



**Raccordi standard**



**Cartucce ZORBAX Rapid Resolution da 15 e 30 mm**



**Colonne a cartuccia Agilent da 75 e 150 mm**



**CombiHT**

## Indice

La silice ZORBAX ..... 2

Sviluppo del metodo per HPLC in fase inversa ..... 4

### Colonne ZORBAX per la Chimica Analitica

Colonne per HPLC ZORBAX StableBond ..... 8

Colonne per HPLC ZORBAX SB-Aq ..... 12

Colonne per HPLC ZORBAX Rx ..... 13

Colonne per HPLC ZORBAX Eclipse XDB ..... 14

Colonne per HPLC ZORBAX Bonus-RP ..... 16

Colonne per HPLC ZORBAX Extend-C18 ..... 18

Altre colonne analitiche ZORBAX per HPLC ..... 20

### Colonne ZORBAX High-Throughput per HPLC

Colonne per HPLC ZORBAX CombiHT ..... 21

Colonne e colonne a cartuccia ZORBAX per HPLC e LC/MS ..... 22

Colonne per HPLC ZORBAX Rapid Resolution 3,5 µm ..... 23

Dati per l'ordinazione delle colonne High-Throughput ..... 24

Colonne MicroBore e Capillari ..... 25

### Colonne ZORBAX per la Chimica Bioanalitica

Colonne per HPLC ZORBAX 300StableBond Wide-Pore ..... 26

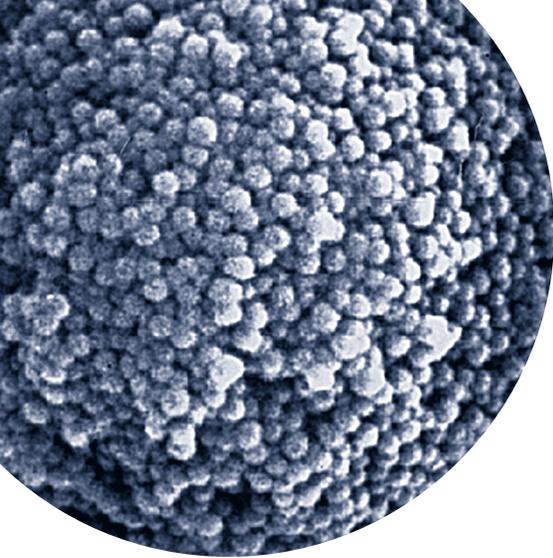
Colonne per HPLC ZORBAX 300Extend-C18 ..... 28

Colonne per HPLC ZORBAX Eclipse AAA per l'analisi degli amminoacidi . 30

Colonne per HPLC ZORBAX Eclipse per l'analisi del dsDNA ..... 31

Colonne per HPLC ad Esclusione Sterica ZORBAX GF-250/450 ..... 32

Colonne per HPLC ZORBAX Oligo ..... 33



## La silice ZORBAX Agilent: la chiave per una risoluzione che dura

### Il processo di produzione della silice ZORBAX: come ottenere una silice resistente e di purezza elevata

Tutte le colonne ZORBAX Agilent sono prodotte con microsferi di silice porosa (PSM) a partire da silice di tipo sol. La particella di silice è costituita da micro-particelle sol più piccole, non porose, che vengono agglutinate con un processo brevettato e quindi fuse a temperatura molto elevata, per formare la particella finale (Figura 1). Queste particelle di silice, durevoli e forti, costituiscono la silice ZORBAX Rx-SIL e sono alla base della maggior parte delle colonne ZORBAX presentate in questa brochure.

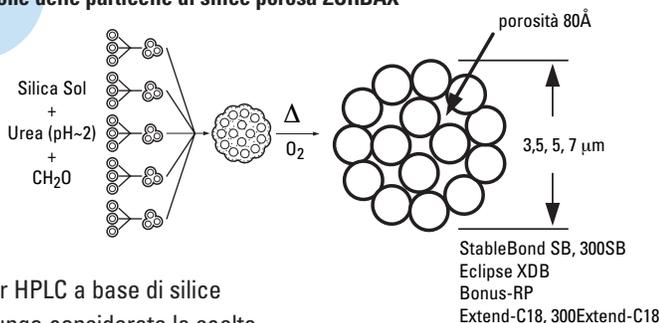
Il processo ZORBAX Rx-SIL produce particelle ultrapure (99,995%) con un contenuto di metalli molto basso. Le particelle finali di silice sono completamente idrossilate e di bassa acidità. Il processo Rx-SIL consente inoltre un controllo attento e riproducibile della misura di pori e particelle. Purezza (bassa acidità), resistenza, controllo dimensionale attento e resistenza al pH elevato sono fattori critici per ottenere risultati cromatografici eccellenti e sono alla base della superiorità delle fasi legate ZORBAX.

Nella Tabella 1 le caratteristiche delle particelle ZORBAX Rx-SIL sono confrontate con quelle delle particelle ottenute con il processo Xerogel, utilizzato comunemente per realizzare la silice per colonne HPLC. Per produrre silice con le caratteristiche chiave (elencate in precedenza) necessarie per l'ottimizzazione delle prestazioni cromatografiche, il processo ZORBAX Agilent è una scelta eccellente.

Scopri come migliorare le tue analisi grazie ad esso.

FIGURA 1

#### Formazione delle particelle di silice porosa ZORBAX



Le colonne per HPLC a base di silice sono state a lungo considerate la scelta migliore per ottimizzare la risoluzione grazie a una lunga durata e buone prestazioni. Fra i vantaggi della silice vi sono: efficienza elevata, granulometria ridotta, buona resistenza meccanica, compatibilità con un'ampia gamma di solventi organici. Le caratteristiche qualitative e di consistenza del supporto in silice sono di fondamentale importanza. Pertanto, una specifica attenzione nella produzione delle particelle può migliorare i risultati delle analisi cromatografiche, dalle più semplici fino a quelle dei peptidi o delle proteine. Agilent Technologies produce le particelle in silice utilizzando un metodo esclusivo con controllo totale del processo di produzione, che permette di ottenere supporti per le colonne ZORBAX per HPLC di qualità superiore.

TABELLA 1

#### Confronto fra le caratteristiche della silice ZORBAX Rx-SIL e Xerogel

	ZORBAX Rx-SIL (Tipo sol)	Xerogel (Tipo SIL)
	Subparticelle uniformi	Rete polimerica tipo "spugna"
<b>Struttura</b>		
<b>Purezza</b>	Elevata (99,995%)	Bassa-Alta
<b>Resistenza</b>	Elevata	Moderata
<b>Distribuzione misura pori e particelle</b>	Stretta	Ampia
<b>Misura pori/Area superficiale</b>	80Å/180m <sup>2</sup> /g	100Å/300m <sup>2</sup> /g
<b>Porosità (%)</b>	50	70
<b>Resistenza al pH elevato</b>	Buona	Scarsa

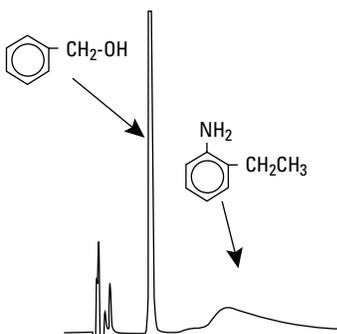
### I vantaggi della purezza della silice: riduzione dello scodamento dei picchi

Lo scodamento (asimmetria) dei picchi di composti basici costituisce uno dei principali problemi cromatografici, poiché riduce l'efficienza cromatografica, l'accuratezza e la riproducibilità dei risultati. La maggiore causa di asimmetria dei picchi è l'interazione fra l'analita e i siti silanologici acidi presenti sulla superficie della silice. Tracce di metalli nella silice aumentano l'acidità dei silanoli e quindi lo scodamento. Queste interazioni silanoliche sono ridotte o eliminate scegliendo una silice meno acida, ultrapura (99,995%) come la ZORBAX Rx-SIL.

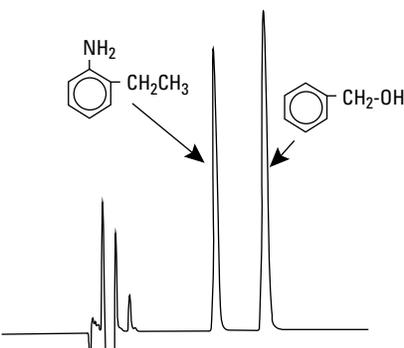
Il miglioramento cromatografico è sensibile. La Figura 3 mostra il minore scodamento dei picchi ottenuto utilizzando la ZORBAX Rx-SIL rispetto a una silice più acida.

**FIGURA 3**  
Miglioramenti cromatografici grazie alla silice ZORBAX Rx-SIL a purezza elevata

#### ZORBAX SIL Original (1973)



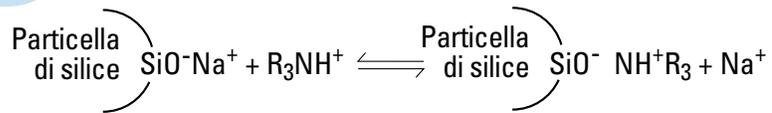
#### ZORBAX Rx-SIL a purezza elevata



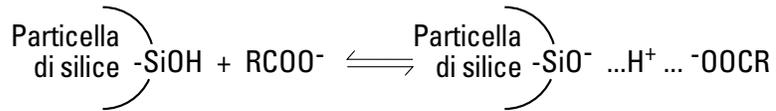
Fase mobile: 5% propanolo in eptano  
Flusso: 2,0 ml/min

**FIGURA 2**

### Interazioni secondarie potenziali fra silanoli della silice e composti ionizzabili



1. I silanoli ionizzati ( $\text{SiO}^-$ ) reagiscono con scambio ionico con le basi protonate ( $\text{R}_3\text{NH}^+$ ). Questo può provocare scodamento e instabilità del metodo.



2. Gli acidi deprotonati possono completarsi in  $\text{H}^+$  con i silanoli protonati.

### I vantaggi della resistenza delle particelle: efficienza e durata maggiori

Durante il processo produttivo della silice, le particelle sol agglutinate sono sinterizzate per aumentarne la resistenza. La migliore stabilità meccanica consente alle colonne ZORBAX di essere impaccate a pressione elevata, sino a 550 bar. Le colonne impaccate così prodotte sono caratterizzate da un impaccamento eccezionalmente stabile, che non si comprime durante l'uso a pressione operativa normale e anche elevata, sino a 345 bar. La stabilità del letto di impaccamento aumenta la durata delle colonne ZORBAX con particelle da 3,5, 5 o 7  $\mu\text{m}$ . Quando si utilizzano come supporto particelle in silice ZORBAX Rapid Resolution da 3,5  $\mu\text{m}$ , è possibile ottenere velocità ed efficienza cromatografica elevate, senza compromettere la durata della colonna.

### I vantaggi di un attento controllo dimensionale di pori e particelle: efficienza elevata e migliore riproducibilità con una scelta di colonne più ampia

Il controllo accurato e attento della misura di pori e particelle adottato per la ZORBAX Rx-SIL assicura riproducibilità di ritenzione da colonna a colonna e da lotto a lotto. La granulometria fine e uniforme della silice ZORBAX Rx-SIL massimizza l'efficienza e la stabilità dell'impaccamento, minimizzando il rischio di aumento della pressione a causa di ostruzione della colonna. L'accuratezza e la precisione del processo consente la produzione specifica di particelle ZORBAX Rx-SIL da 3,5, 5, e 7  $\mu\text{m}$ .

Le particelle di dimensioni più ridotte, quelle da 3,5  $\mu\text{m}$ , sono la base per le colonne Rapid Resolution per analisi veloci, progettate per massimizzare la risoluzione con colonne estremamente corte, ideali per le analisi LC/MS e per qualsiasi applicazione che richieda tempi

di analisi ridotti. Le particelle da 5  $\mu\text{m}$  sono uno standard e assicurano risoluzione elevata con un'ampia gamma di dimensioni di colonna. Assicurano inoltre efficienza elevata con le colonne preparative corte CombiHT, poiché l'attento controllo dimensionale permette di lavorare nei normali limiti di pressione operativa. Le particelle da 7  $\mu\text{m}$  raggiungono l'equilibrio ideale tra efficienza e pressione operativa, per le colonne preparative più lunghe.

### ZORBAX Rx-SIL: la base per molte fasi legate

Grazie alle elevate caratteristiche delle proprie prestazioni, le particelle ZORBAX Rx-SIL sono state utilizzate per sviluppare molte fasi legate efficaci per la soluzione di numerosi problemi analitici. Questo comprende colonne che possono essere utilizzate a valori estremi di pH, non eguagliate da nessun'altra colonna di questo tipo. Poiché le colonne a base di silice hanno diverse limitazioni in rapporto al valore di pH, per assicurare una lunga durata della colonna, nonché la risoluzione ottimale nelle diverse condizioni di pH, sono necessarie fasi legate con chimica specifica.

Le fasi legate ZORBAX RP-HPLC Agilent sono progettate per permettere la lunga durata della colonna e la riproducibilità nei vari intervalli di pH, sempre grazie alle elevate prestazioni della silice ZORBAX Rx-SIL.



## Fasi legate ZORBAX RP-HPLC Agilent

### Lunga durata, eccellente simmetria dei picchi, risoluzione superiore nell'intervallo di pH 1 – 12

Le fasi legate ZORBAX Agilent per HPLC in fase inversa, prodotte con silice Rx-SIL, assicurano massima simmetria dei picchi e risoluzione del campione, insieme alla massima durata della colonna nelle regioni di pH basso, medio e alto. La ritenzione di composti ionizzabili cambia con il pH, quindi per raggiungere una risoluzione ottimale per campioni complessi sono richiesti metodi consolidati per pH da 1 a 12. Per coprire un intervallo di pH così ampio e assicurare la massima durata della colonna sono necessari numerosi tipi di fasi legate. Le colonne ZORBAX descritte di seguito utilizzano un'esclusiva chimica di legame per aumentare la durata della fase stessa e del supporto in silice, assicurando così una "risoluzione che dura" a ogni pH.

Colonna consigliata	Intervallo di pH per la durata ottimale della colonna												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
ZORBAX StableBond	[Barra continua da pH 1 a 12]												
ZORBAX Eclipse XDB	[Barra continua da pH 3 a 9]												
ZORBAX Bonus-RP	[Barra continua da pH 2 a 9] Selettività unica												
ZORBAX Extend-C18	[Barra continua da pH 1 a 12]												

#### Per massimizzare la durata della colonna con fasi mobili a pH basso: ZORBAX StableBond Agilent

Le colonne **StableBond** sono realizzate usando specifici silani a elevato ingombro sterico, brevettati, che proteggono il legame silossanico. Non sono utilizzati i reagenti di endcapping labili agli acidi. Il risultato è una durata della colonna sensibilmente maggiore e una resistenza termica straordinaria, nell'intervallo di pH 1 – 6, con una vasta gamma di fasi mobili (SB-C3, SB-CN, SB-Phenyl, SB-C8 e SB-C18), ed una elevata simmetria dei picchi per molti composti basici.

Colonna consigliata	Intervallo di pH per la durata ottimale della colonna												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
ZORBAX StableBond	[Barra continua da pH 1 a 12]												

#### Per massimizzare la durata della colonna con fasi mobili a pH intermedio: ZORBAX Eclipse XDB o Bonus-RP Agilent

Le colonne **Eclipse XDB** sono migliori se utilizzate nell'intervallo di pH 3 – 8, ma possono essere utilizzate con successo anche per pH 2 – 9. Queste colonne assicurano eccellente simmetria dei picchi e risoluzione elevata per composti acidi, basici e neutri. La superficie della silice densamente legata e con doppio endcapping minimizza le interazioni silanoliche e protegge la silice dalla dissoluzione.

Colonna consigliata	Intervallo di pH per la durata ottimale della colonna												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
ZORBAX Eclipse XDB	[Barra continua da pH 3 a 9]												

Le colonne **Bonus-RP** assicurano una selettività esclusiva a pH medio grazie a un gruppo ammidico incorporato nella catena alchilica C14. A pH 7 le Bonus-RP assicurano simmetria anche per i composti basici più critici: la protezione dall'idrolisi a pH basso è uguale a quella delle StableBond, inoltre il triplo endcapping minimizza le interazioni e migliora la stabilità a pH medio. Le Bonus-RP possono essere utilizzate in fasi mobili 100% acquose senza collassare.

Colonna consigliata	Intervallo di pH per la durata ottimale della colonna												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
ZORBAX Bonus-RP	[Barra continua da pH 2 a 9] Selettività unica												

#### Per massimizzare la durata della colonna con fasi mobili a pH alto: ZORBAX Extend-C18 Agilent

Le colonne **Extend-C18**, che costituiscono l'ultima novità nella nostra gamma di prodotti, contengono un esclusivo legame bidentato brevettato che, combinato con un doppio endcapping, protegge la silice dalla dissoluzione a pH alto, sino a 11,5. Le Extend-C18 sono perfette per separare composti: (1) basici e con ritenzione scarsa o nulla a valori di pH bassi o intermedi, (2) più stabili o maggiormente solubili a pH alto, o (3) basici e con picchi poco simmetrici a pH basso o medio.

Colonna consigliata	Intervallo di pH per la durata ottimale della colonna												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
ZORBAX Extend-C18	[Barra continua da pH 1 a 12]												

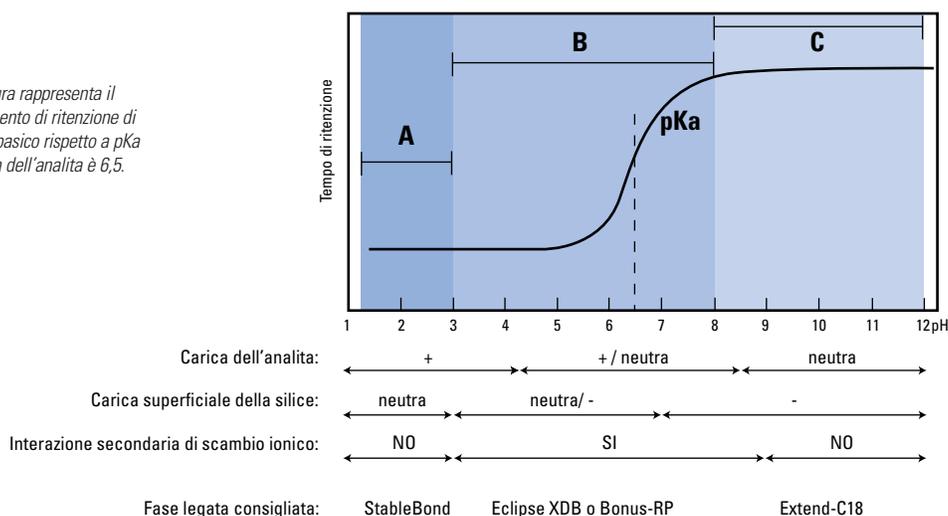
## Sviluppo del metodo nell'intervallo di pH 1 – 12

La risoluzione cromatografica fra due o più picchi dipende da tre fattori: efficienza, selettività e ritenzione della colonna. Con analiti ionizzabili, basici o acidi, tutti questi fattori cambiano drasticamente con il pH. Ad esempio, la ritenzione può essere migliorata variando il pH di separazione, in modo che gli analiti siano separati nelle loro forme non ionizzate. Anche le modifiche della fase mobile possono migliorare l'efficienza, a causa dell'alterazione dello stato di ionizzazione degli analiti e dei residui silanologici. Questo minimizza le interazioni secondarie fra analiti e superficie della silice, che generano simmetria dei picchi. Il raggiungimento della ionizzazione ottimale richiede la modifica del pH della fase mobile. La seguente strategia di sviluppo del metodo spiega come ottenere questo grazie alla durata superiore della colonna.

Le tre regioni generali di pH basso, medio e alto definite per le separazioni cromatografiche sono riportate in Figura 1: sono evidenziati i vantaggi della separazione di analiti ionizzabili in ciascuna regione. Lo sviluppo del metodo inizia esaminando i risultati delle separazioni cromatografiche effettuate a pH basso e quindi procede aumentando il pH sino ad ottenere risultati ottimali. Per ciascuna regione di pH è disponibile la colonna ideale.

**FIGURA 1**  
Le tre regioni di pH per la separazione HPLC di composti basici

Questa figura rappresenta il comportamento di ritenzione di un analita basico rispetto a pKa e pH. Il pKa dell'analita è 6,5.



### Regione A: pH basso, 1 – 3

- Avviare lo sviluppo del metodo a pH basso, dove i silanoli della colonna RP-HPLC sono protonati. Questo minimizza lo scodamento dei picchi, eliminando le interazioni base/silanolo.
- A pH basso i composti basici sono carichi positivamente e la loro ritenzione può essere ridotta.
- I composti acidi possono essere protonati e presentare maggiore ritenzione.
- I tempi di ritenzione sono solitamente stabili a piccole variazioni di pH, generando un metodo resistente.
- Additivi volatili per fase mobile, come l'acido formico o il trifluoroacetico (TFA), sono utilizzati spesso a pH basso con la tecnica LC/MS.

### Regione B: pH medio, 3 – 8

- Sviluppare i metodi a un valore di pH maggiore o minore di almeno 1 unità rispetto al pKa, per minimizzare le variazioni di ritenzione per piccole variazioni di pH.
- A pH 4 – 6 alcuni gruppi SiOH diventano SiO<sup>-</sup> e possono quindi interagire e dare scodamento dei picchi.
- Minimizzare le interazioni selezionando una colonna con endcapping, usando additivi come la TEA (meno preferibile) o usando fasi legate polari.
- La degradazione della silice viene evitata grazie all'innovativa chimica di legame, all'entità dell'endcapping e all'uso della silice Rx-SIL.

### Regione C: pH alto, 8 – 12

- In questa regione i composti basici possono essere nella loro forma di basi libere.
- Si può avere aumento della ritenzione e della risoluzione di composti basici.
- La ritenzione cambia poco in questa regione, quindi possono essere sviluppati metodi resistenti.
- La degradazione della silice viene evitata grazie all'innovativa chimica del legame bidentato, all'entità dell'endcapping, all'uso della silice Rx-SIL e all'ottimizzazione della fase mobile.
- L'idrossido di ammonio è un ottimo modificatore volatile utilizzato a pH elevato.



## Sviluppo del metodo a pH basso: colonne StableBond

### StableBond – pH ≤ 3

Con una scelta così ampia, come selezionare la colonna più adatta per lo sviluppo del metodo? In realtà questa è una decisione semplice. La maggior parte degli analiti è acida o basica, quindi ionizzabile, e il migliore approccio iniziale è quello di utilizzare una fase mobile a pH basso (Figura 1, Regione A). In questo modo si ottiene la migliore simmetria dei picchi per i composti basici, poiché vengono eliminate le interazioni per scambio ionico (BH<sup>+</sup> + SiOH, interazione secondaria). Molti composti acidi non hanno carica e presentano pertanto massima ritenzione a pH basso. Quindi le colonne StableBond come prima scelta assicurano la massima durata e i metodi più resistenti a pH basso.

Per analisi standard è bene iniziare lo sviluppo del metodo usando acetonitrile come modificante organico della fase mobile e tampone fosfato 25 – 50 mM (pH ≤ 3) come componente acquoso. Questo assicura un buon controllo del pH, necessario per ottenere la massima riproducibilità per i componenti ionizzabili. Le fasi legate StableBond SB-C8 o SB-C18 sono scelte solitamente per prime, poiché separano efficacemente la maggior parte dei composti. Se necessario, per ottimizzare la separazione possono essere utilizzati i cambiamenti della fase mobile (% di organico, pH, forza ionica e modificante organico) e della temperatura della colonna. Una caratteristica esclusiva delle colonne StableBond è la stabilità termica. La temperatura può essere utilizzata quindi come ulteriore strumento per migliorare la risoluzione.

### Selettività delle fasi StableBond

Per migliorare la risoluzione del campione, è possibile selezionare le altre fasi StableBond: SB-CN, SB-C3 e SB-Phenyl. Queste tre fasi legate sono più polari della SB-C8 e SB-C18 e possono modificare la selettività. Può essere ridotta in modo sostanziale la durata dell'analisi per composti non polari, mantenendo la ritenzione per i composti polari. Inoltre, la fase legata SB-CN costituisce un'ottima scelta nel caso di miscele di composti polari e non, poiché riduce la ritenzione dei

composti non polari e può eliminare la necessità di una separazione in gradiente. Tutte queste fasi a catena corta assicurano la stessa eccezionale stabilità delle fasi SB-C8 e SB-C18.

## Sviluppo del metodo a pH intermedio: colonne Eclipse XDB e Bonus-RP

### Eclipse XDB – pH 7

Se il livello di pH basso non è opportuno o soddisfacente per la separazione, a causa della scarsa ritenzione, sensibilità, selettività o stabilità degli analiti, allora è possibile prendere in esame l'intervallo di pH medio, intorno a pH 7 (Figura 1, Regione B). Questo solitamente esalta le differenze di ritenzione e selettività rispetto a condizioni di pH basso. Le fasi legate Eclipse XDB-C18 e C8 in genere sono la prima scelta per l'uso a questo pH, poiché assicurano risoluzione elevata e durata superiore della colonna. Normalmente si sceglie il tampone fosfato come modificante della fase mobile a pH 7, perché il suo intervallo di tamponamento è pH 6,2 – 8,2; per ottimizzare la durata della colonna, questo tampone deve essere utilizzato a temperature inferiori a 40°C. Una seconda scelta per questo intervallo di pH è il tampone acetato (intervallo di tamponamento pH 3,8 – 5,8), utilizzato normalmente per la compatibilità con la LC/MS. L'ottimizzazione dello sviluppo del metodo può proseguire poi con la modifica della fase mobile, del pH e della temperatura della colonna (sino a 60°C) o sostituendo la fase legata con la Eclipse XDB-Phenyl.

### Bonus-RP – pH 7

Per ottenere una più drastica modifica della selettività o per migliorare la simmetria dei picchi per i composti basici a pH medio, prova le colonne Bonus-RP: anche con queste il processo di sviluppo del metodo sarà lo stesso che con le colonne Eclipse XDB. Puoi scegliere lo stesso tipo di fase mobile tamponata e usare gli stessi modificanti organici e anche modificare la temperatura, sino a 60°C. In generale le Bonus-RP hanno una ritenzione leggermente minore rispetto alle colonne C8, a causa del gruppo

ammidico polare incorporato nella fase legata, e una migliore stabilità al pH, quindi possono essere scelte per migliorare la simmetria dei picchi di composti basici critici che danno scodamento con altre fasi. Le colonne Bonus-RP possono essere utilizzate con fasi mobili 100% acquose.

## Sviluppo del metodo a pH alto

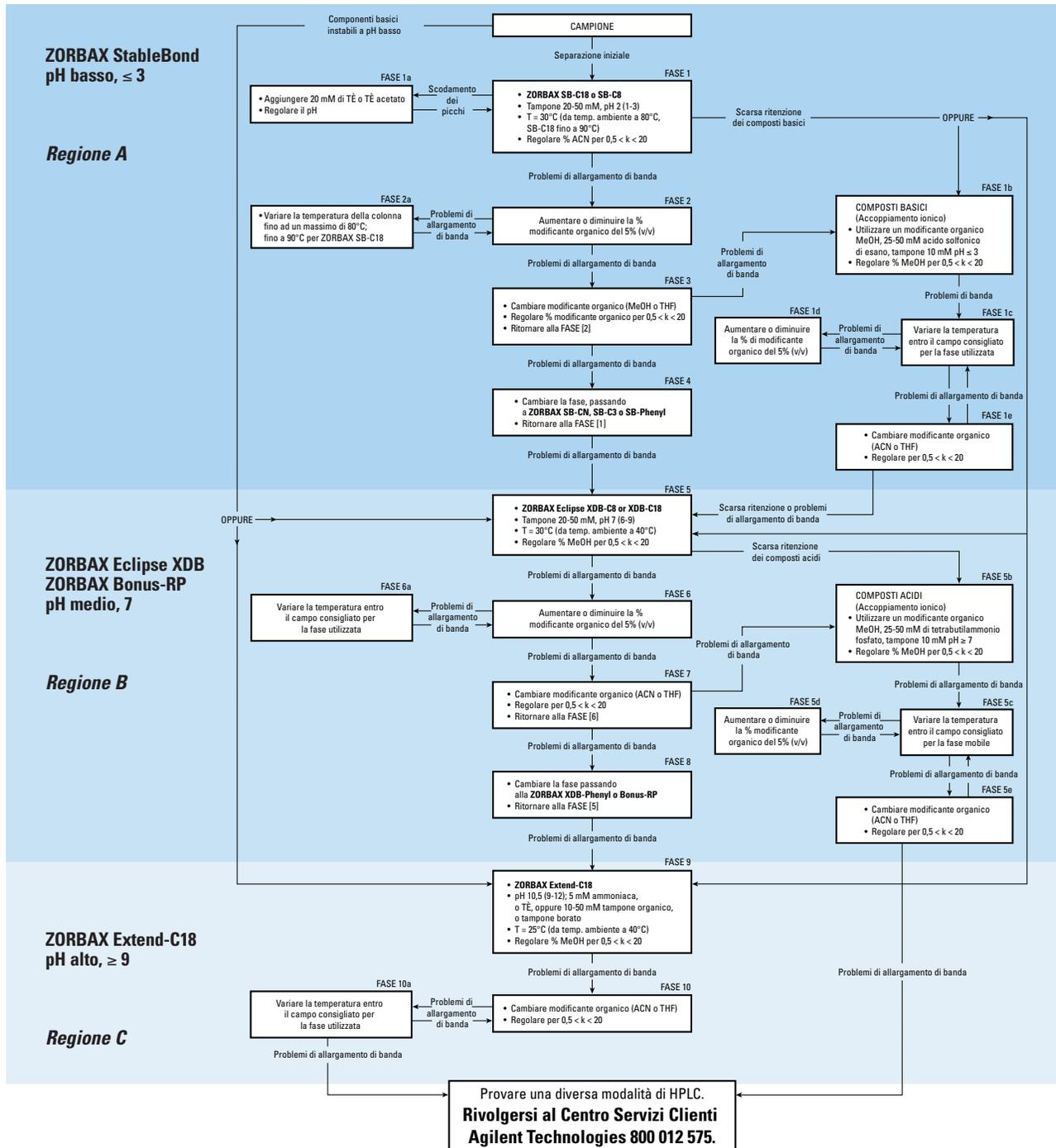
### Extend-C18

A pH basso o medio alcune separazioni di composti basici possono non avere abbastanza ritenzione o la selettività desiderata. Per questi campioni può essere più appropriato effettuare la separazione a pH alto (Figura 1, Regione C), condizione in cui può essere possibile separare i composti basici come basi libere, quindi senza carica. La ritenzione aumenta insieme alla possibilità di ottenere la selettività voluta. Le colonne Extend-C18 hanno prestazioni buone sino a pH 11,5. Per molti composti basici con pKa di 9 – 10, questo ampio intervallo di pH consente di effettuare la separazione a un pH superiore di almeno 1 unità rispetto al pKa dell'analita, operando in condizione di base libera. La procedura di sviluppo del metodo con le colonne Extend-C18 è la stessa che per le altre colonne (scelta della fase mobile appropriata per l'intervallo di pH e del modificante organico). Tuttavia, quando si utilizzano le Extend-C18 sono necessari modificanti quali la trietilammina, l'idrossido di ammonio e la pirrolidina, per massimizzare la durata della colonna: il tampone fosfato non è consigliabile. Il modificante organico preferito è il metanolo.

## Le colonne ZORBAX assicurano una risoluzione che dura

Le colonne ZORBAX sono state progettate con cura per assicurare una risoluzione ottimale e la massima durata a pH basso, medio e alto. Seguendo la procedura descritta di seguito si semplifica lo sviluppo del metodo con le colonne ZORBAX. Il campione e la fase mobile determinano la colonna migliore, così potrai ottenere sempre una “risoluzione che dura”.

## Strategia di sviluppo del metodo che ottimizza risoluzione e durata della colonna





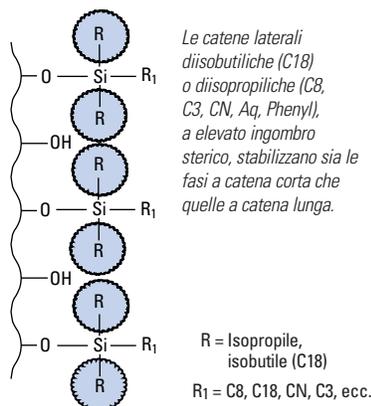
# Colonne ZORBAX per la Chimica Analitica

## Colonne per HPLC ZORBAX StableBond

- Massima durata della colonna e massima riproducibilità per separazioni a pH basso, fino a 1!
- La stabile chimica di legame della colonna (brevettata) ne consente l'uso a temperatura elevata e a pH basso senza degradazione
- Sei diversi tipi di fase legata assicurano ampia selettività: SB-C18, SB-C8, SB-CN, SB-Phenyl, SB-C3 e SB-Aq
- Silice di elevata purezza per una maggiore simmetria dei picchi
- Eccellente come prima scelta per lo sviluppo del metodo

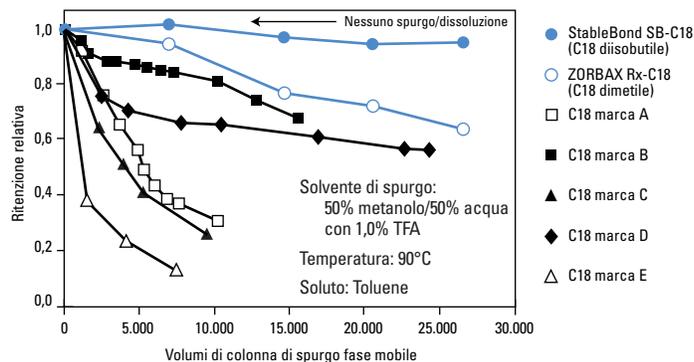
Colonna consigliata	Intervallo di pH per la durata ottimale della colonna												
ZORBAX StableBond	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

**FIGURA 1**  
Fase legata StableBond stericamente protetta

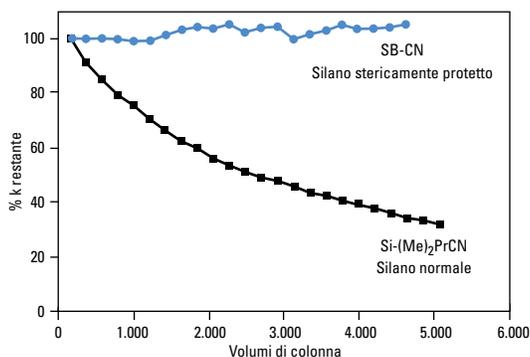


Come indicatore del degrado della colonna viene misurato il tempo di ritenzione del toluene dopo spurgo della colonna con la fase mobile. Solo la StableBond SB-C18 è risultata non modificata dopo 3 mesi di uso in condizioni di pH molto basso (0,8) e temperatura elevata (90°C). Anche la ZORBAX Rx-C18 assicura una matrice stabile e può essere utilizzata per la selettività alternativa rispetto a quella della StableBond SB-C18.

**FIGURA 2**  
La StableBond SB-C18 mostra una eccellente stabilità a pH basso e temperatura elevata (pH 0,8 – 90°C)

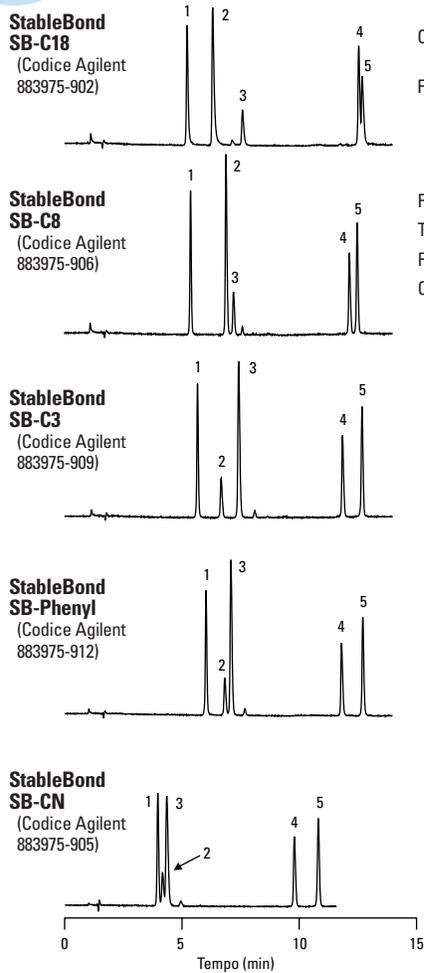


**FIGURA 3**  
Anche la ZORBAX SB-CN a catena corta è stabile a pH basso (pH 2,0 – 50°C)



La ZORBAX StableBond SB-CN e le altre fasi legate StableBond a catena corta presentano un'elevata stabilità a pH basso. Le colonne dimetil CN convenzionali e fasi legate simili mostrano perdita di stabilità.

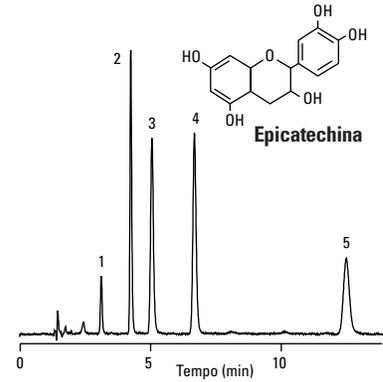
FIGURA 4  
Cinque fasi legate diverse per poter scegliere la selettività



Colonna: **ZORBAX StableBond**  
4,6 x 150 mm, 5 µm  
Fase mobile: 0 - 100% B in 18,8 min  
A: 50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 2,5 in 95% H<sub>2</sub>O /5% ACN  
B: 50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 2,5 in 47% H<sub>2</sub>O /53% ACN  
Flusso: 1,0 ml/min  
Temperatura: 26°C  
Rivelazione UV: 254 nm  
Campione: 1. Procaina  
2. Lidocaina  
3. d-Cinconina  
4. Butacaina  
5. Tetracaina

La SB-C3, che nell'esempio riportato permette di ottenere la risoluzione ottimale, non è che una delle cinque diverse opzioni StableBond, tutte sviluppate a partire dalla stessa silice purissima Rx-SiL. La selettività dipende pertanto unicamente dalle fasi legate capaci di rendere più affidabile lo sviluppo del metodo.

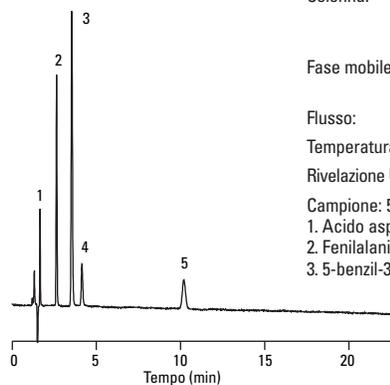
FIGURA 5  
Componenti del tè verde separati con colonna Rapid Resolution StableBond SB-C8



Colonna: **ZORBAX SB-C8**  
4,6 x 150 mm, 3,5 µm  
(Codice Agilent 863953-906)  
Fase mobile: 75% 0,1% TFA : 25% MeOH  
Flusso: 1,0 ml/min  
Temperatura: 40°C  
Rivelazione UV: 280 nm  
Campione: 1. Epigallocatechina  
2. Epicatechina  
3. Epigallocatechina gallato  
4. Catecolo  
5. Epicatechina gallato

Composti di questo tipo sono separati velocemente con colonne StableBond SB-C8 Rapid Resolution.

FIGURA 6  
Eccellente simmetria dei picchi

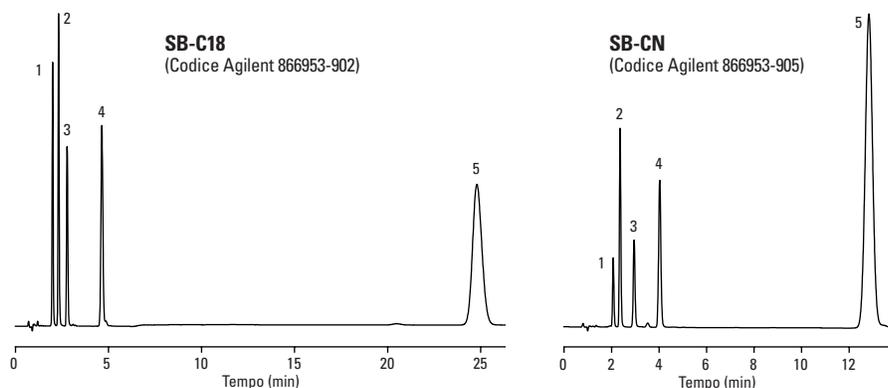


Colonna: **ZORBAX SB-C18**  
4,6 x 150 mm, 5 µm  
(Codice Agilent 883975-902)  
Fase mobile: 85% 0,1% TFA  
15% ACN  
Flusso: 1,0 ml/min  
Temperatura: 35°C  
Rivelazione UV: 210 nm  
Campione: 5 µl  
1. Acido aspartico  
2. Fenilalanina  
3. 5-benzil-3,6-diosso-2-piperazina AcOH  
4. Asp-phe  
5. Aspartame

La purezza elevata della silice Rx-SiL utilizzata nella produzione delle colonne StableBond assicura un eccellente profilo dei picchi per composti basici e acidi.

FIGURA 7

La fase legata SB-CN ottimizza la ritenzione e la risoluzione



Colonna: **ZORBAX SB**  
4,6 x 75 mm, 3,5 µm

Fase mobile: 30% ACN  
70% NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 2,5

Flusso: 1,0 ml/min

Temperatura: 35°C

Campione: 1. Estriolo  
2. Daidzeina  
3. Quercetina  
4. Genisteina  
5. Dietilstilbestrolo

La colonna SB-CN viene qui impiegata per ridurre i tempi di analisi del 50%. La ritenzione dell'analita più idrofobo viene dimezzata, mentre aumenta leggermente la ritenzione dei picchi più polari di più rapida eluizione.

Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX StableBond (80Å)

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7	SB-CN USP L10	SB-C3	SB-Phenyl USP L11	SB-Aq
<b>Colonne standard e impaccamenti</b>								
Preparativa	21,2 x 250	7	880975-102	880967-106	880975-105		880975-112	
Semipreparativa	9,4 x 250	5	880975-202	880967-201	880975-205	880975-209	880975-212	
Analitica	4,6 x 250	5	880975-902	880975-906	880975-905	880975-909	880975-912	880975-914
Analitica	4,6 x 150	5	883975-902	883975-906	883975-905	883975-909	883975-912	883975-914
Analitica	4,6 x 50	5	846975-902	846975-906				846975-914
Rapid Resolution (RR)	4,6 x 150	3,5	863953-902	863953-906	863953-905		863953-912	
Rapid Resolution	4,6 x 75	3,5	866953-902	866953-906	866953-905		866953-912	
Rapid Resolution	4,6 x 50	3,5	835975-902	835975-906	835975-905		835975-912	
Solvent Saver	3,0 x 250	5	880975-302	880975-306	880975-305	880975-309	880975-312	
Solvent Saver	3,0 x 150	5	883975-302	883975-306	883975-305	883975-309	883975-312	
Solvent Saver Plus	3,0 x 150	3,5	863954-302	863954-306	863954-305		863954-312	
Solvent Saver Plus	3,0 x 100	3,5		861954-306				
Narrow Bore	2,1 x 150	5	883700-922	883700-906	883700-905	883700-909	883700-912	
Narrow Bore	2,1 x 50	5	860975-902	860975-906	860975-905	860975-909	860975-912	860975-914
Narrow Bore RR*	2,1 x 150	3,5	830990-902	830990-906				
Narrow Bore RR	2,1 x 50	3,5	871700-902	871700-906				
MicroBore RR	1,0 x 150	3,5	863600-902	863600-906				
MicroBore RR	1,0 x 50	3,5	865600-902	865600-906				
MicroBore RR	1,0 x 30	3,5	861600-902	861600-906				
Impaccamento, 2 grammi		5		820966-906	820966-905			
Precolonna a cartuccia, 2/conf.	9,4 x 15	7	820675-115	820675-115	820675-124		820675-115	
Precolonna a cartuccia, 4/conf.	4,6 x 12,5	5	820950-920	820950-915	820950-916	820950-922	820950-917	820950-933
Precolonna a cartuccia, 4/conf.	2,1 x 12,5	5	821125-926	821125-926	821125-924	821125-924	821125-926	821125-933
Kit hardware per precolonna	9,4 x 15		840140-901	840140-901	840140-901	840140-901	840140-901	
Kit hardware per precolonna	4,6 x 12,5		820777-901	820777-901	820777-901	820777-901	820777-901	820777-901
Kit hardware per precolonna	2,1 x 12,5		820777-901	820777-901	820777-901	820777-901	820777-901	820777-901

\*RR: Colonne Rapid Resolution da 3,5 µm.

Sono disponibili su richiesta configurazioni non in elenco. Per ulteriori informazioni su queste ed altre colonne consultate il sito Agilent all'indirizzo [www.agilent.com](http://www.agilent.com). Sono inoltre disponibili le colonne StableBond 300Å per la separazione di peptidi e proteine. Si rimanda alla pag. 26 per le descrizioni e i dati di ordinazione.

**Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX StableBond (80Å)**

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7
<b>Colonne capillari con interno in vetro</b>				
Capillare	0,5 x 250	5	5064-8258	
Capillare	0,5 x 150	5	5064-8256	
Capillare RR*	0,5 x 150	3,5	5064-8262	
Capillare RR	0,5 x 35	3,5	5064-8260	
Capillare	0,3 x 250	5	5064-8257	
Capillare	0,3 x 150	5	5064-8255	
Capillare RR	0,3 x 150	3,5	5064-8261	
Precolonna a cartuccia	0,5 x 35	5	5064-8254	
Precolonna a cartuccia	0,3 x 35	5	5064-8253	
<b>Colonne a cartuccia Agilent</b>				
Analitica	4,6 x 250	5	7995218-585	7995208-585
Analitica	4,6 x 150	5	7995218-595	7995208-595
Rapid Resolution	4,6 x 75	3,5	7995218-344	7995208-344
Precolonna a cartuccia, 10/conf.	4,0 x 4,0	5	7995118-504	7995118-504
Supporto cartuccia			5021-1845	5021-1845
<b>Colonne a cartuccia High-Throughput (richiedono il Kit hardware 820222-901)</b>				
Rapid Resolution, cartuccia	4,6 x 30	3,5	833975-902	833975-906
Rapid Resolution, cartuccia, 3/conf.	4,6 x 30	3,5	833975-932	833975-936
Rapid Resolution, cartuccia	4,6 x 15	3,5	831975-902	831975-906
Rapid Resolution, cartuccia, 3/conf.	4,6 x 15	3,5	831975-932	831975-936
Rapid Resolution, cartuccia	2,1 x 30	3,5	873700-902	873700-906
Rapid Resolution, cartuccia, 3/conf.	2,1 x 30	3,5	873700-932	873700-936
Rapid Resolution, cartuccia	2,1 x 15	3,5	875700-902	875700-906
Rapid Resolution, cartuccia, 3/conf.	2,1 x 15	3,5	875700-932	875700-936
Kit hardware			820222-901	820222-901
<b>Colonne preparative High-Throughput CombiHT (richiedono i raccordi terminali)</b>				
CombiHT	21,2 x 150	5	870150-902	870150-906
CombiHT	21,2 x 100	5	870100-902	870100-906
CombiHT	21,2 x 50	5	870050-902	870050-906
Raccordi terminali per CombiHT (necessari per l'utilizzo)			820400-901	820400-901



\*RR: Colonne Rapid Resolution da 3,5 µm.

Sono disponibili su richiesta configurazioni non in elenco. Per ulteriori informazioni su queste ed altre colonne consultate il sito Agilent all'indirizzo [www.agilent.com](http://www.agilent.com).

Le colonne StableBond 300Å sono disponibili per la separazione di proteine e di peptidi. Si rimanda alla pag. 26 per le descrizioni e i dati di ordinazione.

**Specifiche per le colonne ZORBAX StableBond**

Fase	Misura pori	Area superficiale	Limiti di temp.*	Intervallo pH*	Endcapping	Carico di C
ZORBAX SB-C18	80Å	180 m <sup>2</sup> /g	90°C	1,0 – 8,0	No	10%
ZORBAX SB-C8	80Å	180 m <sup>2</sup> /g	80°C	1,0 – 8,0	No	5,5%
ZORBAX SB-C3	80Å	180 m <sup>2</sup> /g	80°C	1,0 – 8,0	No	4,0%
ZORBAX SB-CN	80Å	180 m <sup>2</sup> /g	80°C	1,0 – 8,0	No	4,0%
ZORBAX SB-Phenyl	80Å	180 m <sup>2</sup> /g	80°C	1,0 – 8,0	No	5,5%
ZORBAX SB-Aq	80Å	180 m <sup>2</sup> /g	80°C	1,0 – 8,0	No	esclusivo

\* Le colonne StableBond sono progettate per un uso ottimale a pH basso. A pH 6-8 si può ottenere la massima stabilità della colonna per tutte le colonne a base silicea operando a temperature <40°C e utilizzando basse concentrazioni di tampone nell'intervallo 0,01-0,02 M. A pH intermedio sono consigliate le colonne Eclipse XDB e Bonus-RP.

**Per ordini o assistenza rivolgetevi ad Agilent Technologies  
o al rivenditore autorizzato Agilent della tua zona.**



# Colonne ZORBAX per la Chimica Analitica

## Colonne per HPLC ZORBAX Rx

- Le colonne Rx-C18 sono consigliate per una selettività alternativa, a pH basso, rispetto alle StableBond SB-C18 (per temperature elevate si consigliano le StableBond). Queste colonne presentano un carico di carbonio maggiore rispetto alle SB-C18 (12% vs. 10%).
- Le colonne Rx-C18 offrono elevata stabilità e buona simmetria dei picchi per applicazioni a pH basso.
- Le colonne Rx-C18 sono prodotte con dimetil-octadecilsilano e senza endcapping e presentano un'ottima stabilità fino a pH 9.

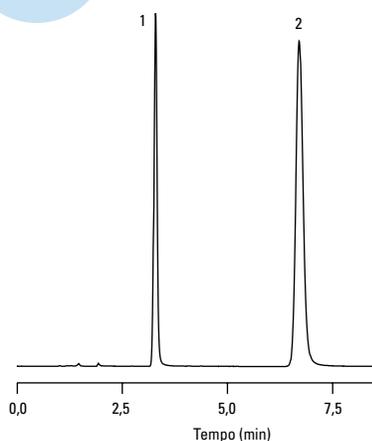
Colonna consigliata	Intervallo di pH per la durata ottimale della colonna												
ZORBAX Rx-C18	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

- La Rx-C8 è equivalente alla SB-C8.

Colonna consigliata	Intervallo di pH per la durata ottimale della colonna												
ZORBAX Rx-C8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13



FIGURA 1  
Analisi del Diazepam con Rx-C18



Colonna: **ZORBAX Rx-C18**  
3,0 x 250 mm, 5 µm  
(Codice Agilent 880967-302)

Fase mobile: 35% H<sub>2</sub>O  
65% MeOH

Flusso: 0,5 ml/min

Campione: 1. Etilparaben  
2. Diazepam

Per questa analisi USP del diazepam viene utilizzata una colonna Rx-C18 ed etilparaben come standard interno. La colonna Rx-C18 solvent Saver con d.i. 3,0 mm riduce l'impiego di solvente del 60% rispetto alla quantità che sarebbe necessaria per eseguire la stessa analisi con una colonna da 4,6 x 250 mm.

### Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX Rx

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	Rx-C18	Rx-C8
<b>Colonne standard</b>				
Preparativa	21,2 x 250	7	880967-102	880967-106
Semipreparativa	9,4 x 250	5	880967-202	880967-201
Analitica	4,6 x 250	5	880967-902	880967-901
Analitica	4,6 x 150	5	883967-902	883967-901
Rapid Resolution	4,6 x 150	3,5	863967-902	863953-906
Rapid Resolution	4,6 x 75	3,5	866967-902	866953-906
Solvent Saver	3,0 x 250	5	880967-302	880975-306
Solvent Saver	3,0 x 150	5	883967-302	883975-306
Narrow Bore	2,1 x 150	5	883700-902	883700-906
Impaccamento, 2 grammi		5		820966-906
Precolonna a cartuccia impaccata con Rx/SB-C8, 2/conf.	9,4 x 15	7	820675-115	820675-115
Precolonna a cartuccia, 4/conf.	4,6 x 12,5	5	820950-914	820950-913
Precolonna a cartuccia impaccata con Eclipse XDB-C8, 4/conf.	2,1 x 12,5	5	821125-926	821125-926
Kit hardware per precolonna	9,4 x 15		840140-901	840140-901
Kit hardware per precolonna	4,6 x 12,5		820777-901	820777-901
Kit hardware per precolonna	2,1 x 12,5		820777-901	820777-901

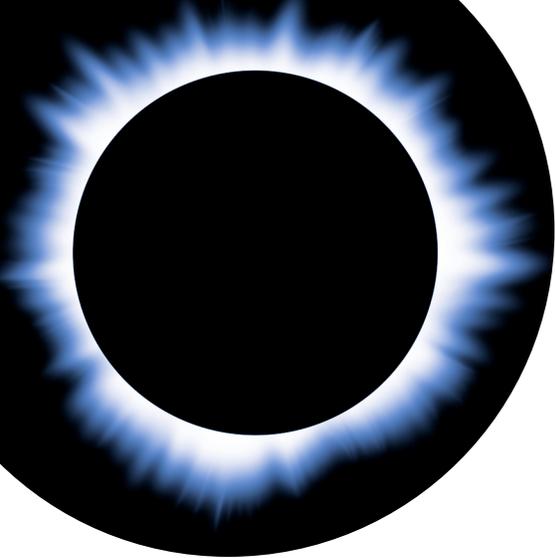
NOTA: La Rx-C8 è equivalente alla StableBond SB-C8

Sono disponibili su richiesta configurazioni non in elenco. Per ulteriori informazioni su queste ed altre colonne consultate il sito Agilent all'indirizzo [www.agilent.com](http://www.agilent.com).

**Per ordini o assistenza rivolgetevi ad Agilent Technologies o al rivenditore autorizzato Agilent della tua zona.**

### Specifiche per le colonne ZORBAX Rx

Fase	Misura pori	Area Superficiale	Limiti di temp.	Intervallo pH	Endcapping	Carico di C
ZORBAX Rx-C18	80Å	180 m <sup>2</sup> /g	60°C	2,0 – 9,0	No	12%
ZORBAX Rx-C8	80Å	180 m <sup>2</sup> /g	80°C	1,0 – 8,0	No	5,5%



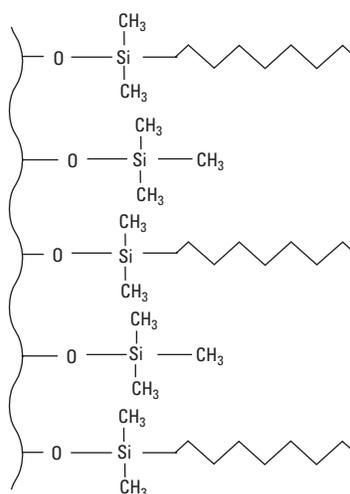
# Colonne ZORBAX per la Chimica Analitica

## Colonne per HPLC ZORBAX Eclipse XDB

- Eccellente simmetria dei picchi per composti acidi, basici e neutri
- Lunga durata a pH medio grazie all'elevata densità di legame e al doppio endcapping
- Ampio intervallo di pH (2 – 9)

Colonna consigliata	Intervallo di pH per la durata ottimale della colonna												
ZORBAX Eclipse XDB	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

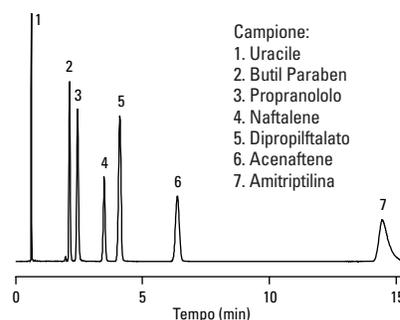
**FIGURA 1**  
Fase legata Eclipse XDB: elevata densità di legame e doppio endcapping



Le colonne ZORBAX Eclipse XDB Agilent (C18, C8 e Phenyl) sono progettate per assicurare un buon profilo dei picchi per i composti basici a pH medio. In questa regione di pH i residui silanolic sono più attivi e le interazioni possono provocare lo scodamento dei picchi. Per evitare tali interazioni, le colonne Eclipse XDB, grazie ad un procedimento esclusivo, presentano una elevata densità di legame e un doppio endcapping, per proteggere il maggior numero possibile di silanoli attivi. La durata della colonna a pH medio è aumentata dalla densità del legame e dalla scelta della silice Rx-SIL a parete spessa come supporto, che resiste alla dissoluzione in questa regione di pH. Come risultato, le colonne Eclipse XDB possono essere utilizzate per valori di pH da 2 a 9, con una durata ottimale nell'intervallo da 3 a 8. Le colonne Eclipse XDB forniscono inoltre una selettività alternativa rispetto alle StableBond, alle Bonus-RP e alle Extend-C18.

*Il doppio endcapping, la densità di legame e la resistenza delle particelle Rx-SIL (tipo sol) si combinano per assicurare lunga durata della colonna a pH 7, rispetto a quella delle colonne sil-gel con singolo endcapping, come le colonne Waters Symmetry C8 utilizzate in questo esempio. Le condizioni di temperatura e concentrazione salina elevate usate per il test (60°C e 250 mM) accelerano la dissoluzione della silice di tipo sil-gel.*

**FIGURA 3**  
ZORBAX Eclipse XDB a pH medio: buona simmetria dei picchi per composti acidi, basici e neutri



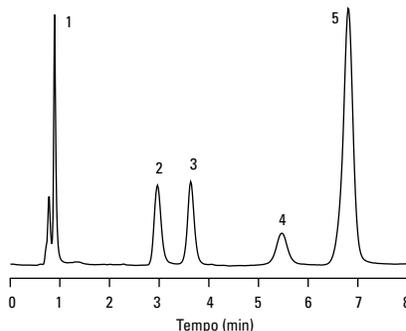
Campione:  
1. Uracile  
2. Butil Paraben  
3. Propranololo  
4. Naftalene  
5. Dipropilftalato  
6. Acenaftene  
7. Amitriptilina

Colonna: **ZORBAX Rapid Resolution Eclipse XDB-C8**  
4,6 x 75 mm, 3,5 µm  
(Codice Agilent 966967-906)  
Fase mobile: 35% NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 20 mM, pH 7,0  
65% MeOH  
Flusso: 1,0 ml/min  
Temperatura: 35°C  
Rivelazione: UV 254 nm

*A pH medio i residui silanolic possono reagire con maggiore forza con gli analiti e questo genera asimmetria dei picchi. Le colonne Eclipse XDB assicurano simmetria in questa regione di pH.*

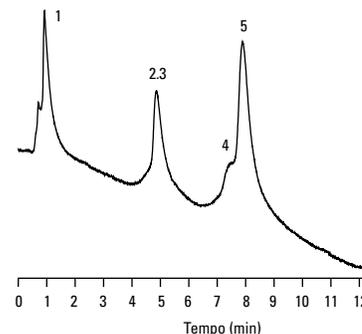
**FIGURA 2**  
Verifica della stabilità della colonna

**Eclipse XDB-C8**  
Tipo sol  
Dopo 1843 volumi di colonna



Colonna: 4,6 x 150 mm, 5µm  
Fase mobile: 60% ACN  
40% tampone fosfato 25 mM, pH 7,0  
Flusso: 1,5 ml/min  
Temperatura: 60°C

**Waters Symmetry C8**  
Tipo SIL  
Dopo 1826 volumi di colonna



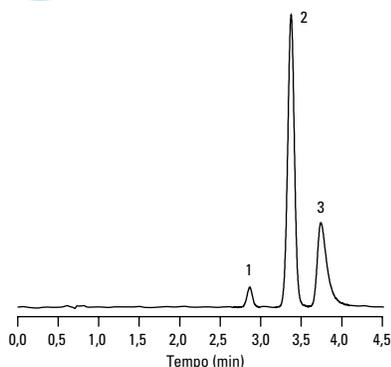
Campione: Antidepressivo triciclico  
1. Uracile  
2. Nortriptilina  
3. Doxepina  
4. Amitriptilina  
5. Trimipramina

Specifiche per le colonne ZORBAX Eclipse XDB

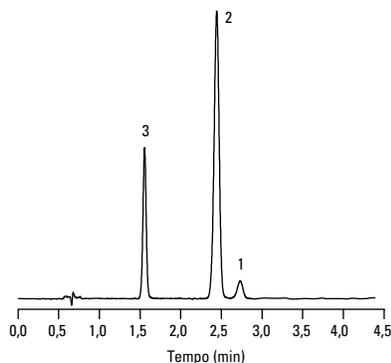
Fase	Misura pori	Area superficiale	Limiti di temp.	Intervallo pH	Endcapping	Carico di C
ZORBAX Eclipse XDB-C18	80Å	180 m <sup>2</sup> /g	60°C	2,0 – 9,0	Doppio	10%
ZORBAX Eclipse XDB-C8	80Å	180 m <sup>2</sup> /g	60°C	2,0 – 9,0	Doppio	7,6%
ZORBAX Eclipse XDB-Phenyl	80Å	180 m <sup>2</sup> /g	60°C	2,0 – 9,0	Doppio	7,2%

FIGURA 4

Modifiche di selettività per composti basici fra le Eclipse XDB e le StableBond



Eclipse XDB-C8 a doppio endcapping  
(Codice Agilent 966967-906)



Colonna: **Rapid Resolution**  
4,6 x 75 mm, 3,5 µm  
Fase mobile: 70% NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 25 mM, pH 3,0  
30% Metanolo  
Flusso: 1,0 ml/min  
Temperatura: 35°C  
Campione: 1. Barbitale  
2. Sulfametossazolo  
3. Caffaina

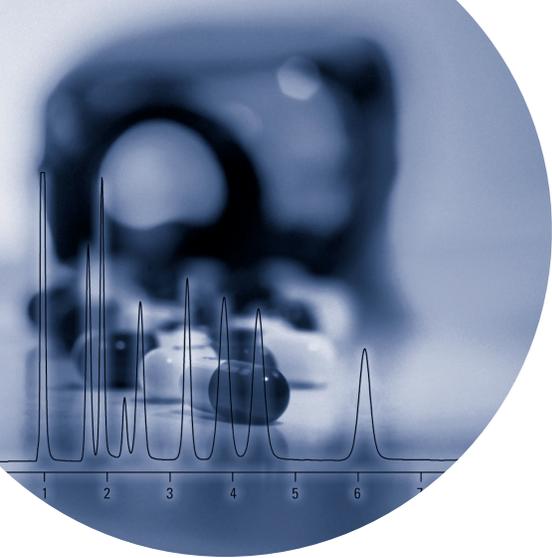
Le colonne Eclipse XDB e StableBond sono basate sulla stessa silice, ma presentano legami ed endcapping differenti. Esse possono quindi mostrare una selettività molto diversa nei confronti dello stesso campione come evidenziato nell'esempio.

Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX Eclipse XDB

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	XDB-C18 USP L1	XDB-C8 USP L7	XDB-Phenyl USP L11
<b>Colonne standard e impaccamenti</b>					
Semipreparativa	9,4 x 250	5	990967-202	990967-206	
Analitica	4,6 x 250	5	990967-902	990967-906	990967-912
Analitica	4,6 x 150	5	993967-902	993967-906	993967-912
Analitica	4,6 x 50	5	946975-902	946975-906	
Rapid Resolution	4,6 x 150	3,5	963967-902	963967-906	963967-912
Rapid Resolution	4,6 x 75	3,5	966967-902	966967-906	966967-912
Rapid Resolution	4,6 x 50	3,5	935967-902	935967-906	935967-912
Solvent Saver	3,0 x 250	5	990967-302	990967-306	990967-312
Solvent Saver	3,0 x 150	5	993967-302	993967-306	993967-312
Solvent Saver Plus	3,0 x 150	3,5	963954-302	963954-306	963954-312
Narrow Bore	2,1 x 150	5	993700-902	993700-906	993700-912
Narrow Bore	2,1 x 50	5	960967-902	960967-906	960967-912
Narrow Bore RR*	2,1 x 150	3,5	930990-902	930990-906	
Narrow Bore RR	2,1 x 50	3,5	971700-902	971700-906	
MicroBore RR	1,0 x 150	3,5	963600-902	963600-906	
MicroBore RR	1,0 x 50	3,5	965600-902	965600-906	
MicroBore RR	1,0 x 30	3,5	961600-902	961600-906	
Impaccamento, 2 grammi		5	920966-902		
Precolonna a cartuccia, 4/conf.	4,6 x 12,5	5	820950-925	820950-926	820950-927
Precolonna a cartuccia, 4/conf.	2,1 x 12,5	5	821125-926	821125-926	821125-926
Kit hardware per precolonna			820777-901	820777-901	820777-901
<b>Colonne a cartuccia Agilent</b>					
Analitica	4,6 x 250	5	7995118-585	7995108-585	
Analitica	4,6 x 150	5	7995118-595	7995108-595	
Rapid Resolution	4,6 x 75	3,5	7995118-344	7995108-344	
Solvent Saver	3,0 x 75	3,5	7995230-344		
Precolonna a cartuccia, 10/conf.	4,0 x 4	5	7995118-504	7995118-504	
Supporto cartuccia			5021-1845	5021-1845	
<b>Colonne a cartuccia High-Throughput (richiedono il Kit hardware 820222-901)</b>					
Rapid Resolution, cartuccia	4,6 x 30	3,5	933975-902	933975-906	
Rapid Resolution, cartuccia, 3/conf.	4,6 x 30	3,5	933975-932	933975-936	
Rapid Resolution, cartuccia	4,6 x 15	3,5	931975-902	931975-906	
Rapid Resolution, cartuccia, 3/conf.	4,6 x 15	3,5	931975-932	931975-936	
Rapid Resolution, cartuccia	2,1 x 30	3,5	973700-902	973700-906	
Rapid Resolution, cartuccia, 3/conf.	2,1 x 30	3,5	973700-932	973700-936	
Rapid Resolution, cartuccia	2,1 x 15	3,5	975700-902	975700-906	
Rapid Resolution, cartuccia, 3/conf.	2,1 x 15	3,5	975700-932	975700-936	
Kit hardware per colonne a cartuccia a elevata produttività			820222-901	820222-901	
<b>Colonne CombiHT (richiedono i raccordi terminali)</b>					
CombiHT	21,2 x 150	5	970150-902	970150-906	
CombiHT	21,2 x 100	5	970100-902	970100-906	
CombiHT	21,2 x 50	5	970050-902	970050-906	
Raccordi terminali per CombiHT (2, richiesti per l'utilizzo)			820400-901	820400-901	
<b>Colonne capillari con interno in vetro</b>					
Capillare	0,5 x 250	5	5064-8286		
Capillare	0,5 x 150	5	5064-8287		
Capillare RR	0,5 x 150	3,5	5064-8288		
Capillare RR	0,5 x 35	3,5	5064-8298		
Capillare	0,3 x 250	5	5064-8269		
Capillare	0,3 x 150	5	5064-8291		
Capillare RR	0,3 x 150	3,5	5064-8271		
Precolonna a cartuccia	0,5 x 35	5	5064-8296		
Precolonna a cartuccia	0,3 x 35	5	5064-8297		

\*RR: colonne Rapid Resolution da 3,5 µm.

Sono disponibili su richiesta configurazioni non in elenco. Per ulteriori informazioni su queste ed altre colonne consultate il sito Agilent all'indirizzo [www.agilent.com](http://www.agilent.com).



# Colonne ZORBAX per la Chimica Analitica

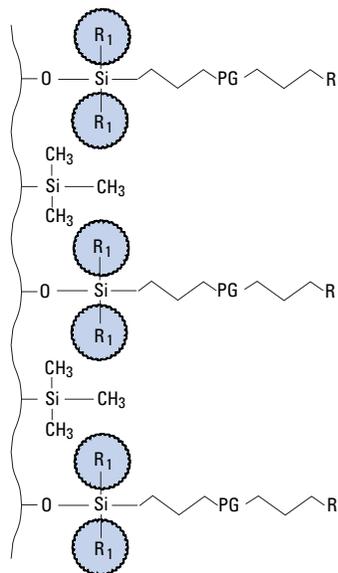
## Colonne per HPLC ZORBAX Bonus-RP

- Eccellente simmetria dei picchi per composti basici critici a pH intermedio o alto
- Esclusiva selettività in fase inversa
- Innovativa tecnologia di legame con gruppi polari incorporati e protezione sterica
- Utilizzabili in fasi mobili 100% acquose

Colonna consigliata	Intervallo di pH per la durata ottimale della colonna												
ZORBAX Bonus-RP	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

Nelle colonne ZORBAX Bonus-RP Agilent un gruppo ammidico polare è incorporato nella catena alchilica lunga. Questo innovativo legame riduce le interazioni fra i composti basici e la silice di supporto, migliorando la simmetria dei picchi anche per i composti basici più critici. La simmetria dei picchi e la durata della colonna sono ulteriormente migliorate grazie al triplo endcapping. Inoltre, i gruppi laterali isopropilici assicurano protezione sterica dall'idrolisi, per aumentare la durata a basso pH. Le colonne Bonus-RP offrono una selettività alternativa a quella delle fasi legate alchiliche C18 e C8.

**FIGURA 1**  
Fase legata alchilica polare esclusiva Bonus-RP



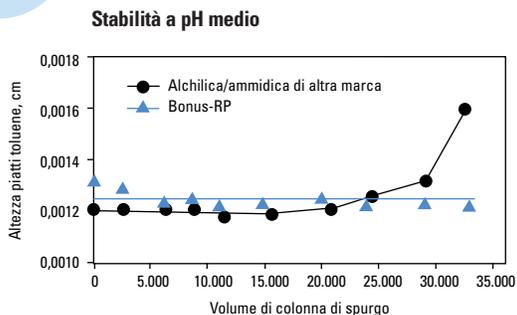
Triplo endcapping

PG = gruppo ammidico polare

R<sub>1</sub> = gruppo isopropilico (protezione sterica)

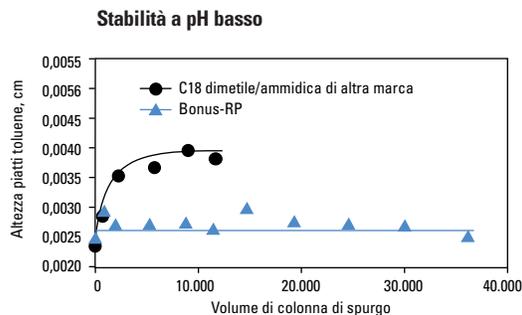
R = catena alchilica C14

**FIGURA 2**  
La ZORBAX Bonus-RP è stabile a pH medio e basso



Colonna: 4,6 x 150 mm  
Fase mobile: 60% tampone fosfato 25 mM, pH 7,0, 40% ACN  
Flusso: 1,5 ml/min  
Temperatura: 23°C

*Il triplo endcapping della Bonus-RP aumenta la stabilità a pH 7. 10.000 volumi di colonna corrispondono a circa 1 mese di uso.*



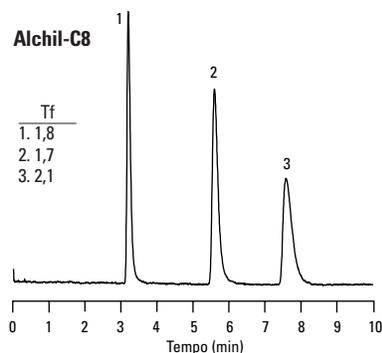
Colonna: 4,6 x 150 mm  
Fase mobile invecchiamento: 50% MeOH, 50% 0,1% TFA  
Flusso: 1,0 ml/min  
Temperatura: 60°C  
Fase mobile Test: 80% MeOH, 20% H<sub>2</sub>O  
Flusso: 1,0 ml/min  
Temperatura: 23°C

*I gruppi laterali a protezione sterica assicurano una buona stabilità a pH basso e una durata della colonna maggiore rispetto alle fasi alchiliche polari simili.*

### Specifiche per le colonne ZORBAX Bonus-RP

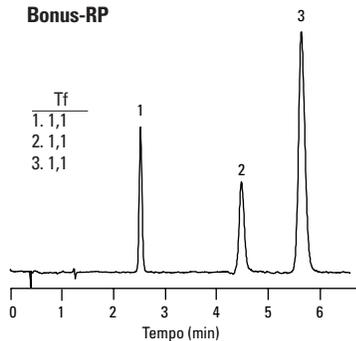
Fase	Misura pori	Area superficiale	Limiti di temp.	Intervallo pH	Endcapping	Carico di C
ZORBAX Bonus-RP	80Å	180 m <sup>2</sup> /g	60°C	2,0 – 9,0	Triplo	9,5%

**FIGURA 3**  
Miglioramento nella simmetria dei picchi di composti basici usando una colonna Bonus-RP



Colonna: 4,6 x 150 mm, 5 µm  
 Fase mobile: 75% NH<sub>4</sub>OAc 25 mM, pH 5,5  
 25% ACN  
 Flusso: 1,5 ml/min  
 Temperatura: 40°C  
 Rivelazione: 254 nm  
 Campione: 1. Doxilamina  
 2. Clorfeniramina  
 3. Triprolidina

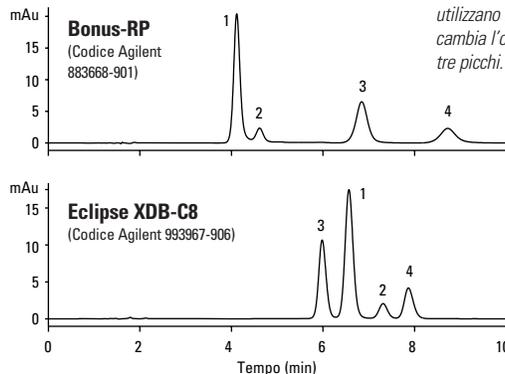
**Bonus-RP**



Colonna: 4,6 x 150 mm, 5 µm  
 (Codice Agilent 883668-901)  
 Fase mobile: 80% NH<sub>4</sub> OAc 25 mM, pH 5,5  
 20% ACN  
 Flusso: 1,5 ml/min  
 Temperatura: 40°C  
 Rivelazione: 254 nm  
 Campione: 1. Doxilamina  
 2. Clorfeniramina  
 3. Triprolidina

La Bonus-RP elimina lo scodamento dei picchi di questi composti basici rispetto a una tipica fase legata alchilica C8. Nella regione di pH medio i residui silanolicci possono interagire con maggiore forza con i composti basici, causando lo scodamento dei picchi. Il gruppo polare presente nelle catene della fase legata Bonus-RP elimina tale fenomeno, riducendo le interazioni con i silanoli residui.

**FIGURA 4**  
Le ZORBAX Bonus-RP assicurano una selettività esclusiva



L'ordine di eluizione dei picchi può cambiare drasticamente quando si utilizzano le Bonus-RP. Nell'esempio, cambia l'ordine di eluizione dei primi tre picchi.

Colonna: 4,6 x 150 mm  
 Fase mobile: 75% Na citrato 25 mM, pH 6  
 25% MeOH  
 Flusso: 1,0 ml/min  
 Temperatura: ambiente  
 Rivelazione: 254 nm  
 Volume iniezione: 3 µl  
 Campione: Cefalosporine  
 1. Cefalexina  
 2. Cefaclor  
 3. Cefuroxima  
 4. Cefoxitina

**Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX Bonus-RP**

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	Codice
Analitica	4,6 x 250	5	880668-901
Analitica	4,6 x 150	5	883668-901
Rapid Resolution	4,6 x 150	3,5	863668-901
Rapid Resolution	4,6 x 75	3,5	866668-901
Narrow Bore	2,1 x 150	5	883725-901
Narrow Bore	2,1 x 50	5	861971-901
Rapid Resolution	2,1 x 50	3,5	861700-901
MicroBore RR*	1,0 x 150	3,5	863608-901
MicroBore RR	1,0 x 50	3,5	865608-901
MicroBore RR	1,0 x 30	3,5	861608-901
Precolonna a cartuccia, 4/conf.	4,6 x 12,5	5	820950-928
Precolonna a cartuccia, 4/conf.	2,1 x 12,5	5	821125-928
Kit hardware per precolonna			820777-901

\*RR: colonne Rapid Resolution da 3,5 µm.

Sono disponibili su richiesta configurazioni non in elenco. Per ulteriori informazioni su queste ed altre colonne consultate il sito Agilent all'indirizzo [www.agilent.com](http://www.agilent.com).

**Per ordini o assistenza rivolgetevi ad Agilent Technologies o al rivenditore autorizzato Agilent della tua zona.**



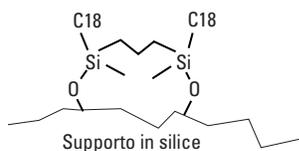
# Colonne ZORBAX per la Chimica Analitica

## Colonne per HPLC ZORBAX Extend-C18

- Efficienza elevata e lunga durata a pH alto, sino a 11,5
- L'esclusivo legame bidentato e il doppio endcapping assicurano stabilità a pH alto
- Maggiore efficienza e migliore simmetria dei picchi rispetto alle colonne a base polimerica
- Ritenzione, risoluzione e simmetria migliori per i composti basici
- Sensibilità elevata nelle separazioni LC/MS dei peptidi

Colonna consigliata	Intervallo di pH per la durata ottimale della colonna												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
ZORBAX Extend-C18	[Bar chart showing optimal pH range from 2 to 11.5]												

**FIGURA 1**  
Nuova struttura bidentata C18-C18 della fase legata Extend-C18

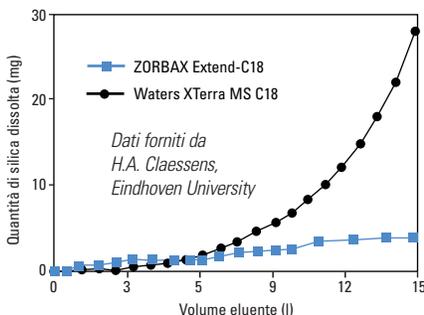


L'esclusiva struttura bidentata ed il doppio endcapping offrono lunga durata a valori di pH elevati.

Le colonne ZORBAX Extend-C18 Agilent utilizzano una nuova tecnologia di legame bidentato C18-C18 per rendere accessibili con una colonna a base di silice le separazioni ad elevato pH. Nella regione di pH alto i composti basici non carichi non interagiscono con la silice, quindi è possibile effettuare separazioni con elevata efficienza, maggiore simmetria e migliore risoluzione. Le separazioni condotte in queste condizioni di pH sono inoltre la scelta migliore per composti che sono più stabili o più solubili in soluzioni a pH elevato. Fra i tamponi adatti a pH alto vi sono la trietilammina, la pirrolidina, la glicina, il borato e l'idrossido di ammonio. Quest'ultimo a pH 10,5 è un'eccellente tampone per l'analisi LC/MS di peptidi e molecole piccole, con miglioramento della sensibilità rispetto alle analisi condotte utilizzando TFA con fasi mobili a pH basso. La colonna Extend-C18 si presenta stabile a valori di pH compresi fra 2 e 11,5, con buon profilo di picco in tutti i tipi di composti. Le colonne Extend-C18 costituiscono inoltre un'ulteriore possibilità per la scelta della selettività a pH basso.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Kirkland, J.J., J.B. Adams, Jr., M.A. van Straten e H.A. Claessens, (1998) Analytical Chemistry, 70, 4344-4352.

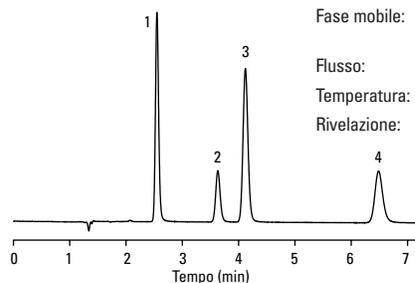
**FIGURA 2**  
Lunga durata a pH elevato delle Extend-C18



Colonna: **ZORBAX Extend-C18**  
4,6 x 150 mm  
Fase mobile: 20% metanolo, 80% tampone carbonato 0,1 M, pH 10,0  
Flusso: 1,0 ml/min  
Temperatura: ambiente

A pH elevato le colonne non sono più efficaci a causa della dissoluzione della silice. L'esempio qui a fianco mostra la maggiore durata a pH elevato delle ZORBAX Extend-C18 rispetto alle Waters XTerra MS C18, calcolata in base al grado di dissoluzione della silice.

**FIGURA 3**  
Buona simmetria dei picchi a pH basso con Extend-C18



Colonna: **ZORBAX Extend-C18**  
4,6 x 150 mm, 5µm  
(Codice Agilent 773450-902)

Fase mobile: 80% NaH<sub>2</sub>PO 25 mM, pH 3,0  
20% metanolo

Flusso: 1,0 ml/min

Temperatura: 35°C

Rivelazione: UV 254 nm

Campione:  
1. Teobromina  
2. Dimetilxantina  
3. Teofillina  
4. Caffaina

Questi composti basici vengono separati nella Extend-C18 a pH basso con eccellente simmetria dei picchi. Le colonne Extend-C18 possono essere utilizzate sia a pH alto che a pH basso.

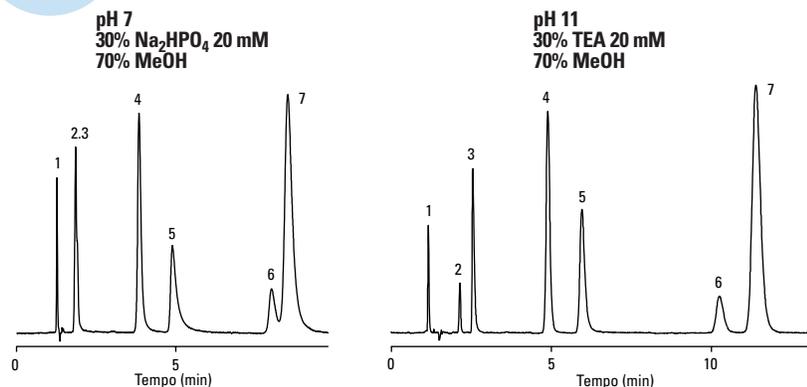
Vedi la sezione 300Extend-C18 a pag. 28 per ulteriori esempi.

### Specifiche per le colonne ZORBAX Extend-C18

Fase	Misura pori	Area superficiale	Limiti di temp.	Intervallo pH	Endcapping	Carico di C
ZORBAX Extend-C18	80Å	180 m <sup>2</sup> /g	60°C*	2,0 – 11,5	Doppio	12,5%

\*I limiti di temperatura sono: 60°C sino a pH 8, 40°C per l'intervallo di pH 8 – 11,5.

**FIGURA 4**  
Miglioramento della ritenzione, della risoluzione e della simmetria dei picchi per antistaminici basici con colonna ZORBAX Extend-C18 a pH elevato



La pseudoefedrina e la scopolamina sono difficili da ritenere a pH basso e medio. La pseudoefedrina viene spesso analizzata con metodiche a scambio ionico. La colonna Extend-C18 ritiene questi composti in forma non carica a pH alto e migliora la risoluzione.

Colonna: **ZORBAX Extend-C18**  
4,6 x 150 mm, 5 µm  
(Codice Agilent 773450-902)

Fase mobile: vedi fig.  
Flusso: 1,0 ml/min  
Temperatura: ambiente  
Rivelazione: 254 nm

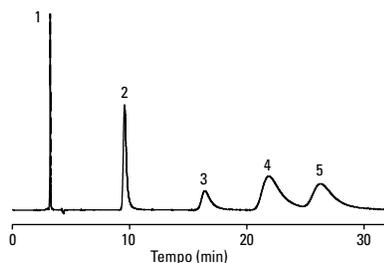
Campione:

1. Maleato	<b>pKa</b>
2. Scopolamina	7,6
3. Pseudoefedrina	9,8
4. Doxilamina	9,2
5. Clorfeniramina	9,1
6. Triprolidina	6,5
7. Difendramina	9,0

**FIGURA 5**  
Efficienza di separazione elevata per composti basici a pH alto con colonna Extend-C18

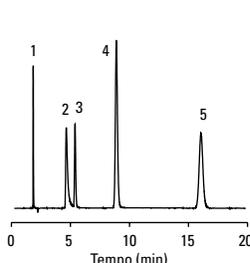
Colonna a base polimerica,  
4,0 x 250 mm, 5 µm

Flusso: 0,5 ml/min  
Pressione: 142 bar



Extend-C18, 4,6 x 250 mm, 5 µm  
(Codice Agilent 770450-902)

Flusso: 1,0 ml/min  
Pressione: 213 bar



Fase mobile: 65% TEA 20 mM, pH 11  
35% MeOH

Temperatura: ambiente  
Rivelazione: UV 254 nm

Campione:  
1. Piridossina  
2. Piridina  
3. N-metilbenzilammina  
4. Procaïnammide  
5. N-acetilprocaïnammide

La colonna Extend-C18, a base silicea, assicura una maggiore efficienza, un migliore profilo di picco ed analisi più veloci a pH elevato rispetto alle prestazioni delle fasi legate a base polimerica. Nella colonna polimerica è stato necessario impiegare un flusso inferiore a causa del limite di pressione di 180 bar.

Per ordini o assistenza rivolgetevi ad Agilent Technologies o al rivenditore autorizzato Agilent della tua zona.

**Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX Extend-C18**

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	Codice
Analitica	4,6 x 250	5	770450-902
Analitica	4,6 x 150	5	773450-902
Analitica	4,6 x 50	5	746450-902
Rapid Resolution	4,6 x 150	3,5	763953-902
Rapid Resolution	4,6 x 75	3,5	766953-902
Rapid Resolution	4,6 x 50	3,5	735953-902
Narrow Bore	2,1 x 150	5	773700-902
Narrow Bore	2,1 x 50	5	760450-902
Narrow Bore RR*	2,1 x 50	3,5	735700-902
MicroBore RR	1,0 x 150	3,5	763600-902
MicroBore RR	1,0 x 50	3,5	765600-902
MicroBore RR	1,0 x 30	3,5	761600-902
Impaccamento, 2 grammi		5	820966-402
Precolonna a cartuccia, 4/conf.	4,6 x 12,5	5	820950-930
Precolonna a cartuccia, 4/conf.	2,1 x 12,5	5	821125-930
Kit hardware per precolonna			820777-901

\*RR: colonne Rapid Resolution da 3,5 µm.

Sono disponibili su richiesta configurazioni non in elenco.

Sono inoltre disponibili colonne Extend-C18 300Å per la separazione dei peptidi.

Si rimanda alla pag. 28 per le descrizioni e i dati di ordinazione.

# Altre colonne analitiche ZORBAX per HPLC

Di seguito sono elencati i numeri di codice di ulteriori colonne analitiche ZORBAX. Per maggiori informazioni consulta il catalogo Colonne e prodotti di consumo Agilent 2000/2001 o visita il sito web all'indirizzo [www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem).

- Kit ZORBAX per la validazione del metodo
- Kit ZORBAX per lo sviluppo del metodo
- Colonne ZORBAX Original
- Colonne ZORBAX per fase normale

## Kit ZORBAX per la validazione del metodo

I Kit ZORBAX per la validazione del metodo sono rivolti a coloro che hanno bisogno di utilizzare colonne per HPLC dello stesso tipo (fase, misura particelle, configurazione) ma provenienti da lotti differenti. Per richiedere colonne da lotti differenti, contatta Agilent Technologies o il distributore autorizzato di zona utilizzando la seguente procedura.

1. Richiedi il Kit di validazione (colonne da lotti differenti) utilizzando il codice 899999-888.
2. Indica il codice della colonna che stai utilizzando attualmente.
3. Indica il numero di lotto della colonna che stai utilizzando attualmente.
4. Indica la quantità di ulteriori colonne da lotti differenti che ti sono necessarie (ad esempio, hai una colonna di un certo tipo e te ne servono altre due da lotti differenti).
5. Ti verrà comunicato un numero di quotazione per prodotto speciale (Special Products Quote, SPQ), il prezzo e la data di spedizione per il tuo ordine. Il processo può durare 1 – 2 giorni lavorativi e la spedizione avviene solitamente entro 1 – 3 settimane dall'ordine, secondo disponibilità.

## Kit ZORBAX per lo sviluppo del metodo

Descrizione	Codice Agilent
<b>Kit StableBond Traditional:</b> comprende 3 colonne 4,6 x 150 mm, impaccate con SB-C18, 5 µm, SB-CN, 5 µm e SB-Phenyl, 5 µm	5183-4624
<b>Kit StableBond Fast:</b> comprende 3 colonne 4,6 x 75 mm, impaccate con SB-C18, 3,5 µm, SB-CN, 3,5 µm e SB-Phenyl, 3,5 µm	5183-4625
<b>Kit Eclipse XDB Traditional:</b> comprende 3 colonne 4,6 x 150 mm, impaccate con XDB-C18, 5 µm, XDB-C8, 5 µm e XDB-Phenyl, 5 µm	5183-4626
<b>Kit Eclipse XDB Fast:</b> comprende 3 colonne 4,6 x 75 mm, impaccate con XDB-C18, 3,5 µm, XDB-C8, 5 µm e XDB-Phenyl, 3,5 µm	5183-4627

## Informazioni per l'ordine delle colonne ZORBAX Original\*

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	ODS (C18) USP L1	C8 USP L7	Phenyl USP L11	CN USP L10	TMS USP L13
<b>Colonne standard</b>							
Preparativa	21,2 x 250	7	880952-102	880952-106		880952-105	
Semipreparativa	9,4 x 250	5	880952-202	880952-206	880952-212	880952-205	
Analitica (con endcapping)	4,6 x 250	5	880952-702	880952-706	880952-712	884950-507	880952-710
Analitica (senza endcapping)	4,6 x 250	5	884950-543				
Analitica	4,6 x 150	5	883952-702	883952-706	883952-712	884950-526	883952-710
Solvent Saver	3,0 x 250	5	880952-302				
Solvent Saver	3,0 x 150	5	883952-302				
Precolonna a cartucce, 2/conf.	9,4 x 15	7	820675-115	820675-115	820675-115	820675-124	
Precolonna a cartucce, 4/conf.	4,6 x 12,5	5	820950-902	820950-906	820950-912	820950-905	820950-905
Kit hardware per precolonna	9,4 x 15		840140-901	840140-901	840140-901	840140-901	840140-901
Kit hardware per precolonna	4,6 x 12,5		820777-901	820777-901	820777-901	820777-901	820777-901

Sono disponibili su richiesta configurazioni non in elenco.

## Informazioni per l'ordine delle colonne ZORBAX per fase normale

Descrizione Colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	Rx-SIL USP L3	SIL USP L3	CN USP L10	NH <sub>2</sub>	Analisi carboidrati
Preparativa	21,2 x 250	7	880975-101	880952-101	880952-105	880952-108	
Semipreparativa	9,4 x 250	5	880975-201	880952-201	880952-205	880952-208	
Analitica	4,6 x 250	5	880975-901	880952-701	880952-705	880952-708	840300-908
Analitica	4,6 x 150	5	883975-901	883952-701	883952-705	883952-708	843300-908
Narrow Bore	2,1 x 150	5	883700-901				
Precolonna a cartucce, 2/conf.	9,4 x 15	7	820675-119	820675-119	820675-111	820675-111	
Precolonna a cartucce, 4/conf.	4,6 x 12,5	5	820950-919	820950-901	820950-905	820950-908	820950-908
Precolonna a cartucce, 4/conf.	2,1 x 12,5	5	821125-919				
Kit hardware per precolonna	9,4 x 15		840140-901	840140-901	840140-901	840140-901	
Kit hardware per precolonna	4,6 x 12,5		820777-901	820777-901	820777-901	820777-901	820777-901
Kit hardware per precolonna	2,1 x 12,5		820777-901	820777-901	820777-901	820777-901	

Sono disponibili su richiesta configurazioni non in elenco.

# Colonne per HPLC High-Throughput

## Colonne ZORBAX CombiHT

### Colonne e cartucce ZORBAX per LC/MS

### Colonne ZORBAX Rapid Resolution



#### Per . . .

- Applicazioni LC/MS
- Applicazioni in Chimica Combinatoria
- Cromatografia veloce
- Tempi di analisi ridotti

Le colonne Agilent ZORBAX sono disponibili in numerose configurazioni – dalle Narrow Bore alle preparative – per velocizzare le tue analisi ed aumentare la produttività con la risoluzione di cui hai bisogno.

## Colonne per HPLC ZORBAX CombiHT

- Separazioni preparative veloci nell'intervallo 15 – 50 mg
- Tre diverse lunghezze di colonna: 50, 100, 150 mm
- Raccordi a chiusura manuale con tenuta sino a 483 bar

Le colonne preparative CombiHT sono progettate per convertire rapidamente separazioni analitiche adattandole a carichi di campione da 15 – 50 mg. Le colonne CombiHT utilizzano un impaccamento da 5 µm per una elevata efficienza e assicurano una conversione diretta da colonne analitiche da 50 – 150 mm. Queste colonne sono disponibili con raccordi riutilizzabili a chiusura manuale, che consentono di sostituire solo il corpo della colonna. Per permetterti di ottimizzare la selettività, le colonne CombiHT C8 e C18 sono disponibili nei due tipi di fasi legate ZORBAX più diffusi (StableBond per pH basso e Eclipse XDB per pH medio) ma possono essere impaccate su richiesta con qualsiasi fase ZORBAX.

#### Conversione del flusso

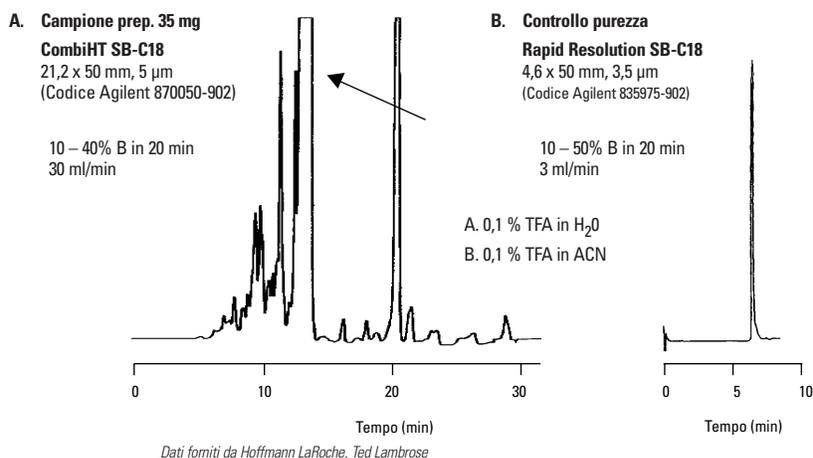
Per determinare il flusso ottimale per la colonna con d.i. 21,2 mm, usa la seguente equazione:

$$F_2 = F_1 \times (ID_2/ID_1)^2$$

Ad esempio,

d.i. 4,6 mm	d.i. 21,2 mm
0,5 ml/min	10,5 ml/min
1,0 ml/min	21 ml/min
1,5 ml/min	31,5 ml/min

FIGURA 1  
Preparativa in gradiente  
a produttività elevata



La colonna CombiHT è utilizzata per separare e isolare un composto di interesse, mentre la colonna analitica corrispondente conferma che il picco è stato isolato con elevata purezza.



## Colonne per HPLC a produttività elevata

### Colonne e colonne a cartuccia ZORBAX per HPLC e LC/MS

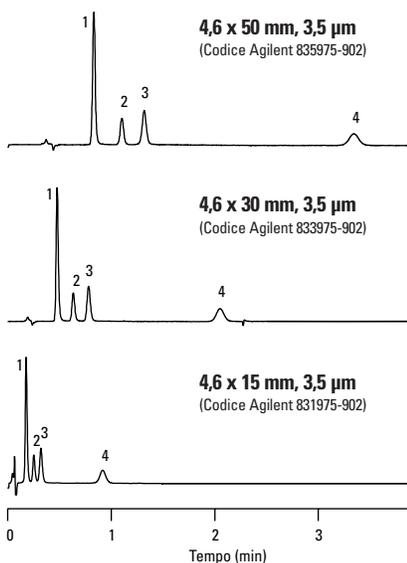
- Analisi rapide per LC/MS veloce con cartucce Rapid Resolution
- Colonne Narrow Bore e MicroBore per la massima sensibilità con la tecnica ESI (Electrospray Ionization)
- Misure aggiuntive per quantità maggiori di campione per APCI
- Ampia disponibilità di fase

La scelta di una colonna per LC/MS è determinata da tre semplici fattori: diametro interno della colonna, lunghezza della colonna e fase. Le colonne a cartuccia narrow-bore ultracorte ZORBAX Rapid Resolution (2,1 x 15 e 2,1 x 30 mm) risultano spesso le colonne preferite per le applicazioni LC/MS, in quanto offrono i tempi di analisi più brevi e una buona sensibilità per la rivelazione in ESI. Anche le ZORBAX corte narrow-bore (2,1 x 50 mm) e MicroBore (1,0 x 50 mm) sono una buona scelta, in quanto i flussi utilizzati (50 – 200 µl/min) offrono una maggiore risoluzione del campione mantenendo tempi di analisi molto brevi. Sono disponibili anche lunghezze maggiori per campioni molto complessi. Le cartucce da 15 e 30 mm con d.i. 4,6 mm e le colonne più lunghe offrono le stesse opzioni di risoluzione e costituiscono la scelta ideale per i rivelatori APCI che non richiedono una velocità di flusso ridotta.

Le fasi legate ZORBAX StableBond e Eclipse XDB-C18 e C8 sono disponibili in tutte le configurazioni. Inoltre, su richiesta, è possibile l'impaccamento con ulteriori fasi. Le colonne StableBond possiedono un'eccellente stabilità a pH basso e sono ideali per fasi mobili contenenti acido formico e TFA. Le fasi legate Eclipse XDB sono un'ottima scelta per le fasi mobili contenenti acido acetico, come pure per un rapido screening del composto in un ampio intervallo di pH.

FIGURA 2

L'impiego delle colonne a cartuccia corte per LC/MS riduce il tempo di analisi del 70%



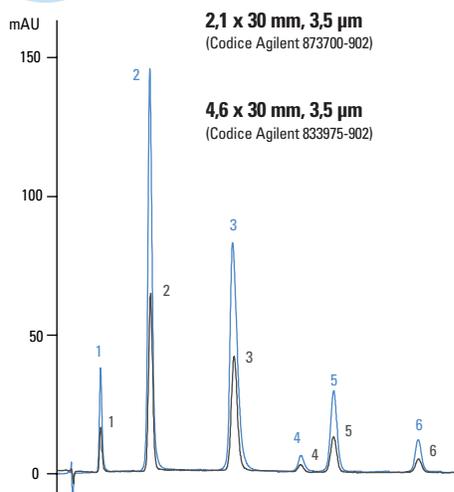
Colonna: **ZORBAX StableBond SB-C18**  
 Fase mobile: 85% acqua con 0,1% TFA  
 15% acetonitrile  
 Flusso: 1,0 ml/min  
 Temperatura: 35°C

Campione:  
 1. Fenilalanina  
 2. 5-benzil-3,6-diosso-2-piperazina  
 AcOH  
 3. Asp-phe  
 4. Aspartame

Per ordini o assistenza rivolgetevi ad Agilent Technologies o al rivenditore autorizzato Agilent della tua zona.

FIGURA 3

Massima sensibilità con le cartucce narrow-bore per LC/MS



Colonna: **Rapid Resolution SB-C18, 3,5 µm**  
 Fase mobile: gradiente: 5 – 35% B in 6 min  
 A: acqua con 0,2% acido formico  
 B: metanolo con 0,2% acido formico  
 Temperatura: 35°C  
 Campione: acidi organici 2 µl  
 1. Gallico  
 2. Protocatecurico  
 3. Idrocaffaico  
 4. Gentisico  
 5. Vanillico  
 6. Siringico

# Colonne per HPLC High-Throughput

## Colonne per HPLC ZORBAX Rapid Resolution 3,5 µm

- Riducono la durata dell'analisi e il consumo di solvente, aumentano il numero di campioni analizzati
- Efficienza elevata con lunghezze di colonna estremamente ridotte
- Disponibili in due diametri interni: 4,6 mm e 2,1 mm
- Durata paragonabile con quella delle colonne da 5 µm

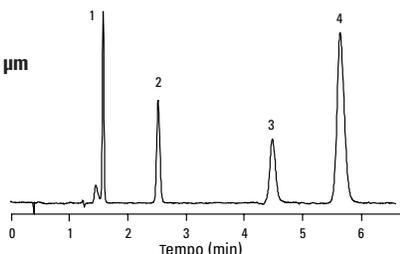


FIGURA 4

Le colonne Rapid Resolution riducono i tempi di analisi mantenendo inalterata la risoluzione

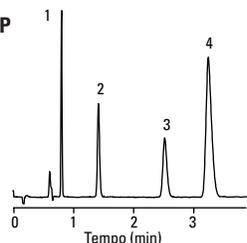
**Bonus-RP, 4,6 x 150 mm, 5 µm**  
(Codice Agilent 883668-901)

Flusso  
1,5 ml/min



**Rapid Resolution Bonus-RP  
4,6 x 75 mm, 3,5 µm**  
(Codice Agilent 866668-901)

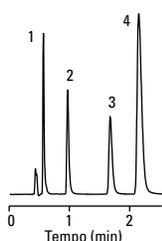
Flusso  
1,5 ml/min



Colonna: **ZORBAX Bonus-RP**  
Fase mobile: 80% NH<sub>4</sub>Ac 25 mM, pH 5,5  
20% ACN  
Temperatura: 40°C  
Rivelazione: 254 nm  
Campione: 1. Caffaina  
2. Doxilamina  
3. Clorfeniramina  
4. Triprolidina

**Rapid Resolution Bonus-RP  
Narrow Bore  
2,1 x 50 mm, 3,5 µm**  
(Codice Agilent 861700-901)

Flusso  
0,3 ml/min

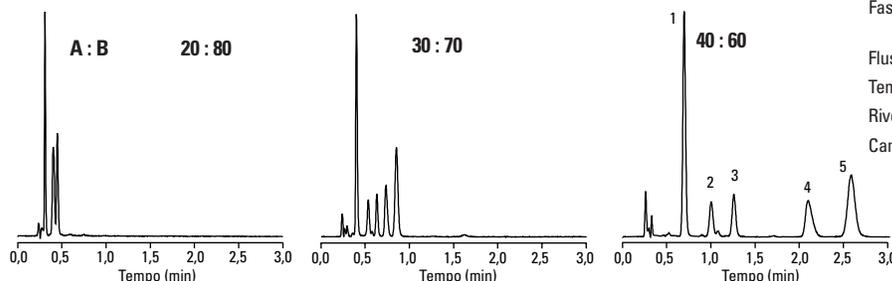


Le colonne Rapid Resolution da 3,5 µm sono disponibili in configurazione narrow-bore, per una maggiore compatibilità con la tecnica LC/MS.

Le colonne ZORBAX Rapid Resolution Agilent, con particelle da 3,5 µm, riducono i tempi di analisi e aumentano il numero di campioni analizzati rispetto alle colonne da 5 µm, per qualsiasi applicazione. Le colonne Rapid Resolution sono disponibili da 15 a 150 mm, sia con diametro interno da 4,6 mm che da 2,1 mm, quindi è possibile scegliere la configurazione migliore per applicazioni con elevata produttività, per LC/MS, per la chimica combinatoria e per le analisi veloci. Le particelle delle ZORBAX Rapid Resolution, grazie a una resistenza meccanica maggiore e a un letto di impaccamento estremamente stabile, assicurano una durata confrontabile con quella delle colonne da 5 µm. Le colonne ZORBAX Rapid Resolution sono disponibili in tutte le fasi legate ZORBAX: StableBond, Eclipse XDB, Bonus-RP e Extend-C18.

FIGURA 5

Cromatogrammi di analisi di sviluppo del metodo con colonne Rapid Resolution



Colonna: **ZORBAX StableBond SB-C18**  
4,6 x 75 mm, 3,5 µm  
(Codice Agilent 866953-902)  
Fase mobile: A: NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 25 mM, pH 3,0  
B. MeOH  
Flusso: 2,0 ml/min  
Temperatura: 35°C  
Rivelazione: UV 254 nm  
Campione: 1. Diltiazem  
2. Dipiridamolo  
3. Nifedipina  
4. Lidoflazina  
5. Flunarizina

Le colonne Rapid Resolution 4,6 x 75 mm sono una buona scelta per lo sviluppo iniziale del metodo, poiché consentono di determinare se una certa combinazione colonna-fase mobile può portare alla separazione desiderata.

# Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX High-Throughput

## Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX CombiHT

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7	Eclipse XDB-C18 USP L1	Eclipse XDB-C8 USP L7
CombiHT	21,2 x 150	5	870150-902	870150-906	970150-902	970150-906
CombiHT	21,2 x 100	5	870100-902	870100-906	970100-902	970100-906
CombiHT	21,2 x 50	5	870050-902	870050-906	970050-902	970050-906
Raccordi terminali per CombiHT (necessari per l'uso)			820400-901	820400-901	820400-901	820400-901

## Dati per l'ordinazione delle colonne a cartuccia ZORBAX Rapid Resolution per LC/MS (richiedono il Kit hardware 820222-901)

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7	Eclipse XDB-C18 USP L1	Eclipse XDB-C8 USP L7
Rapid Resolution, cartuccia	4,6 x 30	3,5	833975-902	833975-906	933975-902	933975-906
Rapid Resolution, cartuccia 3/conf.	4,6 x 30	3,5	833975-932	833975-936	933975-932	933975-936
Rapid Resolution, cartuccia	4,6 x 15	3,5	831975-902	831975-906	931975-902	931975-906
Rapid Resolution, cartuccia 3/conf.	4,6 x 15	3,5	831975-932	831975-936	931975-932	931975-936
Rapid Resolution, cartuccia	2,1 x 30	3,5	873700-902	873700-906	973700-902	973700-906
Rapid Resolution, cartuccia 3/conf.	2,1 x 30	3,5	873700-932	873700-936	973700-932	973700-936
Rapid Resolution, cartuccia	2,1 x 15	3,5	875700-902	875700-906	975700-902	975700-906
Rapid Resolution, cartuccia 3/conf.	2,1 x 15	3,5	875700-932	875700-936	975700-932	975700-936
Kit hardware per colonna			820222-901	820222-901	820222-901	820222-901

## Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX Rapid Resolution e per LC/MS

### Colonne ZORBAX StableBond

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7	SB-CN USP L10	SB-C3	SB-Phenyl USP L11	SB-Aq
Rapid Resolution	4,6 x 150	3,5	863953-902	863953-906	863953-905		863953-912	
Rapid Resolution	4,6 x 75	3,5	866953-902	866953-906	866953-905		866953-912	
Rapid Resolution	4,6 x 50	3,5	835975-902	835975-906	835975-905		835975-912	
Solvent Saver Plus	3,0 x 150	3,5	863954-302	863954-306	863954-305		863954-312	
Solvent Saver Plus	3,0 x 100	3,5		841954-306				
Narrow Bore	2,1 x 150	5	883700-922	883700-906	883700-905	883700-909	883700-912	
Narrow Bore	2,1 x 50	5	860975-902	860975-906	860975-905	860975-909	860975-912	860975-914
Narrow Bore RR*	2,1 x 150	3,5	830990-902	830990-906				
Narrow Bore RR	2,1 x 50	3,5	871700-902	871700-906				
MicroBore RR	1,0 x 150	3,5	863600-902	863600-906				
MicroBore RR	1,0 x 50	3,5	865600-902	865600-906				
MicroBore RR	1,0 x 30	3,5	861600-902	861600-906				

### Colonne ZORBAX Rx, Eclipse XDB e Bonus-RP

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	Rx-C18	Rx-C8	Eclipse XDB-C18 USP L1	Eclipse XDB-C8 USP L7	Eclipse XDB-Phenyl USP L11	Bonus-RP
Rapid Resolution	4,6 x 150	3,5	863967-902	863953-906	963967-902	963967-906	963967-912	863668-901
Rapid Resolution	4,6 x 75	3,5	866967-902	866953-906	966967-902	966967-906	966967-912	866668-901
Rapid Resolution	4,6 x 50	3,5			935967-902	935967-906	935967-912	
Solvent Saver Plus	3,0 x 150	3,5			963954-302	963954-306	963954-312	
Narrow Bore	2,1 x 150	5	883700-902	883700-906	993700-902	993700-906	993700-912	883725-901
Narrow Bore	2,1 x 50	5			960967-902	960967-906	960967-912	861971-901
Rapid Resolution	2,1 x 150	3,5			930990-902	930990-906		
Rapid Resolution	2,1 x 50	3,5			971700-902	971700-906		861700-901
MicroBore RR*	1,0 x 150	3,5			963600-902	963600-906		863608-901
MicroBore RR	1,0 x 50	3,5			965600-902	965600-906		865608-901
MicroBore RR	1,0 x 30	3,5			961600-902	961600-906		861608-901

### Colonne ZORBAX Extend-C18

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	Codice
Rapid Resolution	4,6 x 150	3,5	763953-902
Rapid Resolution	4,6 x 75	3,5	766953-902
Rapid Resolution	4,6 x 50	3,5	735953-902
Narrow Bore	2,1 x 150	5	773700-902
Narrow Bore	2,1 x 50	5	760450-902
Narrow Bore RR*	2,1 x 50	3,5	735700-902
MicroBore RR	1,0 x 150	3,5	763600-902
MicroBore RR	1,0 x 50	3,5	765600-902
MicroBore RR	1,0 x 30	3,5	761600-902

\*RR: colonne Rapid Resolution da 3,5 µm.

**Per ordini o assistenza rivolgiti ad Agilent Technologies o al rivenditore autorizzato Agilent della tua zona.**

Sono disponibili su richiesta configurazioni non in elenco. Per ulteriori informazioni su queste ed altre colonne consultate il sito Agilent all'indirizzo [www.agilent.com](http://www.agilent.com).

## Colonne Agilent MicroBore e capillari

- Sensibilità elevata per quantità ridotte di campione
- Compatibili con numerose interfacce per LC/MS
- Disponibilità di numerosi diametri interni: 1,0 mm, 0,5 mm, 0,3 mm
- Ampia gamma di fasi legate

Le colonne MicroBore (1 mm) e capillari (0,5 mm e 0,3 mm) costituiscono spesso la scelta migliore quando la quantità di campione è molto limitata. Le colonne MicroBore migliorano i limiti di rivelazione di 5 volte rispetto alle colonne con d.i. 2,1 mm, mentre le colonne capillari sono in grado di ridurre i limiti di rivelazione da 20 a 50 volte rispetto alle colonne con d.i. 2,1 mm utilizzando la stessa quantità di campione. Questo aumento della sensibilità può essere critico. Le colonne MicroBore e capillari utilizzano flussi molto ridotti (da 1 a 50 µl/min) e sono pertanto ideali per l'impiego con sistemi di rivelazione che richiedono flussi più bassi, quali le interfacce Particle Beam ed Electrospray per LC/MS.

Le colonne MicroBore e capillari Agilent sono disponibili in tre diametri interni e diverse lunghezze in modo da offrire la configurazione ideale per le tue applicazioni specifiche. Le colonne MicroBore con diametro interno 1,0 mm sono in acciaio inox, mentre le colonne capillari con d.i. 0,3 mm e 0,5 mm sono in acciaio inox rivestito in vetro. Queste colonne offrono i migliori risultati se utilizzate con apparecchiature per HPLC appositamente studiate o regolate per l'impiego con colonne Micro Bore e capillari. È disponibile un'ampia gamma di fasi legate: StableBond SB-C18 e SB-C8, Eclipse XDB-C18 e XDB-C8, Bonus-RP, Extend-C18, 300SB-C18 e Hypersil ODS.



### Dati per l'ordinazione delle colonne per HPLC ZORBAX MicroBore

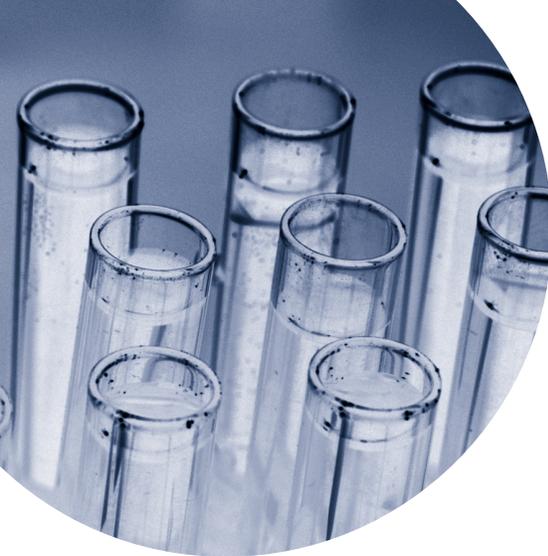
Misura (mm)	Particelle (µm)	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7	300SB-C18	300SB-C8	Eclipse XDB-C18 USP L7	Eclipse XDB-C8 USP L7	Bonus-RP	Extend-C18
1,0 x 150	3,5	863600-902	863600-906	863630-902	863630-906	963600-902	963600-906	863608-901	763600-902
1,0 x 50	3,5	865600-902	865600-906	865630-902	865630-906	965600-902	965600-906	865608-901	765600-902
1,0 x 30	3,5	861600-902	861600-906			961600-902	961600-906	861608-901	761600-902

### Dati per l'ordinazione delle colonne capillari Agilent per HPLC (interno vetro)

Colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	SB-C18	300SB-C18	Eclipse XDB-C18	Hypersil ODS
Capillare	0,5 x 250	5	5064-8258	5064-8266	5064-8286	5064-8278
Capillare	0,5 x 150	5	5064-8256	5064-8264	5064-8287	5064-8289
Precolonna	0,5 x 35	5	5064-8254	5064-8294	5064-8296	5064-8282
Capillare RR*	0,5 x 150	3,5	5064-8262	5064-8268	5064-8288	5064-8275**
Capillare RR	0,5 x 35	3,5	5064-8260		5064-8298	5064-8299**
Capillare	0,3 x 250	5	5064-8257	5064-8265	5064-8269	5064-8276
Capillare	0,3 x 150	5	5064-8255	5064-8263	5064-8291	5064-8290
Precolonna	0,3 x 35	5	5064-8253	5064-8295	5064-8297	5064-8279
Capillare RR	0,3 x 150	3,5	5064-8261	5064-8267	5064-8271	5064-8277**

\*RR: colonne Rapid Resolution da 3,5 µm

\*\* particelle da 3 µm



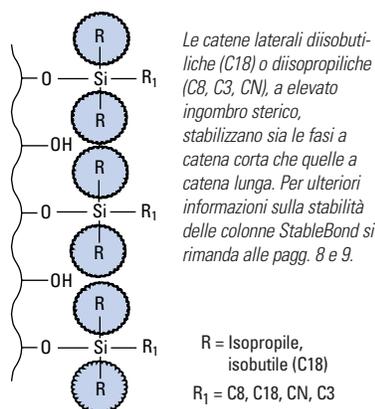
# Colonne ZORBAX per la Chimica Bioanalitica

## Colonne per HPLC ZORBAX 300StableBond Wide-Pore

- Quattro diverse fasi legate per ottimizzare la selettività in fase inversa per peptidi e proteine
- Eccezionale stabilità e lunga durata a pH ridotto con fasi mobili contenenti TFA
- Ottima riproducibilità
- Stabilità alle alte temperature (fino a 80 – 90°C)

Colonna consigliata	Intervallo di pH per la durata ottimale della colonna												
ZORBAX StableBond	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

**FIGURA 1**  
Fase legata 300StableBond stericamente protetta

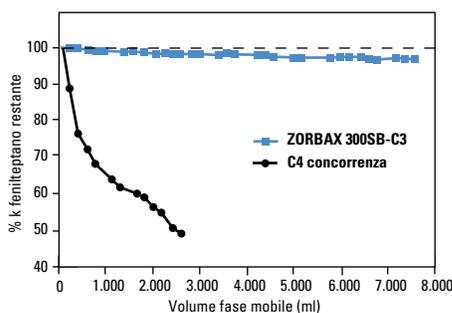


Le colonne ZORBAX 300StableBond costituiscono la scelta ideale per separazioni riproducibili di peptidi e proteine per due ragioni fondamentali. La prima è che, per una separazione efficace di molecole di grandi dimensioni come quelle delle proteine e dei peptidi, sono necessarie colonne con misura elevata dei pori (300Å) per permettere all'analita di passare attraverso la fase. La seconda è che le colonne 300StableBond non hanno eguali per durata ai bassi valori di pH delle fasi mobili con TFA, tipicamente impiegate nella separazione delle proteine e dei peptidi. Per le separazioni a pH basso in LC/MS le colonne 300StableBond possono essere utilizzate anche con modificante della fase mobile a base di acido formico e acetico.

Le colonne 300StableBond sono disponibili in quattro diverse fasi legate (C18, C8, C3, e CN) per ottimizzare la separazione ed il recupero delle proteine e dei polipeptidi. Per aumentare ulteriormente il recupero del campione e per migliorare l'efficienza in presenza di proteine difficili, le 300StableBond possono venire impiegate a temperature fino a 80 – 90°C.

**FIGURA 2**  
La fase legata a catena corta ZORBAX 300SB-C3 è stabile in condizioni di pH basso e temperatura elevata

La stabilità a pH basso delle colonne 300StableBond non ha eguali. L'affidabile fase stericamente protetta e con legame monostrato aumenta la durata e l'affidabilità della 300SB-C3 a catena corta rispetto ad un'altra colonna wide-pore C4. Per ulteriori informazioni sulla stabilità delle colonne StableBond si rimanda alle pagg. 8 e 9.



Fase mobile: Gradiente 0-100% B in 80 min.  
A: 0,5% TFA in acqua  
B: 0,5% TFA in acetonitrile

Condizioni del test in isocratica:  
1-fenilheptano 50% A, 50% B

Colonna: 4,6 x 150 mm  
Temperatura: 60°C  
Flusso: 1,0 ml/min

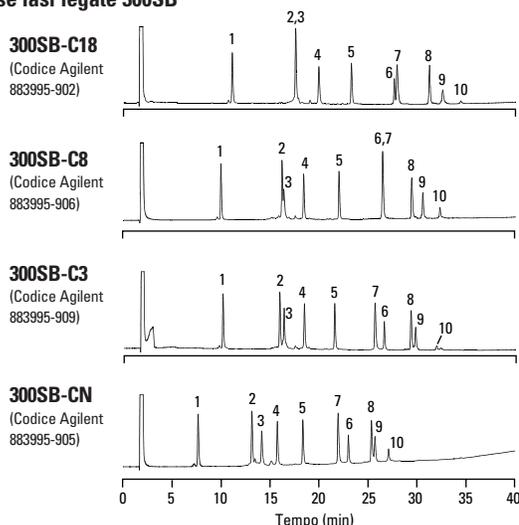
### Specifiche per le colonne ZORBAX StableBond 300SB

Fase	Misura pori	Area superficiale	Limiti di Temp.*	Intervallo pH*	Endcapping	Carico di C
ZORBAX 300SB-C18	300Å	45 m <sup>2</sup> /g	90°C	1,0 – 8,0	No	2,8%
ZORBAX 300SB-C8	300Å	45 m <sup>2</sup> /g	80°C	1,0 – 8,0	No	1,5%
ZORBAX 300SB-C3	300Å	45 m <sup>2</sup> /g	80°C	1,0 – 8,0	No	1,1%
ZORBAX 300SB-CN	300Å	45 m <sup>2</sup> /g	80°C	1,0 – 8,0	No	1,2%

\*Le colonne 300StableBond sono appositamente studiate per l'utilizzo a pH basso. A valori di pH compresi fra 6 e 8 la massima stabilità di tutte le colonne a base silicea si ottiene applicando temperature < 40°C e con concentrazioni di tampone basse, nell'intervallo 0,01-0,02 M. Per pH medio e alto si consigliano le 300Extend-C18.

FIGURA 3

Ottimizzazione della separazione di polipeptidi di grandi dimensioni con quattro diverse fasi legate 300SB



Colonna: StableBond 300SB  
4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase mobile: gradiente lineare, 25 – 70% B in 40 min.  
A: 0,1% TFA in acqua  
B: 0,09% TFA in 80% acetonitrile/20% acqua

Flusso: 1,0 ml/min

Temperatura: 60°C

Campione: proteine, 3 µg ciascuna

1. RNase	6. CDR
2. Insulina	7. Mioglobina
3. Citocromo C	8. Anidrasi carbonica
4. Lisozima	9. S-100β
5. Parvalbumina	10. S-100α

Le fasi legate 300SB-C18, C8, C3 e CN forniscono tutte una diversa separazione di questo gruppo di polipeptidi. Si aggiunge perciò un importante parametro per la rapida ottimizzazione della separazione delle proteine. La colonna 300SB-CN offre una selettività unica per diversi polipeptidi idrofili.

Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX StableBond (300Å)

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-CN USP L10	300SB-C3
<b>Colonne standard e impaccamenti</b>						
Preparativa	21,2 x 250	7	880995-102	880995-106	880995-109	880995-105
Semipreparativa	9,4 x 250	5	880995-202	880995-206	880995-209	880995-205
Analitica	4,6 x 250	5	880995-902	880995-906	880995-905	880995-909
Analitica	4,6 x 150	5	883995-902	883995-906	883995-905	883995-909
Analitica	4,6 x 50	5	860950-902	860950-906	860950-905	860950-909
Rapid Resolution	4,6 x 150	3,5	863973-902	863973-906	863973-905	863973-909
Rapid Resolution	4,6 x 50	3,5	865973-902	865973-906	865973-905	865973-909
Solvent Saver Plus	3,0 x 100	3,5		884950-565		
Narrow Bore	2,1 x 150	5	883750-902	883750-906	883750-905	883750-909
Narrow Bore RR*	2,1 x 150	3,5		863750-906		
Narrow Bore RR	2,1 x 50	3,5	865750-902	865750-906		
MicroBore RR	1,0 x 150	3,5	863630-902	863630-906		
MicroBore RR	1,0 x 50	3,5	865630-902	865630-906		
Impaccamento, 2 grammi		5		820966-306		
Precolonna a cartuccia, 2/conf.	9,4 x 15	7	820675-124	820675-124	820675-124	820675-124
Precolonna a cartuccia, 4/conf.	4,6 x 12,5	5	820950-921	820950-918	820950-923	820950-924
Precolonna a cartuccia, 4/conf.	2,1 x 12,5	5	821125-918	821125-918	821125-924	821125-924
Kit hardware per precolonna	9,4 x 15		840140-901	840140-901	840140-901	840140-901
Kit hardware per precolonna	4,6 x 12,5		820777-901	820777-901	820777-901	820777-901
Kit hardware per precolonna	2,1 x 12,5		820777-901	820777-901	820777-901	820777-901
<b>Colonne capillari con interno in vetro</b>						
Capillare	0,5 x 250	5	5064-8266			
Capillare	0,5 x 150	5	5064-8264			
Capillare RR	0,5 x 150	3,5	5064-8268			
Capillare	0,3 x 250	5	5064-8265			
Capillare	0,3 x 150	5	5064-8263			
Capillare RR	0,3 x 150	3,5	5064-8267			
Precolonna a cartuccia	0,5 x 35	5	5064-8294			
Precolonna a cartuccia	0,3 x 35	5	5064-8295			

Sono disponibili su richiesta configurazioni non in elenco.

\*RR: colonne Rapid Resolution da 3,5 µm.

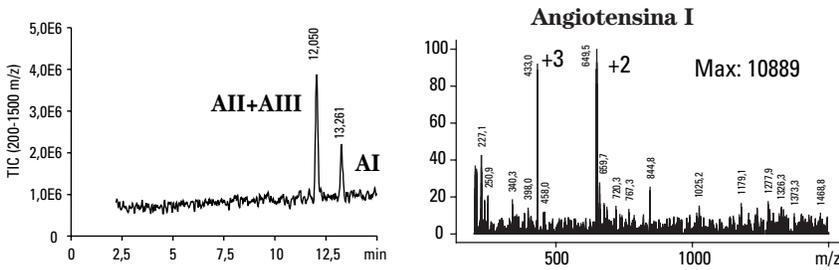
Sono disponibili anche colonne StableBond (80Å) per la separazione di molecole di piccole dimensioni.

Si rimanda alla pag. 10 per le descrizioni, i dati di ordinazione ed ulteriori informazioni sulle colonne StableBond.



FIGURA 4  
Analisi LC/MS di angiotensina con Extend-C18

A. In condizioni acide: A: 0,1% TFA in acqua B: 0,085% TFA in 80% acetonitrile (ACN)



Colonna: **ZORBAX Extend-C18**  
2,1 x 150 mm, 5 µm  
(Codice Agilent 773700-902)

Flusso: 0,2 ml/min  
Temperatura: 35°C  
Fase mobile: Come indicato  
Gradiente: 15-50% B in 15 min.  
LC/MS: Pos. Ion ESI- Vf 70V, Vcap 4,5 kV,  
N2- 2 bar, 12 l/min., 325°C

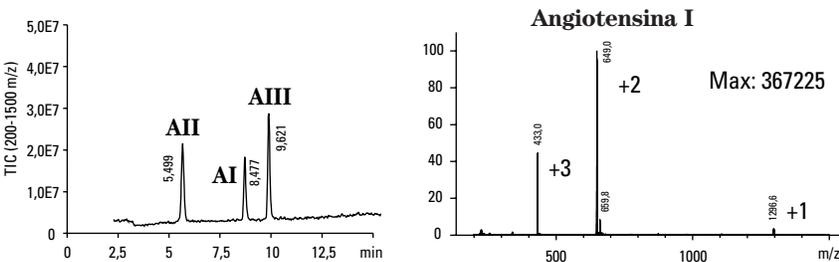
Campione: Angiotensina I, II, III  
2,5 µl di campione (50 pmol ciascuno)

Angiotensina I: Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu

Angiotensina II: Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe

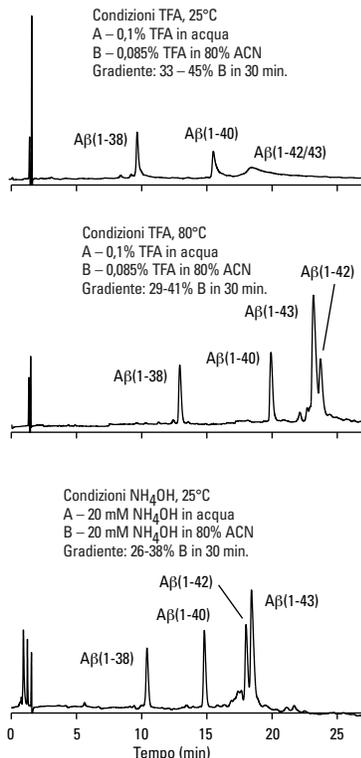
Angiotensina III: Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe

B. In condizioni basiche: A: 10 mM NH<sub>4</sub>OH in acqua B: 10 mM NH<sub>4</sub>OH in 80% ACN



Riferimento bibliografico: Boyes, B.E., *Separation and Analysis of Peptides at High pH Using RP-HPLC/ESI-MS*, 4th WCBP, San Francisco, CA gennaio 2000.

FIGURA 3  
Può essere impiegato il pH elevato per la separazione dei peptidi idrofobi o altri peptidi poco solubili



Colonna: **ZORBAX 300Extend-C18**,  
2,1 x 150 mm, 3,5 µm  
(Codice Agilent 763750-902)  
Flusso: 0,25 ml/min

Sia i peptidi di piccole dimensioni che quelli di grandi dimensioni mostrano variazioni di selettività a pH alto e basso. A pH alto, grazie alle modificazioni di carica, si ottiene la risoluzione di tutte e tre le angiotensine. Inoltre, la limpidezza di spettro dell'Angiotensina I è sensibilmente migliore a pH elevato con la fase a base di idrossido di ammonio. Le colonne Extend-C18 sono idonee anche per l'analisi dei peptidi di piccole dimensioni a pH elevato (ulteriori dettagli alle agg. 18 – 19).

In condizioni di pH elevato e temperatura ambiente i peptidi amiloidi idrofobi mostrano migliore recupero e diversa selettività rispetto ai risultati ottenibili a pH basso. Per ottenere lo stesso recupero a pH basso è necessaria una temperatura elevata.

### Specifiche delle colonne ZORBAX 300Extend-C18

Fase	Misura pori	Area superficiale	Limiti di temp.	Intervallo pH	Endcapping	Carico di C
ZORBAX 300Extend-C18	300Å	45 m <sup>2</sup> /g	60°C*	2,0 – 11,5	doppio	4%

\*Il limite di temperature è di 60°C fino a pH 8 e di 40°C per pH 8 – 11,5.

### Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX 300Extend-C18

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	Codice
Analitica	4,6 x 250	5	770995-902
Analitica	4,6 x 150	5	773995-902
Rapid Resolution	4,6 x 150	3,5	763973-902
Rapid Resolution	4,6 x 50	3,5	765973-902
Narrow Bore	2,1 x 150	3,5	763750-902
Narrow Bore	2,1 x 50	3,5	765750-902
Precolonna a cartuccia, 4/conf.	4,6 x 12,5	5	820950-932
Precolonna a cartuccia, 4/conf.	2,1 x 12,5	5	821125-932
Kit hardware per precolonna			820777-901

Sono disponibili su richiesta configurazioni non in elenco.

Sono disponibili anche colonne Extend-C18 (80Å). Si rimanda alla pag. 18 per le descrizioni, i dati di ordinazione ed ulteriori informazioni sulle colonne Extend-C18.



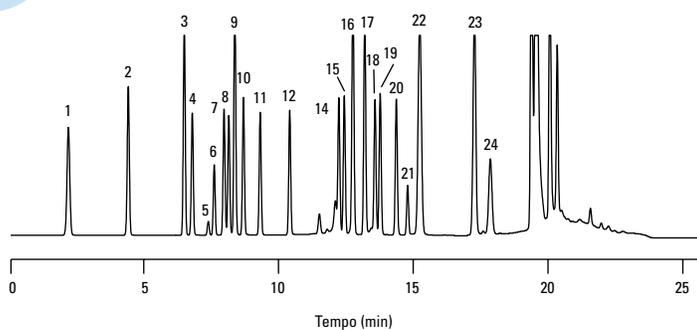
## Colonne ZORBAX per la Chimica Bioanalitica

### Colonne per HPLC ZORBAX Eclipse AAA (Amino Acid Analysis)

- Alta risoluzione e rapidità di analisi per 24 amminoacidi
- Collaudate per l'analisi degli amminoacidi
- Utilizzo dei protocolli di derivatizzazione OPA e FMOc
- Procedura automatica e semplice grazie al protocollo di derivatizzazione disponibile on-line per l'autocampionatore Agilent 1100

Le nuove colonne ad alta efficienza per HPLC ZORBAX Eclipse AAA consentono una separazione rapida degli amminoacidi in base ad un protocollo aggiornato e migliorativo. Per eseguire un'analisi completa, da un'iniezione alla successiva, bastano 14 min (tempo di analisi = 9 min) con le colonne da 7,5 cm di lunghezza e 24 min (tempo di analisi = 18 min) con quelle da 15 cm. Grazie all'impiego dei protocolli di derivatizzazione OPA e FMOc, con procedura completamente automatizzata sugli strumenti per HPLC Agilent 1100, si ottengono affidabilità e sensibilità eccezionali (5 – 50 pmol con DAD, FLD).

FIGURA 1  
Risoluzione di 24 amminoacidi con il protocollo ZORBAX Eclipse AAA



Colonna:	<b>ZORBAX Eclipse AAA</b> 4,6 x 150 mm, 3,5 µm (Codice Agilent 963400-902)	1. Asp	9. Cit	17. Trp
Fase mobile:	A: 40 mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , pH 7,8 B: ACN : MeOH : acqua, 45:45:10 v/v	2. Glu	10. Arg	18. Phe
Flusso:	2,0 ml/min	3. Asn	11. Ala	19. Ile
Temperatura:	40°C	4. Ser	12. Tyr	20. Leu
Rivelatore:	Fluorescenza	5. Gln	13. Cys	21. Lys
		6. His	14. Val	22. Hyp
		7. Gly	15. Met	23. Sar
		8. Thr	16. Nva	24. Pro

*Il tempo richiesto per la separazione ad alta risoluzione di questi 24 amminoacidi è stato di 18 minuti. Se fosse stata impiegata una colonna Eclipse AAA Rapid Resolution da 4,6 x 75 mm la risoluzione degli stessi amminoacidi si sarebbe ottenuta in 9 minuti.*

#### Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX Eclipse AAA

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	Codice
Analitica con sensibilità normale	4,6 x 150	5	993400-902
Analitica ad alta sensibilità, alta risoluzione con FLD	4,6 x 150	3,5	963400-902
Analitica con sensibilità normale, high-throughput	4,6 x 75	3,5	966400-902
Solvent Saver ad alta sensibilità, alta risoluzione	3,0 x 150	3,5	961400-302
Precolonna a cartuccia, 4/conf.	4,6 x 12,5	5	820950-931
Kit hardware per precolonna			820777-901

Per una descrizione dettagliata dell'impiego del protocollo Eclipse AAA con lo strumento Agilent 1100 HPLC richiedi la pubblicazione N° 5980-1193E oppure scaricala dal sito Agilent all'indirizzo [www.agilent.com](http://www.agilent.com).

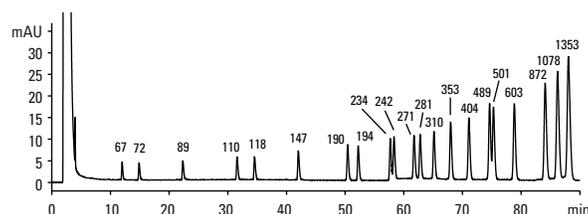
# Colonne ZORBAX per la Chimica Bioanalitica

## Colonne per HPLC ZORBAX Eclipse per l'analisi del dsDNA

- Sensibilità e risoluzione elevate per i frammenti di dsDNA
- Capacità di separazione: da 20 a 1.500 coppie di basi
- Capacità da 20 a 50 volte superiore rispetto alle colonne non porose
- Idonee per l'analisi dei frammenti DHPLC e PCR e per altre applicazioni inerenti al dimensionamento del dsDNA

Le colonne ZORBAX Eclipse per l'analisi del dsDNA assicurano una separazione quantitativa, automatizzata ad alta risoluzione dei frammenti di dsDNA utilizzando la HPLC. A seconda della lunghezza del frammento e del tempo di analisi in gradiente, è possibile ottenere risoluzioni fino a 1 bp. Per una sensibilità elevata è opportuno caricare fino a 10 µg e rivelare meno di 1 ng/banda con le colonne da 2,1 mm di diametro interno. In alternativa, se sono necessari livelli di capacità elevati, iniettare fino a 40 µg nelle colonne da 4,6 mm di d.i. Queste colonne sono utili per applicazioni quali la separazione di frammenti PCR, per separazioni da trattamento enzimatico di restrizione, DHPLC, RFLP e RAPD.

**FIGURA 1**  
Separazione ad alta risoluzione con colonna ZORBAX Eclipse per dsDNA



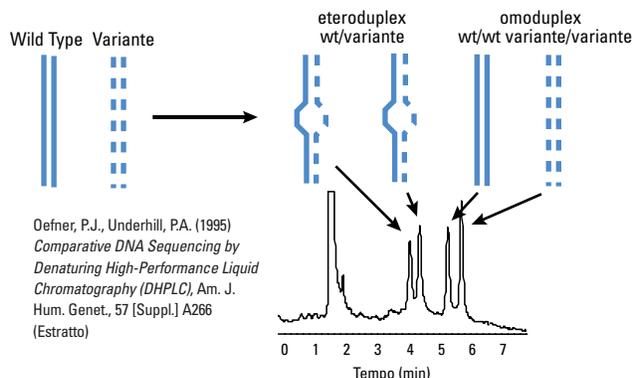
Colonna: **Eclipse dsDNA**, 2,1 x 150 mm, 3,5 µm  
 Fase mobile: Gradiente: 45 – 75% B in 90 minuti  
 A: 0,1 M TEAA\*, 0,1 mM EDTA, pH 7,0  
 B: A + 25% ACN  
 Flusso: 0,2 ml/min  
 Temperatura: 50°C  
 \*TEAA = acetato di trietilammonio

Rivelazione: UV 260 nm  
 Campione: 200 ng standard restriction digest  
 Strumento: Agilent 1100, cella di flusso 1 µl, pompa binaria

**FIGURA 2**  
Rivelazione di mutazione mediante DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography)

### Separazione ideale del cromosoma Y STS, DYS271 con analisi DHPLC

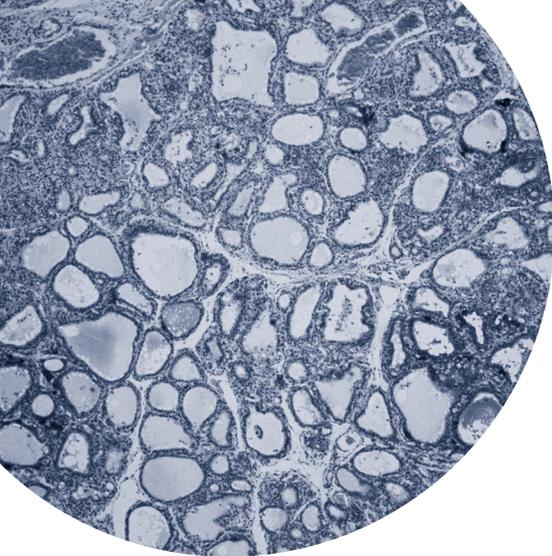
La colonna Eclipse per dsDNA può essere impiegata per DHPLC nonché per diverse altre tecniche specifiche. Nell'esempio a fianco, l'analisi DHPLC del cromosoma Y STS, DYS271 mostra la separazione ideale degli omo/eteroduplex formati.



### Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX Eclipse dsDNA

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	Codice
Analitica	2,1 x 75	3,5	945750-902
Analitica	2,1 x 150	3,5	993850-902
Analitica	3,0 x 75	3,5	945750-302
Preparativa	4,6 x 75	3,5	992750-902
Precolonna a cartuccia, 4/conf. 2,1 x 12,5	2,1 x 12,5	3,5	821125-929
Precolonna a cartuccia, 4/conf. 4,6 x 12,5	4,6 x 12,5	3,5	820950-929
Kit hardware per precolonna			820777-901

Per ordini o assistenza rivolgiti ad Agilent Technologies o al rivenditore autorizzato Agilent della tua zona.



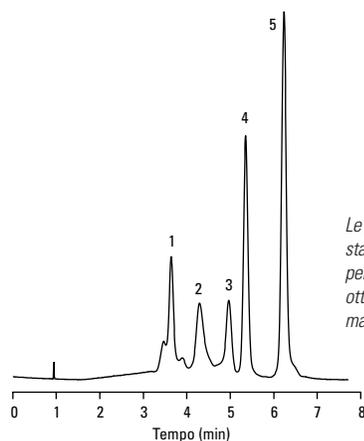
# Colonne ZORBAX per la Chimica Bioanalitica

## Colonne per HPLC ad Esclusione Sterica ZORBAX GF-250/450

- Efficienza e riproducibilità elevate e tempi di analisi brevi
- Fase legata a base di dioli idrofili per un buon recupero delle proteine
- Compatibile con denaturanti e tamponi organici
- Ampio intervallo di pH (da pH 3 a pH 8)

Le colonne per cromatografia ad esclusione sterica ZORBAX GF-250 e GF-450 sono ideali per la separazione dimensionale delle proteine e di altre biomolecole. Con l'impiego di colonne GF-250 e GF-450 in serie, l'intervallo di separazione delle proteine globulari è 4.000 – 900.000. Le colonne per cromatografia ad esclusione sterica GF-250/450 sono caratterizzate da una fase legata a base di dioli idrofili, che permette un elevato grado di recupero delle proteine (tipicamente >90%), e da un esclusivo sistema di tamponamento della silice allo zirconio che porta l'intervallo di PH a 3 – 8. Le colonne GF-250 e GF-450 sono impaccate con microsfele di silice porosa dimensionate in modo particolarmente accurato, con porosità e granulometria ridotte. Il risultato è una colonna per esclusione sterica con elevate caratteristiche di efficienza, resistenza e riproducibilità, che consentono la separazione accurata delle proteine alla velocità di flusso di 3 ml/min. Queste colonne sono compatibili con i denaturanti ed i tamponi organici aggiunti in fase mobile per eliminare l'aggregazione delle proteine e permettere così la corretta determinazione dimensionale. Fra le applicazioni più comuni segnaliamo la separazione dei monomeri, dimeri e aggregati proteici, la desalinazione, la determinazione del peso molecolare delle proteine e la separazione di proteine modificate.

**FIGURA 1**  
Separazione di proteine standard con colonna ZORBAX GF-250 SEC



*Le proteine oggetto di questa separazione sono costituite da standard comunemente selezionati. La risoluzione ottenuta per questo campione con la colonna ZORBAX GF-250 è ottima, tuttavia è possibile ottenere una risoluzione ancora maggiore per la tireoglobulina aggiungendo in serie la GF-450.*

Colonna:	<b>ZORBAX GF-250</b> , 9,4 x 250 mm
Fase mobile:	Fosfato di sodio 200 mM, pH 7,0
Flusso:	2 ml/min
Temperatura:	ambiente
Rivelazione:	UV 254 nm
Campione:	Standard Gel-Filtration BioRad per esclusione sterica
	1. Tireoglobulina 670.000 Da
	2. Gammaglobulina bovina 158.000 Da
	3. Ovalbumina di pollo 44.000 Da
	4. Mioglobina equina 17.000 Da
	5. Vitamina B-12 1.350 Da

### Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX GF-250 e GF-450 per Gel Filtration

Descrizione colonna	Misura (mm)	Particelle (µm)	Codice
GF-250, misura pori 150Å	21,2 x 250	4	884974-901
GF-250, misura pori 150Å	9,4 x 250	4	884973-901
GF-250, misura pori 150Å	4,6 x 250	4	884973-701
GF-450, misura pori 300Å	21,2 x 250	6	884974-910
GF-450, misura pori 300Å	9,4 x 250	6	884973-902
Precolonna a cartuccia per GF-250*, 2/conf.	9,4 x 15	4	820675-111
Precolonna a cartuccia per GF-250, 4/conf.	4,6 x 12,5	4	820950-911
Precolonna a cartuccia per GF-450, 2/conf.	9,4 x 15	4	820675-111
Precolonna a cartuccia per GF-450, 4/conf.	4,6 x 12,5	4	820950-911
Kit hardware per GF-250, GF-450	9,4 x 15		840140-901
Kit hardware per GF-250, GF-450	4,6 x 12,5		820777-901

\*Fase diolica

### Specifiche per le colonne ZORBAX GF-250 e GF-450

Fase	Misura pori	Particelle	Intervallo MW	Area superficiale	Intervallo pH	Flusso	Pressione Max.
ZORBAX GF-250	150Å	4 µm	4.000 – 400.000	140 m <sup>2</sup> /g	3,0 – 8,0	<3,0 ml/min	345 bar
ZORBAX GF-450	300Å	6 µm	10.000 – 900.000	50 m <sup>2</sup> /g	3,0 – 8,0	<3,0 ml/min	345 bar

# Colonne ZORBAX per la Chimica Bioanalitica

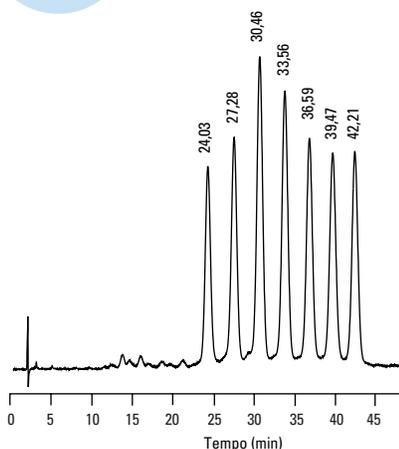
## Colonne per HPLC ZORBAX Oligo

- Separazione di oligonucleotidi di lunghezza fino a 60 – 80 mer
- Analisi in gradiente ad alta risoluzione con colonna in modalità mista scambio ionico/fase inversa
- Isolamento di oligonucleotidi con purezza >95%
- Possibilità di additivazione della fase mobile con denaturanti

La colonna ZORBAX Oligo è stata studiata per la separazione in gradiente ad alta risoluzione e per la purificazione degli oligonucleotidi. Con questa colonna sono stati ottenuti risultati positivi nella purificazione degli oligonucleotidi di lunghezza da 3 a 48 basi ed è anche possibile la separazione di oligonucleotidi nell'intervallo fino a 60 – 80 mer. La colonna Oligo impiega una fase legata mista scambio ionico/fase inversa appositamente studiata per gli oligonucleotidi per permetterne l'efficace isolamento ad alta purezza. Per la separazione degli oligomeri vengono impiegate fasi mobili a gradiente semplice con l'eventuale aggiunta di denaturanti, come ad esempio l'urea, per evitare l'autoibridazione.

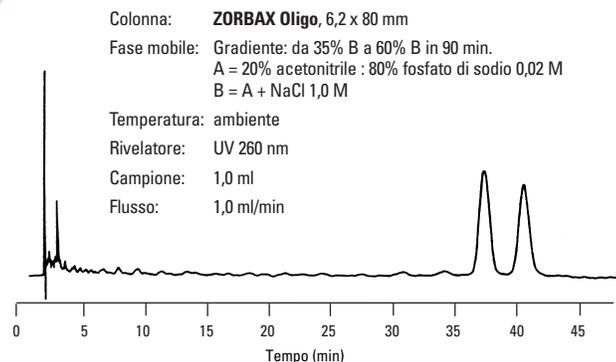


**FIGURA 1**  
Separazione dello Standard p(DT) 12 – 18 con colonna ZORBAX Oligo



Colonna: **ZORBAX Oligo**, 6,2 x 80 mm  
Fase mobile:  
Gradiente: 35 – 80% B in 90 min.  
A: 20:80 ACN : 20 mM fosfato di sodio pH 7,0  
B: 20:80 ACN : 20 mM fosfato di sodio pH 7,0 + 0,8 M NaCl  
Flusso: 1,0 ml/min  
Temperatura: ambiente  
Rivelatore: UV 260 nm  
Volume campione: 50 µl, 5 unità/ml

**FIGURA 2**  
Separazione di oligonucleotidi da 24 e 25 mer



### Specifiche della colonna ZORBAX Oligo – Serie Bio

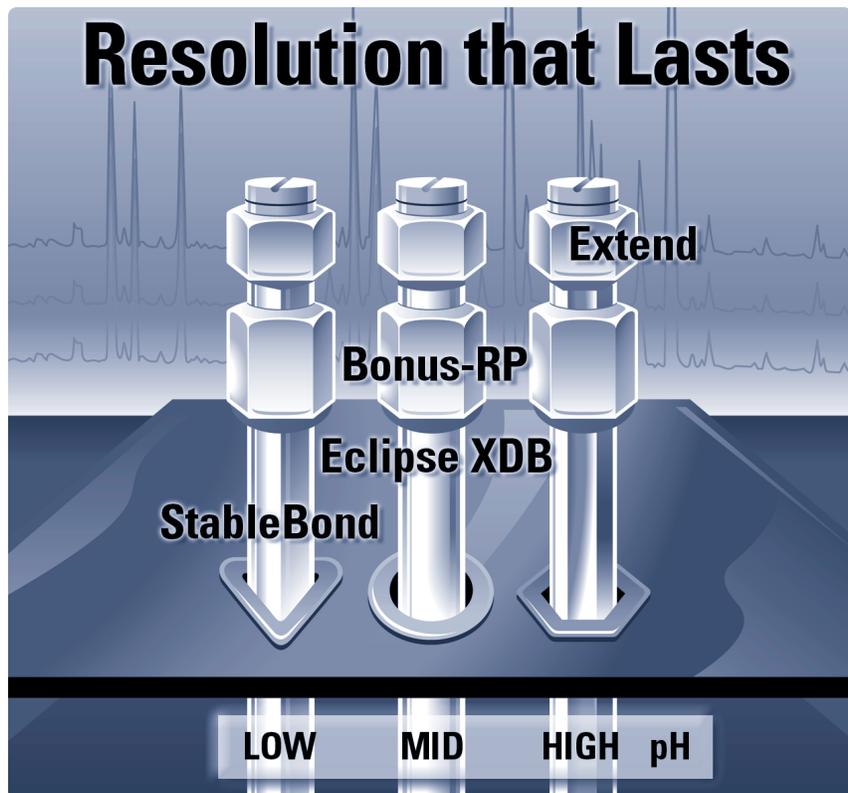
Fase	Misura pori	Area superficiale	Intervallo pH	Gruppo funzionale legato
ZORBAX Oligo	150Å	140 m <sup>2</sup> /g	2,5 – 8,5	Diolo brevettato

### Dati per l'ordinazione delle colonne ZORBAX Oligo

Misura (mm)	Particelle (µm)	Codice
6,2 x 80	5	820940-901
9,4 x 250	5	884973-903
21,2 x 250	5	884974-915

Sono disponibili su richiesta configurazioni non in elenco.

**Per ordini o assistenza rivolgetevi ad Agilent Technologies o al rivenditore autorizzato Agilent della tua zona.**



## ZORBAX: risoluzione che dura

La separazione dei composti di interesse è la ragione per cui si utilizza la cromatografia. Ma se la risoluzione cambia nel tempo, questo porta a risultati non riproducibili e a lunga e laboriosa risoluzione dei problemi. L'impegno di Agilent Technologies nel progettare fasi legate non è rivolto solo alla produzione di colonne per HPLC che assicurino risoluzione elevata, ma tende anche ad assicurare una "risoluzione che dura".

Le colonne ZORBAX Agilent sono progettate per assicurare risoluzione elevata, lunga durata della colonna, eccezionale simmetria dei picchi, fase legata esclusiva e selettività, e, soprattutto, una riproducibilità superiore. Una caratteristica della famiglia delle colonne ZORBAX è costituita dalla varietà di fasi legate utilizzabili praticamente in tutto l'intervallo di pH (da 1 a 12).

Questa brochure descrive:

- l'importanza dell'uso di silice di buona qualità, per ottenere prestazioni ottimali dalla colonna;
- un approccio allo sviluppo del metodo per ottenere la massima simmetria dei picchi, una elevata resistenza del metodo e una riproducibilità a lungo termine;
- le fasi legate e le colonne speciali ZORBAX;
- le colonne wide-pore ZORBAX ed i prodotti speciali per l'analisi dei campioni biologici fra cui: amminoacidi, proteine e peptidi, dsDNA e oligonucleotidi.

***Esamina l'indice alla pagina seguente, per trovare le informazioni sui prodotti che meglio rispondono alle tue esigenze cromatografiche.***