

[Descargar PDF](#)

La fase móvil utilizada para la cromatografía líquida (liquid chromatography, LC) de fase reversa puede ser un solvente puro, una mezcla de solventes, o un solvente que contenga tampones y aditivos. El solvente de fase móvil actúa como un portador para el analito a través de la fase estacionaria sin afectar los resultados. Existen literalmente cientos de solventes entre los cuales elegir, lo que puede hacer que sea extremadamente desafiante decidir cuál es el apropiado para sus necesidades.

Afortunadamente, hay algunas características de los [solventes de fase móvil](#) que pueden ayudarle a elegir el adecuado para su análisis de LC de fase reversa. Estas características incluyen:

- **Pureza del solvente:** El solvente seleccionado como fase móvil en la LC debe ser grado de HPLC o MS, debe filtrarse y someterse a un ultrasonido para eliminar las burbujas de aire, garantizando así una absorbancia mínima en los espectros UV.
- **Viscosidad del solvente:** La fase móvil de fase reversa debe tener una viscosidad óptima que permita una velocidad lineal óptima a través de la fase estacionaria de la columna de HPLC, para lograr picos más estrechos y definidos, mejorando en general la sensibilidad del análisis.
- **Índice de refracción:** Esta es una consideración clave al utilizar un detector de índice de refracción. Idealmente, cuando se trabaja con el detector de índice de refracción (refractive index, RI), la fase móvil y el diluyente de muestra deben tener un índice de

refracción similar para evitar obtener picos negativos; en otras palabras, la muestra debe prepararse en la fase móvil.

- **Punto de ebullición del solvente:** Es mejor elegir un solvente que tenga un bajo punto de ebullición para una mejor recuperación y especialmente en cromatografía líquida con espectrómetro de masas (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS), un solvente más volátil mejorará la ionización, llevando a una mayor sensibilidad del MS.
- **No corrosividad:** El solvente de la fase móvil no debe corroer los tubos del sistema HPLC, las válvulas de la bomba, los sellos y otras piezas que se encuentran en la ruta del flujo.
- **Toxicidad del solvente:** Asegúrese de que el solvente no sea tóxico y de que se utilice la versión estabilizada.
- **Miscibilidad del solvente:** Elija un solvente que sea perfectamente miscible con la muestra. El analito también debe ser soluble en él. De lo contrario, experimentará precipitación de la muestra en las fritas de entrada de la columna, generando contrapresión, problemas con la línea base, disminución de la sensibilidad a los picos del analito así como problemas de área y forma del pico en el cromatograma.
- **Transparencia de la fase móvil:** Seleccione una fase móvil que transmita a la longitud de onda de detección.
- **Potencia de elución:** Esta es la capacidad del solvente de eluir analitos objetivo de la fase estacionaria. Cuanto más alta sea la potencia de elución, más eficaz será el solvente y mejor será la selectividad. El solvente de fase móvil debe tener una

potencia de elución óptima y adecuada para lograr selectividad para los analitos objetivo.

Con estas características en mente, el solvente de fase móvil preferido por la mayoría de los cromatografistas es el acetonitrilo dada su óptima viscosidad, buena transparencia UV y adecuada potencia de elución.

Otros solventes comunes incluyen al metanol, que tiene una viscosidad mayor que el acetonitrilo (particularmente cuando está mezclado con agua), y el tetrahidrofurano, que tiene una alta potencia de elución, pero es más tóxico y presenta problemas de seguridad. El metil ter-butil éter puede actuar como un sustituto del tetrahidrofurano.

Elección de los tampones y aditivos de fase móvil

Además de seleccionar los solventes de fase móvil, también deberá elegir los tampones apropiados y/u otros aditivos. Los tampones se utilizan para controlar el pH de la fase móvil. Los aditivos ácidos (pH de 2 a 4) se utilizan para la mayoría de las aplicaciones farmacéuticas, mientras que las fases móviles básicas (pH mayor a 8) se utilizan para lograr una mayor retención y forma de pico mejorada para los analitos básicos.

Las fases móviles simples son lo mejor

Se ha vuelto la norma elegir fases móviles más simples para la [LC de fase reversa](#). El

carácter práctico detrás de esto es evidente, con los avances en las tecnologías de fabricación de columnas, fases estacionarias y la disponibilidad de instrumentos extremadamente sensibles de alta resolución, se reduce la necesidad del uso de tampones y otros aditivos que fueron necesarios previamente para ofrecer una buena cromatografía.

Por ejemplo, la mezcla de acetonitrilo-agua al 95 % tradicionalmente se ha utilizado para mejorar la eficiencia de la fase móvil ya que ambos solventes son similares en términos de viscosidad y tensión superficial. Sin embargo, esta práctica se está volviendo innecesaria, con la mejora de las bombas y la introducción de mezcladores en línea.

Además de ello, los métodos se están volviendo más robustos con el uso de solventes más simples que cuentan con perfiles de gradientes lineales, y con el rápido progreso de la tecnología de MS de alta resolución, reduce aún más la necesidad de fases móviles complejas en los métodos LC.

Si desea obtener más información acerca de cómo elegir la fase móvil correcta, comuníquese con uno de nuestros especialistas técnicos a través de nuestro portal en línea gratuito.

[Chatee ahora.](#)

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