

# Notas

---

UTIM

March 31, 2022

## **Columnas, columnas guardianes su utilidad y cuidados**

---

## Columnas guardianes

- Para darle larga vida a la columna, use siempre la columna guardián. La columna guardián **previene posibles obstrucciones en la columna** producto de un mal filtrado o algún precipitado que se forme antes de la misma.
- La columna guardián es la composición del cartucho más el holder (sostén o lo que agarra al cartucho).
- En este laboratorio (UTIM) contamos con la columna de Phenomenex Parts No: AJ0-9000(Cartucho) y AJ0-9000(Holder).

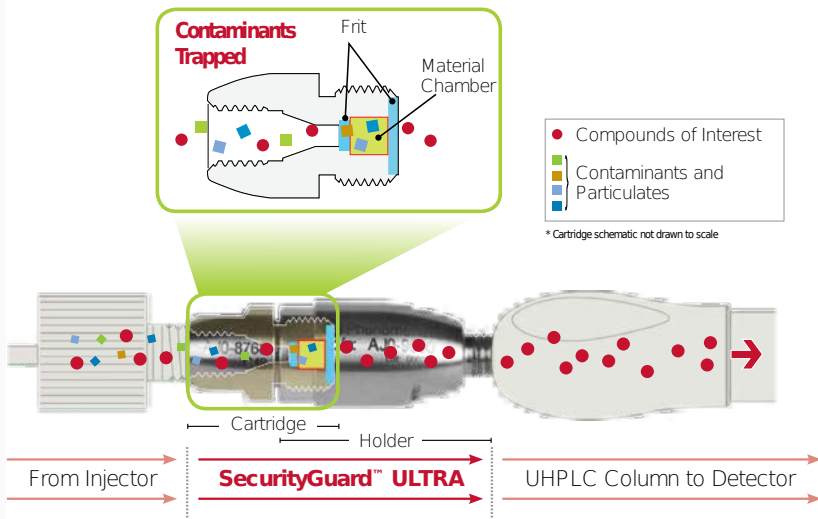
# Columnas guardianes. Esquema.

Presión de max de trabajo 20 000PSI

- ① **Auto-adjusting Tip**  
provides a leak-free connection to virtually any UHPLC column
- ② **Re-usable Holder**  
minimizes costs and waste
- ③ **Disposable Cartridge**  
for quick and easy removal and replacement
- ④ **Packed with Media**  
for maximum column protection
- ⑤ **Conveniently Labeled**  
to ensure guard-to-column phase compatibility



# Columnas guardianes. Esquema.



## Buenas practicas (Columnas)

Según WATERS(el fabricante de todas las columnas que hoy tenemos), antes de darle uso a cualquier columna proporcionada por ellos se deben hacer dos procedimientos.

1. Condicionar la columna con fase orgánica. Pasar exclusivamente **ACETONITRILO**.
2. Cada columna viene con una ficha técnica o certificado de calidad emitido por el fabricante. Bajo similares condiciones se debe probar la columna para verificar la integridad de la misma.

NOTA: En caso que el certificado técnico no venga en la caja, se puede buscar en la siguiente liga: Información de la columna. **click aquí**.

[https://support.waters.com/KB\\_Chem/Columns/WKB10151\\_How\\_to\\_c](https://support.waters.com/KB_Chem/Columns/WKB10151_How_to_c)

## **Lavado de columnas Acquity Híbridas de la compañía Waters**

---



## PROCEDIMIENTO:

1. Purgar las líneas de la bomba al 100% de solvente con la siguiente secuencia, línea **A** (Agua), **B** (Acetonitrilo), **C** (Tetrahidrofurano).
2. Verificar que no existan tuberías de **peek** conectadas en el sistema Acquity UPLC.
3. Antes de iniciar el proceso de lavado de la columna debe asegurarse que el solvente en su columna es miscible con el solvente recomendado para dicha limpieza.
4. La velocidad de flujo debe ser de una quinta parte a un medio de la velocidad de flujo normal.

## PROCEDIMIENTO:

5. Estimar el volumen de columna usando la siguiente ecuación:  
 $V = \pi r^2 L$ , L representa la longitud y r el radio de la columna respectivamente.
6. Conectar la columna al equipo UPLC e ingresar al link de usos y cuidados que viene indicada en cada una de las columnas híbridas al ser conectado el chip en el horno de columnas de los equipos Acquity.

## PROCEDIMIENTO:

7. Realizar el lavado con 10 volúmenes de columna en el siguiente orden para columnas de fase reversa:
  - 95% de agua grado HPLC y 5% de Acetonitrilo (con la finalidad de remover buffer).
  - 100% de THF grado HPLC.
  - 95% de Acetonitrilo grado HPLC y 5% de agua grado HPLC.
  - Guardarse en 100% Acetonitrilo grado HPLC.

# **Limpieza Preventiva y de Mantenimiento**

---

### SIEMPRE HACER ESTE PROCEDIMIENTO SIN COLUMNA

**Table 1:** Tabla de solventes

Solvente: Ácido	Solvente: Orgánica
A = 10%: B = 90%	A = 20%: B = 40%: C = 40%
A = $H_2O$ B = $H_2PO_4$	A = $H_2O$ B = <i>Isopropílico</i> C = <i>Acetonitrilo</i>

### SIEMPRE HACER ESTE PROCEDIMIENTO SIN COLUMNA

# **Limpieza Preventiva**

---

### SIEMPRE HACER ESTE PROCEDIMIENTO SIN COLUMNA

Las limpiezas tanto preventivas como de mantenimiento se hacen para prevenir la formación y crecimiento de materia biológica o la aparición de sarro en la líneas del equipo.

#### ¿Cuándo hacer la limpieza preventiva y a cual línea?

La limpieza preventiva se debe realizar **una vez por semana o cada dos semanas** según las condiciones del laboratorio: hermeticidad, humedad, temperatura etc.

Esta, solo se realiza a la línea que lleva  $H_2O$  y de le debe pasar la fase orgánica de la Tabla:1. Condiciones: **Flujo de 1mL/min** durante **30min**.

### SIEMPRE HACER ESTE PROCEDIMIENTO SIN COLUMNA

# **Limpieza Mantenimiento**

---



### SIEMPRE HACER ESTE PROCEDIMIENTO SIN COLUMNA

**¿Cuándo hacer el mantenimiento y a cual linea?**

El mantenimiento se debe realizar **una vez 3 meses** o cuando el sistema este sucio.

Con un **flujo 1mL/min**, Pasar 25% Realizar **10 inyección con 3 viales**.

- $H_2O$  (25)
- Ácido (25)
- Orgánico (25)

### SIEMPRE HACER ESTE PROCEDIMIENTO SIN COLUMNA

# **Cuidados del equipo HPLC**

## **AquityArc**

---

## Fin de semana y cuando no se use por mas de dos días consecutivos

Se debe/n poner las lineas de agua en fase 10:90 (V:V) acetonitrilo:agua.

# Documentación

---

Manuales

Otro Manual

# Aplicaciones

---

# Generalidades

La diferencia a tener en cuenta entre los modelos XBridge, XSelect y Cortecs radica fundamentalmente en el tipo de partícula empleada en el empaquetado de la columna. El residuo orgánico que es la cadena que favorece la separación puede estar presente en cada tipo de columna.



**BEH Technology**

- High retentivity for basic compounds
- Excellent peak shape at elevated pH
- Good universal column choice for a wide variety of compounds
- Stable across a wide pH range
- For separations at high temperatures (80 °C)



**HSS Technology**

- High retentivity for polar organic compounds and metabolites
- Balanced retention of polar and hydrophobic analytes
- High strength silica for mechanical stability



**CSH Technology**

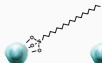

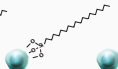




- Good separations for basic compounds under low pH conditions
- Excellent MS performance with formic acid as a mobile-phase modifier
- Fast pH switching and column equilibration



**Solid-Core Technology**

- Maximum efficiency
- Increased sensitivity
- Seamless scalability from UPLC™ to UHPLC to HPLC

# Cortecs

							
CORTECS	C <sub>18</sub> <sup>+</sup>	C <sub>18</sub>	T3	Shield RP18	C <sub>8</sub>	Phenyl	HILIC
Rango pH	2-8						1-5
*TempLim	45C°						









**HILIC:** Hydrophilic-interaction chromatography. Es empleado para separar analitos extremadamente polares.

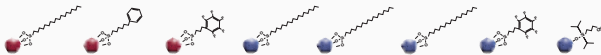
CORTECS 2.7 $\mu m$ Aplicaciones	Código de búsqueda	Pagina
Medicamentos (básicos) en agua de río	WA60707	49
HILIC Control de Calidad	WA64704	50
Morfina y Metabolitos	WA64701	51

**CORTECS Phenyl**  $2.7\mu m$   $3 \times 150mm$

# XBridge

						
XBRIDGE	C <sub>18</sub>	C <sub>8</sub>	Shield RP18	Phenyl	HILIC	Amida
Rango pH	1-12		2-11	1-12	1-9	2-11
MaxpH-TempLim	80C°	60C°	50C°	80C°	45C°	90C°
MinpH-TempLim	60C°	60C°	45C°	60C°	45C°	90C°

# XSelect

								
XSelect	CSHC <sub>18</sub>	CSH Phenyl-Hexil	CSH Fluoro-Phenyl	HSS T3	HSSC <sub>18</sub>	HSSC <sub>18</sub> SB	HSS PFP	HSS CN
Ligando	C <sub>18</sub>	C <sub>6</sub>	Pentafluoro- phenyl	C <sub>18</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>18</sub>	Trifunctional Pentafluoro- phenyl	Monofunctional Cyano-Propyl
Rango pH	1-11		1-8	2-8	1-8	2-8		
MaxpH-TempLim	80C°	80C°	60C°	45C°	45C°	45C°	45C°	45C°
MinpH-TempLim	45C°							