

[sg\_popup id="108" event="onload"][/sg\_popup]No siempre es tarea fácil seleccionar la columna correcta para su método de fase reversa. Nuestro propósito aquí es ayudarle en el proceso de toma de decisiones mediante un desglose de los distintos pasos que deben tenerse en cuenta a la hora de seleccionar la columna. Para ahondar acerca del proceso de selección, consulte nuestra [Guía más reciente de selectividad en fase reversa para HPLC/UHPLC](#).

### ***Seleccione el tipo de relleno correcto***

Para comenzar el proceso de elegir la columna correcta para un método de fase reversa, seleccionamos primero el tipo de relleno correcto. La morfología del soporte sólido es de crucial importancia para las características del material resultante y el rendimiento de la columna. Es por ello que ofrecemos una amplia variedad de soportes sólidos, incluyendo [core-shell, organo-sílica totalmente porosa y totalmente porosa modificada térmicamente](#).

**Core-shell y organo-sílica core-shell** consisten en un núcleo único y rígido de sílica y una capa porosa que genera análisis cromatográficos más rápidos y mayor eficiencia en comparación con las partículas convencionales totalmente porosas. Esto hace que sea adecuado para aumentar el rendimiento de cualquier sistema de LC y también facilita la transferencia de métodos de sistema a sistema y de laboratorio a laboratorio. Core-Shell funciona mejor en métodos donde se requiere alta sensibilidad y también mejora significativamente la productividad de métodos establecidos pero que ya son antiguos.

**Las partículas de sílica totalmente porosas, modificadas térmicamente**, tienen una alta eficacia y consiste en un relleno de sílica totalmente porosa y extremadamente robusta, que proporciona un comportamiento increíble e inertidad junto con selectividades versátiles. La estructura porosa modificada térmicamente elimina los microporos, mejora aún más la eficacia de la columna, su inertidad y la reproducibilidad. Este tipo de relleno proporciona un rendimiento y eficacia superiores en [UHPLC, HPLC y HPLC preparativa](#). Permite una mayor capacidad de separación, una mejor forma de pico por su inertidad y una robustez y fiabilidad extremas.

**Las partículas de sílica tradicionales totalmente porosas** tienen una mayor área superficial y proporcionan una resistencia mecánica excelente en un amplio rango de

tamaños de partículas y de dimensiones de columnas. Estas partículas tradicionales son ideales para la escalabilidad uniforme de una aplicación analítica a una preparativa o de proceso. También se puede usar en columnas directas equivalentes a las utilizadas en métodos farmacopéicos establecidos.

**Las partículas organo sílica totalmente porosas** son grupos orgánicos que se incorporan a las capas de partículas de sílica y las hacen más resistentes a la disolución de sílica a pH altos. Si está empleando métodos a un pH extremo, la partícula organo sílica totalmente porosa ayudará a prolongar la vida útil de sus columnas. También es adecuada para productos de material a granel de excelente calidad ya que les permite lavados cáusticos sucesivos.

### ***La importancia de la selectividad***

Después de haber explicado los tipos de rellenos, pasemos a repasar la importancia de la selectividad de la columna antes de enfocarnos en la selección de una columna. La selectividad ( $\alpha$ ) tiene mayor impacto en el cambio de resolución (R) que en la eficiencia de pico (N) y la retención (k), y la forma más simple de modificar los resultados cromatográficos es cambiando la fase de su columna. [Phenomenex](#) desarrolla una gran variedad de fases químicas en múltiples tipos de rellenos para desarrollar y optimizar los métodos de una manera más rápida y sencilla.

Imagen 1: El impacto de la selectividad en la resolución

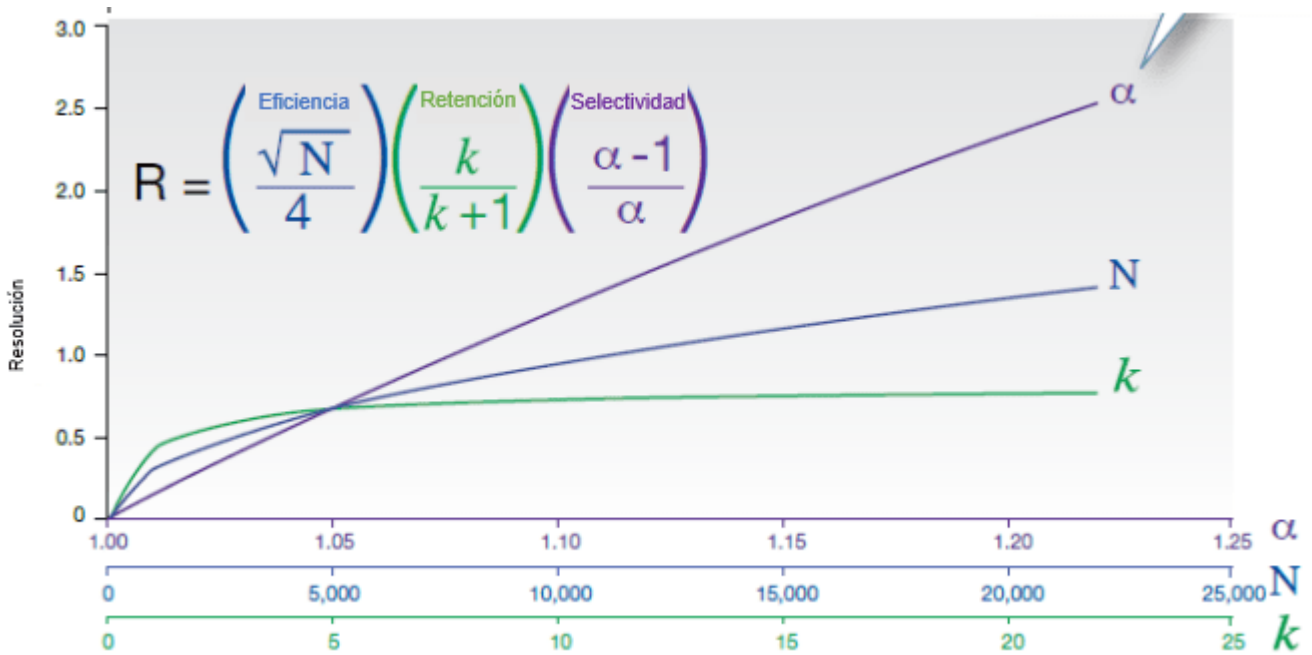
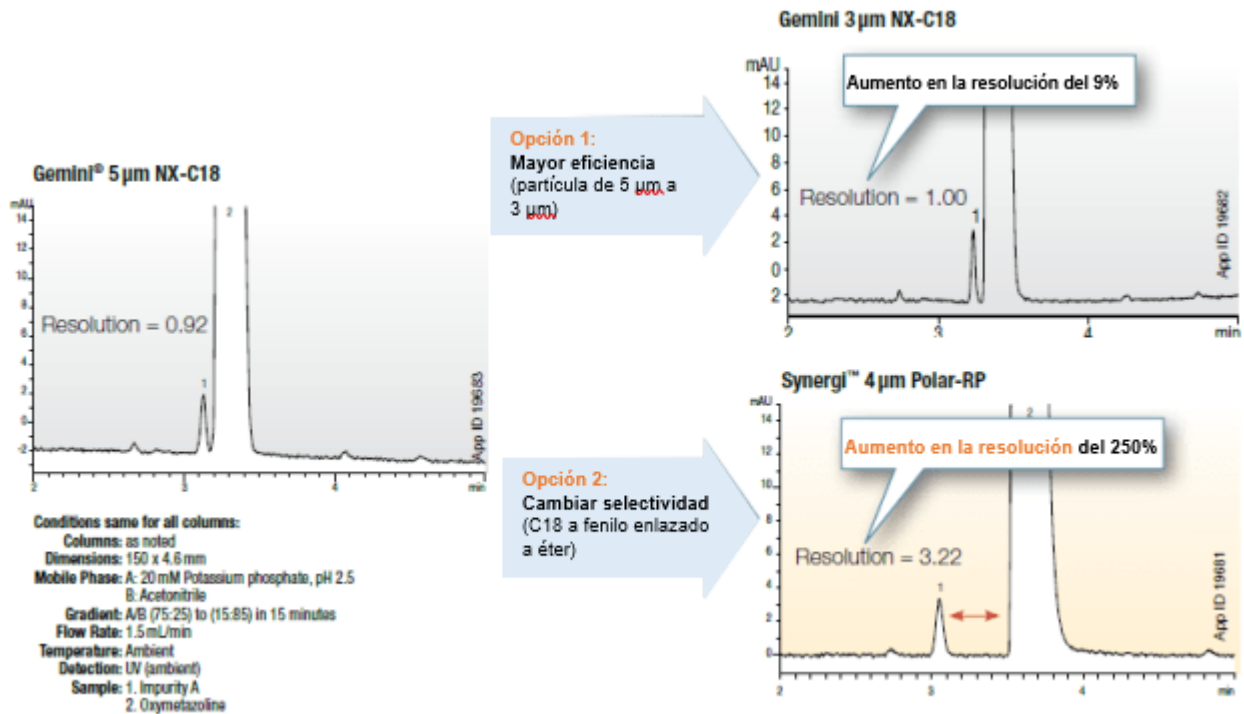


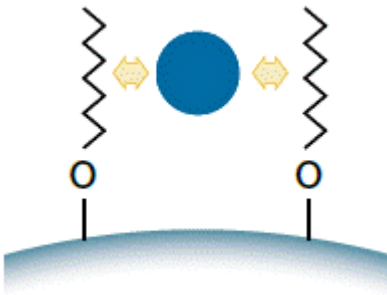
Imagen 2: Cambie su selectividad, cambie drásticamente sus resultados



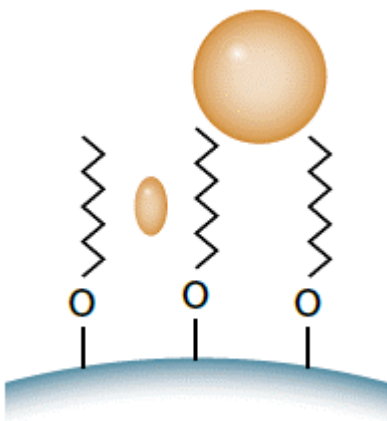
**Caracterización de la selectividad**

La forma más fácil de caracterizar la selectividad es utilizar el modelo de sustracción hidrofóbica que incluye seis parámetros diferentes de nuestras columnas de HPLC y UHPLC. Si bien la hidrofobicidad es un mecanismo de retención dominante en la cromatografía en fase reversa, la selectividad está influenciada fuertemente por otros parámetros. A continuación se explican estos parámetros.

**Hidrofobicidad** Estas interacciones ocurren con todos los analitos. Están siempre presentes y son dominantes con compuestos neutros.

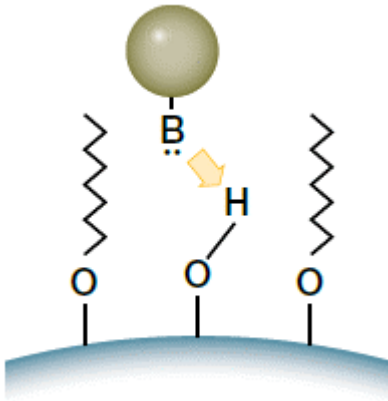


**Interacciones estéricas** Son una medida de la accesibilidad de los solutos a la fase estacionaria. Las diferencias estructurales entre compuestos pueden llevar a diferentes características de retención debido al tipo de selectividad.

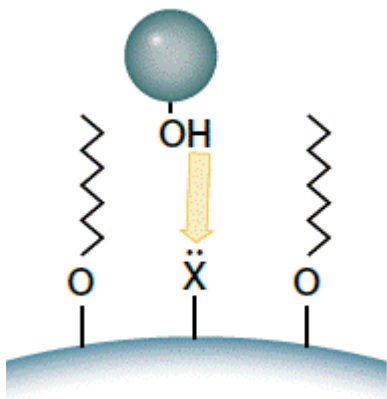


**Capacidad de donar enlaces de hidrógeno (enlace de H)** Esta interacción puede atribuirse a un silanol expuesto o a un grupo funcional polar agregado intencionalmente. Phenomenex utiliza esta última técnica para crear fases que tienen la habilidad de enlazar

hidrógeno con grupos que aceptan protones, como las bases débiles (aminas y amidas).



**Capacidad de aceptar enlaces de hidrógeno (enlace de H)** Esta interacción es similar al parámetro de la capacidad de donar enlaces de hidrógeno, donde se diseñan fases que poseen la habilidad de formar enlace de hidrógeno y de interactuar con los grupos ácidos donantes de protones como los ácidos carboxílicos o alcoholes.

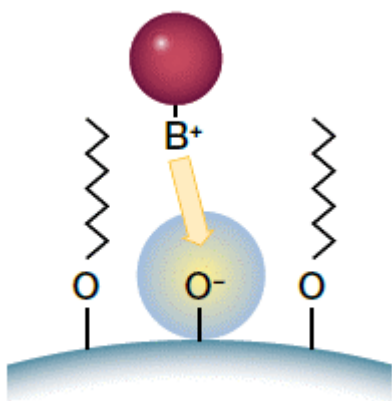


**Selectividad catiónica a pH 7.0** es a un pH neutro, lo que significa que los silanoles residuales de la superficie de la sílica serán ampliamente ionizados aumentando el componente de selectividad de intercambio catiónico.

**Selectividad catiónica a pH 2.8** es a un pH bajo, donde la mayoría de los silanoles residuales son neutros y el componente de intercambio catiónico se reduce.

Para analizar más a fondo la caracterización de la selectividad de la columna para los

métodos de fase reversa, consulte el Paso 2 de nuestra [Guía más reciente de selectividad en fase reversa para HPLC/UHPLC](#) : Selectividad.



### **Perfiles de selectividad de la columna**

Los siguientes perfiles se desarrollaron para que los especialistas en cromatografía tuvieran un enfoque fiable para comparar las fases Phenomenex e identificar qué fase o fases les brindará la mejor selectividad para su análisis. En esta sección se describe cómo los parámetros afectan la selección de la columna en función de la clase de compuesto utilizado.

### **Hidrocarburos**

Es muy fácil seleccionar la columna cromatográfica más adecuada para su hidrocarburo o compuesto hidrófobo. Simplemente, compare los diferentes grados de hidrofobicidad para determinar si necesita mucha o poca retención. Por lo general, un aumento en la hidrofobicidad de la columna ofrece mayor retención de compuestos hidrófobos. Por ejemplo, la composición química de la columna más hidrofóbica [Kinetex® Polar C18](#) ofrece un tiempo de retención mayor que separa con éxito un panel de 9 esteroides, mientras que la columna Kinetex C8 menos hidrofóbica presenta la coelución de dos compuestos esteroideos.

Sin embargo, una C18 tradicional no siempre es la mejor opción. Por lo general, se recomienda una fase C18 tradicional como la primera opción para separar compuestos hidrocarbonados o hidrófobos. Pero, en algunos casos, puede requerirse menos

hidrofobicidad junto con una selectividad diferente para lograr con éxito la separación de sus compuestos hidrófobos así como para acortar los tiempos de análisis. Con tantas fases C18 que existen para seleccionar, es importante tener en cuenta las propiedades hidrofóbicas de cada fase. Por ejemplo, la composición química de la columna más hidrofóbica [Luna®](#) [Omega C18](#) proporciona un tiempo de retención más prolongado para 10 cannabinoides, mientras que la Luna Omega Polar C18 menos hidrofóbica, que contiene una superficie polar modificada, proporciona un menor tiempo de retención y, por lo tanto, un tiempo más corto de análisis sin afectar negativamente la separación general de los analitos.

Los valores de hidrofobicidad elevados de la columna indican una mayor retención de analitos que contienen carbono. Se recomienda una menor hidrofobicidad para los compuestos extremadamente hidrófobos que pueden ser retenidos con demasiada fuerza en las fases C18 tradicionales.

### **Isómeros y compuestos isobáricos**

Aproveche los múltiples mecanismos interactivos. Los múltiples mecanismos interactivos de la columna Kinetex® F5 (pentafluorofenilo) separan con éxito los isómeros de metoxibenceno, mientras que la columna Kinetex C18, que tiene interacciones enlazantes mínimas, no puede separar los isómeros de metoxibenceno. Esto demuestra que las columnas que se basan principalmente en interacciones hidrofóbicas, pueden no ser la primera opción para separar compuestos isoméricos y podría necesitarse una columna con múltiples mecanismos interactivos. Los elevados valores de interacción estérica de la columna son los más adecuados para el análisis de analitos que deben separarse en función de las diferencias de tamaño y forma.

### **Compuestos que contienen grupos hidroxilos o aminos**

Para aumentar la retención, es importante utilizar la capacidad de enlace de hidrógeno. Los compuestos que contienen grupos hidroxilos, aminos o la combinación de esos dos tipos de grupos funcionales, por lo general muestran la capacidad de interactuar con fases estacionarias de LC a través de enlaces de hidrógeno. Esta interacción puede tener lugar en la superficie de la sílica con silanoles, grupos encapados u otros grupos funcionales. Además, pueden ocurrir interacciones de enlaces de hidrógeno entre estos grupos de analitos y

cualquier grupo polar dentro o sobre la propia fase estacionaria. Al utilizar una selectividad de columna que contiene una capacidad combinada de interacción hidrofóbica y de enlace de hidrógeno, se puede ganar una mejora grande de la resolución en lugar de centrarse sólo en la manipulación de la retención hidrofóbica. Esto puede ser especialmente cierto cuando se analizan compuestos que son muy polares por naturaleza.

Los grupos que aceptan enlaces de hidrógeno en la superficie de sílica interactúan con los grupos donantes de enlaces de hidrógeno de los analitos.

### **Aromáticos o compuestos con anillos aromáticos**

Es muy probable que las industrias del mundo que utilizan cromatografía hayan analizado en algún momento compuestos que contienen estructuras de anillo basadas en carbono. Si bien estos anillos aumentan la hidrofobicidad de un compuesto, también ofrecen una fuente de electrones Pi que pueden interactuar de manera directa con los electrones Pi que se encuentran en la fase estacionaria. Las composiciones químicas de las columnas que contienen estructuras de anillo interactúan con compuestos aromáticos o que contienen anillos aromáticos a través de interacciones Pi-Pi. Si bien estas interacciones aromáticas Pi-Pi no son tan fuertes como las interacciones hidrofóbicas, pueden representar una manera fácil de aumentar la retención y la resolución. Al elegir una fase móvil para usar las fases estacionarias aromáticas que contienen un grupo fenilo, es extremadamente útil tener presente que el acetonitrilo rompe las interacciones Pi-Pi, mientras que el metanol ayuda a generarlas.

### **Bases no ionizadas y compuestos que contienen oxígeno o halógeno**

Las columnas de cromatografía líquida con alta capacidad de donación de enlaces de hidrógeno proporcionan una mayor retención de bases no ionizadas y compuestos de oxígeno o de halógeno, mientras que las columnas con menor capacidad de donación de enlaces de hidrógeno darán como resultado una menor retención. Por ejemplo, la mayor capacidad de donación de enlaces de hidrógeno de la columna Luna Omega Polar C18 proporciona tiempos de retención más largos que separan con éxito un conjunto de 8 compuestos ácidos, básicos y neutros mientras que la menor capacidad de donación de enlaces de hidrógeno de la columna Kinetex F5 tiene menos retención y muestra la coelución



de varios compuestos. Los grupos que donan enlaces de hidrógeno en la superficie de la sílica interactúan con los grupos accesibles que contienen un par de electrones aislados.

### **Compuestos polares básicos**

La selectividad catiónica de una columna de cromatografía líquida puede determinar su afinidad por las bases ionizadas. Una selectividad catiónica alta ofrecerá mayor afinidad o retención más prolongada de bases ionizadas, mientras que una selectividad catiónica baja generará menos retención de bases ionizadas, pero podría tener formas de picos excelentes. Por ejemplo, las propiedades de alta afinidad catiónica de la columna Kinetex® Biphenyl ofrece una retención más prolongada de los opiáceos, en comparación con la columna Kinetex C18, que posee menor selectividad catiónica. Esto puede ser muy útil si se necesita remover compuestos de las áreas de supresión temprana.

### **Compuestos polares ácidos**

Los grupos polares cargados que están en la superficie de una partícula o en el grupo funcional clave de la columna pueden desempeñar un papel importante en la separación de compuestos polares ácidos. La composición química de la columna Luna Omega PS C18 ha sido ajustada con precisión para ofrecer una selectividad mixta que incluye grupos con carga positiva sobre la superficie de sílica. Estos grupos aumentan la retención de compuestos polares ácidos y así mejoran el poder de separación, comparado con otras químicas que no poseen estas propiedades. Los grupos positivos sobre la superficie de la sílica o en el grupo funcional de la columna interactúan con compuestos polares ácidos, aumentando el tiempo de retención.

Para ahondar acerca de cada columna, consulte el Paso 3: Selección de columna en la [Guía más reciente de selectividad en fase reversa para HPLC/UHPLC](#).

Haga clic en el sitio web de [Phenomenex](#) para más información.

Share with friends and coworkers:

- [Click to share on LinkedIn \(Opens in new window\)](#)
- [Click to share on Facebook \(Opens in new window\)](#)

- [Click to share on Twitter \(Opens in new window\)](#)
- [Click to share on WhatsApp \(Opens in new window\)](#)
- [Click to email a link to a friend \(Opens in new window\)](#)

## Summary



### Article Name

Seleccione la Columna Correcta Para su Método de Fase Reversa

### Description

Seleccionar la columna correcta para los métodos de fase inversa no es fácil. Aquí están los pasos que debe tener en cuenta.