

Analysez les composés polaires complexes en toute confiance

Colonne Agilent InfinityLab Poroshell 120, ZORBAX et Polaris pour chromatographie par interaction hydrophile (HILIC)



Vous pouvez vous appuyer sur Agilent pour développer une méthode HILIC solide et fiable

La chromatographie par interaction hydrophile (HILIC) est de plus en plus utilisée, en raison de sa capacité à retenir et à séparer les petits composés polaires sur des systèmes de LC classiques avec des solvants courants de phase inverse. Cette technique a l'avantage d'offrir une meilleure rétention des composés polaires qu'en phase inverse alliée à la capacité à utiliser des éluants compatibles avec la MS avec une configuration simplifiée, avec pour conséquence une amélioration de l'ionisation et de la sensibilité en mode MS.

1



La préparation des échantillons est le bon point de départ pour toutes vos analyses. Qu'il s'agisse d'utiliser la simple filtration, l'extraction liquide sur support solide (SLE), la purification par catch-and-release, les QuEChERS ou l'extraction en phase solide (SPE), Agilent vous propose des produits de haute qualité pour répondre à vos besoins de préparation d'échantillons, du Captiva EMR-Lipid primé aux kits SPE Bond Elut et QuEChERS éprouvés.

www.agilent.com/chem/sampleprep

2



De l'analyse de routine à la recherche de pointe, la série LC InfinityLab offre la plus large gamme de solutions en HPLC et en UHPLC pour toutes les applications et tous les budgets.

www.agilent.com/chem/LC

3



Utilisez les consommables Agilent InfinityLab pour augmenter la cadence et réduire l'immobilisation des instruments dans vos applications HILIC :

- Bouchons Stay Safe pour éviter l'évaporation de solvants nocifs et maintenir constante la concentration de votre phase mobile
- Raccords rapides Quick Connect et Quick Turn pour réaliser vos connexions sans la moindre difficulté
- Ensemble filtration et filtres en ligne pour éliminer les particules des phases mobiles tamponnées et prolonger la durée de vie de votre colonne
- Microplaques pour les applications à cadence élevée
- Consommables intelligents, tels que les étiquettes d'identification de colonne, les lampes au deutérium et les cellules avec identification par radiofréquence pour améliorer la traçabilité et simplifier la documentation

www.agilent.com/chem/lc-supplies

4



La gamme Agilent InfinityLab Poroshell 120 propose trois phases HILIC modernes offrant une efficacité de séparation, une robustesse et une reproductibilité chromatographique excellentes pour l'analyse de vos composés polaires par LC/MS. L'interaction des composés avec les surfaces métalliques vous pose des difficultés ? Utilisez l'additif de passivation Agilent InfinityLab pour désactiver les surfaces métalliques de votre système. Les solvants de LC/MS ultrapurs d'Agilent permettent de réduire le bruit de fond de la MS.

www.agilent.com/chem/poroshell-HILIC

Comment sélectionner ma colonne HILIC ?

Agilent propose une large gamme de colonnes conçues pour les séparations modernes par HILIC. Il existe trois types principaux d'interactions hydrophiles permettant la rétention et la séparation en mode HILIC : les interactions ioniques, les interactions dipôle-dipôle hydrophiles et les liaisons hydrogène. Il est recommandé de tester plusieurs phases stationnaires pour déterminer celle qui convient à votre application. Néanmoins, les groupements fonctionnels de votre analyte et ses possibles interactions avec la colonne peuvent orienter votre choix d'une colonne HILIC appropriée pour commencer.

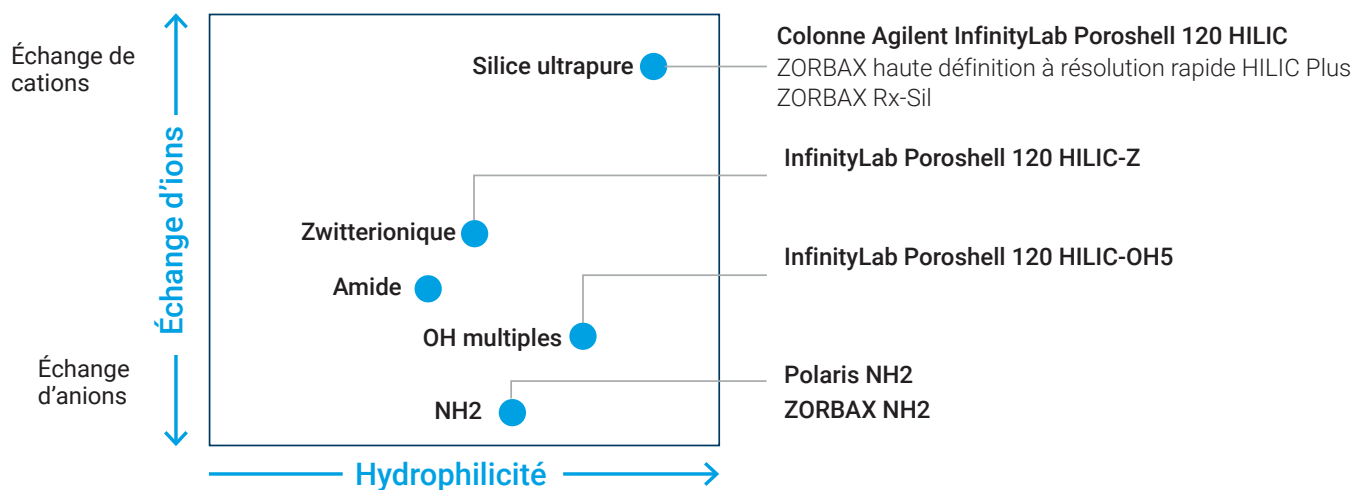


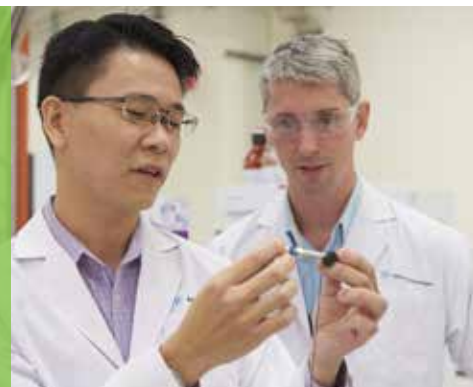
Figure 1. Carte qualitative de l'hydrophilicité et des capacités d'échange d'ions de différentes colonnes HILIC d'Agilent. Données mesurées d'après Ibrahim et al., J.Chrom.A, 1260, (2012).

Quelle est la phase mobile adaptée à ma séparation par HILIC ?

Les phases mobiles sont le deuxième facteur à prendre en compte pour varier la sélectivité en HILIC. La phase mobile aqueuse forte est souvent tamponnée pour bien sélectionner et contrôler les mécanismes de rétention, ainsi que pour prévenir l'élargissement des pics et les variations de sélectivité dus aux faibles changements de pH. De la même façon, l'acétonitrile tamponné est souvent utilisé comme phase mobile organique faible.

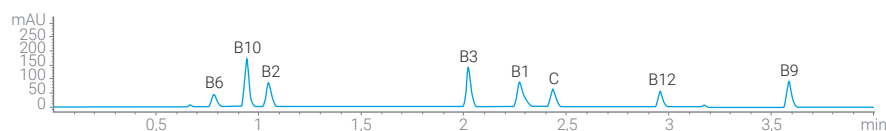
Considérations générales	Concentration typique du tampon : 5–30 mM ; le plus souvent : les concentrations de 10–20 mM en phosphates doivent être évitées, car ils ont une faible solubilité dans les phases à fortes teneurs en acétonitrile	
	Tampon et pH	Phase stationnaire appropriée
Composés basiques	Formiate d'ammonium, pH 3 Acétate d'ammonium, pH 4–5	Poroshell 120 HILIC-Z Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC ZORBAX HILIC Plus
Mélange de composés acides et basiques	Acétate d'ammonium, pH~7	Poroshell 120 HILIC-Z Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC ZORBAX HILIC Plus
Composés acides	Formiate d'ammonium, pH 9–10	Poroshell 120 HILIC-Z
Sucres	Hydroxyde d'ammonium, pH 10–11	Poroshell 120 HILIC-Z

Les colonnes HILIC Agilent InfinityLab Poroshell 120 assurent des séparations chromatographiques rapides, fiables et reproductibles

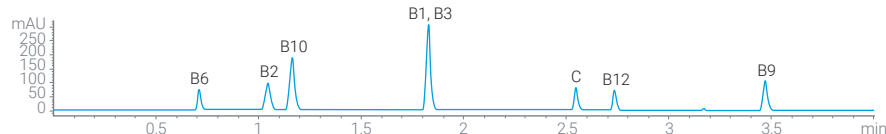


Découvrez les dernières innovations dans le monde de la chromatographie par interaction hydrophile (HILIC). Agilent propose trois phases HILIC orthogonales uniques : une phase de silice ultrapure (HILIC), une phase de fructane polyhydroxylée (HILIC-OH5) et une phase zwitterionique (HILIC-Z). La robustesse et la reproductibilité des séparations par HILIC sur les colonnes Agilent InfinityLab Poroshell vous permettent d'éviter les applications en phase normale et la chromatographie d'appariement d'ions souvent incompatibles avec la MS.

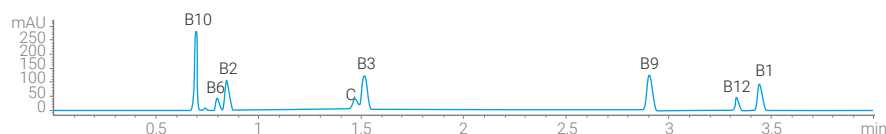
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5, 2,1 x 100 mm, 2,7 µm



InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2,1 x 100 mm, 2,7 µm



InfinityLab Poroshell 120 HILIC, 2,1 x 100 mm, 2,7 µm



Conditions :

Phase mobile : A : acétate d'ammonium
100 mM + acide acétique
0,5 % (pH~4,6) dans H₂O
B : CH₃CN 0,5 mL/min, 87 % de
B pendant 1 min, 87-50 %
de B en 4 min, 3 min de
stabilisation

Débit : injection de 1 µL, 40 °C
Température : 40 °C
Détecteur : Détection UV à 260 nm, 80 Hz

Échantillon : vitamines solubles dans l'eau

Figure 2. Les colonnes InfinityLab HILIC-Z et HILIC-OH5 proposent une large gamme de sélectivités alternatives pour la séparation des composés polaires. Cette séparation d'une solution de vitamines solubles dans l'eau avec les mêmes conditions de méthode montre les différences de sélectivité entre les phases HILIC. Les séparations peuvent être optimisées sur chaque colonne en modifiant les conditions de la méthode.

Tableau 1. Exemples de colonnes de la gamme Poroshell 120 recommandées pour les séparations par HILIC.

Phase de la colonne	Phase stationnaire	Granulométrie et dimensions	Plage de pression	Utilisation recommandée
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z	Zwitterionique	Granulométrie : 1,9/2,7/4 µm d.i. : 2,1/3/4,6 mm Longueur : 50, 100, 150, 250 mm	1 300 bars (1,9 µm) 600 bars (2,7/4 µm)	Point de départ pour le développement de la méthode HILIC. Gamme de pH élevé. Disponible avec revêtement en PEEK.
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5	Phase de fructane polyhydroxylée	Granulométrie : 2,7 µm d.i. : 2,1, 4,6 mm Longueur : 50, 100, 150 mm	400 bars (2,7 µm)	Sélectivité différente avec un échange ionique réduit, mais une forte capacité de formation de liaisons hydrogène.
Colonne Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Silice ultrapure	Granulométrie : 1,9, 2,7, 4 µm d.i. : 2,1, 3, 4,6 mm Longueur : 50, 100, 150, 250 mm	1 300 bars (1,9 µm) 600 bars (2,7, 4 µm)	Échantillons simples ne contenant pas de composés relativement semblables. Ressuage ultrafaible.

Rétention et séparation des composés fortement chargés

Les colonnes Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z comprennent une nouvelle phase stationnaire zwitterionique greffée sur des particules Poroshell 120. Les avantages sont multiples :

- Option de colonne avec revêtement PEEK pour une forme de pic excellente et un recouvrement élevé pour certains composés ;
- Stabilité dans les conditions de pH élevé jusqu'à pH 12 à 35 °C ; stabilité thermique jusqu'à 80 °C à pH 7 ;
- Compatibilité avec les tampons adaptés à la MS (teneur en sels < 10 mM)

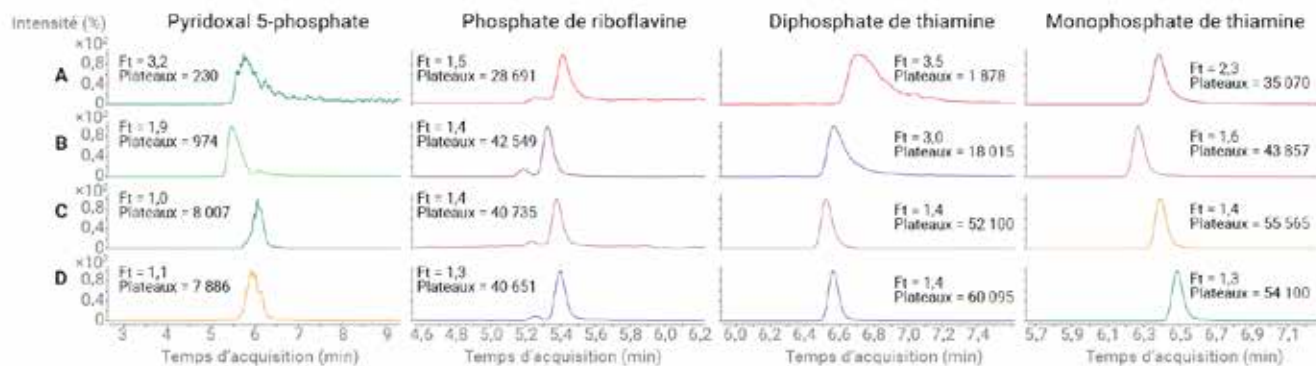


Figure 3. Interactions des métabolites phosphorylés avec l'acier : avant et après rinçage. A) Avant rinçage du système ; B) Après rinçage du système, colonne HILIC-Z ; C) Après rinçage du système, colonne HILIC-Z, avec additif de passivation ; D) Après rinçage du système, colonne HILIC-Z à revêtement en PEEK, avec additif de passivation.

Une sélectivité alternative pour séparer les composés polaires

Séparez les composés polaires grâce à une sélectivité différente, la phase InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5–Polyhydroxy fructan greffée sur des particules Poroshell 120 :

- Séparations rapides et très efficaces, avec une excellente rétention des composés polaires
- Sélectivité alternative aux phases Poroshell 120 HILIC et HILIC-Z.

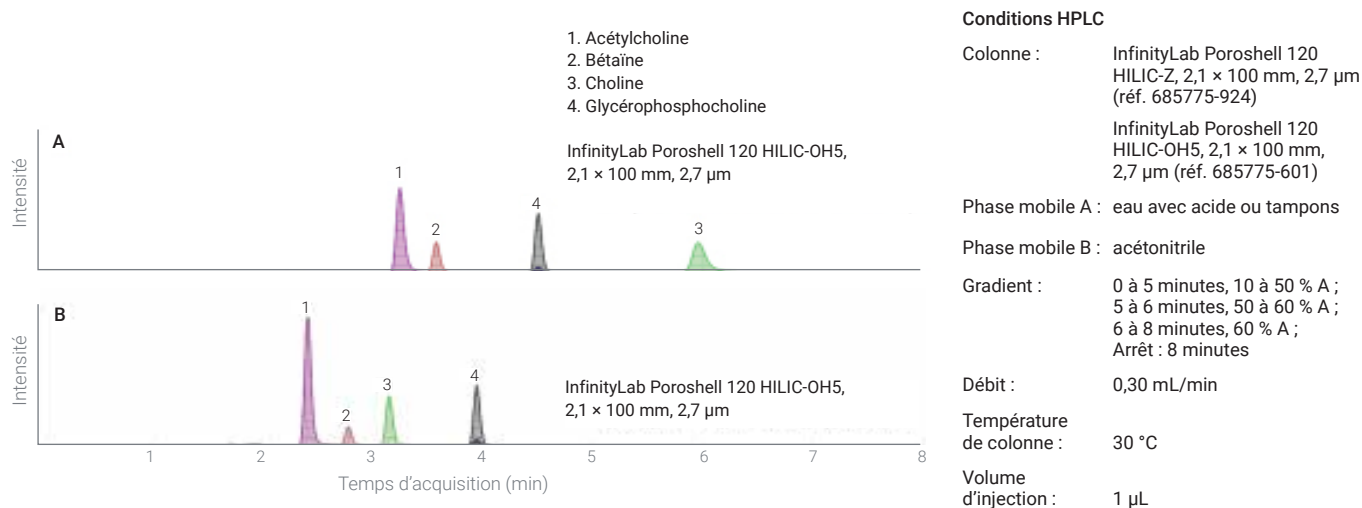
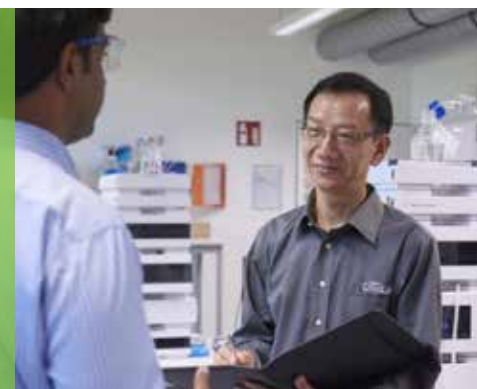
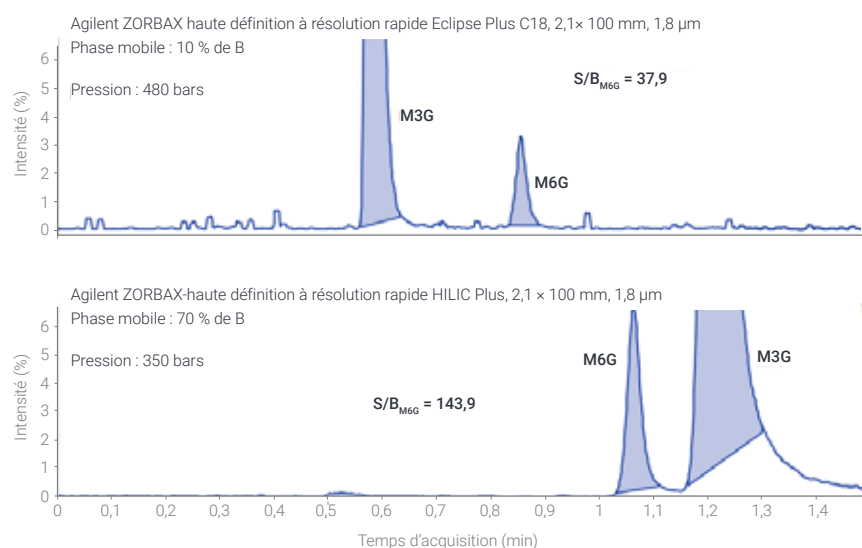


Figure 4. Analyses de métabolites de la choline sur Poroshell 120 HILIC-OH 5 et HILIC-Z par LC/MS/MS.

Des matériaux totalement poreux et fiables pour vos séparations par HILIC



Les colonnes HILIC Agilent ZORBAX et Polaris sont conçues pour la chromatographie par interaction hydrophile (HILIC) et représentent une solution de rechange totalement poreuse pour le développement de votre méthode HILIC. Choisissez parmi les phases traditionnelles de silice ultrapure (HILIC Plus et Rx-Sil) ou utilisez notre phase amine (Polaris NH2) robuste et fiable.



Conditions :

Phase mobile : A : formiate d'ammonium 10 mM pH 3,2 dans l'eau
B : acétonitrile/formiate d'ammonium 100 mM pH 3,2 dans l'eau (9:1)

Débit : 0,4 mL/min

Élution : isocratique

Injection : 2 µL de morphine-3-β-D-glucuronide et de morphine-6-β-D-glucuronide (1 µL/mL de chaque)

Colonnes : 2,1 × 100 mm, 1,8 µm

Température : 25 °C

Source MS : ESI+, 200 V, 250 °C, 11 L/min, 30 psi, 4 000 V

SIM : 462, frag 170 V

Numéro de publication Agilent 5991-0245

Figure 5. Comparaison entre les modes phase inverse et HILIC avec la colonne ZORBAX haute définition à résolution rapide HILIC Plus. Le mode HILIC permet une vaporisation et une désolvatation plus efficaces dans la source d'ionisation electrospray-MS par rapport à la LC en phase inverse, générant un bruit de ligne de base plus faible, un signal MS plus intense et une sensibilité plus élevée.

Tableau 2. Exemples de colonnes ZORBAX et Polaris recommandées pour une utilisation en mode HILIC.

Phase de la colonne	Phase stationnaire	Granulométrie et dimensions	Plage de pression	Applications
ZORBAX HILIC Plus	Silice ultrapure	Granulométrie : 1,8, 3,5 µm d.i. : 2,1, 4,6 mm Longueur : 50, 100 mm	1 200 bars (1,8 µm) 400 bars (3,5 µm)	Silice ultrapure universelle pour les échantillons de faible complexité.
ZORBAX Rx-Sil	Silice ultrapure	Granulométrie : 1,8 ; 5 µm d.i. : 2,1, 3, 4,6 mm Longueur : diverses (50–250 mm)	600 bars (1,8 µm) 400 bars (5 µm)	Silice ultrapure avec une rétention plus élevée et une sélectivité différente.
Polaris NH2	Amine	Granulométrie : 3 ; 5 µm d.i. : 2,1, 4,6 mm Longueur : 50, 150, 250 mm	400 bars (3 µm) 400 bars (5 µm)	Sélectivité différente avec des propriétés d'échange d'anions forts pour les composés acides.

« Avant d'acheter la colonne Poroshell 120 HILIC-Z, nous avions souvent des problèmes avec la colonne concurrente que nous utilisions. Il n'était pas rare d'obtenir des formes de pics médiocres et des décalages de TR. Dès que nous avons développé des méthodes internes avec la colonne HILIC-Z, nos formes de pics se sont améliorées rapidement et les TR se sont nettement stabilisés. Nous avons aussi obtenu une meilleure limite de quantification grâce aux pics plus fins et une meilleure séparation entre les composés et les interférences dues à la matrice. Lorsqu'ils analysent des pesticides polaires avec cette colonne, nos analystes se sentent plus à l'aise et plus en confiance que jamais. »

– **Elisa Platjouw,**
Analytical Scientist, Eurofins Pays-Bas



Exemples d'applications soulignant les avantages des colonnes HILIC d'Agilent

Application	Secteur	Colonne utilisée	Titre de la note d'application	Numéro de publication
Comparaison entre la LC en phase inverse et par HILIC	Tous secteurs	Divers	Retaining and separating Polar Molecules—a detailed investigation of when to use HILIC versus a reversed-phase LC column.	5994-1137EN
Guide du débutant pour le développement de méthodes HILIC	Tous secteurs	Poroshell 120 HILIC Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC-Z	Hydrophilic interaction. Chromatography method. Development and troubleshooting.	5991-9271EN
Présentation de l'utilisation de colonnes HILIC dans les analyses par LC/MS/MS	Tous secteurs	Poroshell 120 HILIC-Z ZORBAX haute définition à résolution rapide HILIC Plus	Application of Novel HILIC Column configurations to improve LC/ESI/MS sensitivity of metabolites.	Poster ASMS 2018 WP-536
Acides aminés non dérivatisés dans les matrices complexes	Agroalimentaire	Poroshell 120 HILIC-Z	Analysis of amino acids in animal feed matrices using the Ultivo Triple Quadrupole LC/MS System.	5994-0586EN
Vitamines solubles dans l'eau	Agroalimentaire	Poroshell 120 HILIC-OH5	Analysis of water-soluble vitamins on an Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 Column.	5991-8780EN
Séparation des nucléotides	Biopharmacie	Poroshell 120 HILIC-Z (revêtement en PEEK)	HPLC-DAD analysis of nucleotides using a fully inert flow path.	5994-0680EN

Vous trouverez d'autres notes d'application en utilisant l'[outil de recherche d'applications de LC Agilent](#).

Fiables, efficaces et toujours innovants pour les meilleurs résultats possible

Vous pouvez compter sur les instruments, colonnes et consommables de LC Agilent InfinityLab pour obtenir des résultats analytiques robustes et de qualité. Mais notre promesse ne s'arrête pas là. Tous les composants de la gamme de LC Agilent InfinityLab sont spécialement conçus pour fonctionner harmonieusement et vous permettre d'améliorer continuellement votre méthode, car plus vous gagnez en efficacité, plus vous êtes productif et plus vous réduisez vos coûts de fonctionnement.

Pour en savoir plus sur la gamme InfinityLab Poroshell, rendez-vous sur

www.agilent.com/chem/Poroshell-HILIC

Pour acheter en ligne :

www.agilent.com/chem/store

Pour obtenir les réponses à vos questions techniques et accéder à des ressources dans la communauté Agilent :

community.agilent.com

France

0810 446 446

customercare_france@agilent.com

États-Unis et Canada

agilent_inquiries@agilent.com

Europe

info_agilent@agilent.com

Asie et Pacifique

inquiry_lsca@agilent.com

DE.1032986111

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2020
Publié aux États-Unis, le 8 décembre 2020
5994-2798FR