

Atlantis BEH Z-HILIC简介：一种基于有机/无机杂化颗粒的两性离子固定相

Thomas H. Walter, Kenneth D. Berthelette, Amit Patel, Bonnie A. Alden, Justin McLaughlin, Jessica Field, Nicole Lawrence, Steve Shiner

Waters Corporation

摘要

在可用于亲水作用色谱(HILIC)的众多固定相填料中，采用磺基甜菜碱基团的两性离子材料被证明具有最广泛的实用性。两性离子固定相包含摩尔比为1:1的负电荷基团和正电荷基团，表现出强保留性，且表面净电荷为零。本文介绍了一种基于亚乙基桥杂化(BEH)有机/无机颗粒的新型两性离子磺基甜菜碱固定相，与硅胶基质两性离子填料相比提供了更宽的pH范围(2-10)，与有机聚合物两性离子填料相比具有更高的效率。本研究展示了该材料的效率、保留性、选择性、批次间重现性和pH稳定性，还展示了填充该材料的色谱柱对金属敏感分析物的优异性能，这一性能通过MaxPeak高性能表面色谱柱硬件实现。

优势

- 高柱效
- 对中性极性分析物的保留性强
- 与BEH Amide和BEH HILIC色谱柱具有互补的选择性
- 优异的固定相批次间重现性
- 在宽pH范围(2-10)内保持稳定，有助于提高方法灵活性
- 使金属敏感分析物获得优异的回收率和峰形

简介

亲水作用色谱(HILIC)是分离极性分析物的常用分析技术之一^{1,2}。HILIC采用极性固定相和极性较弱的流动相，其保留性随分析物极性提高而增加。HILIC使用过各种固定相，包括未键合硅胶以及携带酰胺、多元醇、氨基、磺基甜菜碱和其他极性官能团的材料^{3,4}。磺基甜菜碱固定相包含带负电荷的磺酸盐基团和带正电荷的季铵基团（摩尔比为1:1），这些基团构成两性离子，在0–14的pH范围内净电荷为零⁵。由于两性离子固定相的表面净电荷为零，因此不会表现出显著的离子交换行为：未经衍生的硅胶由于存在离子化硅醇而保留阳离子，而胺官能化材料则因为与质子化胺发生离子交换而保留阴离子⁴。已有研究表明，两性离子固定相会累积相对较厚的吸附水层，使其在HILIC分析中对极性中性物质具有很强的保留能力^{6,7}。高保留性与零表面净电荷的结合使两性离子色谱柱成为各种应用的理想之选，包括代谢组学⁸、细胞培养基分析⁹、药物杂质分析¹⁰和食品中毒素浓度测定¹¹。

市面上大多数两性离子固定相均采用硅胶颗粒，由于硅胶在碱性溶液中发生溶解，因此这些材料仅与pH值在2-8范围内的流动相相容。此外还有基于有机聚合物颗粒的两性离子固定相，其声称在pH 2–10的范围内性能稳定¹²。但是，聚合物颗粒的机械强度低于硅胶，仅适用于压力低于200 bar (2900 psi)的条件¹²。因此，聚合物颗粒的粒径限制为5 μm。与填充硅胶基质颗粒的色谱柱相比，填充聚合物颗粒的色谱柱还表现出较低的柱效¹³。改善高pH稳定性的一种替代解决方案是使用有机/无机杂化颗粒。亚乙基桥杂化(BEH)颗粒已证明在碱性流动相中具有良好的稳定性，且具有优异的机械强度¹⁴，能够以小于2 μm的粒径用于UPLC分析¹⁵。本文介绍了一种基于BEH颗粒的新型磺基甜菜碱固定相，该固定相在pH 2–10范围内性能稳定，表现出良好的批次间重现性和高柱效。本文介绍了这种材料的保留性和选择性，并与基于BEH颗粒的其他HILIC固定相进行了比较。将这种材料填充到MaxPeak高性能表面色谱柱硬件中，通过减少与金属表面的相互作用，为金属敏感分析物提供更出色的回收率和峰形¹⁶。

实验

所有缓冲液的pH值均以水溶液测定，并使用水性参比缓冲液校准pH计。以下所示的缓冲液浓度为流动相水相部分的浓度。

柱效与流速测试条件

样品（溶于流动相中）包含120 μg/mL萘作为保持时间标记物，包含80 μg/mL胞嘧啶作为保留的分析物。胞嘧啶的保留因子为3.3。

液相色谱系统:	配备TUV的ACQUITY UPLC I-Class
检测条件:	254 nm
色谱柱:	Atlantis Premier BEH Z-HILIC, 1.7 μ m, 2.1 \times 50 mm (部件号: 186009978)
柱温:	30 $^{\circ}$ C
进样体积:	0.5 μ L
流速:	0.01~0.8 mL/min
流动相A:	80/20乙腈/100 mM甲酸铵水溶液(pH 3.0)

保留性和选择性测试条件

使用六个单独的样品，第一个样品包含333 μ g/mL对甲苯磺酸钠(TS)和333 μ g/mL N,N,N-三甲基苯基氯化铵(TMPA)；第二个样品包含100 μ g/mL 3'-脱氧鸟苷、33.3 μ g/mL阿糖腺苷和33.3 μ g/mL 5-甲基尿苷；第三个样品包含33.3 μ g/mL尿苷和100 μ g/mL 2'-脱氧鸟苷；第四个样品包含33.3 μ g/mL腺苷和33.3 μ g/mL 2'-脱氧尿苷；第五个样品包含1.0 mg/mL甲苯（保持时间标记物）；第六个样品包含33.3 μ g/mL尿苷和1.0 mg/mL甲苯。所有样品均溶于流动相中。除TS和TMPA以外，所有其他分析物均使用由90/10乙腈/20 mM醋酸铵水溶液(pH 4.7)组成的流动相。TS和TMPA则使用由90/10乙腈/100 mM 醋酸铵水溶液(pH 4.7)组成的流动相进行分离。

液相色谱系统:	配备PDA的ACQUITY UPLC H-Class
检测条件:	254 nm
色谱柱:	Atlantis Premier BEH Z-HILIC, 1.7 μ m, 2.1 \times 50 mm (部件号: 186009978) ; ACQUITY UPLC BEH Amide, 1.7 μ m, 2.1 \times 50 mm (部件号: 186004800) ;

ACQUITY UPLC BEH HILIC, 1.7 μ m, 2.1 \times 50 mm (部件号: 186003460)

柱温: 30 $^{\circ}$ C

进样体积: 3.0 μ L

流速: 0.2 mL/min

流动相A: 90/10乙腈/20 mM醋酸铵水溶液(pH 4.7)或
90/10乙腈/100 mM醋酸铵水溶液(pH 4.7)

重现性测试条件

样品（溶于流动相中）包含19 μ g/mL菝、3.7 μ g/mL胸腺嘧啶、25 μ g/mL邻苯二甲酸、3.7 μ g/mL腺嘌呤、7.7 μ g/mL胞嘧啶和25 μ g/mL 5-氟乳清酸。

液相色谱系统: 配备TUV的ACQUITY UPLC

检测条件: 254 nm

色谱柱: Atlantis Premier BEH Z-HILIC, 1.7 μ m, 2.1 \times 50 mm (部件号: 186009978)

柱温: 30 $^{\circ}$ C

进样体积: 3.0 μ L

流速: 0.5 mL/min

流动相A: 90/10乙腈/100 mM甲酸铵水溶液(pH 3.0)

碱稳定性测试条件

样品包含19 µg/mL蒾、3.7 µg/mL腺嘌呤和7.7 µg/mL胞嘧啶，溶于95/5乙腈/100 mM甲酸铵水溶液(pH 3.0)中。采用95/5乙腈/100 mM甲酸铵水溶液(pH 3.0)流动相分离该样品后，用75倍柱体积的60/40乙腈/10 mM碳酸氢铵水溶液(pH 11.0)通过色谱柱，然后用50/50乙腈/水、10/90乙腈/水进行清洗，再用95/5乙腈/100 mM甲酸铵水溶液(pH 3.0)测试流动相进行平衡。上述循环重复100次，整个检测过程中柱温保持在70 °C。

液相色谱系统:	配备PDA的ACQUITY UPLC H-Class
检测条件:	254 nm
色谱柱:	Atlantis Premier BEH Z-HILIC, 1.7 µm, 2.1 × 50 mm (部件号: 186009978)
柱温:	70 °C
进样体积:	1.0 µL
流速:	0.4 mL/min
流动相A:	水
流动相B:	乙腈
流动相C:	100 mM甲酸铵水溶液(pH 3.0)
流动相D6:	60/40乙腈/10 mM碳酸氢铵水溶液(pH 11.0)

梯度表

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	%C	%D6	曲线
0.00	0.4	0	95	5	0	-
13.73	0.4	0	0	0	100	11
34.30	0.4	0	0	0	100	11
35.97	0.4	50	50	0	0	6
39.27	0.4	50	50	0	0	6
40.93	0.4	10	90	0	0	6
44.23	0.4	10	90	0	0	6
45.90	0.4	0	95	5	0	6
47.57	0.4	0	95	5	0	11
68.13	0.4	0	95	5	0	11

酸稳定性测试条件

样品（溶于流动相中）包含19 µg/mL菴、3.7 µg/mL腺嘌呤和7.7 µg/mL胞嘧啶。

液相色谱系统：

配备PDA的ACQUITY UPLC H-Class

检测条件：

254 nm

色谱柱：

Atlantis Premier BEH Z-HILIC, 1.7 µm, 2.1 × 50 mm（部件号：186009978）

柱温：

70 °C

进样体积：

1.0 µL

流速:	0.4 mL/min
流动相B:	乙腈
流动相C:	100 mM甲酸铵水溶液(pH 2.0)
等度组成:	90/10 B/C

ATP/ADP/AMP测试条件

使用溶于流动相中，分别包含50 µg/mL单磷酸腺苷二钠盐、二磷酸腺苷二钠盐水合物和三磷酸腺苷二钠盐水合物的样品。

液相色谱系统:	配备PDA的ACQUITY Premier BSM
检测条件:	260 nm
色谱柱:	Atlantis Premier BEH Z-HILIC, 1.7 µm, 2.1 × 50 mm (部件号: 186009978) , 填充Atlantis BEH Z-HILIC 1.7 µm的标准色谱柱
柱温:	30 °C
进样体积:	0.4 µL
流速:	0.5 mL/min
流动相A:	70/30乙腈/20 mM醋乙酸铵水溶液(pH 6.8)

数据管理

色谱软件:	Empower 3 FR4
-------	---------------

结果与讨论

Atlantis BEH Z-HILIC的理化特性

Atlantis BEH Z-HILIC固定相采用孔径为95 Å的BEH颗粒，其表面积比其他基于BEH颗粒的HILIC固定相中所用的130 Å颗粒高约50%。95 Å颗粒的表面积更高，因此保留性更强。该颗粒经磺基甜菜碱基团衍生化后得到图1所示的表面结构。表1总结了BEH Z-HILIC固定相与BEH Amide和BEH HILIC固定相相比的关键特性。

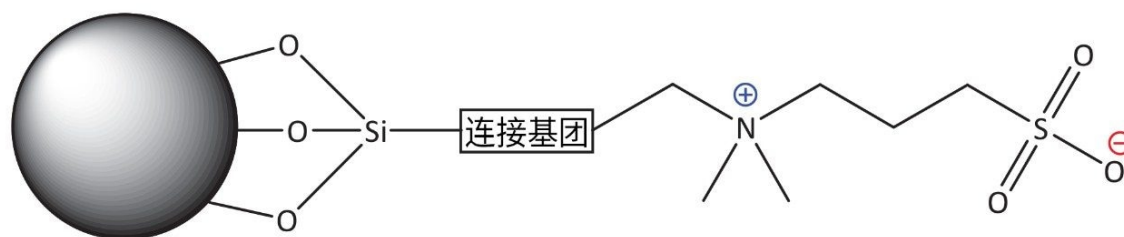


图1. Atlantis BEH Z-HILIC磺基甜菜碱固定相的结构

固定相	颗粒性质			键合相性质	
	孔径 (Å)	孔体积 (cm ³ /g)	表面积 (m ² /g)	表面填料	表面浓度 (μmol/m ²)
BEH Z-HILIC	95	0.7	270	磺基甜菜碱	3.0
BEH Amide	130	0.7	185	Amide	7.5
BEH HILIC	130	0.7	185	未键合	N/A

表1. 所评价固定相的理化特性比较

柱效与流速

填充1.7 μm BEH Z-HILIC的色谱柱与填充1.7 μm BEH HILIC和BEH Amide的色谱柱表现出相似的高柱效。图2展示了Atlantis Premier BEH Z-HILIC, 1.7 μm, 2.1 x 50 mm色谱柱柱效与流速的关系图。结果表明，胞嘧啶在0.13 mL/min的流速下达到最高USP柱效12,100。这相当于塔板高度为4.1 μm，折合塔板高度为2.4，单位长度的柱效为每米242,000塔板数。先前曾报道BEH HILIC, 1.7 μm色谱柱具有类似的塔板高度^{17,18}。

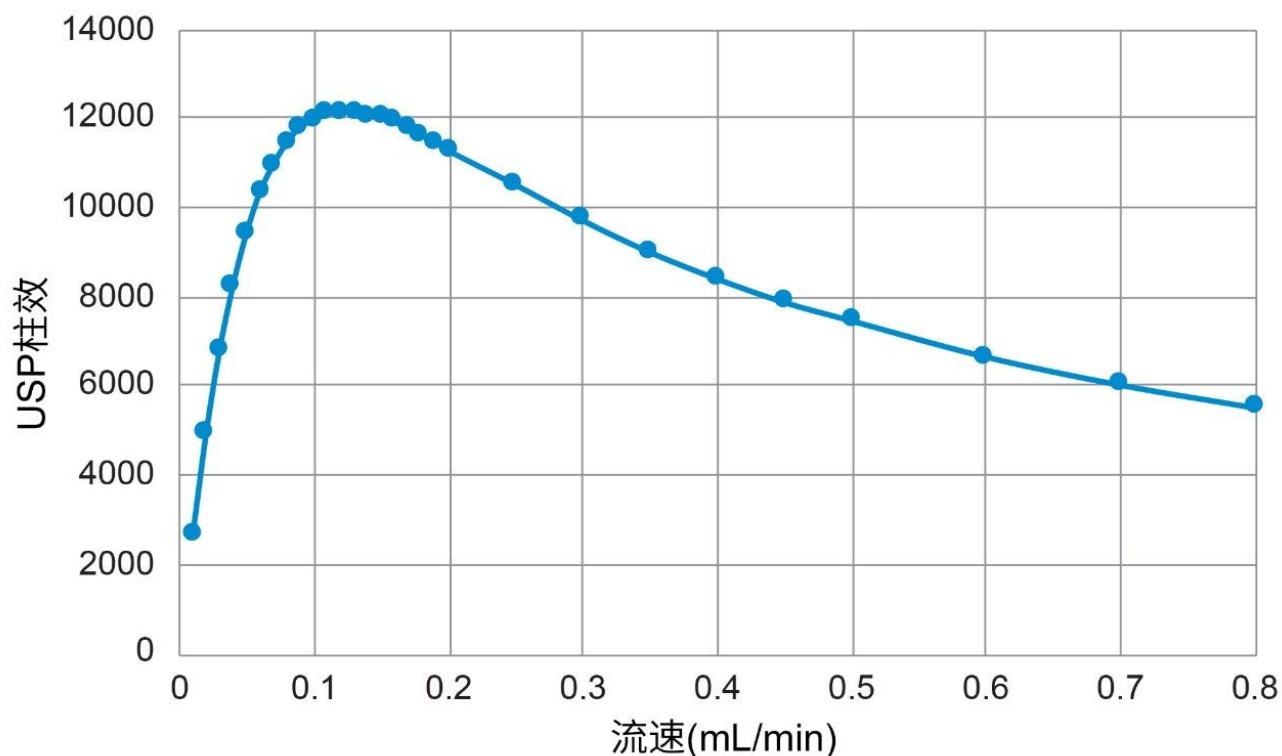


图2. Atlantis Premier BEH Z-HILIC, 1.7 μm , 2.1 \times 50 mm 色谱柱的 USP 柱效与流速关系图。分析物为胞嘧啶，流动相为 80/20 乙腈/100 mM 甲酸铵水溶液 (pH 3.00)，柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

保留性和选择性

为评价 Z-HILIC 固定相的保留性和选择性，使用 Kawachi 等人所述的测试¹⁹。这些测试采用一组选定的分析物来考察不同类型的选择性。分析物的结构如图 3 所示。尿苷与 5-甲基尿苷的相对保留性 (r) 是亚甲基选择性的指标，尿苷与 2'-脱氧尿苷的相对保留性是羟基选择性的指标， r (阿糖腺苷/腺苷) 探针指示构型异构体选择性， r (2'-脱氧鸟苷/3'-脱氧鸟苷) 指示位置异构体选择性， r (三甲基苯基氯化铵/尿苷) 指示阳离子交换选择性，且 r (对甲苯磺酸钠/尿苷) 指示阴离子交换选择性。

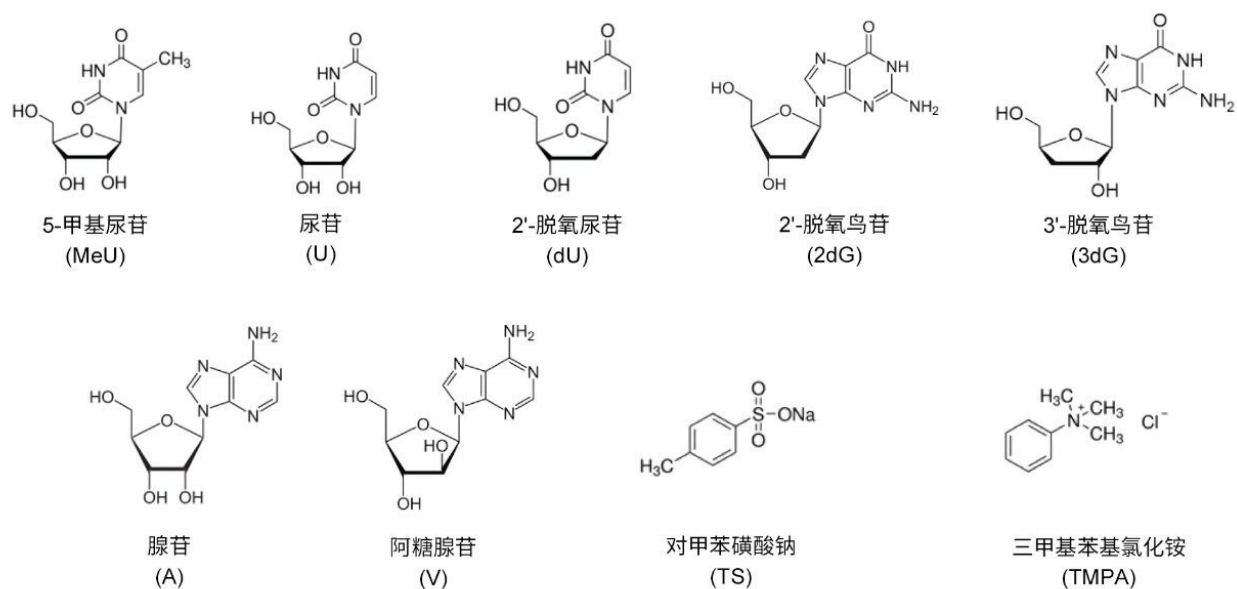


图3.HILIC保留性和选择性评价所用分析物的结构

图4所示为使用BEH Z-HILIC、BEH Amide和BEH HILIC色谱柱获得的其中7种分析物的色谱图比较。结果表明，7种化合物在Z-HILIC色谱柱上获得的保留时间最长，在BEH HILIC色谱柱上获得的保留时间最短。尿苷的保留因子和关键分析物对的选择性因子汇总于表2中。结果表明，Z-HILIC材料对尿苷的保留因子最高，对亚甲基、羟基以及构型异构体阿糖腺苷和腺苷的相对保留性最高。

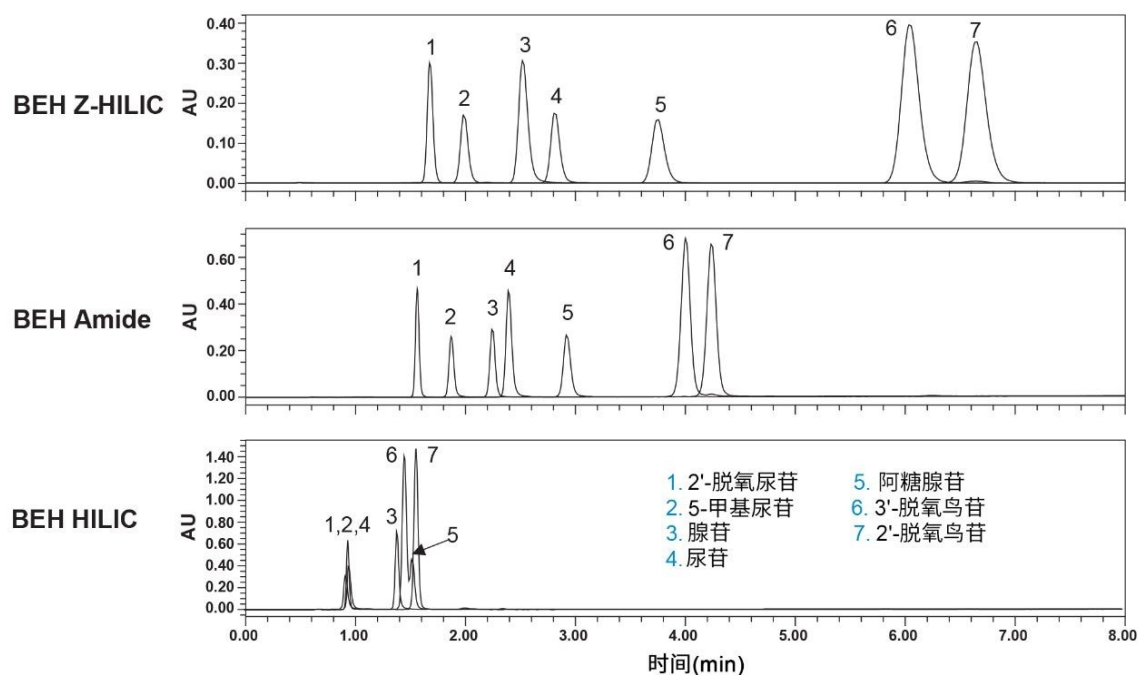


图4. BEH Z-HILIC、BEH Amide和BEH HILIC色谱柱的保留性和选择性比较，所有色谱柱均为 $1.7\ \mu\text{m}$, $2.1 \times 50\ \text{mm}$ 。流动相为90/10 (v/v)乙腈/20 mM醋酸铵水溶液(pH 4.7)，流速为 $0.2\ \text{mL}/\text{min}$ ，柱温为 $30\ ^\circ\text{C}$ 。被测化合物的结构见图3。

参数	特性	BEH Z-HILIC	BEH Amide	BEH HILIC
$k' U$	保留性	4.81	2.71	0.43
$\alpha(U/\text{Me}U)$	亚甲基选择性	1.55	1.30	1.12
$\alpha(U/dU)$	羟基选择性	1.96	1.73	1.05
$\alpha(V/A)$	构型异构体选择性	1.60	1.30	1.20
$\alpha(2dG/3dG)$	位置异构体选择性	1.11	1.07	1.13
$\alpha(\text{TMPA}/U)$	阳离子交换选择性*	0.36	0.64	7.55
$\alpha(\text{TS}/U)$	阴离子交换选择性*	0.52	0.25	0.09

表2. 三种BEH固定相的保留性和相对保留性比较。

*在流动相的水相组分中缓冲液浓度为 $100\ \text{mM}$ 的条件下获得的值。

两种离子化合物三甲基苯基氯化铵(TMPA)与对甲苯磺酸钠(TS)的选择性显示了色谱柱之间的最大差异，如图5所

示。Z-HILIC色谱柱对阴离子TS的保留性强于BEH Amide和未键合BEH色谱柱，而对阳离子TMPA的保留性则相反。这表明在这些分离条件下，Z-HILIC固定相与BEH Amide和未键合BEH材料相比具有更多的表面正电荷。BEH HILIC固定相表现出最强的TMPA保留性，与未键合BEH颗粒上因表面硅醇电离导致的表面负电荷一致。这三种固定相之间选择性的差异使其成为方法开发期间实施筛选的一组有用固定相。

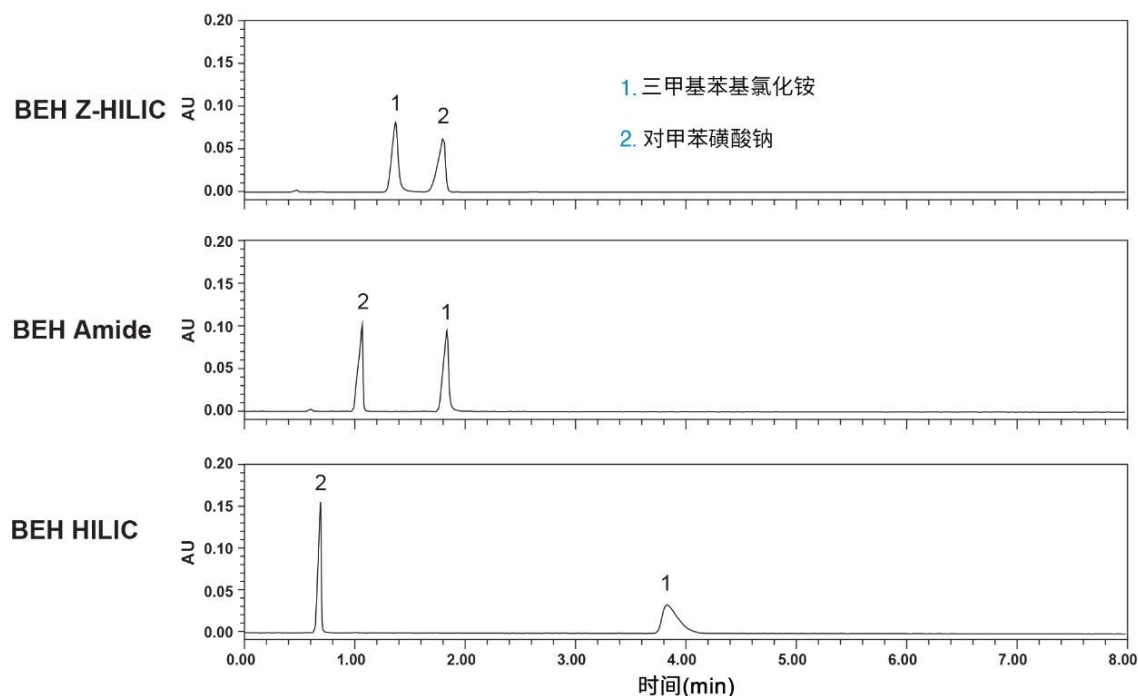
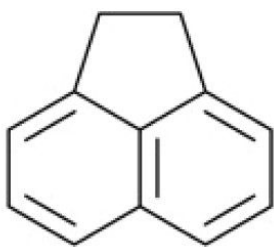


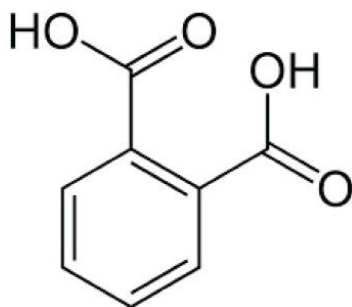
图5. BEH Z-HILIC、BEH Amide和BEH HILIC色谱柱的选择性比较，所有色谱柱均为 $1.7\ \mu\text{m}$, $2.1 \times 50\ \text{mm}$ 。流动相为90/10 (v/v)乙腈/100 mM醋酸铵水溶液(pH 4.7)，流速为 $0.2\ \text{mL}/\text{min}$ ，柱温为 $30\ ^\circ\text{C}$ 。被测化合物的结构见图3。

批次间重现性

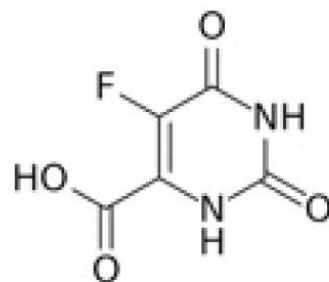
Atlantis BEH Z-HILIC的合成涉及使用聚合物接枝方法对 $95\ \text{\AA}$ BEH颗粒进行表面修饰。通过精心控制表面修饰过程，实现优异的色谱重现性。为评价批次间重现性，我们对5种分析物的混合物进行了等度分离，其中包括酸性、碱性和中性化合物（见图6）。使用 $1.7\ \mu\text{m}$ Atlantis Premier BEH Z-HILIC色谱柱分析该混合物得到的代表性分离结果如图7A所示。如图7B的相对保留图所示，17个不同批次的Atlantis BEH Z-HILIC, $1.7\ \mu\text{m}$ 色谱柱获得的分离结果非常相似。胸腺嘧啶保留因子的相对标准偏差(RSD)为2.0%，其他分析物与胸腺嘧啶相对保留因子的RSD在0.7%~2.2%的范围内。这些RSD值类似于重现性最高的 C_{18} 色谱柱的值²⁰。



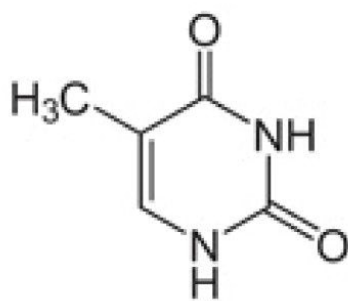
茚
(死体积标记物)



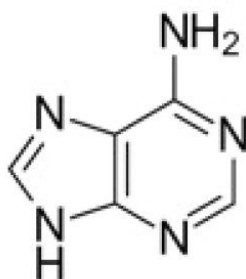
邻苯二甲酸
(酸; $pK_a1=2.92$)



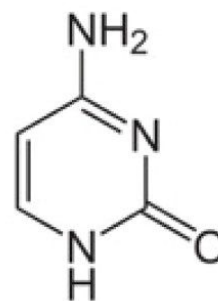
5-氟乳清酸
(酸; $pK_a=2.04$)



胸腺嘧啶
(中性)



腺嘌呤
(碱; $pK_a1=4.15$)



胞嘧啶
(碱; $pK_a1=4.45$)

图6.重现性评价所用分析物的结构

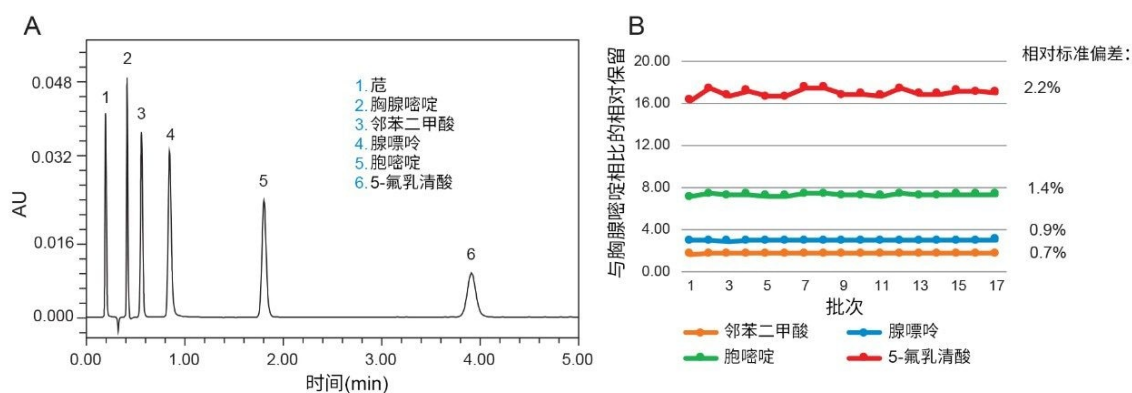


图7.A)使用Atlantis Premier BEH Z-HILIC, 1.7 μm , 2.1 \times 50 mm色谱柱分析图6所示混合物得到的典型分离结果。流动相为90/10(v/v)乙腈/100 mM甲酸铵水溶液(pH 3.0), 流速为0.5 mL/min, 柱温为30 °C。B)该分离中17个不同批次的1.7 μm Atlantis BEH Z-HILIC色谱柱的相对保留结果。

pH稳定性

为评价Atlantis Premier BEH Z-HILIC色谱柱的酸碱稳定性, 在高温下进行加速试验。碱稳定性评价采用包含60/40乙腈/10 mM碳酸氢铵水溶液(pH 11.0)的极端流动相和70 °C柱温。通过使用95/5 (v/v)乙腈/100 mM甲酸铵水溶液(pH 3.0)流动相分离包含苿、腺嘌呤和胞嘧啶的混合物来表征柱效和保留性。色谱柱暴露于75倍柱体积的极端流动相后, 依次用50/50乙腈/水和90/10乙腈/水清洗, 然后用柱效/保留性测试流动相平衡。将此“测试-挑战-清洗-平衡”循环重复100次。由于pH 11的流动相导致硅胶颗粒溶解, 因此, 硅胶基质HILIC色谱柱在该测试中表现出很大的柱效损失²¹。但填充BEH基质固定相的色谱柱在这些条件下表现出优异的稳定性。Atlantis Premier BEH Z-HILIC, 1.7 μm 色谱柱的柱效和保留性与在pH 11流动相条件下暴露时间的关系如图8所示。暴露34 h后, 该色谱柱对胞嘧啶的柱效降低5.8%, 保留时间增加2.5%~5.0%。根据这些结果, 建议Atlantis Premier BEH Z-HILIC色谱柱的上限为pH 10。

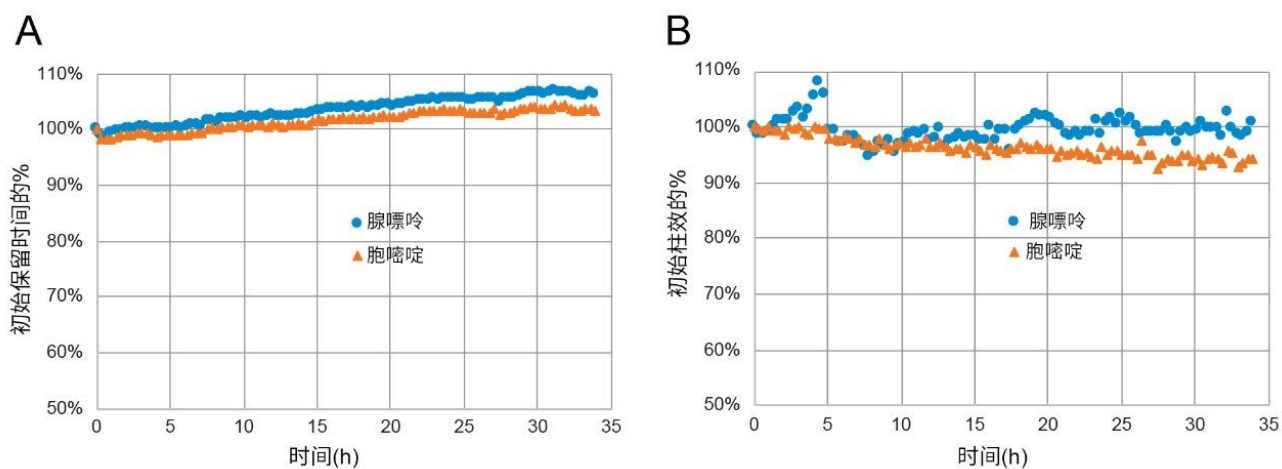


图8. Atlantis Premier BEH Z-HILIC, 1.7 μm , 2.1 \times 50 mm 色谱柱的加速碱稳定性测试结果。在每个进样周期中, 该色谱柱在 70 $^{\circ}\text{C}$ 和 0.4 mL/min 下暴露于 60/40 (v/v) 乙腈/10 mM 碳酸氢铵水溶液 (pH 11.0) 中 20.6 min。通过使用 95/5 (v/v) 乙腈/100 mM 甲酸铵水溶液 (pH 3.0) 作为流动相, 在 0.4 mL/min 的流速下分离 茚、腺嘌呤和胞嘧啶来监测色谱柱的状况。(A) 初始保留时间百分比与 pH 11 下暴露时间的关系; (B) 初始柱效百分比与 pH 11 下暴露时间的关系。

使用 90/10 乙腈/100 mM 甲酸铵水溶液 (pH 2.0) 流动相和 70 $^{\circ}\text{C}$ 柱温, 评估 Atlantis BEH Z-HILIC 固定相的酸稳定性。通过使用相同的流动相分离 茚、腺嘌呤和胞嘧啶的混合物来监测色谱柱的状况。暴露于酸性流动相可能导致键合相水解, 从而导致保留性和选择性发生变化²¹。Atlantis Premier BEH Z-HILIC 色谱柱所得结果见图 9, 展示了腺嘌呤和胞嘧啶的初始保留时间百分比与流动相中暴露时间的关系图。暴露 9 h 后, 保留时间缩短不到 1%。根据这些结果, 建议 Atlantis Premier BEH Z-HILIC 色谱柱的下限为 pH 2。

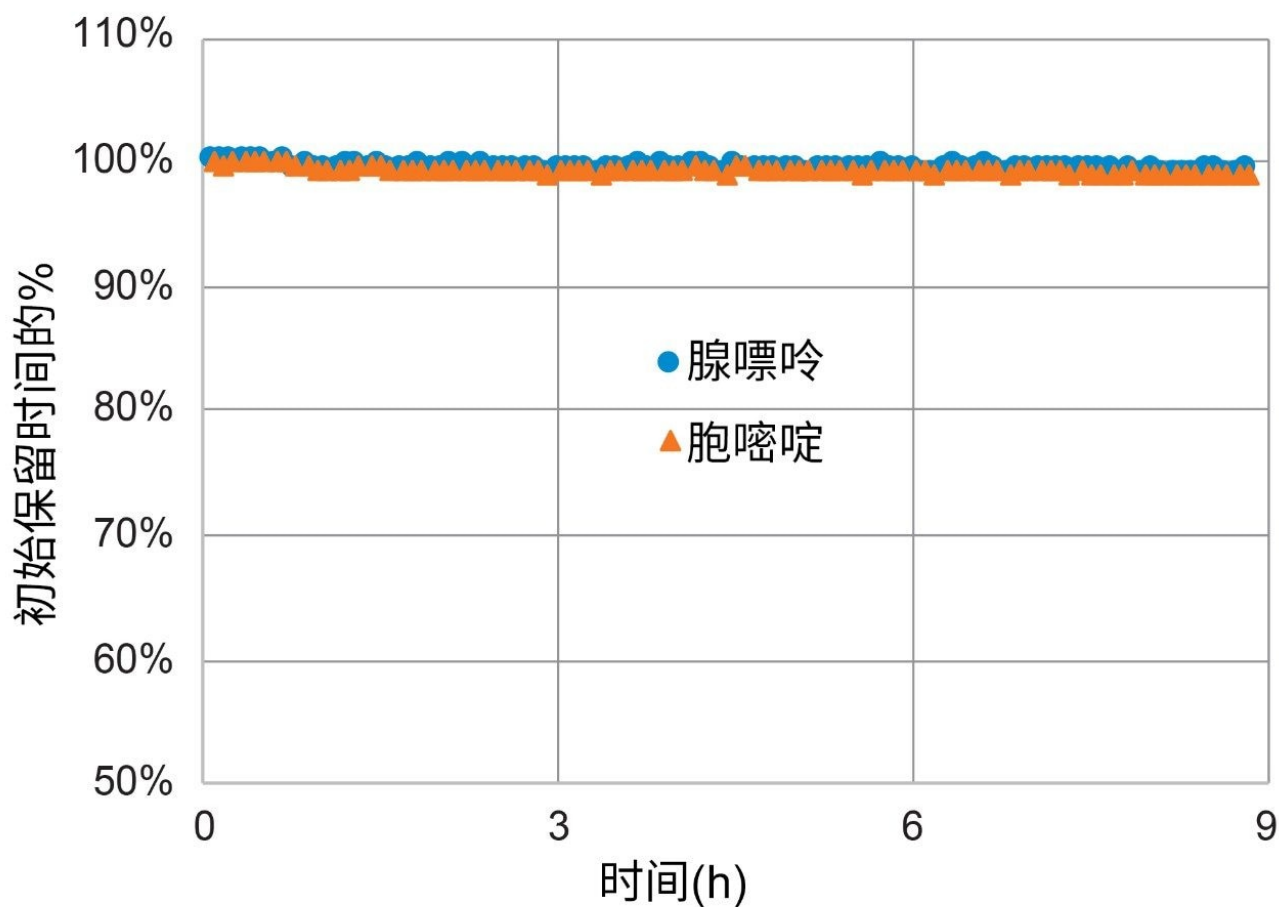


图9. Atlantis Premier BEH Z-HILIC, 1.7 μm , 2.1 \times 50 mm 色谱柱的加速酸稳定性测试结果。使用由90/10 (v/v) 乙腈/100 mM 甲酸铵水溶液 (pH 2.0) 组成的流动相在0.4 mL/min 的流速和70 °C 柱温下分离苋、腺嘌呤和胞嘧啶的混合物。该图显示了初始保留时间百分比与pH 2暴露时间的关系。

用于金属敏感分析物的性能

许多极性化合物，尤其是含有两个或多个羧酸盐基团和/或磷酸盐基团的极性化合物，可能与HPLC色谱柱的不锈钢表面发生相互作用²²。这些相互作用的影响包括峰展宽和拖尾以及分析物信号完全丢失。为减轻这些相互作用，我们对Atlantis Premier BEH Z-HILIC色谱柱使用了经过MaxPeak高性能表面(HPS)改良的硬件¹⁶。图10显示了利用该色谱柱硬件获得的显著改善。使用Atlantis Premier BEH Z-HILIC色谱柱和填充相同固定相但采用标准硬件的色谱柱分析单磷酸腺苷(AMP)、二磷酸腺苷(ADP)和三磷酸腺苷(ATP)。使用标准硬件时，ADP和ATP检测到较宽的拖尾峰。然而，当使用Atlantis Premier BEH Z-HILIC色谱柱（采用MaxPeak HPS硬件）时，观察到所有三种

核苷酸均表现为具有预期峰面积的对称峰。该评价采用ACQUITY Premier系统，其应用了MaxPeak HPS技术以减少UPLC仪器中的吸附²³。

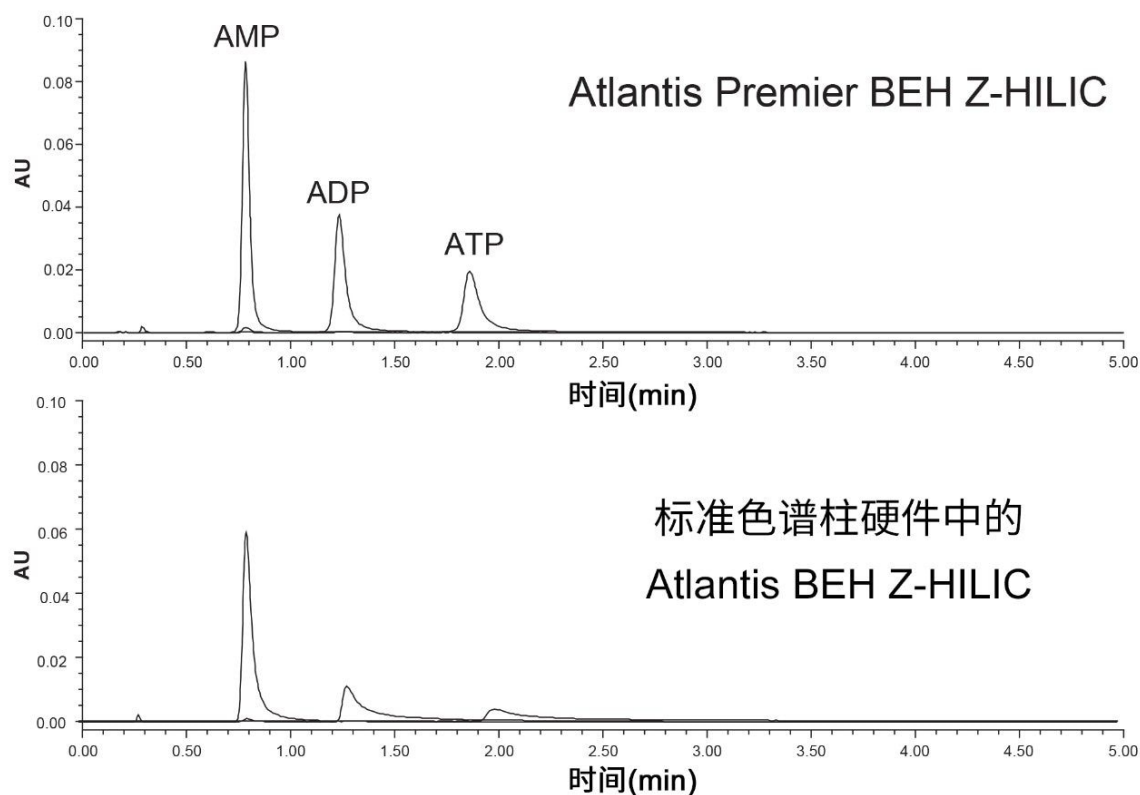


图10.使用Atlantis Premier BEH Z-HILIC色谱柱和填充Atlantis BEH Z-HILIC的标准色谱柱分析AMP、ADP和ATP获得的分离结果。两种色谱柱均为 $2.1 \times 50 \text{ mm}$ ，且都采用 $1.7 \mu\text{m}$ 填料。

结论

这些结果凸显了Atlantis Premier BEH Z-HILIC, $1.7 \mu\text{m}$ 色谱柱的关键特性。这些色谱柱填充有经磺基甜菜碱基团衍生化的亚乙基桥杂化颗粒，表现出高柱效、对极性分析物的强保留性、与现有基于BEH的HILIC填料的互补选择性、优异的批次间重现性、pH 2-10条件下的稳定性以及对金属敏感化合物的出色性能。这些属性的组合使这些色谱柱适用于各种应用，包括代谢组学、细胞培养基分析、药物杂质分析和食品检测。

参考资料

1. Alpert, A. J. Hydrophilic Interaction Chromatography for the Separation of Peptides, Nucleic Acids and Other Polar Compounds. *J. Chromatogr.* 1990, 499, 177–196.
2. Hemström, P.; Irgum, K. Hydrophilic Interaction Chromatography. *J. Sep. Sci.* 2006, 29, 1784-1821.
3. Jandera, P. Stationary and Mobile Phases in Hydrophilic Interaction Chromatography: A Review. *Anal.Chim.Acta* 2011, 692, 1–25.
4. Guo, Y.; Gaiki, S. Retention and Selectivity of Stationary Phases for Hydrophilic Interaction Chromatography. *J. Chromatogr.A* 2011, 1218, 5920-5938.
5. Jiang, W.; Irgum, K. Covalently Bonded Polymeric Zwitterionic Stationary Phase for Simultaneous Separation of Inorganic Cations and Anions. *Anal.Chem.* 1999, 71, 333-344.
6. Dinh, N. P.; Jonsson, T.; Irgum, K. Water Uptake on Polar Stationary Phases Under Conditions for Hydrophilic Interaction Chromatography and Its Relation to Solute Retention. *J. Chromatogr.A* 2013, 1320, 33-47.
7. Soukup, J.; Jandera, P. Adsorption of Water from Aqueous Acetonitrile on Silica-Based Stationary Phases in Aqueous Normal-Phase Liquid Chromatography. *J. Chromatogr.A* 2014, 1374, 102-111.
8. Trivedi, D. K.; Jones, H.; Shah, A.; Iles, R. K. Development of Zwitterionic Hydrophilic Liquid Chromatography (ZIC HILIC-MS) Metabolomics Method for Shotgun Analysis of Human Urine. *J. Chromat.Separation Techniq.* 2012, 3, 144-155.
9. Floris, P.; McGillicuddy, N.; Morrissey, B.; Albrecht, S.; Kaisermayer, C.; Hawe, D.; Riordan, L.; Lindeberg, A.; Forestell, S.; Bones, J. A LC-MS/MS Platform for the Identification of Productivity Markers in Industrial Mammalian Cell Culture Media. *Process Biochemistry* 2019, 86, 136–143.
10. Hmelnickis, J.; Pugovics, O.; Kazoka, H.; Viksna, A.; Susinskis, I.; Kokums, K. Application of Hydrophilic Interaction Chromatography for Simultaneous Separation of Six Impurities of Mildronate Substance. *J. Pharm.Biomed.Anal.* 2008, 48, 649–656.
11. Diez C.; Guillarme D.; Sporri A. S.; Cognard E.; Ortelli D.; Edder P.; Rudaz S. Aminoglycoside Analysis in

Food of Animal Origin with a Zwitterionic Stationary Phase and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Anal.Chim.Acta* 2015, 882, 127–139.

12. https://www.emdmillipore.com/US/en/products/analytical-sample-prep/chromatography-for-analysis/analytical-hplc/sequant-zic-hilic-hplc-columns/sequant-zic-philic-polymeric/aP6b.qB.Q4oAAAE_QfJ3.Lxi,nav <
https://www.emdmillipore.com/US/en/products/analytical-sample-prep/chromatography-for-analysis/analytical-hplc/sequant-zic-hilic-hplc-columns/sequant-zic-philic-polymeric/aP6b.qB.Q4oAAAE_QfJ3.Lxi,nav>
13. Ikegami, T.; Tomomatsu, K.; Takubo, H.; Horie, K.; Tanaka, N. Separation Efficiencies in Hydrophilic Interaction Chromatography. *J. Chromatogr.A* 2008, 1184, 474-503.
14. Wyndham, K. D.; O' Gara, J. E.; Walter, T. H.; Glose, K. H.; Lawrence, N. L.; Alden, B. A.; Izzo, G. S.; Hudalla, C. J.; Iraneta, P. C. Characterization and Evaluation of C18 HPLC Stationary Phases Based on Ethyl-Bridged Hybrid Organic/Inorganic Particles. *Anal.Chem.* 2003, 75, 6781-6788.
15. Mazzeo, J. R.; Neue, U. D.; Kele M.; Plumb, R. S. Advancing LC Performance with Smaller Particles and Higher Pressure. *Anal.Chem.* 2005, 77, 460A–467A.
16. Lauber, M.; Walter, T. H.; Gilar, M.; DeLano, M.; Boissel, C.; Smith, K.; Birdsall, R.; Rainville, P.; Belanger, J.; Wyndham, K. Low Adsorption HPLC Columns Based on MaxPeak High Performance Surfaces. Waters White Paper, [720006930EN](https://www.waters.com/waters/library.htm?cid=511436&lid=135074404&lcid=135074403) <
<https://www.waters.com/waters/library.htm?cid=511436&lid=135074404&lcid=135074403>> , Oct 2020.
17. Grumbach, E. S.; Diehl, D. M.; Neue, U. D. The Application of Novel 1.7 μm Ethylene Bridged Hybrid Particles for Hydrophilic Interaction Chromatography. *J. Sep. Sci.* 2008, 31, 1511-1518.
18. Heaton, J. C.; McCalley, D. V. Comparison of the Kinetic Performance and Retentivity of sub-2 μm Core-Shell, Hybrid and Conventional Bare Silica Phases in Hydrophilic Interaction Chromatography. *J. Chromatogr.A* 2014, 1371, 106-116.
19. Kawachi, Y.; Ikegami, T.; Takubo, H.; Ikegami, Y.; Miyamoto, M.; Tanaka, N. Chromatographic Characterization of Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography Stationary Phases: Hydrophilicity, Charge Effects, Structural Selectivity, and Separation Efficiency. *J. Chromatogr.A* 2011,

1218, 5903-5919.

20. Neue, U. D.; Serowik, E.; Iraneta, P.; Alden, B. A.; Walter, T. H. A Universal Procedure for the Assessment of the Reproducibility and the Classification of Silica-Based Reversed-Phase Packings; 1. Assessment of the Reproducibility of Reversed-Phase Packings. *J. Chromatogr. A* 1999, 849, 87-100.
21. Berthelette, K.; Walter, T. Stability of Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC) Stationary Phases Under Low and High pH Testing Conditions, presented at HPLC 2019, Jun 2019, https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/APAC%20Webinar%20Summary%20Q%26A/HPLC%20Posters%201064_HPLC2019_Berthelette_HILIC%20Stability_v1.02_A3.pdf <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/APAC%20Webinar%20Summary%20Q%26A/HPLC%20Posters%20%26%20Slides/PW-1064_HPLC2019_Berthelette_HILIC%20Stability_v1.02_A3.pdf>
22. DeLano, M.; Walter, T. H.; Lauber, M. A.; Gilar, M.; Jung, M. C.; Nguyen, J. M.; Boissel, C.; Patel, A. V.; Bates-Harrison, A.; Wyndham, K. D. Using Hybrid Organic-Inorganic Surface Technology to Mitigate Analyte Interactions with Metal Surfaces in UHPLC. *Anal. Chem.* 2021, 93(14), 5773–5781.
23. Walter, T. H.; Trudeau, M.; Simeone, J.; Rainville, P.; Patel, A. V.; Lauber, M. A.; Kellett, J.; DeLano, M.; Brennan, K.; Boissel, C.; Birdsall, R.; Berthelette, K. Low Adsorption UPLC Systems and Columns Based on MaxPeak High Performance Surfaces: The ACQUITY Premier Solution. Waters White Paper, 720007128EN <<https://www.waters.com/waters/library.htm?cid=511436&lid=135079876&lcid=135079875>> , Feb 2021.

特色产品

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/10138533>>

ACQUITY Premier系统 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077739>>

ACQUITY UPLC系统 <<https://www.waters.com/514207>>

ACQUITY UPLC PDA检测器 <<https://www.waters.com/514225>>

[Empower 色谱数据系统 <https://www.waters.com/10190669>](https://www.waters.com/10190669)

[Atlantis Premier 色谱柱 <https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=513211>](https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=513211)

720007311ZH, 2021年12月修订

© 2022 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie](#) [设置](#)

沪 ICP 备06003546号-2

京公网安备 31011502007476号