

Separação rápida de paraquat e diquat usando cromatografia de interação hidrofílica (HILIC) com detecção LC/MS

Autores

Andrew Kennedy e
Adam Bivens
Agilent Technologies, Inc.

Resumo

Esta nota de aplicação descreve o uso da química da fase estacionária de próxima geração da HILIC-Z Agilent InfinityLab Poroshell 120 para separar paraquat e diquat, um par particularmente desafiador, usando cromatografia de interação hidrofílica (HILIC). Os dois grupos de amônio quaternário presentes no paraquat e no diquat tornam esses compostos altamente polares; portanto, eles não são facilmente retidos ou separados por cromatografia de fase reversa. Normalmente eram utilizados agentes de pareamento iônico para induzir a retenção desses compostos. No entanto, essa técnica possui diversas limitações, como contaminação do sistema, alto ruído de background e supressão de sinal, todos são eliminados com o uso de colunas HILIC.

Introdução

A cromatografia de fase reversa usa fase estacionária não polar, o que evita a retenção e separação de muitos pesticidas polares.

O pareamento iônico é a técnica mais tradicional usada para reter e separar compostos polares. No entanto, essa técnica apresenta duas desvantagens importantes:

- Os agentes de pareamento iônico podem contaminar os sistemas de LC/MS por um longo tempo após o agente ter sido usado, resultando em alto sinal de background e alteração na seletividade da coluna.
- Operar no modo que analisa o agente de pareamento iônico resulta em uma supressão significativa do sinal de background e do sinal de analito; portanto, a análise de MS é limitada a apenas um modo de ionização.

Por outro lado, HILIC é uma técnica capaz de reter e separar compostos polares sem os problemas causados pelo pareamento iônico, ao mesmo tempo que usa o mesmo sistema e solventes para a cromatografia de fase reversa.

A forte carga positiva do paraquat e do diquat os torna um desafio na HILIC, pois qualquer interação com os silanos da superfície causará caudas intensas nos picos e retenção excessivamente longa em muitas colunas. A Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z de última geração supera essa limitação usando uma nova fase baseada em zwitterion para alcançar um formato de pico excelente.

Parte experimental

Reagentes e produtos químicos

Todos os reagentes utilizados foram grau HPLC ou superior. A acetonitrila de grau Ultra LC/MS foi adquirida da J. T. Baker (Center Valley, PA, EUA). A água foi purificada usando um sistema integral EMD Millipore Milli-Q (Darmstadt, Alemanha). O ácido fórmico de grau reagente (FA, p/n G2453-85060) é da Agilent Technologies. O formiato de amônio, padrões de paraquat e padrões de diquat foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA).

Equipamento e materiais

- Conexões Agilent InfinityLab
 - **Entrada da coluna:** Quick Connect Agilent (p/n 5067-5965)
 - **Saída da coluna:** Quick Turn Agilent (p/n 5067-5966)
- Vial Agilent, rosqueável, âmbar, com área para identificação, certificado, 2 mL, 100/pacote (p/n 5182-0716)
- Tampa rosqueável ligada Agilent, septo PTFE/silicone vermelho (p/n 5190-7024)
- Insert de vial, 250 µL, vidro desativado com suporte de polímero (p/n 5181-8872)
- Repetidor e pipetas Eppendorf
- Ultracentrífuga (VWR, Radnor, PA, EUA)
- Vórtex e vórtex multitubos (VWR, Radnor, PA, EUA)
- Frasco de solvente Agilent InfinityLab, âmbar, 1.000 mL (p/n 9301-6526)
- Tampa Agilent InfinityLab de segurança "Stay Safe", GL45, 3 portas, 1 válvula de quebra de vácuo (p/n 5043-1219)

Instrumentação

- Bomba binária Agilent 1290 Infinity II (G7120A)
- Amostrador de vial Agilent 1290 Infinity II (G7129B)
- Termostato de múltiplas colunas Agilent 1290 Infinity II (G7116B)
- Kit de dispersão ultrabaixa Agilent para o LC Agilent 1290 Infinity (p/n 5067-5189)
- Software Agilent MassHunter Workstation
- LC/MS triplo quadrupolo Agilent 6470
- Fonte de ionização eletrospray Agilent Jet Stream

Preparo de amostras

Os padrões de paraquat e diquat foram misturados a 0,25 mM em água e analisados sem nenhum preparo de amostra adicional.

Preparo da fase móvel

Uma solução estoque de formiato de amônio 200 mM foi preparada em água e ajustada para pH 3 com ácido fórmico. A fase móvel A (aquosa) foi preparada diluindo a solução estoque 9:1 em água, e a fase móvel B (orgânica) foi preparada diluindo a solução estoque 9:1 em acetonitrila (força iônica final de ambas as fases móveis = 20 mM).

Condições do instrumento

Condições do HPLC	
Coluna	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 2,1 × 100 mm, 2,7 µm (p/n 685775-924)
Fase móvel A	Formiato de amônio 20 mM em água em pH = 3
Fase móvel B	Formiato de amônio 20 mM em pH = 3 em 90% de acetonitrila
Vazão	0,80 mL/min
Temperatura da coluna	30°C
Volume de injeção	0,25 µL
Tempo de corrida total	8 minutos
Gradiente	Tempo (min) %B
	0 80
	1 80
	5 73
	6 80
	8 80
Condições do MS	
Modo de ionização	ESI positivo
Temperatura do gás	300°C
Fluxo de gás	7,0 L/min
Nebulizador	45 psi
Temperatura do gás de focalização	400°C
Fluxo do Sheath gas	11 L/min
Voltagem do capilar	3.500 V
Voltagem do nozzle	0 V

Resultados

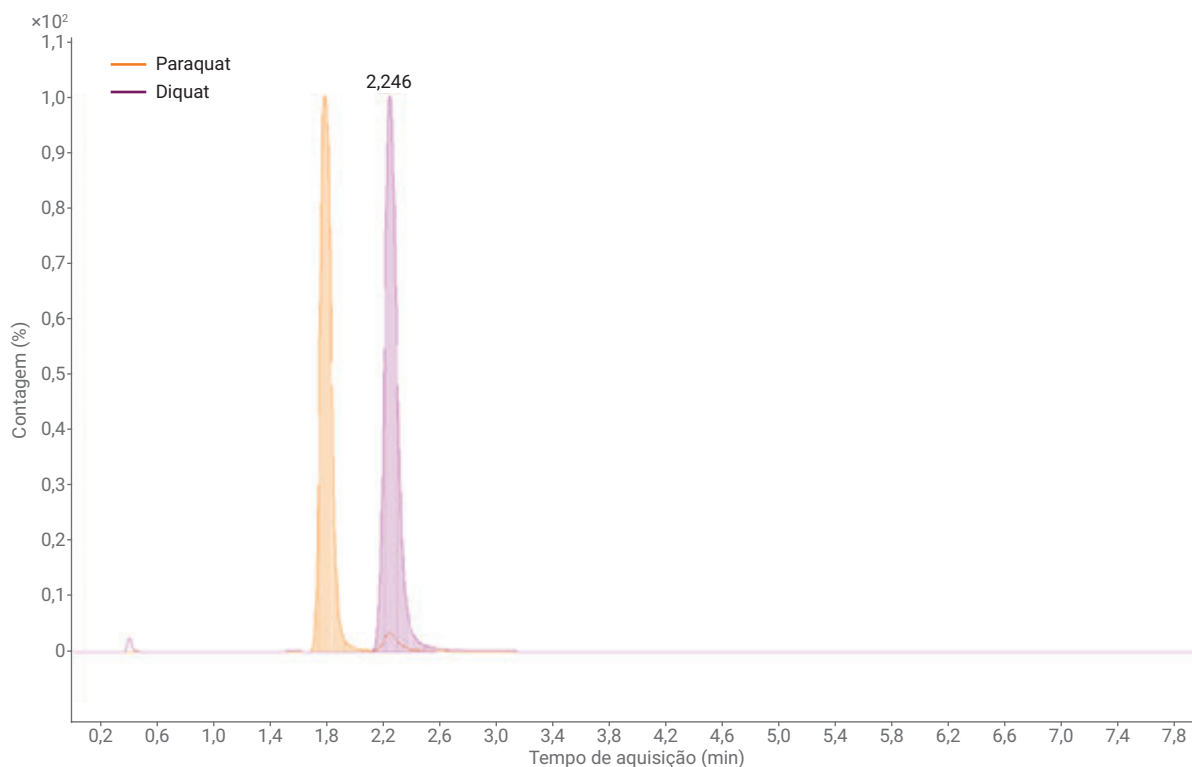


Figura 1. Separação do paraquat e diquat em um LC/MS triplo quadrupolo Agilent 6470 com uma coluna Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z.

Conclusões

A Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z foi usada com sucesso para resolver o desafiador par paraquat-diquat com condições e solventes que não causaram supressão de íons ou contaminação, resultando em um fluxo de trabalho compatível com MS.

Os picos foram resolvidos na linha de base e apresentaram cauda mínima, demonstrando a importância de uma superfície neutra, assim como a capacidade de separação das colunas InfinityLab Poroshell HILIC-Z.

Em comparação com o pareamento iônico tradicional, o fluxo de trabalho HILIC com a InfinityLab Poroshell HILIC-Z fornece uma cromatografia de alta qualidade para compostos polares sem contaminação do sistema ou limitações para uso com MS.

www.agilent.com/chem

Estas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc. 2017
Impresso nos EUA, 18 de dezembro de 2017
5991-8830PTBR