

04 移動相の調製

1) 有機溶媒と水混合の移動相

(例) メタノール/水 = 70/30 1L

特別に表記がない場合には、体積比(v/v)で移動相を調製します。

- ① メタノール 700 mL をメスシリンダーに量り取る。
- ② 蒸留水 300 mL を別のメスシリンダーに量り取る。
- ③ ①②を十分に混合した後、脱気を行う。

※ 溶媒の体積は温度によって変化するため、精密性・再現性よく量るためには、容量を比重換算した重量で計量し調製します。
下表にその調製例を示します。

メタノール：水 移動相 1Lの組成表

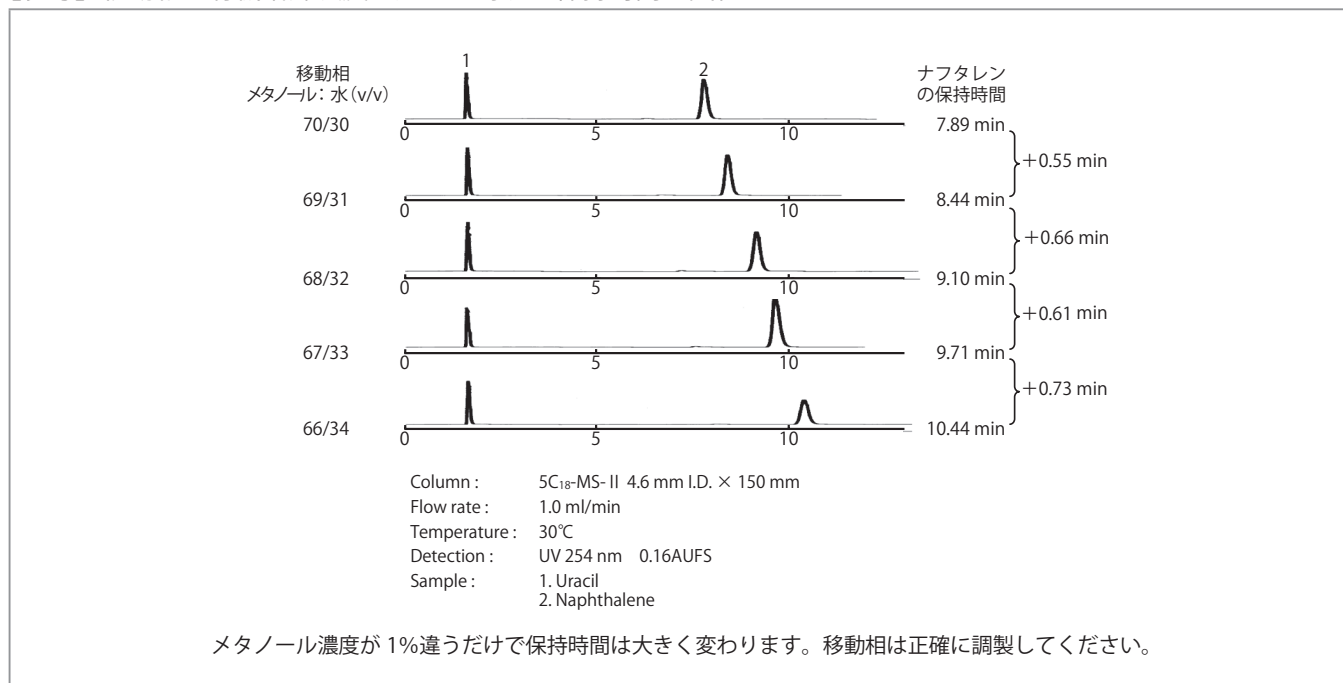
メタノール/水	メタノール(g)	蒸留水(g)
90/10 (v/v)	711.9	99.8
80/20 (v/v)	632.8	199.6
70/30 (v/v)	553.7	299.5
60/40 (v/v)	474.6	399.3
50/50 (v/v)	395.5	499.1
40/60 (v/v)	316.4	598.9
30/70 (v/v)	237.3	698.7
20/80 (v/v)	158.2	798.6
10/90 (v/v)	79.1	898.4

アセトニトリル：水 移動相 1Lの組成表

アセトニトリル/水	アセトニトリル(g)	蒸留水(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

※メタノール、アセトニトリルは医薬用外劇物です。取り扱いには手袋・保護メガネ・マスクを着用し、ドラフト内で行ってください。

【参考】移動相の有機溶媒濃度の違いに対する保持時間の変化



2) 緩衝液の調製

(例 1) 20 mmol/L リン酸緩衝液(pH 2.5)の調製

- ① 20 mmol/L リン酸二水素ナトリウム水溶液を調製する。(1 L のメスフラスコにリン酸二水素ナトリウム(無水) (#31720-65) 2.40 g を量りとり、蒸留水で 1 L にメスアップする)
- ② 20 mmol/L リン酸水溶液を調製する。(1 L のメスフラスコにリン酸(純度 85%) (#08964-92) 2.31 g を量りとり、蒸留水で 1 L にメスアップする)
- ③ pH メーターで測定しながら、pH 2.5 になるように①と②を混合する。
- ④ ミリカップ -HV (0.45 μm) (#44054-89) を用いて減圧ろ過する。
※ 塩類は不溶性固体を含有している場合があり、ポンプのシールの劣化や、カラムの詰まりの原因になるので、必ずろ過してください。
- ⑤ 有機溶媒と混合する場合には前ページ例と同様に体積比で混合してください。
※ 混合時に塩が析出していないか確認してください。時間経過後、析出する場合があります。

調製済みの緩衝液〔リン酸緩衝液(pH2.5) (5 倍濃縮) (#08969-71)] を販売していますのでご利用ください。

(例 2) 20 mmol/L リン酸緩衝液(pH 7.0)の調製

- ① 20 mmol/L リン酸二水素ナトリウム水溶液を調製する。(1 L のメスフラスコにリン酸二水素ナトリウム(無水) (#31720-65) 2.40 g を量りとり、蒸留水で 1 L にメスアップする)
- ② 20 mmol/L リン酸水素二ナトリウム水溶液を調製する。(1 L のメスフラスコにリン酸水素二ナトリウム(無水) (#31801-05) 2.84 g を量りとり、蒸留水で 1 L にメスアップする)
- ③ pH メーターで測定しながら、pH 7.0 になるように①と②を混合する。
- ④ ミリカップ HV (0.45 μm) (#44054-89) を用いて減圧ろ過する。
※ 塩類は不溶性固体を含有している場合があり、ポンプのシールの劣化や、カラムの詰まりの原因になるので、必ずろ過してください。
- ⑤ 有機溶媒と混合する場合には前ページ例と同様に体積比で混合してください。
※ 混合時に塩が析出していないか確認してください。時間経過後、析出する場合があります。

調製済みの緩衝液〔リン酸緩衝液 (pH7.0) (5 倍濃縮) (#08968-81)] を販売していますのでご利用ください。

(例 3) 5 mmol/L 1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム, 20 mmol/L リン酸緩衝液(pH 2.5)の調製

- ① 5 mmol/L 1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム、20 mmol/L リン酸二水素ナトリウム水溶液を調製する。
(1 L のメスフラスコに、1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム(#31529-24) 0.94 g と、リン酸二水素ナトリウム(無水) (#31720-65) 2.40 g を量りとり、蒸留水で 1 L にメスアップする)
- ② 5 mmol/L 1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム、20 mmol/L リン酸水溶液を調製する。
(1 L のメスフラスコに、1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム(#31529-24) 0.94 g と、リン酸(純度 85%) (#08964-92) 2.31 g を量りとり、蒸留水で 1 L にメスアップする)
- ③ pH メーターで測定しながら、pH 2.5 になるように①と②を混合する。
- ④ ミリカップ HV (0.45 μm) (#44054-89) を用いて減圧ろ過する。
※ 塩類は不溶性固体を含有している場合があり、ポンプのシールの劣化や、カラムの詰まりの原因になるので、必ずろ過してください。
- ⑤ 有機溶媒と混合する場合には前ページ例と同様に体積比で混合してください。
※ 混合時に塩が析出していないか確認してください。時間経過後、析出する場合があります。