



COLUMN USER GUIDE for Agilent Reversed-Phase Columns

Agilent 反相色谱柱用户指南

Guide d'utilisation des colonnes pour les colonnes à phase inverse Agilent

Säulenbenutzerhandbuch für Agilent Umkehrphasensäulen

Manuale utenti per colonne a fase inversa Agilent

Guía de usuario de columna para columnas de fase reversa Agilent

Agilent 逆相カラム ユーザーガイド

ZORBAX reversed-phase / 反相 / à phase reversa / Umkehrphase / Fase inversa / Fase inversa / 逆相

HPLC phases / 相 / Phases HPLC / Phasen / Fasi / Fases / カラム

InfinityLab Poroshell 120 / Pursuit / Polaris / HC-C18(2) / TC-C18(2)



Agilent Technologies

This booklet provides general information for all InfinityLab Poroshell 120, ZORBAX, Pursuit and Polaris columns.

For additional detailed information about your specific phase or family, see: **www.agilent.com/chem/columnchoices**

Getting Started

A QC Column Performance Report, including a test chromatogram, is enclosed with every Agilent column. The QC test system has been modified from a standard system to minimize system dead volume, so it may vary from the system used in your lab. This allows a better evaluation of the column and assures a more consistent product. A properly configured LC system will generate similar results to the chromatogram on your QC Performance Report.

Modern columns are robust and are designed to operate for long periods under normal chromatographic conditions. You can maximize column performance by running it within specifications. Always review the specifications before putting in place a final method.

Using Your Column

Installation

- The direction of flow is marked on the column.
- 1.8 μm columns (ZORBAX RRHT, ZORBAX RRHD) can only be operated in the direction flow marked on the column.
- Agilent recommends InfinityLab Quick Connect fittings (5067-5961 for 0.075 x 105 mm) or Quick Turn fittings (5067-5966) for a perfect column connection, every time. Polyketone fittings (5042-8957) can also be used for columns up to 600 bar

Search Agilent.com for "quick connect fitting" to learn more



*Polyketone fitting,
p/n 5042-8957*



*Agilent 1200 bar removable
fitting, p/n 5067-4733*



*Agilent Quick Connect fitting,
p/n 5067-5961*

Column conditioning

Every column is tested before shipment and shipped in the test eluent. So, for first use, rinsing with water is not necessary. If mobile phase additives are used (such as buffers or ion-pair reagents) it is advisable to do an intermediate flush with a mobile phase of the correct composition, but without these additions. Flushing with 10 to 20 column volumes should help in transitioning to your mobile phase. For shorter chain chemistries (C8, Phenyl, CN, for example), care should be taken to make sure the column has been properly equilibrated prior to use. This will ensure reproducibility and help prevent retention time drifting.

Important safety considerations

- All points of connection in liquid chromatographic systems are potential sources of leaks. Users should be aware of the toxicity or flammability of their mobile phases.
- Because of the small particle size, dry column packings are respirable. Columns should only be opened in a well-ventilated area.
- Please adhere to operating pressure limits noted for each column (see chart). Exceeding these limits will compromise chromatographic performance and could be unsafe.

Other operating tips

- While generally not harmful to the column, reverse flow should be avoided except to attempt removal of clogged frit (see "column care").
- Always use high purity reagents and chromatography grade solvent to prepare your mobile phase. Degas and filter all mobile phase prior to use.
- Disassembling a column will degrade column performance.
- New columns contain a mixture of organic solvents and water. See your QC Performance Report for the solvent composition in your column. Initially, care should be taken not to pass any mobile phase through the column that may cause a precipitate to form.
- Agilent reversed-phase columns are compatible with water and all common organic solvents.
- The use of a guard column is recommended to protect your column and increase its lifetime.
- Columns should not be maintained at elevated pH or elevated temperature when not in use.
- Avoid use of this column outside of recommended pH ranges for column phase (see next page). Expect reduced lifetime when operating outside the recommended pH and temperature ranges.



*If you are using InfinityLab Poroshell 120 or ZORBAX RRHT or RRHD columns, use a **Fast Guard for UHPLC** to protect your analytical column.*

See www.agilent.com/chem/fastguards for more information.

Column Operating Parameters: pH and Temperature

Phase	Recommended pH range	Maximum operating temperature
InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, EC-C8 and Bonus-RP. ZORBAX Eclipse Plus C18 and C8. ZORBAX Eclipse XDB-C18, XDB-C8 and XDB-Phenyl ZORBAX Bonus-RP. HC-C18(2) and TC-C18(2).	pH 2.0 to 9.0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 PFP and Phenyl-Hexyl. ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl. ZORBAX XDB-CN. ZORBAX Eclipse PAH. ZORBAX ODS and Phenyl. All Pursuit, Polaris, Microsorb, Metasil, Monochrom, Hypersil, OmniSpher, MicroSpher bonded phases.	pH 2.0 to 8.0	60 °C
ZORBAX Eclipse PAH	pH 2.0 to 8.0	60 °C at pH <6.0
ZORBAX TMS	pH 2.0 to 7.0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, SB-C8 and SB-Aq. ZORBAX StableBond SB-C18, SB-C8, SB-Aq, SB-C3 and SB-Phenyl ZORBAX Rx-C8.	pH 1.0 to 8.0	90 °C (StableBond C18 and Poroshell 120 SB-C18) 80 °C (Rx-C8 and SB-Aq, SB-C3 and SB-Phenyl)
InfinityLab Poroshell HPH-C18 and HPH-C8	pH 3.0 to 11.0	60 °C
ZORBAX Extend C18	pH 2.0 to 11.5	60 °C (40 °C at high pH)

Note: All silica-based packings have some solubility in pH >6 aqueous mobile phases. When using silica-based columns at pH >6, best column lifetime is obtained at lower temperatures (40 °C max) using low buffer concentrations in the range of 0.01 to 0.02 M. Operating at extreme ends of pH and temperature ranges will have a significant impact on column lifetime.

Maximum Operating Pressures – Columns up to 9.4 mm id

Column type	Particle size	Pressure limit
InfinityLab Poroshell 120, InfinityLab Poroshell HPH	1.9 μm	1300 bar (19500 psi)
InfinityLab Poroshell 120, InfinityLab Poroshell HPH	2.7 μm , 4 μm	600 bar (9000 psi)
ZORBAX Rapid Resolution High Definition (RRHD)	1.8 μm	1300 bar (19500 psi)
ZORBAX Rapid Resolution High Throughput (RRHT)	1.8 μm	600 bar (9000 psi)
All other ZORBAX, Rx, Pursuit, Polaris, HC, TC, Microsorb, Metasil, Monochrom, Hypersil, OmniSpher, MicroSpher	3.0 μm , 3.5 μm , 5 μm , 10 μm	400 bar (6000 psi)

Mobile Phase Selection and Operating Temperatures

The bonded stationary phase is nonpolar in nature and is best used with polar mobile phases such as methanol/water or acetonitrile/water mixtures. Increasing the amount of organic component typically reduces the retention time of the sample.

Recommended Starting Gradients

Stationary phase	Usage notes
Most reversed-phase columns	5% methanol or acetonitrile initially and 100% methanol or acetonitrile as the final solvent.
ZORBAX Eclipse PAH*	30 or 40% acetonitrile initially, to 100% acetonitrile as final solvent. It may be necessary to cool column to 15 to 20 °C for improved resolution.
ZORBAX and InfinityLab Poroshell Bonus-RP	Lower concentration of organic mobile phase modifier is required for compound elution, compared to traditional long-chain alkyl stationary phases.

*Best column lifetime is achieved at < 40 °C.

Column Care

The inlet frit on columns with a particle size of 2.7 μm or greater has a nominal porosity of 2 μm . Samples that contain particulate matter will plug the column inlet frit. Guard columns and hardware kits (as required) are recommended for use with such samples, and are generally recommended for all column use.

See www.agilent.com/chem/fastguards for more information about guard columns.

Cleaning Your Column/Extending Column Life

For columns that can be backflushed (InfinityLab Poroshell 120, ZORBAX columns with particles $>1.8 \mu\text{m}$ and all Pursuit and Polaris columns), start with a stronger (less polar) solvent.

1. Disconnect column from detector and run wash solvents into a beaker.
2. Start with your mobile phase without buffer salts (water/organic).
Run at 10 to 20 column volumes through.
3. Next, use 100% organic (methanol or acetonitrile).
4. Check pressure to see if it has returned to normal; if not, then,
5. Discard column or consider stronger conditions,
e.g., 75% acetonitrile/25% isopropanol
6. Increase to 100% isopropanol, 100% methylene chloride or 100% hexane (if you use methylene chloride or hexane, you will need to flush the column with isopropanol prior to use and before returning to your reversed-phase mobile phase).

For columns with particles $< 1.8 \mu\text{m}$, do not backflush the column - replace the column.

Storage Recommendations

Long-term storage of silica-based, bonded phase columns should be in a pure organic solvent. If the column has previously been used with a buffered mobile phase, the buffer should first be removed by purging the column with 20 to 30 column volumes of a 50:50 mixture of methanol or acetonitrile and water, followed by 20 to 30 column volumes of the pure solvent. Before storing, end-fittings should be tightly capped with end-plugs to prevent packing from drying out. Columns may be safely stored for short periods in most mobile phases. To protect equipment, it is desirable to remove salts from the instrument and column by purging the column with the same mobile phase without the buffer (e.g. using 60:40 ACN/H₂O to remove a 60:40 ACN/0.02 M phosphate buffered mobile phase). Re-equilibration is rapid with the original mobile phase when using this approach and any danger of corrosion from the salts is eliminated.

Tips for Getting the Best Chromatographic Results

- Optimize your instrument by minimizing tubing lengths between components, to reduce extra column volume and band broadening. Use 0.12 mm id red or 0.075 mm id black tubing for Fast LC/high efficiency columns. Learn about capillary options at **www.agilent.com/chem/lccapillaries**
- Ensure the data collection rate is optimized for your column. Use a higher collection rate for Fast LC columns (Poroshell 120, RRHT, RRHD).
- Use sample filtration or other sample prep as appropriate for your sample. Learn more at **www.agilent.com/chem/sampleprep**
- Use Agilent certified lamps in your LC instruments for best performance.



本小册子提供关于 InfinityLab Poroshell 120、ZORBAX、Pursuit 和 Polaris 色谱柱的一般信息。

有关特定固定相或其产品系列的详细信息，请访问我们的网站：

www.agilent.com/chem/columnchoices

入门指南

每根安捷伦色谱柱均附有包括测试色谱图在内的 QC 色谱柱性能报告。QC 测试系统基于标准系统优化而来，可以使系统死体积降至最低，因此可能与您实验室所用的系统有所不同。这套系统可以对色谱柱进行更加全面的评估，确保产品具有更高的一致性。经过适当配置的液相色谱系统可以生成类似于您的 QC 性能报告中的色谱图结果。

现代色谱柱稳定耐用，可在正常色谱条件下运行较长时间。在规格指标范围内运行色谱柱可最大程度提高色谱柱性能。在确定最终方法前，请务必查看规格指标。

色谱柱使用说明

安装

- 色谱柱上标明了液流方向
- 1.8 μm 色谱柱 (ZORBAX RRHT、ZORBAX RRHD) 只能按照色谱柱上标明的液流方向使用
- 安捷伦建议使用 InfinityLab Quick Connect 快速连接接头 (5067-5961, 用于 $0.075 \times 105 \text{ mm}$) 或 Quick Turn 接头 (5067-5966), 确保您始终获得完美色谱柱连接。针对耐压达 600 bar 的色谱柱也可使用聚酮接头 (5042-8957)

在 Agilent.com 网页上搜索 “Quick Connect 快速连接接头”, 了解更多信息



聚酮接头,
部件号 5042-8957



Agilent 1200 bar
可拆卸接头,
部件号 5067-4733



Agilent Quick Connect
快速连接接头,
部件号 5067-5961

色谱柱平衡

每根色谱柱在发货前均经过了测试, 并保存在测试洗脱液中运输。因此, 首次使用色谱柱时没有必要用水冲洗。如果使用了流动相添加剂 (如缓冲液或离子对试剂), 建议用正确组分但不含此类添加剂的流动相进行过渡冲洗。冲洗 10 到 20 倍柱体积有助于过渡到您所使用的流动相。对于短链键合相 (例如 C8、苯基和氰基), 需要谨慎操作, 确保色谱柱在使用前已达到平衡。这样可以保证重现性, 并能防止保留时间漂移。

重要的安全注意事项

- 液相色谱系统中的所有连接点都有可能成为泄漏源。用户应当了解所使用流动相的毒性或易燃性
- 由于填料粒径较小, 因此干燥的柱填料可被吸入体内。只能在通风良好的区域打开色谱柱
- 请遵循每根色谱柱指明的运行压力上限 (请参见图表)。超出这些限制会降低色谱性能, 并会有安全隐患

其他运行提示

- 反向使用色谱柱通常不会对其造成危害，但也应该尽量避免，除非出现需要除去堵塞柱前筛板上颗粒物的情况（请参见“色谱柱维护”）
- 始终使用高纯度试剂和色谱级溶剂配制流动相。使用前对所有的流动相进行脱气和过滤
- 拆卸色谱柱会降低其性能
- 新色谱柱含有机溶剂和水的混合物。请参见 QC 性能报告，了解色谱柱中的溶剂组成。开始使用时，应注意避免使可能产生沉淀的流动相流过色谱柱
- 安捷伦反相色谱柱可与水和所有常见有机溶剂兼容
- 建议使用保护柱来保护色谱柱并延长后者的使用寿命
- 在不使用色谱柱时，不应将其置于高 pH 值或高温环境中
- 避免在推荐的色谱柱固定相的 pH 范围外使用色谱柱（请参见下一页）。在推荐的 pH 和温度范围外运行可能会缩短使用寿命



如果您使用 *InfinityLab Poroshell 120*、*ZORBAX RRHT* 或 *RRHD* 色谱柱，请使用 **UHPLC 快速保护柱** 保护您的分析色谱柱。如需了解更多信息，请访问 www.agilent.com/chem/fast-guards。

色谱柱运行参数：pH 和温度

固定相	推荐的 pH 范围	最高运行温度
InfinityLab Poroshell 120 EC-C18、EC-C8 和 Bonus-RP； ZORBAX Eclipse Plus C18 和 C8； ZORBAX Eclipse XDB-C18、XDB-C8、XDB-Phenyl 和 ZORBAX Bonus-RP； HC-C18(2) 和 TC-C18(2)；	pH 2.0 到 9.0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 PFP 和 Phenyl-Hexyl； ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl； ZORBAX XDB-CN； ZORBAX Eclipse PAH； ZORBAX ODS 和 Phenyl； 所有 Pursuit、Polaris、 Microsorb、Metasil、 Monochrom、Hypersil、 OmniSpher 和 MicroSpher 键合相；	pH 2.0 到 8.0	60 °C
ZORBAX Eclipse PAH	pH 2.0 到 8.0	pH 6.0 以下，60 °C
ZORBAX TMS	pH 2.0 到 7.0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 SB-C18、 SB-C8 和 SB-Aq； ZORBAX StableBond SB-C18、 SB-C8、SB-Aq、SB-C3 和 SB-Phenyl ZORBAX Rx-C8；	pH 1.0 到 8.0	90 °C (StableBond C18 和 Poroshell 120 SB-C18) 80 °C (Rx-C8 和 SB-Aq、 SB-C3 和 SB-Phenyl)
InfinityLab Poroshell HPH-C18 和 HPH-C8	pH 3.0 到 11.0	60 °C
ZORBAX Extend C18	pH 2.0 到 11.5	60 °C (高 pH 时 40 °C)

注意：所有硅胶基填料在 pH 值大于 6 的水相流动相中都有一定的溶解度。在 pH 值大于 6 的条件下使用硅胶基色谱柱时，采用较低柱温（最高 40 °C）和较低缓冲溶液浓度 (0.01-0.02 M) 可获得最长的使用寿命。在 pH 和温度范围的极端处运行会对色谱柱寿命产生重大影响。

最大内径 9.4 mm 的色谱柱的最大运行压力

色谱柱类型	粒径	压力上限
InfinityLab Poroshell 120、 InfinityLab Poroshell HPH	1.9 μm	1300 bar (19500 psi)
InfinityLab Poroshell 120、 InfinityLab Poroshell HPH	2.7 μm 、4 μm	600 bar (9000 psi)
ZORBAX 超高压快速高分离度 (RRHD)	1.8 μm	1300 bar (19500 psi)
ZORBAX 超高压快速高通量 (RRHT)	1.8 μm	600 bar (9000 psi)
所有其他 ZORBAX、Rx、 Pursuit、Polaris、HC、TC、 Microsorb、Metasil、 Monochrom、Hypersil、 OmniSpher 和 MicroSpher	3.0 μm 、3.5 μm 、 5 μm 和 10 μm	400 bar (6000 psi)

流动相的选择和运行温度

键合固定相在性质上是非极性的，最好与甲醇/水或乙腈/水的混合物等极性流动相一起使用。有机成分含量的增加通常会缩短样品的保留时间。

推荐的初始梯度

固定相	使用说明
大多数反相色谱柱	初始使用 5% 甲醇或乙腈，并使用 100% 甲醇或乙腈作为最终溶剂。
ZORBAX Eclipse PAH*	初始使用 30% 或 40% 乙腈，使用 100% 乙腈作为最终溶剂。可能需要将色谱柱冷却至 15 到 20 °C 以获得更好的分离度。
ZORBAX 和 InfinityLab Poroshell Bonus-RP	与传统长链烷基固定相相比，需要添加低浓度有机流动相改性剂用于化合物洗脱。

* 低于 40 °C 可实现最佳色谱柱寿命

色谱柱维护

粒径为 2.7 μm 或以上的色谱柱的入口筛板标称孔径通常为 2 μm 。含有颗粒物质的样品会堵塞色谱柱入口筛板。分析这类样品时建议使用保护柱和硬件套件（如有需要），并建议用于所有色谱柱。

有关保护柱的更多信息，请访问 www.agilent.com/chem/fastguards。

冲洗色谱柱/延长色谱柱的使用寿命

对于可进行反冲的色谱柱（颗粒大于 1.8 μm 的 InfinityLab Poroshell 120、ZORBAX 色谱柱，以及所有 Pursuit 和 Polaris 色谱柱），从较强（极性较小）溶剂强度开始。

1. 断开色谱柱与检测器的连接，将清洗溶液排入烧杯
2. 先使用不含缓冲盐的流动相（水/有机溶液）。冲洗 10 到 20 倍柱体积
3. 接下来用 100% 有机溶剂（甲醇或乙腈）
4. 检查压力是否已经恢复正常，如果没有，则：
5. 丢弃色谱柱或考虑采用更强的条件，如 75% 乙腈/25% 异丙醇
6. 选用 100% 异丙醇、100% 二氯甲烷或 100% 己烷（如果您采用二氯甲烷或己烷，需在使用前以及返回到反相流动相之前用异丙醇冲洗色谱柱）

对于填料颗粒小于 1.8 μm 的色谱柱，不要反冲色谱柱，应更换色谱柱。

存放建议

硅胶基、键合相色谱柱应置于纯有机溶剂中进行长期储存。如果色谱柱之前使用过缓冲流动相，则应该首先采用 20 到 30 倍柱体积的 50:50 甲醇或乙腈与水的混合溶液冲洗色谱柱，然后使用 20 到 30 倍柱体积的纯溶剂对其进行冲洗，以实现除去缓冲液的目的。储存之前将堵头紧紧密封在柱端接头上，以免填料变干。色谱柱可以在短时间内安全储存于大多数流动相中。为了保护仪器，可以采用无缓冲液的不同流动相冲洗色谱柱以除去仪器和色谱柱中的盐，例如采用 60:40 ACN/H₂O 除去 60:40 ACN/0.02 M 磷酸盐缓冲液的流动相。采用这种方法借助原始流动相可以快速达到再平衡，并可以消除盐腐蚀的危害。

获得最佳色谱结果的注意事项

- 通过最大限度减少组件间的管线长度对仪器进行优化，以减少柱外体积和峰展宽。对于快速液相/高效色谱柱应采用 0.12 mm 内径的红色管线或 0.075 mm 内径的黑色管线。有关毛细管选件的信息，请访问 www.agilent.com/chem/lccapillaries
- 针对您的色谱柱确保数据采集速率的优化。为快速液相色谱柱（Poroshell 120、RRHT 和 RRHD）选择更高的采集速率
- 采用与您的样品相适应的样品过滤或其他样品前处理方法。如需了解更多信息，请访问 www.agilent.com/chem/sampleprep
- 请在液相色谱仪器中使用安捷伦认证灯以实现最佳性能



Cette brochure contient des informations générales applicables à toutes les colonnes InfinityLab Poroshell 120, ZORBAX, Pursuit et Polaris.

Pour plus d'informations sur votre phase ou la série de colonnes que vous possédez, visitez le site :

www.agilent.com/chem/columnchoices

Mise en route

Un rapport CQ sur les performances des colonnes, comprenant un chromatogramme test, accompagne chaque colonne Agilent. L'instrument HPLC de test CQ a été modifié (optimisé) par rapport à un instrument standard afin de minimiser les volumes morts, il peut être différent du système utilisé dans votre laboratoire. Cela permet une meilleure évaluation de la colonne et garantit une meilleure conformité du produit. Un instrument LC correctement configuré générera des résultats similaires au chromatogramme sur votre rapport CQ des performances.

Les colonnes modernes sont particulièrement robustes et sont conçues pour être utilisées sur de longues durées dans des conditions expérimentales normales. Profitez pleinement des performances de votre colonne en l'utilisant conformément aux spécifications techniques. Prenez toujours le temps de vérifier les spécifications techniques avant de mettre en place une méthode définitivement.

Utilisation de votre colonne

Installation

- La direction du flux est indiquée sur la colonne.
- Les colonnes 1,8 μm (ZORBAX RRHT, ZORBAX RRHD) ne peuvent être utilisées que dans la direction du flux indiquée sur la colonne.
- Agilent recommande l'utilisation des raccords rapides InfinityLab Quick Connect (ref. 5067-5961 en 0,075 x 105 mm) ou des raccords rapides Quick Turn (réf. 5067-5966) pour un raccordement de colonne parfait, à chaque fois. Des raccords en polycétone (réf. 5042-8957) peuvent également être utilisés pour les colonnes jusqu'à 600 bars.

Effectuez une recherche sur Agilent.com avec le mot-clé « quick connect fitting ».



Raccord en polycétone,
ref. 5042-8957



Raccord amovible Agilent
1 200 bars, ref. 5067-4733



Raccord Agilent Quick Connect,
réf. 5067-5961

Conditionnement d'une colonne

Chaque colonne est testée avant expédition et expédiée dans l'éluant du test. Par conséquent, il n'est pas nécessaire de la rincer à l'eau pour la première utilisation. En cas d'utilisation d'additifs de phase mobile (tels que des tampons ou des réactifs de paires d'ions), il est conseillé de procéder à un rinçage intermédiaire avec une phase mobile de la composition correcte, mais sans les additifs. Le rinçage avec 10 à 20 volumes de colonne favorise la transition vers votre phase mobile. En ce qui concerne les greffons à chaîne plus courte (C8, Phényle, CN, par exemple), il est recommandé de s'assurer que la colonne a été correctement équilibrée avant utilisation. Ceci afin de garantir la reproductibilité et d'éviter la dérive du temps de rétention.

Considérations importantes relatives à la sécurité

- Tous les points de connexion dans les systèmes de chromatographie liquide sont des sources potentielles de fuite. Les utilisateurs doivent être informés de la toxicité et de l'inflammabilité de leurs phases mobiles.
- Du fait de la petite taille des particules, le matériau à l'intérieur des colonnes peut être inhalé lorsqu'il est sec. Les colonnes ne doivent être ouvertes que dans une zone bien ventilée.
- Observez les limites de pression opérationnelle indiquées pour chaque colonne (voir le tableau ci-après). Le dépassement de ces limites peut compromettre les performances chromatographiques ainsi que la sécurité.

Autres conseils d'utilisation

- Bien que cela ne soit généralement pas dangereux pour la colonne, il est recommandé d'éviter d'inverser le flux, sauf pour déboucher un fritté (voir les exceptions dans la section « Installation »).
- Toujours utiliser des réactifs de grande pureté et du solvant de qualité chromatographique pour préparer votre phase mobile. Dégazer et filtrer toute phase mobile avant utilisation.
- Désassembler une colonne risque de diminuer ses performances.
- Les colonnes neuves contiennent un mélange de solvants organiques et d'eau. Voir le rapport CQ sur les performances pour connaître la composition du solvant dans votre colonne. Avant toute chose, il est recommandé de s'assurer qu'aucune phase mobile qui pourrait provoquer la formation d'un précipité ou d'une émulsion ne soit introduite dans la colonne.
- Les colonnes phase inverse Agilent sont compatibles avec l'eau et tous les solvants organiques courants.
- L'utilisation d'une colonne de garde est recommandée pour protéger la colonne et augmenter sa durée de vie.
- Les colonnes ne doivent pas être maintenues à un pH élevé ni à une température élevée lorsqu'elles ne sont pas utilisées.
- Évitez d'utiliser la colonne en dehors des gammes de pH recommandées pour la phase stationnaire en question (voir page suivante). La durée de vie sera réduite en cas d'utilisation en dehors des gammes pH et température recommandées.



Si vous utilisez une colonne InfinityLab Poroshell 120, ou ZORBAX RRHT ou RRHD, protégez-la avec une colonne de garde

Fast Guard pour UHPLC. Consultez le site

www.agilent.com/chem/fastguards pour plus d'informations.

Paramètres opérationnels de la colonne : pH et température

Phase	Gamme pH recommandée	Température opérationnelle maximum
InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, EC-C8 et Bonus-RP. ZORBAX Eclipse Plus C18 et C8. ZORBAX Eclipse XDB-C18, XDB-C8 et XDB-Phenyl ZORBAX Bonus-RP. HC-C18(2) et TC-C18(2).	pH 2,0 à 9,0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 PFP et Phenyl-Hexyl. ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl. ZORBAX XDB-CN. ZORBAX Eclipse PAH. ZORBAX ODS et Phenyl. Toutes les colonnes Pursuit, Polaris, Microsorb, Metasil, Monochrom, Hypersil, OmniSpher, MicroSpher à phases greffées.	pH 2,0 à 8,0	60 °C
ZORBAX Eclipse PAH	pH 2,0 à 8,0	60 °C à un pH <6,0
ZORBAX TMS	pH 2,0 à 7,0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, SB-C8 et SB-Aq.	pH 1,0 à 8,0	90 °C (StableBond C18 et Poroshell 120 SB-C18)
ZORBAX StableBond SB-C18, SB-C8, SB-Aq, SB-C3 et SB-Phenyl ZORBAX Rx-C8.		80 °C (Rx-C8 et SB-Aq, SB-C3 et SB-Phenyl)
InfinityLab Poroshell HPH-C18 et HPH-C8	pH 3,0 à 11,0	60 °C
ZORBAX Extend C18	pH 2,0 à 11,5	60 °C (40 °C à pH élevé)

Remarque: toutes les phases stationnaires à base de silice ont une solubilité dans les phases mobiles aqueuses à un pH >6. En cas d'utilisation de colonnes à base de silice à un pH >6, la durée de vie de la colonne sera plus longue à des températures plus basses (40 °C maximum) et en utilisant des solutions tampons faiblement concentrées, dans la gamme 0,01 à 0,02 M. Une utilisation aux limites de la gamme de pH et de température entraîne une diminution sensible de la durée de vie de la colonne.

Pressions opérationnelles maximales – colonnes jusqu'à 9,4 mm de d.i.

Type de colonnes	Taille des particules	Limite de pression
InfinityLab Poroshell 120, InfinityLab Poroshell HPH	1,9 µm	1 300 bars (19 500 psi)
InfinityLab Poroshell 120, InfinityLab Poroshell HPH	2,7 µm, 4 µm	600 bars (9 000 psi)
ZORBAX Résolution Rapide Haute Définition (RRHD)	1,8 µm	1 300 bars (19 500 psi)
ZORBAX Résolution Rapide Haut Débit (RRHT)	1,8 µm	600 bars (9 000 psi)
Toutes les autres colonnes ZORBAX, Rx, Pursuit, Polaris, HC, TC, Microsorb, Metasil, Monochrom, Hypersil, OmniSpher, MicroSpher	3,0 µm, 3,5 µm, 5 µm, 10 µm	400 bars (6 000 psi)

Sélection de la phase mobile et températures de fonctionnement

La phase stationnaire greffée est non polaire par nature. Il est recommandé de l'utiliser avec des phases mobiles polaires telles que des mélanges méthanol/eau ou acétonitrile/eau. L'augmentation du pourcentage de solvant organique réduit généralement le temps de rétention des composés.

Gradients de départ recommandés

Phase stationnaire	Remarques d'utilisation
La plupart des colonnes à phase inverse	D'abord 5 % de méthanol ou d'acétonitrile puis 100 % de méthanol ou d'acétonitrile comme solvant final.
ZORBAX Eclipse PAH*	D'abord 30 ou 40 % d'acétonitrile, jusqu'à 100 % d'acétonitrile comme solvant final. Il peut être nécessaire de refroidir la colonne à 15-20 °C pour obtenir une meilleure résolution.
ZORBAX et InfinityLab Poroshell Bonus-RP	Une proportion de solvant organique inférieure est requise pour l'élution du composé, par rapport aux phases stationnaires à longue chaîne alkyle traditionnelles.

*La plus longue durée de vie est obtenue à <40 °C.

Maintenance des colonnes

Le fritté intérieur des colonnes dont la taille de particules est de 2,7 µm ou plus a une porosité nominale de 2 µm. Les échantillons qui contiennent des particules obturent le fritté d'entrée de colonne. Les colonnes de garde avec leur support si nécessaire sont recommandées pour de tels échantillons et sont généralement recommandés pour toutes les colonnes.

Consultez le site www.agilent.com/chem/fastguards pour obtenir plus d'informations sur les colonnes de garde.

Nettoyage de votre colonne / Prolongement de la durée de vie des colonnes

Pour les colonnes qui peuvent rincées à l'envers (colonnes InfinityLab Poroshell 120, ZORBAX avec des particules de >1,8 µm et toutes les colonnes Pursuit et Polaris), démarrez avec un solvant plus fort (moins polaire).

1. Débranchez la colonne du détecteur et faire couler les solvants de rinçage dans la colonne qui seront récupérés dans un béccher.
2. Démarrez avec la phase mobile contenue dans la colonne mais sans sels ni tampons. Faites passer 10 à 20 volumes de colonne.
3. Puis, faites passer 100 % de solvant organique (méthanol ou acétonitrile).
4. Vérifiez si la pression est revenue à la normale, dans le cas contraire.
5. Jetez la colonne ou essayez des conditions plus éluantes, par ex. 75 % d'acétonitrile/25 % d'isopropanol.
6. Augmentez à 100 % d'isopropanol, 100 % de chlorure de méthylène ou 100 % d'hexane (en cas d'utilisation de chlorure de méthylène ou d'hexane, il sera nécessaire de rincer la colonne avec de l'isopropanol avant utilisation et avant de revenir à la phase mobile désirée).

Pour les colonnes avec particules <1,8 µm, ne rincez pas la colonne à l'envers remplacez la colonne.

Recommandations de stockage

Le stockage à long terme des colonnes à phase greffée et à base de silice doit se faire dans un solvant organique pur. En cas d'utilisation préalable de la colonne avec une phase mobile tamponnée, le tampon doit d'abord être éliminé en rinçant la colonne avec 20 à 30 volumes de colonnes avec un mélange à 50:50 de méthanol ou d'acétonitrile et d'eau, suivi de 20 à 30 volumes de colonnes de solvant pur. Avant le stockage, veillez à bien fermer les extrémités de la colonne afin d'éviter le séchage. Les colonnes peuvent être stockées en toute sécurité pour de courtes périodes dans la plupart des phases mobiles. Afin de protéger l'équipement, il est souhaitable de retirer les sels de l'instrument et de la colonne en rinçant la colonne avec la même phase mobile sans le tampon (par ex. utilisation de 60:40 ACN/H₂O pour retirer une phase mobile tamponnée à 60:40 d'ACN/0,02 M de phosphate). Le rééquilibrage est rapide avec la phase mobile originale lors de l'utilisation de ce protocole et tout risque de corrosion par les sels est éliminé.

Conseils pour optimiser vos résultats chromatographiques

- Optimisez votre instrument en minimisant les longueurs des capillaires entre les différents modules, afin de réduire les volumes morts et l'élargissement des pics. Utilisez un capillaire rouge de 0,12 mm de d.i. ou un capillaire noir de 0,075 mm de d.i. pour les colonnes Fast LC /efficacité élevée. Pour en savoir plus sur les différents capillaires disponibles, consultez le site www.agilent.com/chem/lccapillaries
- Vérifiez que la vitesse d'acquisition des données est optimisée pour votre colonne. Utilisez une vitesse d'acquisition des données plus importante pour les colonnes Fast LC (Poroshell 120, RRHT, RRHD).
- Procédez à la filtration des échantillons ou toute autre préparation d'échantillon adaptée à votre échantillon. Pour en savoir plus, consultez le site www.agilent.com/chem/sampleprep
- Utilisez les lampes certifiées Agilent dans vos instruments de LC, pour obtenir de meilleures performances.



Dieses Handbuch enthält allgemeine Informationen zu allen InfinityLab Poroshell 120-, ZORBAX-, Pursuit- und Polaris-Säulen.

Genauere Informationen über Ihre Säulenphase finden Sie unter:

www.agilent.com/chem/columnchoices

Erste Schritte

Jeder Agilent Säule liegt ein QC-Säulentestreport mit Testchromatogramm bei. Bei dem QC-Testsystem handelt es sich um ein optimiertes Standardsystem, um das Totvolumen im System zu minimieren. Es kann also von dem in Ihrem Labor verwendeten System abweichen. Die Säule kann so besser evaluiert und eine konsistente Produktqualität sichergestellt werden. Ein ordnungsgemäß konfiguriertes LC System liefert ähnliche Ergebnisse wie das Chromatogramm in Ihrem QC-Testreport.

Moderne Säulen sind robust und haben bei Verwendung unter normalen chromatographischen Bedingungen eine lange Lebensdauer. Sie können die Lebensdauer Ihrer Säule verlängern, wenn Sie diese innerhalb der Spezifikationen benutzen. Bitte beachten Sie besonders auch vor der Methodenentwicklung die Spezifikationen der Säule.

Verwenden Ihrer Säule

Installation

- Die Flussrichtung ist auf der Säule angegeben.
- 1,8- μ m-Säulen (ZORBAX RRHT, ZORBAX RRHD) können nur in der auf der Säule angegebenen Flussrichtung verwendet werden.
- Agilent empfiehlt InfinityLab Quick Connect-Fittings (5067-5961 für 0,075 x 105 mm) oder Quick Turn-Fittings (5067-5966) für eine perfekte Säulenverbindung, jederzeit. Polyketon-Fittings (5042-8957) können bei bis zu 600 bar ebenfalls für die Säulen verwendet werden.

Suchen Sie unter Agilent.com nach „Quick Connect-Fittings“, um mehr zu erfahren.



*Polyketon-Fitting,
Artikelnummer 5042-8957*



*Agilent austauschbares
Fitting, 1200 bar,
Artikelnummer 5067-4733*



*Agilent Quick Connect-Fitting,
Artikelnummer 5067-5961*

Konditionieren von Säulen

Jede Säule wird vor ihrem Versand getestet und im Testeluent versendet. Daher ist bei der ersten Verwendung das Spülen mit Wasser nicht erforderlich. Wenn Zusätze (z. B. Puffer oder Ionenpaarreagenzien) in der mobilen Phase verwendet werden, sollte zuerst die Säule mit der mobilen Phase ohne Zusätze gespült werden. Dieser Spülvorgang sollte für einen anschließenden problemlosen Wechsel zur mobilen Phase 10-20 Säulenvolumina umfassen. Bei kurzketigen Phasen (z. B. C8, Phenyl, CN) sollte darauf geachtet werden, dass die Säule vor der Verwendung ordnungsgemäß äquilibriert wurde. Dies stellt Reproduzierbarkeit sicher und verhindert Abweichungen bei der Retentionszeit.

Wichtige Sicherheitshinweise

- Alle Anschlußpunkte in LC-Systemen sind potentielle Quellen von Leckagen. Benutzer sollten die Toxizität bzw. Brennbarkeit der mobilen Phase kennen.
- Die Säule sollte nur in gut belüfteter Umgebung geöffnet werden, da die Gefahr des Einatmens von Säulenpackmaterial aufgrund der kleinen Partikelgröße besteht.
- Halten Sie die spezifischen Säulendruckgrenzwerte für jede Säule ein (siehe Diagramm). Eine Überschreitung dieser Werte beeinträchtigt die Chromatographie-leistung und kann gefährlich sein.

Weitere Hinweise:

- Die Verwendung der Säule entgegen der Flußrichtung sollte vermieden werden, außer bei dem Versuch, verstopfte Fritten zu säubern (siehe "Säulen Anwendungshinweise").
- Verwenden Sie für die Vorbereitung der mobilen Phase immer Reagenzien mit hoher Reinheit und Lösungsmittel in Chromatographiequalität. Entgasen und filtrieren Sie alle mobilen Phasen vor ihrer Verwendung.
- Das Aufschrauben einer Säule kann zu einer Beeinträchtigung der Säulenleistung führen.
- Neue Säulen enthalten ein Gemisch aus organischen Lösungsmitteln und Wasser. Die Lösungsmittelzusammensetzung in Ihrer Säule finden Sie im QC-Testreport. Es sollte darauf geachtet werden, dass keine mobile Phase durch die Säule geleitet wird, die zu einer Niederschlagsbildung führen kann.
- Agilent Umkehrphasensäulen sind mit Wasser und allen gängigen organischen Lösungsmitteln kompatibel.
- Die Verwendung einer Vorsäule wird zum Schutz der Säule und zur Verlängerung ihrer Lebensdauer empfohlen.
- Zur Zeit nicht benutzte Säulen sollten nicht bei erhöhten pH-Werten oder Temperaturen aufbewahrt werden.
- Vermeiden Sie die Verwendung einer Säule außerhalb der empfohlenen pH-Bereiche für die Säulenphase (siehe nächste Seite). Die Lebenszeit verkürzt sich, wenn die Säule außerhalb der empfohlenen pH- und Temperaturbereiche betrieben wird.



Wenn Sie InfinityLab Poroshell 120- oder ZORBAX RRHT- oder RRHD-Säulen einsetzen, verwenden Sie eine **Fast Guard-Vorsäule für UHPLC**, um Ihre analytische Säule zu schützen. Weitere Informationen finden Sie unter www.agilent.com/chem/fastguards.

Säulenbetriebsparameter: pH- und Temperaturbereiche

Phase	Empfohlener pH-Bereich	Maximale Betriebstemperatur
InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, EC-C8 und Bonus-RP; ZORBAX Eclipse Plus C18 und C8; ZORBAX Eclipse XDB-C18, XDB-C8 und XDB-Phenyl; ZORBAX Bonus-RP; HC-C18(2) und TC-C18(2)	pH 2,0 bis 9,0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 PFP und Phenyl-Hexyl; ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl; ZORBAX XDB-CN; ZORBAX Eclipse PAH; ZORBAX ODS und Phenyl; alle Pursuit, Polaris, Microsorb, Metasil, Monochrom, Hypersil, OmniSpher, MicroSpher gebundenen Phasen	pH 2,0 bis 8,0	60 °C
ZORBAX Eclipse PAH	pH 2,0 bis 8,0	60 °C bei pH-Werten <6,0
ZORBAX TMS	pH 2,0 bis 7,0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, SB-C8 und SB-Aq	pH 1,0 bis 8,0	90 °C (StableBond C18 und Poroshell 120 SB-C18)
ZORBAX StableBond SB-C18, SB-C8, SB-Aq, SB-C3 und SB-Phenyl ZORBAX Rx-C8		80 °C (Rx-C8 und SB-Aq, SB-C3 und SB-Phenyl)
InfinityLab Poroshell HPH-C18 und HPH-C8	pH 3,0 bis 11,0	60 °C
ZORBAX Extend C18	pH 2,0 bis 11,5	60 °C (40 °C bei hohem pH)

Hinweis: Alle Packungen auf Kieselgel-Basis sind in wässrigen mobilen Phasen mit einem pH-Wert >6 löslich. Falls Sie dennoch Säulen auf Kieselgel-Basis bei einem pH-Wert >6 verwenden, dann erhalten Sie eine längere Lebensdauer, wenn niedrigere Temperaturen (40 °C max.) und niedrigere Pufferkonzentrationen zwischen 0,01 bis 0,02 M verwendet werden. Wird die Säule außerhalb der spezifizierten pH- und Temperaturgrenzwerten betrieben, kann dies einen signifikant negativen Einfluß auf die Lebensdauer der Säule haben.

Maximaler Druck: Säulen bis zu 9,4 mm id

Säulentyp	Partikelgröße	Druckgrenzwert
InfinityLab Poroshell 120, InfinityLab Poroshell HPH	1,9 µm	1300 bar (19 500 psi)
InfinityLab Poroshell 120, InfinityLab Poroshell HPH	2,7 µm, 4 µm	600 bar (9000 psi)
ZORBAX Rapid Resolution High Definition (RRHD)	1,8 µm	1300 bar (19 500 psi)
ZORBAX Rapid Resolution High Throughput (RRHT)	1,8 µm	600 bar (9000 psi)
Alle anderen ZORBAX, Rx, Pursuit, Polaris, HC, TC, Microsorb, Metasil, Monochrom, Hypersil, OmniSpher, MicroSpher	3,0 µm, 3,5 µm, 5 µm, 10 µm	400 bar (6000 psi)

Mobile Phasen – Auswahl und Betriebstemperaturen

Die gebundene stationäre Phase ist unpolar und wird am besten mit polaren mobilen Phasen wie Methanol/Wasser- oder Acetonitril/Wasser-Gemischen verwendet. Ein höherer Anteil an organischen Komponenten verkürzt normalerweise die Retentionszeit der Probe.

Empfohlene Anfangsgradienten

Stationäre Phase	Verwendungshinweise
Die meisten Umkehrphasensäulen	Am Anfang 5 % Methanol oder Acetonitril und 100 % Methanol oder Acetonitril als letztes Lösungsmittel.
ZORBAX Eclipse PAH*	Am Anfang 30 oder 40 % Acetonitril, bis 100 % Acetonitril als letztes Lösungsmittel. Für eine bessere Auflösung muss die Säule ggf. auf 15 bis 20 °C heruntergekühlt werden.
ZORBAX und InfinityLab Poroshell Bonus-RP	Verglichen mit herkömmlichen langkettigen stationären Alkylphasen ist für die Elution von chemischen Verbindungen eine niedrigere Konzentration des organischen Modifiers der mobilen Phase erforderlich.

*Die optimale Lebensdauer der Säule wird bei <40 °C erreicht.

Säulenanwendungshinweise

Die Einlassfritte von Säulen mit einer Partikelgröße von 2,7 µm oder höher hat eine nominale Durchlässigkeit von 2 µm. Proben, die Schwebstoffe enthalten, verstopfen die Einlassfritte der Säule. Für die Verwendung dieser Proben und allgemein werden Vorsäulen sowie Hardwarekits (nach Bedarf) empfohlen.

Weitere Informationen zu Vorsäulen erhalten Sie unter

www.agilent.com/chem/fastguards

Reinigen Ihrer Säule/Verlängern der Säulenlebensdauer

Für Säulen, bei denen Rückspülungen durchgeführt werden können (InfinityLab Poroshell 120-, ZORBAX-Säulen mit Partikeln >1,8 µm sowie alle Pursuit- und Polaris-Säulen), sollte anfangs ein stärkeres (weniger polares) Lösungsmittel verwendet werden.

1. Trennen Sie die Säule vom Detektor und lassen Sie die Lösungsmittel in ein Becherglas laufen.
2. Beginnen Sie mit der mobilen Phase ohne Puffersalze (Wasser/organische Lösungsmittel). Lassen Sie 10 bis 20 Säulenvolumina durchlaufen.
3. Verwenden Sie als nächstes 100 % organisches Lösungsmittel (Methanol oder Acetonitril).
4. Prüfen Sie, ob der Druck wieder normal ist; wenn nicht,
5. Entsorgen Sie die Säule oder verwenden Sie stärkere Lösungsmittel, z. B. 75 % Acetonitril/25 % Isopropanol.
6. Erhöhen Sie auf 100 % Isopropanol, 100 % Methylenchlorid oder 100 % Hexan (wenn Sie Methylenchlorid oder Hexan verwenden, müssen Sie die Säule vor ihrer Verwendung und vor der Verwendung der mobilen Phase für Umkehrphasen mit Isopropanol spülen).

Für Säulen mit Partikeln $<1,8 \mu\text{m}$ sollten Sie keine Rückspülung durchführen, sondern die Säule austauschen.

Empfehlungen zur Lagerung

Langfristig sollten Säulen mit gebundenen Phasen auf Kieselgel-Basis in einem rein organischen Lösungsmittel gelagert werden. Wurde die Säule zuvor mit einer mobilen Pufferphase verwendet, sollte der Puffer entfernt werden, indem die Säule mit 20 bis 30 Säulenvolumina eines 50:50-Gemischs aus Methanol oder Acetonitril und Wasser und danach mit 20 bis 30 Säulenvolumina reinem Lösungsmittel gespült wird. Vor der Lagerung sollten die Endverschraubungen fest mit Endverschlüssen verschlossen werden, um ein Austrocknen der Packung zu verhindern. Kurzfristig können Säulen in den meisten mobilen Phasen gelagert werden. Um das LC-System zu schützen, sollten Sie Salze aus dem Gerät und der Säule entfernen, indem Sie die Säule mit der gleichen mobilen Phase ohne Puffer spülen (z. B. mit 60:40 ACN/H₂O, um eine 60:40 ACN/0,02 M Phosphatgepufferte mobile Phase zu entfernen). Mit dieser Vorgehensweise stellen Sie eine schnelle erneute Äquilibration mit der ursprünglichen mobilen Phase sicher und eliminieren das Korrosionsrisiko durch Salze.

Tipps für optimale Chromatographieergebnisse

- Optimieren Sie Ihr System, indem Sie die Längen der Kapillaren zwischen den Komponenten minimieren, um Extrasäulenvolumen und Bandenverbreiterung zu reduzieren. Verwenden Sie rote Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 0,12 mm oder schwarze Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 0,075 mm für Fast-LC-/Hocheffizienzsäulen. Weitere Informationen zu Kapillarooptionen erhalten Sie unter www.agilent.com/chem/lccapillaries
- Stellen Sie sicher, dass die Datenerfassungsrate für Ihre Säule optimiert ist. Verwenden Sie eine höhere Datenerfassungsrate für Fast-LC-Säulen (Poroshell 120, RRHT, RRHD).
- Filtrieren Sie Ihre Probe oder führen Sie eine für Ihre Probe geeignete andere Probenvorbereitung durch. Weitere Informationen finden Sie unter www.agilent.com/chem/sampleprep
- Verwenden Sie für eine optimale Leistung Agilent zertifizierte Lampen in Ihren Flüssigkeitschromatografiegeräten.



Questo manuale fornisce informazioni generali sulle colonne InfinityLab Poroshell 120, ZORBAX, Pursuit e Polaris.

Per informazioni più dettagliate su una fase specifica o su una serie di prodotti, consultare il sito:

www.agilent.com/chem/columnchoices

Guida introduttiva

Insieme a tutte le colonne Agilent vengono forniti un certificato di controllo qualità sulle prestazioni della colonna e un cromatogramma di prova. Il sistema HPLC per il controllo qualità è stato modificato partendo da un sistema standard riducendo al minimo il volume morto del sistema. È possibile assistere a delle variazioni rispetto al sistema utilizzato in laboratorio. In questo modo si può meglio valutare la colonna e garantire un prodotto più efficiente. Se il sistema HPLC è stato configurato correttamente, si otterranno risultati simili a quelli indicati sul cromatogramma fornito dal controllo qualità delle prestazioni della colonna.

Le colonne moderne sono robuste e concepite per operare per lunghi periodi in normali condizioni cromatografiche. Potrai ottenere il massimo delle prestazioni utilizzandole nelle specifiche indicate. Controlla le specifiche ogni qualvolta utilizzi le colonne per un metodo analitico.

Utilizzo della colonna

Installazione

- Sulla colonna è indicata la direzione del flusso.
- Le colonne da 1,8 μm (ZORBAX RRHT, ZORBAX RRHD) possono essere utilizzate solo nella direzione del flusso indicata.
- Agilent consiglia raccordi InfinityLab Quick Connect (5067-5961 per 0,075 x 105 mm) o raccordi Quick Turn (5067-5966) per un collegamento sempre perfetto della colonna; è possibile utilizzare anche raccordi in PEEK (5042-8957) per colonne fino a 600 bar.

Eseguire la ricerca "quick connect fitting" sul sito Agilent.com per ulteriori informazioni



Raccordo in PEEK, codice 5042-8957



Raccordo rimovibile Agilent da 1.200 bar, codice 5067-4733



Raccordo Agilent Quick Connect, codice 5067-5961

Condizionamento della colonna

Tutte le colonne vengono sottoposte a test prima della consegna e vengono spedite nell'eluente di prova. Al primo utilizzo, non è pertanto necessario flussare con acqua. Se si utilizzano additivi (ad esempio tamponi o reagenti per coppia ionica) è preferibile introdurre una fase mobile della composizione corretta priva di tali additivi. L'introduzione di 10-20 volumi colonna favorisce il passaggio alla fase mobile. In caso di fasi stazionarie funzionalizzate con catene più corte (come C8, Phenyl, CN), è importante che, prima di essere utilizzata, la colonna sia stata equilibrata correttamente per garantire riproducibilità e prevenire variazioni nel tempo di ritenzione.

Importanti considerazioni sulla sicurezza

- Tutti i punti di giunzione dei sistemi cromatografici per liquidi possono presentare delle perdite. Prestare attenzione alla tossicità e all'infiammabilità delle fasi mobili.
- Data la piccola dimensione delle particelle, è possibile respirare i riempimenti delle colonne a secco. Si consiglia di aprire le colonne solo in locali ben ventilati.
- Rispettare i limiti di pressione operativa indicati per ciascuna colonna (v. schema). Superare tali limiti è pericoloso e si rischia di compromettere le prestazioni cromatografiche.

Altri consigli per l'utilizzo

- Il flusso inverso non è di per sé dannoso per la colonna, dovrebbe tuttavia essere evitato a meno che venga utilizzato per rimuovere le ostruzioni dal frit intasato (v. "Cura della colonna").
- Utilizzare sempre reagenti purissimi e solventi di qualità cromatografica per preparare la fase mobile. Degasare e filtrare la fase mobile prima dell'uso.
- Le prestazioni della colonna vengono compromesse se la colonna viene smontata.
- Le nuove colonne contengono una miscela di solventi organici e acqua. Per informazioni sulla composizione del solvente della colonna, leggere il report di controllo qualità della colonna. Evitare che una fase mobile non miscibile attraversi la colonna per non causare la formazione di un precipitato.
- Le colonne a fase inversa Agilent sono compatibili con l'acqua e con tutti i comuni solventi organici.
- Si consiglia l'utilizzo di una precolonna per proteggere la colonna e prolungarne la durata.
- Il pH e la temperatura non devono essere elevati quando le colonne non vengono utilizzate.
- Utilizzare questa colonna ai livelli di pH consigliati per la fase stazionaria della colonna (v. pagina successiva). pH e temperatura non conformi ai parametri consigliati possono contribuire a ridurre la durata della colonna.



Se utilizzi le colonne InfinityLab Poroshell 120 o ZORBAX RRHT o RRHD, utilizza le pre-colonne **Fast Guard UHPLC** per proteggere le tue colonne analitiche. Consulta il sito www.agilent.com/chem/fastguards per maggiori informazioni.

Parametri per il funzionamento della colonna: pH e temperatura

Fase	Parametro pH consigliato	Max temperatura operativa
InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, EC-C8 e Bonus-RP. ZORBAX Eclipse Plus C18 e C8. ZORBAX Eclipse XDB-C18, XDB-C8 e XDB-Phenyl ZORBAX Bonus-RP. HC-C18(2) e TC-C18(2).	da pH 2,0 a 9,0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 PFP e Phenyl-Hexyl. ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl. ZORBAX XDB-CN. ZORBAX Eclipse PAH. ZORBAX ODS e Phenyl. Tutte le fasi legate Pursuit, Polaris, Microsorb, Metasil, Monochrom, Hypersil, OmniSpher, MicroSpher.	da pH 2,0 a 8,0	60 °C
ZORBAX Eclipse PAH	da pH 2,0 a 8,0	60 °C a pH <6,0
ZORBAX TMS	da pH 2,0 a 7,0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, SB-C8 e SB-Aq. ZORBAX StableBond SB-C18, SB-C8, SB-Aq, SB-C3 e SB-Phenyl ZORBAX Rx-C8.	da pH 1,0 a 8,0	90 °C (StableBond C18 e Poroshell 120 SB-C18) 80 °C (Rx-C8 e SB-Aq, SB-C3 e SB-Phenyl)
InfinityLab Poroshell HPH-C18 e HPH-C8	da pH 3,0 a 11,0	60 °C
ZORBAX Extend C18	da pH 2,0 a 11,5	60 °C (40 °C a pH elevato)

Note: tutti i riempimenti in silice sono solubili in fasi mobili acquose a pH >6. Se si utilizzano colonne in silice a pH >6, è preferibile impostare temperature più basse (40 °C max) per prolungare la durata della colonna e utilizzare basse concentrazioni di tamponi (da 0,01 a 0,02 M). L'utilizzo agli estremi dell'intervallo consentito di pH e temperatura può avere un impatto significativo sulla durata di vita delle colonne.

Pressioni operative massime – Colonne fino a 9,4 mm di id

Tipo di colonna	Dimensione particella	Limite pressione
InfinityLab Poroshell 120, InfinityLab Poroshell HPH	1,9 µm	1.300 bar (19.500 psi)
InfinityLab Poroshell 120, InfinityLab Poroshell HPH	2,7 µm, 4 µm	600 bar (9.000 psi)
ZORBAX rapida risoluzione elevata definizione (RRHD)	1,8 µm	1.300 bar (19.500 psi)
ZORBAX rapida risoluzione elevato rendimento (RRHT)	1,8 µm	600 bar (9.000 psi)
Tutte le altre ZORBAX, Rx, Pursuit, Polaris, HC, TC, Microsorb, Metasil, Monochrom, Hypersil, OmniSpher, MicroSpher	3,0 µm, 3,5 µm, 5 µm, 10 µm	400 bar (6.000 psi)

Selezione della fase mobile e temperature operative

La fase stazionaria legata è in origine apolare ed è pertanto preferibile utilizzarla con fasi mobili polari, ad esempio miscele di metanolo/acqua o acetonitrile/acqua. Aumentare il quantitativo di solvente organico riduce generalmente il tempo di ritenzione del campione.

Gradienti iniziali consigliati

Fase stazionaria	Note di utilizzo
Maggior parte delle colonne a fase inversa	Inizialmente 5% metanolo o acetonitrile e 100% metanolo o acetonitrile come solvente finale.
ZORBAX Eclipse PAH*	Inizialmente 30 o 40% di acetonitrile, fino a 100% di acetonitrile come solvente finale. Per migliorare la risoluzione potrebbe essere necessario raffreddare la colonna ad una temperatura compresa tra i 15 e i 20 °C.
ZORBAX e InfinityLab Poroshell Bonus-RP	Rispetto alle fasi stazionarie con lunghe catene alchiliche, per l'eluizione del composto è necessario utilizzare una concentrazione più bassa del modificatore della fase mobile.

*Durata massima della colonna a <40 °C.

Cura della colonna

Il frit di ingresso sulle colonne con 2,7 μm o più di dimensione della particella ha una porosità nominale di 2 μm . I campioni contenenti particolati vanno ad ostruire il frit dell'iniettore della colonna. Si consiglia l'utilizzo delle precolonne e dei kit specifici se si impiegano campioni di questo genere. Sono tuttavia consigliate con tutti i tipi di colonna.

Per ulteriori informazioni sulle precolonne, visitare il sito

www.agilent.com/chem/fastguards

Pulizia della colonna e prolungamento della durata

In caso di colonna con possibilità di inversione del flusso (colonne InfinityLab Poroshell 120, ZORBAX con particelle $>1,8 \mu\text{m}$ e tutte le colonne Pursuit e Polaris), iniziare utilizzando un solvente più forte (o meno polare).

1. Scollegare la colonna dal rivelatore e scaricare i solventi di lavaggio in un beaker.
2. Iniziare con la fase mobile senza utilizzare sali tampone (acqua/organico). Far passare 10-20 volumi colonna.
3. Dopodiché utilizzare 100% di organico (metanolo o acetonitrile).
4. Controllare che la pressione sia tornata ai valori normali, altrimenti.
5. Sostituire la colonna o considerare condizioni più forti, es., 75% di acetonitrile/25% di isopropanolo.
6. Passare al 100% di isopropanolo, al 100% di cloruro di metilene o al 100% di esano (se si utilizza il cloruro di metilene o l'esano, sarà necessario introdurre nella colonna l'isopropanolo prima dell'uso e prima di tornare alla fase mobile a fase inversa).

In caso di colonne con particelle $<1,8 \mu\text{m}$, la colonna non deve essere degasata ma sostituita.

Consigli per lo stoccaggio

Si consiglia di conservare le colonne in silice e a fase legata in un solvente organico puro se si intende non utilizzarle a lungo. Se la colonna è stata precedentemente utilizzata con una fase mobile con tampone, rimuovere innanzitutto il tampone lavando la colonna con 20-30 volumi di una miscela 50:50 di metanolo o acetonitrile e acqua, e poi con 20-30 volumi di solvente puro. Per evitare che la fase si asciughi, tappare bene le estremità prima dello stoccaggio. Le colonne possono essere conservate nelle maggior parte della fasi mobili per brevi periodi. Per mantenere il sistema, è preferibile rimuovere i sali dallo strumento e dalla colonna lavando la colonna con la stessa fase mobile senza tampone, utilizzando ad esempio 60:40 ACN/H₂O per rimuovere una fase mobile con tampone fosfato 60:40 ACN/0,02 M). Questa soluzione consente di raggiungere rapidamente l'equilibrio con la fase mobile originale e di eliminare il rischio di corrosione causata dai sali.

Consigli per risultati cromatografici eccellenti

- Ottimizzare lo strumento riducendo al minimo la lunghezza dei tubi in modo da diminuire il volume extra-colonna e la larghezza di banda. Utilizzare tubi rossi da 0,12 mm o tubi neri da 0,075 mm per colonne Fast LC/elevata efficienza. Per ulteriori informazioni sulle soluzioni capillari, consultare il sito www.agilent.com/chem/lccapillaries
- Controllare che la velocità di raccolta dei dati sia ottimale per la colonna. Utilizzare una velocità più alta in caso di colonne Fast LC (Poroshell 120, RRHT, RRHD).
- Utilizzare procedure di filtrazione e di preparazione dei campioni adatte al campione. Per ulteriori informazioni, consultare il sito www.agilent.com/chem/sampleprep
- Insieme agli strumenti LC, utilizzare lampade certificate da Agilent per ottenere risultati migliori.



Este folleto ofrece información general para todas las columnas InfinityLab Poroshell 120, ZORBAX, Pursuit y Polaris.

Para obtener más información detallada sobre su fase o familia específica, consulte:

www.agilent.com/chem/columnchoices

Procedimientos iniciales

Todas las columnas Agilent incluyen un informe de Control de Calidad del rendimiento incluyendo un cromatograma de prueba. El instrumento utilizado para la prueba de Control de Calidad está modificado (optimizado) para minimizar el volumen muerto del sistema, por lo que puede variar del sistema que utiliza en su laboratorio. Esto permite una mejor evaluación de la columna y garantiza un producto más consistente. Un sistema LC correctamente configurado generará resultados similares al cromatograma en su informe de Control de Calidad del rendimiento.

Las columnas modernas son robustas y están diseñadas para funcionar durante largos periodos de tiempo en condiciones cromatográficas normales. Puede maximizar el rendimiento de su columna trabajando dentro de especificaciones. Revise siempre las especificaciones antes de poner en marcha un método final.

Utilización de su columna

Instalación

- La dirección de flujo está marcada en la columna.
- Las columnas de 1,8 μm (ZORBAX RRHT, ZORBAX RRHD) solo pueden utilizarse en la dirección de flujo marcado en la columna.
- Agilent recomienda conectores de conexión rápida InfinityLab (5067-5961 para 0,075 x 105 mm) o conexiones de giro rápido (5067-5966) para conseguir conexiones de columnas perfectas en todo momento. También se pueden usar conexiones de policetona (5042-8957) para columnas de hasta 600 bares.

Busque en Agilent.com “conector de conexión rápida” para obtener más información



Conexión de policetona,
ref. 5042-8957



Conexión extraíble Agilent de
1200 bar, ref. 5067-4733



Conector de conexión rápida
Agilent, ref. 5067-5961

Acondicionamiento de las columnas

Todas las columnas son probadas antes de su envío y enviadas en el eluyente de prueba. Por lo tanto, no es necesario lavarlas con agua la primera vez que se utilicen. Si se utilizan aditivos de fase móvil (como tampones o reactivos de par iónico), es aconsejable realizar un lavado intermedio con una fase móvil de la composición correcta, pero sin estas adiciones. El lavado con 10 a 20 volúmenes de columna puede ayudar en la transición a su fase móvil. Para fases estacionarias químicas de cadenas más cortas (por ejemplo, C8, Fenilo y CN), se debe estar seguro de que la columna se ha equilibrado correctamente antes del uso. Así se garantizará la reproducibilidad y se evitará la deriva del tiempo de retención.

Importantes consideraciones de seguridad

- Todos los puntos de conexión en los sistemas de cromatografía líquida son potenciales fuentes de fugas. Los usuarios deben ser conscientes de la toxicidad e inflamabilidad de sus fases móviles.
- Debido al reducido tamaño de las partículas, los empaquetados secos de las columnas son respirables. Las columnas solo deben abrirse en un área bien ventilada.
- Tenga en cuenta los límites de presión de operación indicados para cada columna (ver tabla más adelante). Si se sobrepasan estos límites, el rendimiento cromatográfico se verá afectado y podría no ser seguro.

Otros consejos de operación

- Aunque por lo general no es perjudicial para la columna, se debería evitar el flujo inverso, excepto para intentar desobstruir una frita obstruida (ver "mantenimiento de la columna").
- Utilice siempre reactivos de gran pureza y disolventes de grado cromatográfico para preparar su fase móvil. Desgasifique y filtre toda la fase móvil antes del uso.
- Desmontar una columna en sus partes reducirá el rendimiento de esta.
- Las columnas nuevas contienen una mezcla de disolventes orgánicos y agua. Consulte el informe de Control de Calidad del rendimiento para conocer la composición de disolvente de la columna. Inicialmente, se debería tener cuidado de no pasar ninguna fase móvil a través de la columna que pueda provocar la formación de un precipitado.
- Las columnas de fase reversa Agilent son compatibles con agua y con todos los disolventes orgánicos comunes.
- Se recomienda el uso de un salvacolumna para proteger la columna y aumentar su vida útil.
- Las columnas no deben mantenerse a elevado pH o elevada temperatura cuando no estén en uso.
- Evite el uso de esta columna fuera de los intervalos de pH recomendados para la fase de columna (ver página siguiente). La vida útil de la columna se verá reducida si se opera fuera de los intervalos recomendados de pH y de temperatura.



*Si está usando columna InfinityLab Poroshell 120 ó columnas ZORBAX RRHT ó RRHD, use una **Fast Guard para UHPLC** para proteger su columna analítica. Visite www.agilent.com/chem/fastguards para mas información.*

Parámetros de operación de la columna: pH y temperatura

Fase	Intervalo de pH recomendado	Temperatura máxima de operación
InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, EC-C8 y Bonus-RP. ZORBAX Eclipse Plus C18 y C8. ZORBAX Eclipse XDB-C18, XDB-C8 y XDB-Phenyl ZORBAX Bonus-RP. HC-C18(2) y TC-C18(2).	pH 2,0 a 9,0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 PFP y Phenyl-Hexyl. ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl. ZORBAX XDB-CN. ZORBAX Eclipse PAH. ZORBAX ODS y Phenyl. Todas las fases ligadas de Pursuit, Polaris, Microsorb, Metasil, Monochrom, Hypersil, OmniSpher y MicroSpher.	pH 2,0 a 8,0	60 °C
ZORBAX Eclipse PAH	pH 2,0 a 8,0	60 °C a pH <6,0
ZORBAX TMS	pH 2,0 a 7,0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, SB-C8 y SB-Aq.	pH 1,0 a 8,0	90 °C (StableBond C18 y Poroshell 120 SB-C18)
ZORBAX StableBond SB-C18, SB-C8, SB-Aq, SB-C3 y SB-Phenyl ZORBAX Rx-C8.		80 °C (Rx-C8 y SB-Aq, SB-C3 y SB-Phenyl)
InfinityLab Poroshell HPH-C18 y HPH-C8	pH 3,0 a 11,0	60 °C
ZORBAX Extend C18	pH 2,0 a 11,5	60 °C (40 °C a pH elevado)

Nota: Todos los rellenos basados en sílice tienen cierta solubilidad en fases móviles acuosas de pH >6. Cuando se utilizan las columnas basadas en sílice a pH >6, se obtiene la mayor vida útil de la columna a temperaturas bajas (40 °C máx.) y utilizando bajas concentraciones de tampón en el intervalo de 0,01 a 0,02 M. Trabajar en los valores extremos de los rangos de pH y temperatura tendrá un impacto significativo en la vida de la columna.

Máximas presiones de operación – columnas de hasta 9,4 mm de di

Tipo de columna	Tamaño de partículas	Límite de presión
InfinityLab Poroshell 120, InfinityLab Poroshell HPH	1,9 µm	1.300 bares (19.500 psi)
InfinityLab Poroshell 120, InfinityLab Poroshell HPH	2,7 µm, 4 µm	600 bares (9.000 psi)
ZORBAX de resolución rápida alta definición (RRHD)	1,8 µm	1.300 bares (19.500 psi)
ZORBAX de resolución rápida alto rendimiento (RRHT)	1,8 µm	600 bares (9.000 psi)
Todas las demás columnas ZORBAX, Rx, Pursuit, Polaris, HC, TC, Microsorb, Metasil, Monochrom, Hypersil, OmniSpher, MicroSpher	3,0 µm, 3,5 µm, 5 µm, 10 µm	400 bares (6.000 psi)

Selección de fase móvil y temperaturas de operación

La fase estacionaria ligada es de naturaleza no polar y se utiliza de forma óptima con fases móviles polares como mezclas de metanol/agua o acetonitrilo/agua. El aumento de la cantidad de componente orgánico suele reducir el tiempo de retención de la muestra.

Gradientes de inicio recomendados

Fase estacionaria	Notas de uso
Mayoría de las columnas de fase reversa	5 % de metanol o acetonitrilo inicialmente y 100 % de metanol o acetonitrilo como disolvente final.
ZORBAX Eclipse PAH*	30 o 40 % de acetonitrilo inicialmente, hasta 100 % de acetonitrilo como disolvente final. Puede que sea necesario enfriar la columna de 15 a 20 °C para obtener mejor resolución.
ZORBAX e InfinityLab Poroshell Bonus-RP	Se requiere menor concentración del modificador de fase móvil orgánico para elución del compuesto, en comparación con las fases estacionarias alquílicas de cadena larga tradicionales.

*La vida útil óptima de la columna se alcanza a <40 °C.

Mantenimiento de la columna

La frita de entrada en las columnas con un tamaño de partículas de 2,7 μm o superior tiene una porosidad nominal de 2 μm . Las muestras que contienen materia particulada obstruirán la frita de entrada de la columna. Se recomiendan precolumnas y soportes de precolumnas (según sea necesario) para el uso con estas muestras, y se recomiendan en general para todas las columnas.

Consulte www.agilent.com/chem/fastguards para obtener más información sobre precolumnas.

Limpieza de la columna/extensión de la vida útil de la columna

Para columnas en las que puede revertirse el flujo (columnas InfinityLab Poroshell 120, y columnas ZORBAX con partículas $>1,8 \mu\text{m}$ y todas las columnas Pursuit y Polaris), comience con un disolvente más fuerte (menos polar).

1. Desconecte la columna del detector y eche los disolventes de lavado en un vaso.
2. Comience con la fase móvil sin sales de tampón (agua/orgánico).
3. Pase de 10 a 20 volúmenes de columna de fase móvil.
4. A continuación, utilice orgánico 100 % (metanol o acetonitrilo).
5. Compruebe la presión para ver si ha vuelto al estado normal, si no es así.
6. Deseche la columna o considere condiciones más fuertes, por ejemplo, 75 % acetonitrilo/25 % isopropanol
7. Aumente hasta 100 % isopropanol, 100 % cloruro de metileno o 100 % hexano (si utiliza cloruro de metileno o hexano, tendrá que lavar la columna con isopropanol antes del uso normal y antes de volver a la fase móvil de fase reversa).

Para columnas con partículas $<1,8 \mu\text{m}$, no invierta el de flujo de la columna, sustituya la columna.

Recomendaciones de almacenamiento

El almacenamiento a largo plazo de las columnas de fase ligada basadas en sílice debe realizarse en un disolvente orgánico puro. Si la columna se ha utilizado previamente con una fase móvil con tampón, primero debe extraerse el búfer purgando la columna con 20 a 30 volúmenes de columna de una mezcla 50:50 de metanol o acetonitrilo y agua, seguido de 20 a 30 volúmenes de columna del disolvente puro. Antes del almacenamiento, se deben tapar bien las conexiones finales con tapones para evitar que el relleno se reseque. Las columnas se pueden almacenar de forma segura durante cortos periodos en la mayoría de las fases móviles. Para proteger el equipo, es conveniente eliminar las sales del instrumento y de la columna purgando la columna con la misma fase móvil sin el tampón (por ejemplo, con 60:40 ACN/H₂O para extraer una fase móvil con tampón fosfato 60:40 ACN/0,02 M). El re-equilibrado es rápido con la fase móvil original cuando se utiliza este método y se elimina cualquier peligro de corrosión por las sales.

Consejos para obtener los mejores resultados cromatográficos

- Optimice el instrumento minimizando las longitudes de los capilares de conexión entre los componentes, para reducir así el volumen extra de la columna y el ensanchamiento de banda. Utilice capilares rojos de 0,12 mm de d.i. o negros de 0,075 mm de d.i. para columnas de LC rápida/alta eficiencia. Obtenga información sobre las opciones de capilares en www.agilent.com/chem/lccapillaries
- Asegúrese de que la velocidad de adquisición de datos para la columna está optimizada. Utilice una velocidad de adquisición más elevada para columnas de LC rápida (Poroshell 120, RRHT, RRHD).
- Utilice la filtración de muestra u otra preparación de muestra apropiada para la muestra. Obtenga más información en www.agilent.com/chem/sampleprep
- Utilice lámparas certificadas Agilent en los instrumentos LC para un rendimiento óptimo.



この冊子には、すべての InfinityLab Poroshell 120、ZORBAX、Pursuit、Polaris カラムに関する一般情報が記載されています。

お使いの相またはファミリの具体的な詳細については、下記を参照してください：

www.agilent.com/chem/columnchoices

入門

Agilent のすべてのカラムには、QC カラムパフォーマンスレポート (テストクロマトグラムを含む) が付属しています。QC テストシステムは、システムのデッドボリュームを最小化するために標準のシステムから変更されているため、現在お使いのシステムとは異なる可能性があります。これは、カラムの評価を精密化することで、製品の一貫性を向上させるためです。正しくコンフィグレーションされた LC システムは、QC パフォーマンスレポートのクロマトグラムと同様の結果を生成します。

近年の LC カラムは堅牢性が高く、一般的なクロマトグラフィー条件下で長期間使用できるように設計されています。お客様は、カラムを仕様の範囲内で使用することで、カラムのパフォーマンスを最大にすることが可能です。分析メソッドを最終決定する前に、カラム仕様を必ず確認してください。

カラムの使用

据付

- フローの方向はカラム上に記載されています。
- 1.8 μm のカラム (ZORBAX RRHT, ZORBAX RRHD) は、カラムに記された方向のフローでのみ使用できます。
- Agilent では、InfinityLab クイックコネクTFitting (5067-5961、0.075 x 105 mm 用) またはクイックターンフTFitting (5067-5966) の使用を推奨します。600 bar までのカラムにはポリケトンフTFitting (5042-8957) も使用できます。

詳しくは Agilent のホームページで “クイックコネクTFitting” で検索してください。



ポリケトンフTFitting,
p/n 5042-8957



Agilent 1200 bar 耐圧フTFitting,
p/n 5067-4733



Agilent クイックコネクTFitting,
p/n 5067-5961

カラムのコンディショニング

カラムはすべて出荷前にテストされており、テスト時の移動相が封入された状態で出荷されます。移動相添加剤 (バッファーやイオン対試薬など) を使用する場合、これらの添加剤を含まない組成の移動相を使用して、フラッシュすることを推奨します。カラム体積の 10 ~ 20 倍の量でフラッシュすれば、移動相への移行に十分なはずですが、短鎖の化合物 (C8、フェニル、CN など) の場合、使用前にカラムの適切な平衡化を行う必要があります。これにより、再現性が高まり、リテンションタイムのドリフトを防ぐことができます。

重要な安全上の注意点

- 液体クロマトグラフィシステムでは、すべての接続部で漏れが生じるおそれがあります。このため、移動相の毒性や可燃性に注意が必要です。
- カラム充填剤は微粒子のため、エンドフTFittingを外すと吸い込むおそれがあります。カラムを開く作業は換気のよい場所で行ってください (推奨しません)。
- 各カラムに指定された動作圧力の制限値を必ず守ってください (チャートを参照)。制限値を超えると、カラムが劣化します。また、継手部分からの液漏れ等、危険が生じたりするおそれがあります。

操作に関するその他のヒント

- 逆方向のフローは、カラムを損傷することは通常ありませんが、フリットの詰まりを取り除く場合を除いて避けることをお勧めします（「カラムのメンテナンス」を参照）。
- 移動相の準備には、高純度の試薬と、クロマトグラフィグレードの溶媒を必ず使用してください。使用前に必ず移動相の脱気と濾過を行ってください。
- カラムを分解するとカラムの性能が低下します。
- 新品のカラムには、有機溶媒と水の混合物が入っています。お使いのカラムの溶媒組成については、QC パフォーマンスレポートを参照してください。初めて使用するときには、沈殿を生じるおそれがある移動相をカラムに通さないように注意してください。
- Agilent 逆相カラムは、水および一般的な有機溶媒が使用できます。
- カラムを保護し、カラムの寿命を延ばすため、ガードカラムの使用を推奨します。
- カラムを保管する際には、高 pH および高温の環境を避けてください。
- このカラムは、必ず推奨されるカラム相 pH 範囲内で使用してください（次ページを参照）。推奨される pH 範囲および温度範囲の外で使用した場合、寿命が短くなるおそれがあります。



InfinityLab Poroshell 120、ZORBAX RRHTまたは RRHD カラムを使用している場合、分析カラムを保護するために、**Fast Guard** を使用することをご検討ください。

詳細は、agilent.com/chem/fastguards を参照してください。

カラムの動作パラメータ: pH および温度

相	推奨 pH 範囲	最高使用温度
InfinityLab Poroshell 120 EC-C18、 EC-C8、Bonus-RP。 ZORBAX Eclipse Plus C18 および C8、Eclipse XDB-C8、XDB-C18、 XDB-Phenyl ZORBAX B、ZORBAX Bonus-RP。 HC-C18 (2)、TC-C18 (2)	pH 2.0 ~ 9.0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 PFP および Phenyl-Hexyl。 ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl。 ZORBAX XDB-CN。 ZORBAX Eclipse PAH。 ZORBAX ODS および Phenyl。 すべての Pursuit、Polaris、 Microsorb、Metasil、Monochrom、 Hypersil、OmniSpher、MicroSpher	pH 2.0 ~ 8.0	60 °C
ZORBAX Eclipse PAH	pH 2.0 ~ 8.0	60 °C at pH < 6.0
ZORBAX TMS	pH 2.0 ~ 7.0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 SB-C18、 SB-C8 および SB-Aq。 ZORBAX StableBond SB-C18、 SBC8、SB-Aq、SB-C3 および SB-Phenyl ZORBAX Rx-C8。	pH 1.0 ~ 8.0	90 °C (StableBond C18 お よび Poroshell 120 SB-C18) 80 °C (Rx-C8 および SB-Aq、 SB-C3 および SB-Phényl)
InfinityLab Poroshell HPH-C18 および HPH-C8	pH 3.0 ~ 11.0	60 °C
ZORBAX Extend C18	pH 2.0 ~ 11.5	60 °C (高 pH では 40 °C)

注意: シリカベースの充填剤は、pH > 6 の水性移動相で劣化が早まります。pH > 6 でシリカベースのカラムを使用する場合、カラムの寿命を最大化するには、低温 (40 °C 以下) で、0.01 ~ 0.02 M の範囲の低濃度のバッファーを使用してください。pH 範囲と温度範囲の上限や下限付近で使用すると、カラムの寿命に重大な影響を及ぼします。

最大動作圧力 内径 9.4 mm 以下のカラム

カラムタイプ	粒子径	圧力上限
InfinityLab Poroshell 120、InfinityLab Poroshell HPH	1.9 μm	1300 bar (19500 psi)
InfinityLab Poroshell 120、InfinityLab Poroshell HPH	2.7 μm 、4 μm	600 bar (9000 psi)
ZORBAX Rapid Resolution High Definition (RRHD)	1.8 μm	1300 bar (19500 psi)
ZORBAX Rapid Resolution High Throughput (RRHT)	1.8 μm	600 bar (9000 psi)
その他すべての ZORBAX、 Rx、Pursuit、Polaris、HC、TC、 Microsorb、Metasil、Monochrom、 Hypersil、OmniSpher、MicroSpher	3.0 μm 、3.5 μm 、 5 μm 、10 μm	400 bar (6000 psi)

移動相の選択と動作温度

固定相はその性質上無極性であり、極性のある移動相 (メタノール/水混合物、アセトニトリル/水混合物など) と組み合わせて使用するのが最善です。一般的に、有機溶媒が増えると、サンプルのリテンションタイムは早くなります。

移動相のグラジエントについて

固定相	使用上の注意
ほとんどの 逆相カラム	最初は 5 % メタノールまたはアセトニトリル、 最終溶媒は 100 % メタノールまたは アセトニトリル。
ZORBAX Eclipse PAH*	最初は 30 % または 40 % アセトニトリル、 最終溶媒は 100 % アセトニトリル。分解能を 向上させるには、必要に応じてカラムを 15 ~ 20 °C に冷却。
ZORBAX および InfinityLab Poroshell Bonus-RP	従来の長鎖アルキル固定相に比べて、 より低濃度の有機溶媒が化合物の溶離に 必要な場合がある。

* カラム寿命を最大化するには 40 °C 未満で使用。

カラムのメンテナンス

サンプルに粒子状の物質が含まれる場合、カラムフリットが詰まることがあります。このようなサンプルの場合はガードカラムおよびハードウェアキット (必要な場合) の使用が推奨されます。これは上記の場合に限らずすべてのカラム使用において推奨されます。

ガードカラムの詳細については、www.agilent.com/chem/fastguards を参照してください。

カラムのクリーニング/カラム寿命の向上

バックフラッシュ可能なカラム (InfinityLab Poroshell 120、粒子径 1.8 μm 以上の ZORBAX カラムおよびすべての Pursuit カラムと Polaris カラム) の場合は、強い (極性の小さい) 溶媒を最初に使用します。

1. カラムを検出器から外し、ピーカーに洗浄溶媒を入れます。
2. バッファー塩を含まない移動相 (水/有機溶媒) を最初に使用します。カラム体積の 10 ~ 20 倍の量を通します。
3. 次に、100 % の有機溶媒 (メタノールまたはアセトニトリル) を使用します。
4. 圧力が正常に戻ったかどうかを確認します。
5. 4までの手順で圧力が正常に戻らない場合は、より強い条件を検討します。
(例 75 % アセトニトリル/25 % イソプロパノール)
6. 100 % イソプロパノール、100 % 塩化メチレン、あるいは 100 % ヘキサンまで比率を上げます (塩化メチレンまたはヘキサンを使用する場合は、逆相移動相を使用する前にイソプロパノールでカラムをフラッシュする必要があります)。

粒子径 1.8 μm 未満のカラムの場合、カラムのバックフラッシュは行わず、カラムを交換してください。

保管に関する注意事項

シリカベースのカラムを長期間保管するには、純粋な有機溶媒を入れておく必要があります。カラムをバッファー入りの移動相で使用した場合は、バッファーを除去するためにカラムをパーズする必要があります。このためには、最初にカラム体積の 20 ~ 30 倍の量のメタノールまたはアセトニトリルと水の 50:50 の混合液を使用し、次にカラム体積の 20 ~ 30 倍の量の溶媒を使用します。保管の前に、充填剤の乾燥を避けるため、フィッティングにプラグをしっかりとめ込む必要があります。機器を保護するため、バッファーを含まない同じ移動相でカラムをパーズして、機器とカラムから塩を除去することをお勧めします (たとえば、60:40 の ACN/0.02 M リン酸塩バッファー入り移動相を除去するには、60:40 の ACN/H₂O を使用します)。この方法では、同じ移動相により再平衡化時間を短縮でき、塩による腐食も防ぐことができます。

最適なクロマトグラフィー結果を得るためのヒント

- 機器を最適化するため、コンポーネントの間の配管をできるだけ短くして、余分なカラム体積を減らし、バンドの拡大を避けます。高速高分離カラムには、内径 0.12 mm の赤い配管または内径 0.075 mm の黒い配管を使用します。キャピラリーオプションについては、www.agilent.com/chem/lccapillaries を参照してください。
- お使いのカラムに対して最適なデータ採取レートを使用してください。高速高分離カラム (Poroshell 120、RRHT、RRHD) には高い採取レートを用いてください。
- サンプルに応じて、サンプル濾過やその他の適切なサンプル前処理を行います。詳細については、www.agilent.com/chem/sampleprep を参照してください。
- LC 機器の性能を最大化するため、Agilent 認定のランプを使用します。



В этом буклете приведены общие сведения обо всех колонках InfinityLab Poroshell 120, ZORBAX, Pursuit и Polaris.

Подробные сведения о применяемой фазе или семействе см. на веб-странице www.agilent.com/chem/columnchoices

Начало работы

Все колонки Agilent поставляются с сертификатом качества и рабочих характеристик, содержащим тестовую хроматограмму. Тестовое оборудование, применяемое при контроле качества, оптимизировано относительно стандартного оборудования, чтобы свести к минимуму мертвый объем системы. Поэтому оно может отличаться от используемых в лаборатории систем. Это позволяет лучше оценивать качество колонки и гарантирует изготовление колонок с более единообразными характеристиками. Результаты, выдаваемые правильно настроенной системой жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), будут аналогичны хроматограмме сертификата качества.

Современные колонки надежны и разработаны для длительного использования в нормальных условиях хроматографического эксперимента. Эксплуатация колонок в рамках указанных характеристик обеспечивает оптимальные эксплуатационные характеристики. Перед задействованием окончательной методики сверьтесь ознакомиться с характеристиками колонок.

Использование колонки

Установка

- Направление потока указано на колонке.
- При работе с колонками с частицами сорбента размером 1,8 мкм (ZORBAX RRHT и ZORBAX RRHD) направление потока обязательно должно совпадать с указанным на колонке.
- Agilent рекомендует фитинги InfinityLab Quick Connect (5067-5961 для капилляров размером 0,075 x 105 мм) или фитинги Quick Turn (5067-5966) для обеспечения неизменно надежного соединения с колонкой. Для колонок, рассчитанных на давления до 600 бар, также могут использоваться поликетонные фитинги (5042-8957).

Для получения более подробной информации введите «quick connect fitting» в поле поиска на сайте Agilent.com



Поликетонный фитинг,
кат. № 5042-8957



Съемный фитинг Agilent,
рассчитанный на давления до
1 200 бар, кат. № 5067-4733



Фитинг Agilent Quick Connect,
кат. № 5067-5961

Кондиционирование колонок

Каждая колонка перед поставкой проходит испытания и поставляется в использованном для испытаний элюенте, поэтому промывка водой перед началом использования не требуется. Если используются добавки к подвижной фазе (например, буферы или ион-парные реагенты), рекомендуется проводить промежуточную промывку подвижной фазой необходимого состава, но без таких добавок. При смене подвижной фазы рекомендуется выполнить промывку с расходом 10-20 объемов колонки. Для сорбентов с привитыми фазами с более короткой цепью (например, C8, фенильная или нитрильная) перед использованием необходимо убедиться в должном уравнивании колонки. Это обеспечивает воспроизводимость результатов анализа и предотвращает дрейф времен удерживания.

Важные сведения по безопасности

- Все места соединений в системах ВЭЖХ являются потенциальными источниками утечек. Необходимо ознакомить пользователей с токсичными или огнеопасными свойствами подвижных фаз.
- Существует опасность вдыхания мелких частиц сухого наполнителя колонок. Открывайте колонки только в хорошо вентилируемой зоне.
- Не превышайте рабочее давление, указанное для каждой колонки (см. таблицу). Превышение этих ограничений ухудшает хроматографические характеристики и может быть опасным.

Практические советы

- Хотя обычно обращение потока не опасно для колонок, избегайте его применения за исключением необходимости удаления засоренного пористого вкладыша (см. раздел «Обслуживание колонок»).
- Всегда используйте для приготовления подвижной фазы реагенты высшей степени очистки и растворитель хроматографической степени чистоты. Перед использованием проводите фильтрацию и дегазацию всего объема подвижной фазы.
- Разборка колонки приведет к снижению ее характеристик.
- В новых колонках содержится смесь органических растворителей и воды. Состав растворителя указан в сертификате качества применяемой колонки. Приступая к использованию, следует избегать пропускания через колонку такой подвижной фазы, которая может вызвать выпадение осадка.
- Обратенно-фазовые колонки Agilent могут работать с водой и всеми обычными органическими растворителями.
- Для защиты колонки и увеличения ее срока службы рекомендуется использовать предколонку.
- Не следует хранить неиспользуемые колонки в среде с высокими значениями рН или в условиях повышенной температуры.
- Не используйте колонку за пределами рекомендованного диапазона рН для неподвижной фазы колонки (см. следующую страницу). Эксплуатация за пределами рекомендованных диапазонов рН и температуры может привести к сокращению срока службы.



При использовании аналитических колонок InfinityLab Poroshell 120 или ZORBAX RRHT или RRHD применяйте для их защиты предколонку **Fast Guard для ВЭЖХ сверхвысокого давления (УВЭЖХ)**.
Дополнительные сведения: www.agilent.com/chem/fastguards

Рабочие параметры колонок: значения pH и температуры

Неподвижная фаза	Рекомендованный диапазон pH	Максимальная рабочая температура
InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, EC-C8 и Bonus-RP. ZORBAX Eclipse Plus C18 и C8. ZORBAX Eclipse XDB-C18, XDB-C8 и XDB-Phenyl ZORBAX Bonus-RP. HC-C18(2) и TC-C18(2).	pH от 2,0 до 9,0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 PFP и Phenyl-Hexyl. ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl. ZORBAX XDB-CN. ZORBAX Eclipse PAH. ZORBAX ODS и Phenyl. Все привитые фазы семейств Pursuit, Polaris, Microsorb, Metasil, Monochrom, Hypersil, OmniSpher, MicroSpher.	pH от 2,0 до 8,0	60 °C
ZORBAX Eclipse PAH	pH от 2,0 до 8,0	60 °C при pH менее 6,0
ZORBAX TMS	pH от 2,0 до 7,0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, SB-C8 и SB-Aq.	pH от 1,0 до 8,0	90 °C (StableBond C18 и Poroshell 120 SB-C18)
ZORBAX StableBond SB-C18, SB-C8, SB-Aq, SB-C3 и SB-Phenyl ZORBAX Rx-C8.		80 °C (Rx-C8 и SB-Aq, SB-C3 и SB-Phenyl)
InfinityLab Poroshell HPH-C18 и HPH-C8	pH от 3,0 до 11,0	60 °C
ZORBAX Extend C18	pH от 2,0 до 11,5	60 °C (40 °C при высоких значениях pH)

Примечание. Все сорбенты на основе силикагеля имеют некоторую растворимость в водных подвижных фазах с pH >6. При использовании колонок на основе силикагеля в среде со значениями pH >6 наибольший срок службы обеспечивается при пониженных температурах (не более 40 °C) и использовании низких концентраций буферных веществ в диапазоне от 0,01 до 0,02 М. Работа при предельных значениях pH и температуре значительно снижает срок службы колонки.

Максимальное рабочее давление, колонки с внутренним диаметром до 9,4 мм

Тип колонки	Размер частиц	Предельное давление
InfinityLab Poroshell 120, InfinityLab Poroshell HPH	1,9 мкм	1 300 бар (19 500 фунтов на кв. дюйм)
InfinityLab Poroshell 120, InfinityLab Poroshell HPH	2,7 мкм, 4 мкм	600 бар (9 000 фунтов на кв. дюйм)
ZORBAX Rapid Resolution High Definition (RRHD)	1,8 мкм	1 300 бар (19 500 фунтов на кв. дюйм)
ZORBAX Rapid Resolution High Throughput (RRHT)	1,8 мкм	600 бар (9 000 фунтов на кв. дюйм)
Все остальные колонки	3,0 мкм, 3,5 мкм,	400 бар
ZORBAX, Rx, Pursuit, Polaris, HC, TC, Microsorb, Metasil, Monochrom, Hypersil, OmniSpher, MicroSpher	5 мкм, 10 мкм	(6 000 фунтов на кв. дюйм)

Выбор подвижной фазы и рабочих температур

Привитая неподвижная фаза по своей природе является неполярной, и ее лучше всего использовать с полярными подвижными фазами, такими как смеси метанола с водой или ацетонитрила с водой. Увеличение доли органического компонента обычно уменьшает время удерживания компонентов проб.

Рекомендованные начальные градиенты

Неподвижная фаза	Рекомендации по использованию
Большинство обращенно-фазовых колонок	От 5 процентов метанола или ацетонитрила вначале к 100 процентам метанола или ацетонитрила в качестве конечного растворителя.
ZORBAX Eclipse PAH*	От 30 или 40 процентов ацетонитрила вначале к 100 процентам ацетонитрила в качестве конечного растворителя. Для улучшения разрешения может потребоваться охлаждение колонки до температуры от 15 до 20 °С.
ZORBAX и InfinityLab Poroshell Bonus-RP	По сравнению с обычными алкильными неподвижными фазами с длинной цепью для элюирования соединений может потребоваться более низкая концентрация органического модификатора подвижной фазы.

* Наибольший срок службы колонок обеспечивается при температуре менее 40 °С.

Обслуживание колонок

В колонках с размером частиц 2,7 мкм или более используются входные вкладыши с пористостью 2 мкм. Пробы, содержащие микрочастицы, могут засорять входные пористые вкладыши. С такими пробами рекомендуется использовать предколонки, а также специальные наборы (при необходимости); все эти меры предосторожности рекомендуются в целом для всех колонок.

Подробнее о предколонках: www.agilent.com/chem/fastguards.

Очистка и увеличение срока службы колонки

Промывку колонок, для которых допустимо обращение потока (InfinityLab Poroshell 120, колонки ZORBAX с размером частиц более 1,8 мкм, а также все колонки Pursuit и Polaris), начинайте с более сильного (менее полярного) растворителя.

1. Отсоедините колонку от детектора и направьте промывочные растворители в лабораторный стакан.
2. Начните промывку с рабочей подвижной фазы без буферных солей (водной с органическим модификатором). Пропустите от 10 до 20 объемов колонки.
3. Далее используйте 100-процентный органический растворитель (метанол или ацетонитрил).
4. Убедитесь, что восстановилось нормальное рабочее давление; если этого не произошло, выполните следующие действия.
5. Забракуйте колонку или используйте более сильные растворители, например ацетонитрил с изопропанолом (75:25).
6. Перейдите к использованию еще более сильного растворителя: 100% изопропанола, 100% дихлорметана или 100% гексана (в случае использования дихлорметана или гексана необходимо промыть колонку изопропанолом перед ее использованием и до перехода к рабочей подвижной фазе для обращенно-фазового режима).

Колонки с размером частиц менее 1,8 мкм не подлежат промывке с обращением потока — замените такую колонку.

Рекомендации по хранению

Для длительного хранения колонок с сорбентом на основе силикагеля с привитой фазой следует использовать чистый органический растворитель. Если ранее колонка использовалась с содержащей буфер подвижной фазой, сначала следует удалить буфер промывкой смесью метанола или ацетонитрила с водой (50:50) с расходом 20-30 объемов колонки, а затем промыть ее 20-30 объемами чистого растворителя. Перед направлением колонки на хранение концевые фитинги должны быть тщательно закрыты заглушками для предотвращения высыхания сорбента. Кратковременно хранить колонки можно в большинстве подвижных фаз. В целях защиты оборудования рекомендуется удалить соли из колонки и оборудования, промыв колонку той же подвижной фазой без буфера (например, используя смесь ацетонитрил: вода 60:40 для удаления подвижной фазы состава ацетонитрил: 0,02 М фосфатный буферный раствор 60:40). Этот подход позволяет быстрее достигать повторного прихода в равновесие при использовании исходной подвижной фазы и устраняет опасность возникновения коррозии вследствие присутствия солей.

Советы для получения оптимальных хроматографических результатов

- Оптимизируйте прибор путем максимального сокращения длины соединительных капилляров между компонентами хроматографического тракта, чтобы уменьшить внеколоночный объем и уширение пиков. Используйте капилляры с красной маркировкой с внутренним диаметром 0,12 мм или с черной маркировкой с внутренним диаметром 0,075 мм для колонок для скоростной ЖХ/ ВЭЖХ. Подробнее об ассортименте капилляров: www.agilent.com/chem/lccapillaries
- Убедитесь, что частота сбора данных оптимально подобрана для используемой колонки. Установите повышенную частоту сбора данных при использовании колонок для скоростной ЖХ (InfinityLab Poroshell 120, RRHT и RRHD).
- Используйте подходящие для вашей пробы процедуры фильтрации или иные процедуры пробоподготовки. Подробнее: www.agilent.com/chem/sampleprep
- Используйте в установках ВЭЖХ сертифицированные лампы Agilent, обеспечивающие оптимальные рабочие характеристики.



Este guia oferece informações gerais para todas as colunas InfinityLab Poroshell 120, ZORBAX, Pursuit e Polaris.

Para obter informações mais detalhadas sobre uma fase ou família específica, acesse:

www.agilent.com/chem/columnchoices

Introdução

Cada coluna Agilent traz um relatório de controle de qualidade do desempenho da coluna, incluindo um cromatograma de teste. O sistema utilizado para este teste de controle de qualidade é uma versão do sistema padrão modificada com o objetivo de minimizar o volume morto, por isso o resultado do teste deve diferir do que pode ser obtido no seu sistema. Isso permite avaliar melhor a coluna e garantir uma maior consistência do produto. Um sistema LC configurado adequadamente vai gerar resultados semelhantes aos do cromatograma no relatório de controle de qualidade da coluna.

As colunas modernas são robustas e foram projetadas para operar por longos períodos sob condições cromatográficas normais. É possível maximizar o desempenho da coluna utilizando-a conforme as especificações. Sempre revise as especificações antes de colocar em prática um método final.

Utilização da coluna

Instalação

- A direção do fluxo é indicada na coluna.
- As colunas de 1,8 μm (ZORBAX RRHT, ZORBAX RRHD) só podem ser operadas na direção do fluxo indicada na coluna.
- A Agilent recomenda as conexões InfinityLab Quick Connect (5067-5961 para 0,075 x 105 mm) ou as conexões Quick Turn (5067-5966) para uma conexão de coluna perfeita, sempre. As conexões de policetona (5042-8957) também podem ser usadas para colunas em até 600 bar.

Consulte Agilent.com para “conexões Quick Connect” para saber mais



Conexão de policetona,
p/n 5042-8957



Conexão removível de 1.200 bar
Agilent, p/n 5067-4733



Conexão Agilent Quick
Connect, p/n 5067-5961

Condicionamento da coluna

Todas as colunas são testadas antes do envio e são enviadas com o eluente de teste. Portanto, não é necessário enxaguá-las com água antes da primeira utilização. Caso utilize aditivos na fase móvel (como tampões ou reagentes de par iônico), recomenda-se fazer uma limpeza intermediária com uma fase móvel do composto correto, mas sem estas adições. A limpeza com volumes de 10 a 20 vezes o volume da coluna deve ajudar na transição para a fase móvel. Para substâncias químicas com cadeia mais curta (como C8, fenil e CN), deve-se tomar cuidado para garantir que a coluna seja equilibrada adequadamente antes da utilização. Isso garantirá a reprodutibilidade e evitará desvios do tempo de retenção.

Considerações importantes de segurança

- Todos os pontos de conexão em sistemas de cromatografia líquida são considerados como potenciais pontos de vazamentos. Os usuários devem estar atentos à toxicidade ou à inflamabilidade das fases móveis.
- Devido ao pequeno tamanho de partícula, os empacotamentos de coluna seca são inaláveis. As colunas só devem ser abertas em uma área bem ventilada.
- Respeite os limites de pressão de operação indicados para cada coluna (consulte o gráfico). Exceder esses limites compromete o desempenho cromatográfico e pode não ser seguro.

Outras dicas operacionais

- Embora o fluxo reverso geralmente não seja prejudicial à coluna, ele deve ser evitado, exceto ao tentar remover uma frita entupido (consulte as exceções na seção "Cuidados com a coluna").
- Sempre utilize reagentes de alta pureza e solventes de cromatografia de boa qualidade para preparar a fase móvel. Degaseifique e filtre toda a fase móvel antes da utilização.
- A desmontagem de uma coluna prejudica seu desempenho.
- As colunas novas contêm uma mistura de solventes orgânicos e água. Consulte o relatório de controle de qualidade do desempenho para saber qual é a composição do solvente na coluna. Em primeiro lugar, deve-se tomar cuidado para não passar pela coluna qualquer fase móvel que possa formar um precipitado.
- As colunas Agilent de fase reversa são compatíveis com água e com solventes orgânicos comuns.
- Recomenda-se utilizar uma coluna de guarda para proteger a coluna e aumentar sua vida útil.
- As colunas não devem ser mantidas a temperatura ou pH elevados quando não estiverem em uso.
- Evite utilizar a coluna fora da faixa de pH indicada para a fase da coluna (consulte a próxima página). Operar fora das faixas recomendadas de pH e temperatura provocará a redução da vida útil da coluna.



*Se você estiver usando uma coluna InfinityLab Poroshell 120 ou ZORBAX RRHT ou RRHD, use uma **Fast Guard para UHPLC** para proteger a coluna analítica.*

Acesse www.agilent.com/chem/fastguards para obter mais informações.

Parâmetros operacionais da coluna: pH e temperatura

Fase	Faixa de pH recomendada	Temperatura operacional máxima
InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, EC-C8 e Bonus-RP. ZORBAX Eclipse Plus C18 e C8. ZORBAX Eclipse XDB-C18, XDB-C8 e XDB-Phenyl ZORBAX Bonus-RP. HC-C18(2) e TC-C18(2).	pH 2,0 a 9,0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 PFP e Phenyl-Hexyl. ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl ZORBAX XDB-CN. Eclipse ZORBAX PAH. ZORBAX ODS e Phenyl. Fases ligadas All Pursuit, Polaris, Microsorb, Metasil, Monochrom, Hypersil, OmniSpher e MicroSpher.	pH 2,0 a 8,0	60 °C
ZORBAX Eclipse PAH	pH 2,0 a 8,0	60 °C a pH <6,0
ZORBAX TMS	pH 2,0 a 7,0	60 °C
InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, SB-C8 e SB-Aq. ZORBAX StableBond SB-C18, SB-C8, SB-Aq, SB-C3 e SB-Phenyl ZORBAX Rx-C8.	pH 1,0 a 8,0	90 °C (StableBond C18 e Poroshell 120 SB-C18) 80 °C (Rx-C8 e SB-Aq, SB-C3 e SB-Phenyl)
InfinityLab Poroshell HPH-C18 e HPH-C8	pH 3,0 a 11,0	60 °C
ZORBAX Extend C18	pH 2,0 a 11,5	60 °C (40 °C em pH elevado)

Observação: todos os empacotamentos à base de sílica têm alguma solubilidade em fases móveis aquosas com pH maior que 6. Ao utilizar colunas à base de sílica em pH maior que 6, uma melhor vida útil da coluna é obtida em temperaturas mais baixas (máx. 40°C) usando concentrações baixas para o tampão na faixa de 0,01 a 0,02 M. Ao operar nos extremos das faixas de pH e temperatura causará um impacto significativo sobre a vida útil da coluna.

Pressões operacionais máximas — Colunas de até 9,4 mm de DI

Tipo de coluna	Tamanho de partícula	Limite de pressão
InfinityLab Poroshell 120, InfinityLab Poroshell HPH	1,9 µm	1300 bar (19500 psi)
InfinityLab Poroshell 120, InfinityLab Poroshell HPH	2,7 µm, 4 µm	600 bar (9000 psi)
Alta definição de resolução rápida ZORBAX (RRHD)	1,8 µm	1300 bar (19500 psi)
Alto rendimento de resolução rápida ZORBAX (RRHT)	1,8 µm	600 bar (9000 psi)
Todas as outras ZORBAX, Rx, Pursuit, Polaris, HC, TC, Microsorb, Metasil, Monochrom, Hypersil, OmniSpher, MicroSpher	3,0 µm, 3,5 µm, 5 µm, 10 µm	400 bar (6000 psi)

Escolha de fase móvel e temperaturas operacionais

A fase estacionária ligada é não polar por natureza e é melhor usada com fases móveis polares, como misturas de metanol/água ou acetonitrila/água. Aumentar a quantidade de componente orgânico costuma reduzir o tempo de retenção da amostra.

Gradientes iniciais recomendados

Fase estacionária	Observações de uso
A maioria das colunas de fase reversa	Inicialmente 5% de metanol ou acetonitrila e 100% de metanol ou acetonitrila como solvente final.
ZORBAX Eclipse PAH*	30% ou 40% de acetonitrila inicialmente até 100% de acetonitrila como solvente final. Pode ser necessário resfriar a coluna para 15 °C a 20 °C para obter uma melhor resolução.
ZORBAX e InfinityLab Poroshell Bonus-RP	Para a eluição do composto é necessário um modificador da fase móvel orgânica com concentração mais baixa em comparação com as fases estacionárias tradicionais de cadeias longas do grupo alquila.

*A melhor vida útil da coluna é alcançada a temperaturas inferiores a 40 °C.

Cuidados com a coluna

A frita de entrada em colunas com um tamanho de partícula de 2,7 µm ou maior tem uma porosidade nominal de 2 µm. As amostras que contêm matéria particulada obstruirão a frita da entrada da coluna. Recomenda-se utilizar as colunas de guarda e os kits de hardware (conforme necessário) para uso com essas amostras e geralmente são recomendáveis para uso com todas as colunas.

Acesse www.agilent.com/chem/fastguards para obter mais informações sobre colunas de guarda.

Limpeza da coluna/Prolongamento da vida útil da coluna

Para colunas que podem ser submetidas ao processo de backflush (InfinityLab Poroshell 120, ZORBAX com partículas maiores que 1,8 µm e todas as colunas Pursuit e Polaris), inicie o procedimento com um solvente mais forte (menos polar).

1. Desconecte a coluna do detector e coloque os solventes de lavagem em um béquer.
2. Inicie com sua fase móvel sem sais de buffer (água/orgânico). Realize corridas com 10 a 20 volumes de coluna.
3. Depois, use o componente 100% orgânico (metanol ou acetonitrila).
4. Verifique se a pressão voltou ao normal; em caso negativo,
5. Descarte a coluna ou considere condições mais fortes, por exemplo, 75% acetonitrila/25% isopropanol
6. Aumente para 100% de isopropanol, 100% de cloreto de metileno ou 100% de hexano (se você usar cloreto de metileno ou hexano, será necessário lavar a coluna com isopropanol antes da utilização e antes de retornar à fase móvel reversa).

Não submeta colunas com partículas de 1,8 µm ao processo de backflush; substitua a coluna.

Recomendações de armazenamento

O armazenamento por longos períodos de colunas à base de sílica ou com fase ligada deve ser realizado em um solvente orgânico puro. Se a coluna foi usada anteriormente com uma fase móvel tamponada, primeiro o tampão deve ser removido purgando a coluna com volumes de 20 a 30 colunas com uma mistura de metanol ou acetonitrila e água a 50:50, seguido de volumes de 20 a 30 colunas de solvente puro. Antes do armazenamento, os adaptadores de extremidade devem ser bem fechados com plugues para evitar que o empacotamento seque. As colunas podem ser armazenadas de forma segura por períodos curtos na maioria das fases móveis. Para proteger o equipamento, recomenda-se remover os sais do instrumento e da coluna, purgando a coluna com a mesma fase móvel sem o tampão (ex: utilizando ACN/H₂O a 60:40 para remover uma fase móvel de tampão fosfato ACN/0.02 M a 60:40). Esta abordagem possibilita um rápido reequilíbrio com a fase móvel original, e qualquer risco de corrosão por causa dos sais é eliminado.

Dicas para obter os melhores resultados cromatográficos

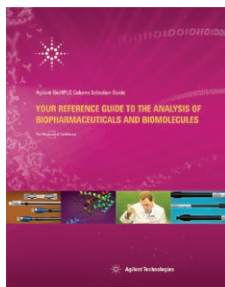
- Para otimizar o instrumento, diminua o comprimento da tubulação entre os componentes para reduzir o volume extracoluna e o alargamento da banda. Use a tubulação vermelha de 0,12 mm ou de 0,075 mm de diâmetro interno para colunas de LC rápidas/ de alta eficiência. Conheça as opções de capilar no site **www.agilent.com/chem/lccapillaries**
- Assegure-se de que a taxa de coleta de dados esteja otimizada para a sua coluna. Utilize uma taxa de coleta mais alta para colunas de LC rápidas (Poroshell 120, RRHT e RRHD).
- Utilize filtração ou outro método de preparo adequado para sua amostra. Saiba mais em **www.agilent.com/chem/sampleprep**
- Utilize lâmpadas certificadas da Agilent nos seus instrumentos de LC para obter o melhor desempenho.



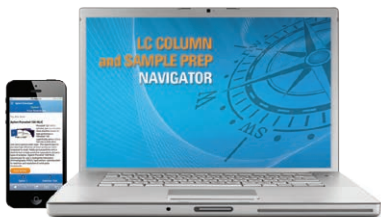
Further Information

For help choosing the right column, request the LC Column Selection Guide or the BioHPLC Column Selection Guide

agilent.com/chem/getguides



The LC Column and Sample Prep Navigator is a web-based tool that can help you find the right column for your method, based on your input. Consult **agilent.com/chem/navigator**



Agilent Ordering Information

For more information on our products and services,
visit our web site at **www.agilent.com**

For technical support and local information,
visit **www.agilent.com/chem/columnsupport**

To place an order, visit **www.agilent.com/chem/wheretobuy**

Agilent offers a complete line of sample preparation products
to support LC and LC/MS applications.

The Agilent Bond Elut SPE and Captiva Filtration Sample Prep
family of products offer the widest range of solutions for
every level of sample cleanliness to help you increase
throughput and enhance the quality of your data.

Learn more at **www.agilent.com/chem/sampleprep**



This information is subject to change without notice.

© Agilent Technologies, Inc. 2016
Published in USA, November 1, 2016

820000-999