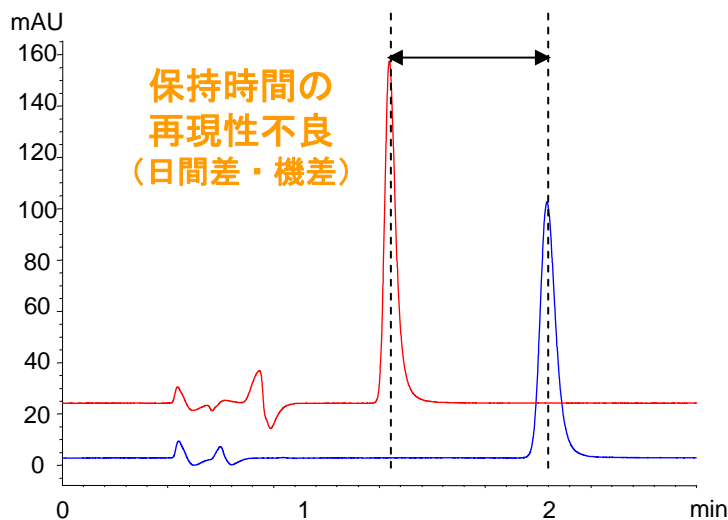


メソッド堅牢性向上のためのワンポイント (1)

移動相の混和方法による影響

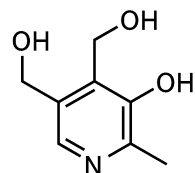
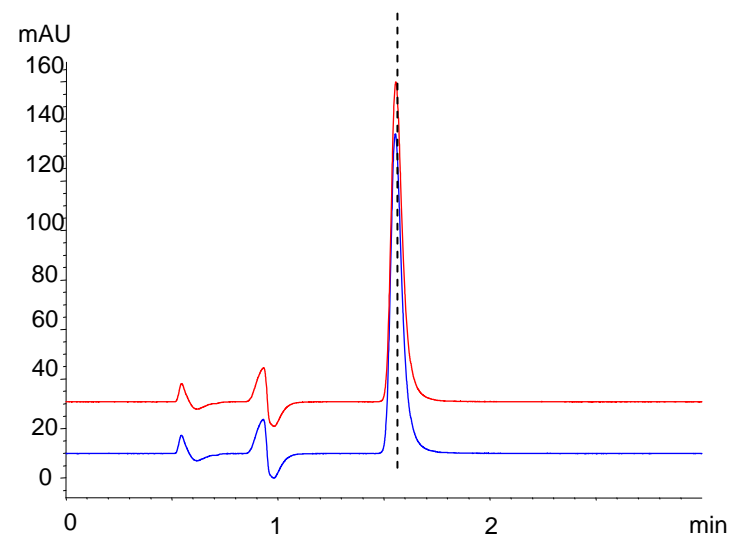
オンラインミックス

ポンプA : 20 mM K₂HPO₄-KH₂PO₄ (pH 6.9)
 ポンプB : acetonitrile
 送液 : **ポンプA /ポンプB =97/3**



プレミックス

ポンプA : 20 mM K₂HPO₄-KH₂PO₄ (pH 6.9)/acetonitrile
 (97/3)
 送液 : **ポンプAのみ使用**



Pyridoxine

Column	: YMC-Triart C18 (3 μm, 12 nm) 50 X 2.0 mm I.D.
Flow rate	: 0.2 mL/min
Temperature	: 40 °C
Detection	: UV at 260 nm

移動相のA液とB液をオンライン混合して分析する場合、ポンプの送液精度によって保持時間の再現性が得られないことがある

→ アイソクラティックの場合、**移動相はプレミックスがおすすめ**

オンラインミックスを採用前にポンプ送液の日間差や機差を確認する

(特に低流量分析や分析から分取への移行時には注意！)

メソッド堅牢性向上のためのワンポイント (2)

グラジエント溶出における移動相の有機溶媒組成による影響

Eluent : acetonitrile/water/CH₃COOH

Gradient : 12.5-30% acetonitrile (0-3.3 min)

パターン1

ポンプA : water/CH₃COOH (100/3)

ポンプB : acetonitrile/CH₃COOH (100/3)

Gradient : 12.5-30%B (5.3%B/min)

パターン2 (good)

ポンプA : water/CH₃COOH (100/3)

ポンプB : acetonitrile/water/CH₃COOH (50/50/3)

Gradient : 25-60%B (10.6%B/min)

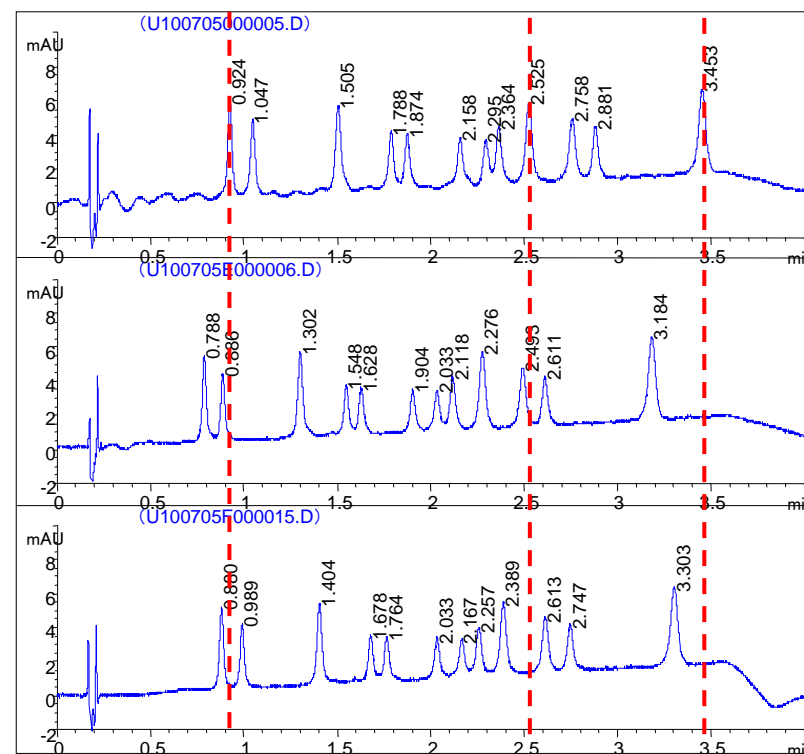
パターン3

ポンプA : acetonitrile/water/CH₃COOH (12.5/87.5/3)

ポンプB : acetonitrile/water/CH₃COOH (30/70/3)

Gradient : 0-100%B (30.3%B/min)

移動相による保持時間の差 8.5 ~ 18.2 %



Column	: YMC-UltraHT Hydrosphere C18 (2 μm, 12 nm) 50 X 2.0 mmI.D.
Flow rate	: 0.9 mL/min
Temperature	: 35 °C,
Detection	: UV at 254 nm
Sample	: 大豆イソフラボン12成分

グラジエント溶出時に移動相のA液とB液の有機溶媒組成によって、保持時間の再現性が得られない、気泡や脈流発生などのトラブルが生じることがあります

→「一方のポンプの送液速度が極端に遅くなる(低勾配) or 早くなる(急勾配)」

また、「A液とB液の組成が極端に異なる」ような移動相調製方法は避ける
ポンプの適正流量や機差を確認する(特に分析→分取移行時には注意！)