」 岩波、1938年

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
U10G
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 5

質量分析装置の構成



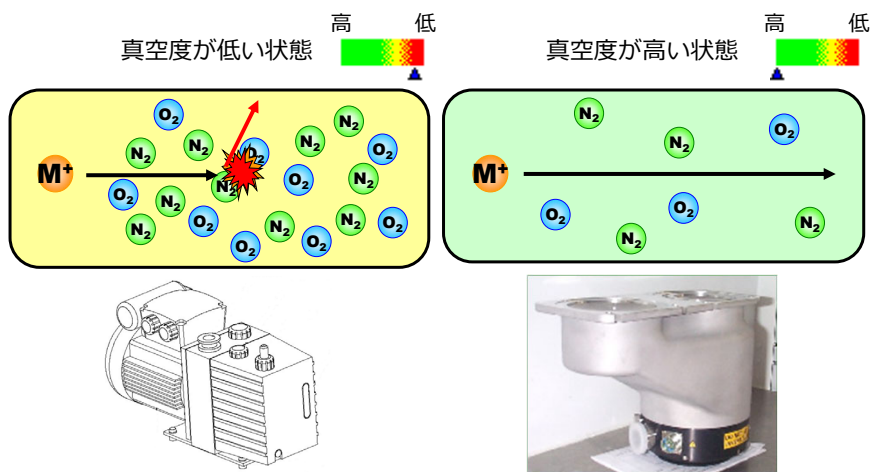
HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
U10G
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 6

SHIMADZU

なぜ高真空が必要か？

- 発生したイオンを検出器まで効率よく到達させるため。
- 真空度が悪い（空気等、ガス分子が大量に存在する）と目的成分が検出器まで到達することができない。



HCQB-0007

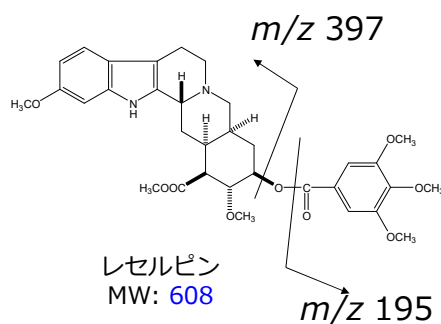
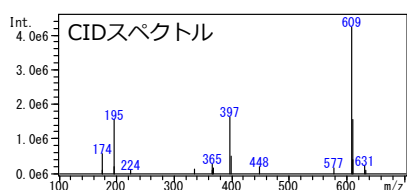
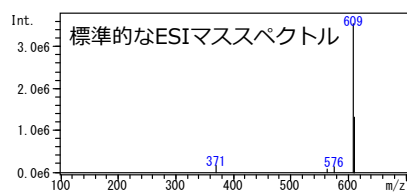
 Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 7

SHIMADZU

質量分析計で何がわかる？

■定性分析（分子量および構造情報の確認）

⇒検出されたマスペクトルから構造情報が得られる。



HCQB-0007

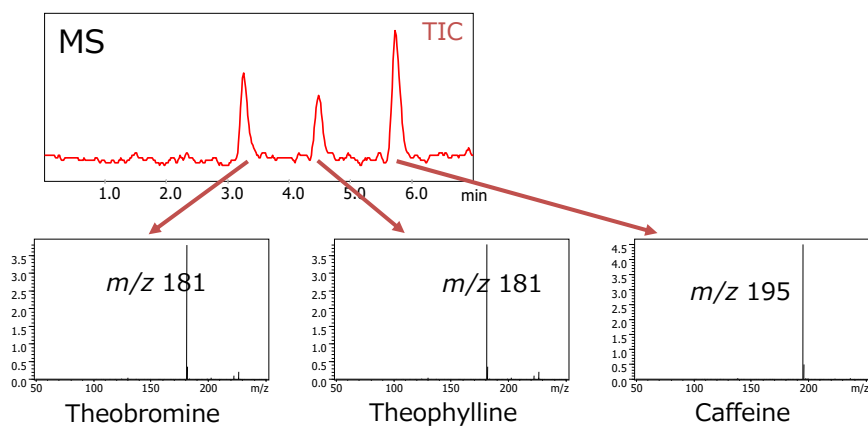
 Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 8

SHIMADZU

GC, LCと組み合わせて…

■定性分析（分子量の確認）

⇒多成分の混合物でもクロマトピーク毎のマスペクトルから分子量を確認できる。



HCQB-0007

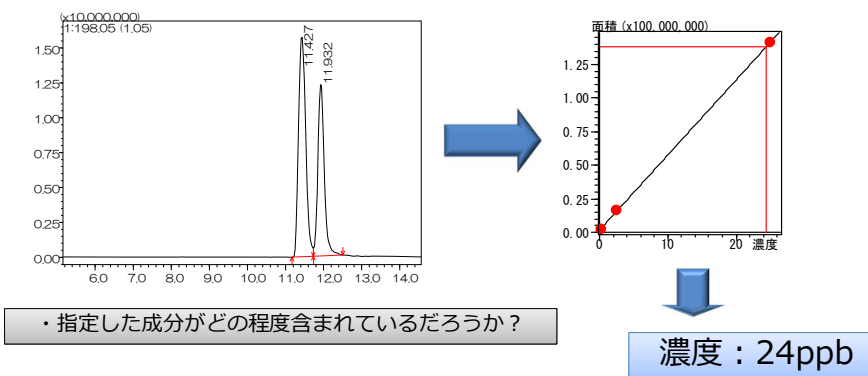
Speed Beyond Comparison
U10G
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 9

SHIMADZU

GC, LCと組み合わせて…

■定量分析

⇒GC, LCと同様にマスキロマトグラムデータを取得し、ピーク面積値から定量計算を行う



HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
U10G
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 10

本日の内容

質量分析概要

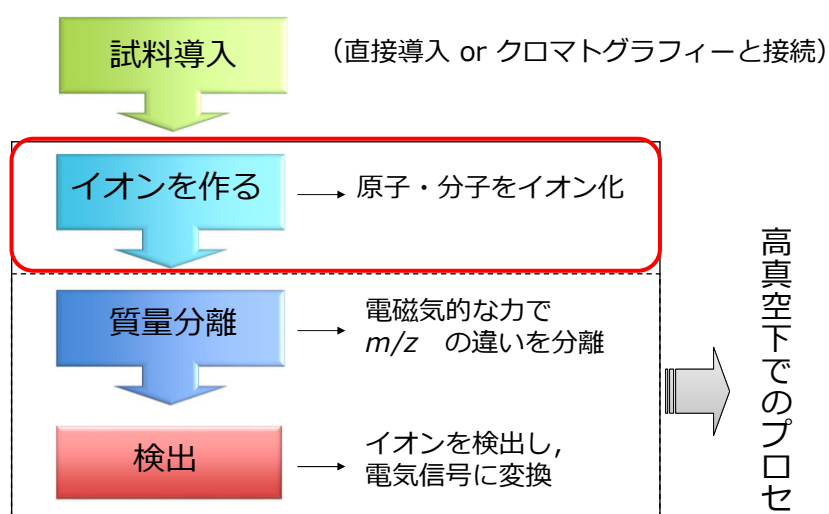
LC/MSの基礎

LC/MS分析における注意点

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 11

質量分析装置の構成



HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 12

イオン化法

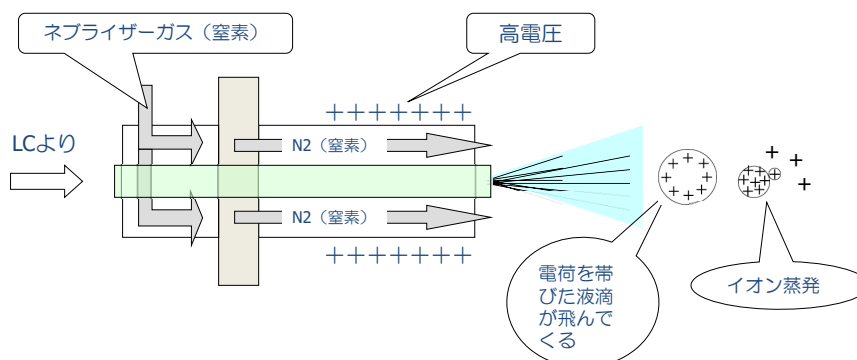
- 気相でイオンを作る。
 - …電子衝撃(Electron Impact)
 - …化学イオン化(Chemical Ionization)
 - …大気圧化学イオン化(APCI)
 - …大気圧光イオン化(APPI)
- 液相からイオンを作る。(Spray法)
 - …Thermospray
 - …Electrospray(ESI)
- 固相からイオンを作る。(Desorption法)
 - …FD(Field desorption)
 - …SIMS/FAB(Fast Atom Bombardment)
 - …MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization)

HCQB-0007

 Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 13

ESI法 (Electrospray Ionization)

エレクトロスプレー。LCMSでは最もポピュラーなイオン化方法
 大気圧下、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
 →ネブライザーガス（窒素）の助けを借り、液を霧状にスプレーする。
 →プローブの先端に高電圧をかけイオン化を行う。

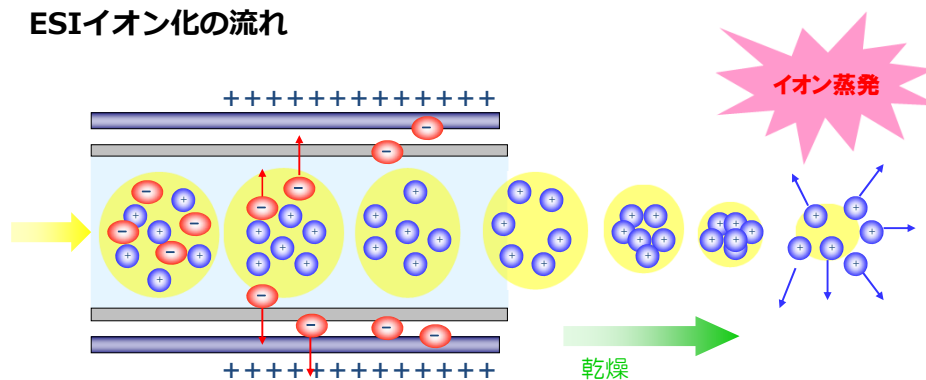


HCQB-0007

 Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 14

ESI法 (Electrospray Ionization)

ESIイオン化の流れ



HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
U10G
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 15

ESI法 (Electrospray Ionization)

- イオン状態になりやすい、**中極性～高極性**の物質に適する。
- 試料の分子構造の中に**極性官能基**があればESIでイオン化可能
⇒ HPLC-**逆相クロマトグラフィー**の対象化合物の多くはESIで分析できる。
- $-\text{NH}_2$ 基等の数に応じて**多価イオンを生成**し、分子量数万の物質の測定をすることができる。

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
U10G
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 16

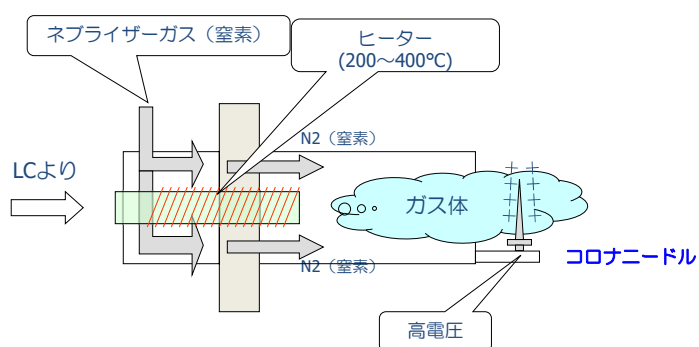
APCI法 (Atmosphere Pressure Chemical Ionization)

大気圧下、気相でのイオン化。移動相中の溶媒をイオン化しサンプルと化学反応させ行われる。

→高温ヒーターで液体を気体にした後、ネブライザガスの助けを借り、ガス体を噴出させます。

→コロナニードルに高電圧をかけ、放電を起こし移動相溶媒をイオン化。

→この溶媒イオンとサンプル分子との化学反応（一般的に $[H^+]$ 水素イオン交換反応）でイオン化を行う。

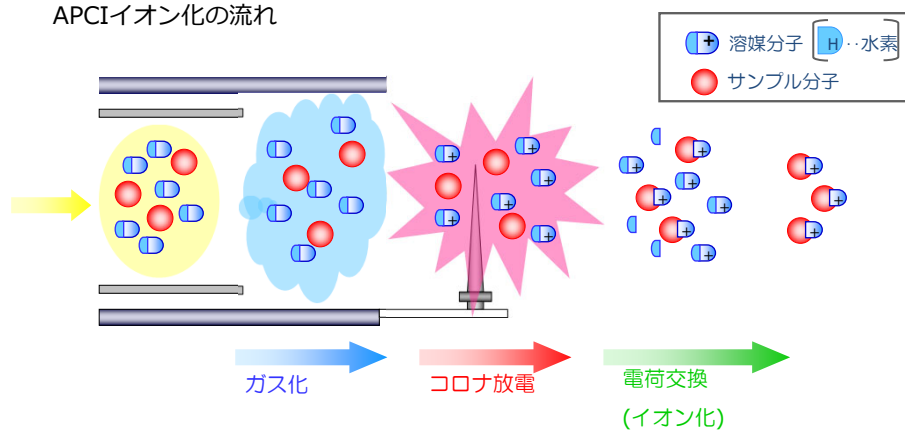


HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UPLC
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 17

APCI法 (Atmosphere Pressure Chemical Ionization)

APCIイオン化の流れ



HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UPLC
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 18

APCI法 (Atmosphere Pressure Chemical Ionization)

- 極性の低い化合物をイオン化することができる。
- 熱に不安定な化合物などは不向き。
- 反応イオンからイオンを受け取る能力は、試料のプロトン親和力に依存する。
- 多価イオンは生成しない。

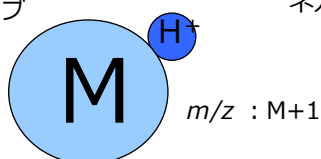
HCQB-0007

 Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 19

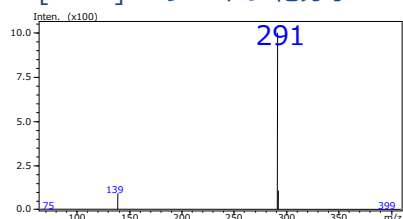
LC/MSのイオン化について

■ 分子量MをLC/MSで分析した場合 (カテキン M.W. 290)

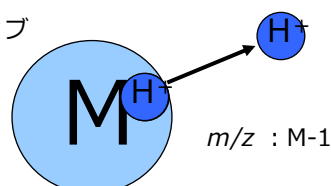
ポジティブ



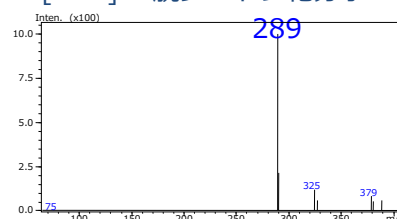
$[M+H]^+$: プロトン化分子



ネガティブ



$[M-H]^-$: 脱プロトン化分子



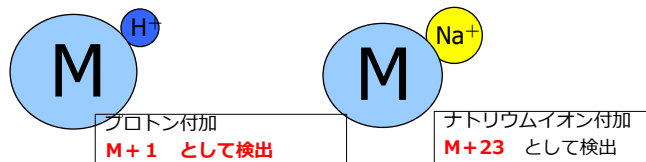
HCQB-0007

 Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 20

LC/MSのイオン化について

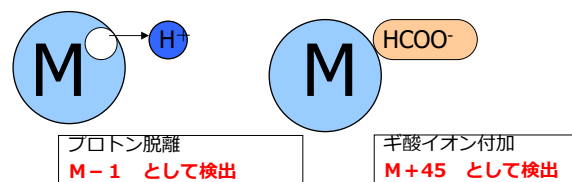
(ポジティブ)

「プロトン(H^+)」が付加。プロトン以外が付加される場合もある。



(ネガティブ)

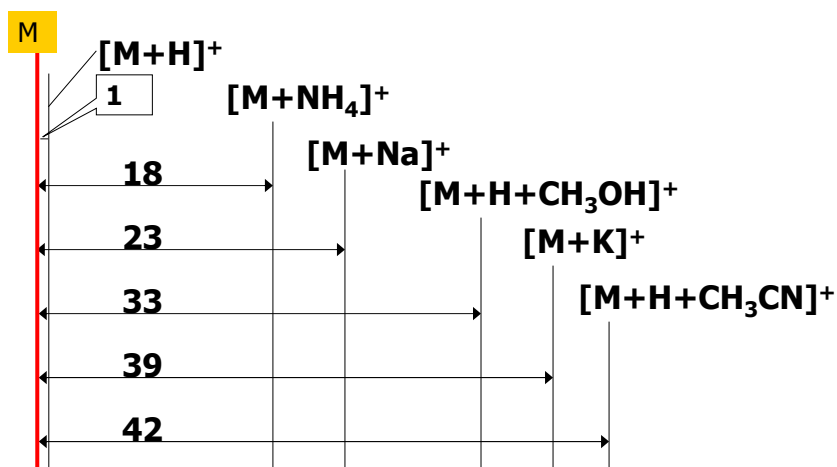
「プロトン(H^+)」が脱離。もしくはネガティブイオンが付加する場合もある。



HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 21

ポジティブモードでの関連イオン

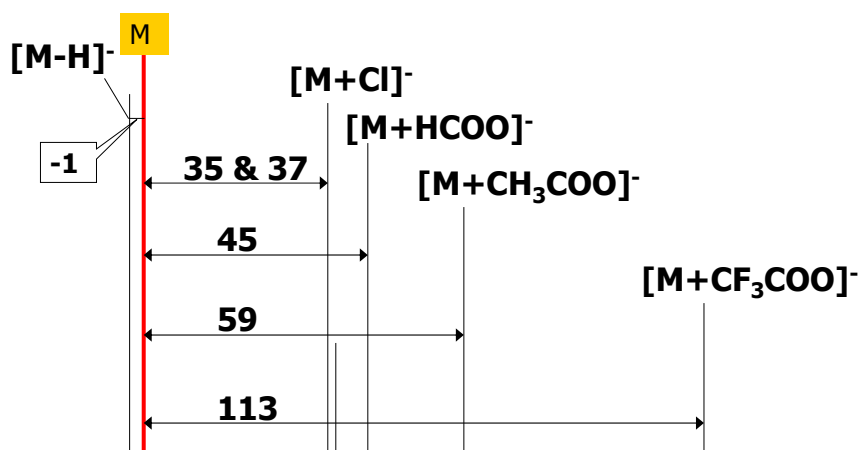


HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 22

SHIMADZU

ネガティブモードでの関連イオン

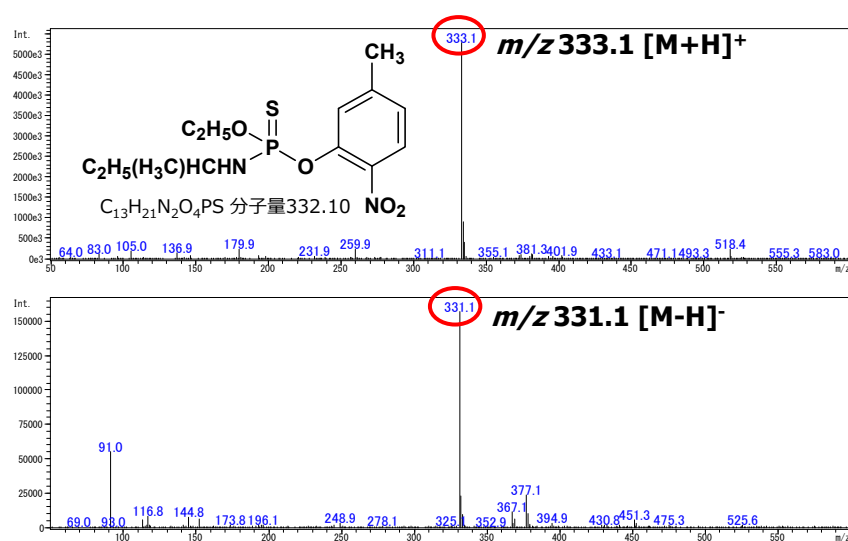


HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
U10G
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 23

SHIMADZU

ブタミホス

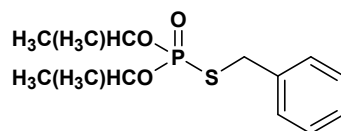
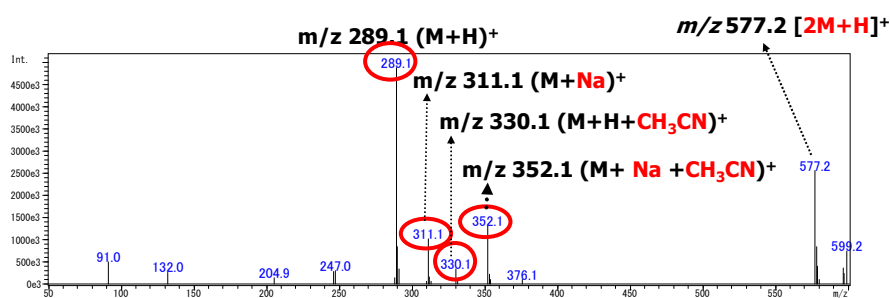


HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
U10G
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 24

SHIMADZU

イプロベンホス

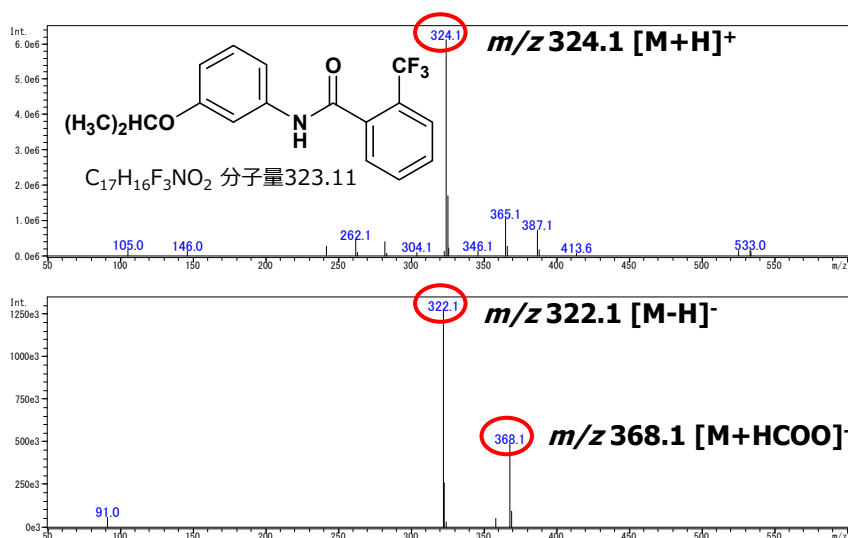
C₁₃H₂₁O₃PS 分子量288.09

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
U10G
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 25

SHIMADZU

フトラニル



HCQB-0007

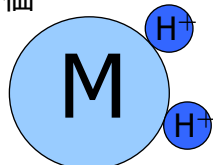
Speed Beyond Comparison
U10G
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 26

SHIMADZU

多価イオン

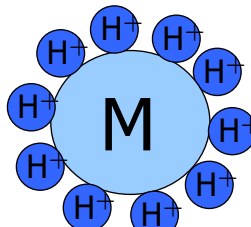
•ESIでは、多価イオンを生成することがある

2 価



質量 : $M+2$
 m/z : $(M+2) / 2$

10 価



質量 : $M+10$
 m/z : $(M+10) / 10$

•分子量を10000とすると,
 プロトン付加 10価イオンは m/z 1001
 20価イオンは m/z 501



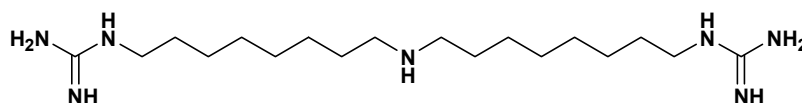
分子量数万の化合物も
 測定可能

HCQB-0007

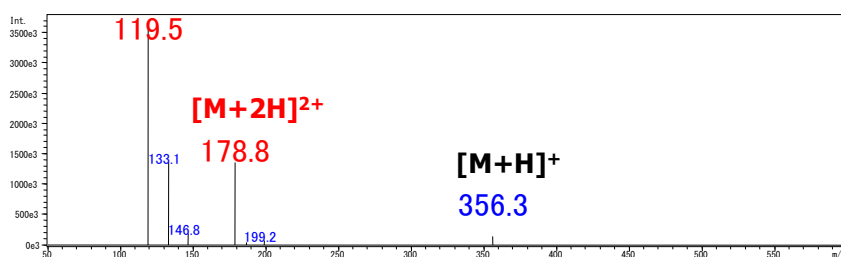
Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 27

SHIMADZU

イミノクタジン

 $C_{18}H_{41}N_7$ 分子量355.34


$[M+3H]^{3+}$

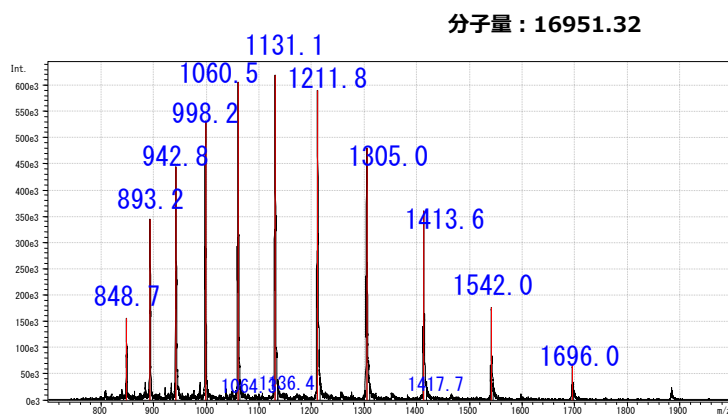


HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 28

SHIMADZU

ミオグロビン



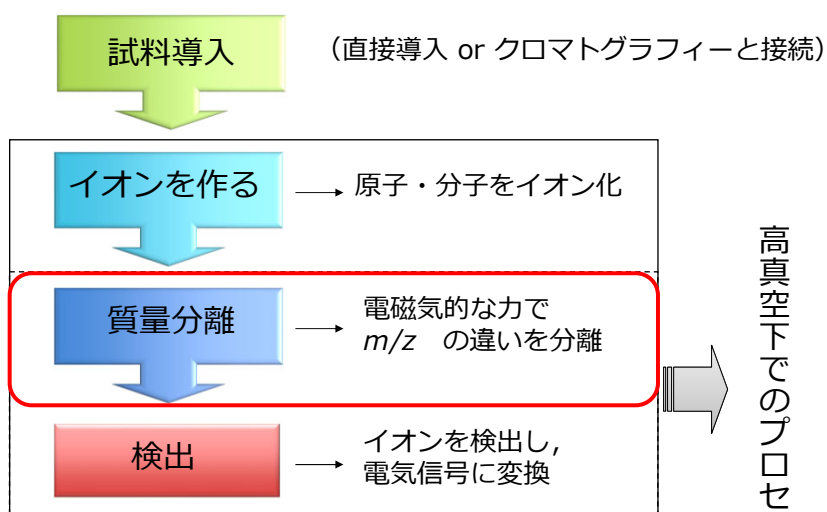
ミオグロビンに含まれる塩基性アミノ酸の数に応じて多価イオンが生成

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFGS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 29

SHIMADZU

質量分析装置の構成



HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFGS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 30

イオンを m/z で分離する

■四重極型

…高周波電界中におけるイオンの軌道安定性が m/z で異なる

■飛行時間型 (TOF)

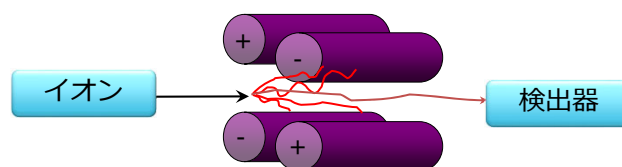
…一定距離を飛行する時間が m/z によって異なる

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UIMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 31

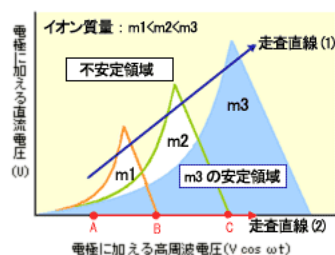
四重極 (QP:Quadrupole)型

QP (Quadrupole : カドラポール) … 4本の金属 (導体) の棒状電極からなる。



■ 4本のロッドを平行に位置させ、その対向位置のロッドに同一方向の電位を与える。

■ 直流電圧(DC)と高周波電圧(RF)を重ね合わせた電位を与えることにより、安定振動領域にあるイオンのみが、四重極ロッドを通過できる。

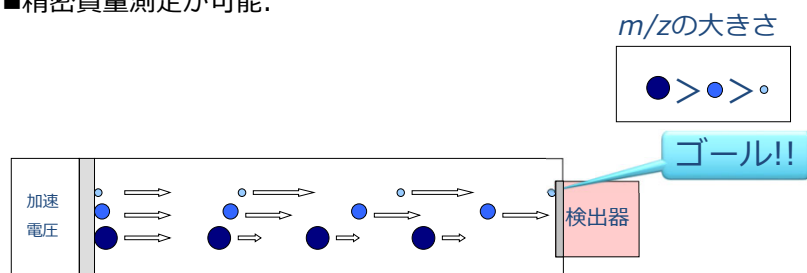


HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UIMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 32

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。
- イオン化をパルス的に行う必要がある。
- 精密質量測定が可能。

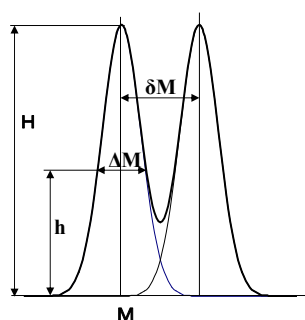


HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 33

分解能

- どれだけ小さい m/z 差を分離できるかの指標。
- 分解能 $R = M/\delta M$ (高分解能)
- h/H は、10%あるいは50%が用いられる。



☆飛行時間型は分解能が一定
 分解能 $R = 10000$ の場合

m/z 100では
 $10000 = 100/\Delta M$ なので $\Delta M = 0.01$

m/z 10000では
 $10000 = 10000/\Delta M$ なので $\Delta M = 1$

☆四重極型は半値幅が一定
 $\Delta M = 0.5$ の場合 分解能 $R = 2M$ と表示される。

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 34

精密質量

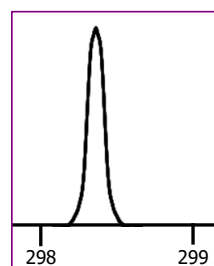
精密質量：

^{12}C の質量を12 uと定義し、それぞれの原子の質量を小数点以下まで算出した質量

主な原子の精密質量

M	質量	M + 1	質量	M + 2	質量
^1H	1.0078250	^2H	2.0141018	-	
^{12}C	12.0000000	^{13}C	13.0033548	-	
^{14}N	14.0030740	^{15}N	15.0001089	-	
^{16}O	15.9949146	^{17}O		^{18}O	17.9991604
^{28}Si	27.9769265	^{29}Si	28.9764947	^{30}Si	29.9737702
^{32}S	31.9720707	^{33}S		^{34}S	33.9678668
^{35}Cl	34.9688527	-		^{37}Cl	36.9659026
^{79}Br	78.9183380	-		^{81}Br	80.9162910
^{19}F	18.9984032	-		-	
^{31}P	30.9737615	-		-	
^{127}I	126.9044680	-		-	

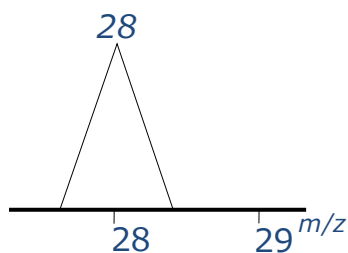
$\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_2$ は、298.2872の位置に分子イオンピークが出現する



HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UIMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 35

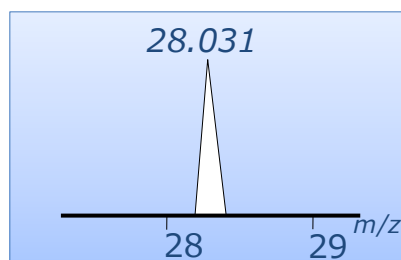
精密質量測定の有用性



分子量28から考えられる化合物は、

CO , N_2 , C_2H_4 の3個

⇒整数だけではどれかに決定することはできない!!



CO = 27.9949

N_2 = 28.0062

C_2H_4 = 28.0312

より、この物質は C_2H_4 と同定される。

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UIMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 36

質量分離部の特徴

	測定範囲	取扱い易さ	精密質量測定	定性	定量
四重極型 QP	~m/z 2000	◎	×	△	◎
飛行時間型 TOF	理論的に無制限	△	◎	◎	△

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 37

当社のLC/MS装置ラインナップ



シングル四重極型
LCMS-2050

- ・ 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-9050

- ・ 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

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 38

SHIMADZU

質量分析概要

LC/MSの基礎

LC/MS分析における注意点

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 39

SHIMADZU

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ースを汚染する
- 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

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 40

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ースを汚染する
- 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

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 41

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。

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 42

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

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 43

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ースを汚染する
- 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

HCQB-0007

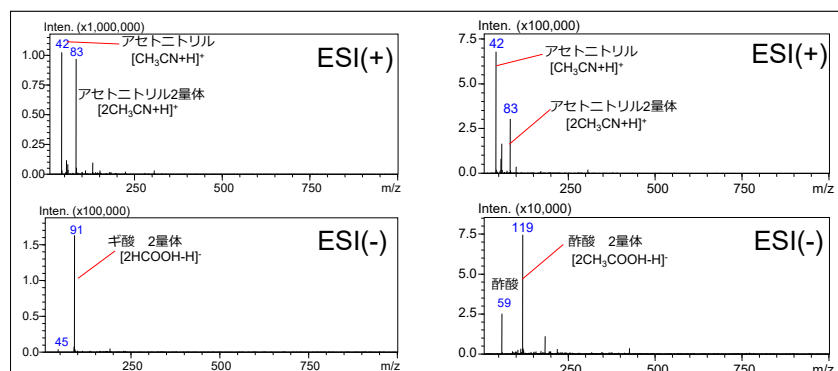
Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 44

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

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UPLC/MS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 45

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ースを汚染する
- 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

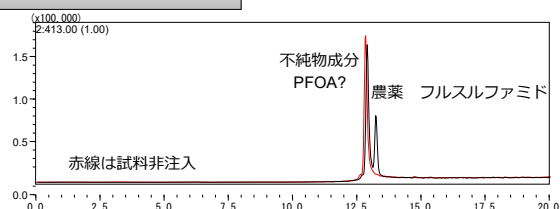
HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UPLC/MS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 46

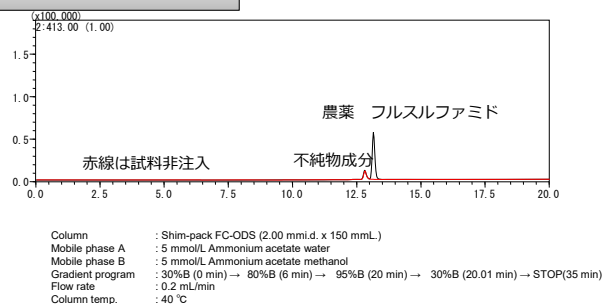
SHIMADZU

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



HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 47

SHIMADZU

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ースを汚染する
- 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

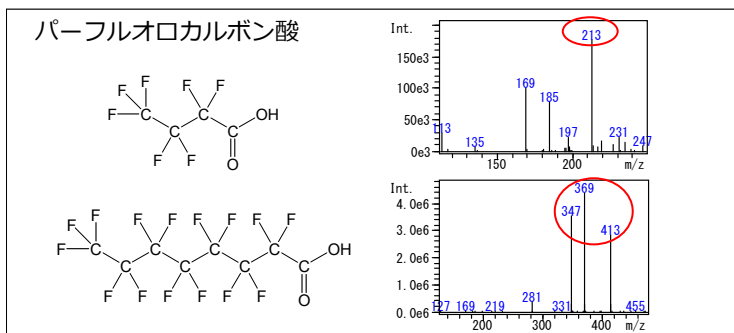
HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 48

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
- ・使用后、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



HCQB-0007

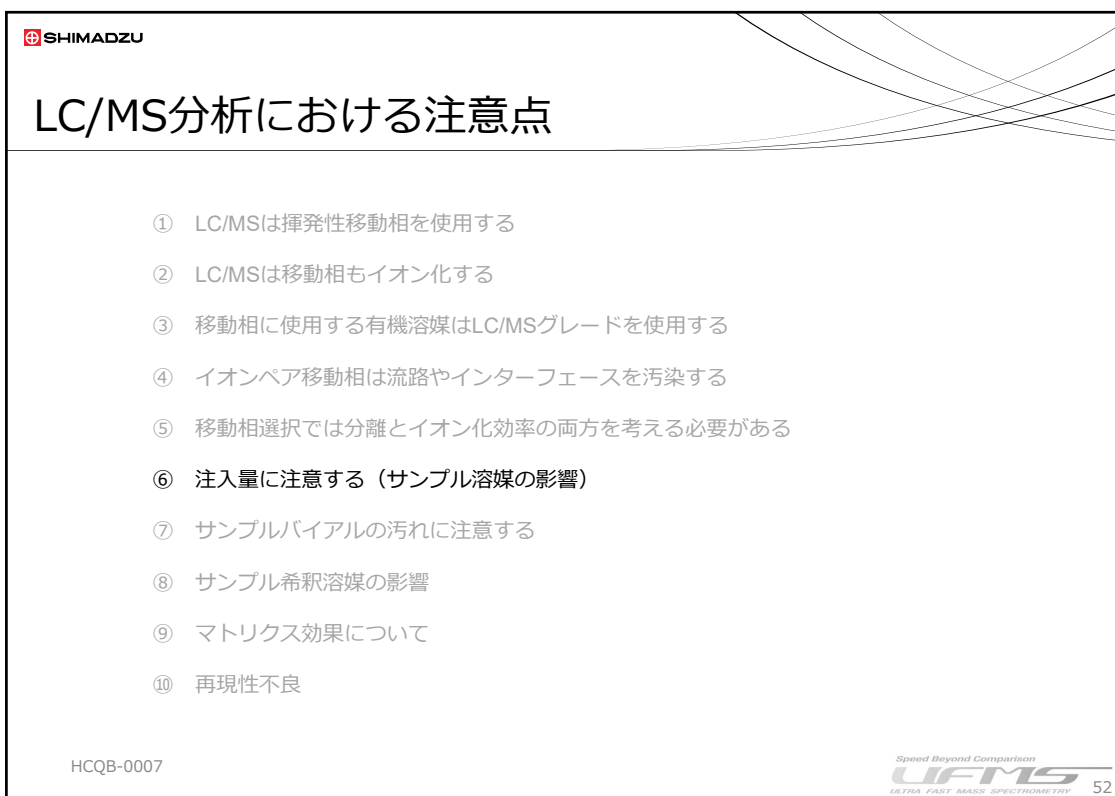
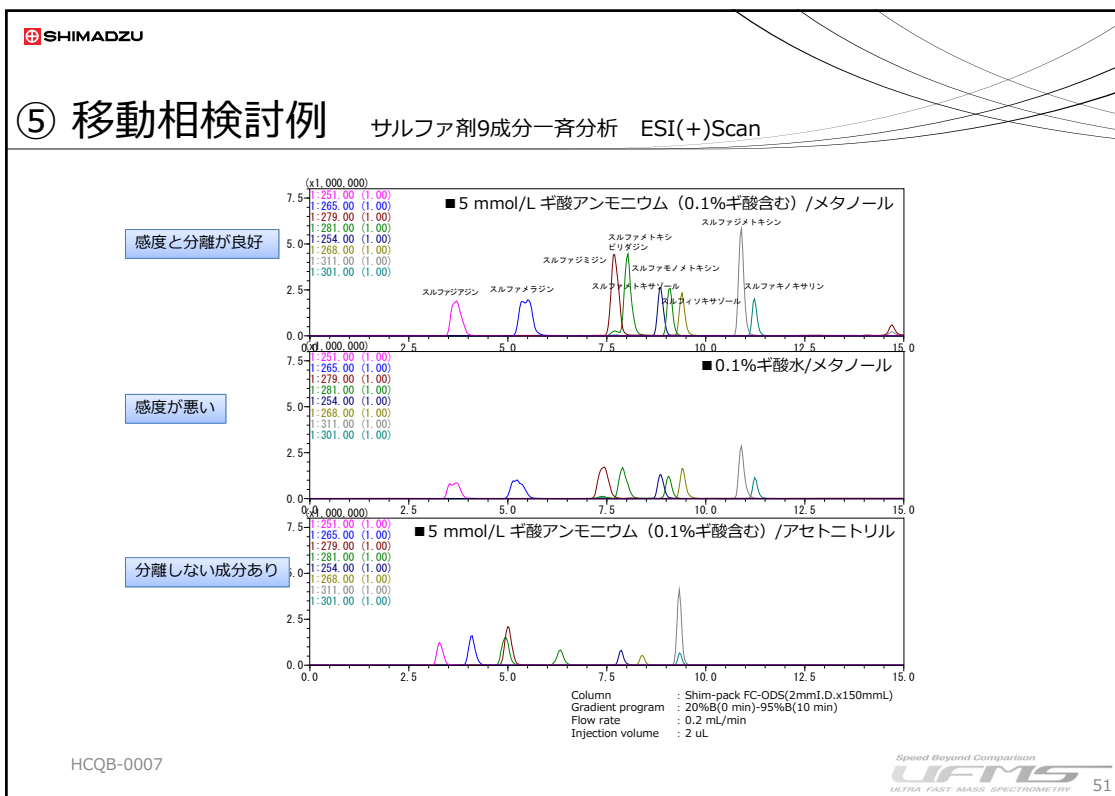
Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 49

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ースを汚染する
- 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

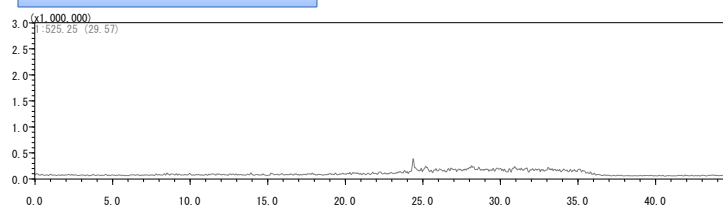
HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UFMS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 50

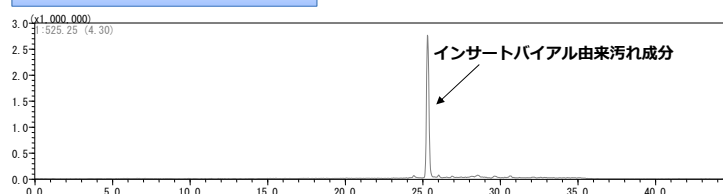


⑦ サンプルバイアルの汚れ

■ 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

HCQB-0007

バイアルはLC/MS用など高品質なものを使用する

Speed Beyond Comparison
UPLC/MS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 55

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ースを汚染する
- 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

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UPLC/MS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 56

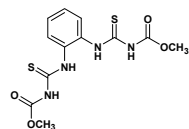
⑧ サンプル希釈溶媒の影響

市販の農薬混合標準品を

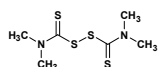
水で希釈

20%アセトリル水で希釈

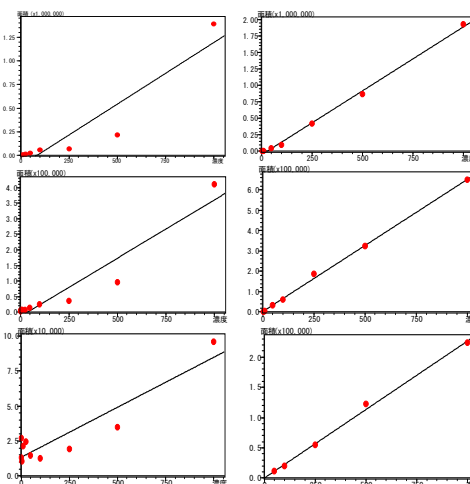
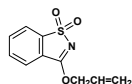
55_THIOPHANATE-METHYL ESI(+) m/z 343



1_THIRAM ESI (+) m/z 241



82_PROBENAZOLE ESI (+) m/z 224



HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 57

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ースを汚染する
- 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

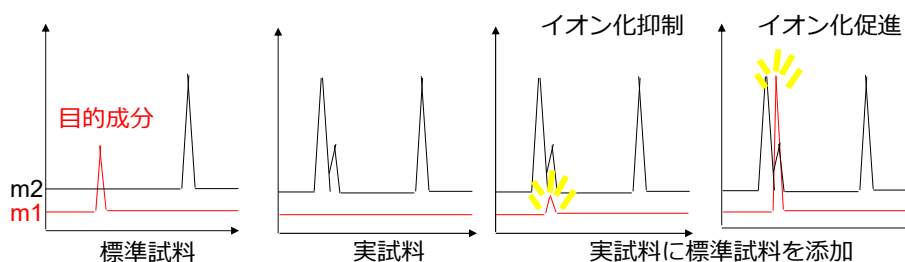
HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
U10G
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 58

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

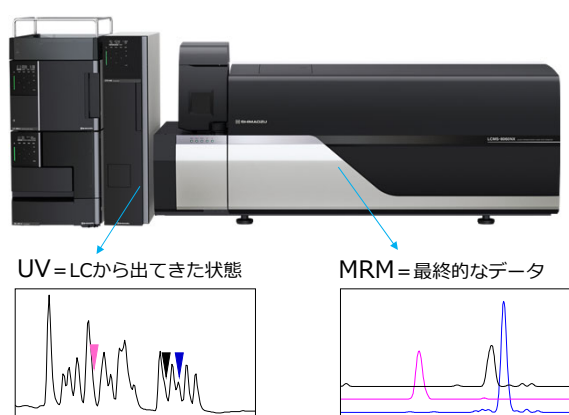


- 対策
 - ・ 前処理で夾雑成分を除去する
 - ・ クロマトグラフィーで、夾雑成分と目的成分を分離する
 - ・ 実試料を希釈し夾雑成分の濃度を下げる
 - ・ 標準添加法, 内部標準法で検量線を作成する

HCQB-0007

 Speed Beyond Comparison
U10MS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 59

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

HCQB-0007

 Speed Beyond Comparison
U10MS
 ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 60

⑨ マトリクス効果の低減

解決方法：

1. 夾雑と目的成分をわけける

⇒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）

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UPLC
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 61

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ースを汚染する
- 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

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
UPLC
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 62

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**

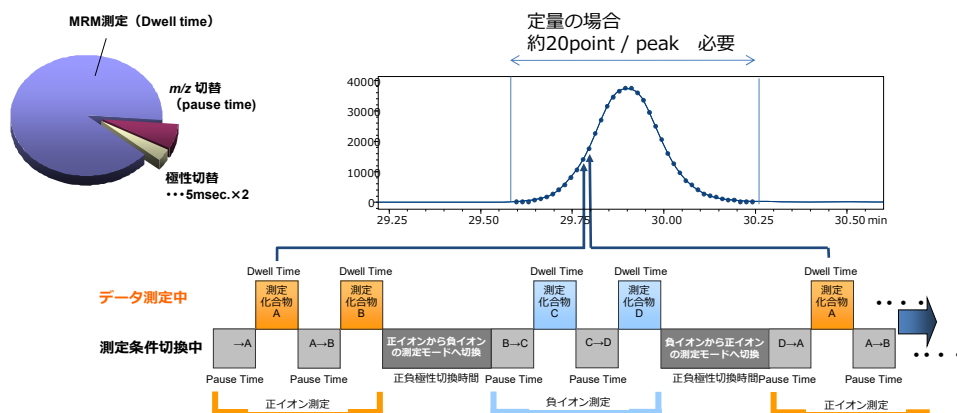
***1つのデータポイント採取時間 = Dwell time + Pause time + 正負切替時間

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
U10G
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 63

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)



- ・ 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

HCQB-0007

Speed Beyond Comparison
U10G
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 64

SHIMADZU

島津製作所 LC/MSラインナップ

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRYLCMS-8060NX
(Triple quad)New LCMS-9050
(Q-TOF)New LCMS-2050
(single quad)LCMS-8050
(Triple quad)LCMS-8045
(Triple quad)LCMS-8040
(Triple quad)LCMS-9030
(Q-TOF)LCMS-2020
(single quad)

HCQB-0007



ポイントを押さえた使い方で、LC/MSの積極活用を

Speed Beyond Comparison
UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY 65