

Analice compuestos polares complejos con total confianza

Columnas Agilent InfinityLab Poroshell 120, ZORBAX y Polaris para cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC)



Confíe en Agilent para disfrutar de un flujo de trabajo de HILIC robusto y fiable

La cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC) está adquiriendo gran popularidad gracias a su capacidad de retener y separar analitos polares pequeños con un sistema de LC estándar y disolventes de fase reversa habituales. Entre las ventajas de esta técnica se incluyen la mejora de la retención de los analitos polares en comparación con los métodos de fase reversa y la capacidad de usar eluyentes compatibles con la espectrometría de masas (MS) empleando una configuración sencilla. Esto mejora la ionización y la sensibilidad en el modo MS.

1



La preparación de muestras es el punto de partida correcto para todos sus análisis. No importa si utiliza métodos de filtración simple, extracción de líquidos con soporte sólido (SLE), purificación con retención y liberación, QuEChERS o extracción en fase sólida (SPE): Agilent pone a su disposición productos de excelente calidad que darán respuesta a sus necesidades de preparación de muestras, desde la laureada solución EMR-Lipid hasta kits Bond Elut SPE y QuEChERS.

www.agilent.com/chem/sampleprep

2



Desde el análisis de rutina hasta la investigación más avanzada, la serie LC Agilent InfinityLab ofrece la gama más amplia de sistemas HPLC y UHPLC para cualquier aplicación y presupuesto.

www.agilent.com/chem/LC

3



Utilice consumibles Agilent InfinityLab para mejorar la productividad y minimizar el tiempo de inactividad de los instrumentos en sus aplicaciones de HILIC:

- Los tapones Stay Safe contribuyen a evitar la evaporación de disolventes nocivos y a mantener una concentración uniforme de la fase móvil.
- Los conectores de conexión rápida y giro rápido resultan sencillos de usar y permiten establecer conexiones sin problemas.
- El conjunto de filtración y los filtros en línea eliminan las partículas de las fases móviles tamponadas y alargan la vida útil de la columna.
- Placas de pocillos para aplicaciones de alta productividad.
- Consumibles inteligentes, como etiquetas de identificación de columnas, lámparas de deuterio y celdas de flujo con tecnología RFID, que mejoran la trazabilidad y simplifican la documentación.

www.agilent.com/chem/lc-supplies

4



La gama InfinityLab Poroshell 120 ofrece tres modernas fases estacionarias para HILIC que aportan una excelente eficiencia de la separación, robustez y una cromatografía reproducible para el análisis de sustancias polares por LC/MS. ¿Los analitos que interactúan con las superficies metálicas le generan problemas? Use el aditivo desactivador Agilent InfinityLab para inactivar las superficies metálicas de su sistema. Además, los disolventes ultrapuros de Agilent para LC/MS le ayudan a minimizar el ruido de fondo de la MS.

www.agilent.com/chem/poroshell-HILIC

¿Cómo se selecciona una columna para HILIC?

Agilent ofrece una amplia gama de columnas diseñadas para aplicaciones modernas de HILIC. Existen tres interacciones hidrófilas principales que posibilitan la retención y la separación en el modo HILIC: interacciones iónicas, interacciones dipolo-dipolo hidrófilas y enlaces de hidrógeno. A pesar de que se recomienda cribar varias fases estacionarias para identificar cuál es la idónea, los grupos funcionales de su analito y sus posibles interacciones con la columna pueden ayudarle a encontrar una columna para HILIC adecuada que constituya un buen punto de partida.

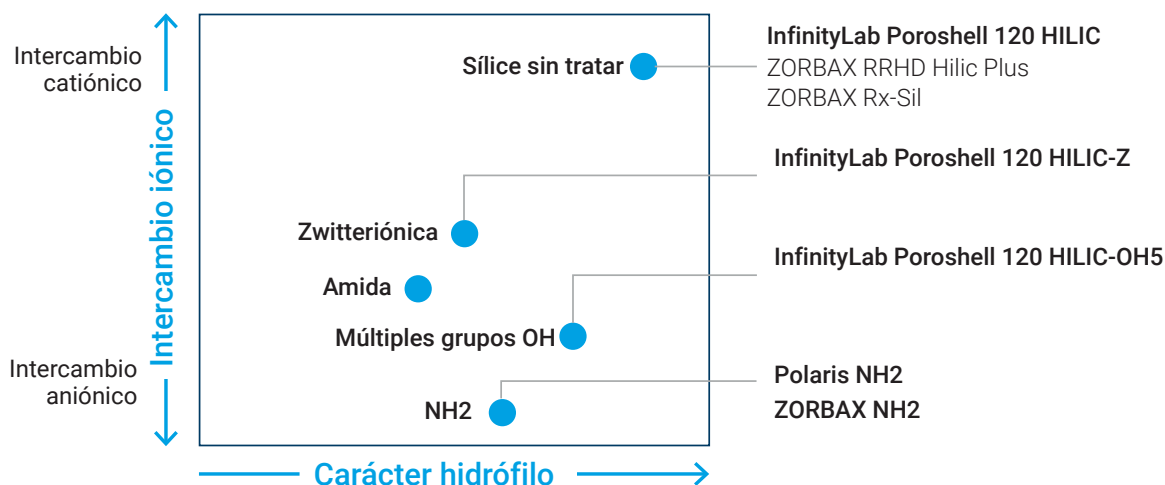


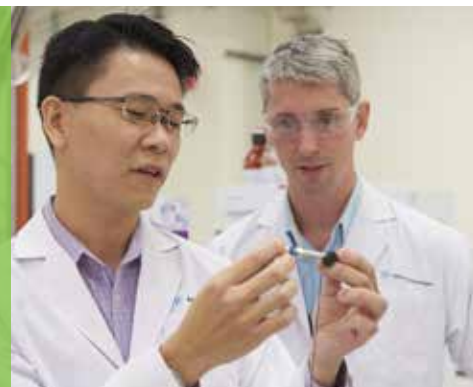
Figura 1. Representación cualitativa del carácter hidrófilo y las capacidades de intercambio iónico de diferentes columnas para HILIC de Agilent. Datos medidos conforme a lo indicado en Ibrahim et al., J. Chrom. A., 1260 (2012).

¿Cuál es la fase móvil idónea para su separación por HILIC?

Las fases móviles son el segundo factor más importante que influye en la selectividad de la HILIC. Las fases móviles acuosas fuertes se suelen tamponar para seleccionar y controlar cuidadosamente los mecanismos de retención y evitar el ensanchamiento de los picos, así como las variaciones de la selectividad causadas por pequeños cambios de pH. Por otra parte, el acetonitrilo tamponado es la fase móvil orgánica débil más habitual.

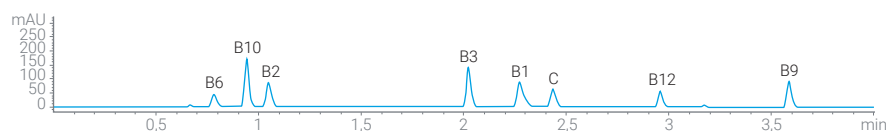
Consideraciones generales	Concentración típica del tampón: 5-30 mM; rango más habitual: 10-20 mM (debe evitarse el uso de fosfatos, ya que su solubilidad es baja con concentraciones altas (%) de acetonitrilo)	
	Tampón y pH	Fase estacionaria adecuada
Analitos básicos	Formiato de amonio, pH = 3 Acetato de amonio, pH = 4-5	Poroshell 120 HILIC-Z Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC ZORBAX Hilic Plus
Mezcla de compuestos ácidos y básicos	Acetato de amonio, pH ~ 7	Poroshell 120 HILIC-Z Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC ZORBAX Hilic Plus
Analitos ácidos	Formiato de amonio, pH = 9-10	Poroshell 120 HILIC-Z
Azúcares	Hidróxido de amonio, pH = 10-11	Poroshell 120 HILIC-Z

Las columnas Poroshell 120 HILIC posibilitan una cromatografía rápida, fiable y reproducible

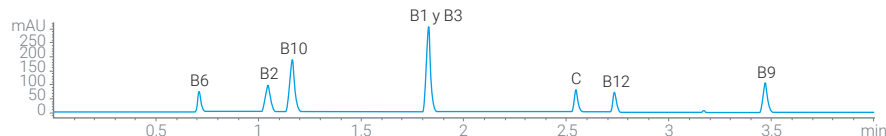


¡Descubra las nuevas incorporaciones al universo de la HILIC! Agilent ofrece tres exclusivas fases ortogonales para HILIC: de sílice sin tratar (HILIC), de fructano polihidroxilado (HILIC-OH5) y zwitteriónica (HILIC-Z). La robustez y la reproducibilidad de las separaciones por HILIC con columnas InfinityLab Poroshell contribuyen a simplificar las complejas aplicaciones de cromatografía de pares iónicos y de fase normal, que a menudo son incompatibles con la MS.

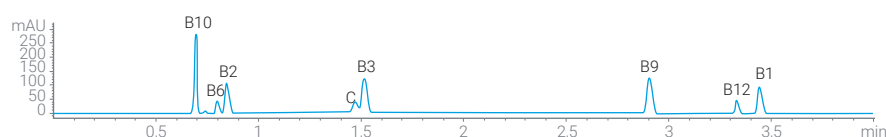
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5, 2,1 x 100 mm, 2,7 µm



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



Condiciones:

Fase móvil: A: Acetato de amonio 100 mM + ácido acético al 0,5 % (pH ~ 4,6) en H₂O
 B: CH₃CN 0,5 ml/min; 87 % B durante 1 min; 87-50 % B en 4 min; 3 min de reequilibrio

Flujo: Inyección de 1 µl (40 °C)

Temperatura: 40 °C

Detector: Detección UV a 260 nm (80 Hz)

Muestra: vitaminas hidrosolubles

Figura 2. Las columnas InfinityLab HILIC-Z e HILIC-OH5 ofrecen un amplio rango de selectividad alternativa para las separaciones de analitos polares. Esta separación de vitaminas hidrosolubles demuestra las diferencias de selectividad entre las fases HILIC, ya que se usaron unas condiciones idénticas del método en todos los casos. Las separaciones pueden optimizarse en cada columna variando las condiciones del método.

Tabla 1. Selección de columnas de la gama Poroshell 120 recomendadas para HILIC.

Fase de columna	Fase estacionaria	Tamaño de partícula y dimensiones	Rango de presión	Uso recomendado
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z	Zwitteriónica	Tamaño de partícula: 1,9, 2,7 y 4 µm Diámetro interno: 2,1, 3 y 4,6 mm Longitud: 50, 100, 150 y 250 mm	1.300 bar (1,9 µm) 600 bar (2,7 y 4 µm)	Punto de partida para el desarrollo de métodos de HILIC. Rango de pH alto. Versión revestida de PEEK disponible.
InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5	Fase de fructano polihidroxilado	Tamaño de partícula: 2,7 µm Diámetro interno: 2,1 y 4,6 mm Longitud: 50, 100 y 150 mm	400 bar (2,7 µm)	Selectividad alternativa con un intercambio iónico menor, pero con enlaces de hidrógeno fuertes.
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Sílice sin tratar	Tamaño de partícula: 1,9, 2,7 y 4 µm Diámetro interno: 2,1, 3 y 4,6 mm Longitud: 50, 100, 150 y 250 mm	1.300 bar (1,9 µm) 600 bar (2,7 y 4 µm)	Muestras sencillas que no contengan compuestos excesivamente similares. Sangrado ultrabajo.

Retención y separación de compuestos con carga elevada

Las columnas InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z incorporan una novedosa fase estacionaria zwitteriónica ligada a partículas Poroshell 120. Entre sus ventajas se incluyen las siguientes:

- Una opción de columna revestida de PEEK para lograr una forma de pico excelente y la recuperación de compuestos complejos.
- Estabilidad a pH alto hasta pH = 12 a 35 °C; estabilidad térmica a 80 °C y pH = 7.
- Compatibilidad con tampones adecuados para MS (contenido salino <10 mM).

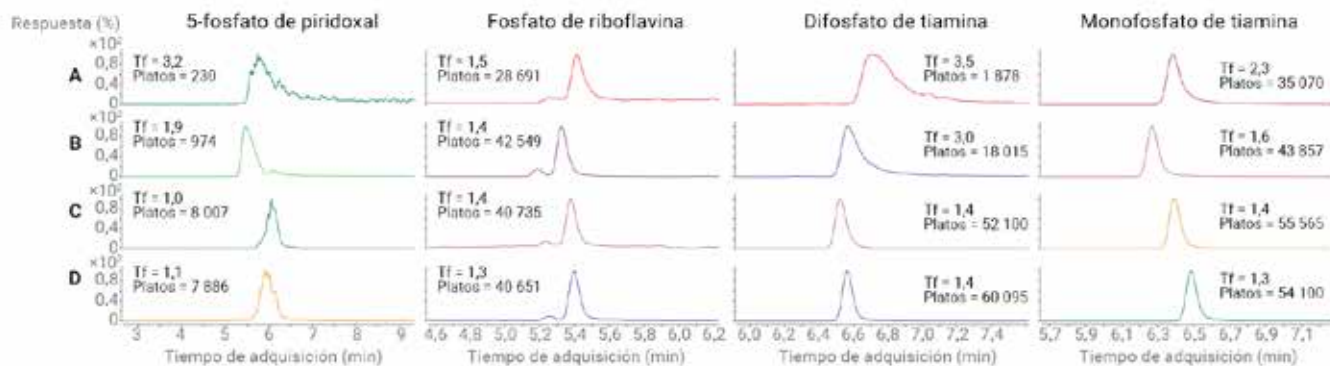
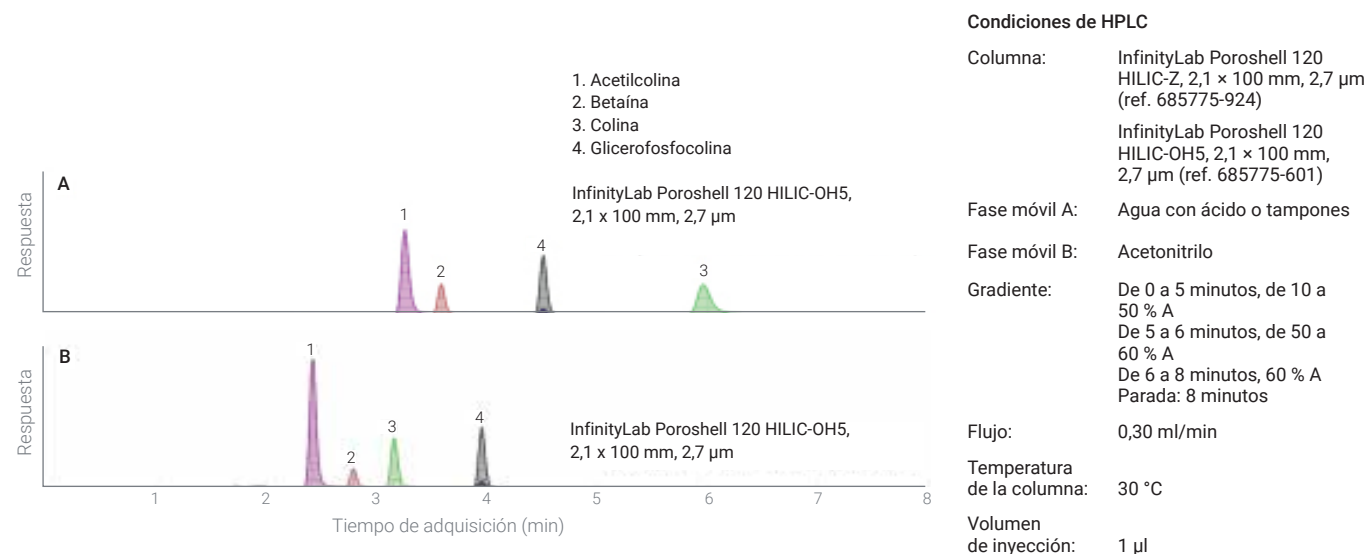


Figura 3. Interacciones de metabolitos fosforilados con acero, antes y después del lavado. A) Antes del lavado del sistema. B) Después del lavado del sistema (columna HILIC-Z). C) Después del lavado del sistema (columna HILIC-Z con desactivador). D) Después del lavado del sistema (columna HILIC-Z revestida de PEEK con desactivador).

Separación de compuestos polares con una selectividad alternativa

Separe compuestos polares con una selectividad alternativa gracias a las columnas InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 con fase estacionaria de fructano polihidroxilado ligada a partículas Poroshell 120:

- Separaciones rápidas y de alta eficiencia con una retención excelente de compuestos polares.
- Ofrecen una selectividad alternativa a las fases Poroshell 120 HILIC e HILIC-Z.

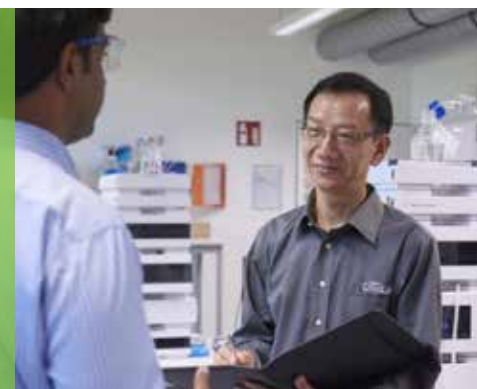


Condiciones de HPLC

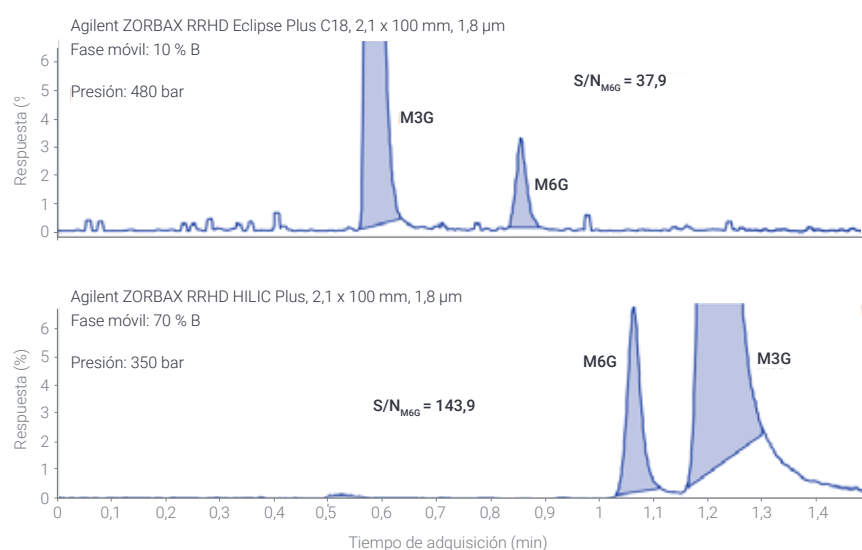
Columna:	InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2,1 x 100 mm, 2,7 µm (ref. 685775-924)
	InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5, 2,1 x 100 mm, 2,7 µm (ref. 685775-601)
Fase móvil A:	Agua con ácido o tampones
Fase móvil B:	Acetonitrilo
Gradiente:	De 0 a 5 minutos, de 10 a 50 % A De 5 a 6 minutos, de 50 a 60 % A De 6 a 8 minutos, 60 % A Parada: 8 minutos
Flujo:	0,30 ml/min
Temperatura de la columna:	30 °C
Volumen de inyección:	1 µl

Figura 4. Análisis de metabolitos clorados en columnas Poroshell 120 HILIC-OH 5 e HILIC-Z mediante LC/MS/MS.

Materiales completamente porosos y fiables para sus separaciones por HILIC



Las columnas para HILIC Agilent ZORBAX y Polaris están diseñadas para la cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC) y son una alternativa convencional y completamente porosa para el desarrollo de métodos de HILIC. Puede elegir entre fases convencionales de sílice sin tratar (Hilic Plus y Rx-Sil) y una fase fiable y robusta con grupos amino (Polaris NH2).



Condiciones:

Fase móvil: A: Formiato de amonio 10 mM, pH = 3,2 en agua
B: Acetonitrilo/formiato de amonio 100 mM, pH = 3,2 en agua (9:1)
Flujo: 0,4 ml/min
Elución: Isocrática
Inyección: 2 μ l de morfina-3- β -D-glucurónido y morfina-6- β -D-glucurónido (1 μ l/ml en ambos casos)
Columnas: 2,1 x 100 mm, 1,8 μ m
Temperatura: 25 °C
Fuente MS: ESI+, 200 V, 250 °C, 11 l/min, 30 psi, 4.000 V
SIM: 462; frag.: 170 V

Número de publicación de Agilent 5991-0245

Figura 5. Comparación de los modos RP e HILIC para una columna ZORBAX RRHD HILIC Plus. El modo HILIC posibilita una nebulización y una desolvatación más eficientes en la fuente ESI-MS en comparación con la RPLC, lo que genera menos ruido de línea base y una señal de MS más intensa, además de mejorar la sensibilidad.

Tabla 2. Selección de columnas ZORBAX y Polaris recomendadas para el modo HILIC.

Fase de columna	Fase estacionaria	Tamaño de partícula y dimensiones	Rango de presión	Aplicaciones
ZORBAX HILIC Plus	Sílice sin tratar	Tamaño de partícula: 1,8 y 3,5 μ m Diámetro interno: 2,1 y 4,6 mm Longitud: 50 y 100 mm	1.200 bar (1,8 μ m) 400 bar (3,5 μ m)	Material universal de sílice sin tratar para muestras de baja complejidad.
ZORBAX Rx-Sil	Sílice sin tratar	Tamaño de partícula: 1,8 y 5 μ m Diámetro interno: 2,1, 3 y 4,6 mm Longitud: diversos valores (50-250 mm)	600 bar (1,8 μ m) 400 bar (5 μ m)	Material de sílice sin tratar con mayor retención y distinta selectividad.
Polaris NH2	Grupos amino	Tamaño de partícula: 3 y 5 μ m Diámetro interno: 2,1 y 4,6 mm Longitud: 50, 150 y 250 mm	400 bar (3 μ m) 400 bar (5 μ m)	Selectividad alternativa con propiedades de intercambio aniónico fuerte para compuestos ácidos.

“Antes de disponer de la columna Poroshell 120 HILIC-Z, usábamos una columna de otro fabricante que solía darnos problemas. Era habitual que nos encontráramos con formas de pico deficientes y deriva de los tiempos de retención. En cuanto desarrollamos nuestros propios métodos con columnas HILIC-Z, las formas de pico mejoraron rápidamente y obtuvimos tiempos de retención más estables. Además, también mejoró el límite de cuantificación gracias a los picos estrechos y a la mejora de la separación de los analitos y las interferencias de la matriz. ¡Cuando analizamos pesticidas polares con esta columna, nuestros analistas se sienten más cómodos y seguros que nunca!”

– **Elisa Platjouw,**
Investigadora, Eurofins Netherlands



Selección de aplicaciones idóneas para las columnas para HILIC de Agilent

Aplicación	Sector	Columna usada	Título de la nota de aplicación	Número de publicación
Comparación de la RP-LC y la HILIC	Todos los sectores	Varias	Retaining and separating Polar Molecules—a detailed investigation of when to use HILIC versus a reversed-phase LC column.	5994-1137EN
Guía básica sobre desarrollo de métodos de HILIC	Todos los sectores	Poroshell 120 HILIC Poroshell 120 HILIC-OH5 Poroshell 120 HILIC-Z	Hydrophilic interaction. Chromatography method. Development and troubleshooting.	5991-9271EN
Resumen de las columnas HILIC usadas en los análisis por LC/MS/MS	Todos los sectores	Poroshell 120 HILIC-Z ZORBAX RRHD Hilic Plus	Application of Novel HILIC Column configurations to improve LC/ESI/MS sensitivity of metabolites.	Póster (ASMS 2018) WP-536
Aminoácidos sin derivatizar en matrices complejas	Industria alimentaria y agricultura	Poroshell 120 HILIC-Z	Analysis of amino acids in animal feed matrices using the Ultivo Triple Quadrupole LC/MS System.	5994-0586EN
Vitaminas hidrosolubles	Industria alimentaria y agricultura	Poroshell 120 HILIC-OH5	Analysis of water-soluble vitamins on an Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 Column.	5991-8780EN
Separaciones de nucleótidos	Industria biofarmacéutica	Poroshell 120 HILIC-Z (revestida de PEEK)	HPLC-DAD analysis of nucleotides using a fully inert flow path.	5994-0680EN

Puede encontrar otras notas de aplicación con el [localizador de aplicaciones de LC de Agilent](#).

Fiabilidad, eficiencia e innovación continua para que pueda conseguir los mejores resultados

Puede confiar en los instrumentos, columnas y consumibles de LC Agilent InfinityLab para obtener unos resultados analíticos robustos y de gran calidad. Pero nuestra promesa no se limita a eso. Cada componente de la familia de LC Agilent InfinityLab se ha diseñado para funcionar junto con los demás y para ayudarle a mejorar continuamente su flujo de trabajo, para conseguir ganancias de eficiencia que le ayuden a incrementar la productividad y a reducir los costes operativos.

Puede obtener más información sobre la gama InfinityLab Poroshell en **www.agilent.com/chem/Poroshell-HILIC**

Tienda on-line:
www.agilent.com/chem/store

Obtenga respuestas a sus preguntas técnicas y acceda a recursos en la Comunidad Agilent:
community.agilent.com

EE. UU. y Canadá
1-800-227-9770
agilent_inquiries@agilent.com

Europa
info_agilent@agilent.com

Asia-Pacífico
inquiry_lsca@agilent.com

DE.1032986111

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2020
Impreso en EE. UU., 8 de diciembre de 2020
5994-2798ES