



## High Performance Packed Column for HPLC

### CoreFocus

### Shim-pack NovaCore C18-HB [Reversed phase column] INSTRUCTION MANUAL

#### ■ Introduction

This is the instruction manual for the Shim-pack NovaCore C18-HB. The Shim-pack NovaCore C18-HB is a core-shell column that utilizes an organic silica hybrid. To ensure stable and long-term use of the Shim-pack NovaCore C18-HB, which has excellent column performance, please read this instruction manual carefully and use it correctly.

#### ■ Operating Precautions

- Please check for any abnormalities in the appearance and packaging box of the column.
- Verify that there are no errors in the name of the packing material, particle size, column size, etc., by checking the labels attached to the packaging box and the column.
- The inspection report includes the column lot number, column serial number, and chromatographic test conditions. Please keep the report for future reference.
- The number of theoretical plate stated in the inspection report is for quality checks at the time of shipment and does not indicate the performance (specifications) of the column.

#### ■ Column Performance

The Shim-pack NovaCore C18-HB undergoes rigorous QC testing to ensure quality and stability. The shipping solvent is Acetonitrile / Water = 45 : 55 (v : v). Refer to the table below for the specification of the Shim-pack NovaCore C18-HB columns.

Item	Specification
Functional Group	Octadecylsilyl (ODS) group
Pore Size	10 nm
Surface Area	200 m <sup>2</sup> /g
Carbon Content	11%
Endcapping	○
Column hardware	Stainless (SUS)
Usable pH range	1-12
Common temperature	20 - 40°C
Maximum temperature	60°C*

\* The upper temperature limit is 60°C, but using it at conditions where the pH of mobile phase exceeds 8 at 60°C will accelerate the degradation rate of the column.

#### NOTE

Near the pH limit of use, please use a mobile phase containing at least 10% organic solvent. At the pH limit, column lifetime may be shortened depending on conditions such as temperature and mobile phase composition. Additionally, continuing to use the column at the maximum temperature limit may also reduce its lifetime.

#### ■ Column Installation

- The flow direction of the column is indicated by an arrow on the column label (→). When installing the column, ensure that the flow direction arrow matches the mobile phase flow direction.
- Use PEEK or SUS tubes with an inner diameter of 0.25 – 0.3 mm (UHPLC: 0.1 – 0.2 mm) and an outer diameter of 1.6 mm. However, do not use PEEK tubes when working with fluorinated organic solvents such as tetrahydrofuran (THF), chloroform, concentrated sulfuric acid, concentrated nitric acid, dichloroacetic acid, acetone, dichloromethane, dimethyl sulfoxide (DMSO), and hexafluoroisopropanol (HFIP).
- The 1.7 µm particle size column produces higher backpressure than the 5 µm or 2.6 µm particle size columns. Please be aware of the maximum pressure of the HPLC system and connect the appropriate tubes. Generally, UHPLC systems that have a maximum pressure above 60 MPa are appropriate for 1.7 µm columns.
- Use the shortest possible tubes connection from the injector to the column to minimize peak broadening.
- Use male nuts or fittings for connecting the column. Be careful to avoid creating any unnecessary gaps during the connection. For information on column connections, please also refer to the system guide and the operating manual of the LC system.
- Male nuts or fittings can be obtained with the following product names and part numbers (P/N).

Item Name	P/N	Remarks	Pressure Limit
Male Nut, PEEK	228-18565-84	5 pcs	20 MPa
Male Nut Fitting Kit	228-45717-01	2 pcs	35 MPa
UHPLC Fitting 2 S	228-56867-41	1 pc	130 MPa

#### NOTE

Particulates or air in the system flow line may deteriorate the column. Before connecting the column, be sure to filter all solvents and flush the flow line up to the column with mobile phase.

- If peaks are tailing more on the early eluting compounds than later eluting compounds, it's possible that there is dead volume. Make sure the connection tube is fully inserted into the column joint. As a guideline, tighten the connection when the tube extends about 5 mm from the tip of the ferrule, and when removed, the tubes should extend 2-3 mm from the tip of the ferrule.
- Make sure to use appropriate internal diameter and tube length from the injector and to the detector, especially when using semi-micro size columns, to reduce system dead volume and peak broadening.

## ■ Column Handling Precautions

- To avoid damage to the column and prevent deterioration in performance, do not drop or bump the column.
- To maximize column lifetime, use the column within the pressure limit shown in the following table.

Particle Size	Column I.D.	Maximum Pressure
1.7 $\mu\text{m}$	1.0 mm	103 MPa*
	2.1 mm	
2.6 $\mu\text{m}$	2.1 mm	103 MPa*
	3 mm	
	4.6 mm	
5 $\mu\text{m}$	2.1 mm	103 MPa*
	3 mm	
	4.6 mm	

\*Continuous use near the maximum pressure limit can shorten the column's lifetime. Pressure varies depending on factors such as column length, column temperature, and the type of organic solvent, so please adjust the flow rate accordingly.

- The column should be disconnected from the system only after the pressure shows 0 MPa.
- Sudden pressure fluctuations can lead to early degradation of the column. Please avoid slow operation of the sample injection valve.
- If there are issues such as poor reproducibility of compound retention times, baseline drift, or noise at the start of the analysis, it may indicate that the column has not been adequately equilibrated. It is recommended to flush the column with at least five times its volume using the mobile phase intended for the analysis until improvements are observed. If no improvements are seen, please consider reviewing the equipment and analytical conditions.

### NOTE

The elution order, retention time, peak shape, etc. may change significantly when ion-pairing reagents are used in the mobile phase. These reagents are often difficult to completely remove, so we recommend that columns with a history of using ion-pair reagents be used exclusively for analyses with ion-pair reagents.

## ■ Mobile Phase Selection

- Both aqueous and non-aqueous solvents can be used as mobile phases; however, repeatedly switching between solvents with extremely different polarities may lead to a decline in column performance. Common organic solvents that can be used include acetonitrile, methanol, and tetrahydrofuran (THF). However, when using THF, please pay attention to the solvent resistance of the materials used for the tubes and other components in the flow path.

### NOTE

When switching from aqueous solvents to non-aqueous solvents, it is recommended to flush with an intermediate polarity solvent, such as isopropanol or dioxane, at least ten times the column volume (approximately 25 mL for a 150  $\times$  4.6 mm I.D. column) before making the substitution. Additionally, since intermediate polarity solvents may result in higher pressure, please be cautious and reduce the flow rate by half during the flushing process to manage the pressure.

- Conditions such as pH and temperature extremes affect the column lifetime. Typical operating temperature is between 20°C and 40°C. When using a column at a high pH for a long time, using low concentration organic buffer solution from 1 to 10 mmol/L at low temperatures is recommended (e.g., < 30°C).

## ■ Column Flow Rate

The recommended flow rates are as follows.

Particle Size	Column I.D.	Recommended Flow Rate
1.7 $\mu\text{m}$	1 mm	0.1 mL/min
	2.1 mm	0.5 mL/min
2.6 $\mu\text{m}$	2.1 mm	0.8 mL/min
	3 mm	1.8 mL/min
	4.6 mm	0.3 mL/min
5 $\mu\text{m}$	2.1 mm	0.5 mL/min
	3 mm	1.3 mL/min
	4.6 mm	

## ■ Sample Considerations

Samples should be dissolved in a solvent with a composition as similar as possible to that of the mobile phase (initial solvent during gradient elution). Injecting a large volume of samples dissolved in a solvent with higher solubility than the mobile phase can lead to decreased separation efficiency or precipitation of the sample at the column inlet. Additionally, to prevent the precipitation of salts contained in the sample or the sample solvent within the column, please confirm their miscibility with the mobile phase before injection.

## ■ Column Clogging

The causes of pressure rise and peak splitting may include clogging or contamination of the filter at the column inlet.

- Filter the mobile phase using a 0.45  $\mu\text{m}$  membrane filter before flushing the flow line and connecting the column.
- Filter samples with a 0.2 – 0.45  $\mu\text{m}$  membrane before injecting.

- Possible causes of baseline drift and noise include pump malfunction due to dissolved air, decreased light intensity when using a UV detector, bubble formation during high-temperature analysis, and solvent purity. If baseline drift and noise occur and do not improve after flushing the column, please consider reviewing the equipment and analytical conditions.
- If macromolecules such as proteins or polysaccharides are adsorbed onto the column, they are generally difficult to remove by cleaning. For samples containing these substances or samples with many impurities, it is recommended to perform pre-treatment in advance.
- During long-term storage, replace the shipping solvent with Acetonitrile/Water = 45:55 (v:v). When storing, seal with the provided plug and keep it in a cool, clean, dark place with minimal temperature fluctuations and low humidity.

## ■ Precautions When Using Small ID and Small Particle Size UHPLC Columns

The extra-column volume has a significant effect on sample diffusion, especially with 1.0/2.1 mm ID columns. When using this size column, optimize the LC system as described below.

- The tubes from injector - column and column – detector should be as short as possible to minimize dead volume. Recommended tube ID is 0.15 mm or less. Take care when installing the tube to the inlet and outlet ports that no voids are formed in the connection.
- Use a semi-micro or micro flow cell in the UV or PDA detector. Use a fixed volume sample loop to minimize system volume from the injector.
- The detector response and the data sampling rate of the data processing device should be optimized according to the peak width.

## ■ Cleaning and Storing the Column

In general, columns should be cleaned using the following methods. The flushing volume during cleaning and replacement should be at least five times the column volume.

- If the mobile phase does not contain buffers or salts, increase the concentration of the organic solvent that makes up the mobile phase to wash away substances with significant retention remaining in the column. Organic solvents can be used up to 100%. If highly lipophilic components are adsorbed, adding THF may be effective.
- If the mobile phase contains buffers, salts, or ion-pairing agents, first replace it with a water/organic solvent mixture (in the same ratio as the mobile phase) that does not contain these components, and then clean as described above. For buffers or salts around 50 mmol/L, direct replacement with a 60% acetonitrile aqueous solution is possible. During this process, take care to ensure that salts do not precipitate.
- After using the column near the pH limits, washing with water alone may cause column degradation. It is recommended to clean with the aforementioned water/organic solvent mixture or a 60% acetonitrile aqueous solution.

## ■ Disposal Precautions

When disposing of the column, do so in accordance with the processing standards determined by law, separately from general industrial waste and household garbage.

## ■ Technical Support

Shim-pack NovaCore C18-HB columns are manufactured, inspected, packaged and shipped under strict standards of quality control. Should you find any defect in performance, please contact your local Shimadzu representative, who will ensure your complete satisfaction.

## CoreFocus

## Shim-pack™ NovaCore C18-HB [逆相カラム]

## 取扱説明書

## ■はじめに

本取扱説明書の対象はShim-pack NovaCore C18-HBです。Shim-pack NovaCore C18-HBは有機シリカハイブリッド基材を採用したコアシェルカラムです。優れたカラム性能を持つShim-pack NovaCore C18-HBを安定して長期間使用するために、本取扱説明書をよくお読みの上、正しく使用してください。

## ■ご使用にあたって

- カラムの外観、梱包等に異常がないかを確認してください。
- 入手されたカラムの充填剤名、粒子径、カラムサイズ等に誤りはないか、梱包箱やカラムに添付のラベルを確認してください。
- 検査成績書が同封されていることを確認してください。充填剤ロットNo.、カラムシリアルNo.、カラム性能、検査移動相などが記載されていますので大切に保管してください。
- 検査成績書に記載している理論段数は出荷時の品質を確認するための値であり、カラムの性能（仕様）を示すものではありません。

## ■カラムの仕様

Shim-pack NovaCore C18-HBは、製造にあたり厳格な品質管理を行い、安定した品質の製品をお客様にお届けしております。なお、カラムの出荷時封入溶媒はAcetonitrile / Water = 45 : 55 (v : v)です。Shim-pack NovaCore C18-HBの仕様は以下の通りです。

項目	仕様
修飾基	オクタデシルシリル基
細孔径	10 nm
比表面積	200 m <sup>2</sup> /g
炭素含有量	11%
エンドキャッピング	○
カラムハードウェア	ステンレス (SUS)
使用pH範囲	1-12
常用温度	20 - 40°C
上限温度	60°C*

\*上限温度は60°Cですが、60°Cで移動相pHが8を超える条件で使用すると、カラムの劣化速度は速くなります。

## 注記

仕様pH上限付近では10%以上の有機溶媒を含む移動相を使用してください。仕様pH上限付近では、温度や移動相組成などの条件によってカラム寿命が短くなる場合があります。また、仕様上限温度で使用を続けると、カラムの寿命が短くなる可能性があります。

## ■カラムの取り付け

- カラムには通液方向があります。カラムラベルに表示された方向(→)を確認して接続してください。
- 接続配管には内径0.25 - 0.3 mm(UHPLC : 0.1 - 0.2 mm)、外径1.6 mmのPEEK製またはSUS製チューブ(UHPLC : SUS製チューブ)を使用してください。ただし、テトラヒドロフラン(THF)、クロロホルム、濃硫酸、濃硝酸、ジクロロ酢酸、アセトン、ジクロロメタン、ジメチルスルホキシド(DMSO)、ヘキサフルオロイソプロパノール(HFIP)などのフッ素系有機溶媒を使用する際にはPEEK製チューブを使用しないでください。
- 1.7 μm粒子充填カラムは、5 μmや2.6 μm粒子充填カラムと比べて圧力が高くなります。分析システムや接続配管の耐圧にご注意ください。一般的には、60 MPa程度以上の耐圧を有したUHPLC対応システムでの使用が適しています。
- カラム外要因によるピーク広がりを抑えるためには、短くて、内径の小さい配管を選択することが有効です。
- カラムの接続にはメイルナットもしくはフィッティングを使用してください。接続の際には、余分な空隙が生じないように気を付けてください。カラムの接続についてはシステムガイドなど、LCシステムの取扱説明書も併せて参照してください。
- メイルナットもしくはフィッティングは下記の製品名、製品番号(P/N)で入手できます。

品名	P/N	備考	耐圧
メイルナットPEEK	228-18565-84	5個入り	20 MPa
メイルナット フィッティングキット	228-45717-01	2個入り	35 MPa
UHPLCフィッティング2S	228-56867-41	1個入り	130 MPa

## 注記

流路内の汚れや空気がカラムの中に入ると、カラムが劣化することがあります。カラムを接続する前にはあらかじめ移動相を送液し、装置流路内を洗浄してください。

- 溶出の早いピークがテーリングする場合、その原因としてデッドボリュームが考えられます。カラムジョイント部分に接続配管が奥まで挿入されているか確認してください。目安としてフェルールの先端から配管が5 mm程度出た状態で締結し、取り外したときにフェルールの先端から配管が2~3 mm出た状態であれば正常です。
- インジェクター - カラム - 検出器間の配管は、使用するカラムの内径やその分析系に適した内径、長さのものを選択してください。特にセミミクロカラムなどを用いて低流量で分析する場合には配管の影響が大きくなります。

## ■カラムの取り扱い

- カラムを落としたり、ぶつけたりしないでください。強いショックを与えるとカラムが劣化する原因となります。
- カラムは高い耐圧性を有していますが、長期間安定して使用するために下表に示す圧力以下で使用してください。

粒子径	カラム内径	上限圧力
1.7 $\mu\text{m}$	1.0 mm	103 MPa*
	2.1 mm	
2.6 $\mu\text{m}$	2.1 mm	103 MPa*
	3 mm	
	4.6 mm	
5 $\mu\text{m}$	2.1 mm	103 MPa*
	3 mm	
	4.6 mm	

\*上限圧力付近での連続使用はカラム寿命を低下させる要因となります。圧力はカラム長、カラム温度、有機溶媒の種類等によって異なるため、流速を適宜調整してください。

- カラムを取り外す時は、必ず装置圧力計の表示が0 MPaであることを確認してからカラムを取り外してください。
- 急激な圧力変動はカラムの早期劣化につながります。試料注入バルブの緩慢な動作は避けてください。
- 分析開始時に化合物の保持時間の再現性不良、ベースラインのドリフト、ノイズ等がある場合は、カラムの平衡化が十分でない可能性があります。分析に使用する移動相を用いてカラム容量の5倍以上を目安に通液するなど、改善がみられるまで送液することを推奨します。改善が見られない場合は装置や分析条件等の見直しもご検討ください。

### 注記

移動相にイオンペア試薬を用いた分析に使用したカラムは、イオンペア試薬を用いていない分析のカラムと比較して、溶出順序・保持時間・ピーク形状などが大きく変わることがあります。イオンペア試薬の使用履歴のあるカラムは、イオンペア試薬専用カラムとするなど専用化して使用することをおすすめします。

## ■移動相溶媒の選択

- 移動相には水系から非水系溶媒まで使用できますが、極性が極端に異なる溶媒間の置換を繰り返すとカラム性能が低下する恐れがあります。使用可能な一般的な有機溶媒は、アセトニトリル、メタノール、テトラヒドロフラン (THF) などです。ただし、THF 使用時は流路に使用する配管などの材質の耐溶媒性にご注意ください。

### 注記

互いに混合しない水系溶媒から非水系溶媒への変更は、両方の溶媒に混和するイソプロパノールやジオキサンなどの中間極性溶媒を通常カラム容量の10倍以上 (150  $\times$  4.6 mm I.D. ならば約25 mL) を流してから置換してください。なお、中間極性溶媒は圧力が高くなりますので流量を半分に落として通液するなど、圧力に注意して置換してください。

- 移動相のpHや温度などの条件によってはカラム寿命に影響する場合があります。通常は20~40 °Cの間で使用してください。アルカリ条件下で長期使用される場合は、1~10 mmol/Lなど低濃度の有機系緩衝液を用い、低温(<30 °Cなど)で使用することを推奨します。

## ■カラムの流量

推奨流量範囲は下表を参考にしてください。

粒子径	カラム内径	推奨流量
1.7 $\mu\text{m}$	1 mm	0.1 mL/min
	2.1 mm	0.5 mL/min
2.6 $\mu\text{m}$	2.1 mm	
	3 mm	0.8 mL/min
	4.6 mm	
5 $\mu\text{m}$	2.1 mm	0.3 mL/min
	3 mm	
	4.6 mm	

## ■試料

試料はなるべく移動相と同じ組成の溶媒(グラジエント溶離時は初期溶媒)に溶かしてください。移動相より溶解力の高い溶媒に溶かした試料を多量に注入すると、分離能が低下したり、カラムの入口部で試料が析出したりします。また、試料や試料溶解溶媒に含まれる塩類がカラム内で析出することがないよう、これらの移動相への混和性を確認してから注入してください。

## ■カラムの目詰まり等

圧力上昇やピーク割れの原因としては、カラム入口のフィルターの目詰まりや汚れが考えられます。

- 移動相は0.45  $\mu\text{m}$ 以下のメンブランフィルターなどでろ過してから使用してください。
- 試料液は、メンブランフィルター(0.2~0.45  $\mu\text{m}$ )などでろ過してから注入してください。

- ベースラインドリフトおよびノイズの原因として、溶存空気によるポンプ動作不良、UV検出器使用時の光量低下、高温分析における気泡発生、溶媒純度などが考えられます。ベースラインドリフトおよびノイズが発生した際、カラムを洗浄しても改善が見られない場合は装置や分析条件等の見直しもご検討ください。

## ■ 内径の小さいカラムや粒子径の小さいカラムを使用したUHPLC分析時のシステム上の注意

システム流路における試料の拡散(カラム外拡散)は、カラム性能に大きく影響します。特に内径 1.0、2.1 mm のカラムを用いる場合は、下記に示すように分析システムの使用環境を最適化してください。

- 1) インジェクター - カラム - 検出器間の配管は内径の小さい(0.15 mm 以下)のものを用い、デッドボリュームができるだけ小さくしてください。また、配管接続部分に空隙が生じないようご注意ください。
- 2) 検出器のフローセルはセミミクロ用もしくはミクロ用などの低容量タイプをご使用ください。サンプルループを最小化してください。
- 3) 検出器のレスポンスやデータ処理装置のデータサンプリング速度は、ピーク幅に応じて最適化してください。

## ■ カラムの洗浄と保管

一般にカラムは以下の方法で洗浄してください。洗浄および置換の際の通液量はカラム容量の 5 倍以上が目安です。

- 移動相に緩衝液や塩を含まない場合は、移動相を構成する有機溶媒の濃度を高めて、カラムに残存する保持の大きな物質を洗浄してください。有機溶媒は 100% まで使用できます。特に脂溶性の高い成分が吸着している場合、THF を添加すると効果的な場合があります。
- 移動相に緩衝液や塩を含む場合やイオンペア剤などを含む移動相を使用した場合は、これらを含まない水／有機溶媒混合液(移動相と同等比率)に一旦置換した後、上記と同様に洗浄してください。50 mmol/L 程度の緩衝液や塩であれば、60% アセトニトリル水溶液に直接置換できます。この時、塩が析出しないよう置換手順にはご注意下さい。
- pH限界付近で使用後、水のみで洗浄するとカラム劣化を引き起こす場合があります。前述の水／有機溶媒混合液や 60% アセトニトリル水溶液で洗浄してください。
- タンパク質や多糖類などの高分子化合物がカラムに吸着した場合、洗浄により除去することは一般的に困難です。これらを含む試料や夾杂物の多い試料の場合、あらかじめ前処理を行うことを推奨します。

- 長期間保管時は、出荷時の封入溶媒のAcetonitrile / Water = 45 : 55 (v : v)で置換してください。保管する場合は付属のプラグで密栓をして、温度変化が小さく、湿気の少ない涼しい清浄な暗所に保管してください

## ■ カラムの廃棄

カラムは産業廃棄物として、「廃棄物の処理及び清掃に関する法律(廃棄物処理法)」および各自治体の条例に従って処理してください。

## ■ テクニカルサポート

本カラムの技術的なご質問やご相談については、以下の窓口で承ります。ただし、前記取り扱い注意事項に従わないで使用して劣化したものにつきましては、保証いたしかねます。

### 株式会社 島津ジーエルシー

#### 本社

住所：東京都台東区浅草橋5-20-8 CSタワー5F  
TEL：03-5835-0120

#### 関西支店

住所：大阪市北区豊崎3-1-22 淀川6番館6F  
TEL：06-7220-9086  
<https://solutions.shimadzu.co.jp/glc/>  
gsupport@glc.shimadzu.co.jp