

Autor – Rajesh Babu Dandamudi, Ph.D., Director Técnico de Phenomenex

Esta mañana, estaba viendo un video reenviado por uno de mis amigos que ama las motocicletas. Era un videoclip de una carrera de MotoGP en la que uno de los participantes pierde el control de la motocicleta y resbala. Los corredores que iban detrás, que no esperaban este acontecimiento repentino, chocaron entre sí, lo que dio como resultado una montaña de motocicletas. Por suerte, el accidente no fue fatal y todos los corredores sobrevivieron. Cuando intenté comprender el motivo por el cual se salvaron, noté que fue por el equipo de protección que usaban.

La seguridad del conductor es de suma importancia cuando se trata de carreras de motocicletas, por lo que es importante protegerse con el mejor equipo de protección, previendo lo peor. Del mismo modo, una columna de HPLC es el componente principal en la cromatografía de LC porque es la columna responsable de la separación de los analitos en una matriz. Proteger y cuidar la columna garantiza que no solo obtendremos resultados fiables, sino que también operaremos sin problemas. Todos sabemos que una columna de HPLC tiene una vida útil limitada, pero ¿cómo puedo asegurarme de obtener la máxima duración?

Para responder esta pregunta, primero veamos las posibles maneras en que una columna puede obstruirse.

Matriz de la muestra:

Las muestras introducidas en la columna de HPLC suelen ser diversas y complejas. Estas muestras tienen muchos componentes que podrían no ser compatibles con las condiciones del método de HPLC. Inyectar dichas muestras sin la preparación o el tratamiento previo adecuado de la muestra podría provocar la obstrucción de la columna.

Las proteínas residuales y los compuestos altamente hidrofóbicos, como los lípidos, tampoco pueden eluirse por completo durante las separaciones de fase reversa; éstos tienden a adsorberse lentamente en la columna y causar problemas.

Diluyente de muestra y fase móvil incompatibles:

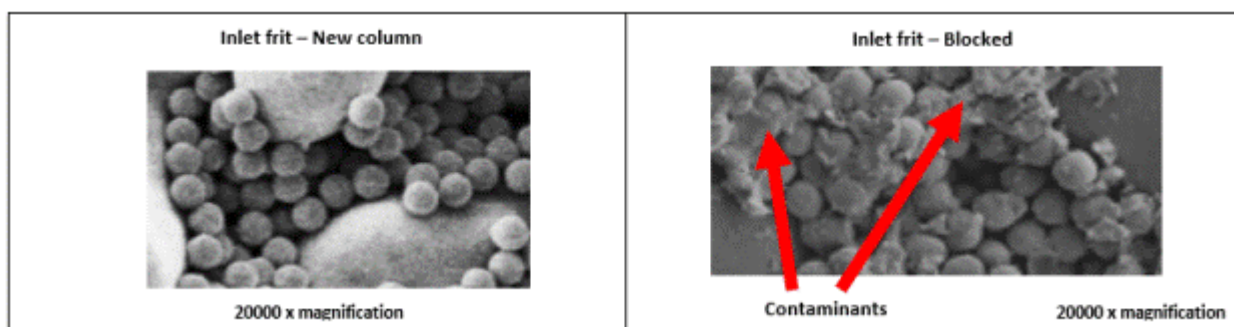
Si el diluyente de la muestra no es compatible con la fase móvil, entonces cuando se introduce una muestra en dicha fase, existe la posibilidad de que la muestra se precipite. Esto se observa a menudo si los diluyentes son demasiado polares o no polares en comparación con la fase móvil.

Amortiguadores de fase móvil:

Las soluciones amortiguadoras se usan comúnmente como fase móvil en el HPLC. Es importante que estas sales buffer se filtren antes de su uso. A veces, debido a la diferencia en la temperatura del laboratorio, algunos de los componentes del tampón o buffer tienden a precipitarse. Usar una concentración demasiado alta de buffer también provoca la precipitación.

Fragmentos de sellos de la bomba/sellos de los rotores del inyector desgastados:

Los sellos de la bomba y los sellos del rotor del inyector a menudo están hechos de goma. Debido al desgaste y daño habitual, estos componentes tienden a generar algunos residuos en la línea de disolvente. Si no se realiza el mantenimiento periódico de las bombas y los puertos del inyector, los residuos tienden a llegar a la frit de la columna y bloquean la columna.



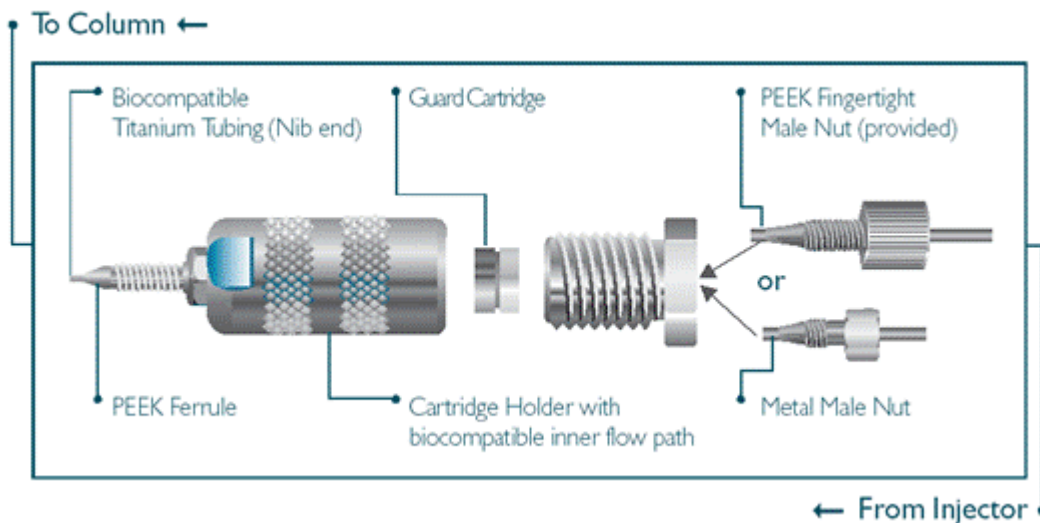
Ahora que conocemos las posibles formas en las que una columna puede obstruirse, ¿cómo la protegemos?

Para proteger las columnas de HPLC (analíticas y preparativas) de la contaminación, como partículas de la inyección, componentes de la fase móvil sin filtrar o fragmentos de los sellos de la bomba/sellos del rotor del inyector gastados, se recomienda usar una columna de protección o precolumna.

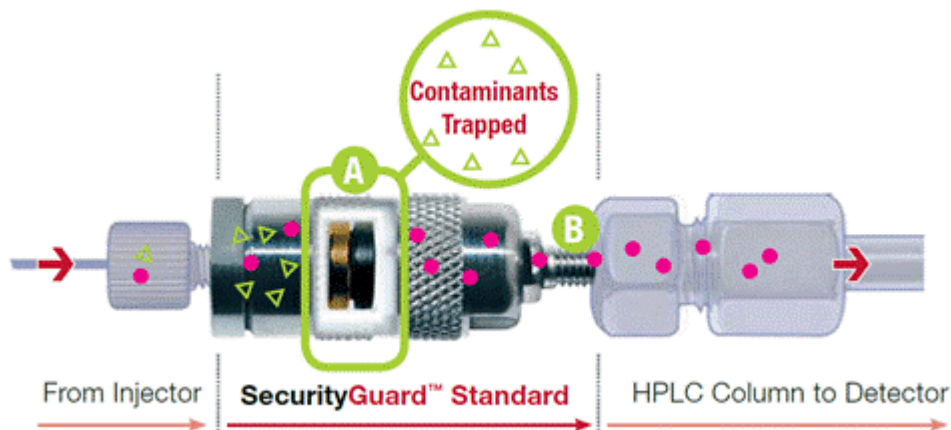
La siguiente pregunta obvia es: ¿qué es una columna de protección?

Una columna de protección es esencialmente una minicolumna, idealmente empacada con el mismo material de empaque que el de la columna analítica y conectada antes de la columna analítica. Estas columnas vienen en diversos tamaños, para cumplir con el requerimiento de las columnas. La fritas en las columnas de protección es igual que la de la columna analítica.

Esto significaría que cualquier cosa capaz de obstruir la columna analítica obstruiría la columna de protección. Esta obstrucción luego puede eliminarse simplemente reemplazando los cartuchos protectores, protegiendo así la vida útil de la columna analítica.

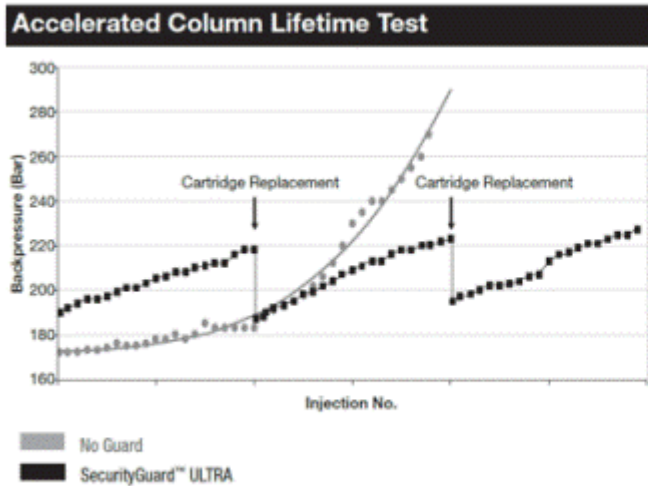


Componentes de Security Guard™



Vista en corte del protector Security Guard que muestra el cartucho de protección, que puede reemplazarse fácilmente cuando está contaminado.

Para comprender la función de una columna de protección en la vida útil de la columna, hemos realizado una prueba de vida útil acelerada usando una matriz biológica endógena inyectada en una columna de núcleo sólido (columna Kinetex de 2,6 μm C18 de 50 $\times$ 4,6 mm de Phenomenex, Inc. Torrance CA, EE. UU.). Con la columna sin protección (puntos grises, imagen a continuación), las inyecciones secuenciales de la matriz producen un aumento constante e irreversible de la contrapresión. Sin la protección de la columna SecurityGuard ULTRA, el aumento de la contrapresión se volvió exponencial. Este aumento en la contrapresión a la larga generará una cromatografía degradada, lo que incluye el ensanchamiento de la banda y posiblemente la división del pico. Como resultado, la sensibilidad del método, la cuantificación y la identificación del pico también pueden verse afectadas negativamente.



Sin embargo, la vida útil de la columna se prolongó en gran medida mediante el uso de SecurityGuard ULTRA (casillas negras que se muestran arriba). En este caso, las inyecciones secuenciales de la matriz aún generan un aumento de la presión, pero esto se debió a que las partículas quedaron atrapadas en el protector SecurityGuard ULTRA en sí, y no en la columna de UHPLC/HPLC. Por lo tanto, simplemente con reemplazar el cartucho SecurityGuard ULTRA a intervalos regulares, la contrapresión regresó a los niveles iniciales y la vida útil efectiva de la columna se prolongó en gran medida.

¿Cuándo debo reemplazar los cartuchos?

Inspeccione visualmente la superficie del material de empaque del cartucho cuando lo desee, sin alterar el lecho del relleno. Ahora puede controlar fácilmente la acumulación de contaminantes visuales y cambiar su cartucho protector antes de que sea demasiado tarde. Si sus contaminantes son incoloros, reemplace el cartucho con la frecuencia necesaria para mantener el rendimiento cromatográfico (p. ej., cuando la resolución disminuya en un 10 % o

cuando la eficacia o los anchos de los picos disminuya en un 20 %) o si la contrapresión del sistema aumenta en más del 20 %.

¿Cuáles son las características que debo buscar al comprar una columna de protección?

El material de empaque (fase estacionaria) del cartucho protector debe ser el mismo que el de la columna analítica, de modo que no haya cambios en la selectividad.

El diámetro interno (DI) del cartucho protector debe ser igual o inferior al ID de la columna analítica para minimizar el aumento del ensanchamiento de la banda. Use siempre un protector con el ID más cercano al de la columna.

La longitud de la columna de protección debe ser lo más corta posible para evitar volúmenes muertos adicionales.

Los cartuchos deben ser fáciles de reemplazar siempre que sea necesario.

Phenomenex ofrece tres tipos de protectores que sirven para la mayoría de las columnas que se utilizan.

SecurityGuard Standard: Se recomienda su uso con todas las columnas de que no sean de núcleo sólido y partículas $\geq 3 \mu\text{m}$ ($< 5000 \text{ psi}/345 \text{ bar}$)*; prácticamente son compatibles con todas las columnas de HPLC.

SecurityGuard ULTRA Se recomienda su uso con todas las columnas de núcleo sólido y/o partículas $< 3 \mu\text{m}$ ($< 20\,000 \text{ psi}/1378 \text{ bar}$)

SecurityGuard PREP: Se recomienda su uso con columnas de preparación de HPLC con diámetro interno (DI) de 9,0 a 49,0 mm

Comparta con amigos y compañeros:

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 \(Opens in new window\)](#)