1. HPLC에서 용매(mobile phase)의 준비

1) 유기용매/물과 혼합한 이동상

메탄올 : 물 = 70 : 30(v/v) 1L의 제조

① 시린더에 메탄올 700 ml를 계량하여 붇고.
② 또 다른 실린더에 증류수 300 ml를 계량하여 붇습니다.
③ ①과 ②를혼합하여 충분히 섞고 탈기합니다.

용매 제조에 있어서 가장 좋은 방법은 부피측정방식보다 중량 측정정방식으로 제조하는 것이 가장 좋은 방법입니다. 다음은 제조 방법의 예입니다.

메탄올과 물을 이용한 용매 1L의 혼합표

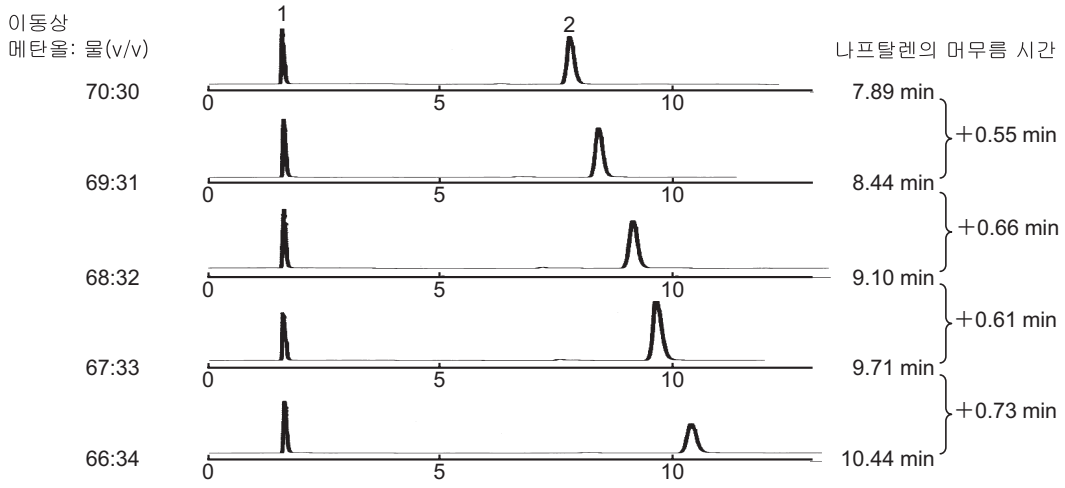
메탄올 / 물	메탄올 (g)	증류수 (g)
90 : 10 (v/v)	711.9	99.8
80 : 20 (v/v)	632.8	199.6
70 : 30 (v/v)	553.7	299.5
60 : 40 (v/v)	474.6	399.3
50 : 50 (v/v)	395.5	499.1
40 : 60 (v/v)	316.4	598.9
30 : 70 (v/v)	237.3	698.7
20 : 80 (v/v)	158.2	798.6
10 : 90 (v/v)	79.1	898.4

아세토나이트릴과 물을 이용한 용매 1L의 혼합표

아세토나이트릴 / 물	아세토나이트릴 (g)	증류수 (g)
90 : 10 (v/v)	707.4	99.8
80 : 20 (v/v)	628.8	199.6
70 : 30 (v/v)	550.2	299.5
60 : 40 (v/v)	471.6	399.3
50 : 50 (v/v)	393.0	499.1
40 : 60 (v/v)	314.4	598.9
30 : 70 (v/v)	235.8	698.7
20 : 80 (v/v)	157.2	798.6
10 : 90 (v/v)	78.6	898.4

주의 :메탄올과 아세토나이트릴은 위험물입니다. 임상용으로 사용불가 항상 실험실 내에는 후-드 안에서 작업해야 하고 눈의 보호를 의하여 보호 안경가 미스크를 착용하고 작업해야 합니다.

유기용매의 혼합비율에 따른 시료의 머무름 시간의 영향
1% 혼합비율이 바뀌어도 시료의 머무름 시간은 변함



특별히 주의할 것은 유기용매의 정확한 량을 계수하여 혼합비율이 차이가 나지 않도록 주의.

칼람	5C18-MS-II 4.6 mm I.D. x 150 mm
유속	1.0 ml/min
검출 파장	UV254 nm 0.16AUFS
온도	30℃
시료	1. Uracil 2. Naphthalene

2) 유기용매/이동상에 혼합된 버퍼

(예.1) 20 mmol/l 인산 버퍼(pH2.5) 준비

1. 20 mmol/l sodium dihydrogenphosphate 수용성 용매 준비(1리터의 HPLC용 물에 2.40g의 sodium dihydrogenphospahte, anhydrous, 제품 번호:31720-65을 넣어 만듬).
2. 20 mmol/l phosphate 수용성 용매 준비(1리터의 HPLC용 물에 2.31g 인산(phosphoric acid, 순도 85%), 제품 번호:08964-92을 넣어 만듬).
3. 1과 2를 섞어 pH2.5에 맞춘다.
4. 필터(0.45um 또는 그 이하 크기의 필터 사용)을 이용하여 물에 안 녹는 고체 입자를 제거합니다. 주의; 펌프와 칼람에 막히는 것을 방지하기 위해서 용매내의 고체는 필터 해야 합니다.
5. 유기용매와 섞을 때는 반드시 양의 비(volume ratio)로 섞습니다.
   주의; 고체입자 제거는 용매를 혼합 후 실행 합니다.

인산(phosphate)버퍼 용액(pH2.5)(5x)(제품번호:08969-71)을 만드는 용액 제조법에 대한 자세한 정보는 77페이지를 참조하십시오.

(예.2) 20 mmol/l 인산 버퍼(pH7.0) 준비

1. 20 mmol/l sodium dihydrogenphosphate 수용성 용매 준비(1리터의 HPLC용 물에 2.40g의 sodium ihydrogenphospahte, anhydrous, 제품 번호:31720-65을 넣어 만듬).
2. 20 mmol/l sodium dihydrogenphosphate 수용성 용매 준비(1리터의 HPLC용 물에 2.84g의 di-sodium ydrogenphosphate, 제품 번호: 31801-05을 넣어 만듬).
3. 1과 2를 섞어 pH 7에 맞춥니다.
4. 필터(0.45um 또는 그 이하 크기의 필터 사용)을 이용하여 물에 안 녹는 고체 입자를 제거합니다.
   주의; 펌프와 칼람에 막히는 것을 방지하기 위해서 용매내의 고체는 필터 해야 합니다.
5. 유기용매와 섞을 때는 반드시 양의 비(volume ratio)로 섞습니다.
   주의; 고체입자 제거는 용매를 혼합 후 실행 합니다.

인산(phosphate)버퍼 용액(pH7.0)(5x)(제품번호:08968-81)을 만드는 용액 제조법에 대한 자세한 정보는 77페이지를 참조하십시오.

(예.3) 5 mmol/l Sodium 1-hexanesulfonate, 20 mmol/l 인산 버퍼(pH2.5)준비

1. 5 mmol/l Sodium 1-hexanesulfonate, 20 mmol/l phosphate buffer (pH2.5) 수용성 용매 준비(1리터의 HPLC용 물에 10 ml의 Sodium 1-hexanesulfonate (0.5 M solution) (제품번호: 31532-06) 과 2.40 g 의 sodium dihydrogenphosphate, Anhydrous (제품번호: 31720-65) 을 혼합하여 만듭니다.
2. 5 mmol/l Sodium 1-hexanesulfonate, 20 mmol/l phosphate 수용성 용매 준비(1리터의 HPLC용 물에 10 ml의 sodium 1-hexanesulfonate (0.5 M solution) (제품번호: 31532-06) 과 2.31g의 hosphoric acid (순도: 85%), (제품번호: 08964-92)을 혼합하여 만듭니다.
3. 1과 2를 혼합하여 pH2.5에 맞춥니다.
4. 필터(0.45um 또는 그 이하 크기의 필터 사용)을 이용하여 물에 안 녹는 고체 입자를 제거합니다.
   주의; 펌프와 칼람에 막히는 것을 방지하기 위해서 용매내의 고체는 필터 해야 합니다.
5. 유기용매와 섞을 때는 반드시 양의 비(volume ratio)로 섞습니다.
   주의; 고체입자 제거는 용매를 혼합 후 실행 합니다.