

# Analizza in maniera affidabile composti polari complessi

Colonne Agilent InfinityLab Poroshell 120, ZORBAX e Polaris  
per cromatografia a interazione idrofilica (HILIC)



# Fai affidamento su Agilent per creare un flusso di lavoro HILIC resistente e affidabile

La crescente popolarità della cromatografia a interazione idrofilica (HILIC) si deve alla capacità di trattenere e separare analiti polari di piccole dimensioni impiegando un sistema LC standard e i comuni solventi per fase inversa. Tra i vantaggi di questa tecnica vi è la migliore ritenzione degli analiti polari rispetto ai metodi a fase inversa, come anche la capacità di utilizzare eluenti compatibili con le tecniche MS con qualsiasi configurazione. Ciò consente di ottenere ionizzazione e sensibilità migliorate in modalità MS.

1



La preparazione del campione è il giusto punto di partenza per tutte le tue analisi. Indipendente se utilizzi una semplice filtrazione, l'estrazione liquida su supporto solido (SLE), la purificazione mediante cattura e rilascio, la tecnica QuEChERS o l'estrazione in fase solida (SPE), Agilent offre un prodotto di alta qualità per le tue esigenze di preparazione del campione, dal premiato Captiva EMR-Lipid agli affidabili prodotti per SPE Bond Elut e ai kit QuEChERS.

[www.agilent.com/chem/sampleprep](http://www.agilent.com/chem/sampleprep)

2



Dall'analisi di routine alla ricerca d'avanguardia, la serie LC InfinityLab offre la più ampia gamma di soluzioni HPLC e UHPLC per qualsiasi applicazione e qualsiasi budget.

[www.agilent.com/chem/LC](http://www.agilent.com/chem/LC)

3



Utilizza i prodotti di consumo Agilent InfinityLab per incrementare la produttività e ridurre al minimo il fermo macchina degli strumenti per le tue applicazioni HILIC:

- Tappi Stay Safe che possono aiutarti a prevenire l'evaporazione di solventi nocivi e a mantenere uniforme la concentrazione della tua fase mobile
- Raccordi Quick Connect e Quick Turn per connessioni facili e senza intoppi
- gruppo di filtraggio e filtri in linea per rimuovere particelle dalle fasi mobili tamponate prolungando così la durata della colonna
- Piastre a pozzetti per applicazioni ad alta produttività
- Prodotti di consumo intelligenti come colonne con ID tag, lampade al deuterio e celle di flusso con RFID per migliorare la tracciabilità e semplificare la documentazione

[www.agilent.com/chem/lc-supplies](http://www.agilent.com/chem/lc-supplies)

4

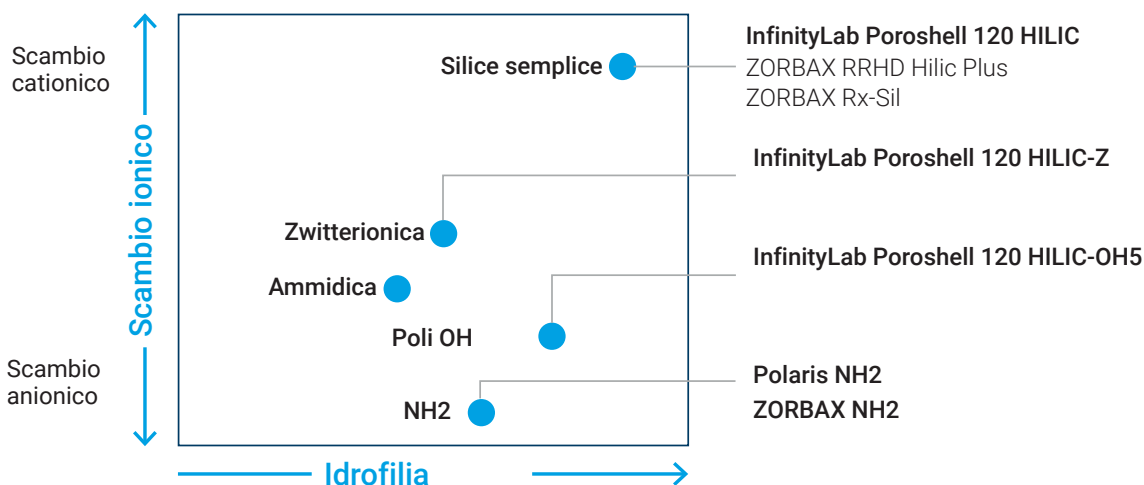


La gamma InfinityLab Poroshell 120 mette a disposizione tre moderni riempimenti HILIC che offrono i più alti livelli di efficienza della separazione, robustezza e riproducibilità cromatografica per le tue analisi LC/MS di composti polari. Problemi con gli analiti che interagiscono con le superfici metalliche? Usa l'additivo disattivatore Agilent InfinityLab per disattivare le superfici metalliche all'interno del tuo sistema. I solventi per LC/MS ultra puri di Agilent aiutano a ridurre al minimo il segnale di fondo in MS.

[www.agilent.com/chem/poroshell-HILIC](http://www.agilent.com/chem/poroshell-HILIC)

## Come scegliere la tua colonna HILIC?

Agilent offre un'ampia scelta di colonne progettate per le moderne separazioni HILIC. Esistono tre principali interazioni idrofiliche che consentono la ritenzione e la separazione in modalità HILIC: interazioni ioniche, interazioni dipolo-dipolo idrofiliche e legame a idrogeno. Anche se è consigliabile esaminare varie fasi stazionarie per identificare la fase stazionaria più adatta, i gruppi funzionali del tuo analita e le sue possibili interazioni con la colonna possono contribuire a indicare una colonna HILIC idonea che possa rappresentare un buon punto di partenza.



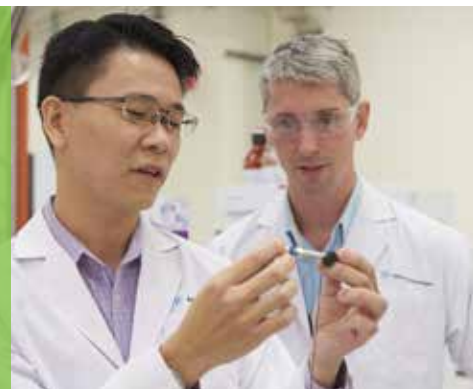
**Figura 1.** Mappa qualitativa di idrofilia e capacità di scambio ionico per differenti colonne HILIC Agilent. Dati misurati secondo Ibrahim et al., J.Chrom.A, 1260, (2012).

## Qual è la fase mobile più adatta per la tua separazione HILIC?

Le fasi mobili sono il secondo fattore per importanza da considerare per variare la selettività nella tecnica HILIC. La fase mobile forte acquosa viene spesso tamponata per selezionare e controllare attentamente i meccanismi di ritenzione e per prevenire l'allargamento dei picchi come anche modificazioni della selettività dovute a piccole variazioni del pH. Allo stesso modo, l'acetonitrile tamponato viene usato nella maggior parte dei casi come fase mobile organica debole.

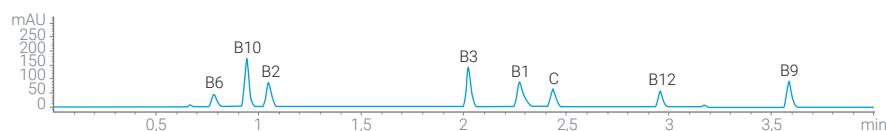
Considerazioni generali	Concentrazione tipica del tampone: 5-30 mM; per lo più: 10-20 mM I fosfati devono essere evitati in quanto hanno bassa solubilità in alte percentuali di ACN	
	Tampone e pH	Fase stazionaria idonea
<b>Analiti basici</b>	Formiato di ammonio, pH 3 Acetato di ammonio, pH 4-5	Poroshell 120 HILIC-Z Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC ZORBAX Hilic Plus
<b>Miscela di composti acidi e basici</b>	Acetato di ammonio, pH ~7	Poroshell 120 HILIC-Z Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC ZORBAX Hilic Plus
<b>Analiti acidi</b>	Formiato di ammonio, pH 9-10	Poroshell 120 HILIC-Z
<b>Zuccheri</b>	Idrossido di ammonio, pH 10-11	Poroshell 120 HILIC-Z

# Le colonne HILIC Poroshell 120 consentono una cromatografia rapida, affidabile e riproducibile

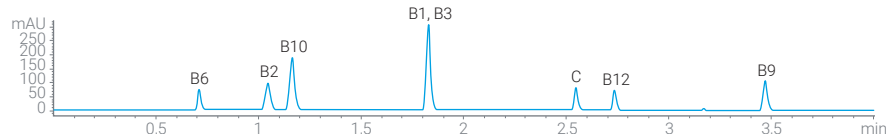


Scopri le nuove arrivate nel mondo della tecnica HILIC! Agilent offre tre esclusive fasi HILIC tra loro ortogonali: silice semplice (HILIC), poliidrossi fruttano (HILIC-OH5) e zwitterionica (HILIC-Z). La robustezza e riproducibilità delle separazioni HILIC con le colonne InfinityLab Poroshell aiutano il passaggio da una problematica cromatografia a coppia ionica, spesso incompatibile con le tecniche MS, ad applicazioni in fase normale.

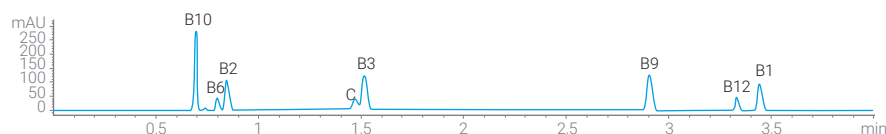
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5, 2,1 x 100 mm, 2,7 µm



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



**Condizioni:**

**Fase mobile:** A: 100 mM di acetato di ammonio + 0,5% di acido acetico (pH ~4,6) in H<sub>2</sub>O  
 B: CH<sub>3</sub>CN 0,5 mL/min, 87% B per 1 min, 87-50% B in 4 min, 3 min di riequilibrio

**Flusso:** Iniezione di 1 µL, 40 °C

**Temperatura:** 40 °C

**Rivelatore:** Rivelazione UV a 260 nm, 80 Hz

**Campione:** vitamine idrosolubili

**Figura 2.** Le colonne InfinityLab HILIC-Z e HILIC-OH5 offrono un'ampia scelta di selettività alternative per le separazioni di analiti polari. Questa separazione di vitamine idrosolubili evidenzia le diverse selettività delle fasi HILIC utilizzando le stesse condizioni del metodo. È possibile ottimizzare le separazioni su ciascuna colonna modificando le condizioni del metodo.

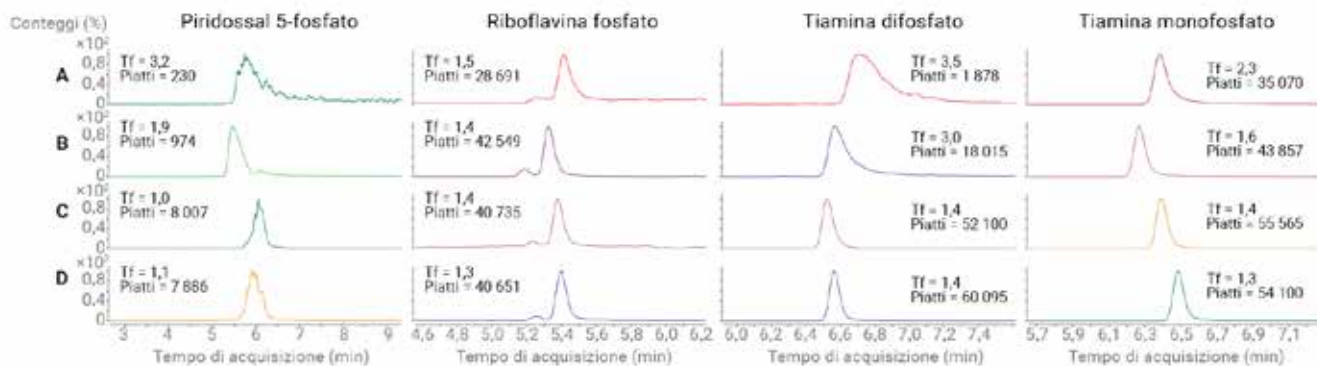
**Tabella 1.** Colonne selezionate dalla gamma Poroshell 120 che sono raccomandate per l'uso con tecnica HILIC.

Riempimento della colonna	Fase stazionaria	Dimensioni delle particelle e misure	Intervallo di pressione	Uso raccomandato
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z	Zwitterionica	Dimensioni delle particelle: 1,9; 2,7; 4 µm d.i.: 2,1; 3; 4,6 mm Lunghezza: 50; 100; 150; 250 mm	1300 bar (1,9 µm) 600 bar (2,7; 4 µm)	Punto di partenza per lo sviluppo del metodo HILIC. intervallo di pH elevato. Disponibile nella versione con rivestimento in PEEK.
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5	Fase di poliidrossi fruttano	Dimensioni delle particelle: 2,7 µm d.i.: 2,1; 4,6 mm Lunghezza: 50; 100; 150 mm	400 bar (2,7 µm)	Selettività alternativa con ridotto carattere a scambio ionico ma forte carattere del legame a idrogeno.
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Silice semplice	Dimensioni delle particelle: 1,9; 2,7; 4 µm d.i.: 2,1; 3; 4,6 mm Lunghezza: 50; 100; 150; 250 mm	1300 bar (1,9 µm) 600 bar (2,7; 4 µm)	Campioni semplici che non contengono composti piuttosto simili. Spurgo ultra ridotto.

## Ritenzione e separazione di composti altamente carichi

Le innovative colonne InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z sono dotate di un'innovativa fase stazionaria zwitterionica legata a particelle Poroshell 120. Tra i vantaggi:

- colonna con opzione di rivestimento in PEEK per un'eccellente forma dei picchi e il recupero di composti complessi
- stabilità a pH elevati fino a pH 12 a 35 °C; stabilità alla temperatura fino a 80 °C a pH 7
- compatibilità con soluzioni tampone idonee per la tecnica MS (contenuto salino <10 mM)

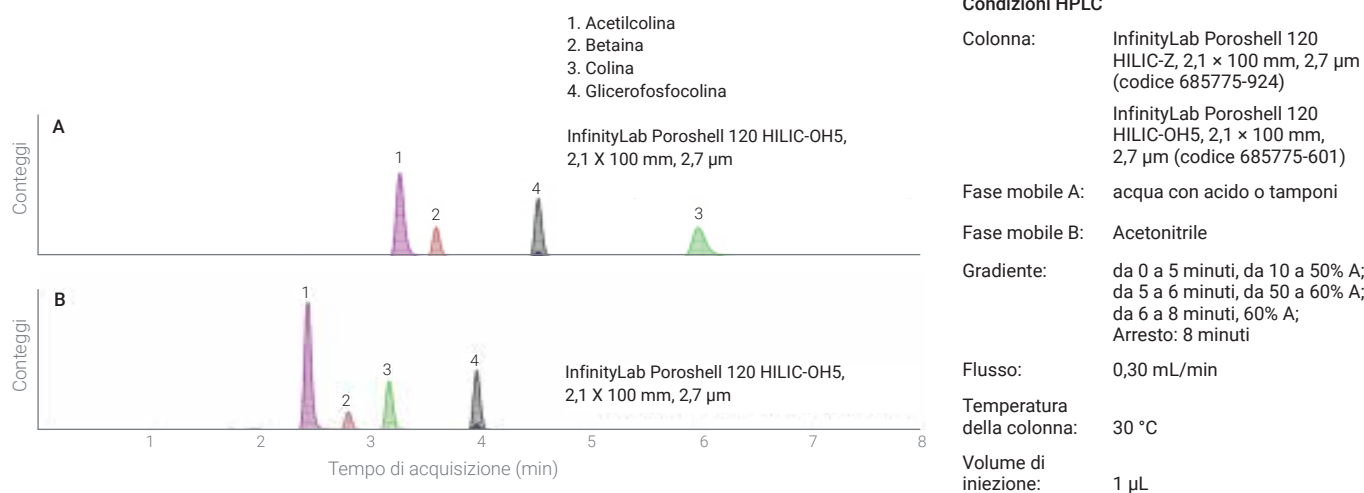


**Figura 3.** Interazioni di metaboliti fosforilati con l'acciaio: prima e dopo il lavaggio. A) Prima del lavaggio del sistema; B) Dopo il lavaggio del sistema, colonna HILIC-Z; C) Dopo il lavaggio del sistema, colonna HILIC-Z, con disattivatore; D) Dopo il lavaggio del sistema, colonna HILIC-Z con rivestimento in PEEK, con disattivatore.

## Separazione di composti polari mediante selettività alternativa

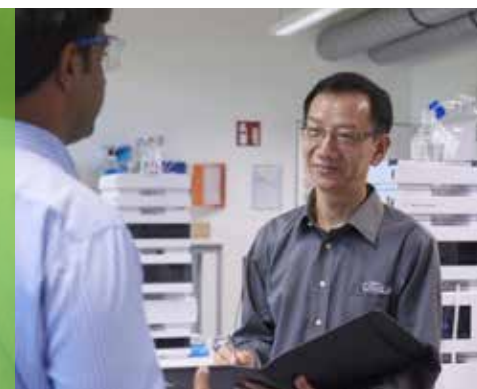
Separazione di composti polari mediante selettività alternativa: InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5, fase di poliidrossi fruttano legata a particelle Poroshell 120:

- Separazioni rapide e ad alta efficienza con eccellente ritenzione di composti polari
- Offre una selettività alternativa rispetto alle fasi Poroshell 120 HILIC e HILIC-Z

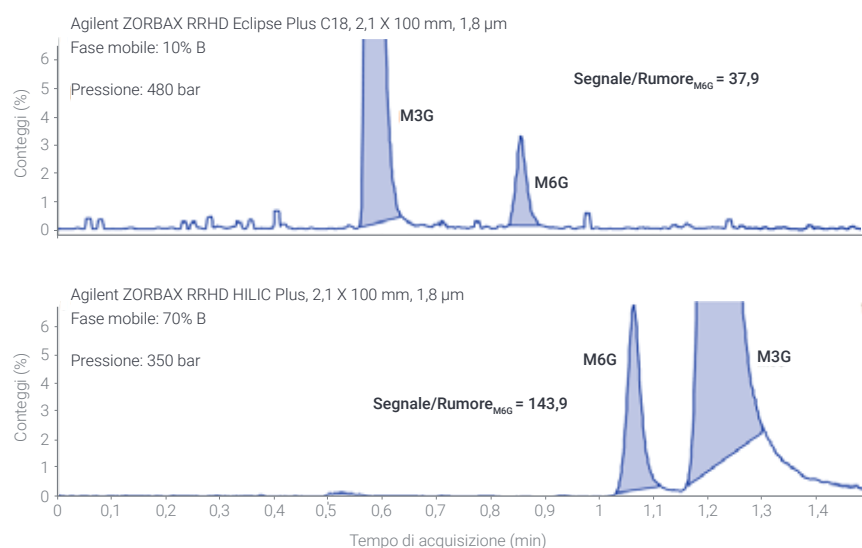


**Figura 4.** Analisi di metaboliti di colina con Poroshell 120 HILIC-OH 5 e HILIC-Z mediante LC/MS/MS.

# Materiali affidabili completamente porosi per le tue separazioni HILIC



Le colonne HILIC Agilent ZORBAX e Polaris sono progettate per la cromatografia a interazione idrofilica (HILIC) e sono un'alternativa tradizionale completamente porosa per lo sviluppo del tuo metodo HILIC. Scegli tra le tradizionali fasi in silice semplice (Hilic Plus e Rx-Sil) o anche una resistente e affidabile fase amminica (Polaris NH2).



#### Condizioni:

- Fase mobile: A: 10 mM di formiato di ammonio, pH 3,2, in acqua  
B: Acetonitrile/100 mM di formiato di ammonio, pH 3,2, in acqua (9:1)
- Flusso: 0,4 mL/min
- Eluizione: Condizioni isocratiche
- Iniezione: 2 µL di 1 µL/mL ciascuno di morfina-3-β-D-glucuronide e morfina-6-β-D-glucuronide
- Colonne: 2,1 x 100 mm, 1,8 µm
- Temperatura: 25 °C
- Sorgente MS: ESI+, 200 V, 250 °C, 11 L/min, 30 psi, 4000 V
- SIM: 462, Frag 170 V
- Numero di pubblicazione Agilent 5991-0245

**Figura 5.** Confronto tra modalità a fase inversa (RP) e HILIC con ZORBAX RRHD HILIC Plus. La modalità HILIC consente di effettuare in modo più efficiente la nebulizzazione e la desolvatazione in sorgente ESI-MS rispetto alla modalità RPLC, generando un minore rumore di fondo e un segnale MS più intenso con una maggiore sensibilità.

**Tabella 2.** Selezione di colonne ZORBAX e Polaris raccomandate per l'uso in modalità HILIC.

Riempimento della colonna	Fase stazionaria	Dimensioni delle particelle e misure	Intervallo di pressione	Applicazioni
ZORBAX HILIC Plus	Silice semplice	Dimensioni delle particelle: 1,8; 3,5 µm d.i.: 2,1; 4,6 mm Lunghezza: 50; 100 mm	1200 bar (1,8 µm) 400 bar (3,5 µm)	Materiale universale a base di silice semplice per campioni a bassa complessità.
ZORBAX Rx-Sil	Silice semplice	Dimensioni delle particelle: 1,8; 5 µm d.i.: 2,1; 3; 4,6 mm Lunghezza: varie (50-250 mm)	600 bar (1,8 µm) 400 bar (5 µm)	Materiale a base di silice semplice con maggiore ritenzione e differente selettività.
Polaris NH2	Amminica	Dimensioni delle particelle: 3; 5 µm d.i.: 2,1; 4,6 mm Lunghezza: 50; 150; 250 mm	400 bar (3 µm) 400 bar (5 µm)	Selettività alternativa con forti proprietà di scambio anionico per composti acidi.

"Prima di avere Poroshell 120 HILIC-Z, abbiamo avuto spesso problemi con un modello precedente della concorrenza. Forme scadenti dei picchi e variazioni del tempo di ritenzione non erano infrequenti. Non appena abbiamo sviluppato internamente metodi con HILIC-Z, le forme dei picchi sono migliorate rapidamente e sono stati ottenuti tempi di ritenzione più stabili. È stato inoltre ottenuto un migliore limite di quantificazione grazie a picchi stretti e alla migliore separazione degli analiti e delle interferenze dovute alla matrice. Quando analizzano pesticidi polari con questa colonna, gli analisti hanno un'impressione di praticità e affidabilità mai provata prima!"

– **Elisa Platjouw**,  
Analytical Scientist, Eurofins Netherlands



## Selezione di applicazioni che evidenziano le colonne HILIC di Agilent

Applicazione	Settore	Colonne usate	Titolo della nota applicativa	Numero di pubblicazione
Confronto tra RP-LC e HILIC	Tutti i settori	Varie	Retaining and separating Polar Molecules—a detailed investigation of when to use HILIC versus a reversed-phase LC column.	<a href="#">5994-1137EN</a>
Guida introduttiva allo sviluppo di metodi HILIC	Tutti i settori	Poroshell 120 HILIC Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC-Z	Hydrophilic interaction. Chromatography method. Development and troubleshooting.	<a href="#">5991-9271EN</a>
Panoramica HILIC per uso in analisi LC/MS/MS	Tutti i settori	Poroshell 120 HILIC-Z ZORBAX RRHD Hilic Plus	Application of Novel HILIC Column configurations to improve LC/ESI/MS sensitivity of metabolites.	Poster ASMS 2018 <a href="#">WP-536</a>
Ammioacidi non derivatizzati in matrice complessa	Alimenti e agricoltura	Poroshell 120 HILIC-Z	Analysis of amino acids in animal feed matrices using the Ultivo Triple Quadrupole LC/MS System.	<a href="#">5994-0586EN</a>
Vitamine idrosolubili	Alimenti e agricoltura	Poroshell 120 HILIC-OH5	Analysis of water-soluble vitamins on an Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 Column.	<a href="#">5991-8780EN</a>
Separazioni di nucleotidi	Biofarmaceutica	Poroshell 120 HILIC-Z (rivestita in PEEK)	HPLC-DAD analysis of nucleotides using a fully inert flow path.	<a href="#">5994-0680EN</a>

Ulteriori note applicative possono essere trovate con lo strumento [Application finder per LC di Agilent](#).

## Affidabilità, efficienza e innovazione continua per ottenere risultati ottimali

Puoi fare affidamento su strumenti per LC, colonne e prodotti di consumo Agilent InfinityLab per ottenere qualità affidabile e solidità dei risultati analitici. Ma il nostro impegno nei tuoi confronti non finisce qui. Ogni componente della linea LC InfinityLab di Agilent è progettato per integrarsi nel sistema e favorire il costante miglioramento del flusso di lavoro, per aumentare l'efficienza e la produzione riducendo i costi di gestione.

Scopri di più sulla gamma InfinityLab Poroshell alla pagina

**[www.agilent.com/chem/Poroshell-HILIC](http://www.agilent.com/chem/Poroshell-HILIC)**

Acquista online:

**[www.agilent.com/chem/store](http://www.agilent.com/chem/store)**

Ottieni risposte alle tue domande di natura tecnica e accedi alle risorse in Agilent Community:

**[community.agilent.com](http://community.agilent.com)**

Italia

**numero verde 800 012 575**

**[customercare\\_italy@agilent.com](mailto:customercare_italy@agilent.com)**

Europa

**[info\\_agilent@agilent.com](mailto:info_agilent@agilent.com)**

Asia Pacifico

**[inquiry\\_lsca@agilent.com](mailto:inquiry_lsca@agilent.com)**

DE.1032986111

Le informazioni fornite possono variare senza preavviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2020  
Pubblicato negli Stati Uniti, martedì 8 dicembre 2020  
5994-2798ITE