

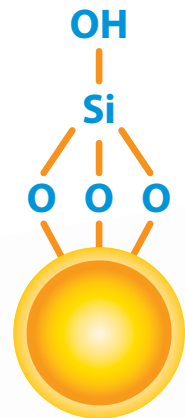
# Raptor

LC Columns

*Selectivity Accelerated*

## Raptor HILIC-Si: HILIC einfach gemacht

- Mehr Retention für polare Substanzen ohne Ionenpaarreagenz
- Basierend auf 2.7 µm Raptor Core-Shell Partikeln
- Ideal zur Steigerung der Empfindlichkeit und Selektivität in der LC-MS
- Geeignet für HPLC and UHPLC



### Bereit für HILIC?

Lesen Sie auch unseren Artikel über die Vermeidung üblicher Probleme.

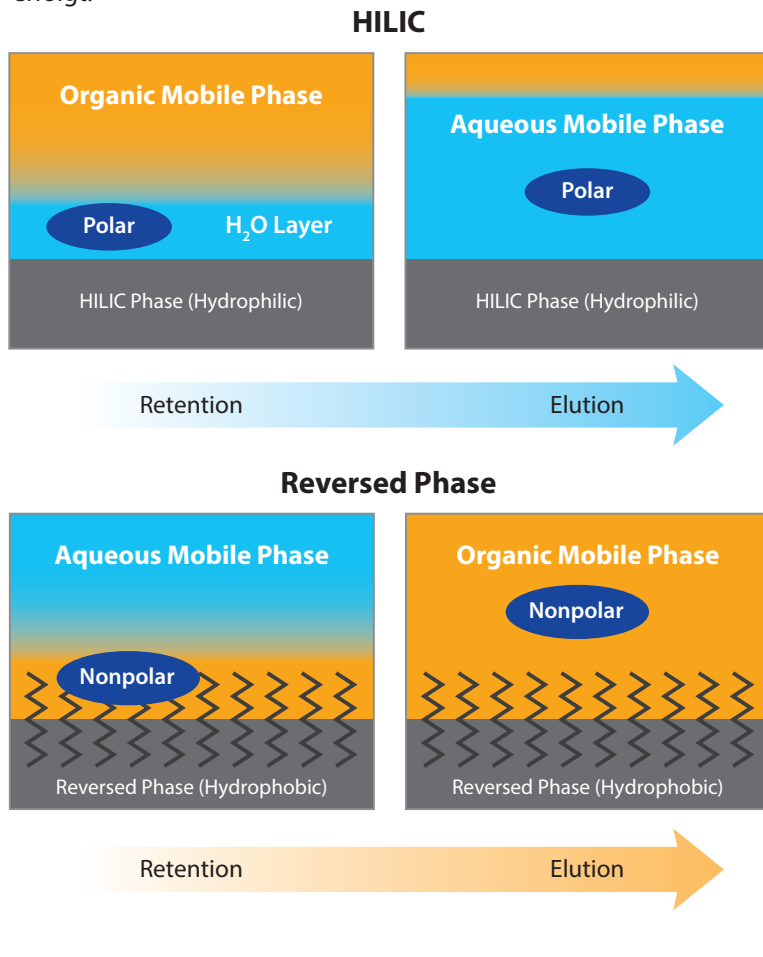
[www.restek.com/HILICtips](http://www.restek.com/HILICtips)

# Die Raptor HILIC-Si Säule

Mit der Entwicklung der Raptor LC-Säulenreihe haben die Chemiker von Restek die Besonderheiten und Vorteile von Core-Shell Partikeln mit den besonderen Selektivitäten von Resteks USLC-Technologie kombiniert. Mit diesem neuen Säulentyp erzielt man auf einfache Weise bessere Trennungen und bedeutend schmalere Peaks. Damit besteht auch die Möglichkeit Analysen erheblich zu beschleunigen, sowohl mit HPLC- als auch mit UHPLC-Geräten. Mit der Raptor HILIC-Si steht nun eine robuste und zuverlässige Säule für den HILIC-Bereich zur Verfügung.

HILIC - "Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography" <sup>(1)</sup> - ist für sehr polare Substanzen eine interessante Alternative zur RP - "Reversed Phase" - LC, da sie bessere Retention für wasserlösliche Substanzen ermöglicht, die nur über Unterschiede in polaren funktionellen Gruppen getrennt werden können (Abbildung 1). Die Raptor HILIC-Si Säule vereinfacht den Wechsel zum HILIC-Mechanismus, da sie nicht nur viele polare Substanzen ohne Ionenpaarreakanz retardieren kann, sondern auch die Vorteile der Raptor-Reihe in sich vereinigt.

**Abbildung 1:** Verwenden Sie den HILIC-Mechanismus, wenn polare Analyten stärker retardiert werden müssen. Bei HILIC hat die wässrige mobile Phase die stärkere Elutionskraft, im Gegensatz zum RP-Mechanismus, bei der die Elution durch die organische mobile Phase erfolgt.



(1) A.J. Alpert, Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds, J. Chromatogr. 499 (1990) 177-196.

## Beschreibung der Phase



**Porenweite**  
90 Å

**Basis**  
2.7 µm hochreine Core-Shell Kieselgelpartikel

**Oberfläche**  
150 m<sup>2</sup>/g

**Endcapping**  
Nein

**Kohlenstoffgehalt**  
N/A (nicht anwendbar)

**USP Klassifizierung**  
L3

**Phasentyp**  
Kieselgel

**Ligandentyp**  
kein Ligand

**Arbeitsbereich**  
pH 2.0-8.0

Maximale Temperatur: 80 °C

Maximaler Druck: 600 bar / 8700 psi

### Eigenschaften

- HILIC Kieselgelphase auf der Basis von 2.7 µm Raptor Core-Shell Partikeln
- geeignet für HPLC und UHPLC

### Wechseln Sie zu einer Raptor HILIC-Si Säule, wenn Sie ...

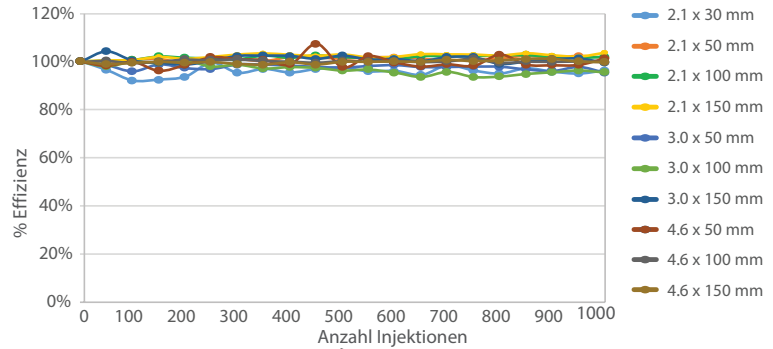
- mehr Retention und eine bessere Auflösung für polare Substanzen benötigen.
- Ionenpaarreagenzien vermeiden wollen.
- die Empfindlichkeit für polare Substanzen in der LC-MS verbessern möchten.



## Die Raptor Technologie garantiert Robustheit und Reproduzierbarkeit

Raptor LC Säulen sind bekannt für ihre besondere Robustheit und Zuverlässigkeit. Das gilt nun auch im HILIC-Bereich mit der neuen Raptor HILIC-Si. Sie können sich auf gleichbleibende Ergebnisse verlassen, von Charge zu Charge, von Säule zu Säule, von Injektion zu Injektion (Abbildungen 2 und 3). Vereinfachen Sie den Wechsel zum HILIC-Mechanismus mit der Zuverlässigkeit der Raptor HILIC-Si Säulen!

**Abbildung 2:** Raptor HILIC-Si Säulen zeigen in jeder Dimension eine gleichbleibend zuverlässige Trennleistung, sogar bei hohen Drücken im Dauerbetrieb wie hier im Beispiel bei 575 bar. Damit sind Analysen bei hohen Lineargeschwindigkeiten sorglos möglich.



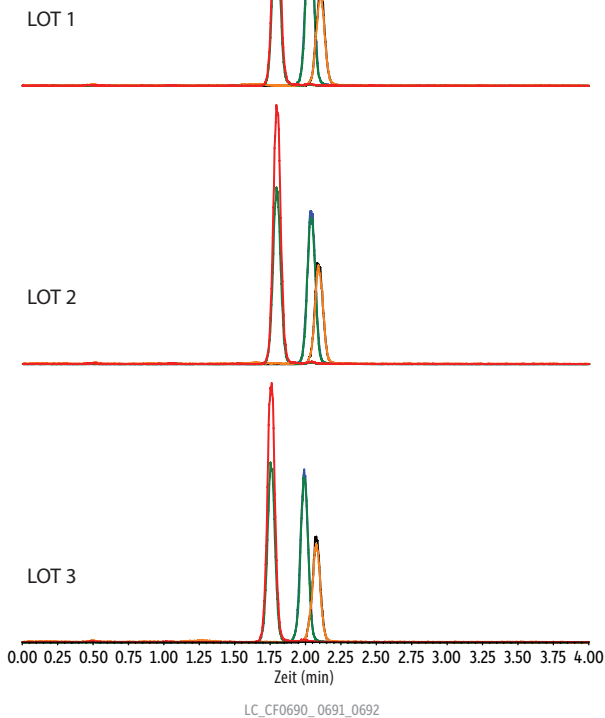
Alle Tests wurden mit Raptor HILIC-Si 2.7µm Säulen in unterschiedlichen Säulendimensionen durchgeführt.

**Abbildung 3:** Eine strenge Qualitätskontrolle garantiert, dass die robusten Raptor HILIC-Si Säulen gleichbleibend reproduzierbare Ergebnisse liefern. Charge für Charge, Injektion für Injektion.

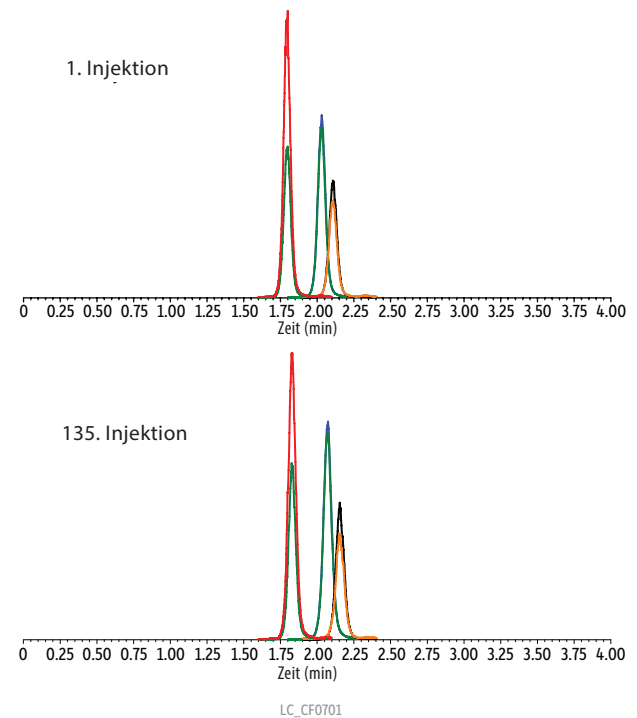
Peaks	Konz. (ng/mL)	Precursor Ion	Produkt Ion	Produkt Ion
1. 3-Methoxytyramin	1	151.00	119.00	91.02
2. Metanephrin	1	179.94	148.22	165.01
3. Normetanephrin	1	166.00	134.02	121.01

Peaks	Konz. (ng/mL)	Precursor Ion	Produkt Ion	Produkt Ion	tr (min) Injektion 1	tr (min) Injektion 135
1. 3-Methoxytyramin	1	151.00	119.00	91.02	1.80	1.83
2. Metanephrin	1	179.94	148.22	165.01	2.03	2.07
3. Normetanephrin	1	166.00	134.02	121.01	2.11	2.15

### Garantierte Chargen-reproduzierbarkeit



### Gleichbleibende Ergebnisse von Injektion zu Injektion

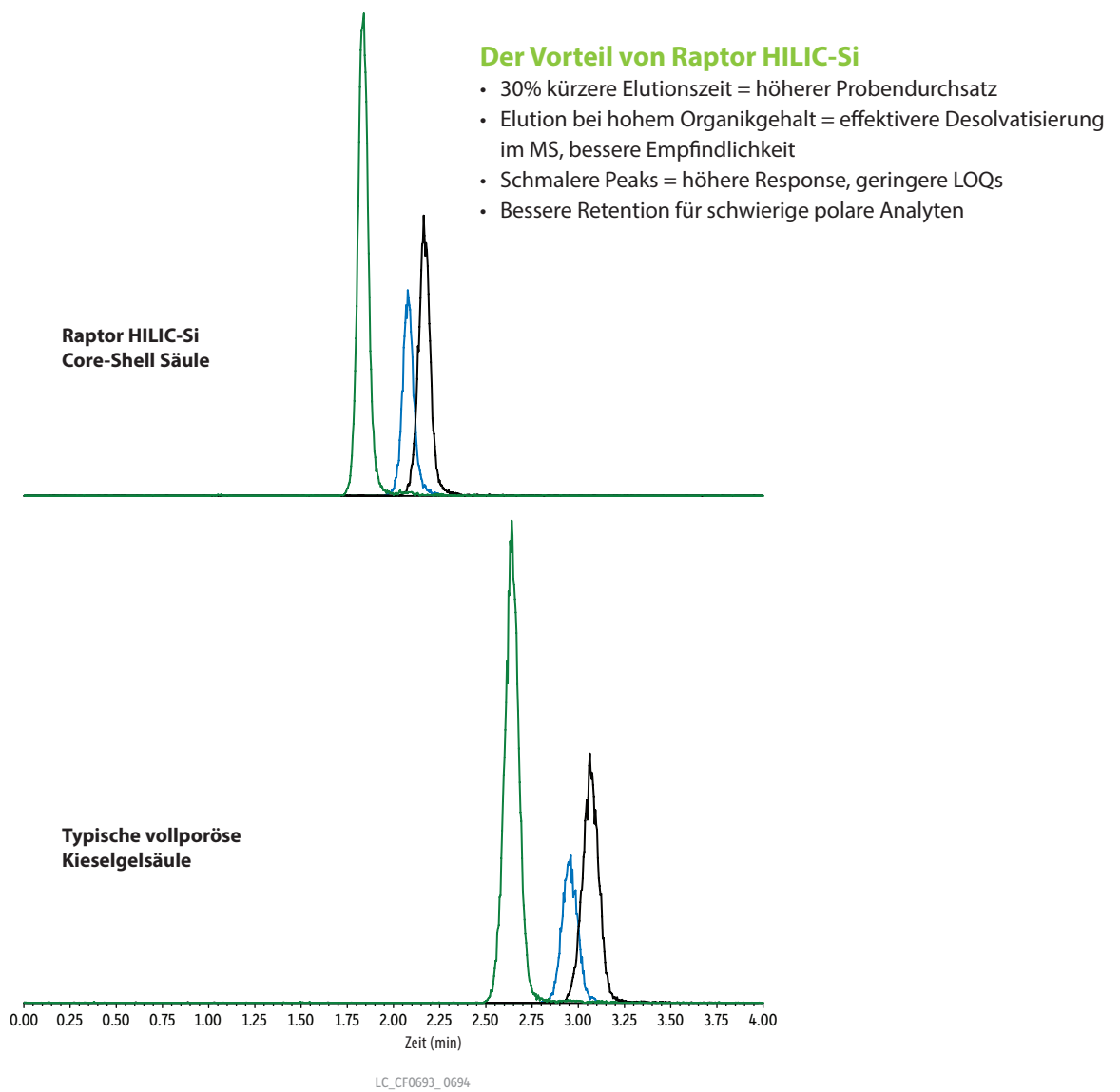


**Säule:** Raptor HILIC-Si (Art.Nr. 9310A52); Dimension: 50 mm x 2.1 mm ID, Partikelgröße: 2.7 µm; Temp.: 30 °C; **Probe:** Lösemittel: Mobile Phase A: Mobile Phase B (10:90); Konz.: 1 ng/mL; Inj. Vol.: 10 µL; **Mobile Phase:** A: Wasser, 100 mM Ammonium Formiat, pH 3.0; B: Acetonitril; **Gradient** (%B): 0.00 min (90% B), 5.00 (90% B); **Flussrate:** 0.3 mL/min; **Detektor:** MS/MS; Ionisierungsmodus: ESI+; Messmodus: MRM; **Gerät:** UHPLC

# Raptor Core-Shell + HILIC = schnellere und empfindlichere Analytik

Was ist das Besondere an Raptor HILIC-Si? Die Antwort ist einfach: diese Säule vereint die Vorteile der Raptor Core-Shell Säulen mit der speziellen Selektivität des HILIC Mechanismus. Durch den besonderen Aufbau der Core-Shell Partikel - im Inneren ein undurchdringlicher Kieselgelkern, außen eine definierte Schicht poröser stationärer Phase - sind schnellere Analysen mit höherer Trennleistung bei besserer Robustheit möglich. Abbildung 4 zeigt den Vergleich einer Säule mit 3 µm vollporösen Partikeln und einer mit 2.7 µm Raptor Core-Shell Partikeln unter identischen Analysenbedingungen (Flussrate, Gradient, Temperatur). Die Raptor HILIC-Si Säule erreicht bei kürzerer Laufzeit eine bessere Empfindlichkeit, d.h. der Probendurchsatz kann so erhöht und für schwierig zu retardierende polare Substanzen können niedrigere Bestimmungsgrenzen (LOQ) erreicht werden.

**Abbildung 4:** Raptor HILIC-Si Core-Shell Säulen ermöglichen einen höheren Probendurchsatz.

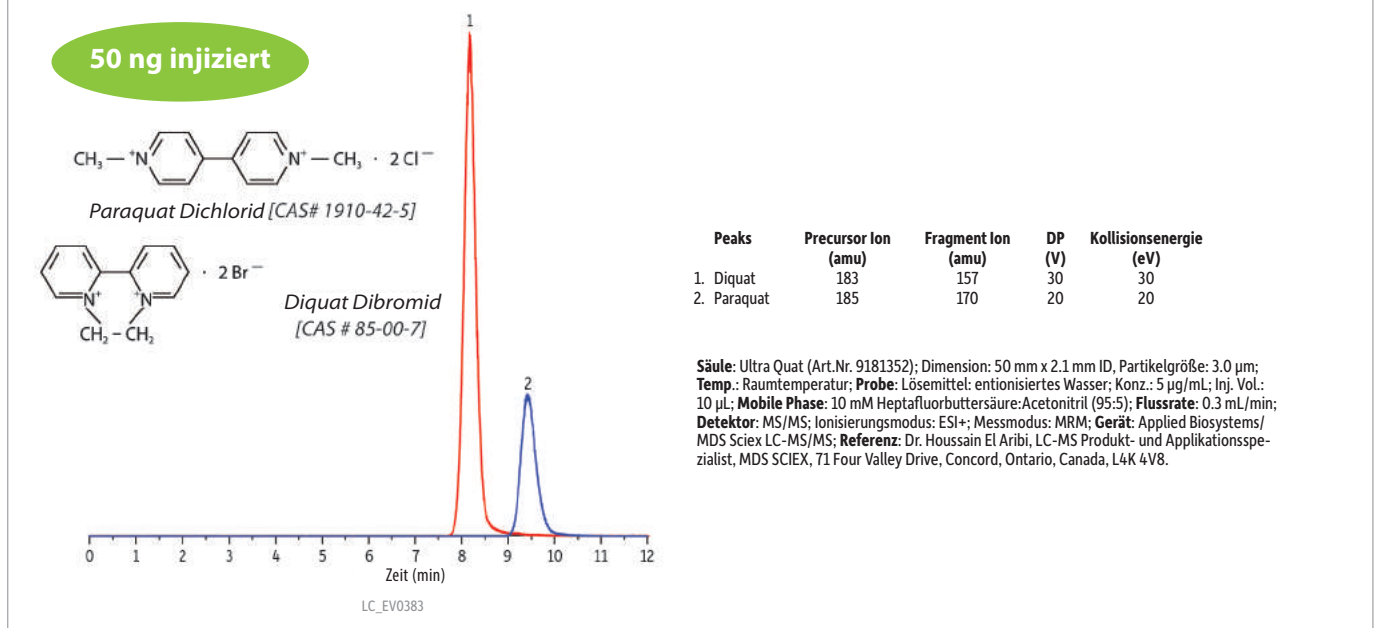


Peaks	Konz. (ng/mL)	Precursor Ion	Produkt Ion	Raptor t <sub>R</sub> (min)	vollporös t <sub>R</sub> (min)	Raptor HILIC-Si Core-Shell Säule (Art.Nr. 9310A52) 50 mm x 2.1 mm ID, Partikelgröße: 2.7 µm; Typische vollporöse Kieselgelsäule, 50 mm x 2.1 mm ID, Partikelgröße: 3.0 µm; Temp.: 30 °C; Probe: Lösemittel: Mobile Phase A: Mobile Phase B (10:90); Konz.: 1 ng/mL; Inj. Vol.: 10 µL; Mobile Phase: A: Wasser, 100 mM Ammonium Formiat, pH 3.0; B: Acetonitril; Gradient (%B): 0.00 min (90% B), 5.00 (90% B); Flussrate: 0.3 mL/min; Detektor: MS/MS; Ionisierungsmodus: ESI+; Messmodus: MRM; Gerät: UHPLC
1. 3-Methoxytyramin	1	151.00	119.00	1.84	2.64	
2. Metanephrin	1	179.94	148.22	2.08	2.96	
3. Normetanephrin	1	166.00	134.02	2.16	3.06	

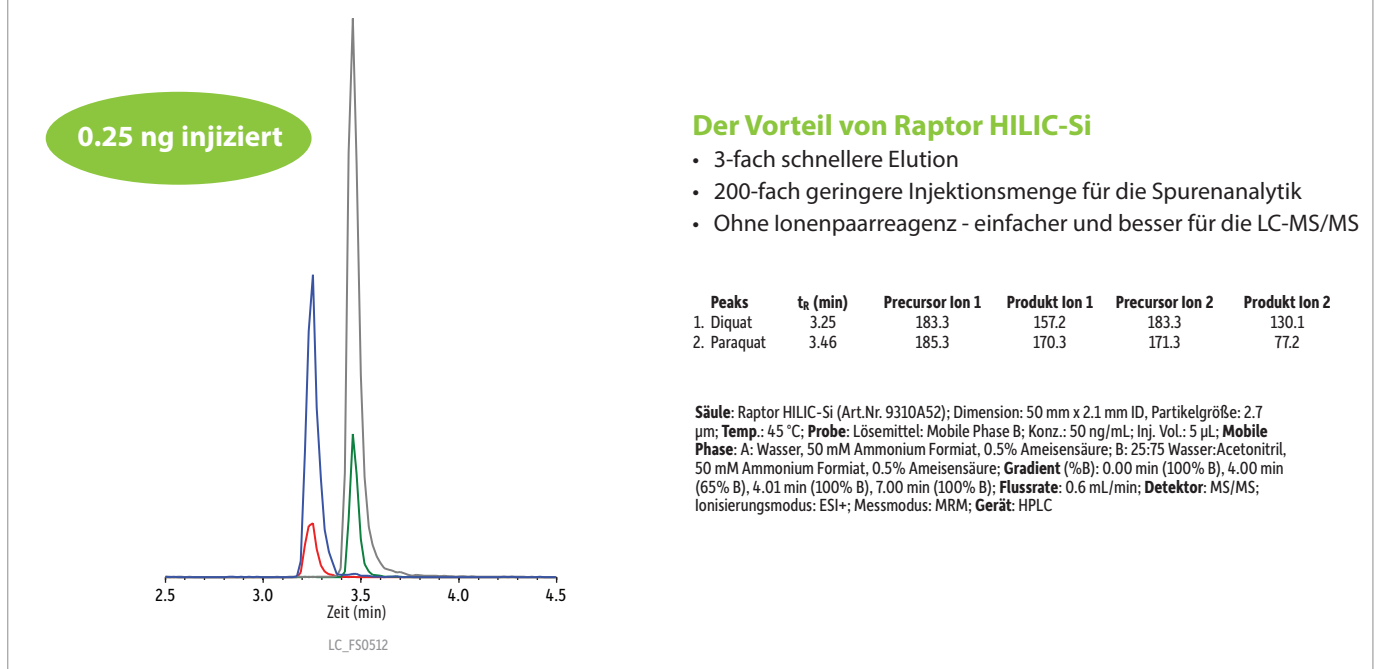
## Ionenpaarreagenz? Nicht mit Raptor HILIC-Si!

HILIC Methoden werden immer dann in Betracht gezogen, wenn eine alternative Lösung zu einer schwierigen Reversed Phase Methode für polare Substanzen benötigt wird. So ist HILIC zum Beispiel eine Alternative zu RP-Methoden, bei denen der mobilen Phase Ionenpaarreagenzien zugesetzt werden müssen, um ausreichende Retention für sehr polare Substanzen zu erhalten. Die hoch polaren Herbizide Paraquat und Diquat, mehrfach geladene quartäre Amine, werden häufig im RP-Modus mit Ionenpaarreagenzien analysiert (Abbildung 5). Es wird zwar eine gute Retention erreicht, aber die Reagenzien kontaminieren schnell das LC-MS-System, das dadurch entsprechend häufig aus dem Betrieb genommen und geputzt werden muss. Mit Raptor HILIC-Si Säulen können Paraquat und Diquat ohne Ionenpaarreagenz lange genug retardiert und gut getrennt werden, ohne das LC-MS-System zu belasten (Abbildung 6).

**Abbildung 5:** RP-Analyse von Paraquat und Diquat mit Zusatz von Ionenpaarreagenz zur mobilen Phase



**Abbildung 6:** Raptor HILIC-Si Analyse von Paraquat und Diquat mit MS-freundlicher mobiler Phase

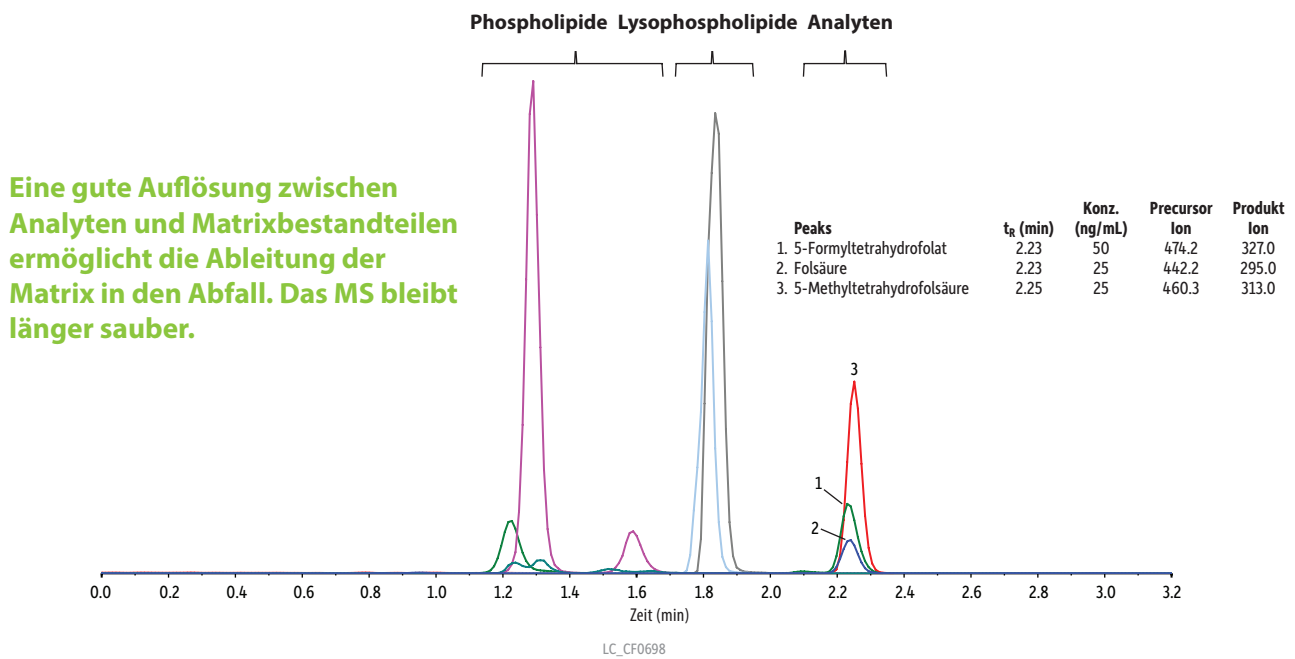


# Raptor HILIC-Si verbessert die Leistungsfähigkeit Ihres LC-MS/MS Systems

Der auffälligste Unterschied zwischen RP- und HILIC-Mechanismus ist die Tatsache, dass die wässrige mobile Phase im HILIC-Modus der stärkere Eluent ist und die Methode somit bei hohem Organikgehalt startet. Dadurch ergibt sich eine vollkommen andere Selektivität, mit deren Hilfe kleine polare Moleküle durch mehr Retention besser von der Matrix abgetrennt werden können. Dies reduziert die Ionensuppression. Die Empfindlichkeit verbessert sich noch weiter, weil eine mobile Phase mit hohem Organikgehalt wesentlich effektiver verdampft und sich die Ionenausbeute während der Elektrosprayionisation erhöht. Das folgende Applikationsbeispiel veranschaulicht, wie durch den Einsatz des HILIC-Mechanismus und einer Raptor HILIC-Si Säule Matrixeffekte abnehmen und die Empfindlichkeit in der LC-MS/MS steigt.

**Folsäure und ihre Metaboliten:** Folsäuremangel wird als Risikofaktor für eine Reihe von Gesundheitsproblemen angesehen, zum Beispiel den Neuralrohrdefekt bei Neugeborenen, Herz-Kreislauf-Beschwerden, Alzheimer und verschiedene Krebsarten. Der Gehalt an Folsäure und deren Metaboliten im Plasma wird als Biomarker für Folsäuremangel bestimmt. Allerdings werden bei der Extraktion dieser Substanzen auch Phospholipide mitextrahiert, die Matrixeffekte und Fehler bei der Quantifizierung verursachen können. Selbst mit einer guten Probenvorbereitung ist die vollständige Entfernung der Phospholipide schwierig, und auch kleine Mengen können die Zielanalyten noch stören und die Ionenquelle kontaminieren. Durch den Wechsel zum HILIC Modus mit einer Raptor HILIC-Si Säule kann dieser Matrixeffekt aber effektiv reduziert werden (Abbildung 7).

**Abbildung 7:** Biomarker für Folsäuremangel in Humanplasma

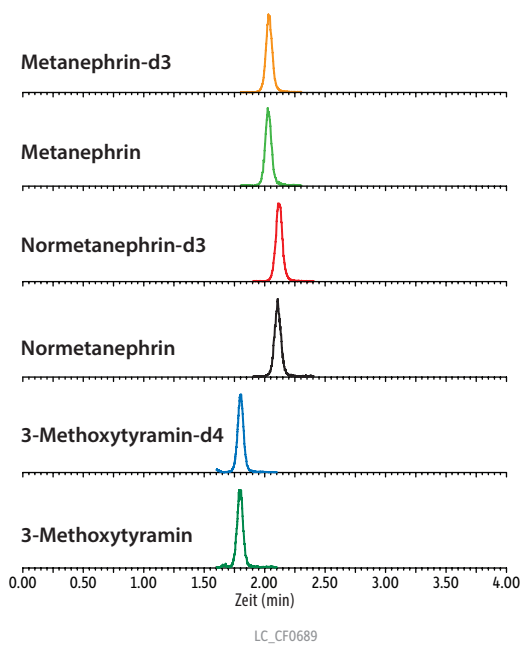


**Säule:** Raptor HILIC-Si (Art.Nr. 9310A5E); Dimension: 50 mm x 3.0 mm ID, Partikelgröße: 2.7 µm; **Temp.:** 30 °C; **Probe:** Lösemittel: 20 mM Ammonium Acetat in Acetonitril:Wasser (80:20) (mit 10 mg/mL 2-Mercaptoethanol); Inj. Vol.: 5 µL; **Mobile Phase:** A: 50:50 Wasser:Acetonitril, 20 mM Ammonium Acetat; B: 20:80 Wasser:Acetonitril, 20 mM Ammonium Acetat; **Gradient** (%B): 0.00 min (100% B), 3.00 min (0% B), 3.20 min (0% B), 3.21 min (100% B), 5.21 min (100% B). **Flussrate:** 0.5 mL/min; **Detektor:** MS/MS; Ionisierungsmodus: ESI+; Messmodus: MRM; **Gerät:** UHPLC; **Anmerkung:** Für Details zur Probenvorbereitung bitte im Suchfenster auf [www.restek.com](http://www.restek.com) das Stichwort LC\_CF0698 eingeben und bei den Suchergebnissen "Chromatograms" anklicken.

## Monoamin-Neurotransmitter und deren Metaboliten

Die Bestimmung von Monoamin-Neurotransmittern und ihren Metaboliten in Plasma und Urin wird im Rahmen der klinischen Diagnostik und zur Überwachung von Neuroblastomen und Phäochromozytomen eingesetzt. Die Quantifizierung von freiem Metanephrin und Normetanephrin ist der empfindlichste und genaueste Test für diesen Zweck, aber die Analytik dieser polaren Substanzen ist schwierig. Mittels RP-LC ist die Retention recht kurz und die Empfindlichkeit im LC-MS gering. Diese polaren Adrenalin-Metabolite können aber mittels HILIC auf einer Raptor HILIC-Si Säule ausreichend retardiert werden (Abbildung 8). Außerdem liegt die Empfindlichkeit mit 50 pg/mL Substanz in Humanplasma in einem Bereich klinischer Relevanz.

**Abbildung 8:** Spurenbestimmung von Metanephrin, Normetanephrin und 3-Methoxytyramin in Humanplasma



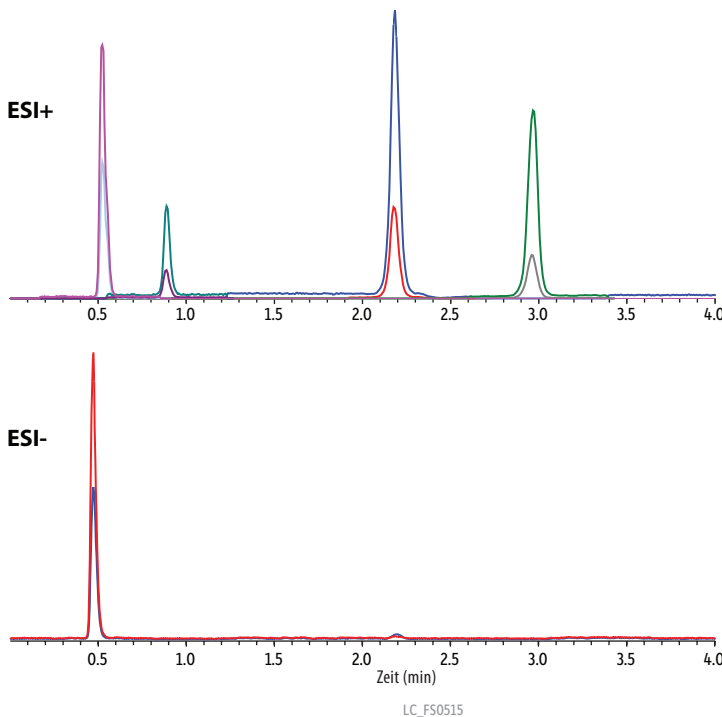
Ein gutes Signal-Rausch-Verhältnis bei 50 pg/mL garantiert niedrige Bestimmungsgrenzen und eine präzise Quantifizierung im Spurenbereich.

Peaks	t <sub>R</sub> (min)	Konz. (pg/mL)	Precursor Ion	Produkt Ion
1. 3-Methoxytyramin-d4 (IS)	1.80	400	155.07	122.93
2. 3-Methoxytyramin	1.80	50	151.00	119.00
3. Metanephrin-d3 (IS)	2.03	200	183.00	151.15
4. Metanephrin	2.03	50	179.94	148.22
5. Normetanephrin-d3 (IS)	2.11	400	169.00	136.96
6. Normetanephrin	2.11	50	166.00	134.02

**Säule:** Raptor HILIC-Si (Art.Nr. 9310A52); Dimension: 50 mm x 2.1 mm ID, Partikelgröße: 2.7 µm; **Temp.:** 30 °C; **Probe:** Lösemittel: Mobile Phase A: Mobile Phase B (10:90); Inj. Vol.: 10 µL; **Mobile Phase:** A: Wasser, 100 mM Ammonium Formiat, pH 3.0; B: Acetonitril; **Gradient** (%B): 0.00 min (90% B), 5.00 min (90% B); **Flussrate:** 0.3 mL/min; **Detektor:** MS/MS; Ionisierungsmodus: ESI+; Messmodus: MRM; **Gerät:** UHPLC; **Anmerkung:** Für Details zur Probenvorbereitung bitte im Suchfenster auf [www.restek.com](http://www.restek.com) das Stichwort LC\_CF0689 eingeben und bei den Suchergebnissen "Chromatograms" anklicken.

**Nahrungsmittelverfälschung:** Lebensmittel, die einen höheren Proteingehalt aufweisen, können teurer verkauft werden. Dies kann zu illegalen Praktiken führen wie der Verfälschung von Nahrungsmitteln durch Zugabe von stickstoffhaltigen Substanzen wie z.B. Melamin. Dadurch wird bei der üblichen unspezifischen Proteinbestimmung ein höherer Gehalt vorgetäuscht als tatsächlich vorhanden ist. Aufgrund seines toxischen Potentials ist die Analyse auf Melamin und strukturell ähnliche Substanzen in vielen Ländern notwendig, um Verfälschungen von Lebens- und Futtermitteln sowie pharmazeutischen Produkten zu verhindern. Abbildung 9 zeigt eine Methode mit sehr guter Retention und Trennung für diese sehr polaren Substanzen innerhalb von 3.5 Minuten auf Raptor HILIC-Si. Ein kompletter Analysenzyklus dauert 8 Minuten.

**Abbildung 9:** Substanzen zur Nahrungsmittelverfälschung auf Raptor HILIC-Si



Die Raptor HILIC-Si Säule vereinfacht die Analyse von schwierig zu retardierenden polaren Substanzen wie Melamin und ähnlichen Verbindungen.

Peaks	t <sub>R</sub> (min)	Precursor Ion	Produkt Ion	Produkt Ion	Polarität
1. Cyanursäure	0.47	127.8	84.9	42.1	-
2. Cyromazin	0.52	167.0	68.2	85.1	+
3. Melamin	0.89	127.2	85.0	68.3	+
4. Ammelid	2.18	129.1	86.1	70.2	+
5. Ammelin	2.97	128.2	86.2	69.1	+

**Säule:** Raptor HILIC-Si (Art.Nr. 9310A52); Dimension: 50 mm x 2.1 mm ID, Partikelgröße: 2.7 µm; **Temp.:** 30 °C; **Probe:** Lösemittel: 5:95 Wasser:Acetonitril, 10 mM Ammonium Formiat, 0.1% Ameisensäure; Konz.: 25 ng/mL; Inj. Vol.: 5 µL; **Mobile Phase:** A: Wasser, 10 mM Ammonium Formiat, 0.1% Ameisensäure; B: 5:95 Wasser:Acetonitril, 10 mM Ammonium Formiat, 0.1% Ameisensäure; **Gradient** (%B): 0.00 min (100% B), 0.50 (100% B), 3.50 min (95% B), 3.51 min (100% B), 8.00 min (100% B); **Flussrate:** 0.6 mL/min; **Detektor:** MS/MS; Ionisierungsmodus: ESI+/ESI-; Messmodus: Scheduled MRM; **Gerät:** HPLC

# Raptor HILIC-Si: HILIC einfach gemacht

## Warum gibt es keine 5 µm Säule?

Da HILIC Methoden mit hohem Organikgehalt (meist Acetonitril) in der mobilen Phase arbeiten, ist der sich bildende Rückdruck gering. Deshalb kann problemlos an jedem HPLC- oder UHPLC-Gerät mit 2.7 µm Partikeln gearbeitet und deren bessere Trennleistung ausgenutzt werden. So wird der Umstieg auf den HILIC-Mechanismus noch einfacher.

## Raptor HILIC-Si 2.7 µm LC Säulen (USP L3)



Länge	2.1 mm Art.Nr.	3.0 mm Art.Nr.	4.6 mm Art.Nr.
30 mm	9310A32		
50 mm	9310A52	9310A5E	9310A55
100 mm	9310A12	9310A1E	9310A15
150 mm	9310A62	9310A6E	9310A65

## Wiederverwendbare EXP Hand-Tight Verschraubungen für HPLC & UHPLC

totvolumenfrei, für 10-32 Gewinde und 1/16" Tubing

Müheles dichte Verbindung von Hand!  
(Bis 600 bar / 8700 psi! Dicht bis 1034 bar / 20000 psi durch Nachziehen mit dem Schraubenschlüssel.)

Titan/PEEK-Hybridferrule:  
mehrfach wiederverwendbar  
ohne Einbußen bei der Dichtigkeit.



Beschreibung	VE	Art.Nr.
EXP Hand-Tight Verschraubung (Überwurfmutter & Ferrule)	1	25937
EXP Hand-Tight Verschraubung (Überwurfmutter & Ferrule)	10	25938
EXP Hand-Tight Überwurfmutter (ohne Ferrule)	1	25939
EXP Ersatzferrule	1	25935
EXP Ersatzferrule	10	25936

Hybrid Ferrule U.S. Patent No. 8201854, Optimize Technologies. Optimize Technologies EXP Holders are Patent Pending. Other U.S. and Foreign Patents Pending. The Opti- prefix is a registered trademark of Optimize Technologies, Inc.

## Raptor EXP Vorsäulenkartuschen



Auch wenn die analytische Säule schon sehr robust ist, durch Verwendung einer Vorsäule lässt sich deren Lebensdauer noch weiter verlängern. Mit dem EXP-System ist der Vorsäulenkartuschenwechsel sehr einfach: ohne Werkzeug und ohne Lösen der Kapillare zum Injektor.

## EXP "Direct Connect" Halter

Beschreibung	VE	Art.Nr.
EXP Vorsäulenkartuschenhalter (inkl. EXP Sechskant Überwurfmutter und 2 EXP ferrules)	1	25808

Der Halter ist druckbeständig bis 1400 bar / 20000 psi.

## Raptor HILIC-Si EXP Vorsäulenkartuschen

Beschreibung	Partikelgröße	VE	5 x 2.1 mm Art.Nr.	5 x 3.0 mm Art.Nr.	5 x 4.6 mm Art.Nr.
Raptor HILIC-Si EXP Vorsäulenkartuschen	2.7 µm	3	9310A0252	9310A0253	9310A0250

Druckbeständigkeit der 2.7 µm Vorsäulenkartuschen: 600 bar / 8700 psi

[www.restek.com/raptor](http://www.restek.com/raptor)

## Bereit für HILIC?

Lesen Sie auch unseren Artikel zur Vermeidung üblicher Probleme.  
[www.restek.com/HILICtips](http://www.restek.com/HILICtips)

**RESTEK**  
Pure Chromatography

Restek GmbH  
Schaberweg 23 · 61348 Bad Homburg  
Telefon +49 6172 / 2797-0 · Telefax +49 6172 / 2797-77  
[www.restekgmbh.de](http://www.restekgmbh.de) · [info@restekgmbh.de](mailto:info@restekgmbh.de)