Agilent Reversed-Phase Columns User Guide

Agilent 逆相カラムユーザーガイド

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

Säulenbenutzerhandbuch für Agilent Umkehrphasensäulen

Guida all'uso per colonne a fase inversa Agilent

Guía del usuario para las columnas de fase reversa Agilent

Agilent 反相色谱柱用户指南

Руководство пользователя колонок для обращенно-фазовой хроматографии Agilent

Guia do usuário de colunas de fase reversa Agilent

This booklet provides general information for all ZORBAX, Poroshell, Pursuit, and Polaris reversed-phase columns. For additional detailed information about your specific phase or family, see:
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.

For removable, zero-dead volume column connections Agilent recommends the use of the InfinityLab Quick Connect and Quick Turn family. Choices are:

Maximum System Pressure	Recommended Fitting	Part Numbers
Up to 400 bar	InfinityLab Quick Turn fitting (finger-tight)	Fitting: 5067-5966
Up to 800 bar	InfinityLab Quick Turn fitting (with Mounting tool)	Fitting: 5067-5966 Mounting Tool: 5043-0915
Up to 1300 bar	InfinityLab Quick Connect fitting	Fitting: 5067-5965

For more information and part numbers, please see to the Agilent InfinityLab Fitting Brochure (5991-5164EN).

InfinityLab Quick Connect assembly, p/n 5067-5961

InfinityLab Quick Turn fitting, p/n 5067-5966

Learn more at: **www.agilent.com/chem/infinitylabfittings**

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. When using formic acid as a mobile phase additive, condition the column as recommended in the Column Conditioning Method Conditions for Formic Acid table.

Column Conditioning Method Conditions for Formic Acid

Column id (mm)	Mobile Phase	Flow Rate (mL/min)	Column Temp. (°C)	Time (hrs)	After Conditioning
2.1	95/5 H_2O/ CH_3CN + 0.1% formic acid	0.1	60	4	Flush and store in 100% CH_3CN
3.0	95/5 H_2O/ CH_3CN + 0.1% formic acid	0.2	60	4	Flush and store in 100% CH_3CN
4.6	95/5 H_2O/ CH_3CN + 0.1% formic acid	0.4	60	4	Flush and store in 100% CH_3CN

Note: Conditioning overnight, or up to 24 hours, may be beneficial, especially for longer columns or acidic analytes

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 table). 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.

Column operating parameters: pH and temperature

Phase	Recommended pH Range	Maximum Operating Temperature
Poroshell 120 CS-C18	pH 1.0 to 11.0	90 °C
Poroshell HPH	pH 2.0 to 11.0	60 °C
Poroshell 120 SB-C18, StableBond C18, ZORBAX Rx-C8, ZORBAX SB-Aq, ZORBAX SB-Phenyl, SB-C3, Poroshell 300, 300SB-C3	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) 70 °C for pH <5.0; 40 °C for pH 5.0 to 8.0 (Poroshell 300 and 300SB-C3)
ZORBAX Eclipse Plus C18 and C8, Eclipse XDB-C8, XDB-C18, XDB-Phenyl, Poroshell 120 Bonus-RP, Poroshell 120 EC-C18 and EC-C8, ZORBAX Bonus-RP, HC-C18(2) and TC-C18(2)	pH 2.0 to 9.0	60 °C
ZORBAX Extend C18	pH 2.0 to 11.5	60 °C (40 °C at high pH)
Poroshell 120 PFP, Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, ZORBAX ODS, ZORBAX Phenyl, ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl, ZORBAX XDB-CN, ZORBAX Eclipse PAH, All Pursuit and Polaris 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 PFAS delay column	pH 2.0 to 9.0	60 °C

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
Poroshell 120	1.9 µm 2.7 µm, 4 µm	1300 bar (19,500 psi) 600 bar (9000 psi)
Poroshell 300	5 µm	400 bar (6000 psi)
ZORBAX Rapid Resolution (RR)	3.5 µm	400 bar (6000 psi)
ZORBAX Rapid Resolution High Throughput (RRHT)	1.8 µm	600 bar (9000 psi)
ZORBAX Rapid Resolution High Definition (RRHD)	1.8 µm	1200 bar (17,000 psi)
All ZORBAX, Pursuit, and Polaris columns, not noted as RRHT or RRHD, and HC-C18(2), TC-C18(2)	3.0 µm, 3.5 µm, 5 µm	400 bar (6000 psi) 200 bar (3000 psi) (Metaguards)
InfinityLab PFAS delay column		1200 bar (17,000 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 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. ZORBAX and Fast Guard columns and hardware kits (as required) are recommended for use with such samples, and are generally recommended for all column use.

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

Cleaning your column/extending column life

For columns that can be backflushed (Poroshell 120, ZORBAX columns with particles >1.8 µm 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). Flush 10 to 20 column volumes through the column.
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, for example, 75% acetontrile/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).

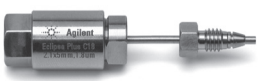
For columns with particles <1.8 µm, do not backflush the column—replace the column.

Storage recommendations

Long-term storage of silica-based, bonded phase columns should be in a pure organic solvent such as acetonitrile. 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. To protect equipment, is it desirable to remove salts from the instrument and column by purging the column with the same mobile phase without the buffer (for example using 60:40 ACN/H_20 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 tubing or 0.075 mm id black tubing for Fast LC/high efficiency columns. Learn about capillary options at 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, and RRHD).
- Use sample filtration or other sample preparation as appropriate for your sample. Learn more at: **agilent.com/chem/sampleprep**
- Use Agilent certified lamps in your LC instruments for best performance.



*If you are using Poroshell 120 or ZORBAX RRHT or RRHD columns, consider using a **Fast Guard for UHPLC** to protect your analytical column. See **agilent.com/chem/fastguards** for more information.*

この冊子には、すべての ZORBAX、Poroshell、Pursuit、Polaris 逆相カラムに関する一般的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：
agilent.com/chem/jp

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。最終的なメソッドを適用する前に、必ず仕様を確認してください。

カラムの使用方法

据付

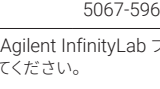
- フローの方向はカラム上に記載されています。
- 1.8 µm のカラム（ZORBAX RRHT、ZORBAX RRHD）は、カラムに記された方向のフローでのみ使用できます。

取り外し可能でゼロデッドボリュームのカラム接続を実現するために Agilent は InfinityLab クイックコネクトおよびクイックターンファミリ製品の使用を推奨しています。次の選択肢があります。

最大システム圧力	推奨フィッティング	部品番号
最大 400 bar	InfinityLab クイックターンフィッティング（フィンガータイト）	フィッティング：5067-5966
最大 800 bar	InfinityLab クイックターンフィッティング（取り付けツール使用）	フィッティング：5067-5966 取り付けツール：5043-0915
最大 1300 bar	InfinityLab クイックコネクトフィッティング	フィッティング：5067-5965

より詳細な情報および部品番号については、Agilent InfinityLab フィッティングのカタログ（5991-5164JAJP）を参照してください。

InfinityLab クイックコネクトアセンブリ、p/n 5067-5961



InfinityLab クイックターンフィッティング、p/n 5067-5966

詳細については、**www.agilent.com/chem/infinitylabfittings** をご覧ください。

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。そのため、初回使用時に、水による洗浄は必要ありません。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、移動相への移行には十分なはずです。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ことが必要です。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。移動相添加物としてギ酸を使用する場合、ギ酸に関するカラムコンディショニングメソッド条件の表で推奨されているとおりに、カラムをコンディショニングします。

ギ酸に関するカラムコンディショニングメソッド条件

カラム内径（mm）	移動相	流量（mL/min）	カラム温度（°C）	時間（時間）	コンディショニング後
2.1	95/5 H_2O/CH_3CN + 0.1 % ギ酸	0.1	60	4	フラッシングし、100 % CH_3CN で保管
3.0	95/5 H_2O/CH_3CN + 0.1 % ギ酸	0.2	60	4	フラッシングし、100 % CH_3CN で保管
4.6	95/5 H_2O/CH_3CN + 0.1 % ギ酸	0.4	60	4	フラッシングし、100 % CH_3CN で保管

注：特に、長いカラムや酸性分析対象物については、一晩または最大 24 時間のコンディショニングが有効な場合があります。

重要な安全上の注意点

- 液体クロマトグラフシステムでは、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、エンドフィッティング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。
- 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（表を参照）。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など、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、クロマトグラフィー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。

カラム操作パラメータ- pH および温度

相	推奨 pH 範囲	最大動作温度
Poroshell 120 CS-C18	pH 1.0 ～ 11.0	90 °C
Poroshell HPH	pH 2.0 ～ 11.0	60 °C
Poroshell 120 SB-C18、StableBond C18、ZORBAX Rx-C8、ZORBAX SB-Aq、ZORBAX SB-Phenyl、SB-C3、Poroshell 300、300SB-C3	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-Phenyl） pH 5.0 未満については 70 °C、pH 5.0 ～ 8.0 については 40 °C（Poroshell 300 および 300SB-C3）
ZORBAX Eclipse Plus C18 および C8、Eclipse XDB-C8、XDB-C18、XDB-Phenyl、Poroshell 120 Bonus-RP、Poroshell 120 EC-C18 および EC-C8、ZORBAX Bonus-RP、HC-C18(2) および TC-C18(2)	pH 2.0 ～ 9.0	60 °C
ZORBAX Extend C18	pH 2.0 ～ 11.5	60 °C（高 pH では 40 °C）
Poroshell 120 PFP、Poroshell 120 Phenyl-Hexyl、ZORBAX ODS、ZORBAX Phenyl、ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl、ZORBAX XDB-CN、ZORBAX Eclipse PAH、すべての Pursuit および Polaris 結合相	pH 2.0 ～ 8.0	60 °C
ZORBAX Eclipse PAH	pH 2.0 ～ 8.0	pH 6.0 未満で 60 °C
ZORBAX TMS	pH 2.0 ～ 7.0	60 °C
InfinityLab PFAS ディレイカラム	pH 2.0 ～ 9.0	60 °C

注：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
Poroshell 120	1.9 µm、2.7 µm、4 µm	1300 bar（19,500 psi）600 bar（9000 psi）
Poroshell 300	5 µm	400 bar（6000 psi）
ZORBAX Rapid Resolution (RR)	3.5 µm	400 bar（6000 psi）
ZORBAX Rapid Resolution High Throughput（RRHT）	1.8 µm	600 bar（9000 psi）
ZORBAX Rapid Resolution High Definition（RRHT）	1.8 µm	1200 bar（17,000 psi）
すべての ZORBAX、Pursuit、Polaris カラム（RRHT または RRHD が付くもの以外）、HC-C18(2)、TC-C18(2)	3.0 µm、5 µm、7 µm	400 bar（6000 psi）200 bar（3000 psi）（Metaguards）
InfinityLab PFAS ディレイカラム		1200 bar（17,000 psi）

移動相の選択と動作温度

化学結合型固定相は、性質上無極性で、メタノール / 水混合物またはアセトニトリル / 水混合物のような極性移動相とともに使用するのが最も好ましい方法です。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 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

粒子径 2.7 µm 以上のカラムのフリットには、2 µm の公称多孔性があります。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、Agilent ZORBAX および Fast Guard カラムと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、**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（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、ビ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 倍の量でカラムをフラッシュします。
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）。

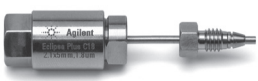
粒子径 1.8 µm 未満のカラムの場合、カラムのバックフラッシュは行わず、カラムを交換してください。

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、アセトニトリルなどの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ジ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は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ジして、機器とカラムから塩を除去することをお勧めします（例えば、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/H_20 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、agilent.com/chem/lccapillaries を参照してください。
- データ採取レートが、使用しているカラムに適しているか確認します。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、および 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/jp** 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。



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。

Cette brochure contient des informations générales applicables à l'ensemble des colonnes à phase inverse des gammes ZORBAX, Poroshell, Pursuit, et Polaris. Pour des informations plus détaillées sur la phase que vous utilisez ou une famille de colonnes en particulier, rendez-vous sur : **agilent.com/chem/columnchoices**

Considérations initiales

Chaque colonne Agilent est livrée avec un rapport de contrôle-qualité, évaluant la performance de la colonne et comprenant un chromatogramme de test. Le système utilisé pour les tests de contrôle qualité est un système standard modifié afin de réduire au minimum le volume mort du système. Il peut donc être différent du système utilisé dans votre laboratoire. Cela permet de mieux évaluer la colonne et d'assurer la qualité constante du produit. Un système de LC configuré correctement doit générer des résultats similaires au chromatogramme inclus dans le rapport de contrôle-qualité de la performance.

Les colonnes modernes sont robustes et conçues pour être utilisées pendant de longues périodes dans des conditions chromatographiques normales. Vous pouvez optimiser la performance de la colonne en respectant ses spécifications. Consultez toujours les spécifications avant la mise en œuvre finale d'une méthode.

Utilisation de votre colonne

Installation

- Le sens de l'écoulement est indiqué sur la colonne.
- Les colonnes de 1,8 µm (ZORBAX RRHT, ZORBAX RRHD) ne peuvent être utilisées que dans le sens de l'écoulement indiqué sur la colonne.

Agilent recommande d'utiliser des raccords de colonne amovibles sans volume mort de la famille InfinityLab Quick Connect et Quick Turn. Les modèles adaptés sont les suivants :

Pression maximale du système	Raccord recommandé	Références
Jusqu'à 400 bars	Raccord rapide Quick Turn InfinityLab (serrage manuel)	Raccord : 5067-5966
Jusqu'à 800 bars	Raccord rapide Quick Turn InfinityLab (avec outil de montage)	Raccord : 5067-5966 Outil de montage : 5043-0915
Jusqu'à 1300 bars	Raccord rapide Quick Connect InfinityLab	Raccord : 5067-5965

Pour en savoir plus et obtenir des numéros de référence, veuillez vous référer à la brochure des raccords Agilent InfinityLab (5991-5164EN).

Ensemble raccord rapide Quick Connect InfinityLab, réf. 5067-5961

Raccord rapide Quick Turn InfinityLab, réf. 5067-5966

Pour en savoir plus, rendez-vous sur : **www.agilent.com/chem/infinitylabfittings**

Stabilisation de la colonne

Chaque colonne est testée avant l'expédition et livrée contenant l'éluant de test. Il n'est donc pas nécessaire de rincer la colonne avec de l'eau avant sa première utilisation. En cas d'utilisation d'additifs de phase mobile (tampons ou réactifs d'appariement d'ions par exemple), il est conseillé de réaliser un rinçage intermédiaire avec une phase mobile de composition identique, mais sans additif de ce type. Un rinçage avec 10 à 20 volumes de colonne facilite en général la transition vers votre phase mobile. Pour les phases à chaînes courtes (C8, Phenyl, CN par exemple), veillez à bien stabiliser la colonne avant de l'utiliser. Cela permet de garantir la reproductibilité et d'éviter les dérives des temps de rétention. Si la phase mobile contient de l'acide formique en guise d'additif, stabilisez la colonne selon les recommandations figurant dans le tableau intitulé Conditions de stabilisation des colonnes contenant de l'acide formique.

Conditions de stabilisation des colonnes contenant de l'acide formique

D.i. de colonne (mm)	Phase mobile	Débit (mL/min)	Temp. de colonne (°C)	Temps (heures)	Après stabilisation
2,1	H_2O/CH_3CN 95/5 + acide formique 0,1 %	0,1	60	4	Rinçage et stockage dans du CH_3CN 100 %
3,0	H_2O/CH_3CN 95/5 + acide formique 0,1 %	0,2	60	4	Rinçage et stockage dans du CH_3CN 100 %
4,6	H_2O/CH_3CN 95/5 + acide formique 0,1 %	0,4	60	4	Rinçage et stockage dans du CH_3CN 100 %

Remarque : il peut être bénéfique de procéder à la stabilisation sur une nuit ou jusqu'à 24 heures, notamment pour les colonnes longues ou les composés acides

Consignes de sécurité importantes

- Tous les points de raccordement dans les systèmes de chromatographie liquide représentent des sources de fuites potentielles. Les utilisateurs doivent connaître le caractère toxique ou inflammable de leurs phases mobiles.
- En raison de leur granulométrie fine, les matériaux de remplissage secs des colonnes peuvent être inhalés. Les colonnes doivent être ouvertes uniquement dans une zone bien ventilée.
- Veuillez respecter les limites de pression de fonctionnement notées pour chaque colonne (voir le tableau correspondant). Tout dépassement de ces limites pourrait compromettre la performance chromatographique et représenter un danger pour l'utilisateur.

Autres conseils d'utilisation

- Bien que généralement non dangereux pour la colonne, l'inversion de flux doit être évitée, excepté pour tenter de déboucher un fritté colmaté (voir la rubrique *« Entretien des colonnes »*).
- Utilisez toujours des réactifs de grande pureté et des solvants de qualité chromatographique pour préparer votre phase mobile. Dégazez et filtrez toute phase mobile avant utilisation.
- Le démontage d'une colonne entraîne une baisse de sa performance.
- Les nouvelles colonnes contiennent un mélange constitué de solvants organiques et d'eau. Reportez-vous au rapport de contrôle-qualité de la performance pour connaître la composition du solvant dans votre colonne. Évitez initialement de faire circuler dans la colonne une phase mobile pouvant entraîner la formation d'un précipité.
- Les colonnes à phase inverse Agilent sont compatibles avec l'eau et tous les solvants organiques courants.
- Nous vous recommandons d'utiliser une colonne de garde pour protéger votre colonne et prolonger sa durée de vie.
- Les colonnes ne doivent pas être maintenues à pH élevé ou à haute température lorsqu'elles ne sont pas utilisées.
- Évitez d'utiliser cette colonne en dehors des plages de pH recommandées pour la phase de la colonne (reportez-vous à la page suivante). Attendez-vous à ce que la durée de vie de la colonne soit réduite si vous l'utilisez en dehors des plages de pH et de température recommandées.

Paramètres opérationnels de la colonne : pH et température

Phase	Plage de pH recommandée	Température de fonctionnement maximale
Poroshell 120 CS-C18	pH 1,0 à 11,0	90 °C
Poroshell HPH	pH 2,0 à 11,0	60 °C
Poroshell 120 SB-C18, StableBond C18, ZORBAX Rx-C8, ZORBAX SB-Aq, ZORBAX SB-Phenyl, SB-C3, Poroshell 300, 300SB-C3	pH 1,0 à 8,0	90 °C (StableBond C18 et Poroshell 120 SB-C18) 80 °C (Rx-C8 et SB-Aq, SB-C3 et SB-Phenyl) 70 °C pour pH < 5,0 ; 40 °C pour pH de 5,0 à 8,0 (Poroshell 300 et 300SB-C3)
ZORBAX Eclipse Plus C18 et C8, Eclipse XDB-C8, XDB-C18, XDB-Phenyl, Poroshell 120 Bonus-RP, Poroshell 120 EC-C18 et EC-C8, ZORBAX Bonus-RP, HC-C18(2) et TC-C18(2)	pH 2,0 à 9,0	60 °C
ZORBAX Extend C18	pH 2,0 à 11,5	60 °C (40 °C à pH élevé)
Poroshell 120 PFP, Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, ZORBAX ODS, ZORBAX Phenyl, ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl, ZORBAX XDB-CN, ZORBAX Eclipse PAH, toutes les phases greffées Pursuit et Polaris	pH 2,0 à 8,0	60 °C
ZORBAX Eclipse PAH	pH 2,0 à 8,0	60°C à pH < 6,0
ZORBAX TMS	pH 2,0 à 7,0	60 °C
Colonne retard PFAS InfinityLab	pH 2,0 à 9,0	60 °C

Remarque : tous les matériaux de remplissage à base de silice présentent une certaine solubilité dans les phases mobiles aqueuses de pH > 6. En cas d'utilisation d'une colonne à base de silice à pH > 6, vous pouvez prolonger la durée de vie de la colonne en l'utilisant à des températures inférieures (40 °C maximum) et avec des concentrations de tampon faibles comprises entre 0,01 et 0,02 M. L'utilisation à des pH et à des températures à la limite des plages recommandées peut avoir un effet significatif sur la durée de vie de la colonne.

Pressions de fonctionnement maximales pour les colonnes jusqu'à 9,4 mm de d.i.

Type de colonne	Granulométrie	Limite de pression
Poroshell 120	1,9 µm 2,7 µm, 4 µm	1 300 bars (19 500 psi) 600 bars (9 000 psi)
Poroshell 300	5 µm	400 bars (6000 psi)
ZORBAX Résolution Rapide (RR)	3,5 µm	400 bars (6000 psi)
ZORBAX Résolution Rapide Haut Débit (RRHT)	1,8 µm	600 bars (9000 psi)
ZORBAX Résolution Rapide Haute Définition (RRHD)	1,8 µm	1 200 bars (17 000 psi)
Toutes les colonnes ZORBAX, Pursuit et Polaris, autres que RRHT ou RRHD, et HC-C18(2), TC-C18(2)	3,0 µm, 3,5 µm, 5 µm	400 bars (6 000 psi) 200 bars (3 000 psi) (MetaGuards)
Colonne retard PFAS InfinityLab		1 200 bars (17 000 psi)

Sélection de la phase mobile et températures de fonctionnement

La phase stationnaire greffée est de nature non polaire et convient plus particulièrement aux phases mobiles polaires telles que les mélanges méthanol/eau ou acétonitrile/eau. Augmenter la quantité de composant organique revient typiquement à réduire le temps de rétention de l'échantillon.

Gradients recommandés pour le démarrage

Phase stationnaire	Notes d'utilisation
La plupart des colonnes à phase inverse	démarrage avec 5 % de méthanol ou d'acétonitrile, 100 % de méthanol ou d'acétonitrile à la fin.
ZORBAX Eclipse PAH*	démarrage avec 30 ou 40 % d'acétonitrile, jusqu'à atteindre 100 % d'acétonitrile à la fin. Il peut être nécessaire de refroidir la colonne entre 15 et 20 °C pour améliorer la résolution.
ZORBAX Bonus-RP	Pour éluer les composés, cette phase requiert une plus faible concentration de modificateur de phase mobile que les phases stationnaires à longue chaîne alkyle.

* La durée de vie de la colonne est optimale à une température < 40 °C.

Entretien de la colonne

Le fritté d'entrée des colonnes dont la granulométrie est supérieure ou égale à 2,7 µm a une porosité nominale de 2 µm. Les échantillons contenant des particules bouchent le fritté d'entrée de la colonne. Pour ces échantillons en particulier, mais aussi pour tous les types d'échantillons en général, il est recommandé d'utiliser les colonnes et kits de matériel ZORBAX et Fast Guard (selon le besoin).

Rendez-vous sur **agilent.com/chem/fastguards** pour en savoir plus sur les colonnes de garde.

Nettoyage de votre colonne/Allongement de la durée de vie de votre colonne

Pour les colonnes qui peuvent être rétrobalayées (colonnes Poroshell 120, ZORBAX avec des particules >1,8 µm et toutes les colonnes Pursuit et Polaris), démarrez avec un solvant plus fort (moins polaire).

1. Déconnectez la colonne du détecteur et faites passer des solvants de lavage dans un bécher.
2. Commencez par votre phase mobile exempte de sels tampons (eau/solvant organique). Rincez la colonne avec 10 à 20 volumes de colonne.
3. Passez ensuite à un solvant 100 % organique (méthanol ou acétonitrile).
4. Contrôler la pression pour vérifier si elle est revenue à la normale. Si ce n'est pas le cas,
5. Changez de colonne, ou passez à des conditions plus fortes, par exemple 75 % d'acétonitrile/25 % d'isopropanol
6. Monter à 100 % d'isopropanol, 100 % de chlorure de méthylène ou 100 % d'hexane ; en cas de chlorure de méthylène ou d'hexane, vous aurez besoin de rincer la colonne à l'isopropanol avant de pouvoir l'utiliser et avant de revenir à votre phase mobile de phase inverse.

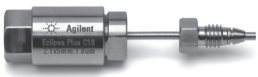
Pour les colonnes contenant des particules < 1,8 µm, remplacez la colonne plutôt que de la rincer à l'envers.

Recommandations de stockage

Pour un stockage à long terme, les colonnes à phase greffée à base de silice doivent être remplies d'un solvant organique pur tel que l'acétonitrile. Si la colonne a été utilisée avant le stockage avec une phase mobile tamponnée, éliminez d'abord le tampon en purgeant la colonne avec 20 à 30 volumes de colonne d'un mélange 50/50 d'eau et de méthanol ou d'acétonitrile, puis continuez avec 20 à 30 volumes de colonne du solvant pur. Avant le stockage, les raccords aux extrémités de la colonne doivent être fermés hermétiquement avec des bouchons d'extrémité pour prévenir le dessèchement du remplissage. Pour protéger votre matériel, il est toutefois souhaitable d'éliminer les sels de l'instrument et de la colonne en purgeant la colonne avec la même phase mobile sans tampon (par exemple, en utilisant un mélange ACN/H_20 60/40 pour retirer une phase mobile tamponnée d'ACN/phosphate 0,02 M 60/40). Cette approche permet une stabilisation rapide avec la phase mobile d'origine et évite tout risque de corrosion due aux sels.

Conseils pour obtenir des résultats chromatographiques optimaux

- Optimisez votre instrument en réduisant au minimum les longueurs des tubes entre les composants, ce qui diminue le volume extracolonne et favorise l'obtention de pics étroits. Utilisez un tube rouge de 0,12 mm de d.i. ou un tube noir de 0,075 mm de d.i. pour les colonnes Fast LC/à haute efficacité. Pour en savoir plus sur les choix de capillaires, rendez-vous sur agilent.com/chem/lccapillaries
- Vérifiez que le taux d'acquisition des données est optimisé pour votre colonne. Utilisez une vitesse supérieure pour les colonnes Fast LC (Poroshell 120, RRHT et RRHD).
- Selon le type de votre échantillon, filtrez-le ou suivez une autre méthode de préparation des échantillons. Pour en savoir plus :
  agilent.com/chem/sampleprep
- Utilisez des lampes certifiées Agilent pour vos instruments de LC afin de garantir une performance optimale.



Si vous utilisez une colonne Poroshell 120, ou ZORBAX RRHT ou RRHD, protégez-la avec une colonne de garde ***Fast Guard pour UHPLC****. Consultez le site* ***agilent.com/chem/fastguards*** *pour plus d'informations.*

Diese Broschüre enthält allgemeine Informationen zu allen Agilent ZORBAX-, Agilent Poroshell-, Agilent Pursuit- und Agilent Polaris-Umkehrphasensäulen. Weiterführende Informationen zu bestimmten Phasen oder Produktfamilien finden Sie unter: **agilent.com/chem/columnchoices**

Erste Schritte

Jeder Säule von Agilent ist ein QC-Säulenleistungsprotokoll mit Testchromatogramm beigefügt. Das für die Tests zur Qualitätskontrolle eingesetzte Chromatographiesystem ist ein im Hinblick auf minimales Totvolumen modifiziertes Standardsystem, kann also von dem in Ihrem Labor verwendeten System abweichen. Dies ermöglicht eine bessere Bewertung der Säule und sichert eine gleichbleibende Produktqualität. Mit einem ordnungsgemäß konfigurierten LC-System erzielen Sie jedoch vergleichbare Ergebnisse wie im Chromatogramm des QC-Leistungsprotokolls.

Moderne Säulen sind robust und für einen langen Betrieb bei normalen Chromatographiebedingungen ausgelegt. Durch Verwendung der Säule gemäß der Spezifikationen können Sie die Säulenleistung maximieren. Prüfen Sie daher vor der endgültigen Etablierung einer Methode stets die Säulenspezifikationen.

Verwendung der Säule

Installation

- Die Flussrichtung ist auf der Säule angegeben.
- 1,8-µm-Säulen (Agilent ZORBAX RRHT-, Agilent ZORBAX RRHD-Säulen) können nur in der auf der Säule gekennzeichneten Flussrichtung verwendet werden.

Agilent empfiehlt für abnehmbare Säulenanschlüsse ohne Totvolumen die Verwendung der InfinityLab Quick Connect und Quick Turn Produktfamilie. Sie haben die Wahl zwischen:

Maximaler Systemdruck	Empfohlenes Fitting	Bestellnummern
Bis 400 bar	InfinityLab Quick Turn Fitting (fingerfest)	Fitting: 5067-5966
Bis 800 bar	InfinityLab Quick Turn Fitting (mit Montagewerkzeug)	Fitting: 5067-5966 Montagewerkzeug: 5043-0915
Bis 1300 bar	InfinityLab Quick Connect Fitting	Fitting: 5067-5965

Weiterführende Informationen und Bestellnummern finden Sie in der Broschüre über Agilent InfinityLab Fittings (5991-5164EN).

InfinityLab Quick Connect-Einheit, Bestell-Nr. 5067-5961

InfinityLab Quick Turn Fitting, Bestell-Nr. 5067-5966

Weiterführende Informationen finden Sie unter
www.agilent.com/chem/infinitylabfittings

Säulenkonditionierung

Jede Säule wird vor der Auslieferung getestet. Der Versand erfolgt im Testlösemittel. Daher braucht die Säule vor der ersten Verwendung nicht mit Wasser gespült werden. Werden Additive für die mobile Phase benutzt (z. B. Puffer oder Ionenpaarreagenzien), sollte eine Zwischenspülung mit der mobilen Phase der korrekten Zusammensetzung, aber ohne die Additive durchgeführt werden. Eine Spülung der Säule mit dem 10- bis 20-fachen Säulenvolumen sollte für den Übergang zu Ihrer mobilen Phase ausreichen. Bei stationären Phasen mit kurzkettigen funktionellen Gruppen (z. B. C8, Phenyl, CN) muss vor dem Einsatz sorgfältig sichergestellt werden, dass die Säule ordnungsgemäß äquilibriert wurde. Dies sorgt für Reproduzierbarkeit und vermeidet ein Driften der Retentionszeiten. Wird Ameisensäure als Additiv für die mobile Phase verwendet, muss die Säule konditioniert werden, wie in der Tabelle „Säulenkonditionierungsmethode für Ameisensäure" dargestellt.

Methoden für die Säulenkonditionierung für Ameisensäure

Säulen-ID (mm)	Mobile Phase	Flussrate (ml/min)	Säulen-temp. (°C)	Zeit (h)	Nach Konditionierung
2,1	95/5 H_2O/ CH_3CN + 0,1 % Ameisensäure	0,1	60	4	Mit 100 % CH_3CN spülen und darin aufbewahren
3,0	95/5 H_2O/ CH_3CN + 0,1 % Ameisensäure	0,2	60	4	Mit 100 % CH_3CN spülen und darin aufbewahren
4,6	95/5 H_2O/ CH_3CN + 0,1 % Ameisensäure	0,4	60	4	Mit 100 % CH_3CN spülen und darin aufbewahren

Hinweis: Eine Konditionierung über Nacht bzw. bis zu 24 Stunden kann sinnvoll sein, insbesondere bei längeren Säulen oder sauren Analyten

Wichtige Sicherheitshinweise

- An allen Verbindungsstellen in Flüssigkeitschromatographie-Systemen können Leckagen auftreten. Der Benutzer muss daher hinsichtlich der Toxizität oder Brennbarkeit der verwendeten mobilen Phasen geeignete Sicherheitsvorkehrungen treffen.
- Aufgrund der geringen Partikelgröße kann trockenes Säulenpackungsmaterial eingeatmet werden. Die Säulen dürfen nur in einem gut belüfteten Bereich geöffnet werden.
- Das für die einzelnen Säulen angegebene Drucklimit muss unbedingt eingehalten werden (siehe Tabelle). Ein Überschreiten dieser Grenzwerte beeinträchtigt die Chromatographieleistung und kann gefährlich sein.

Weitere Tipps zur Säulennutzung

- Ein umgekehrter Fluss durch die Säule ist im Allgemeinen nicht schädlich, sollte aber vermieden werden, es sei denn, eine Fritte ist verstopft (siehe *Pflege der Säule*).
- Verwenden Sie zur Herstellung der mobilen Phase stets hochreine Reagenzien und Lösemittel für die Chromatographie. Entgasen und filtern Sie die mobile Phase vor dem Gebrauch.
- Die Zerlegung der Säule verschlechtert die Säulenleistung.
- Neue Säulen enthalten eine Mischung organischer Lösemittel und Wasser. Die Lösemittel-Zusammensetzung in Ihrer Säule entnehmen Sie dem QC-Leistungsprotokoll. Achten Sie zunächst darauf, dass die Säule nicht mit einer mobilen Phase beschickt wird, die einen Niederschlag bewirkt.
- Umkehrphasensäulen von Agilent sind mit Wasser und allen häufig verwendeten organischen Lösemitteln kompatibel.
- Es wird eine Vorsäule empfohlen, mit der Sie die Säule schützen und die Lebensdauer der Säule erhöhen.
- Säulen, die nicht in Gebrauch sind, sollten nicht bei erhöhtem pH-Wert oder erhöhter Temperatur aufbewahrt werden.
- Vermeiden Sie den Betrieb dieser Säule außerhalb der empfohlenen pH-Bereiche für die Säulenphase (siehe nächste Seite). Bei Betrieb der Säule außerhalb der empfohlenen pH- und Temperaturbereiche müssen Sie mit einer verkürzten Lebensdauer rechnen.

Säulenbetriebsparameter: pH und Temperatur

Phase	Empfohlener pH-Bereich	Maximale Betriebstemperatur
Poroshell 120 CS-C18	pH 1,0 bis 11,0	90 °C
InfinityLab Poroshell HPH	pH 2,0 bis 11,0	60 °C
Agilent Poroshell 120 SB-C18, StableBond C18, Agilent ZORBAX Rx-C8, Agilent ZORBAX SB-Aq, Agilent ZORBAX SB-Phenyl, SB-C3, Agilent Poroshell 300, 300SB-C3	pH 1,0 bis 8,0	90 °C (StableBond C18 und Agilent Poroshell 120 SB-C18) 80 °C (Rx-C8 und SB-Aq, SB-C3 und SB-Phenyl) 70 °C für pH < 5,0; 40 °C für pH 5,0 bis 8,0 (Agilent Poroshell 300 und 300SB-C3)
Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 und C8, Eclipse XDB-C8, XDB-C18, XDB-Phenyl, Agilent Poroshell 120 Bonus-RP, Poroshell 120 EC-C18 und EC-C8, Agilent ZORBAX Bonus-RP, HC-C18(2) und TC-C18(2)	pH 2,0 bis 9,0	60 °C
Agilent ZORBAX Extend C18	pH 2,0 bis 11,5	60 °C (40 °C bei hohem pH)
Agilent Poroshell 120 PFP, Agilent Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, Agilent ZORBAX ODS, Agilent ZORBAX Phenyl, Agilent ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl, Agilent ZORBAX XDB-CN, Agilent ZORBAX Eclipse PAK, alle gebunden Phasen der Agilent Pursuit- und Agilent Polaris-Säulen	pH 2,0 bis 8,0	60 °C
Agilent ZORBAX Eclipse PAK-Säule	pH 2,0 bis 8,0	60 °C bei pH <6,0
Agilent ZORBAX TMS	pH 2,0 bis 7,0	60 °C
InfinityLab PFAS Delay-Säule	pH 2,0 bis 9,0	60 °C

Hinweis: Alle auf Silica basierenden Packungen besitzen eine gewisse Löslichkeit in wässrigen mobilen Phasen mit einem pH-Wert über 6. Wenn Sie Silicasäulen bei pH-Werten über 6 einsetzen, erreicht die Säule die höchste Lebensdauer bei tieferen Temperaturen (max. 40 °C) und niedrigen Konzentrationen eines Puffers im Bereich von 0,01 bis 0,02 M. Der Betrieb an den extremen Grenzen der pH- und Temperaturbereiche hat erhebliche Auswirkungen auf die Lebensdauer der Säule.

Maximale Betriebsdrücke – Säulen mit einem ID bis 9,4 mm

Säulentyp	Partikelgröße	Grenzwert für den Druck
Agilent Poroshell 120	1,9 µm 2,7 µm, 4 µm	1300 bar (19 500 psi) 600 bar (9000 psi)
Agilent Poroshell 300	5 µm	400 bar (6000 psi)
Agilent ZORBAX Rapid Resolution (RR)	3,5 µm	400 bar (6000 psi)
Agilent ZORBAX Rapid Resolution HighThroughput (RRHT)	1,8 µm	600 bar (9000 psi)
Agilent ZORBAX Rapid Resolution High Definition (RRHD)	1,8 µm	1200 bar (17 000 psi)
Alle Agilent ZORBAX-, Agilent Pursuit- und Agilent Polaris-Säulen (die nicht als RRHT oder RRHD gekennzeichnet sind) und HC-C18(2), TC-C18(2)	3,0 µm, 3,5 µm, 5 µm	400 bar (6000 psi) 200 bar (3000 psi) (Metaguards)
InfinityLab PFAS Delay-Säule		1200 bar (17 000 psi)

Auswahl der mobilen Phase und Betriebstemperaturen

Die gebundene stationäre Phase ist unpolar und wird am besten mit polaren mobilen Phasen wie Methanol/Wasser- oder Acetonitril/Wasser-Mischungen verwendet. Eine Erhöhung der organischen Komponente in diesen Mischungen senkt typischerweise die Retentionszeit der Probe.

Empfohlene Startgradienten

Stationäre Phase	Hinweise zur Verwendung
Die meisten Umkehrphasensäulen	Start mit 5 % Methanol oder Acetonitril und 100 % Methanol oder Acetonitril als letztes Lösemittel.
Agilent ZORBAX Eclipse PAK-Säule*	Start mit 30 oder 40 % Acetonitril, 100 % Acetonitril als letztes Lösemittel. Es kann notwendig sein, die Säule auf 15 bis 20 °C zu kühlen, um die Auflösung zu verbessern.
Agilent ZORBAX Bonus-RP-Säule	Im Vergleich zu herkömmlichen stationären Phasen mit langkettigen Alkylresten ist für die Elution der Verbindungen unter Umständen eine niedrigere Konzentration des Mobilphasen-Modifiers erforderlich.

* Die beste Lebensdauer der Säule wird bei < 40 °C erzielt.

Pflege der Säule

Bei Säulen mit einer Partikelgröße von mindestens 2,7 µm besitzt die Einlassfritte eine Nennporosität von 2 µm. Jegliche Partikel in Proben verstopfen die Einlassfritte der Säule. Für solche Proben werden Agilent ZORBAX und Agilent Fast Guard Vorsäulen und Hardware-Kits (je nach Bedarf) empfohlen, die auch eine gute allgemeine Empfehlung für alle Säulen sind.

Weiterführende Informationen zu Vorsäulen siehe **agilent.com/chem/fastguards**.

Reinigen der Säule/Verlängern der Lebensdauer der Säule

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

1. Trennen Sie die Säule vom Detektor ab und lassen Sie das Spüllösungsmittel in ein Becherglas laufen.
2. Beginnen Sie mit Ihrer mobilen Phase ohne Puffersalze (Wasser/organisch). Spülen Sie die Säule mit dem 10- bis 20-fachen Säulenvolumen.
3. Anschließend verwenden Sie 100 % organisches Lösemittel (Methanol oder Acetonitril).
4. Prüfen Sie, ob der Druck wieder normal ist. Falls nicht:
5. Entsorgen Sie die Säule oder erwägen Sie drastischere Bedingungen 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 der Verwendung zuerst mit Isopropanol spülen. Erst dann können Sie zu der mobilen Phase Ihrer Umkehrphasen-Chromatographie zurückkehren).

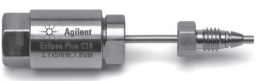
Für Säulen mit Partikeln < 1,8 µm darf kein Backflush durchgeführt werden. Ersetzen Sie die Säule.

Empfehlungen zur Lagerung

Zur Langzeitlagerung sollten Säulen mit an Silica gebundenen Phasen mit einem reinen organischen Lösemittel wie Acetonitril befüllt werden. Wenn die Säule zuvor mit einer gepufferten mobilen Phase verwendet wurde, müssen die Puffersalze zuerst mit dem 20- bis 30-fachen Säulenvolumen einer 50:50-Mischung aus Methanol oder Acetonitril und Wasser aus der Säule gespült werden. Anschließend wird mit dem 20- bis 30-fachen Säulenvolumen mit reinem Lösemittel nachgespült. Vor der Lagerung müssen die Endfittings fest mit Endstopfen verschlossen werden, um die Säulenpackung vor dem Austrocknen zu schützen. Zum Schutz Ihres Systems sollten Salze aus dem Gerät und aus der Säule entfernt werden. Dazu wird die Säule mit der gleichen mobilen Phase, jedoch ohne Puffer, gespült (z. B. mit 60:40 ACN/H_2O, um eine gepufferte mobile Phase mit 60:40 ACN/0,02 M Phosphat-Pufferlösung zu entfernen). Mit dieser Strategie ist eine schnelle erneute Äquilibrierung mit der ursprünglichen mobilen Phase möglich, und die Korrosionsgefahr durch Salze wird eliminiert.

Tipps für optimale Chromatographieergebnisse

- Optimieren Sie Ihr Chromatographiesystem durch Minimierung der Leitungslängen zwischen den Komponenten. Dadurch verringern Sie das Extrasäulenvolumen und Bandenverbreiterung. 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. Weiterführende Informationen zu Kapillaren finden Sie unter agilent.com/chem/lccapillaries
- Stellen Sie sicher, dass die Datenerfassungsrate für Ihre Säule optimiert ist. Verwenden Sie für Fast LC-Säulen (Agilent Poroshell 120-, RRHT- und RRHD-Säulen) eine höhere Datenerfassungsrate.
- Führen Sie eine Probenfiltration oder eine andere geeignete Methode der Probenvorbereitung durch. Mehr Infos unter: **agilent.com/chem/sampleprep**
- Verwenden Sie nur zertifizierte Lampen von Agilent in Ihren LC-Geräten, um eine optimale Leistung sicherzustellen.



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

Questo manuale fornisce informazioni generali su tutte le colonne a fase inversa ZORBAX, Poroshell, Pursuit e Polaris. Per ulteriori informazioni dettagliate su una specifica fase o linea di prodotti, consultare il sito: **agilent.com/chem/columnchoices**

Per iniziare

A ogni nuova colonna Agilent è allegato un report sulle prestazioni QC della colonna, con incluso un cromatogramma di prova. Il sistema di prova QC è stato modificato partendo da un sistema standard, al fine di ridurre al minimo il volume morto del sistema, pertanto può differire dal sistema utilizzato in uno specifico laboratorio. Ciò consente una migliore valutazione della colonna e assicura una maggiore omogeneità del prodotto. Una corretta configurazione del sistema LC porta a risultati simili a quelli del cromatogramma incluso nel rapporto sulle prestazioni QC.

Le colonne moderne sono robuste e progettate per funzionare per lunghi periodi in condizioni cromatografiche standard. Per ottenere le massime prestazioni dalla colonna, utilizzarla rispettandone le specifiche. Prima di considerare ottimizzato un metodo, verificare sempre le specifiche delle colonne.

Utilizzo della colonna

Installazione

- La direzione del flusso è indicata sulla colonna.
- Le colonne da 1,8 µm (ZORBAX RRHT, ZORBAX RRHD) possono essere utilizzate solo nella direzione di flusso indicata.

Per realizzare collegamenti rimovibili con volume morto nullo, Agilent consiglia l'uso della linea di raccordi ad attacco rapido InfinityLab Quick Connect e Quick Turn. Sono disponibili le seguenti opzioni:

Pressione massima del sistema	Raccordo consigliato	Codici
Fino a 400 bar	Raccordo Quick Turn InfinityLab (a chiusura manuale)	Raccordo: 5067-5966
Fino a 800 bar	Raccordo Quick Turn InfinityLab (con utensile di montaggio)	Raccordo: 5067-5966 Utensile di montaggio: 5043-0915
Fino a 1300 bar	Raccordo ad attacco rapido InfinityLab Quick Connect	Raccordo: 5067-5965

Per ottenere maggiori informazioni e i codici, consultare la brochure sui raccordi Agilent InfinityLab (5991-5164ITE).

Gruppo InfinityLab Quick Connect, codice 5067-5961

Raccordo Quick Turn InfinityLab, codice 5067-5966

Maggiori informazioni sono disponibili all'indirizzo:
www.agilent.com/chem/infinitylabfittings

Condizionamento della colonna

Ogni colonna viene testata prima della spedizione e spedita nell'eluente di prova. Ciò significa che per il primo utilizzo non è necessario il risciacquo con acqua. Se si aggiungono additivi alla fase mobile (per esempio tamponi o reagenti per coppia ionica), è consigliabile effettuare un lavaggio intermedio con una fase mobile avente la composizione corretta, ma senza gli additivi. Il lavaggio con 10-20 volumi di colonna dovrebbe essere di aiuto nella transizione alla fase mobile. Nel caso di fasi stazionarie a catena più corta (per esempio C8, Phenyl, CN), assicurarsi che la colonna sia stata equilibrata adeguatamente prima dell'uso. Ciò garantirà la riproducibilità e aiuterà a prevenire la deriva del tempo di ritenzione. Se si utilizza acido formico come additivo alla fase mobile, condizionare la colonna attenendosi alle indicazioni riportate nella tabella Condizioni del metodo di condizionamento della colonna per l'acido formico.

Condizioni del metodo di condizionamento della colonna per l'acido formico

D.i. della colonna (mm)	Fase mobile	Velocità di flusso (mL/min)	Temp. della colonna (°C)	Tempo (ore)	Dopo il condizionamento
2,1	95/5 H_2O/CH_3CN + acido formico 0,1%	0,1	60	4	Lavare e conservare in CH_3CN 100%
3,0	95/5 H_2O/CH_3CN + acido formico 0,1%	0,2	60	4	Lavare e conservare in CH_3CN 100%
4,6	95/5 H_2O/CH_3CN + acido formico 0,1%	0,4	60	4	Lavare e conservare in CH_3CN 100%

Nota: il condizionamento durante le ore notturne, o per un massimo di 24 ore, può essere vantaggioso, in particolare per le colonne di maggiore lunghezza o per gli analiti acidi

Importanti considerazioni sulla sicurezza

- Tutti i punti di collegamento nei sistemi di cromatografia liquida sono potenziali fonti di perdite. Gli utilizzatori devono tenere conto della tossicità o infiammabilità delle fasi mobili.
- Poiché le particelle sono di piccole dimensioni, le fasi impaccate ed essiccate delle colonne sono respirabili. Le colonne devono essere aperte solo in una zona ben aerata.
- Si raccomanda di rispettare i limiti di pressione operativa riportati per ogni colonna (vedere la tabella). Superare questi limiti compromette le prestazioni cromatografiche e potrebbe essere pericoloso.

Altri consigli operativi

- Anche se in genere non è dannoso per la colonna, si deve evitare di invertire il flusso eccetto per tentare di rimuovere un frit ostruito (vedere la sezione *Cura della colonna*).
- Per la preparazione della fase mobile, utilizzare sempre reagenti di purezza elevata e solvente per cromatografia. Prima dell'utilizzo procedere a degasaggio e filtrazione di tutta la fase mobile.
- Lo smontaggio di una colonna riduce le prestazioni della colonna stessa.
- Le colonne nuove contengono una miscela di solventi organici e acqua. Vedere il report sulle prestazioni QC per conoscere la composizione del solvente presente nella colonna. Inizialmente, prestare attenzione a non far passare nella colonna fasi mobili che potrebbero causare la formazione di un precipitato.
- Le colonne Agilent a fase inversa sono compatibili con l'acqua e con tutti i solventi organici comuni.
- Si consiglia di utilizzare una precolonna per proteggere la colonna e prolungarne la durata.
- Le colonne non devono essere tenute a pH alto o a temperatura elevata mentre non sono in uso.
- Evitare di utilizzare la colonna al di fuori degli intervalli di pH consigliati per la fase della colonna (vedere la pagina successiva). Quando si opera al di fuori degli intervalli consigliati di pH e temperatura ci si deve attendere una riduzione della durata della colonna.

Parametri operativi della colonna: pH e temperatura

Fase	Intervallo di pH consigliato	Temperatura operativa massima
Poroshell 120 CS-C18	Da pH 1,0 a 11,0	90 °C
Poroshell HPH	Da pH 2,0 a 11,0	60 °C
Poroshell 120 SB-C18, StableBond C18, ZORBAX Rx-C8, ZORBAX SB-Aq, ZORBAX SB-Phenyl, SB-C3, Poroshell 300, 300SB-C3	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) 70 °C per pH <5,0; 40 °C per pH tra 5,0 e 8,0 (Poroshell 300 e 300SB-C3)
ZORBAX Eclipse Plus C18 e C8, Eclipse XDB-C8, XDB-C18, XDB-Phenyl, Poroshell 120 Bonus-RP, Poroshell 120 EC-C18 ed EC-C8, ZORBAX Bonus-RP, HC-C18(2) e TC-C18(2)	da pH 2,0 a 9,0	60 °C
ZORBAX Extend C18	Da pH 2,0 a 11,5	60 °C (40 °C a pH elevato)
Poroshell 120 PFP, Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, ZORBAX ODS, ZORBAX Phenyl, ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl, ZORBAX XDB-CN, ZORBAX Eclipse PAH, tutte le fasi legate Pursuit e Polaris	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
Colonna di ritardo InfinityLab PFAS	Da pH 2,0 a 9,0	60 °C

Nota: tutti gli impaccamenti a base di silice hanno una certa solubilità nelle fasi mobili acquose a pH >6. Quando si utilizzano colonne a base di silice a pH >6, per ottimizzare la durata della colonna sono necessarie temperature più basse (40 °C max) e basse concentrazioni di tampone, con un intervallo da 0,01 a 0,02 M. Il funzionamento ai valori estremi degli intervalli di pH e temperatura incide significativamente sulla durata della colonna.

Valori massimi della pressione operativa – colonne con d.i. fino a 9,4 mm

Tipo di colonna	Dimensioni delle particelle	Limite di pressione
Poroshell 120	1,9 µm 2,7 µm, 4 µm	1300 bar (19.500 psi) 600 bar (9.000 psi)
Poroshell 300	5 µm	400 bar (6.000 psi)
ZORBAX Rapid Resolution (RR)	3,5 µm	400 bar (6.000 psi)
ZORBAX Rapid Resolution High Throughput (RRHT)	1,8 µm	600 bar (9.000 psi)
ZORBAX Rapid Resolution High Definition (RRHD)	1,8 µm	1.200 bar (17.000 psi)
Tutte le colonne ZORBAX, Pursuit e Polaris, non contrassegnate come RRHT o RRHD, e HC-C18(2), TC-C18(2)	3,0 µm, 3,5 µm, 5 µm	400 bar (6.000 psi) 200 bar (3.000 psi) (Metaguard)
Colonna di ritardo InfinityLab PFAS		1.200 bar (17.000 psi)

Selezione della fase mobile e temperature operative

La fase stazionaria legata ha natura non polare e l'uso ottimale si ottiene con fasi mobili polari quali miscele metanolo/acqua o acetonitrile/acqua. Incrementando la quantità di componente organico, in genere si riduce il tempo di ritenzione del campione.

Gradienti iniziali consigliati

Fase stazionaria	Note sull'utilizzo
Maggior parte delle colonne a fase inversa	5% di metanolo o acetonitrile all'inizio e 100% di metanolo o acetonitrile come solvente finale.
ZORBAX Eclipse PAH*	30 o 40% di acetonitrile all'inizio, fino a 100% di acetonitrile come solvente finale. Potrebbe essere necessario raffreddare la colonna tra 15 e 20 °C per migliorare la risoluzione.
ZORBAX Bonus-RP	Rispetto alle tradizionali fasi stazionarie alchiliche a catena lunga è necessaria una concentrazione più bassa di modificatore della fase mobile organica per l'eluizione dei composti.

* La durata ottimale della colonna si ottiene a temperature <40 °C.

Cura della colonna

Il frit di ingresso sulle colonne con particelle di dimensioni pari o superiori a 2,7 µm possiede una porosità nominale di 2 µm. I campioni che contengono particolato ostruiscono il frit di ingresso della colonna. Per questi campioni si consiglia di utilizzare colonne ZORBAX e Fast Guard e kit hardware (secondo necessità), il cui impiego è consigliato in genere per qualsiasi utilizzo delle colonne.

Visitare il sito **agilent.com/chem/fastguards** per maggiori informazioni sulle precolonne.

Pulizia della colonna/prolungamento della durata della colonna

Nel caso delle colonne per le quali è possibile invertire il flusso (colonne Poroshell 120, ZORBAX con particelle >1,8 µm e tutte le colonne Pursuit e Polaris), iniziare utilizzando un solvente più forte (meno polare).

1. Scollegare la colonna dal rivelatore e far fluire i solventi di lavaggio in un becher.
2. Iniziare con la fase mobile senza sali tampone (acqua/organica). Lavare la colonna con 10 - 20 volumi di colonna.
3. Utilizzare quindi 100% di solvente organico (metanolo o acetonitrile).
4. Controllare se la pressione è tornata a valori normali; in caso contrario,
5. Smaltire la colonna o impiegare condizioni più forti, per esempio, 75% acetonitrile/25% isopropanolo
6. Aumentare fino a isopropanolo 100%, cloruro di metilene 100% o esano 100% (se si utilizza cloruro di metilene o esano, è necessario lavare la colonna con isopropanolo prima dell'uso e prima di tornare alla fase mobile per fase inversa).

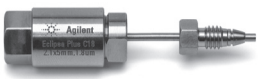
Nel caso delle colonne con particelle <1,8 µm, non invertire il flusso ma sostituire la colonna.

Raccomandazioni di conservazione

La conservazione a lungo termine di colonne a fase legata a base di silice deve avvenire in un solvente organico puro come l'acetonitrile. Se la colonna è già stata utilizzata con una fase mobile tamponata, eliminare dapprima il tampone, spurgando la colonna con 20 o 30 volumi di una miscela 50:50 di metanolo o acetonitrile e acqua, seguita da 20 a 30 volumi di solvente puro. Prima della conservazione i raccordi terminali devono essere chiusi ermeticamente con tappi terminali per evitare che l'impaccamento si secchi. Per proteggere l'apparecchiatura, si consiglia di eliminare i sali dallo strumento e dalla colonna spurgando la colonna con la stessa fase mobile senza il tampone (per esempio usando una soluzione ACN/$H_2$0 60:40 per eliminare una fase mobile tamponata ACN/fosfato 0,02 M 60:40). Quando si usa questo approccio, la successiva riequilibrazione è rapida con la fase mobile originale e viene eliminata qualsiasi possibilità di corrosione causata dai sali.

Consigli per ottenere i migliori risultati cromatografici

- Ottimizzare la strumentazione riducendo al minimo la lunghezza dei tubi tra i componenti per ridurre il volume extra-colonna e l'allargamento di banda. Utilizzare tubi rossi da 0,12 mm d.i. o tubi neri da 0,075 mm d.i. per colonne Fast LC/ad alta efficienza. Per maggiori informazioni sui tubi capillari disponibili visitare il sito agilent.com/chem/lccapillaries
- Verificare che la velocità di raccolta dei dati sia ottimizzata per la colonna. Utilizzare una velocità di raccolta più alta per le colonne Fast LC (Poroshell 120, RRHT e RRHD).
- Eseguire la filtrazione del campione o altre adeguate procedure di preparazione del campione. Maggiori informazioni all'indirizzo: **agilent.com/chem/sampleprep**
- Utilizzare lampade certificate Agilent con gli strumenti LC per ottenere le migliori prestazioni.



Se si utilizzano colonne Poroshell 120 o ZORBAX RRHT oppure RRHD, considerare la possibilità di usare una precolonna **Fast Guard per UHPLC** *per proteggere la colonna analitica. Maggiori informazioni sono disponibili sul sito* ***agilent.com/chem/fastguards****.*

Este folleto proporciona información general para todas las columnas ZORBAX, Poroshell, Pursuit y Polaris de fase reversa. Si desea obtener más información acerca de una fase o una familia determinada, consulte: **agilent.com/chem/columnchoices**

Primeros pasos

Con cada columna Agilent se adjunta un informe de Control de Calidad (QC) de rendimiento de la columna, incluido un cromatograma de prueba. El sistema de prueba para realizar el Control de Calidad (QC) se ha modificado a partir de un sistema estándar a fin de minimizar el volumen muerto del sistema y, por lo tanto, podría variar con respecto al sistema usado en su laboratorio. De este modo, es posible una mejor evaluación de la columna y se garantiza un producto más uniforme. Un sistema LC correctamente configurado generará resultados similares al cromatograma de su informe de Control de Calidad (QC) del rendimiento.

Las columnas modernas son robustas y se han diseñado para funcionar durante períodos prolongados en condiciones cromatográficas normales. Puede maximizar el rendimiento de la columna si la utiliza atendiendo a sus especificaciones. Revise siempre las especificaciones antes de poner en práctica un método final.

Uso de la columna

Instalación

- La dirección del flujo está marcada en la columna.
- Las columnas de 1,8 µm (ZORBAX RRHT, ZORBAX RRHD) solo se pueden usar en la dirección del flujo marcada en la columna.

Para conexiones de columna sin volumen muerto, Agilent recomienda el uso de la familia de conectores de conexión rápida y de giro rápido InfinityLab. Las opciones son:

Presión máxima del sistema	Conectores recomendados	Referencias
Hasta 400 bar	Conector de giro rápido InfinityLab (apriete a mano)	Conector: 5067-5966
Hasta 800 bar	Conector de giro rápido InfinityLab (con herramienta de montaje)	Conector: 5067-5966 Herramienta de montaje: 5043-0915
Hasta 1300 bar	Conector de conexión rápida InfinityLab	Conector: 5067-5965

Para obtener más información y referencias, consulte el folleto de Conectores Agilent InfinityLab (5991-5164EN).

Conjunto de conexión rápida InfinityLab, ref. 5067-5961

Conector de giro rápido InfinityLab, ref. 5067-5966

Si desea obtener más información, visite:
www.agilent.com/chem/infinitylabfittings

Acondicionamiento de la columna

Todas las columnas se prueban antes del envío y se envían en el eluyente de prueba. Por lo tanto, para el primer uso, no es necesario lavar con agua. Si se utilizan aditivos de fase móvil (como tampones o reactivos de emparejamiento iónico), se recomienda realizar un lavado intermedio con una fase móvil de la composición correcta, pero sin estos aditivos. Un lavado con entre 10 y 20 volúmenes de columna debería servir para la transición hasta su fase móvil.
En el caso de fases de cadena más corta (por ejemplo, C8, fenil, CN), debe tenerse cuidado para asegurarse de que la columna se haya equilibrado de forma adecuada antes de su uso. De esta manera, se garantiza la reproducibilidad y se ayuda a prevenir la variabilidad en el tiempo de retención. Si se utiliza ácido fórmico como aditivo de fase móvil, acondicione la columna como se recomienda en la tabla Condiciones del método de acondicionamiento de la columna para ácido fórmico.

Condiciones del método de acondicionamiento de la columna para ácido fórmico

D.i. de columna (mm)	Fase móvil	Flujo (ml/min)	Temp. columna (°C)	Tiempo (horas)	Después de acondicionar
2,1	95/5 H_2O/ CH_3CN + ácido fórmico al 0,1%	0,1	60	4	Lavar y guardar en 100% CH_3CN
3,0	95/5 H_2O/ CH_3CN + ácido fórmico al 0,1%	0,2	60	4	Lavar y guardar en 100% CH_3CN
4,6	95/5 H_2O/ CH_3CN + ácido fórmico al 0,1%	0,4	60	4	Lavar y guardar en 100% CH_3CN

Nota: El acondicionamiento durante toda la noche, o hasta 24 horas, podría ser beneficioso, en particular para las columnas de mayor tamaño o para analitos ácidos

Consideraciones importantes sobre seguridad

- Todos los puntos de conexión de los sistemas de cromatografía líquida son posibles fuentes de fuga. Los usuarios deben tener en cuenta la toxicidad o inflamabilidad de las fases móviles.
- Debido al pequeño tamaño de las partículas, los rellenos de las columnas secas son inhalables. Solamente se deben abrir las columnas en una zona con buena ventilación.
- Aténgase a los límites de presión operativa designados para cada columna (consulte la tabla). Si se superan estos límites, el rendimiento cromatográfico se verá afectado, lo que podría resultar inseguro.

Otros consejos de uso

- Aunque, por lo general, no resulta dañino para la columna, se debe evitar el flujo invertido, salvo para tratar de eliminar obstrucciones en la frita (consulte *Cuidado de la columna)*.
- Utilice siempre reactivos de gran pureza y disolventes de calidad cromatográfica para preparar las fases móviles. Antes de su uso, desgasifique y filtre todas las fases móviles.
- Si se desmonta una columna, se reducirá el rendimiento de la columna.
- Las columnas nuevas contienen una mezcla de disolventes orgánicos y agua. Consulte el informe de Control de Calidad (QC) de prestación para conocer la composición de los disolventes de la columna. Inicialmente, se deben tomar precauciones para que ninguna fase móvil pase a través de la columna, lo que podría originar la formación de un precipitado.
- Las columnas de fase reversa Agilent son compatibles con agua y con todos los disolventes orgánicos habituales.
- Se recomienda el uso de una precolumna para proteger la columna y aumentar su vida útil.
- Cuando las columnas no se utilicen, no se deben mantener con un pH elevado ni a una temperatura elevada.
- Debe evitarse el uso de esta columna fuera de los intervalos de pH recomendados para la fase de columna (véase la página siguiente). Es previsible que se reduzca la vida útil si se utiliza fuera de los intervalos recomendados de pH y temperatura.

Parámetros de operación de las columnas: pH y temperatura

Fase	Intervalo de pH recomendado	Temperatura máxima de funcionamiento
Poroshell 120 CS-C18	pH 1,0 a 11,0	90 °C
Columnas Poroshell HPH	pH 2,0 a 11,0	60 °C
Poroshell 120 SB-C18, StableBond C18, ZORBAX Rx-C8, ZORBAX SB-Aq, ZORBAX SB-fenil, SB-C3, Poroshell 300, 300SB-C3	pH 1,0 a 8,0	90 °C (StableBond C18 y Poroshell 120 SB-C18) 80 °C (Rx-C8 y SB-Aq, SB-C3 y SB-fenil) 70 °C para pH <5,0; 40 °C para pH 5,0 a 8,0 (Poroshell 300 y 300SB-C3)
ZORBAX Eclipse Plus C18 y C8, Eclipse XDB-C8, XDB-C18, XDB-fenil, Poroshell 120 Bonus-RP, Poroshell 120 EC-C18 y EC-C8, ZORBAX Bonus-RP, HC-C18(2) y TC-C18(2)	pH 2,0 a 9,0	60 °C
ZORBAX Extend C18	pH 2,0 a 11,5	60 °C (40 °C a pH elevado)
Poroshell 120 PFP, Poroshell 120 fenil-hexil, ZORBAX ODS, ZORBAX Phenyl, ZORBAX Eclipse Plus fenil-hexil, ZORBAX XDB-CN, ZORBAX Eclipse PAH, todas las fases ligadas Pursuit y Polaris	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
Columna de retardo InfinityLab PFAS	pH 2,0 a 9,0	60 °C

Nota: Todos los rellenos con sílice son algo solubles en fases móviles acuosas a pH >6. Si se usan columnas basadas en sílice con un pH >6, se consigue la máxima vida útil de la columna a temperaturas inferiores (40 °C máx.) con concentraciones del tampón bajas, entre 0,01 y 0,02 M. El uso en los valores extremos de los intervalos de pH y temperatura afectará significativamente a la vida útil de la columna.

Presiones operativas máximas - columnas de hasta 9,4 mm de d.i.

Tipo de columna	Tamaño de partícula	Límite de presión
Columnas Poroshell 120	1,9 µm, 2,7 µm, 4 µm	1.300 bares (19.500 psi) 600 bares (9.000 psi)
Columnas Poroshell 300	5 µm	400 bares (6.000 psi)
ZORBAX de resolución rápida (RR)	3,5 µm	400 bares (6.000 psi)
ZORBAX de resolución rápida alto rendimiento (RRHT)	1,8 µm	600 bares (9.000 psi)
ZORBAX de alta definición y resolución rápida (RRHD)	1,8 µm	1.200 bares (17.000 psi)
Todas las columnas ZORBAX, Pursuit y Polaris, no indicadas como RRHT o RRHD y HC-C18(2), TC-C18(2)	3,0 µm, 3,5 µm, 5 µm	400 bares (6.000 psi) 200 bares (3.000 psi) (Megaguards)
Columna de retardo InfinityLab PFAS		1.200 bares (17.000 psi)

Selección de la fase móvil y temperaturas operativas

La fase estacionaria ligada es de naturaleza no polar y se usa mejor con fases móviles polares, como mezclas de metanol/agua o acetonitrilo/agua. Si se aumenta la cantidad del componente orgánico, normalmente se reduce el tiempo de retención de la muestra.

Gradientes iniciales recomendados

Fase estacionaria	Notas de uso
La mayoría de las columnas de fase reversa	5% metanol o acetonitrilo inicialmente y 100% metanol o acetonitrilo como disolvente final.
ZORBAX Eclipse PAH*	30 o 40% de acetonitrilo inicialmente, hasta 100% de acetonitrilo como disolvente final. Podría ser necesario enfriar la columna hasta 15 o 20 °C para mejorar la resolución.
ZORBAX Bonus-RP	Se precisa una concentración inferior del modificador de fase móvil orgánica para la elución de compuestos, en comparación con las tradicionales fases estacionarias alquílicas de cadena larga.

* La vida útil más prolongada de la columna se consigue a <40 °C.

Cuidado de la columna

La frita de entrada de las columnas con un tamaño de partícula de 2,7 µm o superior tiene una porosidad nominal de 2 µm. Las muestras que contienen materia particulada taponarán la frita de entrada de la columna. Con estas muestras, se recomienda el uso de columnas ZORBAX y precolumnas rápidas y kits de hardware (según sea necesario); en general, se recomiendan para su uso en todas las columnas.

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

Limpieza de la columna/incremento de la vida útil de la columna

Para columnas en las que puede revertirse el flujo (columnas Poroshell 120 y columnas ZORBAX con partículas >1,8 µm y todas las columnas Pursuit y Polaris), comience con un disolvente más fuerte (menos polar).

1. Desconecte la columna del detector y pase disolventes de lavado a una cubeta de precipitación.
2. Inicie la fase móvil sin sales tampón (agua/orgánico). Lave la columna con entre 10 y 20 volúmenes de columna.
3. A continuación, use 100 % orgánico (metanol o acetonitrilo).
4. Verifique la presión para ver si ha vuelto a su valor normal; en caso negativo,
5. Deseche la columna o considere unas condiciones más fuertes; por ejemplo, 75 % acetonitrilo/25 % isopropanol
6. Aumente hasta 100 % isopropanol, 100 % cloruro de metileno o 100 % hexano (si usa cloruro de metileno o hexano, deberá lavar la columna con isopropanol antes de su uso y antes de volver a la fase móvil en fase reversa).

Para columnas con partículas <1,8 µm, no purgue la columna con retroflujo: cambie la columna.

Recomendaciones para el almacenamiento

El almacenamiento a largo plazo de las columnas de fase ligada y basadas en sílice se debe efectuar con disolvente orgánico puro, como acetonitrilo. Si la columna se ha utilizado con anterioridad con una fase móvil que incluye una solución tampón, se debe extraer en primer lugar dicha solución tampón mediante el purgado de la columna. Para ello, deben emplearse entre 20 y 30 volúmenes de columna de una mezcla 50:50 de metanol o acetonitrilo y agua, seguidos de entre 20 y 30 volúmenes de columna del disolvente puro. Antes de su almacenamiento, los conectores de los extremos se deben cerrar herméticamente con tapones terminales para evitar que el relleno se reseque. Para proteger el equipo, conviene eliminar las sales del instrumento y de la columna mediante el purgado de la columna con la misma fase móvil sin la solución tampón (por ejemplo, con acetonitrilo/H_2O 60:40 para eliminar una fase móvil de acetonitrilo/tampón fosfato 0,02 M 60:40). El reequilibrio con la fase móvil original es rápido si se utiliza este procedimiento y se elimina el peligro de corrosión debida a las sales.

Consejos para obtener los mejores resultados cromatográficos

- Optimice el instrumento mediante la reducción de la longitud de los capilares entre los componentes; de esta forma, se disminuye el volumen de columna adicional y el ensanchamiento de la 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. Para obtener información acerca de las opciones de capilares, visite agilent.com/chem/lccapillaries
- Asegúrese de optimizar la velocidad de adquisición de datos para la columna. Utilice una velocidad de adquisición más elevada para columnas para LC rápida (Poroshell 120, RRHT y RRHD).
- Utilice la filtración de muestras u otros procesos de preparación de muestras que sean apropiados para su muestra. Más información: **agilent.com/chem/sampleprep**
- Utilice lámparas certificadas de Agilent con sus instrumento ɔ rendimiento.

Si está usando columnas Poroshell 120 o columnas ZORBAX RRHT o RRHD, considere el uso de una ***precolumna rápida para UHPLC*** *para proteger su columna analítica. Visite* ***agilent.com/chem/fastguards*** *para más información.*

本小册子提供适用于所有 ZORBAX, Poroshell, Pursuit, 和 Polaris 反相色谱柱的一般信息。有关特定固定相或产品系列的 详细信息，请访问：
agilent.com/chem/columnchoices

入门指南

每个 Agilent 色谱柱都附带一个 QC 色谱柱性能报告，该报告包含一个测试色谱图。QC 测试系统是在标准系统基础上改装而成的，它具有相对较低的系统死体积，因此，它与实验室中使用的系统不同。这样可以更好地评估色谱柱并确保获得更一致的产品。正确配置的 LC 系统将生成与 QC 性能报告中的色谱图相似的结果。

现代色谱柱都很耐用，在正常的色谱条件下，可以使用很长时间。在合适的条件下使用可以最大化色谱柱寿命。在应用方法之前请务必检阅色谱柱使用条件。

使用色谱柱

安装

- 在色谱柱上标明了流向。
- 只能按色谱柱上标记的流向操作 1.8 µm 色谱柱 (ZORBAX RRHT, ZORBAX RRHD)。

为实现可拆卸的零死体积色谱柱连接，安捷伦推荐使用 InfinityLab Quick Connect 快速连接接头和 Quick Turn 接头系列产品。包括：

最大系统压力	推荐的接头	部件号
最高 400 bar	InfinityLab Quick Turn 接头 (手紧式)	接头：5067-5966
最高 800 bar	InfinityLab Quick Turn 接头 (带有安装工具)	接头：5067-5966 安装工具：5043-0915
最高 1300 bar	InfinityLab Quick Connect 快速连接接头	接头：5067-5965

如需了解更多信息和部件号，请参见《Agilent InfinityLab 接头产品样本》(5991-5164CHCN)。

InfinityLab Quick Connect
快速连接组件，部件号 5067-5961

Quick Turn 接头，
部件号 5067-5966

更多信息，请访问：
www.agilent.com/chem/infinitylabfittings

色谱柱老化

每个色谱柱在装运之前都经过了测试，并放在测试洗脱液中运输。因此，在首次使用时，没有必要用水进行冲洗。如果使用流动相添加剂（如缓冲液或离子对试剂），建议使用含正确成分但不含这些添加剂的流动相进行中间过渡。使用 10 至 20 个色谱柱体积进行冲洗将有助于过渡到流动相。对于具有较短的化学链（例如 C8、苯基、CN）固定相的色谱柱，应小心确保在使用色谱柱之前对其进行了彻底的平衡。这样可确保重复性，并有助于防止保留时间漂移。使用甲酸作为流动相添加剂时，请按照“使用甲酸的色谱柱老化方法条件”表中的建议对色谱柱进行老化。

使用甲酸的色谱柱老化方法条件

色谱柱内径 (mm)	流动相	流速 (mL/min)	柱温 (°C)	时间 (h)	老化后
2.1	95/5 H_2O/CH_3CN + 0.1% 甲酸	0.1	60	4	冲洗并保存在 100% CH_3CN 中
3.0	95/5 H_2O/CH_3CN + 0.1% 甲酸	0.2	60	4	冲洗并保存在 100% CH_3CN 中
4.6	95/5 H_2O/CH_3CN + 0.1% 甲酸	0.4	60	4	冲洗并保存在 100% CH_3CN 中

注意：过夜老化或老化长达 24 小时可能更好，尤其对于较长的色谱柱或酸性分析物

重要安全注意事项

- 液相色谱系统中的所有连接点都有可能成为泄漏源。用户应注意流动相的毒性或易燃性。
- 柱填充物在干的情况下属于微小颗粒，因此可能会被吸入呼吸道。只能在通风良好的区域打开色谱柱。
- 请遵照为每个色谱柱标明的操作压力限制进行操作（参见图表）。超过这些限制会降低色谱性能，而且很不安全。

其他操作提示

- 虽然反冲一般不会损坏色谱柱，但还是应避免，除非是在尝试去除柱前筛板堵塞物时（请参见“色谱柱维护”）。
- 始终使用高纯度试剂和色谱级溶剂来准备流动相。在使用之前对所有流动相进行脱气和过滤。
- 打开色谱柱会降低色谱柱性能。
- 新色谱柱包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成分。开始时，应小心不要让任何可能导致形成沉淀的流动相通过色谱柱。
- Agilent 反相色谱柱与水和所有常见的有机溶剂兼容
- 建议使用预柱来保护色谱柱并延长其使用寿命。
- 在不使用色谱柱时，不能在高的 pH 或高的温度条件下保存色谱柱。
- 避免在超出建议的色谱柱相应的 pH 范围的条件下使用此色谱柱（请参见下一页）。在超出建议的 pH 和温度范围条件下操作会缩短其使用寿命。如果您正在使用 Poroshell 120 或者 ZORBAX RRHT 或 RRHD 色谱柱，请使用 **Fast Guard**，访问 **agilent.com/chem/fastguards** 获取更多信息。

色谱柱操作温度：pH 和温度

键合相	建议的 pH 范围	最高操作温度
Poroshell 120 CS-C18	pH 1.0 至 11.0	90 °C
Poroshell HPH	pH 3.0 至 11.0	60 °C
Poroshell 120 SB-C18, StableBond C18, ZORBAX Rx-C8, ZORBAX SB-Aq, ZORBAX SB-Phenyl, SB-C3, Poroshell 300, 300SB-C3	pH 1.0 至 8.0	90 °C (StableBond C18 和 Poroshell 120 SB-C18) 80 °C (Rx-C8 和 SB-Aq, SB-C3 和 SB-Phenyl) pH <5.0 时为 70 °C; pH 5.0 至 8.0 时为 40 °C (Poroshell 300 和 300SB C3)
ZORBAX Eclipse Plus C18 和 C8, Eclipse XDB-C8, XDB-C18, XDB-Phenyl, Poroshell 120 EC-C18 和 EC-C8, ZORBAX Bonus-RP, HC-C18(2) and TC-C18(2)	pH 2.0 至 9.0	60 °C
ZORBAX Extend C18	pH 2.0 至 11.5	60 °C (pH 较高时为 40 °C)
Poroshell 120 PFP, Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, ZORBAX ODS, ZORBAX Phenyl, ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl, ZORBAX XDB-CN, ZORBAX Eclipse PAH, 所有 Pursuit 和 Polaris 键合相	pH 2.0 至 8.0	60 °C
ZORBAX Eclipse PAH	pH 2.0 至 8.0	pH <6.0 时为 60 °C
ZORBAX TMS	pH 2.0 至 7.0	60 °C
InfinityLab PFAS 延迟柱	pH 2.0 至 9.0	60 °C

注意：所有硅胶基质填充物在 pH >6 含水流动相中具有一定的可溶性。在 pH>6 的环境下使用硅胶基质色谱柱时，应该使用范围在 0.01 至 0.02 M 的较低缓冲液浓度，以及较低温度（最高为 40 ° C），这样可获得最佳色谱柱使用寿命。在极端的 pH 或温度下操作会导致色谱柱 寿命的显著降低。

最大操作压力 — 内径最大为 9.4 毫米的色谱柱

色谱柱类型	颗粒尺寸	压力限制
Poroshell 120	1.9 µm 2.7 µm, 4 µm	1300 bar (19500 psi) 600 bar (9000 psi)
Poroshell 300	5 µm	400 bar (6000 psi)
ZORBAX 快速分离	3.5 µm	400 bar (6000 psi)
ZORBAX 快速分离高通量 (RRHT)	1.8 µm	600 bar (9000 psi)
ZORBAX 快速分离高分辨率 (RRHD)	1.8 µm	1200 bar (17000 psi)
所有 ZORBAX, Pursuit, 和 Polaris, 色谱柱，未记录为 RRHT 或 RRHD，以及 HC-C18(2), TC-C18(2)	3.0 µm, 3.5 µm, 5 µm	400 bar (6000 psi) 200 bar (3000 psi) (Metaguards)
InfinityLab PFAS 延迟柱		1200 bar (17000 psi)

流动相选择和操作温度

键合固定相本质上是非极性的，最适合与极性流动相结合使用，如甲醇/水或乙腈/水混合物。增加有机相比例通常会缩短样品的保留时间。

建议的梯度初始比例

固定相	用法说明
大多数反相色谱柱	最初为 5% 甲醇或乙腈，100% 甲醇或乙腈作为最终溶剂。
ZORBAX Eclipse PAH*	最初为 30 或 40% 乙腈，至 100% 乙腈作为最终溶剂。要提高分离度，可能需要将色谱柱冷却至 15 至 20 °C。
ZORBAX Bonus-RP	与传统的长链烷基固定相相比，化合物洗脱需要使用浓度较低的有机流动相改性剂。

*在温度 <40 °C 时色谱柱达到最佳使用寿命。

色谱柱维护

具有颗粒尺寸为 2.7 µm 或更大的色谱柱，它们的进口筛板的空隙是 2 µm。样品中包含颗粒物将堵塞色谱柱进口筛板。要使用此类样品，建议使用 ZORBAX 和 Fast Guard 预柱（如果需要），在使用所有色谱柱时，通常也建议使用这些预柱。

有关保护色谱柱的详细信息，请访问
agilent.com/chem/fastguards

清洁您的色谱柱 / 延长色谱柱使用寿命

对于可以进行反冲的色谱柱（Poroshell 120、颗粒尺寸大于 1.8 µm 的 ZORBAX 色谱柱和所有 Pursuit 和 Polaris 色谱柱），请用强洗脱度，较小极性的溶剂开始清洗。

1. 断开色谱柱与检测器的连接，然后把柱后废液导入烧杯。
2. 从你所使用的流动相开始清洗（但必须去除缓冲盐）。按 10 到 20 色谱柱体积量注入。
3. 下一步，使用 100% 有机相（甲醇或乙腈）。
4. 检查压力，以查看压力是否返回到正常状态，如果没有返回到正常状态，则进行以下步骤。
5. 丢弃色谱柱或使用更强的条件，例如 75% 乙腈/25% 异丙醇。
6. 提高到 100% 异丙醇、100% 二氯甲烷或 100% 己烷（如果您使用二氯甲烷或己烷，则需要使用异丙醇冲洗色谱柱，然后才能使用并返回到反相移动相）。

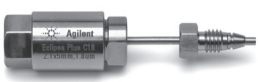
对于填料颗粒尺寸小于 1.8 µm 的色谱柱，请勿反冲此色谱 柱而是更换此色谱柱。

存放建议

硅胶基质键合相色谱柱应在纯有机溶剂（例如乙腈）中进行长期存放。 如果色谱柱已使用了含缓冲盐的流动相，应首先使用甲醇或乙腈和水的 50:50 混合物对色谱柱进行 20 至 30 个色谱柱体积的冲洗，然后使用纯溶剂进行 20 至 30 个色谱柱体积的冲洗。在存放之前，应使用堵头堵住接头，以防止填充物变干。将色谱柱放在大多数流动相中可安全存放较短时间。为了保护设备，需要使用不含缓冲液的相同的流动相对色谱柱进行冲洗，以从仪器和色谱柱中去除盐分（例如，使用 60:40 ACN/H_20 去除 60:40 ACN/0.02 M 磷酸盐缓冲的流动相）。在使用此方法时，可使用原始流动相快速进行重新平衡，并消除了被盐分腐蚀的危险。

获得最佳色谱结果的提示

- 尽可能缩短组件之间管线的长度，以减少柱外体积和谱带扩展，从而优化仪器。对快速 LC/ 高效色谱柱，请使用内径为 0.12 毫米的红色管线。有关毛细管选件，请访问 agilent.com/chem/lccapillaries
- 确保针对色谱柱优化数据采集速率。对快速 LC 色谱柱 (Poroshell 120, RRHT, RRHD) 使用较高的采集速率。
- 根据样品使用适当的样品过滤或其他样品准备方法。要了解详细信息，请访问 **agilent.com/chem/sampleprep**
- 在 LC 检测器中使用 Agilent 认证的紫外灯，以获得最佳性能。



如果您使用 Poroshell 120、ZORBAX RRHT 或 RRHD 色谱柱，请考虑使用 ***UHPLC 快速保护柱****保护您的分析柱。更多信息请参见* ***agilent.com/chem/fastguards****。*

В этом буклете приведены общие сведения обо всех колонках семейств ZORBAX, Poroshell, Pursuit и Polaris для обращенно-фазовой хроматографии. Дополнительные подробные сведения о конкретной привитой фазе или семействе колонок см.:
agilent.com/chem/columnchoices

Начало работы

Все колонки Agilent поставляются с сертификатом контроля качества, который содержит данные проверки рабочих характеристик колонки, включающие тестовую хроматограмму. Тестовая система, применяемая при контроле качества, оптимизирована по сравнению со стандартной, чтобы свести к минимуму мертвый объем. Поэтому она может отличаться от используемой в вашей лаборатории. Это позволяет лучше аттестовать рабочие характеристики колонки и гарантирует более стабильное качество продукции. Результаты, выдаваемые правильно настроенной системой жидкостной хроматографии, будут аналогичны данным хроматограммы из сертификата контроля качества.

Современные колонки надежны и разработаны для длительного использования в нормальных условиях хроматографического анализа. Эксплуатация колонок в условиях, соответствующих инструкции по эксплуатации, позволяет добиться наилучших рабочих характеристик. Перед постановкой окончательной методики обязательно перечитайте инструкцию по эксплуатации колонки.

Использование колонки

Установка

- Направление потока указано на колонке.
- Колонки с размером частиц сорбента 1,8 мкм (ZORBAX RRHT, ZORBAX RRHD) запрещается эксплуатировать с обратным направлением потока.

Для подключения колонки компания Agilent рекомендует быстроразъемные фитинги линеек InfinityLab Quick Connect и Quick Turn с нулевым мертвым объемом. Рекомендуемые фитинги:

Максимальное давление системы	Рекомендуемый фитинг	Каталожные номера
До 400 бар	Фитинг InfinityLab Quick Turn (затягиваемый пальцами)	Фитинг: 5067-5966
До 800 бар	Фитинг InfinityLab Quick Turn (с инструментом для установки)	Фитинг: 5067-5966 Инструмент для установки: 5043-0915
До 1300 бар	Фитинг Agilent InfinityLab Quick Connect	Фитинг: 5067-5965

Больше информации и каталожные номера можно найти в брошюре Agilent InfinityLab Fitting («Фитинги Agilent InfinityLab») (5991-5164RU).

Узел InfinityLab Quick Connect, p/n 5067-5961

Фитинг InfinityLab Quick Turn, p/n 5067-5966

Узнать подробнее: **www.agilent.com/chem/infinitylabfittings**

Кондиционирование колонок

Каждая колонка перед поставкой проходит испытания и поставляется заполненной тестовым растворителем. Поэтому для первого использования промывать ее водой не требуется. Если используется подвижная фаза с добавками (например, буферы или ион-парные реагенты), рекомендуется предварительно промыть колонку подвижной фазой нужного состава, но без добавок. При смене подвижной фазы рекомендуется выполнить промывку с расходом 10–20 объемов колонки. Перед использованием колонку с короткоцепочечными привитыми фазами (например, C8, фенильной, CN) следует тщательно уравновесить. Это обеспечивает воспроизводимость результатов анализа и предотвращает дрейф времен удерживания анализируемых веществ. Если подвижная фаза содержит муравьиную кислоту, колонка кондиционируется в соответствии с рекомендациями таблицы «Условия кондиционирования колонки при использовании муравьиной кислоты».

Условия кондиционирования колонки при использовании муравьиной кислоты.

Внутренний диаметр (мм)	Подвижная фаза	Скорость потока (мл/мин)	Температура колонки (°C)	Время (ч)	После кондиционирования
2,1	95/5 H_2O/ацетонитрил + 0,1% муравьиной кислоты	0,1	60	4	Промыть и хранить в чистом ацетонитриле
3,0	95/5 H_2O/ацетонитрил + 0,1% муравьиной кислоты	0,2	60	4	Промыть и хранить в чистом ацетонитриле
4,6	95/5 H_2O/ацетонитрил + 0,1% муравьиной кислоты	0,4	60	4	Промыть и хранить в чистом ацетонитриле

Примечание. Длинные колонки и колонки, применяемые для анализа кислых соединений, иногда может быть полезным кондиционировать на протяжении ночи или в течение до 24 ч.

Важные советы по безопасности

- Все места соединений в системах ВЭЖХ являются потенциальными источниками утечек. Пользователи должны быть осведомлены о токсичных или огнеопасных свойствах используемых ими 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 приведет к ухудшению характеристик хроматографического разделения и может иметь опасные последствия.

Другие практические советы

- Хотя обратная промывка колонке как правило не вредит, ее следует избегать за исключением случаев засорения фритты на входе (см. раздел *Обслуживание колонки)*.
- Всегда используйте для приготовления подвижной фазы реагенты высшей степени очистки и растворители хроматографической степени чистоты. Перед использованием проводите фильтрацию и дегазацию всего объема подвижной фазы.
- Разборка колонки приводит к ухудшению ее характеристик.
- Новые колонки заполнены смесью органических растворителей с водой. Состав растворителя указан в сертификате контроля качества колонки. В начале использования следует избегать пропускания через колонку такой подвижной фазы, которая может вызвать выпадение осадка.
- Обращенно-фазовые колонки Agilent совместимы с водой и всеми распространенными органическими растворителями.
- Для защиты колонки и повышения ее срока службы рекомендуется пользоваться защитной предколонкой.
- В перерыве между использованием не следует хранить колонки в среде с высокими значениями pH или в условиях повышенной температуры.
- Не используйте колонку за пределами рекомендованного для привитой фазы колонки диапазона pH (см. следующую страницу). Эксплуатация колонки за пределами рекомендованных диапазонов значений pH и температуры может привести к сокращению срока ее службы.

Рабочие параметры колонок: значения pH и температуры

Неподвижная фаза	Рекомендованный диапазон pH	Максимальная рабочая температура
Poroshell 120 CS-C18	pH от 1,0 до 11,0	90 °C
Poroshell HPH	pH от 2,0 до 11,0	60 °C
Poroshell 120 SB-C18, StableBond C18, ZORBAX Rx-C8, ZORBAX SB-Aq, ZORBAX SB-Phenyl, SB-C3, Poroshell 300, 300SB-C3	pH от 1,0 до 8,0	90 °C (StableBond C18 и Poroshell 120 SB-C18) 80 °C (Rx-C8 и SB-Aq, SB-C3 и SB-Phenyl) 70 °C для pH < 5,0; 40 °C для pH от 5,0 до 8,0 (Poroshell 300 и 300SB-C3)
ZORBAX Eclipse Plus C18 и C8, Eclipse XDB-C8, XDB-C18, XDB-Phenyl, Poroshell 120 Bonus-RP, Poroshell 120 ECC18 и EC-C8, ZORBAX Bonus-RP, HC-C18(2) и TC-C18(2)	pH от 2,0 до 9,0	60 °C
ZORBAX Extend C18	pH от 2,0 до 11,5	60 °C (40 °C при высоких значениях pH)
Привитые фазы Poroshell 120 PFP, Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, ZORBAX ODS, ZORBAX Phenyl, ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl, ZORBAX XDB-CN, ZORBAX Eclipse PAH, все Pursuit и Polaris	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
Задерживающая колонка InfinityLab PFAS	pH от 2,0 до 9,0	60 °C

Примечание. Все сорбенты на основе силикагеля растворимы в определенной степени при значениях pH > 6 в подвижных фазах на водной основе. 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 буфера в диапазоне от 0,01 до 0,02 моль/л. Работа при предельных значениях pH и температуры значительно уменьшает срок службы колонки.

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

Тип колонки	Размер частиц	Предельное давление
Poroshell 120	1,9 мкм, 2,7 мкм, 4 мкм	1 300 бар (19 500 psi) 600 бар (9 000 psi)
Колонка Poroshell 300	5 мкм	400 бар (6000 psi)
ZORBAX Rapid Resolution (RR)	3,5 мкм	400 бар (6000 psi)
ZORBAX Rapid Resolution High Throughput (RRHT)	1,8 мкм	600 бар (9000 psi)
ZORBAX Rapid Resolution High Definition (RRHD)	1,8 мкм	1 200 бар (17 000 psi)
Все колонки ZORBAX, Pursuit и Polaris, не обозначенные как RRHT или RRHD, а также HC-C18(2), TC-C18(2)	3,0 мкм, 3,5 мкм, 5 мкм	400 бар (6 000 psi) 200 бар (3 000 psi) (Metaguards)
Задерживающая колонка InfinityLab PFAS		1 200 бар (17 000 psi)

Выбор подвижной фазы и рабочие температуры

Привитая неподвижная фаза таких колонок по своей природе неполярна, поэтому с ней лучше использовать полярные подвижные фазы, например, смеси ACN или ацетонитрила с водой. Увеличение содержания органического компонента, как правило, приводит к снижению времени удерживания компонентов пробы.

Рекомендуемые начальные градиенты

Неподвижная фаза	Примечания по эксплуатации
Большинство обращенно-фазовых колонок	От 5% ACN или ацетонитрила до 100% метанола или ацетонитрила.
ZORBAX Eclipse PAH *	От 30–40% ацетонитрила до 100% ацетонитрила. Для увеличения разрешения колонку, возможно, придется охладить до 15–20 °C.
ZORBAX Bonus-RP	Для вымывания соединений требуется меньшая, чем для традиционных длинноцепочечных алкильных неподвижных фаз, концентрация органического модификатора в подвижной фазе.

* Максимальный срок службы колонки достигается при температуре ниже 40 °C.

Обслуживание колонки

Входная фритта колонок с частицами размером 2,7 мкм и больше имеет номинальный размер пор 2 мкм. Пробы с твердыми частицами могут привести к ее засорению. С такими пробами (и, в общем, со всеми пробами) рекомендуется использовать предколонки ZORBAX и Fast Guard с соответствующим набором оборудования (при необходимости).

Больше информации о предколонках можно найти по адресу **agilent.com/chem/fastguards**.

Промывка колонки. Как увеличить срок службы колонки

Промывку колонок, для которых допустима обратная промывка (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. Отключите колонку от детектора и направьте поток промывного растворителя в стакан.
2. Начните с подвижной фазы без буфера (вода / органический растворитель). Промойте колонку 10–20 ее объемами растворителя.
3. Затем промойте колонку чистым органическим растворителем (ACN или ацетонитрилом).
4. Проверьте давление и убедитесь, что оно вернулось к нормальному значению. Если нет, то
5. Перестаньте эксплуатировать и утилизируйте колонку или попробуйте промыть ее еще более сильным растворителем, например, смесью ацетонитрила с изопропанолом 75:25.
6. Затем промойте ее чистым изопропанолом, дихлорметаном или гексаном (при промывке дихлорметаном или гексаном до и после их использования колонку необходимо промыть изопропанолом).

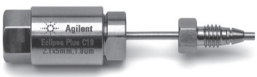
Колонки с диаметром частиц сорбента менее 1,8 мкм промывать обратной промывкой нельзя. Такие колонки следует сразу заменить.

Рекомендации по хранению

Для долговременного хранения колонок на основе силикагеля с привитой фазой следует использовать чистый органический растворитель, например ацетонитрил. Если ранее колонка использовалась с забуференной подвижной фазой, сначала следует удалить буферный раствор с помощью промывки смесью ACN или ацетонитрила с водой (50:50) в количестве 20–30 объемов колонки, а затем промывки чистым растворителем в количестве 20–30 объемов колонки. Перед направлением колонки на хранение концевые фитинги должны быть тщательно закрыты заглушками для предотвращения высыхания сорбента. Для защиты оборудования рекомендуется удалить соли из колонки и оборудования, промыв колонку той же подвижной фазой без буфера (например, использовать смесь ACN : H_2O 60:40 для удаления забуференной подвижной фазы состава ACN : раствор 0,02 моль/л фосфатный буферный раствор 60:40). Этот подход позволяет быстрее заново уравновешивать колонку при использовании исходной подвижной фазы, устраняя при этом возможность возникновения коррозии, вызываемой солями.

Советы для получения наилучших хроматографических результатов

- Оптимизируйте систему, максимально сократив длины соединительных капилляров между компонентами хроматографического тракта, чтобы уменьшить внеколоночный объем системы и размытие хроматографических зон. Используйте красные капилляры с внутренним диаметром 0,12 мм или черные с внутренним диаметром 0,075 мм для высокоэффективных колонок и для скоростной ВЭЖХ. Подробнее о различных вариантах капилляров: agilent.com/chem/lccapillaries
- Обеспечьте оптимальную скорость сбора данных для используемой колонки. Установите повышенную частоту сбора данных при использовании колонок для скоростной ВЭЖХ (Poroshell 120, RRHT и RRHD).
- Фильтруйте свои пробы или используйте другие подходящие для них методы пробоподготовки. Узнайте больше: **agilent.com/chem/sampleprep**
- Для лучших рабочих характеристик используйте в системах ВЭЖХ сертифицированные лампы Agilent.



При использовании колонок InfinityLab Poroshell 120 или ZORBAX RRHT или RRHD используйте предколонки ***Fast Guard для УВЭЖХ*** *для защиты аналитической колонки. Дополнительные сведения:* ***www.agilent.com/chem/fastguards.***

Este guia oferece informações gerais para todas as colunas de fase reversa ZORBAX, Poroshell, Pursuit e Polaris. Para obter informações mais detalhadas sobre uma fase ou linha específica, acesse: **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 pode variar do sistema usado em seu laboratório. Isso permite avaliar melhor a coluna e garantir uma maior consistência do produto. Um sistema de LC configurado adequadamente vai gerar resultados semelhantes aos do cromatograma no relatório de controle de qualidade do desempenho.

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.

Para conexões de coluna removíveis e sem volume morto, a Agilent recomenda o uso da linha InfinityLab Quick Connect e Quick Turn. As opções são:

Pressão máxima do sistema	Conexão recomendada	Part Numbers
Até 400 bar	Conexão InfinityLab Quick Turn (aperto manual)	Conexão: 5067-5966
Até 800 bar	Conexão InfinityLab Quick Turn (com ferramenta de montagem)	Conexão: 5067-5966 Ferramenta de montagem: 5043-0915
Até 1300 bar	Conexão InfinityLab Quick Connect	Conexão: 5067-5965

Para obter mais informações e part numbers, consulte a Brochura de conexões Agilent InfinityLab (5991-5164EN).

Conjunto de troca rápida InfinityLab, p/n 5067-5961

Conexão InfinityLab Quick Turn, p/n 5067-5966

Saiba mais em: **www.agilent.com/chem/infinitylabfittings**

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. Ao usar ácido fórmico como aditivo de fase móvel, condicione a coluna conforme recomendado na tabela Condições do método de condicionamento da coluna para ácido fórmico.

Condições do método de condicionamento da coluna para ácido fórmico

DI da coluna (mm)	Fase móvel	Vazão (mL/min)	Temp. da coluna (°C)	Tempo (h)	Pós-condicionamento
2,1	95/5 de H_2O/CH_3CN + 0,1% de ácido fórmico	0,1	60	4	Lavar e armazenar em 100% de CH_3CN
3,0	95/5 de H_2O/CH_3CN + 0,1% de ácido fórmico	0,2	60	4	Lavar e armazenar em 100% de CH_3CN
4,6	95/5 de H_2O/CH_3CN + 0,1% de ácido fórmico	0,4	60	4	Lavar e armazenar em 100% de CH_3CN

Observação: O condicionamento durante a noite, ou de até 24 horas, pode ser benéfico, especialmente para colunas mais longas ou analitos ácidos

Considerações de segurança importantes

- 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 operacionais de pressão indicados para cada coluna (consulte a tabela). 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 entupida (consulte *Cuidados com a coluna)*.
- Sempre utilize reagentes de alta pureza e solventes de cromatografia de boa qualidade para preparar a fase móvel. Desgaseifique 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.

Parâmetros operacionais da coluna: pH e temperatura

Fase	Faixa de pH recomendada	Temperatura operacional máxima
Poroshell 120 CS-C18	pH 1,0 a 11,0	90°C
Poroshell HPH	pH 2,0 a 11,0	60°C
Poroshell 120 SB-C18, StableBond C18, ZORBAX Rx-C8, ZORBAX SB-Aq, ZORBAX SB-Phenyl, SB-C3, Poroshell 300, 300SB-C3	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) 70°C para pH <5,0; 40°C para pH 5,0 a 8,0 (Poroshell 300 e 300SB-C3)
ZORBAX Eclipse Plus C18 e C8, Eclipse XDB-C8, XDB-C18, XDB-Phenyl, Poroshell 120 Bonus-RP, Poroshell 120 EC-C18 e EC-C8, ZORBAX Bonus-RP, HC-C18(2) e TC-C18(2)	pH 2,0 a 9,0	60°C
ZORBAX Extend C18	pH 2,0 a 11,5	60°C (40°C em pH elevado)
Poroshell 120 PFP, Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, ZORBAX ODS, ZORBAX Phenyl, ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl, ZORBAX XDB-CN, ZORBAX Eclipse PAH, Todas as fases ligadas Pursuit e Polaris	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
Coluna de atraso InfinityLab PFAS	pH 2,0 a 9,0	60°C

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 >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
Coluna InfinityLab Poroshell 120	1,9 µm 2,7 µm, 4 µm	1.300 bar (19.500 psi) 600 bar (9.000 psi)
Coluna InfinityLab Poroshell 300	5 µm	400 bar (6.000 psi)
ZORBAX Rapid Resolution (RR)	3,5 µm	400 bar (6.000 psi)
Alto rendimento de resolução rápida ZORBAX (RRHT)	1,8 µm	600 bar (9.000 psi)
Alta definição de resolução rápida ZORBAX (RRHD)	1,8 µm	1.200 bar (17.000 psi)
Todas as colunas ZORBAX, Pursuit e Polaris não indicadas como RRHT ou RRHD e HC-C18(2), TC-C18(2)	3,0 µm, 3,5 µm, 5 µm	400 bar (6.000 psi) 200 bar (3.000 psi) (Metaguards)
Coluna de atraso InfinityLab PFAS		1.200 bar (17.000 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 a 20°C para obter uma melhor resolução.
ZORBAX 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. Com essas amostras, recomenda-se utilizar as colunas ZORBAX e Fast Guard e os kits de hardware (conforme necessário), que também são geralmente 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 (colunas 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 tampão (água/orgânico). Lave a coluna com 10 a 20 volumes da 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% de acetonitrila/25% de 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).

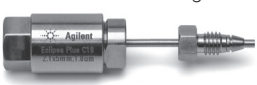
Para colunas com partículas <1,8 µm, não use backflush na coluna, substitua a coluna.

Recomendações de armazenamento

O armazenamento a longo prazo de colunas de fase ligada à base de sílica deve estar em um solvente orgânico puro, como acetonitrila. Se a coluna tiver sido usada anteriormente com uma fase móvel tamponada, o tampão deverá ser removido primeiro purgando a coluna com 20 a 30 volumes de uma mistura 50:50 de metanol ou acetonitrila e água, seguido de 20 a 30 volumes de coluna do solvente puro. Antes de armazenar, os adaptadores de extremidade devem ser bem fechados com plugues para evitar que o empacotamento seque. 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 (por exemplo, utilizando 60/40 de ACN/H_20 para remover uma fase móvel de 60:40 de ACN/0,02 M de tampão de fosfato). O reequilíbrio é rápido com a fase móvel original ao usar esta abordagem e qualquer risco de corrosão 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 com 0,12 mm ou a preta com 0,075 mm de diâmetro interno para colunas de LC rápidas/de alta eficiência. Obtenha mais informações sobre opções de capilar em 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: **agilent.com/chem/sampleprep**
- Utilize lâmpadas certificadas da Agilent nos seus instrumento esempenho.



Se você estiver usando uma coluna Poroshell 120 ou ZORBAX RRHT ou RRHD, considere usar uma ***Fast Guard para UHPLC*** *para proteger a coluna analítica. Acesse* ***agilent.com/chem/fastguards*** *para obter mais informações.*

Agilent ordering information

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

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

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

DE.3193865741

This information is subject to change without notice.

Agilent Technologies, Inc. 2019, 2020

Printed in Canada, November 10, 2020
820000-999