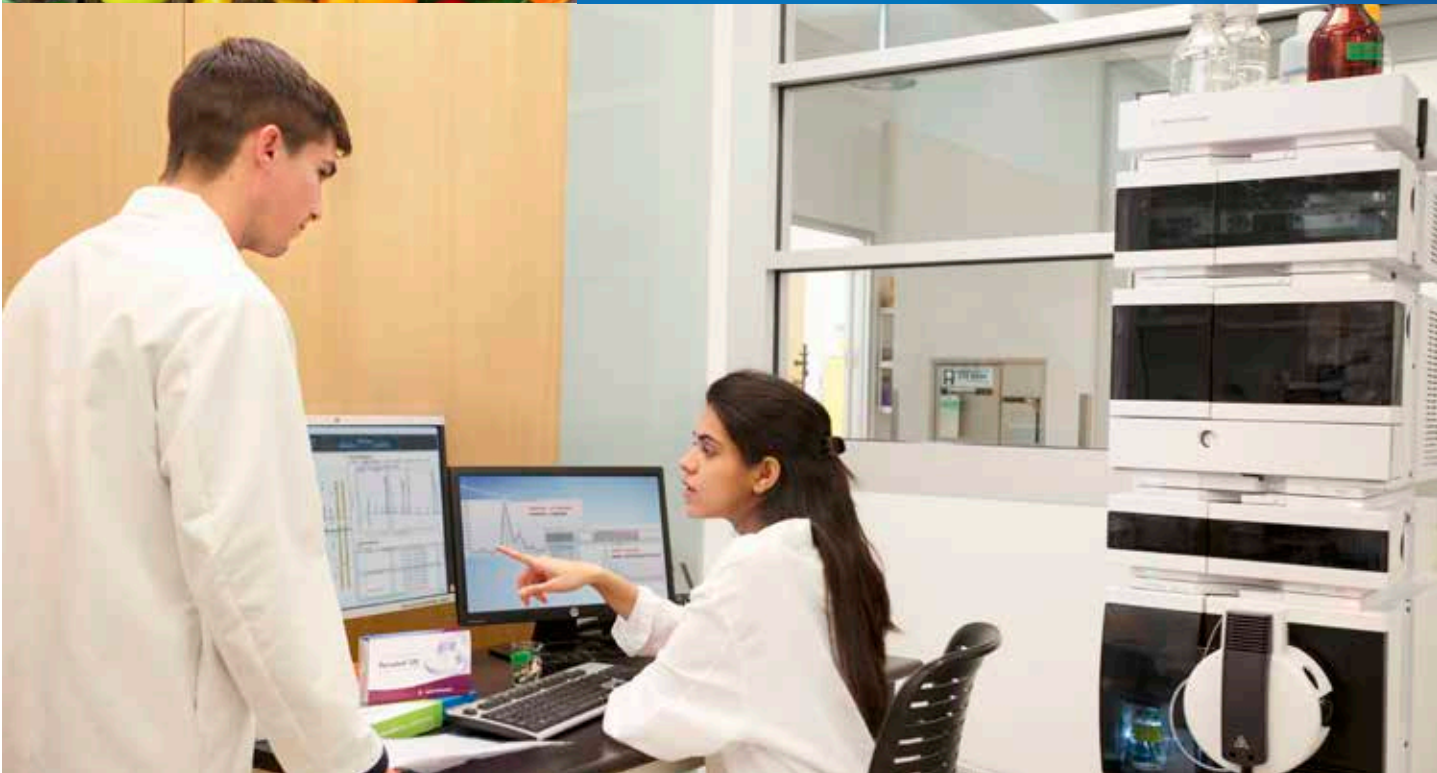


Надежное определение сложных полярных соединений

Колонки Agilent InfinityLab Poroshell 120, ZORBAX и Polaris для хроматографии гидрофильных взаимодействий (HILIC)



Положитесь на Agilent в деле надежной и эффективной хроматографии гидрофильных взаимодействий

Хроматография гидрофильных взаимодействий (HILIC) набирает популярность вследствие способности удерживать и разделять полярные аналиты небольших размеров с помощью стандартной системы ВЭЖХ и распространенных растворителей для обращенно-фазовой хроматографии. Преимущества этого метода включают в себя лучшее удерживание полярных аналитов по сравнению с обращенно-фазовой хроматографией, а также возможность с легкостью использовать совместимые с масс-спектрометрией растворители. Это обеспечивает усиление ионизации и повышение чувствительности в режиме МС.

1



Любой анализ начинается с пробоподготовки. Независимо от того, каким методом вы пользуетесь — простым фильтрованием, жидкостной экстракцией на субстрате (SLE), очисткой путем ковалентного связывания с последующим отщеплением, QuEChERS или твердофазной экстракцией (ТФЭ), — у Agilent всегда найдется для вас высококачественный продукт: от патронов для ТФЭ, таких как непревзойденные Captiva EMR-Lipid и зарекомендовавшие себя Bond Elut, до наборов QuEChERS. www.agilent.com/chem/sampleprep

2



Оборудование серии Agilent InfinityLab для ВЭЖХ представляет собой широкий ассортимент высокоэффективных решений для ВЭЖХ и УВЭЖХ для любых методик и любого бюджета.

www.agilent.com/chem/LC

3



Расходные материалы Agilent InfinityLab для HILIC позволяют повысить производительность и сократить простой прибора:

- Крышки Stay Safe помогают предотвратить испарение вредных растворителей и избежать изменения концентраций подвижных фаз.
- Фитинги Quick Connect и Quick Turn позволяют быстро и просто добиться герметичности соединений.
- Модули фильтрации и встроенные фильтры удаляют взвешенные частицы из содержащих буферные растворы подвижных фаз и увеличивают срок службы колонки.
- Луночные планшеты подходят для высокопроизводительных лабораторий.
- Интеллектуальные расходные материалы, такие как идентификационные метки колонок, дейтериевые лампы и проточные кюветы с радиочастотными метками, улучшают прослеживаемость и упрощают документирование работы.

www.agilent.com/chem/lc-supplies

4



Ассортимент колонок InfinityLab Poroshell 120 предлагает вам три современные фазы HILIC, которые обеспечивают высочайшую эффективность, надежность и воспроизводимость разделения полярных соединений в режиме ВЭЖХ-МС. Проблемы с аналитами, реагирующими с металлическими поверхностями? Воспользуйтесь деактивирующей добавкой Agilent InfinityLab, чтобы деактивировать металлические поверхности своей системы. Сверхчистые растворители Agilent для ВЭЖХ-МС помогают снизить уровень фоновых шумов МС.

www.agilent.com/chem/poroshell-HILIC

Как выбрать колонку HILIC?

Компания Agilent предлагает широкий ассортимент современных колонок для разделения в режиме HILIC. Удерживание и разделение в этом режиме обеспечивают в основном три вида гидрофильных взаимодействий: ионные и гидрофильные диполь-дипольные взаимодействия, а также образование водородных связей. Несмотря на то что для подбора подходящей неподвижной фазы рекомендуется попробовать несколько типов колонок, функциональные группы аналитов и потенциальные взаимодействия этих групп с неподвижной фазой могут подсказать подходящую колонку HILIC, с которой стоит начать поиск.

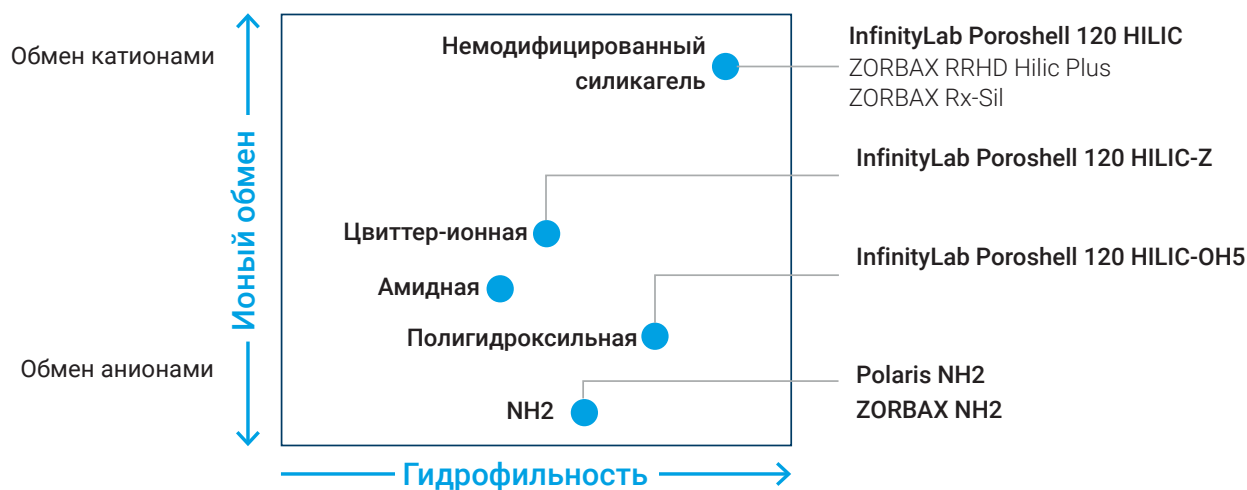


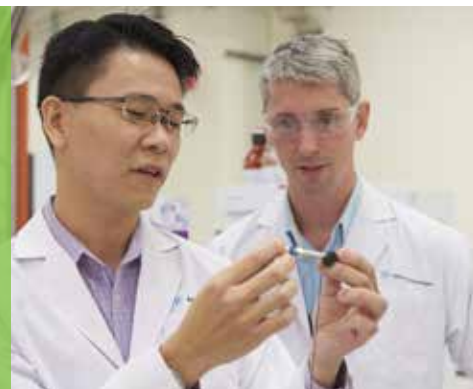
Рис. 1. Качественная схема гидрофильности и ионообменных свойств различных колонок HILIC компании Agilent. Измеренные величины приведены по данным Ibrahim et al., J.Chrom.A, 1260 (2012).

Какая подвижная фаза лучше всего подходит для моего разделения в режиме HILIC?

Подвижная фаза — это второй по значимости фактор, влияющий на селективность в режиме HILIC. В сильные водные подвижные фазы часто добавляется буферный раствор, который позволяет изменять механизмы удерживания и управлять ими, а также предотвращает уширение пиков и изменение селективности колонки из-за небольших изменений значения pH. В качестве слабой органической подвижной фазы чаще всего применяется ацетонитрил с тем же самым буферным раствором.

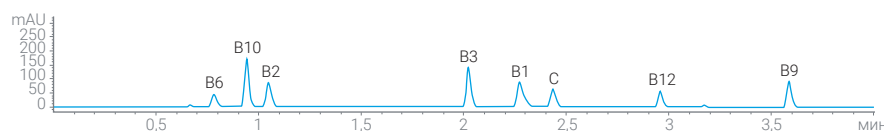
Общие соображения	Типичная концентрация буферного раствора: 5–30 ммоль/л, чаще всего применяется 10–20 ммоль/л. Фосфатов следует избегать, так как они плохо растворимы при высоком содержании % ацетонитрила	
	Буферный раствор и pH	Подходящая неподвижная фаза
Аналиты — основные соединения	Формиат аммония, pH 3 Ацетат аммония, pH 4–5	Poroshell 120 HILIC-Z Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC ZORBAX Hilic Plus
Смесь кислотных и основных соединений	Ацетат аммония, pH ~7	Poroshell 120 HILIC-Z Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC ZORBAX Hilic Plus
Аналиты — кислотные соединения	Формиат аммония, pH 9–10	Poroshell 120 HILIC-Z
Сахара	Гидроксид аммония, pH 10–11	Poroshell 120 HILIC-Z

Колонки HILIC Poroshell 120 — это скорость, надежность и воспроизводимость хроматографии

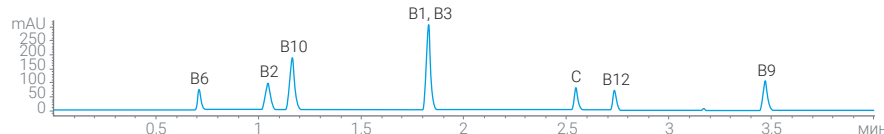


Встречайте новых членов семьи HILIC! Компания Agilent предлагает три уникальные фазы HILIC с абсолютно разной селективностью: немодифицированный силикагель (HILIC), полигидроксифруктан (HILIC-OH5) и цвиттер-ионную фазу (HILIC-Z). Надежность и воспроизводимость хроматографии HILIC на колонках InfinityLab Poroshell позволяет перейти на них со сложных и зачастую несовместимых с МС ион-парных и нормально-фазовых методик.

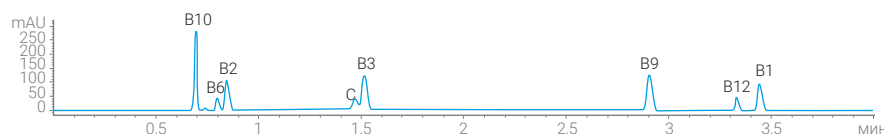
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 2,1 × 100 мм, 2,7 мкм



InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 2,1 × 100 мм, 2,7 мкм



InfinityLab Poroshell 120 HILIC 2,1 × 100 мм, 2,7 мкм



Условия

Подвижная фаза:

A: 100 ммоль/л ацетата аммония + 0,5% уксусной кислоты (pH ~4,6) в H₂O,
 B: CH₃CN, 0,5 мл/мин, 87% B в течение 1 мин, 87–50% B в течение 4 мин, 3 мин повторного уравнивания

Скорость потока:

ввод 1 мкл, 40 °С

Температура:

40 °С

Детектор:

УФ-детектирование при 260 нм, 80 Гц

Проба: водорастворимые витамины

Рис. 2. Колонки InfinityLab HILIC-Z и HILIC-OH5 обеспечивают широкий диапазон альтернативных селективностей для разделения полярных аналитов. Эти хроматограммы разделения водорастворимых витаминов демонстрируют отличия селективности различных фаз HILIC при использовании одних и тех же условий для метода. Разделение можно оптимизировать для каждой колонки путем изменения условий метода.

Таблица 1. Избранные колонки из линейки Poroshell 120, рекомендованные для хроматографии гидрофильных взаимодействий (HILIC).

Название колонки	Неподвижная фаза	Размер частиц и колонки	Диапазон давлений	Рекомендованное применение
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z	Цвиттер-ионная	Размер частиц: 1,9; 2,7; 4 мкм Внутренний диаметр: 2,1; 3,4; 6 мм Длина: 50; 100; 150; 250 мм	1 300 бар (1,9 мкм) 600 бар (2,7 и 4 мкм)	Отправная точка для разработки методик HILIC. Широкий диапазон значений pH. Доступны исполнения с внутренним покрытием из ПЭЭК.
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5	Полигидроксифруктановая фаза	Размер частиц: 2,7 мкм Внутренний диаметр: 2,1; 4,6 мм Длина: 50; 100; 150 мм	400 бар (2,7 мкм)	Альтернативная селективность со сниженной эффективностью ионного обмена, но образующая сильные водородные связи.
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Немодифицированный силикагель	Размер частиц: 1,9; 2,7; 4 мкм Внутренний диаметр: 2,1; 3,4; 6 мм Длина: 50; 100; 150; 250 мм	1 300 бар (1,9 мкм) 600 бар (2,7 и 4 мкм)	Простые пробы без относительно схожих по свойствам соединений. Сверхнизкий унос неподвижной фазы.

Удерживание и разделение соединений с большим зарядом

Особенностью колонок InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z является новая цвиттер-ионная неподвижная фаза, привитая к частицам Poroshell 120. В числе их преимуществ:

- Исполнения с внутренним покрытием из ПЭЭК обеспечивают отличную форму пиков и степень обнаружения сложных соединений.
- Высокая стабильность при значениях pH до 12 при 35 °С; температурная стабильность до 80 °С при pH 7.
- Сочетается с применяемыми в МС буферными растворами (содержание солей <10 ммоль/л).

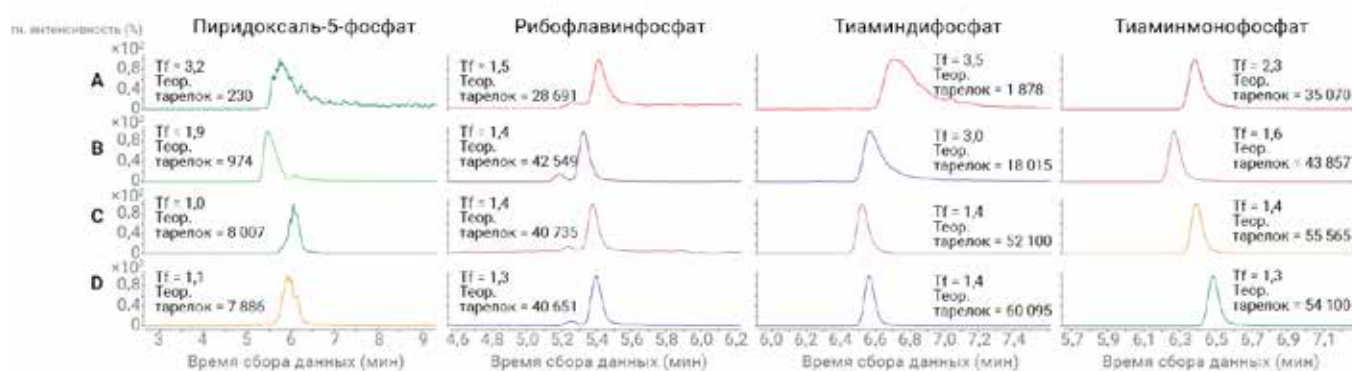


Рис. 3. Взаимодействие фосфорилированных метаболитов со сталью до и после промывки: а) до промывки системы; б) после промывки системы, колонка HILIC-Z; в) после промывки системы, колонка HILIC-Z с деактивирующей добавкой; д) после промывки системы, колонка HILIC-Z с внутренним покрытием из ПЭЭК с деактивирующей добавкой

Альтернативная селективность для разделения полярных соединений

Альтернативная селективность для разделения полярных соединений: InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 – полигидроксифруктановая фаза, привитая к частицам Poroshell 120:

- Быстрое, высокоэффективное разделение и отличное удерживание полярных соединений.
- Альтернативная селективность по сравнению с фазами Poroshell 120 HILIC и HILIC-Z.

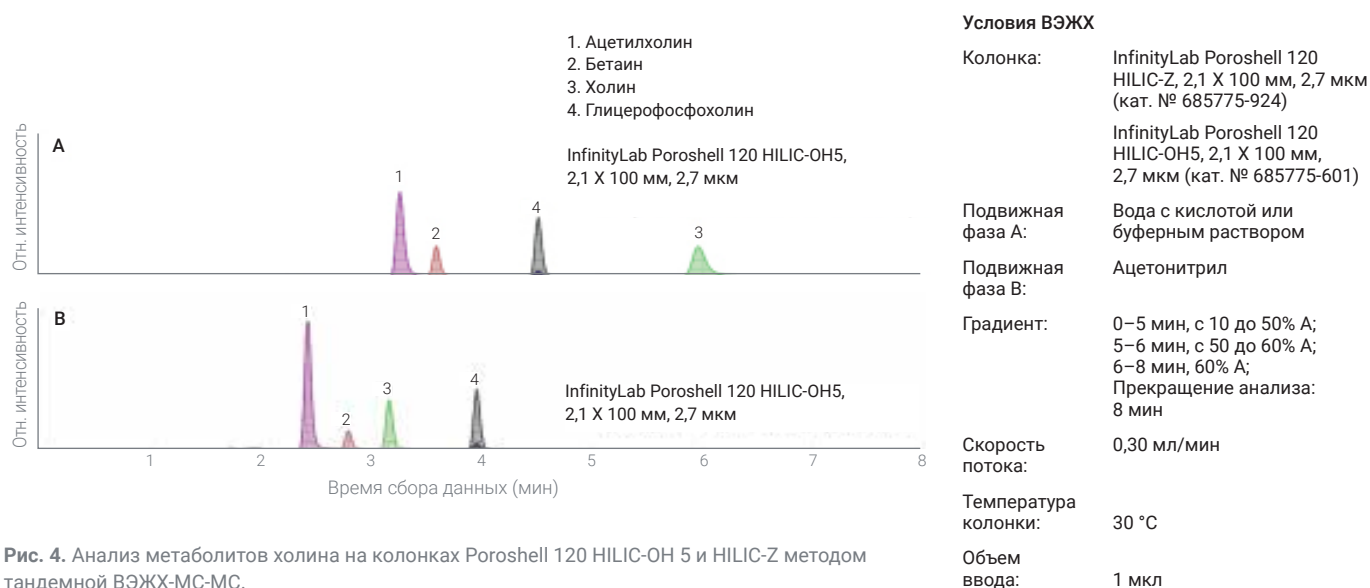
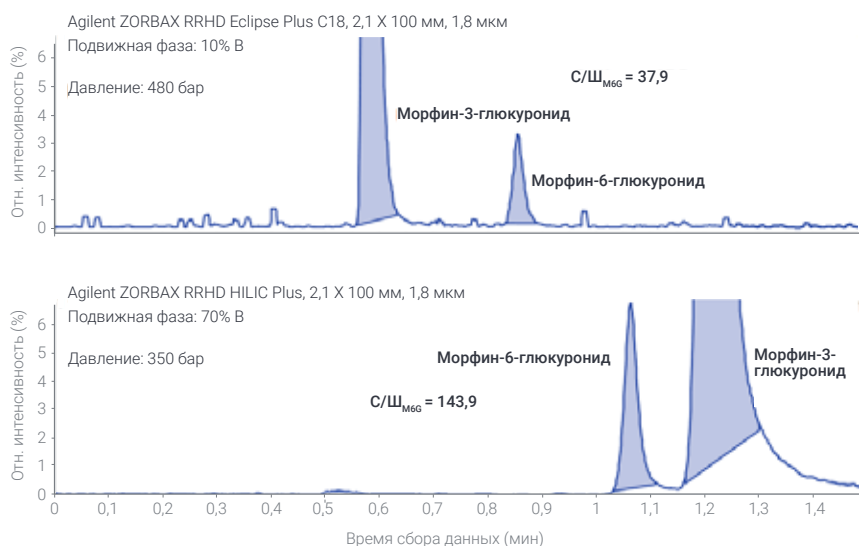


Рис. 4. Анализ метаболитов холина на колонках Poroshell 120 HILIC-OH 5 и HILIC-Z методом тандемной ВЭЖХ-МС-МС.

Надежные полностью пористые материалы для хроматографии HILIC



Колонки Agilent ZORBAX и Polaris HILIC созданы для хроматографии гидрофильных взаимодействий (HILIC) и представляют собой традиционную альтернативу с полностью пористым носителем для разработки методик HILIC. Выбирайте из традиционного немодифицированного силикагеля (Hilic Plus и Rx-Sil) или также надежной и хорошо зарекомендовавшей себя аминофазы (Polaris NH2).



Условия

Подвижная фаза: А: 10 ммоль/л формиата аммония в воде, рН 3,2
В: 10 ммоль/л формиата аммония в смеси ацетонитрил:вода (9:1), рН 3,2

Скорость потока: 0,4 мл/мин

Хроматографирование: Изократический режим

Объем пробы: 2 мкл раствора 1 мкл/мл морфин-3-β-D-глюкуронида и 1 мкл/мл морфин-6-β-D-глюкуронида

Колонки: 2,1 x 100 мм, 1,8 мкм

Температура: 25 °С

Параметры источника ионизации MS: ESI+, 200 В, 250 °С, 11 л/мин, 30 psi, 4000 В

SIM: 462, Напряжение фрагментатора 170 В

Публикация Agilent № 5991-0245EN.

Рис. 5. Сравнение обращенно-фазового режима с HILIC на колонке ZORBAX RRHD HILIC Plus. Режим HILIC обеспечивает более эффективное распыление и испарение растворителя в электрораспылителем ионизаторе масс-спектрометра по сравнению с обращенно-фазовой ВЭЖХ, что снижает уровень шума базовой линии, увеличивает интенсивность сигнала MS и повышает чувствительность.

Таблица 2. Избранные колонки ZORBAX и Polaris, рекомендованные для применения в режиме HILIC.

Название колонки	Неподвижная фаза	Размер частиц и колонки	Диапазон давлений	Варианты применения
ZORBAX HILIC Plus	Немодифицированный силикагель	Размер частиц: 1,8; 3,5 мкм Внутренний диаметр: 2,1; 4,6 мм Длина: 50; 100 мм	1 200 бар (1,8 мкм) 400 бар (3,5 мкм)	Универсальная фаза из немодифицированного силикагеля для разделения проб простого состава.
ZORBAX Rx-Sil	Немодифицированный силикагель	Размер частиц: 1,8; 5 мкм Внутренний диаметр: 2,1; 3; 4,6 мм Длина: различная (от 50 до 250 мм)	600 бар (1,8 мкм) 400 бар (5 мкм)	Немодифицированный силикагель с повышенной степенью удерживания и альтернативной селективностью.
Polaris NH2	Аминная	Размер частиц: 3; 5 мкм Внутренний диаметр: 2,1; 4,6 мм Длина: 50; 150; 250 мм	400 бар (3 мкм) 400 бар (5 мкм)	Сильные анионообменные свойства обеспечивают альтернативную селективность для кислотных соединений.

«До того как мы приобрели колонку Poroshell 120 HILIC-Z, у нас часто были проблемы с конкурирующей с ней колонкой. Они часто выливались в плохую форму пиков и непостоянное время удерживания. Как только мы самостоятельно разработали новую методику с использованием колонки HILIC-Z, форма пиков и стабильность времен удерживания немедленно улучшились. Кроме того, благодаря более острым пикам и лучшему разделению аналитов и компонентов матрицы улучшились пределы количественного определения. Анализ полярных пестицидов на этой колонке намного удобнее и дает нашим химикам больше уверенности в результатах».

– Элиза Платйов (Elisa Platjouw),
химик-аналитик, Eurofins Netherlands



Избранные методические рекомендации, в которых рассматриваются колонки HILIC компании Agilent.

Тема	Область использования	Колонка	Название методических рекомендаций	Номер публикации
Сравнение обращенно-фазовой ВЭЖХ и HILIC	Все области	Разные	Retaining and separating Polar Molecules—a detailed investigation of when to use HILIC versus a reversed-phase LC column.	5994-1137EN
Простое руководство по разработке методик HILIC	Все области	Poroshell 120 HILIC Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC-Z	Hydrophilic interaction. Chromatography method. Development and troubleshooting.	5991-9271EN
Обзор применения HILIC в анализах ВЭЖХ-МС-МС	Все области	Poroshell 120 HILIC-Z ZORBAX RRHD HILIC Plus	Application of Novel HILIC Column configurations to improve LC/ESI/MS sensitivity of metabolites.	Стендовый доклад на конференции ASMS 2018 WP-536
Определение недериватизированных аминокислот в сложных матрицах	Анализ пищевых продуктов и сельское хозяйство	Poroshell 120 HILIC-Z	Analysis of amino acids in animal feed matrices using the Ultivo Triple Quadrupole LC/MS System.	5994-0586EN
Водорастворимые витамины	Анализ пищевых продуктов и сельское хозяйство	Poroshell 120 HILIC-OH5	Analysis of water-soluble vitamins on an Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 Column.	5991-8780EN
Разделение нуклеотидов	Биофармацевтика	Poroshell 120 HILIC-Z (с внутренним покрытием из ПЭЭК)	HPLC-DAD analysis of nucleotides using a fully inert flow path.	5994-0680EN

Больше методических рекомендаций можно найти с помощью [поисковика методик для ВЭЖХ](#).

Надежность, эффективность и непрерывное совершенствование для достижения лучших результатов

Вы можете быть уверены в том, что оборудование, колонки и расходные компоненты Agilent InfinityLab для ВЭЖХ гарантируют стабильное качество и надежность результатов анализа. Тем не менее наши гарантии на этом не заканчиваются. Продукты для ВЭЖХ семейства Agilent InfinityLab специально разработаны для совместной работы: они помогают непрерывно совершенствовать рабочие процессы, повышать их эффективность и сокращать операционные расходы.

Узнать больше о линейке Agilent InfinityLab Poroshell можно по ссылке www.agilent.com/chem/Poroshell-HILIC

Покупка через интернет:

www.agilent.com/chem/store

Ответы на технические вопросы и доступ к ресурсам сообщества Agilent

community.agilent.com

Россия:

+7 495 664 73 00

+7 800 500 92 27

agilentRu@agilent.com

Европа:

info_agilent@agilent.com

Азиатско-Тихоокеанский регион:

inquiry_lsca@agilent.com

DE.1032986111

Информация в этом документе может быть изменена без уведомления.

© Agilent Technologies, Inc., 2020
Напечатано в США 8 декабря 2020 г.
5994-2798RU