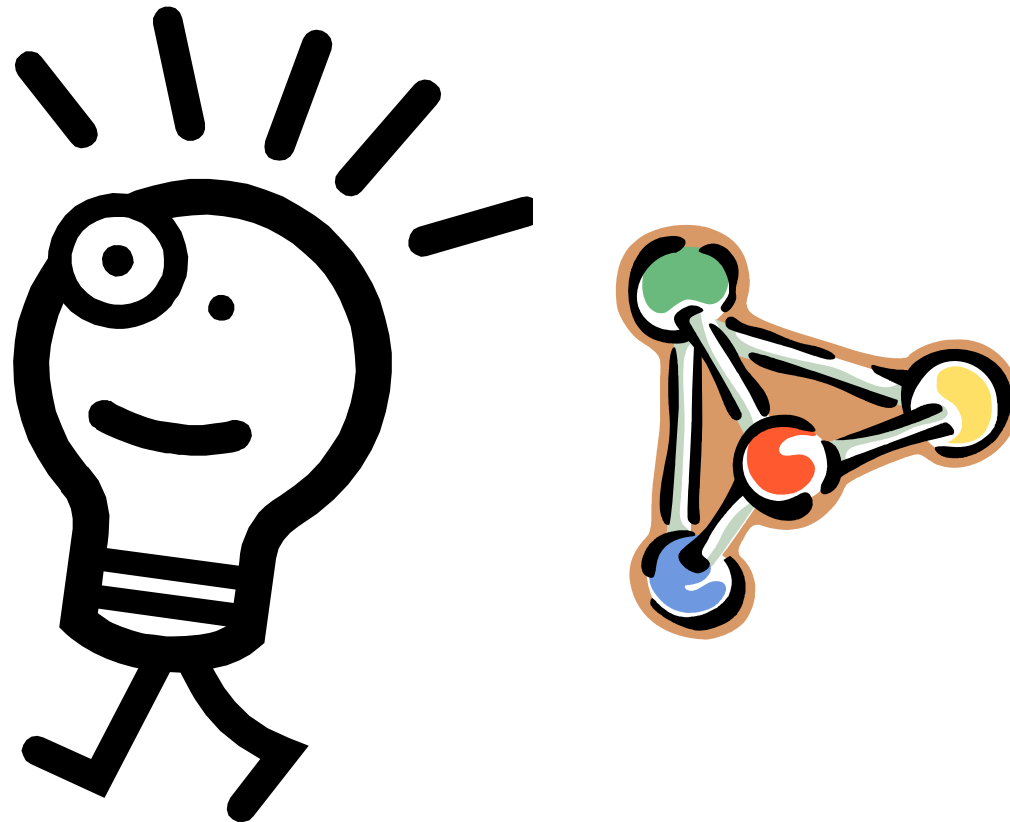
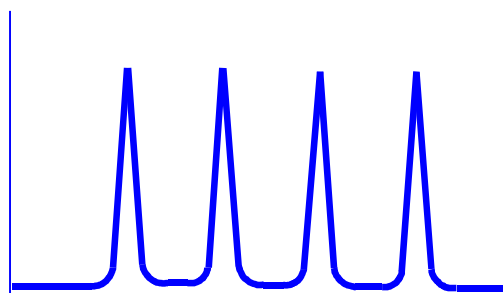
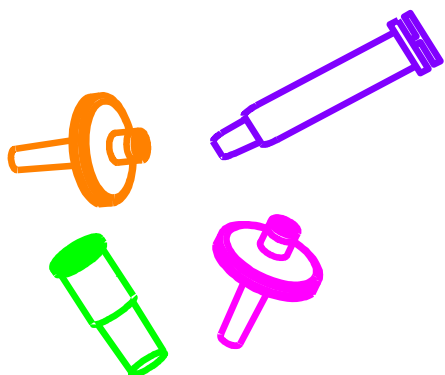


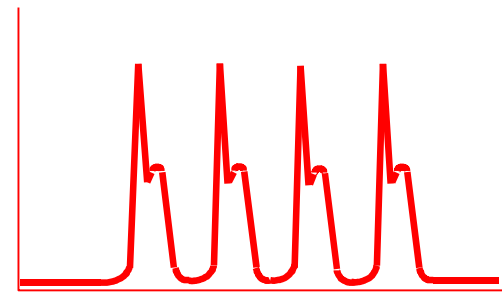
LCを上手に使うポイント (試料と移動相)



試料調製



移動相に溶解



移動相以外の溶媒に溶解

- ・ 固形物がなくなるまでろ過する。
- ・ サンプルは移動相もしくは移動相より溶離強度の弱い溶媒に溶解する。
- ・ サンプル注入量は可能な限り少なくする。

適切な調製条件

- ・ サンプルの溶解性
- ・ 溶媒の強度
- ・ 容積の影響

汚染

- ・ 固形物
- ・ 保持の強い成分

有機溶媒

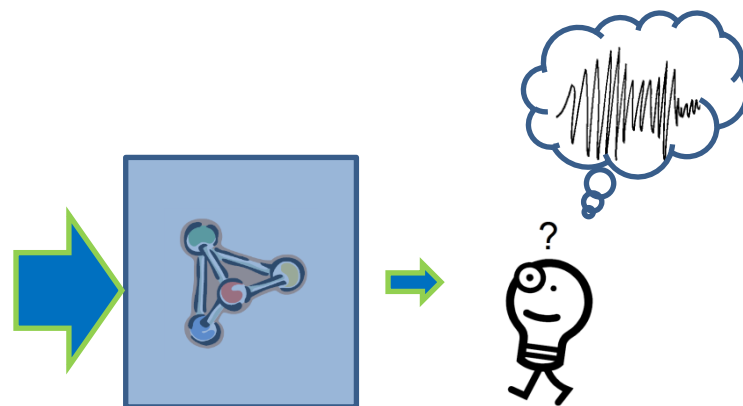
—UVの透過限界

•UVの透過限界波長がある。

溶媒	カットオフ波長(nm)	(吸光度)
アセトニトリル	200	0.05
アセトン	330	1.00
酢酸	255	1.00
エタノール	210	0.70
メタノール	210	0.70
1-プロパノール	230	0.30
2-プロパノール	210	0.70
酢酸エチル	255	1.00
テトラヒドロフラン	254	0.30
N,N-ジメチルホルムアミド	270	1.00
n-ヘキサン	210	0.30
シクロヘキサン	210	1.00
トルエン	285	1.00
水	230	0.01
1,4-ジオキサン	240	1.00
クロロホルム	245	1.00
ベンゼン	280	1.00
トルエン	285	1.00

※代表的メーカーの試薬の規格値など
JIS K 0124 (2011)を参考に作成。

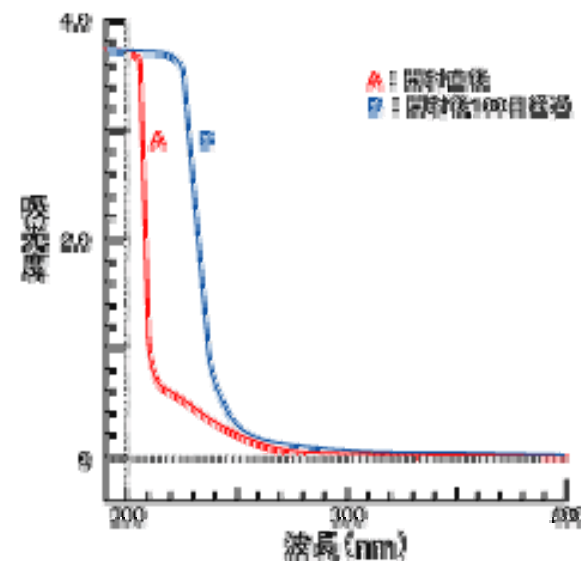
短波長側では、
溶媒自身にUV吸収があるため、
検出の妨げになる。



移動相

ー 有機溶媒

- ① HPLCグレードを使用する
特にアセトニトリル、THF、クロロホルム、エタノール、2-メチルブテン
- ② 開封後、長期間が経過したものは使用しない
 - ✓ 雰囲気からの汚染がある
 - ✓ 変性しやすい有機溶媒：THFなど
 - ✓ 吸水性強い溶媒：DMFなど



HPLC用THFの開封後の変化(酸化防止剤が入っていないため)

移動相

—水の純度

- HPLCグレードもしくは超純水製造装置で精製した水を使用する
- 1日以上放置した水、緩衝液は使用しない
 - ✓ 雰囲気からの汚染がある
 - ✓ 室温が高い時期では微生物の繁殖が問題になる
- 緩衝液の調製法は明確にしておく
 - ✓ Ex.リン酸緩衝液の作り方
 - ① 2水素塩溶液と1水素塩溶液を混合する
 - ② 2水素塩溶液にリン酸または水酸化ナトリウム溶液を滴下してpH調整
- 緩衝液は0.45 もしくは0.22 μm のメンブランフィルターでろ過する

移動相

－ 緩衝液と有機溶媒の混合

- 緩衝液と有機溶媒を組み合わせる場合は、塩が析出しないことを確認する。特にグラジエント分析のときは注意する。

- ✓ 予め使用する有機溶媒の最大比率の移動相をビーカーなどで調製し、塩が析出しないことを確認する。

- ✓ アセトニトリルは無機塩類の溶解度が低いので注意する。

- ✓ リン酸塩は有機溶媒への溶解度が低いので注意する。



★アセトニトリル－リン酸緩衝液のグラジエント分析でトラブルが発生しやすい。
目安：リン酸塩濃度 = 20～30 mM、アセトニトリル < 60%