

Consejos y Trucos para el Mantenimiento de su HPLC



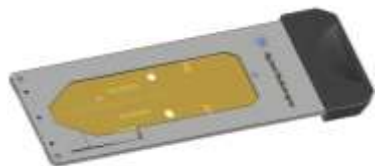
Jaume C. Morales

LC /LCMS Product Specialist



Objetivos de esta presentación:

1. Presentar los elementos más importantes en el mantenimiento de equipos series 1100/1200/Infinity LC por parte del usuario.
2. Cubrir las tareas primarias de mantenimiento preventivo que un usuario de LC debe conocer y planificar.
3. Destacar los consumibles claves que necesitan ser reemplazados por un usuario de modo regular en cualquier HPLC para mantenerlo en funcionamiento.
4. Consejos para el trabajo en UHPLC



Chip LC



Nano LC



LC Capilar



LC Analítico



LC Prep

Consideraciones Generales en el mantenimiento de su LC:

Conocer:

- ✓ Su aplicación y método LC
- ✓ Su Sistema LC
- ✓ Su muestra

Planificar:

- ✓ Mantenimientos de rutina
 - Menor (diario/semanal)
 - Mayor (frecuencia 6 o 12 meses)



Consejo #1 – Conozca todos los recursos de mantenimiento de su Agilent 1100/ 1200 Infinity Series

Hay muchas fuentes disponibles de información, incluyendo:

- ✓ Manual de Referencia– incluido con cada módulo, .pdf's y web
- ✓ Guía de Mantenimiento del LC – incluido con el sistema, .pdf y web,
- ✓ Videos de Mantenimiento del LC– disponibles en la web,
- ✓ Lista de comprobación del 1200 LC PM (Mantenimiento Preventivo) – proporcionado en el momento del PM
- ✓ Curso de Mantenimiento y Resolución de Problemas Agilent 1100/1200 Series HPLC (H8969A, 3 días), registro en la web
- ✓ Software de diagnóstico 1200, con Early Maintenance Feedback (EMF)
- ✓ Su Ingeniero de Mantenimiento Local
- ✓ [www. agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)
- ✓ Centro de atención al cliente, 901-116890

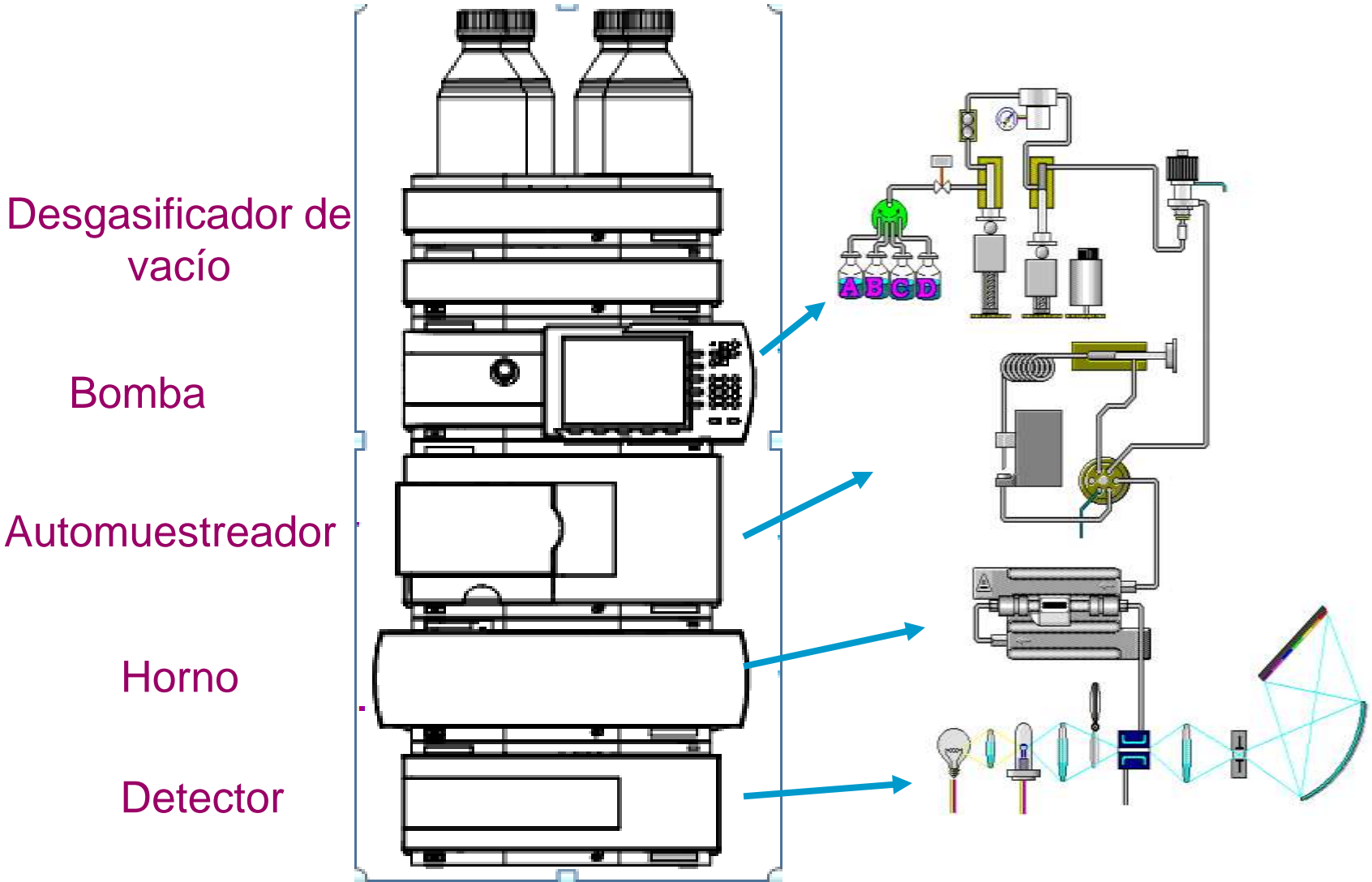


Guía de Mantenimiento para sistemas Agilent LC y LC/MS :



- **Se puede pedir a través de la web o descargarlo junto a esta presentación.**
- **100 páginas**
- **Cubre todos los módulos 1100/1200 Series Infinity y LCMS**
- **Ayuda a seleccionar los consumibles correctos.**
- **Publicacion nº 5990-4957EN**

Conozca su sistema HPLC:sistema 1100/1200 Infinity



Conozca su sistema HPLC: Sistema 1290 Infinity

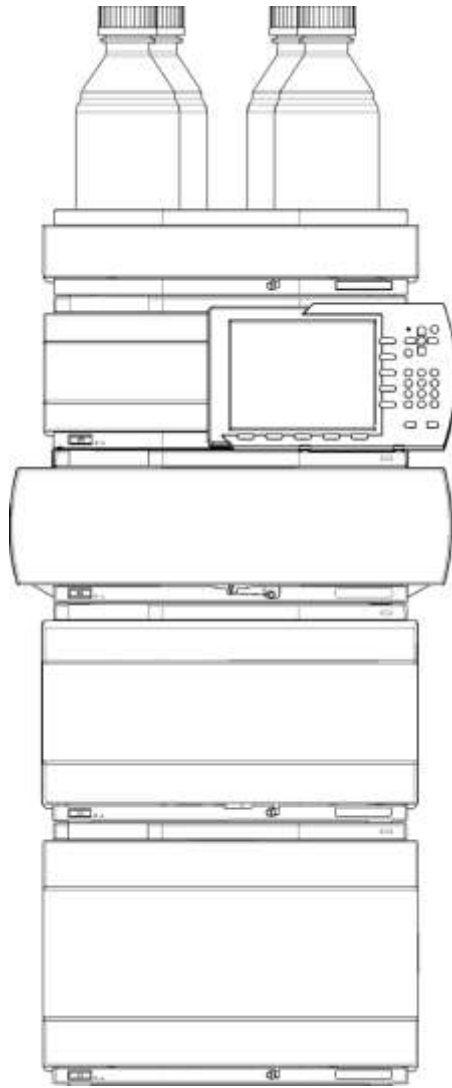
Cabina de solventes

Detector

Compartimento
De columnas

Automuestreador

Bomba con
desgasificador
incorporado



CONFIGURACIÓN DE UNA TORRE:

Esta configuración optimiza el paso de flujo y garantiza un volumen de retardo mínimo.

La bomba Agilent 1290 Infinity se debe instalar siempre en la base de la torre de módulos.

Conozca su sistema HPLC: CONFIGURACIÓN DE 2 TORRES



Bomba con
desgasificador
incorporado



Detector

horno

ALS

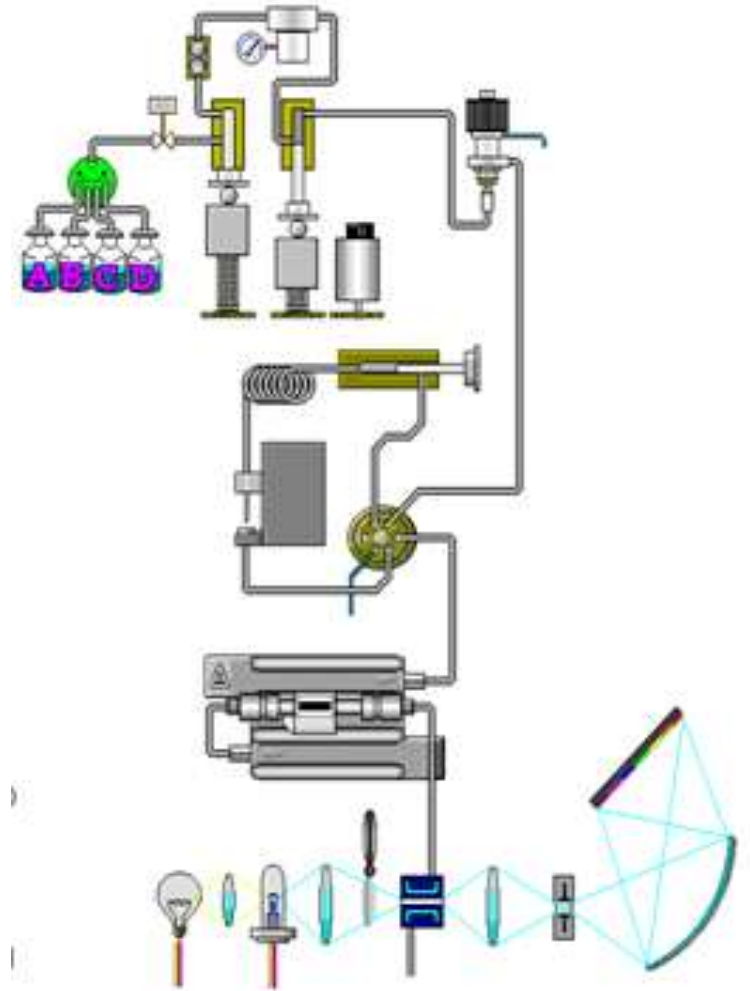
Termostato ALS

En caso de que el termostato del inyector automático esté incorporado en el sistema, se recomienda una configuración de dos torres de módulos. De esta forma, los dos módulos pesados (la bomba 1290 Infinity y el termostato) se colocan en la base de cada torre y se evita crear una torre alta. Algunos usuarios prefieren la menor altura de esta distribución, incluso sin el termostato del inyector automático.

Consejo # 2 – Conozca la ruta de flujo de su HPLC:

- ✓ ¿Dónde están las parte móviles?
- ✓ ¿Dónde puede obstruirse el flujo?
- ✓ ¿Dónde están los consumibles que necesitan ser reemplazados frecuentemente (PM)?
- ✓ ¿Dónde pueden aparecer fugas?

¿Qué puedo hacer para eliminar, reducir o anticipar problemas potenciales en el LC ?



Consejo #3 – Reducir los problemas LC eliminando las causas más comunes de obstrucción del flujo

- ✓ Filtrar, filtrar, filtrar!!! (tanto disolventes como muestra).
- ✓ Las Particulas que producen obstrucciones pueden venir de fuera y dentro del sistema LC
 - Solvente, tampones
 - Crecimiento bacteriano en las botellas de disolvente
 - La muestra
 - Desgaste de los componentes del LC– sellos de pistones, válvula del automuestreador, etc.
- ✓ Los desechos se pueden depositar bien en la fritas de la columna (columna = caro) o en el filtro en línea (entre bomba e inyector .fritas reemplazable-barato)
- ✓ El Mantenimiento Preventivo es la clave!!!



Filtración de Solventes y Tampones

Ya que :

- los diámetros internos de los capilares de conexión, y
- las partículas y tamaño de poros de la columna son cada vez más pequeños,

la filtración de las fases móviles es una obligación ineludible.

Además, filtrar los solventes previene la aparición de picos falsos en el detector al eliminar los contaminantes q puedan existir.

Filtrar siempre los disolventes con filtros de 0.45 μm ó 0.20 μm ya que las pequeñas partículas pueden bloquear los capilares y válvulas.

Usar filtros que retengan algas.

Evitar disolventes corrosivos del acero, y alargar así la vida de la bomba.



PN: 3150-0577 (250 mL)
5067-0215 (1.000 mL)

Cuidado de la fase móvil—Prolongar vida filtros

Las Partículas de los solventes no filtrados , mal filtrados o los solventes contaminados por el crecimiento bacteriano (**algas**) pueden obstruir el filtro de entrada de disolvente en la botella, reduciendo el rendimiento de la bomba, que se reflejará moviéndose los tiempos de retención.

Además, si el filtro se bloquea y la bomba continúa trabajando pero no puede aspirar disolvente, la bomba comenzará a aspirar aire. Eso producirá perturbaciones periódicas en la línea base, flujo inestable y hasta fallo completo en la bomba.

Tener especial cuidado con los disolventes Acuosos o tampones fosfato y acetato (ph 4-8).

Intentar limpiar ó cambiar los filtros regularmente (ó cada 3 meses).



- Si es posible, use botellas de disolventes estériles o de color ambar, para retardar aparición de algas.**
- Evite exposición de la botella de disolvente directamente a la luz del sol (use papel de aluminio, proteja de las ventanas).**
- Filtre los solventes con filtros de 0.4 ó 0.2 μm o membranas que retengan algas.**
- Reemplace los solventes cada dos días (intente no re-filtrar).**
- Considere añadir 5-10% de organico a la fase móvil acuosa para impedir el crecimiento bacteriano, siempre q la aplicación lo permita.**
- Comprobar si un filtro está bloqueado desconectándolo del degasificador y ver si sale dv., ya q un filtro bloqueado no afecta a la lectura de Presión en la bomba.**



Limpie o reemplace los filtros de entrada de disolvente



1. Retire los filtros de entrada de disolvente.
2. Tenga a mano uno limpio para comparar
3. Reemplace los filtros de vidrio, ó limpiarlos (sumérjalos en ácido nítrico concentrado (35%) durante una hora).
4. Lávelos bien con agua , ya que podría dañarse la columna.
5. Reinstale los filtro de entrada de solvente.
6. Use Filtros de Acero Inoxidable para el Sistema 1200 RRLC

No Usar NUNCA la bomba sin filtros de entrada

Filtro Entrada Disolvente de vidrio (20 μm), PN 5041-2168
Filtro Entrada Disolvente de Acero Inox. PN 01018-60028

Nota: No sonicar los filtros de vidrio, pueden romperse

Consideraciones de pH y los disolventes

En general , los módulos LC pueden operar en un rango de pH 1-12.5, pero debemos conocer los siguientes consejos:

Disolventes con pH < 2.3

- Los solventes no deberían contener ácidos que ataquen el acero inox. (i.e. HCl).

pH > 9.5

- Reemplace los sellos de rotor estándar (Vespel) en todas las válvulas de inyección con sellos de Tefzel o PEEK(preparativo pH: 1-14) .
- Reemplace los filtros de entrada de disolvente de vidrio estándar con filtros de entrada de acero inoxidable.
- No deje solventes de pH > **9.5** en las celdas de flujo por periodos prolongados, ya q pueden atacar al cuarzo y deteriorarla.



Dos Módulos de Desgasificador



Desgasificador de Vacío (G1322A)

- Para flujos hasta 10 mL/min
- Parte de la Bomba Cuaternaria
- Opera en modo intermitente
- Volumen de retraso de 12 mL por canal

Micro Desgasificador de Vacío (G1379B y el nuevo G4225A)

- Para flujos hasta 5 mL/min → recomendado con las bombas binarias
- Parte de las bombas Capilar y Nano
- Opera en modo continuo
- Muy bajo ruido para la máxima sensibilidad
- Bajo volumen de retraso-- 1 mL por canal
- Con el detector de Fluorescencia o Masas.



Mantenimiento (G1322A and G1379B)

- Limpie las líneas de desgasificación enjuagando con isopropanol.
- Cuando use tampones, enjuague con agua, y luego con isopropanol.
- Compruebe si hay burbujas en las líneas de salida.
- Tenga en cuenta la posibilidad de crecimiento bacteriano con fases acuosas.
- Verifique la compatibilidad de los solventes.
- Los canales fuera de uso deben quedar en isopropanol.
- Podría necesitar cambiar la bomba de vacío, el sensor, la válvula solenoide , o el cambiador de vacío.



Notas para el Desgasificador de Vacío (G1322A)

Cebado del Desgasificador:

- **Si los tubos están vacíos o para un cambio rápido de solvente:** Use una jeringa. Extraiga lentamente el solvente a través de la membrana del desgasificador con la jeringa, y luego bombear 10 min. a vel. de flujo de trabajo, pq dv. a la salida no estará desgasificado.
- **cuando el sistema ha estado apagado durante un tiempo(noches ,fines de semana):**Purgue la bomba a 3-5 mL/min para anular la redifusión del oxígeno producida

Cambio de solventes: (purgar a vel. elevada)

- Asegúrese de que los solventes son miscibles
- Cambie cualquier tampón inorgánico primero con agua pura y luego con el nuevo solvente.
- Use un mínimo de 30 mL por canal para los cambios de solventes.
- Compruebe si hay burbujas de aire en cada tubo de salida de solvente.

Kit de Accesorios G1322-68705

Jeringa 5062-8534

Adaptador de jeringa 9301-1337

Kit de tubos de solvente (4 tubos del desgasificador a la bomba) G1322-67300

Tubo de desechos 5062-2463



Notas del Micro Desgasificador (G1379B/ G4225A)

Cebado del Micro Desgasificador:

- Use la bomba a velocidad de baja a moderada
- El cebado con jeringa SOLO se recomienda si el cebado con la bomba falla.
- Succione lentamente cuando use una jeringa

Cambio de Solventes: (Purgado con bomba)

- Asegúrese de que los solventes son miscibles
- Cambie cualquier tampón inorgánico primero con agua pura y luego con el nuevo solvente.
- Use un mínimo de 5 mL por canal para los cambios de solventes.
- Compruebe si hay burbujas de aire en cada tubo de salida de solvente.

Kit de Accesorios G1379-68705

Herramienta de Montaje 0100-1710

Kit de tubos de solvente (4 tubos del desgasificador a la bomba) G1322-67300

Tubos de conexión para conectar los canales en serie y maximizar el rendimiento (2) G1379-68706

Tubo de desechos 5062-2463



Herramienta de Montaje (0100-1710)



¿Por qué filtrar la muestra de HPLC?



Menos obstrucciones de capilares, fritas, entrada de la columna.

Menos desgaste y “sangrado” de las válvulas de inyección y conmutación.

=> Mejores resultados analíticos



1- Filtros de jeringa

Membrane Econofilters, 200/pk

Description	Diameter (mm)	Pore Size (μm)	Part No.
Regenerated Cellulose	25	0.2	5185-5830
Regenerated Cellulose	25	0.45	5185-5831
Nylon	25	0.2	5185-5832
Nylon	25	0.45	5185-5833
PTFE	25	0.2	5185-5834
PTFE	25	0.45	5185-5835

2- Viales Mini-UniPrep

Los Viales UniPrep llevan un filtro integrado de $0.20\mu\text{m}$ o $0.45\mu\text{m}$ de porosidad, de materiales como PTFE, PP, Nylon o Celulosa Regenerada.



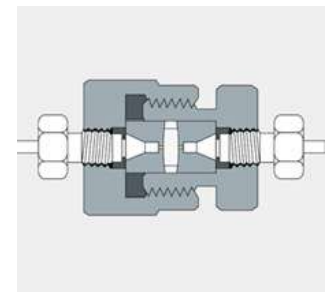
Consejo #4 – Puntos de Filtración en la ruta de flujo del LC– Fritas/Tamices para reemplazar regularmente en:

✓ **Botellas de disolvente** (filtros botellas: cambio o limpieza si están bloqueados)

✓ **Bomba** (Frita Valvula Purga: cambio si hay sobrepresión o aumento de Presión en el sistema. Se forman capas negras ó amarillas en la superficie de la frita)

✓ **Filtros en-línea**

Normalmente colocados entre el automuestreador y la columna



✓ **Columna**

La frita de entrada de la columna es difícil de reemplazar (no recomendado)

Se puede revertir el flujo de la columna y eliminar la obstrucción (flujo a desechos), pero puede que no se restablezca totalmente la columna.

Muchos fabricantes usan fritas de 2 μm para columnas con partículas de 3 a 5 μm y fritas de 0.5 μm para columnas con partículas sub 2 μm . Elija la frita del filtro en-línea de acuerdo con la frita de la columna.

Partes del HPLC de Mantenimiento más común: Partes móviles y consumibles asociados.



Bomba

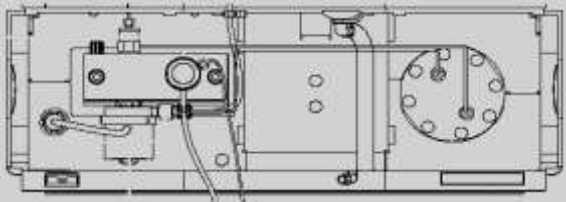
Automuestreador



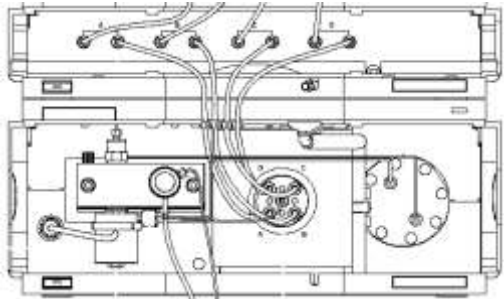
Detector UV



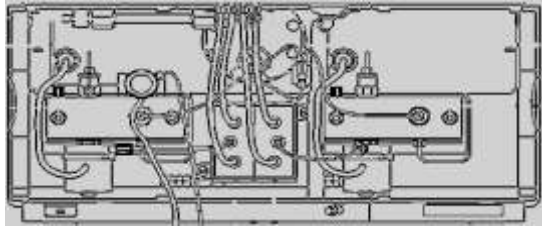
Modelos de Bombas Agilent 1200 Infinity - Analítica



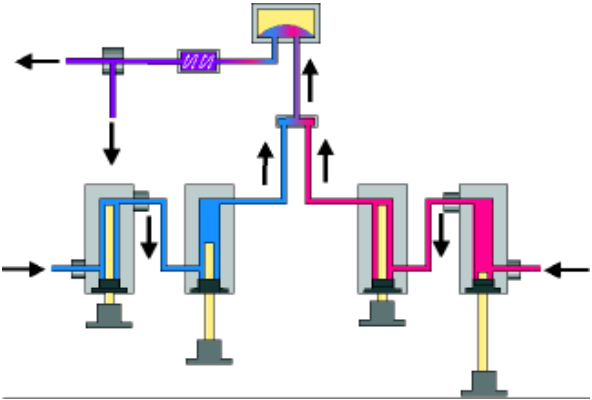
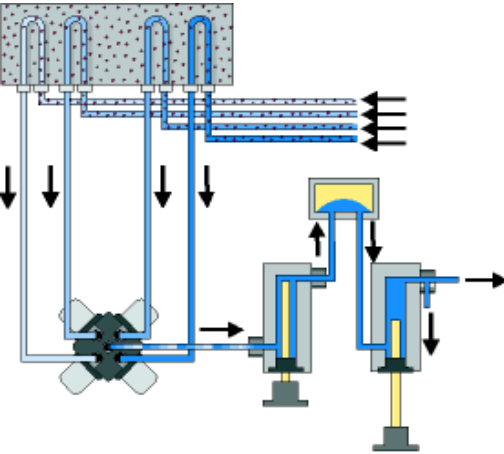
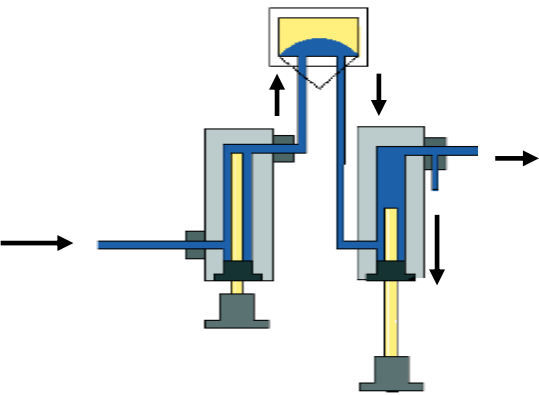
Bomba Isocrática



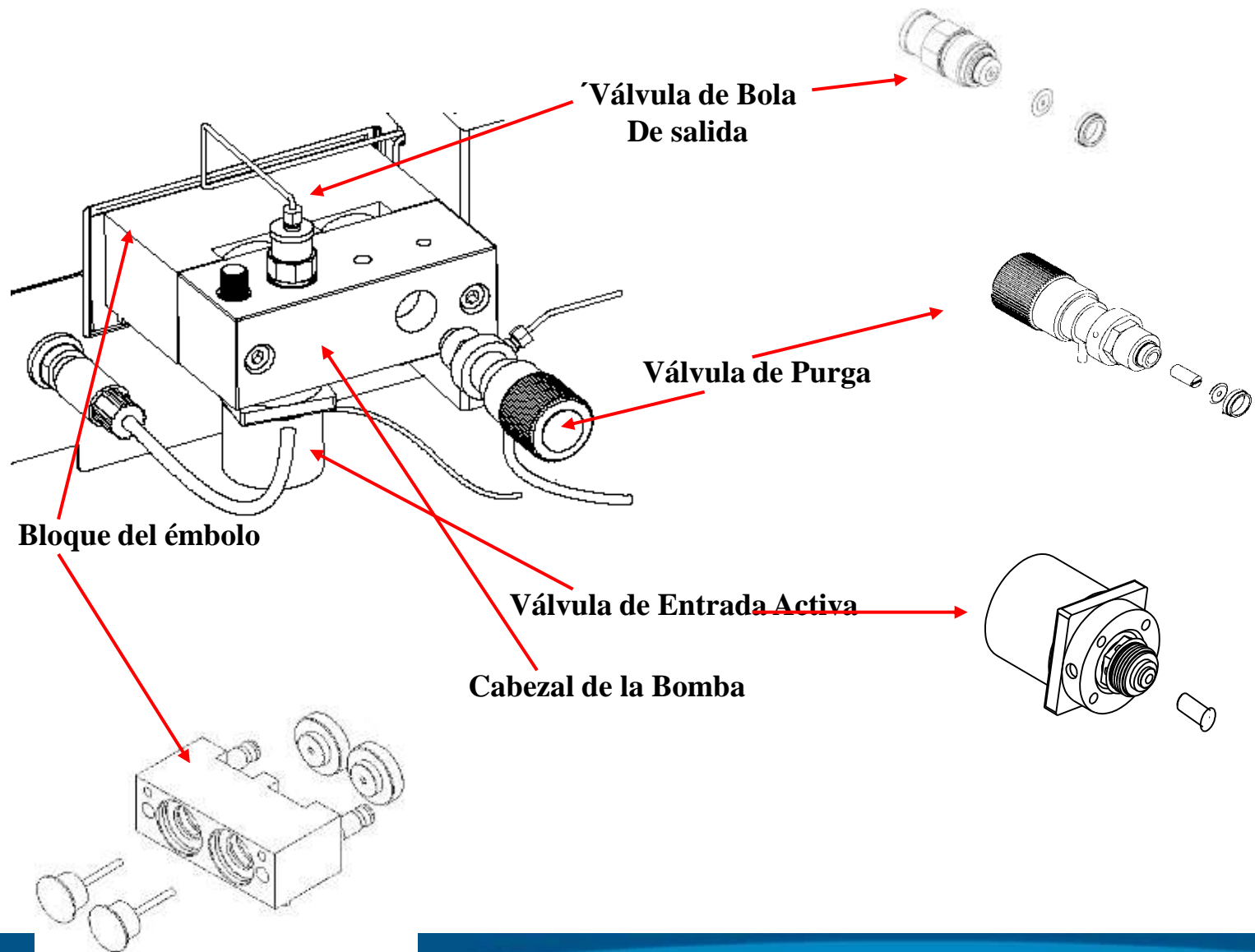
Bomba Cuaternaria



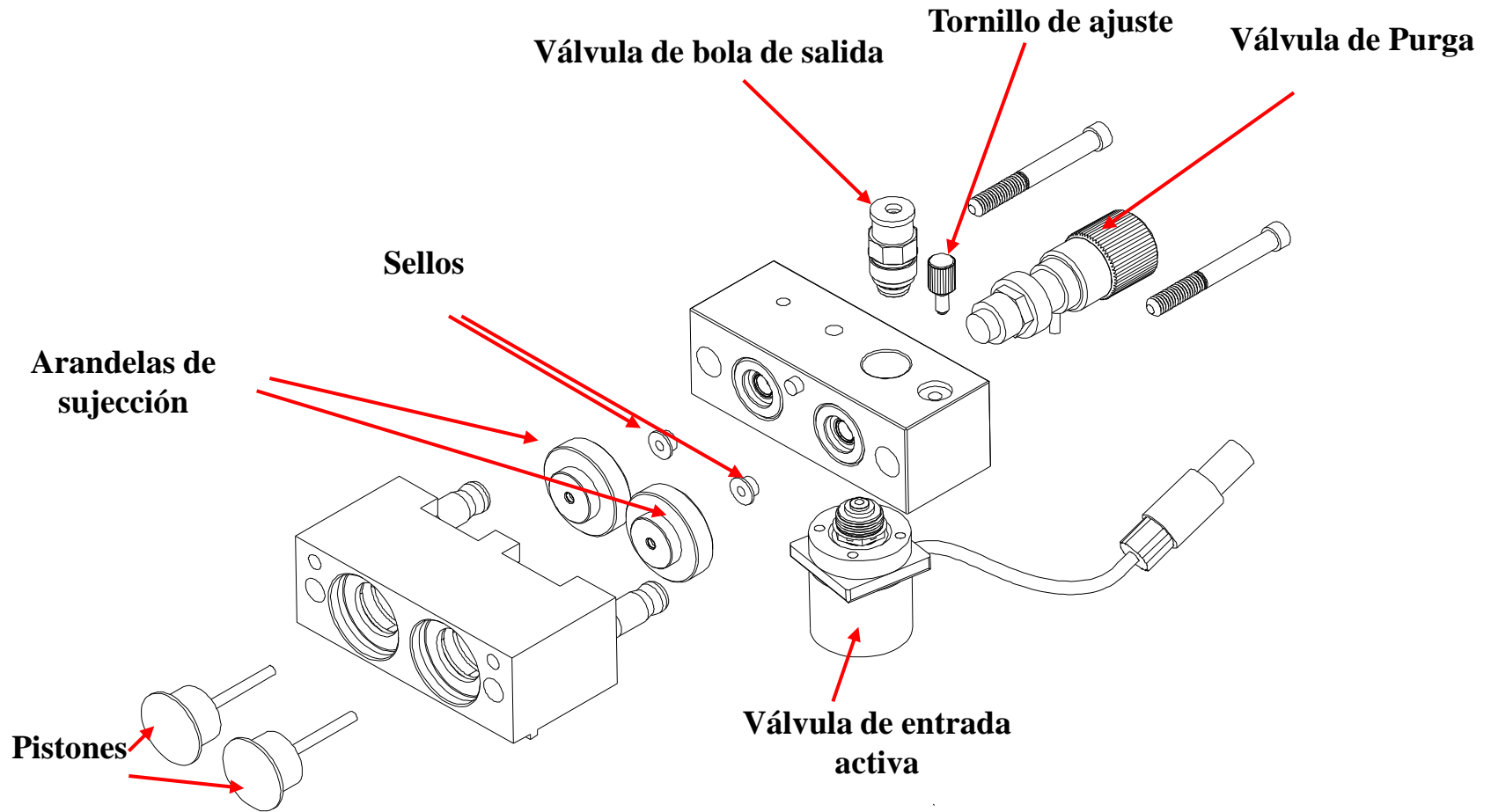
Bomba Binaria Estándar



Cabezal de la Bomba-Principales Componentes



Cabezal Estándar de la Bomba– Vista Detallada



Consejo #5 –Mantenimiento de rutina de la bomba

1. Quite y desmonte el cabezal de la bomba
2. Quite y limpie los pistones.
3. Reemplace los sellos de los pistones.
4. Si estuviera instalada la opción del lavado de sellos, reemplace sellos y juntas.
5. Revise los muelles.
6. Ensamble el cabezal y reinstalelo.
7. Siga el procedimiento de ajuste de sellos.
8. Reemplace el filtro PTFE en la válvula de purga.
9. Limpie o reemplace la válvula de bola de salida.
10. Reemplace el cartucho de la AIV.
11. Limpie con isopropanol.
12. Limpie o reemplace los filtros de entrada de disolvente.
13. Limpie el sensor de fugas.
14. Asegúrese de que el tubo de desechos está en su sitio.
15. Pruebe la bomba (Tests de Presión y fugas).

- Cubierto por Contrato PM anual de Agilent-



Consumibles comunes para el Mantenimiento de la bomba:

Filtro PTFE para válvula de purga (pak 5)	01018-22707
Cartucho para válvula de entrada activa (400bar)	5062-8562 -- (para 600 bar: G1312-60020)
Válvula de bola de salida	G1311-60012
Sello de oro para válv. de purga/valv. De bola	5001-3707
Tapones valv. purga/valv. Bola (pk 4)	5062-2485
Tamices valv. Bola bomba binaria (pk 10)	5063-6505
Pistón de zafiro	5063-6586
Sellos, Fase Reversa (pk 2) , <u>estándar</u>	5063-6589
Sellos, <u>Fase Normal</u> (por ej. Hexano) (pk 2)	0905-1420—sellos de Polietileno con rango P de 0-200bar
Filtro de entrada de solvente(vidrio)	5041-2168
<u>Opción de lavado de sellos:</u>	
Sello (pk 1)	0905-1175
Juntas (pk 6)	5062-2484
<u>Herramientas:</u>	
Pinzas	-----
Llave, 14 mm, plana	8710-1924
Llave, 1/4 - 5/16 pulgada	8710-0510
Llave hexagonal, 4 mm, T-handle	8710-2392
Llave hexagonal, 3 mm (12 cm larga)	8710-2411
Herramienta de inserción de sello	01018-23702
Capilar de restricción	5022-2159
Lubricante del cabezal de la bomba	79841-65501



Las válvulas de purga incluyen un sello de oro que se mantiene en su sitio gracias a una tapa de plástico. Aquí pueden producirse pequeñas fugas, por tanto deberá sustituir el sello de oro después de haber retirado la válvula más de una o dos veces. Al sustituir la frita, asegúrese de que el lado del corte está hacia arriba.

La válvula de salida debe cambiarse cuando presente fugas internas. En general, si la fluctuación de la presión es inestable, deberá realizar un test de fugas para confirmar si la válvula debe sustituirse.

El Cartucho de la Val. Activa también se cambiará cuando la fluctuación de la presión sea inestable y al hacer un test de fugas se confirme que existe un problema en ésta a causa de una fuga interna.

Los sellos de la bomba deben sustituirse cuando haya fugas en la parte inferior de la cabeza de la bomba, cuando los tiempos de retención no sean coherentes o cuando la fluctuación de la presión sea inestable.

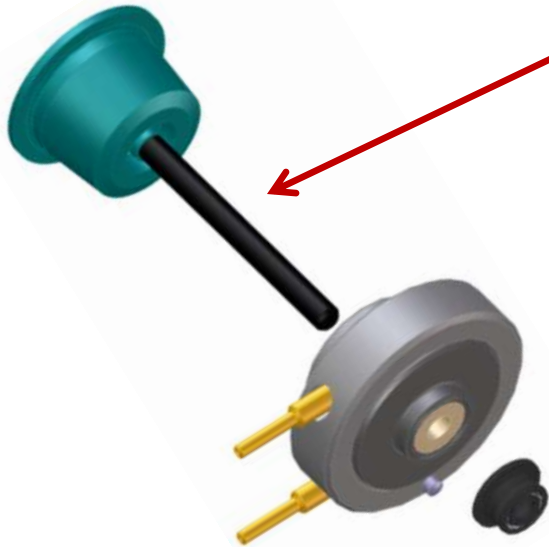
Cada vez que cambie los sellos, revise posibles rasguños en los pistones, que podrían causar fugas. Para ello mirar q no están rayados y limpiarlos con alcohol.

Después, haremos el acondicionamiento de los sellos (sólo estándar, no los de fase normal), limpiando con isopropanol a una Presión de 350 bar, a flujo cte. durante 15 min. Aprox.



Bombas UHPLC 1290 Infinity

Robustez y alta capacidad de disipación de calor



Nuevo material del pistón: SSiC* (Carburo de silicio sintético). Proporciona Mejor Conductividad térmica y menor fricción para menor desgaste.

Permite una óptima disipación de calor

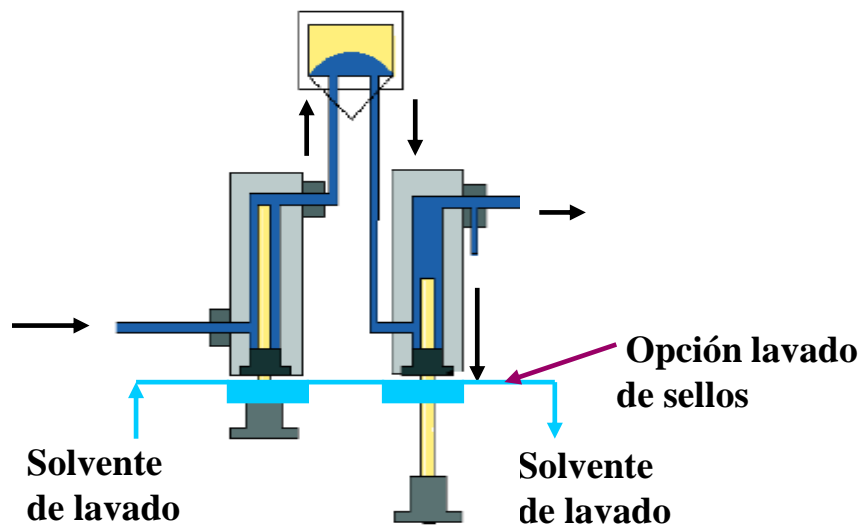
- Mayor presión x flujo (1200bar at 2 ml/min)
- Alarga el tiempo de vida de los sellos/ intervalos de mantenimiento (>150L)
- Un solo sello para fase normal y reversa

SSiC*: Material cerámico de alta dureza formado por Carburo de Silicio sintético.

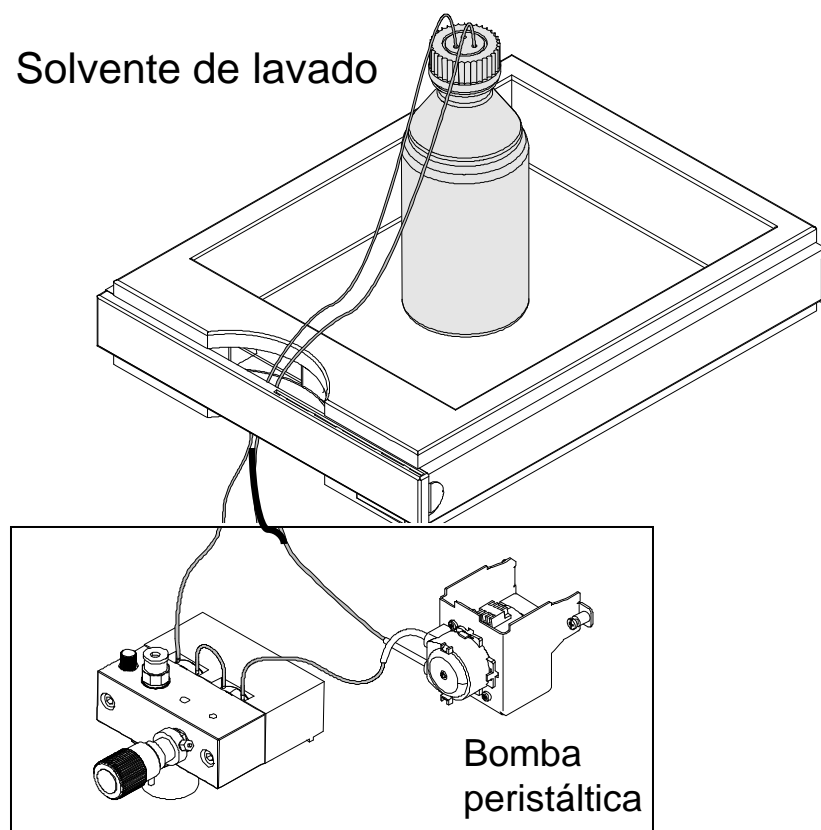
Volumen Embolada variable (patentado) → menor desgaste y mejores prestaciones. (1050-1100-1200-1260-1290)



Opción del lavado de los sellos— ¿tiene su bomba esta opción?



Solvente de lavado



Cabezal de la bomba

- **Recomendado cuando se usen tampones o soluciones salinas de conc. > 0.1M.**
- **Evita el excesivo desgaste de pistones y sellos, limpiando su cara posterior con un disolvente (agua/IPA (90/10), y eliminando posible cristales de tampón en el sello.**
- **Se recomienda 10% de isopropanol como disv. de lavado de los sellos, pq inhibe el crecimiento de bacterias en la botella de lavado.**

Algunos problemas más frecuentes en la bomba y su solución

Sintoma	Causa	Solución
Goteo de disolvente en la salida de residuos cuando la válvula está cerrada	Fuga en la cabeza de la bomba	Sustituya la frita de la válvula de purga o la válvula de purga
Fluctuaciones de presión inestables	Cartucho de la válvula de entrada activa sucio	Lleve a cabo una prueba de fugas y sustituya el cartucho de la válvula de entrada activa
Fluctuaciones de presión inestables	Fuga en la cabeza de la bomba	Lleve a cabo una prueba de fugas y sustituya el tamiz de la válvula de bola de salida o la válvula completa
Problemas de rendimiento del gradiente, fluctuaciones de presión intermitentes	Filtro de disolvente bloqueado	Cambie el filtro de disolvente
Una caída de presión de > 10 bares a través de la frita (5 ml/min de H ₂ O con la válvula de purga abierta) indica un bloqueo	Frita sucia	Sustituya la frita de la válvula de purga o la válvula de purga
Fugas en el lado inferior de la cabeza de la bomba Tiempo de retención inestable Fluctuaciones de presión inestables	Alto desgaste de sellos	Lleve a cabo una prueba de fugas y sustituya los sellos de la bomba
Duración del sello inferior a la normalmente esperada	Arañazos en el émbolo	Compruebe los émbolos mientras cambia los sellos
Pérdida de disolvente de lavado	Sellos de lavado con fugas	Sustituya los sellos de lavado



Partes del HPLC de Mantenimiento más común: Partes móviles y consumibles asociados.



Bomba

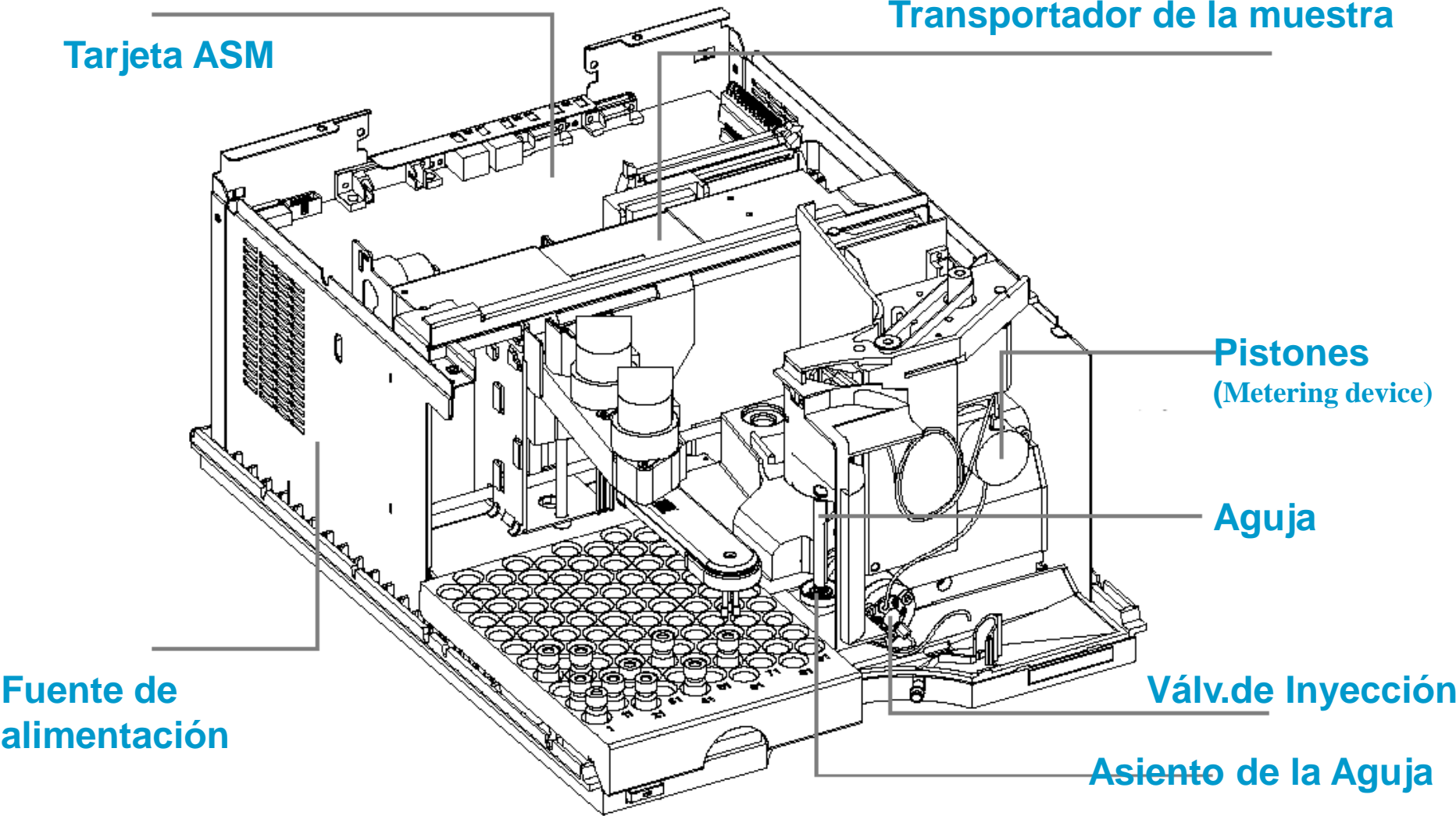
Automuestreador



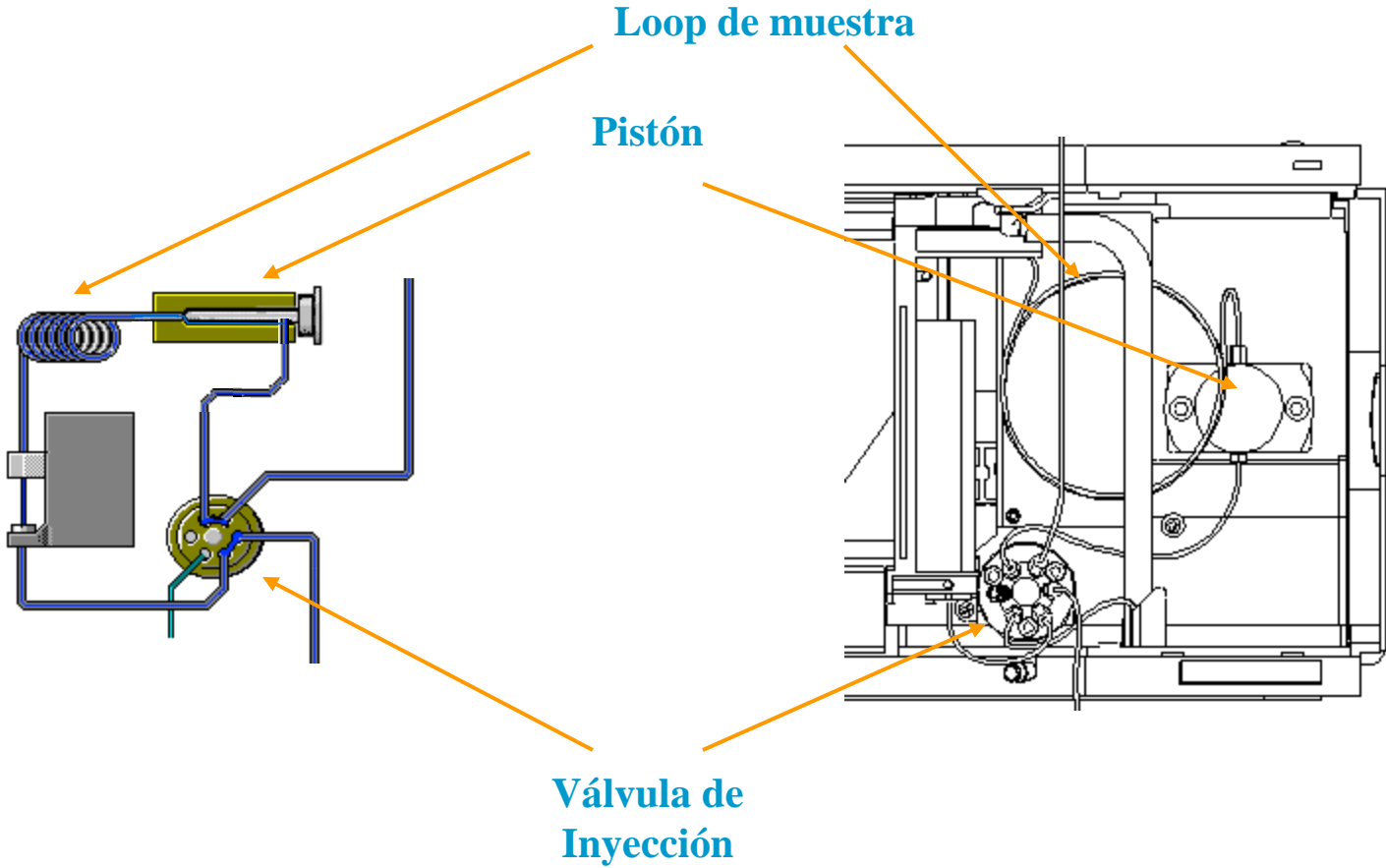
Detector UV



Automuestreador Estándar (G1329A/B, solo viales)



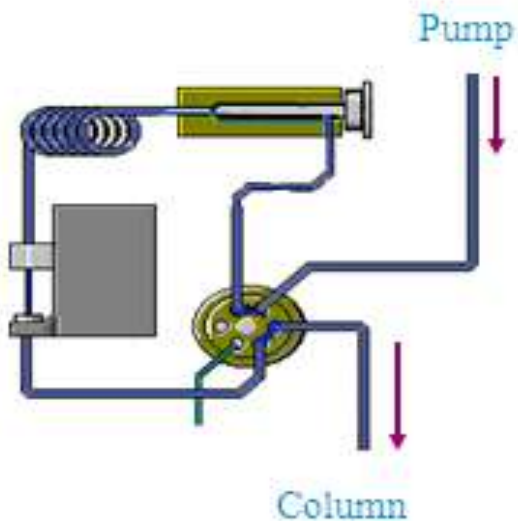
Esquema del Sistema de Inyección



Principio de operación

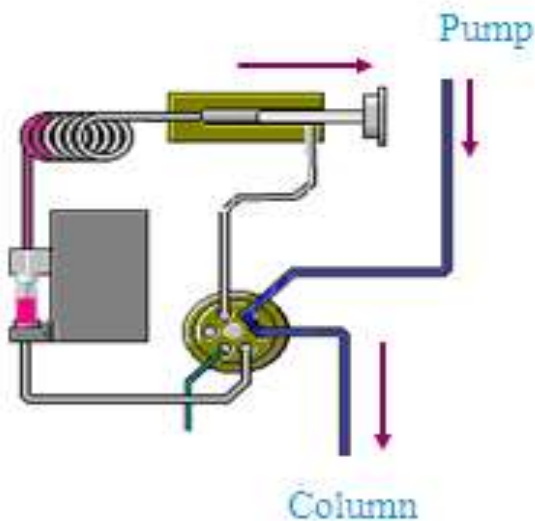
El flujo continuo por el inyector hace q piezas como loop, interior de aguja, asiento y paso principal estén limpios, evitando contaminación.

Pero la parte externa de la aguja puede arrastrar contaminantes. Así la podemos lavar poniendo un Vial Sin Tapón (para no dejar restos en el septum), y con un solvente adecuado (en el q los componentes de la muestra sean solubles), y programando en el software el lavado automático de la aguja: ésta se mueve al vial de lavado después de recoger la muestra, se sumerge en éste limpiando el exterior y luego inyecta.



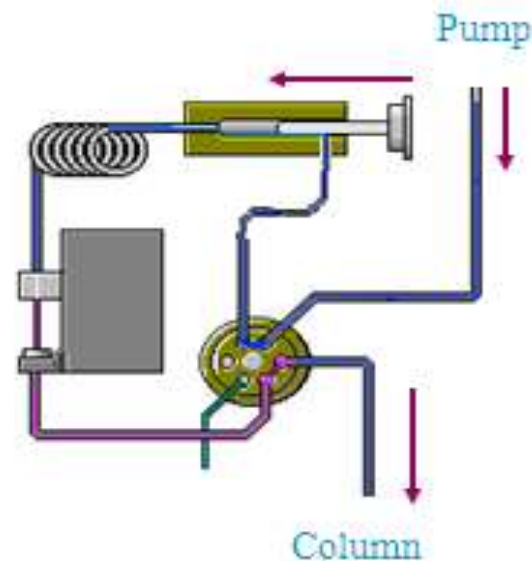
Antes de la Inyección

Válvula en posición Mainpass



Toma de Muestra

Válvula en Posición Bypass

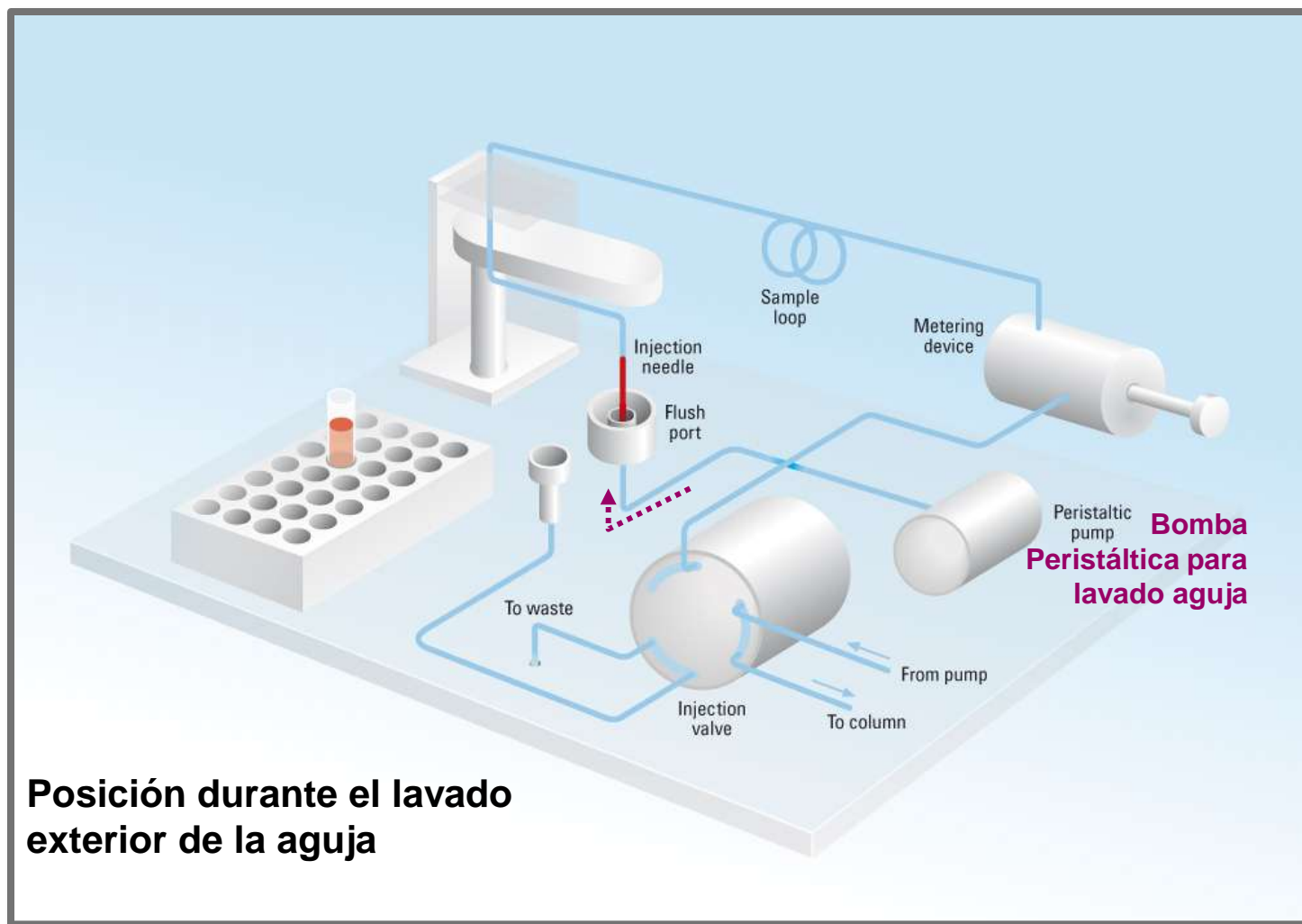


Inyección y Analisis

Válvula en posición Mainpass

1290 Infinity Autosampler

Limpieza del exterior de la aguja en el portal de lavado

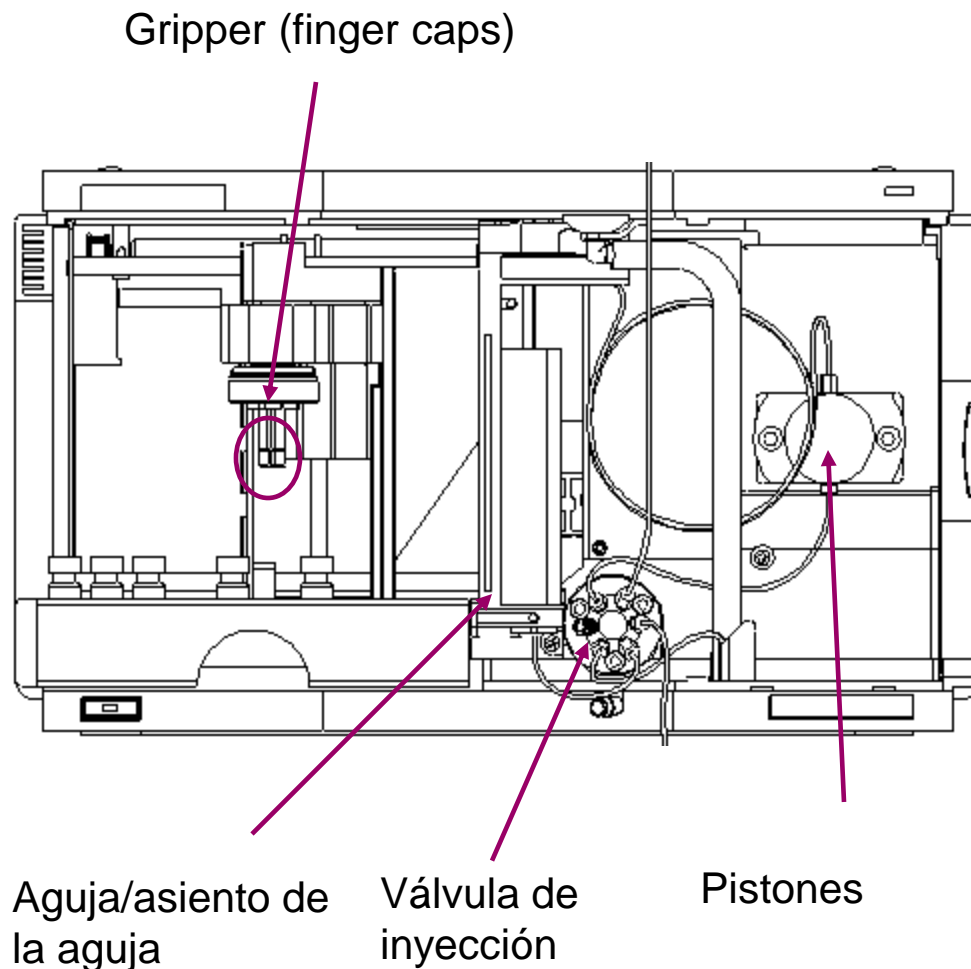


Consejo #6 – Descripción General del Mantenimiento del Automuestreador

- Reemplace el sello del rotor de la válvula de inyección.

LA PRESENCIA DE PICOS DOBLES PUEDE INDICAR Q LLEGÓ EL MOMENTO DE SUBSTITUIR EL SELLO.

- Reemplace la aguja y el asiento de la aguja
- Revise y reemplace los finger caps si fuera necesario
- Reemplace el sello del pistón
- Limpie los rodillos de transporte
- Limpie el tubo de desechos
- Revise el sensor de fugas
- Realize test de presión



- Cubierto por Contrato PM anual de Agilent-

Consumibles de Mantenimiento y herramientas

Sello del Rotor, Vespel (pH= 2.3 - 9.5)	0100-1853 sello Rotor estándar
Sello del Rotor, Tefzel (pH <2.3 y pH> 9.5)	0100-1849
Aguja	G1313-87201
Asiento de la aguja	G1313-87101
Sello del pistón (fase reversa o estandard)	5063-6589
Finger caps (pack of 15)	5063-6506
Piston de zafiro, si necesario	5063-6586
Sello aislante, si necesario	0100-1852
Casete de la bomba Peristaltica	5065-4445 (hALS y hALS SL)
Llave ¼ pulgada	8710-0510
Llave hexagonal 9/64 pulgada	8710-2394
Llave hexagonal , 4 mm	8710-2392
Llave hexagonal, 2.5 mm	8710-2412
Rheotool (llave con abertura)	8710-2391



FUGAS EN EL INYECTOR

Las fugas entre puertos en una válvula de inyección, pueden detectarse por la presencia de una gota de fase móvil en la aguja cuando ésta se eleva para extraer muestra del vial. La primera indicación de una fuga entre puertos puede ser una baja precisión del Volumen de inyección, o también lo vemos en un test de Presión.

La aguja debe sustituirse cuando esté doblada o roma o presente rebabas.

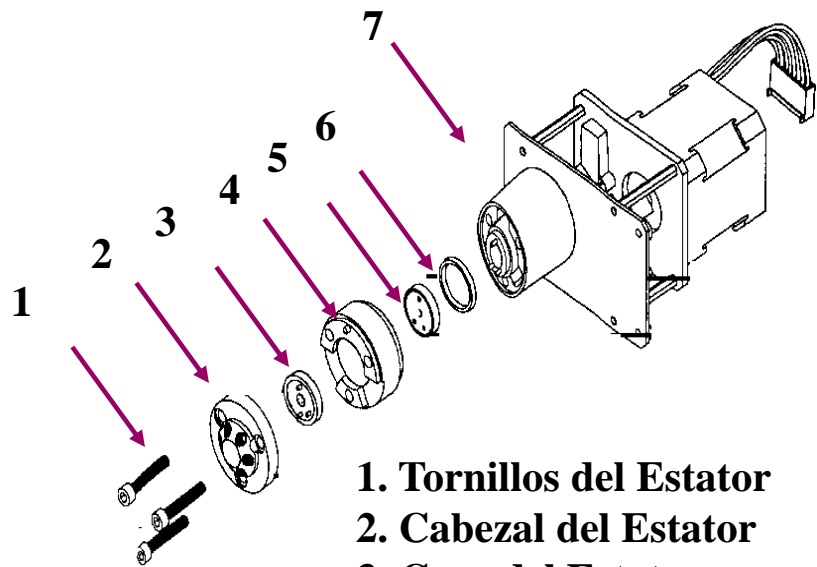
El asiento de la aguja debe sustituirse cuando presente fugas o bloqueos:

Las fugas se detectan porque se observa un rastro de cristales de tampón en el asiento de la aguja, que puede bloquearse si contiene partículas, pues es la primera restricción que experimenta la muestra. Si está obstruido el asiento, invertirlo para intentar vaciarlo.

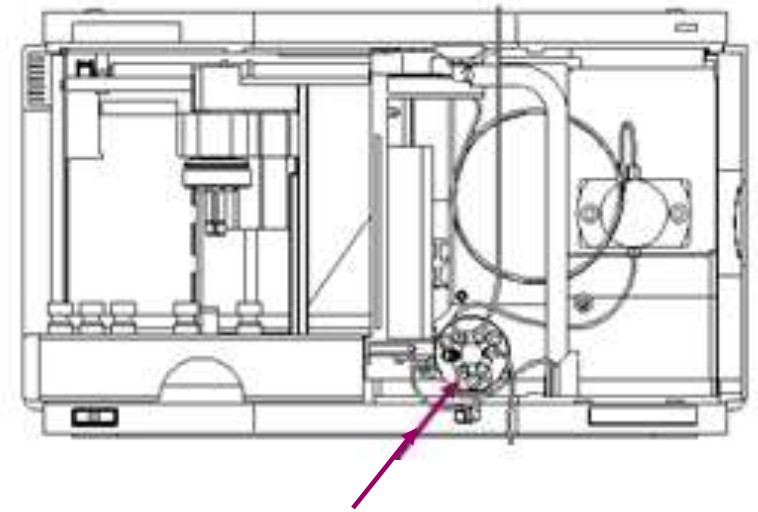
O



Montaje de la Válvula de Inyección



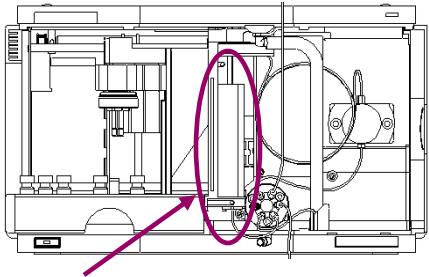
1. Tornillos del Estator
2. Cabezal del Estator
3. Cara del Estator
4. Arandela del Estator
5. Sello del Rotor(Vespel or Tefzel)
6. Sello de Aislamiento
7. Cuerpo de la Válvula



Válvula de Inyección



Cambiando la aguja/Asiento de la aguja – Automuestreador Estándar G1329A/B.



Aguja/Asiento de la aguja

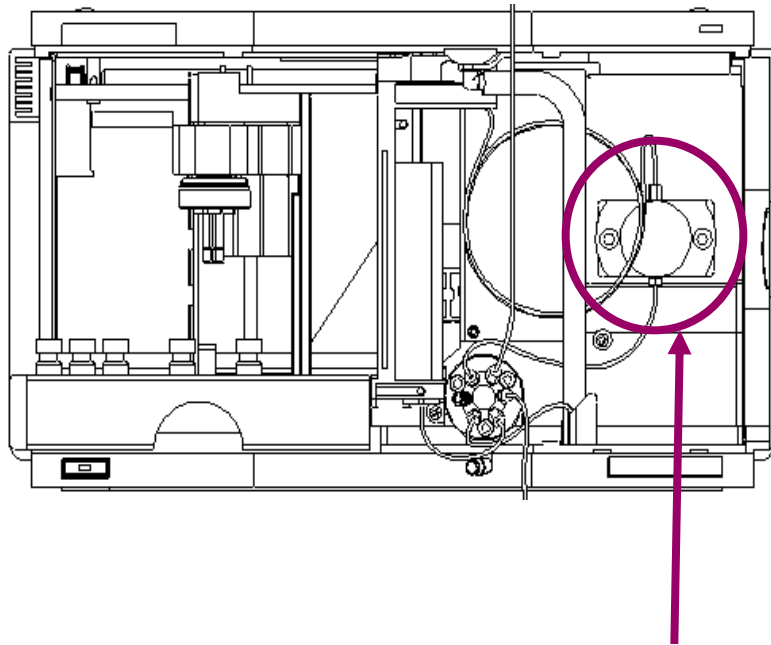


Herramientas:

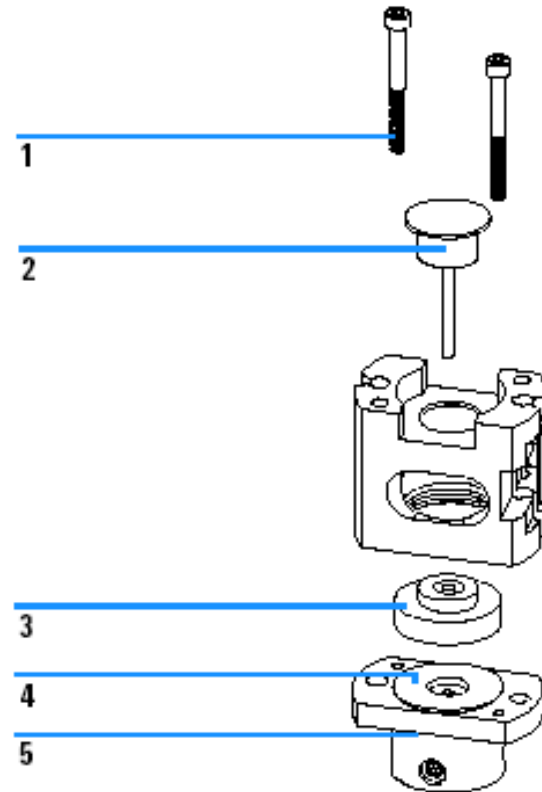
Llave 1/4 pulgada

Llave Hexagonal 2.5 mm

Mantenimiento de los pistones



Metering device



1. Tornillos
2. Pistón (émbolo)
3. Anillo del soporte del sello
4. Sello
5. Cuerpo del cabezal



Consejo #7 – añade un filtro En-linea para proteger la columna LC

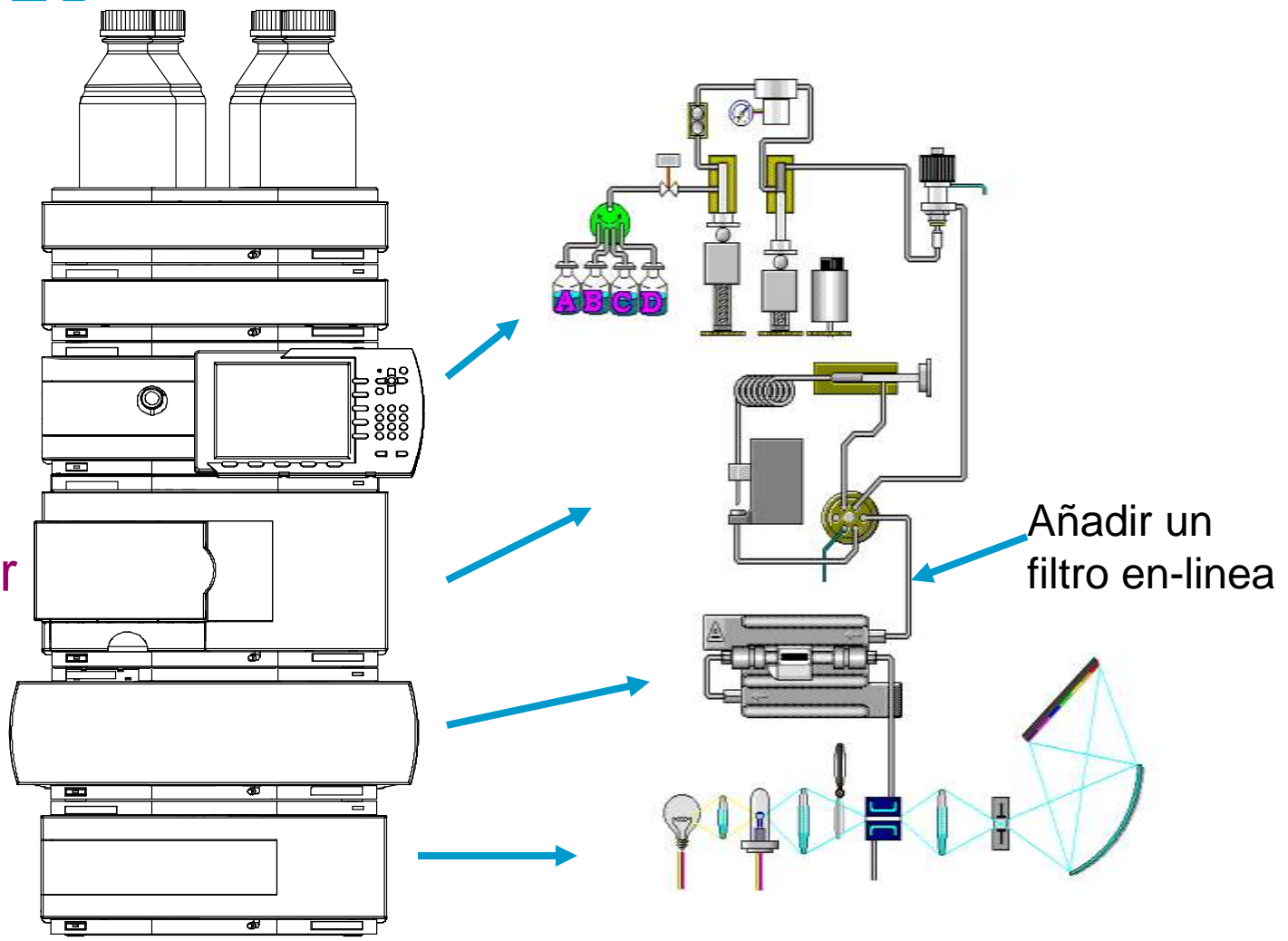
Desgasificador de vacío

Bomba

Automuestreador

Horno

Detector



Añadir un filtro en-linea

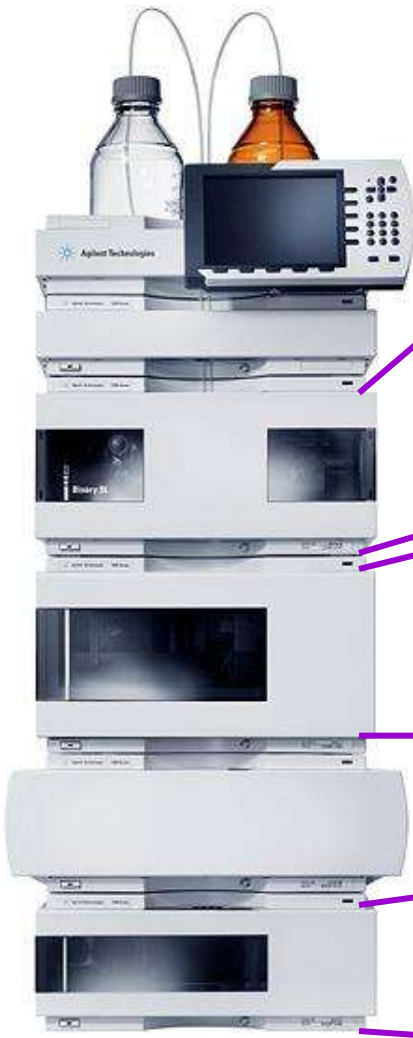
Filtros en línea, para proteger su columna



Descripción	Porosidad de la frita (µm)	D.I. de la frita de entrada (mm)	Conexión	Referencia	Fritas de repuesto
Filtro en línea para RRLC Filtro de tamaño de poro de 0,2 µm, 4,6 mm, capilar de conexión, máx. 600 bares	0,2	4,6	máx. 600 bares	5067-1553	5067-1562, 10/paq.
Filtro en línea para RRLC Filtro de tamaño de poro de 0,2 µm, 2,1 mm, capilar de conexión, máx. 600 bares	0,2	2,1	máx. 600 bares	5067-1551	5067-1555, 10/paq.
Filtro en línea de baja dispersión Incluye dos fritas, de 2,1 mm, 2 µm de tamaño de poro, soporte de filtro con insertos, capilar de conexión de 60 x 0,12 mm	2 0,5	2,1	<1 ml/min	01090-68702	280959-904, 10/paq. 280959-907, 10/paq.
Filtro en línea universal Incluye dos fritas, de 4,8 mm, 2 µm de tamaño de poro, soporte de filtro con insertos, capilar de conexión de 130 x 0,25 mm	2	4,8	1-5 ml/min	01090-68703	01090-27609, 2/paq.
Filtro semipreparativo	0,5	12,7	1-5 ml/min	5064-8273	5022-2185
Filtro para semipreparativa de alta presión	10	19	5-10 ml/min	5022-2165	5022-2166, 10/paq.
Filtro preparativo	10		10-100 ml/min	5065-4500	5065-9901 Cartucho de vidrio de repuesto
Filtro en línea para G1311A	Recomendado cuando se utilizan concentraciones altas de sal			G1311-60006	
1290 Infinity inline Filter (0.3 µm)	0,3	2,0	1200 bares	5067-4638	5023-0271, 5/paq.



Partes del HPLC de Mantenimiento más común: Partes móviles y consumibles asociados.



Bomba

Automuestrador

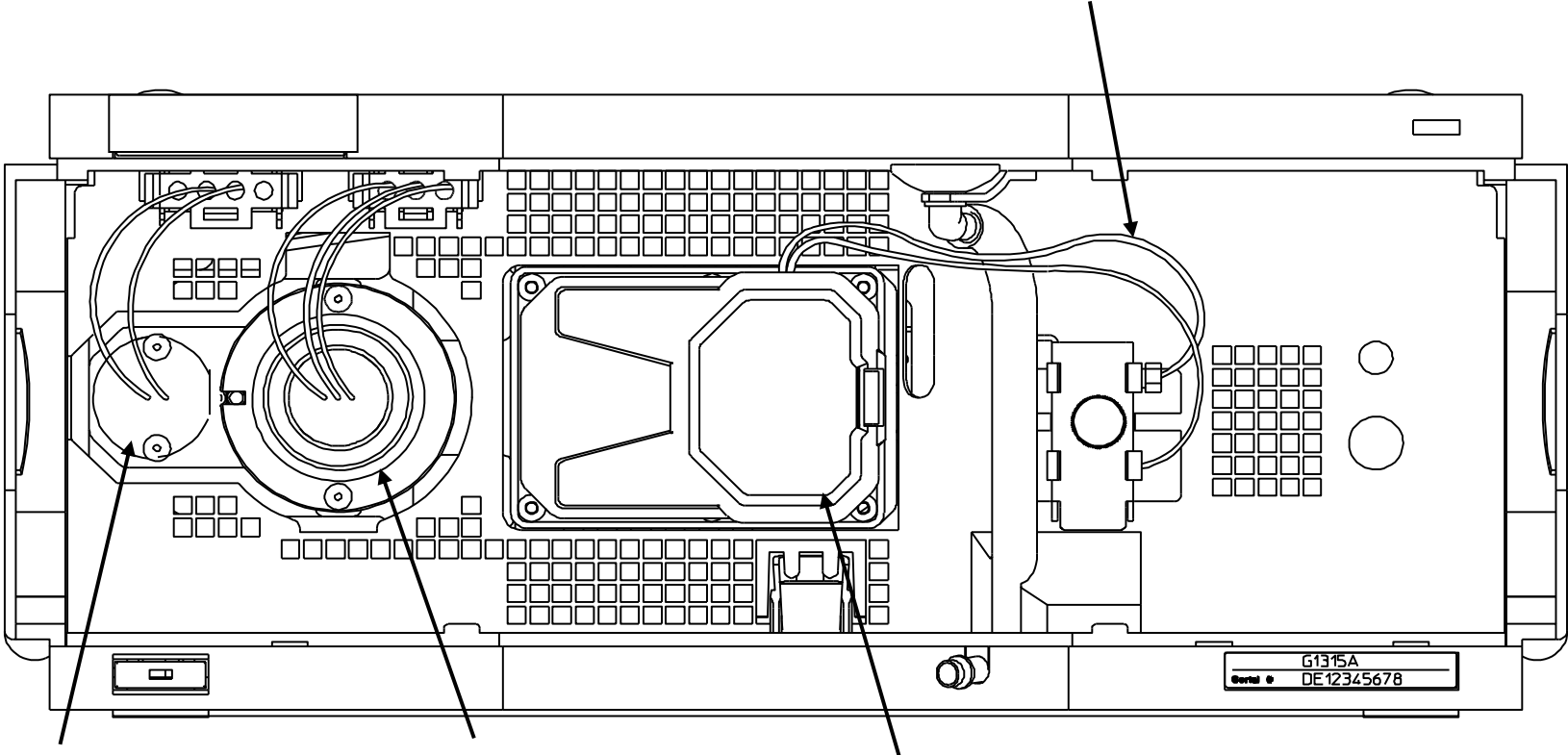


Detector UV



Vista Frontal del MWD o DAD 1200 Infinity

El capilar de entrada puede ser unido directamente a la columna.



Lámpara de Tungsteno

Lámpara de Deuterio

Celda del Detector



Consejo #8 – Procedimientos de Mantenimiento de Rutina– Detectores Uv DAD/MWD

- Limpie los sensores de fugas
- Revise el tubo de desechos
- Cambie la lámpara , si es necesario (ruido de la línea de base o deriva pasa los límites, o no se enciende)
- Limpie la celda de flujo ,si es necesario(test intensidad y test de celda lo indican)
- Calibración de la longitud onda
- Test del Óxido de Holmio(exactitud 1 a 3 valores)
- Test de Intensidad (Int.lámparas a rango 190-950)
- Test de Celda (Int. con y sin celda, suciedad)
- Test de Corriente Oscura (mide fuga de corriente de cada diodo óptico)
- Test de Filtro (comprueba mov.motor y Abs.filtro)



Tests de Diagnóstico disponibles
(realizarlos con agua dest.)

- Cubierto por Contrato PM anual de Agilent-

Reemplazando las lámparas de DAD/MWD



Paso 1: Retire la lámpara desatornillando ambos tornillos y desenchufándola.

Paso 2: Instale la lámpara en su alojamiento (auto-alineamiento) y aprete los tornillos.

Paso 3: Revise Calibración Long. De onda

Paso 4: Compruebe intensidad de la lámpara (para referencias futuras).

Recordar : poner contador a cero en EMF !!!!



Lámpara Deuterio (1000 hours): 2140-0590

Lámpara de Deuterio Larga duración (2000 hours): 2140-0820*

*incluye RFID tag leído por módulos SL



Lámpara Wolframio G1103-60001

Celdas de Flujo Disponibles– DAD y MWD

Específica según aplicación.

Nombre	Volumen	Paso de Luz	Presión Máx	Part Number
Estándar(*)	13 µL	10 mm	120 bar	G1315-60022
Semi-Micro (*)	5 µL	6 mm	120 bar	G1315-60025
Micro (*)	2 µL	3 mm	120 bar	G1315-60024
Semi-Nano	500 nL	10 mm	50 bar	G1315-68724
Nano	80 nL	6 mm	50 bar	G1315-68716
Preparativa	--	3 mm	120 bar	G1315-60016
Preparativa	--	0.3 mm	20 bar	G1315-60017
Preparativa	--	0.06 mm	20 bar	G1315-60018
Max Light	1.0 µL	10 mm	60 bar	G4212-60008
Max Light	4.0 µL	60 mm	60 bar	G4212-60007

(*)equipadas con RFID tags



Consejo # 9: Cuidado de las Celdas de Flujo del Detector

- ✓ Evite el uso de soluciones alcalinas con $\text{pH} > 9.5$ que pueden atacar el cuarzo y perjudicar el rendimiento óptico.
- ✓ Impida la cristalización de tampones o sales que bloquearán y dañarán la celda.
- ✓ Los solventes acuosos permiten el crecimiento de algas.

No deje 100% de agua en la celda. Cuando deje el HPLC sin funcionar, bombee fase móvil con al menos 5-10% de solvente orgánico (por ejemplo: acetonitrilo o metanol).

Si va a estar largo tiempo sin usar la celda de flujo del 1290 Infinity, dejarla con Isopropanol.

- ✓ Respete los límites de presión de las celdas de flujo. Tenga cuidado al utilizar detectores en serie o colectores de fracciones..

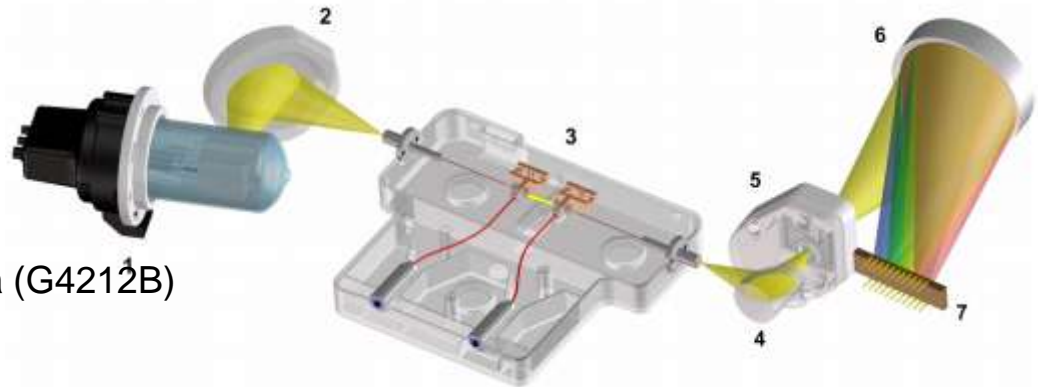


Detector de Diodos 1200 Infinity: G4212A (1290 Infinity) y G4212B (1260 Infinity)

El detector está diseñado para obtener el máximo rendimiento óptico, cumplir las normas GLP y facilitar el mantenimiento. Incluye las siguientes características:

- Una velocidad de adquisición de datos máxima de 160 Hz (G4212A) o 80 Hz (G4212B).
- Una sensibilidad superior destinada a la cromatografía líquida convencional, así como aplicaciones ultrarrápidas gracias a un diseño óptico de nueva generación.
- Una mejor sensibilidad con una celda de flujo de cartucho Max-Light de 60 mm y la estándar de 10mm.
- **fácil sustitución de la celda de flujo por el diseño del cartucho.**
- Etc...

- 1 Lámpara UV
- 2 Espejo de lámpara
- 3 Celda de flujo
- 4 Espejo plegado
- 5 Rendija programable (G4212A) o fija (G4212B)
- 6 Red de difracción
- 7 Matriz




Algunos problemas más frecuentes en el detector y su solución

Sintoma	Qué hacer	Información adicional
La lámpara no se enciende	Cambie la lámpara	Tras cambiar la lámpara, realice una prueba de calibración de la longitud de onda y una prueba de intensidad
El ruido supera los límites aceptables para la aplicación	Cambie la celda de flujo	Tras cambiar la celda de flujo, realice una prueba de calibración de la longitud de onda
La deriva supera los límites aceptables para la aplicación	Cambie la lámpara	Tras cambiar la celda de flujo, realice una prueba de calibración de la longitud de onda y una prueba de hermeticidad a presión
Fugas en la celda de flujo (Para G4212 únicamente)	Cambie la celda de flujo	Tras cambiar la celda de flujo, realice una prueba de calibración de la longitud de onda
Fugas en la celda de flujo (Para todos los detectores G1314/G1315/G1365)	Limpie o cambie la celda de flujo	Tras cambiar la celda de flujo, realice una prueba de calibración de la longitud de onda y una prueba de hermeticidad a presión
Intensidad reducida (Para G4212 únicamente)	Cambie la celda de flujo	Tras cambiar la celda de flujo, realice una prueba de calibración de la longitud de onda
Intensidad reducida (Para todos los detectores G1314/G1315/G1365)	Limpie o cambie la celda de flujo	Tras cambiar la celda de flujo, realice una prueba de calibración de la longitud de onda y una prueba de hermeticidad a presión



Resumen – Mantenimiento 1100/1200 Infinity

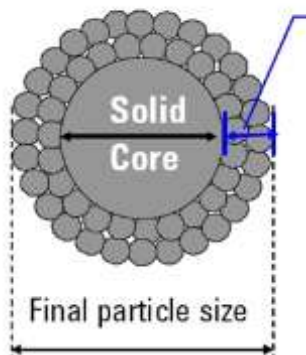
Entrada de Solvente	Bomba	Automuestreador	Detector
<p>Limpiar o Cambiar:</p> <p>Filtro de Entrada de Solvente</p>	<p>Cambiar:</p> <p>Filtro PTFE</p> <p>Sellos bomba</p> <p>Valv. Bola Salida</p> <p>Cartucho AIV</p> <p>Sellos opc.lavado</p>	<p>Cambiar:</p> <p>*Aguja</p> <p>*Asiento aguja</p> <p>Sello del Rotor</p> <p>Comprobar:</p> <p>Sensor de fugas</p> <p>Tubo Drenaje</p>	<p>Cambiar:</p> <p>*Lámpara</p> <p>*Ventana de la Celda</p> <p>Limpiar:</p> <p>Celda de flujo</p> <p>Comprobar:</p> <p>Sensor de fugas</p> <p>Tubo Drenaje</p>
<p>Compartimento de columnas</p> <p>Cambie sello del Rotor (Válvula de columnas)</p> <p>Comprobar:</p> <p>Sensor de fugas</p> <p>Tubo de Drenaje</p>	<p>Limpiar:</p> <p>Pistones</p> <p>Arandela Sujecc.</p> <p>Comprobar:</p> <p>Muelles pistones</p> <p>Sensor fugas</p> <p>Tubo drenaje</p>	<p>* ... Si es necesario</p>	<p>Tests </p>



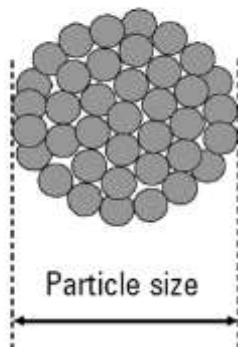
Consejo # 10: columnas

Tipo de Columna: Superficial o Totalmente Porosas

Poroshell Particle



Totally Porous Particle



Superficial

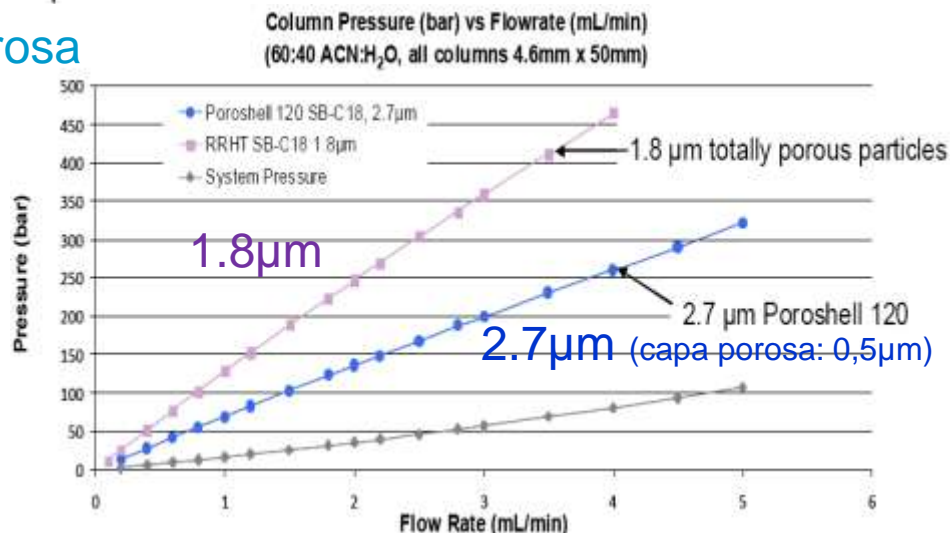
Totalmente Porosa

Ventajas Poroshell 120:

- Tamaño partícula de 2.7µm.
- permiten muy elevadas velocidades lineales con elevada resolución y menor presión. Reducen la P en un 40-50%.
- Su mayor permeabilidad le permite trabajar a flujos más elevados → mejora capacidad de separación en gradientes

Ventajas Totalmente Porosas o Zorbax:

- Mayor surtido de fases.
- tamaño de partículade 1.8,3.5 y 5 µm.
- Reducen la P en un 20-30%



Poroshell-120 reduce 40-50% de presión con similar resolución

Problemas de Presión

Sintomas de la columna

Posibles causas

Alta Presión



- Frita obstruida
- Contaminación de la columna
- Obstrucción en el empaquetamiento

Baja presión



- Fuga
- Flujo incorrecto



Determinación de la causa y Corrección de una Alta Presión

- Comprobar la presión :
 - con y sin precolumna → cambiar cartucho precolumna
 - con y sin columna → invertir flujo, lavar columna...

Técnicas de Prevención- La mejor elección

- Usar protección de la columna
 - Filtros en línea
 - Salva columnas
- Filtrar las muestras
- Filtrar fases móviles tamponadas

Consejo # 11 – No olvide el Sistema de Datos Manteniendo la ChemStation

Borre los ficheros temporales usando la utilidad 'Disk Cleanup'.

Use la utilidad 'Check Disk' para buscar y reparar errores en el disco.

Defragmente el disco duro.
Use protección AntiVirus



Haga back-up de datos, métodos, secuencias, librerías personalizadas de UV, formatos personalizados de reports, etc.

Haga una copia del fichero bootptab , de los parámetros del Configuration Editor , y los números de licencia de la ChemStation.



Consejo # 12. La Ventaja del Servicio de Agilent

Solo con Agilent...

Garantía del Servicio de Agilent —la más amplia variedad de servicios de la industria

Ingenieros de Mantenimiento Altamente Cualificados que resuelven más del 85% de las llamadas en la primera visita

Red de Logística Global con un 96% de envío 'on-time' de piezas de repuesto

Tecnología de Soporte Proactiva Remota que maximiza el tiempo de actividad de sus equipos.

Nombrado #1 en Conformidad con >100,000 calificaciones satisfactorias a nivel mundial

Garantizadas OQ incluidas con los planes 'Advantage Silver' y 'Gold' que hace confiar en el éxito de su calificación.



98% Satisfacción de Clientes con los Ingenieros de Mantenimiento de Agilent



Agilent Remote Advisor

Disponible como parte de su Servicio 'Agilent Advantage' y contratos de mantenimiento:

Agilent Remote Advisor- Asistir

Haga una llamada de mantenimiento con un click del ratón y acceda a los expertos de Agilent para obtener ayuda profesional en la resolución de problemas y diagnósticos

Agilent Remote Advisor- Reportar

Haga el seguimiento de las operaciones de su instrumento con un sistema de reporting que incluye la información de su configuración , disponibilidad y uso del instrumento , así como estatus en tiempo real de la cualificación y mantenimiento del instrumento.



Agilent Remote Advisor – Alertar

Cree mensajes SMS or alertas de email, para ser notificado cuando se alcancen los humbrales de mantenimiento o cuando su sistema se apague—protegiendo su rendimiento y productividad



UHPLC

1200 Infinity Series

1. Fundamentos de la UHPLC:

- Ecuación de Van Deemter

2. Conclusiones.



Agilent 1200 Infinity Series

Infinitely better



1220
Infinity LC

1260
Infinity LC

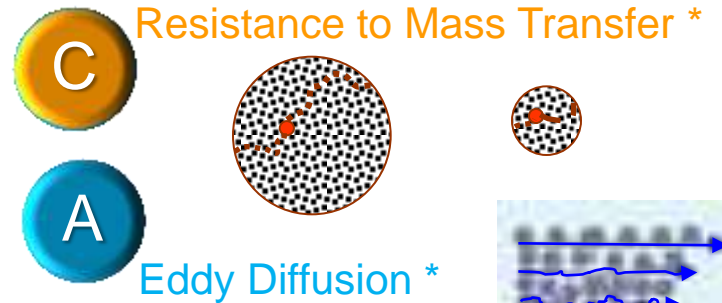
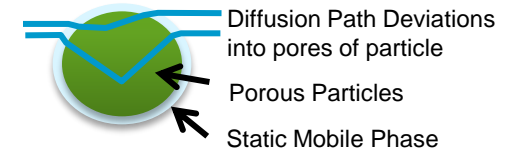
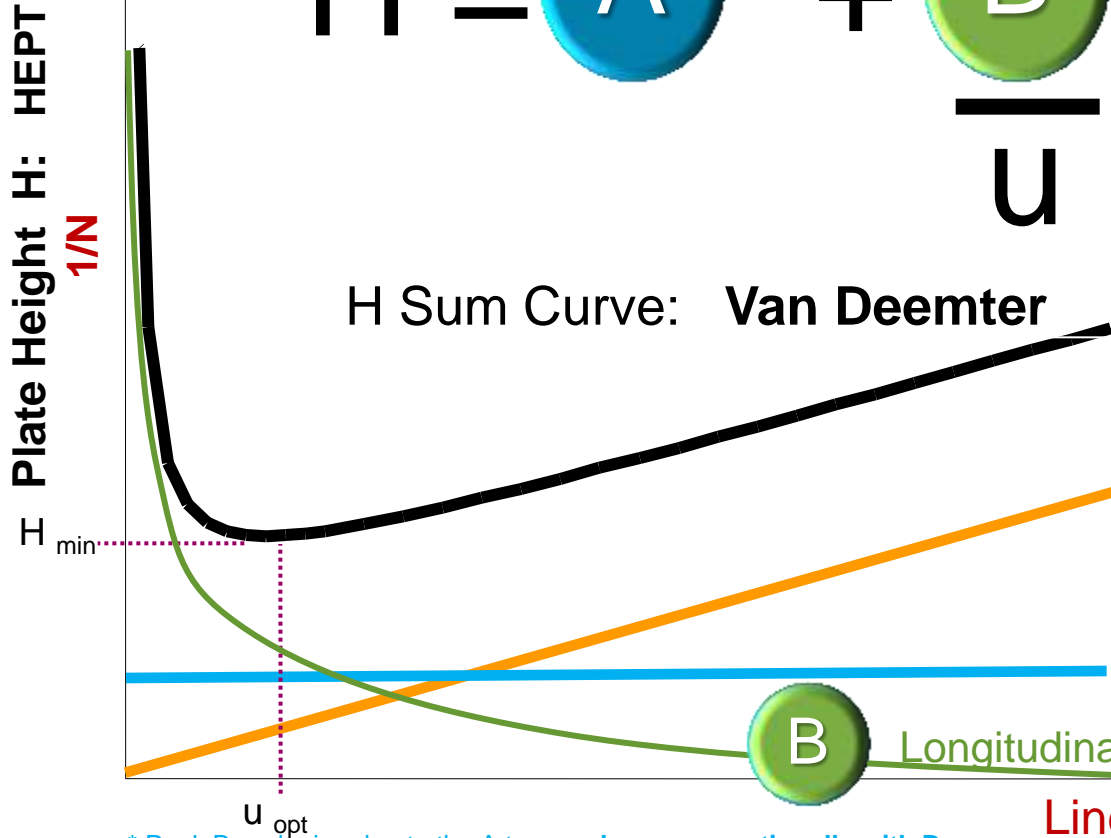
1290
Infinity LC

The advertisement graphic features a large orange and white curved background. At the top left is a white starburst logo. Below it, the text 'Agilent 1200 Infinity Series' is written in a sans-serif font. The main headline 'Infinitely better' is in a larger, bold font, with 'better' in blue. Below the headline are three images of the 1200 Infinity LC models, each with its model number and 'Infinity LC' label underneath. The models are shown from a front-three-quarter view, highlighting their compact and modular design.

Optimización del Flujo de Fase Móvil. Ecuación

Van Deemter: Inverso Eficacia " vs " Flujo

$$H = A + \frac{B}{u} + C u$$



* Peak Broadening due to the A term reduces proportionally with D_p

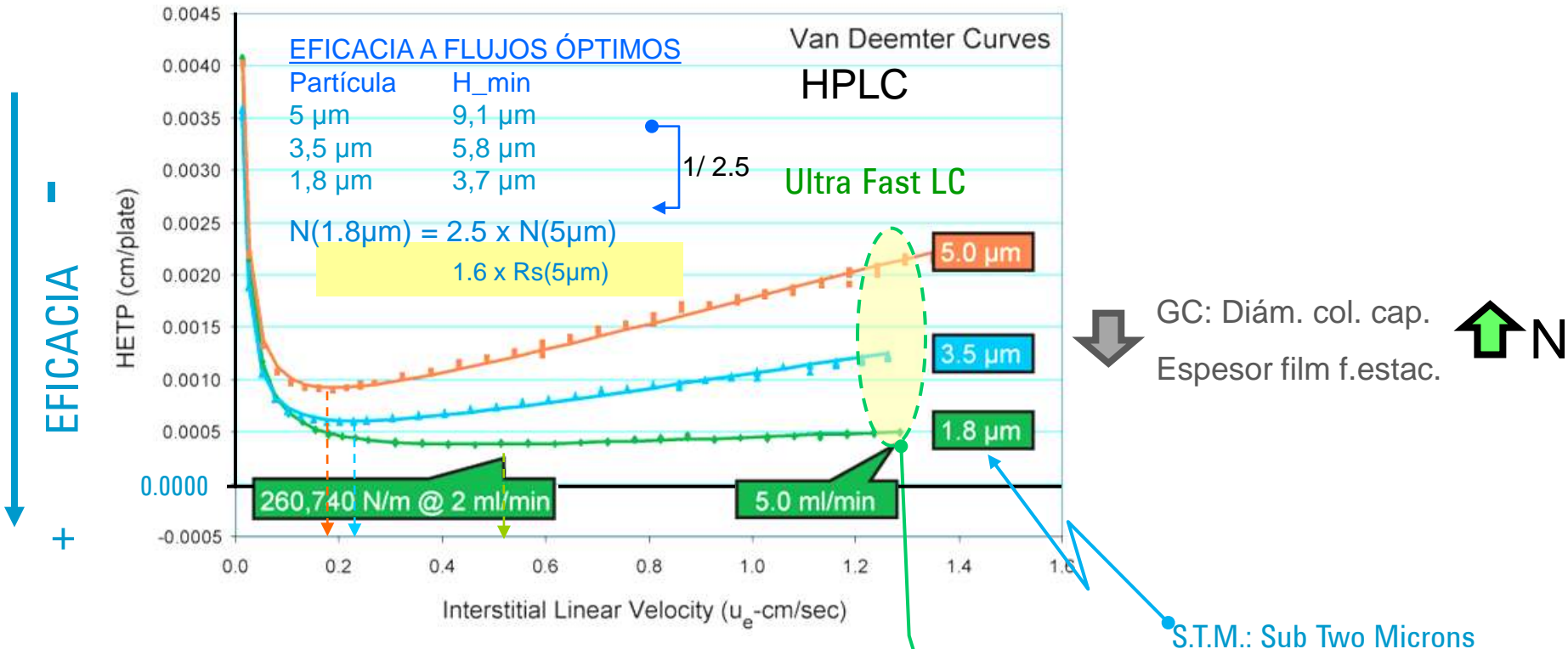
* Peak Broadening due to the B: at low velocity, time in mobile phase is longer, diffusion decreases N, increasing H. **More concentrated band of sample diffuses more rapidly** than a less concentrated band under the same conditions

* Peak Broadening due to the C term: 1.-at higher velocity, solutes undergo fewer transitions, N is smaller, H is larger
2.- reduces proportionally with D_p^2

Efecto en la Eficacia del Tamaño de Partícula.

HPLC vs UHPLC: Gráfico Van Deemter

/ Diámetro Columna & Espesor Film (GC)



Columnas: ZORBAX Eclipse XDB-C18
 Dimensiones: 4,6 x 50 mm (30 mm, 1,8 µm)
 Eluyente: 85:15 ACN: Agua
 Velocidades de flujo: 0,05 – 5,0 mL/min
 Temp: 20°C
 Muestra: 1,0 µL octanofenona en eluyente

HPLC: EFICACIA A FLUJOS ALTOS:
 Partículas 1,8 µm a 5ml/min* dan más eficacia
 $N(1.8\mu m) = 2.5 \times N(3.5\mu m) = 4 \times N(5\mu m)$

* 5ml/min con columnas 4.6mm - 1ml/min con columnas de 2.1mm D.I.

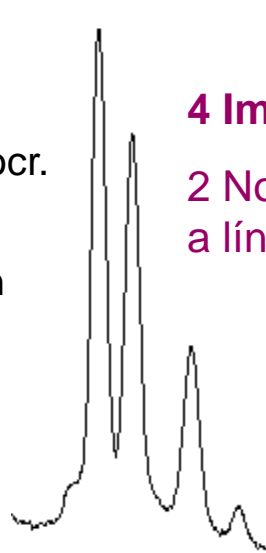
Ejemplo de Mejora de Resolución HPLC vs UHPLC con Columnas de 150mm x 1.8 μ m

Ejemplo con **muestra compleja**: hasta un 60% de Mejora en la Resolución

Ejemplo de un cliente
Método Impurezas Isocr.

Zoom zona crítica
rango tiempo @ 7min

HPLC



4 Impurezas
2 No Separadas
a línea de base

4.6 x 150, 5 μ m

93 bar

N = 7259

R_s = 1.15

S/N = 42

UHPLC



7 Impurezas
6 No Separadas
a línea de base

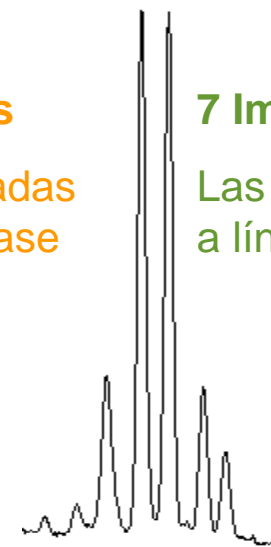
4.6 x 150, 3.5 μ m

165 bar

N = 14862

R_s = 1.37

S/N = 50



7 Impurezas
Las 7 Separadas
a línea de base

4.6 x 150, 1.8 μ m

490 bar

N = 28669

R_s = 1.80 (+ 57%)

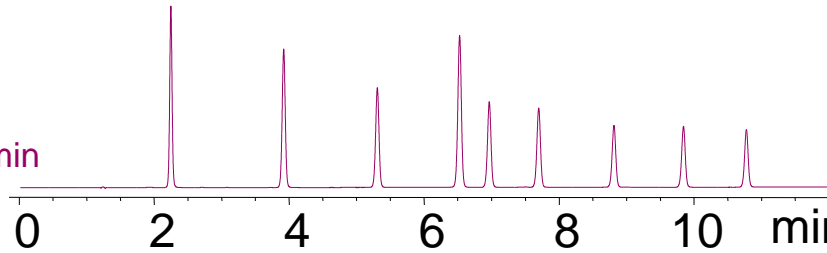
S/N = 44

Ejemplo de Mejora de Velocidad HPLC vs UHPLC

Agilent 1200-RRLC (600bars)

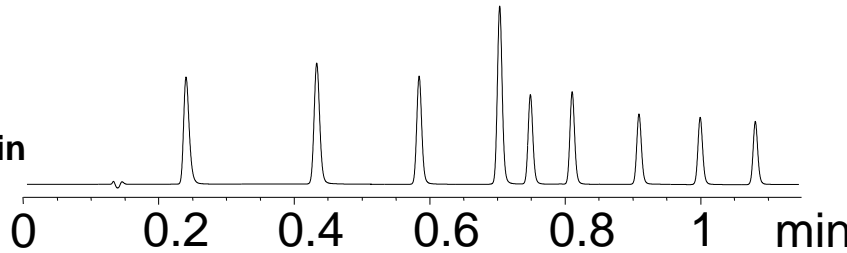
Hasta 20x más rápido que un HPLC. Manteniendo la resolución

4.6 x 150mm, 5µm
 1.20ml/min, 40°C
 Grad.: 35-95% en 10.8 min
 Analysis Time = 11min



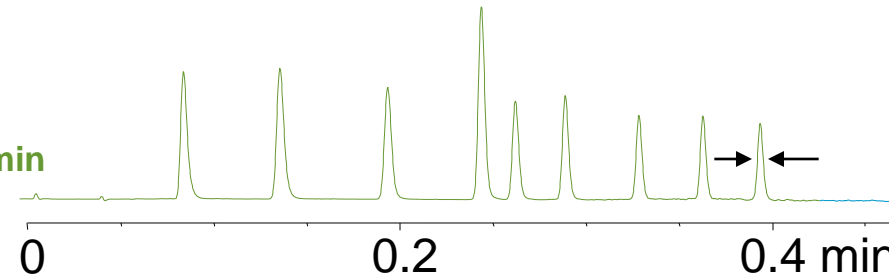
HPLC, 40°C
 PW = 3.4sec

2.1mm x 50mm 1.8µm
 1.00ml/min, 40°C
 Grad.: 35-95% en 0.9 min
 Analysis Time= 1.1min



UHPLC/RRLC, 40°C
 10x faster
 PW = 0.5 sec

2.1mm x 50mm 1.8µm
2.40ml/min, 95°C
 Grad.: 35-95% en 0.38 min
 Analysis Time: 0.4min



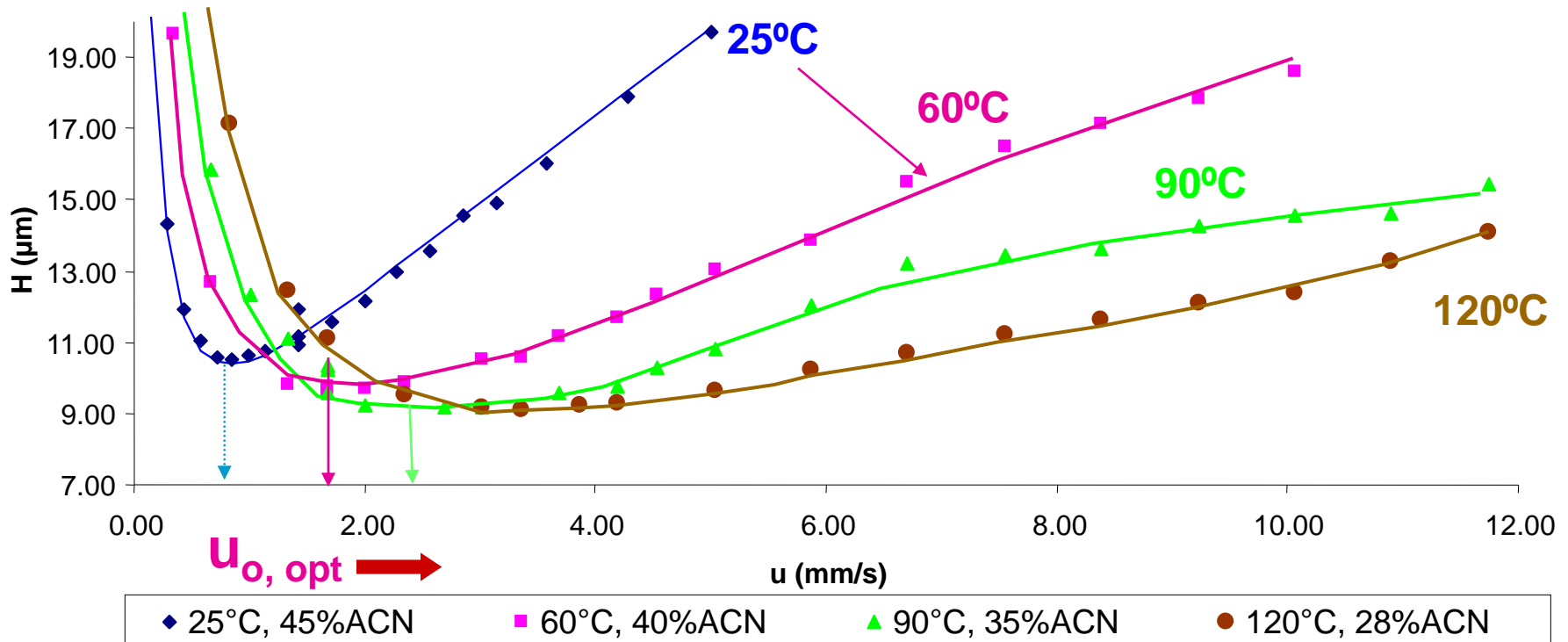
UHPLC/RRLC, 95°C
27x faster
 PW = 197msec

150mm > 50mm: } 3x
 1.2ml/min on 4.6 > 2.4ml/min on 2.1: } 10x
 } 3 x 10 = 30x

Efecto de la Temperatura en Gráfico de “Van Deemter”

Al aumentar la temperatura el óptimo se desplaza a flujos mayores

$H = f(u)$ – butilparaben Tamaño partícula: 5 μm



HTLC: HPLC a Alta Temperatura permite trabajar a mayores flujos sin pérdida de eficiencia y con mejor transferencia de masa (curva más plana a flujos altos)

UHPLC

1200 Infinity Series

1. Fundamentos de la UHPLC:

- Ecuación de Van Deemter

2. Conclusiones.



Agilent 1200 Infinity Series

Infinitely better



1220
Infinity LC

1260
Infinity LC

1290
Infinity LC

The advertisement features a large orange graphic on the right side of the slide. At the top right of this graphic is the text '1200 Infinity Series'. Below this, there is a stylized white starburst logo. The main text 'Agilent 1200 Infinity Series' is centered above the slogan 'Infinitely better', where 'better' is in a larger, blue font. Below the slogan are three images of the Agilent 1200 Infinity LC models, labeled 1220, 1260, and 1290. Each model is shown as a stack of components with two vials on top. The 1220 is the smallest, the 1260 is medium, and the 1290 is the largest.

Conclusiones: UHPLC “versus” HPLC

UHPLC permite **MAXIMIZAR**:

- **Reducción de Tiempos** de Análisis **SIN** perder Resolución.
- **Aumentar la Resolución** **SIN** incrementar tiempo de Análisis.

HPLC (400 bars) -incluso **sin cambiar de columna-** permite:

- **Simplemente SUBIENDO el FLUJO de trabajo* **Reducir Tiempos** y **Aumentar la Resolución.****



* Trabajando con gradientes de concentración

Serie 1200 Infinity: la **Máxima Flexibilidad** para trabajar en HPLC **y UHPLC**, en Todo Tipo Aplicaciones.



1220 Infinity



1260 Infinity



1290 Infinity

Hasta 5mL/min*
para máxima eficacia y
mínimo tiempo de análisis
incluso con las
tradicionales y robustas
columnas de 4.6mm d.i

*hasta 10mL/min con bombas
cuaternarias

Trade-in any HPLC for a
New Agilent Infinity UHPLC



OpenLAB CDS Software

¿Le gustaría reemplazar su LC actual ?

¿Le gustaría actualizarse a la tecnología UHPLC del siglo XXI?

Si su respuesta es SI , esta oferta es para Vd.

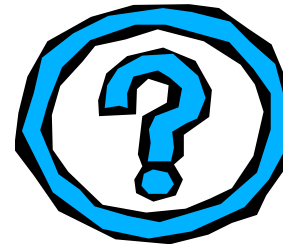
Le otorgamos un 45% Dto, en cualquier modelo de la serie 1200 Infinity por la sustitución de su antiguo equipo, de cualquier marca.

Oferta válida hasta el 31 de Octubre de 2013.

Contacte con su representante
Para poder beneficiarse de la promoción 1301_LCTRADE

Consejos y Trucos para el Mantenimiento de su HPLC

¿Preguntas?



Estamos siempre a su disposición en

Tel : 901.11.68.90

@ : customercare_spain@agilent.com

Web : www.agilent.com/chem

26 Septiembre de 2013



Consejos y Trucos para el Mantenimiento de su HPLC



MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCION

*Jaume C. Morales
Agilent Technologies
Especialista de Producto
jaume_morales@agilent.com*