



Detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity

Manual de usuario



Agilent Technologies

Avisos

© Agilent Technologies, Inc. 2010-2012, 2013

No se permite la reproducción de parte alguna de este manual bajo cualquier forma ni por cualquier medio (incluyendo su almacenamiento y recuperación electrónicos y la traducción a idiomas extranjeros) sin el consentimiento previo por escrito de Agilent Technologies, Inc. según lo estipulado por las leyes de derechos de autor estadounidenses e internacionales.

Número de referencia del manual:

G1321-95014

Edición

05/2013

Impreso en Alemania

Agilent Technologies
Hewlett-Packard-Strasse 8
76337 Waldbronn

Este producto puede usarse como componente de un sistema de diagnóstico in vitro si dicho sistema está registrado ante las autoridades competentes y cumple la normativa aplicable. De lo contrario, únicamente está previsto para un uso general de laboratorio.

Garantía

El material contenido en este documento se proporciona "tal como es" y está sujeto a modificaciones, sin previo aviso, en ediciones futuras. Además, hasta el máximo permitido por la ley aplicable, Agilent rechaza cualquier garantía, expresa o implícita, en relación con este manual y con cualquier información contenida en el mismo, incluyendo, pero no limitado a, las garantías implícitas de comercialización y adecuación a un fin determinado. En ningún caso Agilent será responsable de los errores o de los daños incidentales o consecuentes relacionados con el suministro, utilización o uso de este documento o de cualquier información contenida en el mismo. En el caso que Agilent y el usuario tengan un acuerdo escrito separado con condiciones de garantía que cubran el material de este documento y que estén en conflicto con estas condiciones, prevalecerán las condiciones de garantía del acuerdo separado.

Licencias sobre la tecnología

El hardware y/o software descritos en este documento se suministran bajo una licencia y pueden utilizarse o copiarse únicamente de acuerdo con las condiciones de tal licencia.

Avisos de seguridad

PRECAUCIÓN

Un aviso de **PRECAUCIÓN** indica un peligro. Llama la atención sobre un procedimiento de operación, una práctica o similar que, si no se realizan correctamente o no se ponen en práctica, pueden provocar daños en el producto o pérdida de datos importantes. No avance más allá de un aviso de **PRECAUCIÓN** hasta que se entiendan y se cumplan completamente las condiciones indicadas.

ADVERTENCIA

Un aviso de **ADVERTENCIA** indica un peligro. Llama la atención sobre un procedimiento de operación, una práctica o similar que, si no se realizan correctamente o no se ponen en práctica, pueden provocar daños personales o la muerte. No avance más allá de un aviso de **ADVERTENCIA** hasta que se entiendan y se cumplan completamente las condiciones indicadas.

En esta guía

Este manual contempla:

- el detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity (G1321B SPECTRA);
- el detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity (G1321C); y,
- el detector de fluorescencia Agilent Serie 1200 (G1321A; obsoleto).

1 Introducción al detector de fluorescencia

En este capítulo se ofrece una introducción sobre el detector y una descripción general del instrumento.

2 Requisitos y especificaciones de las instalaciones

En este capítulo se ofrece información acerca de los requisitos del entorno y de las especificaciones físicas y de rendimiento.

3 Instalación del módulo

En este capítulo se ofrece información acerca de la configuración de la torre de módulos aconsejada para su sistema y la instalación del módulo.

4 Utilización del detector de fluorescencia

En este capítulo se explica cómo comenzar a trabajar con el detector.

5 Optimización del detector

En este capítulo se ofrece información sobre cómo optimizar el detector.

6 Diagnóstico y resolución de problemas

En este capítulo se ofrece una visión general de las funciones de resolución de problemas y de diagnóstico, así como de las diferentes interfaces de usuario.

7 Información sobre errores

En este capítulo se describe el significado de los mensajes de error y se proporciona información sobre sus posibles causas. Asimismo, se sugieren las acciones que hay que seguir para corregir dichos errores.

8 Funciones de test

En este capítulo se describen las funciones de test que incorpora el detector.

9 Mantenimiento

En este capítulo se ofrece información general sobre el mantenimiento del detector.

10 Piezas para mantenimiento

En este capítulo se ofrece información sobre las piezas para mantenimiento.

11 Identificación de cables

En este capítulo se ofrece información acerca de los cables utilizados con los módulos Agilent Serie 1200 Infinity.

12 Información del hardware

En este capítulo se describe el detector prestando especial atención al hardware y los componentes electrónicos.

13 Anexo

En este capítulo se ofrece información sobre seguridad y otros temas generales.

Contenido

1	Introducción al detector de fluorescencia	9
	Introducción al detector	10
	Funcionamiento del detector	12
	Efecto Raman	15
	Unidad óptica	16
	Información analítica a partir de datos iniciales	24
	Vista general del sistema	29
	Materiales bioinertes	32
2	Requisitos y especificaciones de las instalaciones	35
	Requisitos de las instalaciones	36
	Especificaciones físicas	39
	Especificaciones de rendimiento	40
3	Instalación del módulo	51
	Desembalaje del módulo	52
	Optimización de la configuración de la torre de módulos	54
	Información sobre gestión de fugas y residuos para la instalación	59
	Instalación del módulo	63
	Conexiones de flujo del módulo	66
4	Utilización del detector de fluorescencia	71
	Gestión de fugas y residuos	72
	Antes de comenzar	74
	Iniciación y comprobación	75
	Desarrollo de métodos	79
	Ejemplo: Optimización de compuestos múltiples	97
	Obtención de espectros con los modos SPECTRA ALL IN PEAK (Todos los espectros del pico) y APEX SPECTRA ONLY (Sólo los espectros del máximo)	107
	Información sobre disolventes	111

5 Optimización del detector 115

- Descripción general de la optimización 116
- Características de diseño que facilitan la optimización 118
- Búsqueda de las longitudes de onda óptimas 119
- Búsqueda de la amplificación de señal óptima 121
- Cambio de la frecuencia de la lámpara de flash de xenón 127
- Selección del tiempo de respuesta óptimo 129
- Reducción de la luz dispersa 132

6 Diagnóstico y resolución de problemas 135

- Visión general de los indicadores del módulo y las funciones de test 136
- Indicadores de estado 137
- Interfaces de usuario 139
- Software Agilent Lab Advisor 140

7 Información sobre errores 141

- Qué son los mensajes de error 142
- Mensajes de error generales 143
- Mensajes de error del detector 152

8 Funciones de test 161

- Introducción 162
- Diagrama de la trayectoria de la luz 163
- Test de intensidad de la lámpara 164
- Test de señal-ruido ASTM Raman 166
- Uso del cromatograma de prueba integrado 170
- Verificación y calibración de la longitud de onda 172
- Test de exactitud de la longitud de onda 176
- Procedimiento de calibración de la longitud de onda 183

9 Mantenimiento 189

Introducción al mantenimiento	190
Avisos y precauciones	191
Descripción general del mantenimiento	193
Limpieza del módulo	194
Cambio de la celda de flujo	195
Cómo utilizar la cubeta	199
Lavado de la celda de flujo	200
Corrección de fugas	201
Sustitución de las piezas del sistema de gestión de fugas	202
Sustitución de la tarjeta de interfaz	203
Sustitución del firmware del módulo	204
Tests y calibraciones	205

10 Piezas para mantenimiento 207

Descripción general de las piezas para mantenimiento	208
Kit de cubeta	209
Kit de accesorios	210

11 Identificación de cables 213

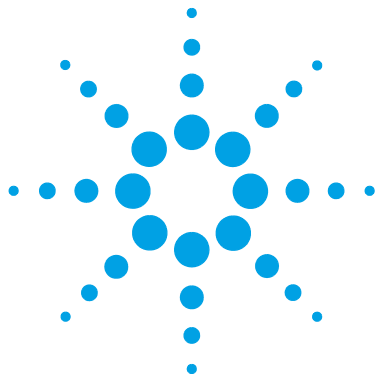
Visión general de los cables	214
Cables analógicos	216
Cables remotos	218
Cables BCD	221
Cables CAN/LAN	223
Cable de contacto externo	224
Conexión del módulo Agilent con el PC	225

12 Información del hardware 227

Descripción del firmware	228
Tarjetas de interfaz opcionales	231
Conexiones eléctricas	235
Interfaces	238
Ajuste del interruptor de configuración de 8 bits (sin tarjeta LAN integrada)	246
Mantenimiento preventivo asistido	251
Disposición del instrumento	252

13 Anexo 253

Información general sobre seguridad	254
Directiva sobre residuos de aparatos eléctricos y electrónicos (RAEE) (2002/96/EC)	257
Información sobre las baterías de litio	258
Interferencias de radio	259
Emisión de sonido	260
Radiación UV (sólo para lámparas UV)	261
Información sobre disolventes	262
Agilent Technologies en Internet	264



1

Introducción al detector de fluorescencia

Introducción al detector	10
Funcionamiento del detector	12
Efecto Raman	15
Unidad óptica	16
Sistema de referencia	23
Información analítica a partir de datos iniciales	24
Detección de fluorescencia	24
Detección de fosforescencia	25
Procesamiento de datos iniciales	25
Vista general del sistema	29
Gestión de fugas y residuos	29
Materiales bioinertes	32

En este capítulo se ofrece una introducción sobre el detector y una descripción general del instrumento.



Introducción al detector

Versiones del detector

Tabla 1 Versiones del detector

Versión	Descripción
G1321C	Detector de fluorescencia 1260 Infinity, lanzado al mercado sin capacidades de adquisición de espectros y señales múltiples en junio de 2013. Velocidad de muestreo máxima: 74 Hz. Firmware del instrumento: A.06.54. Controlado mediante: Instant Pilot (versión de firmware B.02.16), controlador A.02.08, Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition (versión C.01.05), OpenLAB EZChrom Edition (versión EE A.04.05), ICF (versión A.02.01) y Lab Advisor (versión B.02.04). El detector G1321C no puede modificarse para convertirlo en un detector G1321A/B.
G1321B SPECTRA	Detector de fluorescencia 1260 Infinity, lanzado al mercado con capacidades de adquisición de espectros y señales múltiples en junio de 2010. Velocidad de muestreo máxima: 74 Hz. El detector G1321B puede convertirse en un detector G1321A (modo de emulación). Con el lanzamiento del detector G1321C, la velocidad de muestreo se aumentó hasta un máximo de 144,9 Hz (versión del firmware del instrumento: A.06.54).
G1321A	Detector de fluorescencia de la Serie 1100, lanzado al mercado con capacidades de adquisición de espectros y señales múltiples en agosto de 1998. Velocidad máxima de datos: 18 Hz. Obsoleto debido a la introducción del detector de fluorescencia G1321B.

El detector está diseñado para obtener el máximo rendimiento óptico, cumplir las buenas prácticas de laboratorio (GLP, por sus siglas en inglés) y facilitar el mantenimiento. Presenta las siguientes características:

- lámpara de flash para obtener la máxima intensidad y el límite más bajo de detección posible;
- modo de longitud de onda múltiple para espectros en línea (G1321B SPECTRA);
- adquisición de espectros y detección de señales múltiples simultáneas (G1321B SPECTRA);

- cubeta opcional disponible para mediciones fuera de línea;
- sencillo acceso frontal a la celda de flujo para su rápida sustitución; y,
- verificación de la exactitud de la longitud de onda incorporada.

Consulte las especificaciones en el apartado “Especificaciones de rendimiento” en la página 40.

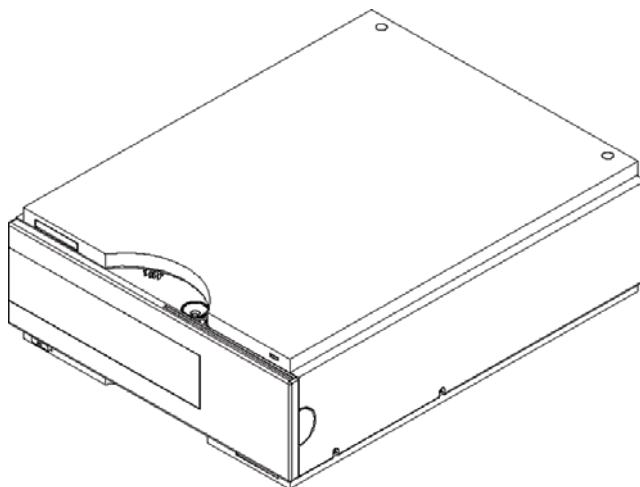


Figura 1 Detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity

Funcionamiento del detector

Detección de luminiscencia

La *luminiscencia* o emisión de luz tiene lugar cuando las moléculas pasan de un estado excitado a su estado natural. Las moléculas pueden excitarse mediante diferentes formas de energía, cada una con su propio proceso de excitación. Por ejemplo, cuando la fuente de energía de excitación es la luz, el proceso se denomina *fotoluminiscencia*.

En los casos más sencillos, la emisión de luz es la inversa de la absorción; consulte [Figura 2](#) en la página 12. Con el vapor de sodio, por ejemplo, los espectros de absorción y emisión son una única línea a igual longitud de onda. Los espectros de absorción y emisión de moléculas orgánicas en disolución producen bandas en lugar de líneas.

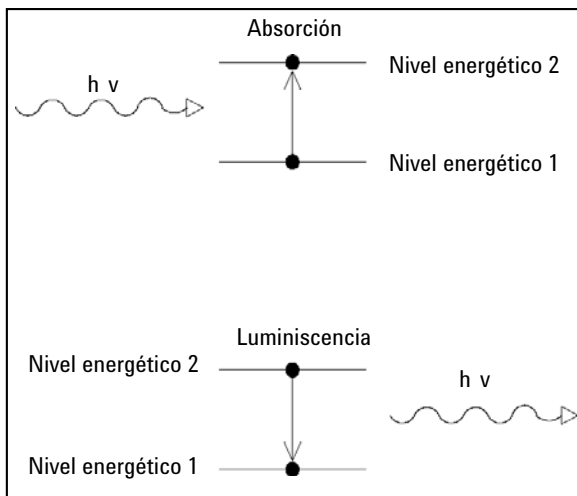


Figura 2 Absorción de luz frente a emisión de luz

Cuando una molécula más compleja pasa de su estado energético fundamental a un estado excitado, la energía absorbida se distribuye en varios subniveles de vibración y rotación. Cuando esta misma molécula vuelve a su estado fundamental, pierde inicialmente esta energía de vibración y de rotación por relajación, sin emitir radiación. Después, la molécula pasa de este nivel energético

a uno de los subniveles de vibración y de rotación de su estado fundamental, emitiendo luz; consulte [Figura 3](#) en la página 13. El máximo característico de absorción de una sustancia es su λ_{EX} , y el de emisión su λ_{EM} .

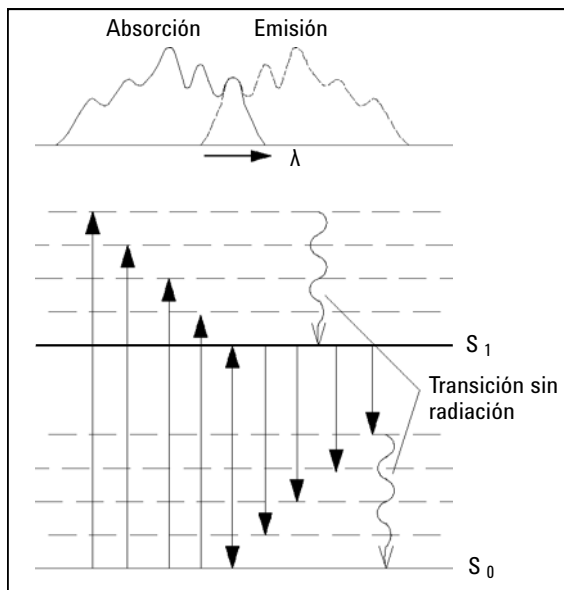


Figura 3 Relación de longitudes de onda de excitación y emisión

La fotoluminiscencia es el nombre colectivo para dos fenómenos, *fluorescencia* y *fosforescencia*, que presentan entre sí una diferencia característica: el retraso de la emisión tras la excitación. Si una molécula emite luz entre 10^{-9} y 10^{-5} segundos después de ser iluminada, el proceso se denomina fluorescencia. Si emite luz durante un tiempo mayor de 10^{-3} segundos tras la iluminación, el proceso se denomina fosforescencia.

La fosforescencia es un proceso más largo porque uno de los electrones involucrados en la excitación cambia su spin durante una colisión con una molécula de disolvente, por ejemplo. La molécula excitada pasará al estado denominado triplete (T); consulte [Figura 4](#) en la página 14.

1 Introducción al detector de fluorescencia

Funcionamiento del detector

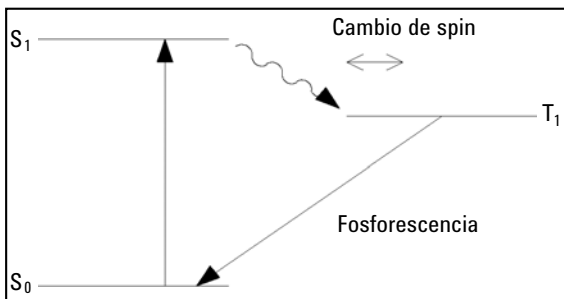


Figura 4 Transiciones de energía de fosforescencia

La molécula debe cambiar su spin de nuevo antes de poder volver a su estado fundamental. Dada la baja probabilidad de chocar con otra molécula con el spin adecuado, la molécula permanecerá en su estado de triplete durante algún tiempo. Durante el segundo cambio de spin, la molécula pierde más energía, relajándose sin emitir radiación. La luz emitida durante la fosforescencia tiene, por tanto, menos energía y es de mayor longitud de onda que en el caso de la fluorescencia.

Fórmula: $E = h \times \lambda^{-1}$

En esta ecuación:

E es la energía;

h es la constante de Planck; y,

λ es la longitud de onda.

Efecto Raman

El efecto Raman se produce cuando la luz incidente excita las moléculas de la muestra, que dispersan la luz. Mientras que la mayoría de la luz dispersa tiene igual longitud de onda que la luz incidente, otra parte se dispersa con una longitud de onda diferente. Esta luz dispersa inelásticamente se denomina dispersión Raman. Es el resultado de los cambios en los movimientos moleculares de la molécula.

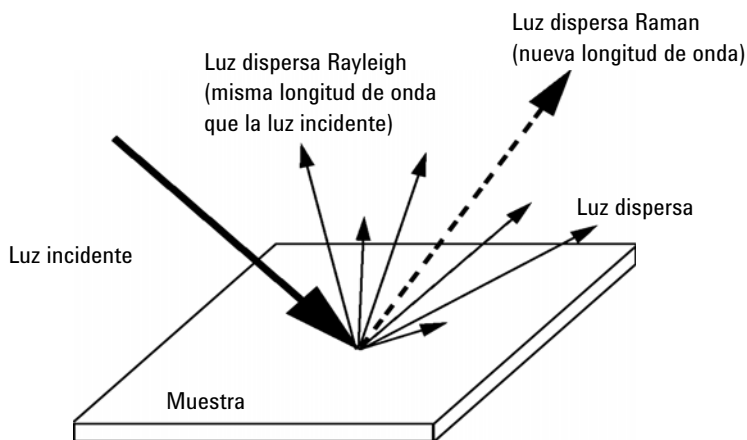


Figura 5 Raman

La diferencia de energía entre la luz incidente (E_i) y la luz dispersa Raman (E_s) es igual a la energía involucrada en el cambio de estado vibracional de la molécula (es decir, en hacer que la molécula vibre; E_v). A esta diferencia de energía se la denomina desplazamiento Raman.

$$E_v = E_i - E_s$$

A menudo, se observarán diferentes señales desplazadas Raman; cada una de ellas se asocia a diferentes movimientos vibracionales o rotacionales de moléculas de la muestra. La molécula en particular y su entorno determinarán qué señales Raman se van a observar (si se produce alguna).

A la representación de la intensidad Raman frente al desplazamiento Raman se la denomina espectro Raman.

Unidad óptica

Todos los elementos del sistema óptico de la [Figura 6](#) en la página 17, incluidos la lámpara de flash de xenón, el condensador y la ranura de excitación, el espejo, la red de difracción de excitación, la celda de flujo, el condensador y la ranura de emisión, el filtro de corte, la red de difracción de emisión y el tubo fotomultiplicador, van alojados en la carcasa metálica del compartimento del detector. Asimismo, el detector incorpora una óptica de difracción que permite seleccionar tanto la longitud de onda de excitación como la de emisión. Puede accederse a la celda de flujo desde la parte frontal del detector de fluorescencia.

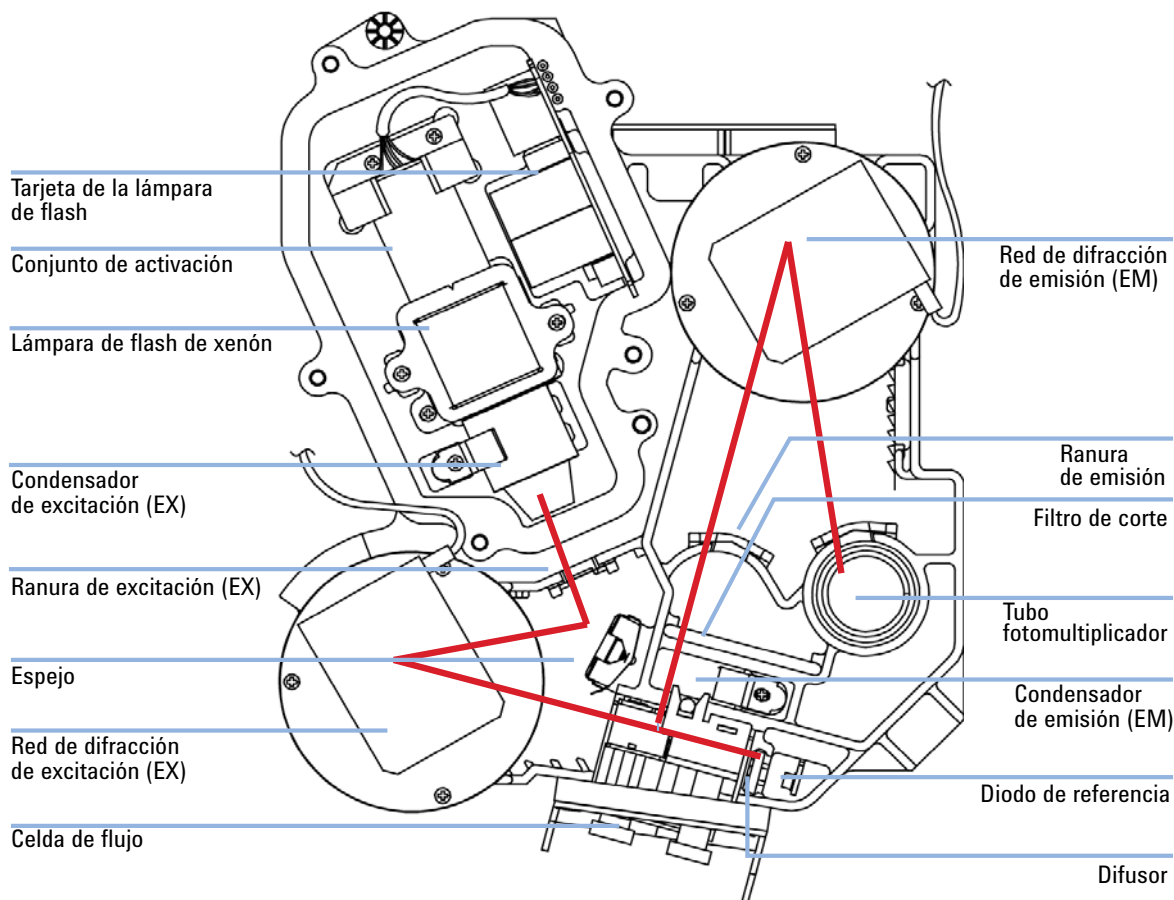


Figura 6 Unidad óptica

La fuente de radiación es una lámpara de flash de xenón. El flash de 3 μ s produce un espectro continuo de luz con longitudes de onda desde 200 nm hasta 900 nm. La distribución de salida de luz puede expresarse como un porcentaje en intervalos de 100 nm; consulte [Figura 7](#) en la página 18. La lámpara puede utilizarse durante unas 1.000 horas, dependiendo de los requisitos de sensibilidad. Es posible economizar durante el funcionamiento automático utilizando los parámetros del teclado, de modo que la lámpara sólo dispare flashes durante el análisis. La lámpara puede utilizarse hasta que ya no se encienda, pero el nivel de ruido puede aumentar con el uso.

La degradación UV, especialmente por debajo de 250 nm, es significativamente mayor en comparación con el rango visible de longitudes de onda. Generalmente, el parámetro "LAMP ON during run" (lámpara encendida durante el análisis) o la utilización del "economy mode" (modo económico) prolongará en cierta medida la vida útil de la lámpara.

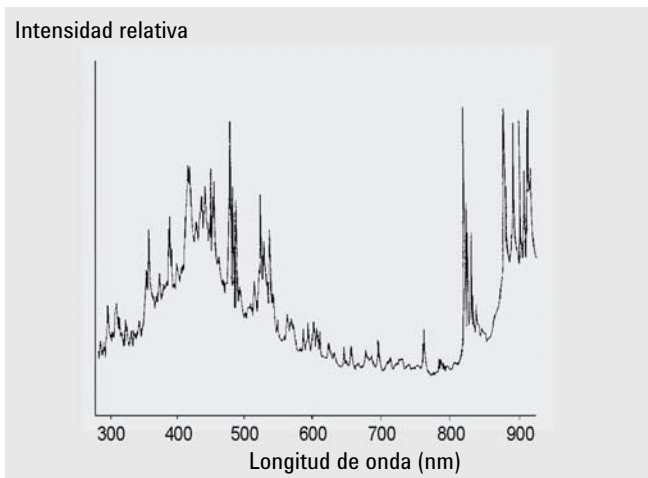


Figura 7 Distribución de la energía de la lámpara (datos del proveedor)

La red de difracción del monocromador de excitación dispersa y refleja la luz que emite la lámpara hacia la ranura de entrada de la celda.

La red de difracción cóncava holográfica, que dispersa y refleja la luz incidente, es la pieza principal del monocromador. La superficie contiene muchas ranuras diminutas (1.200 por milímetro). Esta red de difracción mejora el rendimiento en el rango visible.

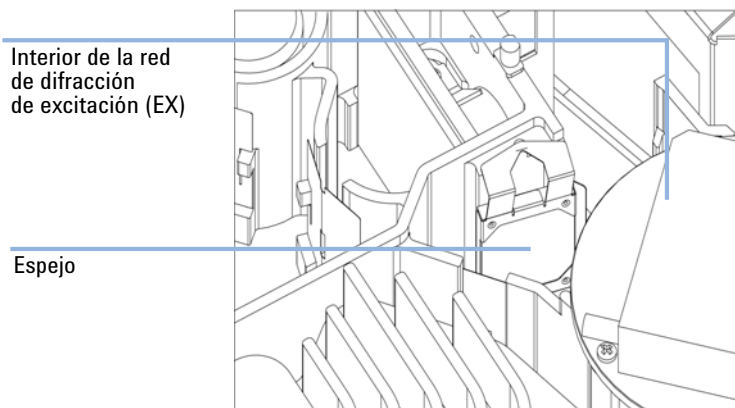


Figura 8 Conjunto del espejo

La geometría de las ranuras se ha optimizado para reflejar casi toda la luz incidente en el 1.^{er} orden y dispersarla con una eficacia aproximada del 70 % en el rango ultravioleta. La mayor parte del 30 % restante de luz experimenta una reflexión de orden cero, sin dispersión. [Figura 9](#) en la página 20 ilustra la trayectoria de la luz en la superficie de la red de difracción.

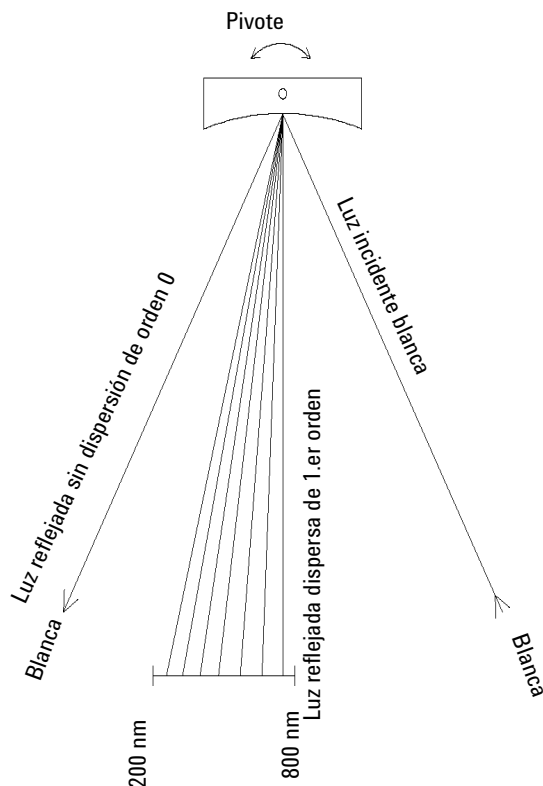


Figura 9 Dispersión de luz mediante una red de difracción

La red de difracción se hace girar utilizando un motor trifásico de c.c. sin escobillas; la posición de dicha red determina la longitud de onda o el rango de longitudes de onda de la luz que llega a la celda de flujo. La red puede programarse para modificar su posición y, por tanto, la longitud de onda durante un análisis.

Para la adquisición de espectros y la detección de longitudes de onda múltiples, la red de difracción gira a 4.000 rpm.

Las redes de difracción de excitación y emisión son similares en diseño, pero tienen diferentes longitudes de onda óptimas. La de excitación refleja la mayor parte de la luz de 1.^{er} orden en el rango ultravioleta en torno a 250 nm, mientras que la de emisión refleja mejor en el rango visible en torno a 400 nm.

La celda de flujo es un cuerpo macizo de sílice fundida que soporta una retropresión máxima de 20 bar. Una retropresión excesiva provocará la destrucción de la celda. A la hora de utilizar el detector, se recomienda situarlo cerca del contenedor de residuos y utilizar una baja retropresión. El cuerpo lleva integrada una rendija.

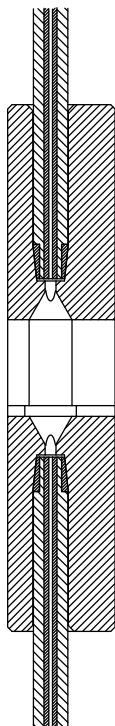


Figura 10 Sección de la celda de flujo

La luminiscencia de la muestra dentro de la celda la recoge una segunda lente, en el ángulo adecuado con respecto a la luz incidente, y atraviesa una segunda ranura. Antes de que la luminiscencia alcance el monocromador de emisión, un filtro de corte elimina la luz por debajo de una determinada longitud de onda, para reducir el ruido de dispersión de 1.^{er} orden y la luz dispersa de 2.^o orden; consulte [Figura 9](#) en la página 20.

La luz de la longitud de onda seleccionada se refleja en la ranura de la pared del compartimento del fotomultiplicador de la unidad óptica. El ancho de banda de la luz emitida es de 20 nm.

En el fotocátodo ([Figura 11](#) en la página 22), los fotones incidentes generan electrones. Éstos se aceleran mediante un campo eléctrico entre varios dinodos con forma de arco. En función de la diferencia de voltaje entre cualquier par de dinodos, un electrón incidente puede generar más electrones que se acelerarán hacia el siguiente dinodo. Como resultado, se produce un efecto avalancha: finalmente, se generan tantos electrones que puede medirse una corriente. La amplificación depende del voltaje de los dinodos y se controla mediante un microprocesador. Puede configurar la amplificación utilizando la función PMTGAIN (Ganancia PMT).

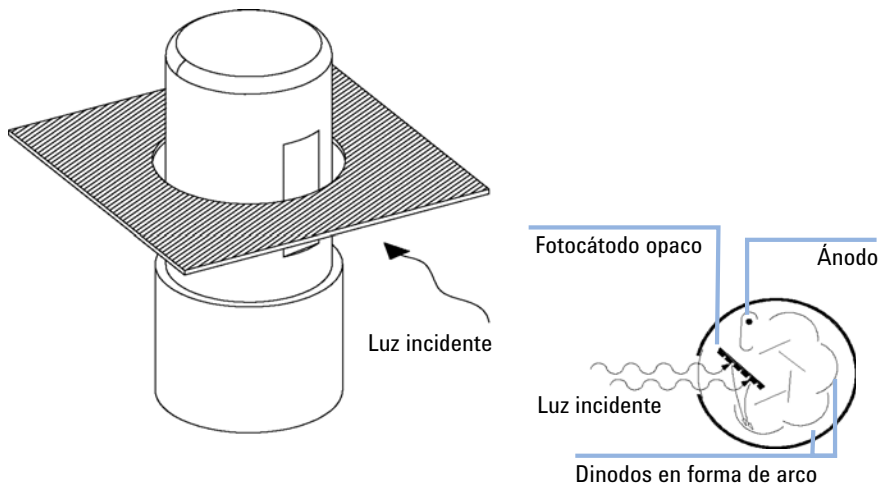


Figura 11 Tubo fotomultiplicador

Este tipo de fotomultiplicador lateral es compacto y garantiza una respuesta rápida, conservando las ventajas de un camino óptico corto, que se muestra en [Figura 6](#) en la página 17.

Los tubos fotomultiplicadores (PMT) están diseñados para rangos de longitud de onda específicos. El PMT estándar ofrece una sensibilidad óptima desde 200 a 600 nm. En el rango de longitud de onda más elevado, el uso de un PMT sensible al rojo puede mejorar el rendimiento.

Sistema de referencia

Un diodo de referencia, situado detrás de la celda de flujo, mide la luz de excitación (EX) transmitida por la celda de flujo y corrige las fluctuaciones de la lámpara de flash y las desviaciones de intensidad a largo plazo. Debido a una salida no lineal del diodo (en función de la longitud de onda EX), los datos medidos se normalizan.

Enfrente del diodo de referencia existe un difusor (consulte [Figura 6](#) en la página 17). Este difusor, fabricado en cuarzo, reduce la luz y permite una medición integral de la luz.

Información analítica a partir de datos iniciales

Ahora sabemos cómo se adquieren los datos iniciales de la muestra en la unidad óptica. Pero, ¿cómo pueden utilizarse estos datos, a modo informativo, en química analítica? Dependiendo de la química de la aplicación, la luminiscencia medida por el detector de fluorescencia tendrá diferentes características. Utilizando los conocimientos sobre la muestra, debe decidir qué modo de detección utilizar.

Detección de fluorescencia

Cuando la lámpara emita flashes, los compuestos fluorescentes de la muestra producirán luminiscencia de forma casi simultánea; consulte [Figura 12](#) en la página 24. La luminiscencia dura poco tiempo, por lo que el detector de fluorescencia sólo necesita medir durante un breve período de tiempo después de que la lámpara emita el flash.

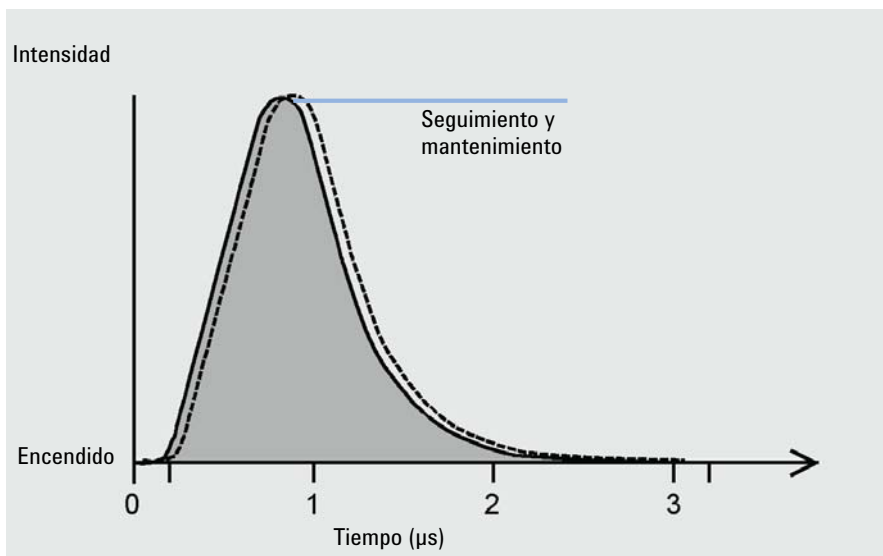


Figura 12 Medida de la fluorescencia

Detección de fosforescencia

Tan pronto se seleccione un modo de detección de fosforescencia, se especificará un conjunto apropiado de parámetros (valores especiales dentro de los ajustes de parámetros del detector de fluorescencia).

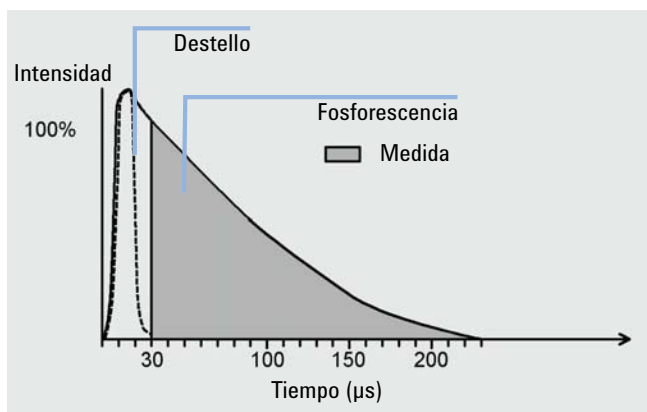


Figura 13 Medida de fosforescencia

Procesamiento de datos iniciales

Si la lámpara emite destellos de alta potencia con una única longitud de onda, la velocidad de muestreo de fluorescencia será de 296 Hz. Eso significa que la muestra se iluminará 296 veces por segundo y que la luminiscencia generada por los componentes eluidos de la columna se medirá 296 veces por segundo.

Si se selecciona el modo “económico” o de longitud de onda múltiple, la frecuencia de destello será de 74 Hz.

1 Introducción al detector de fluorescencia

Información analítica a partir de datos iniciales

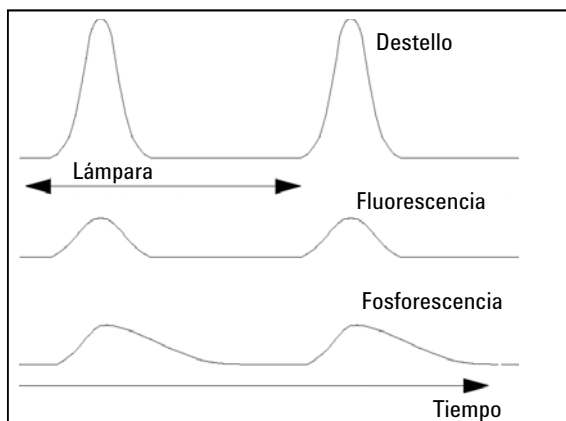


Figura 14 Lámpara: frecuencia de destello, fluorescencia y fosforescencia

Puede mejorarse la relación señal-ruido si se desactiva el modo “económico”.

NOTA

La desactivación del modo “económico” acortará significativamente la vida útil de la lámpara. Puede prolongar la vida útil de la lámpara apagándola una vez terminado el análisis.

La resolución de datos es de 20 bits con un tiempo de respuesta de 4 s (por defecto, equivale a una constante de tiempo de 1,8 s y resulta adecuada para las condiciones cromatográficas estándar). Las señales débiles pueden provocar errores de cuantificación a causa de una resolución insuficiente. Compruebe el valor propuesto para el parámetro PMTGAIN. Si es significativamente diferente del valor ajustado, cambie el método o compruebe la pureza del disolvente. Consulte también [“Búsqueda de la amplificación de señal óptima”](#) en la página 121.

Puede amplificar la señal utilizando el valor PMTGAIN. Dependiendo del valor PMTGAIN ajustado, se generará el múltiplo de electrones correspondiente por cada fotón que llegue al fotomultiplicador. Puede cuantificar picos grandes y pequeños en un mismo cromatograma añadiendo cambios del valor PMTGAIN durante el análisis en una tabla de tiempos.

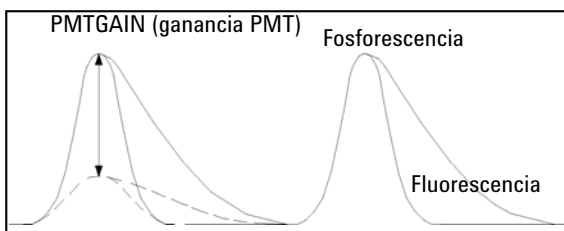


Figura 15 Valor PMTGAIN: amplificación de la señal

Compruebe el valor propuesto para el parámetro PMTGAIN. Las desviaciones superiores a 2 ganancias PMT deben corregirse en el método.

Cada paso PMTGAIN se incrementa aproximadamente en un factor de 2 (rango 0-18). Para optimizar la amplificación del pico con la máxima emisión, aumente el valor PMTGAIN hasta alcanzar la mejor relación señal-ruido posible.

Una vez que los fotones se conviertan y multipliquen generando una señal electrónica, la señal (en ese momento, analógica) se rastreará y mantendrá después del fotomultiplicador. A continuación, se transformará mediante un convertidor analógico-digital para dar lugar a un punto (digital) de los datos iniciales. Once de estos datos se agruparán como primer paso del procesamiento de datos. El agrupamiento mejora la relación señal-ruido.

Los datos agrupados, que se mostrarán como puntos negros más grandes en [Figura 16](#) en la página 28, se filtrarán usando un filtro de rectángulo único. Los datos se homogeneizarán, sin reducirlos, tomando la media de un número de puntos. Se calculará la media de los mismos puntos menos el primero más el siguiente, y así sucesivamente, de modo que quede el mismo número de puntos agrupados y filtrados que de puntos agrupados originales. La longitud del elemento de rectángulo único puede definirse utilizando la función RESPONSETIME: cuanto mayor sea el valor RESPONSETIME, mayor será el número de datos promediado. Un aumento de cuatro veces del valor RESPONSETIME (por ejemplo, de 1 a 4 s) duplicará la relación señal-ruido.

1 Introducción al detector de fluorescencia

Información analítica a partir de datos iniciales

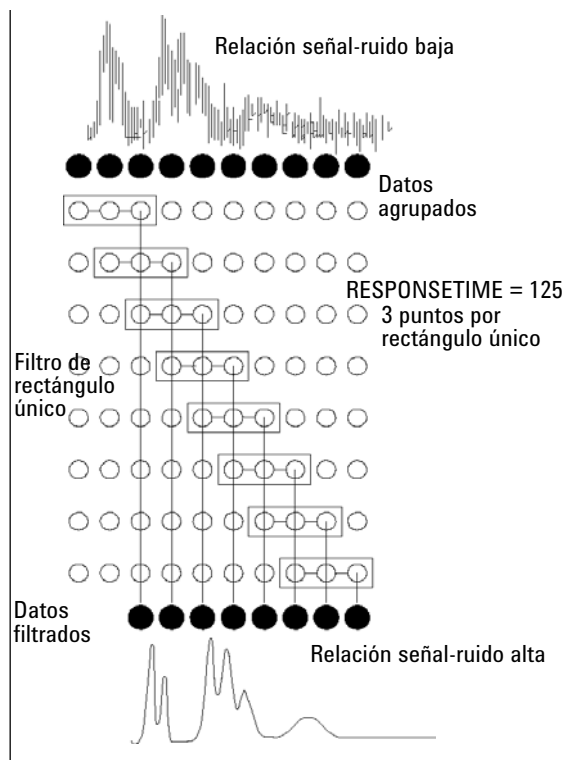


Figura 16 Función RESPONSETIME: relación señal-ruido

Vista general del sistema

Gestión de fugas y residuos

La Serie 1200 Infinity se ha diseñado para conseguir una gestión segura de fugas y residuos. Es importante que comprenda todos los conceptos de seguridad y observe rigurosamente todas las instrucciones.

1 Introducción al detector de fluorescencia

Vista general del sistema

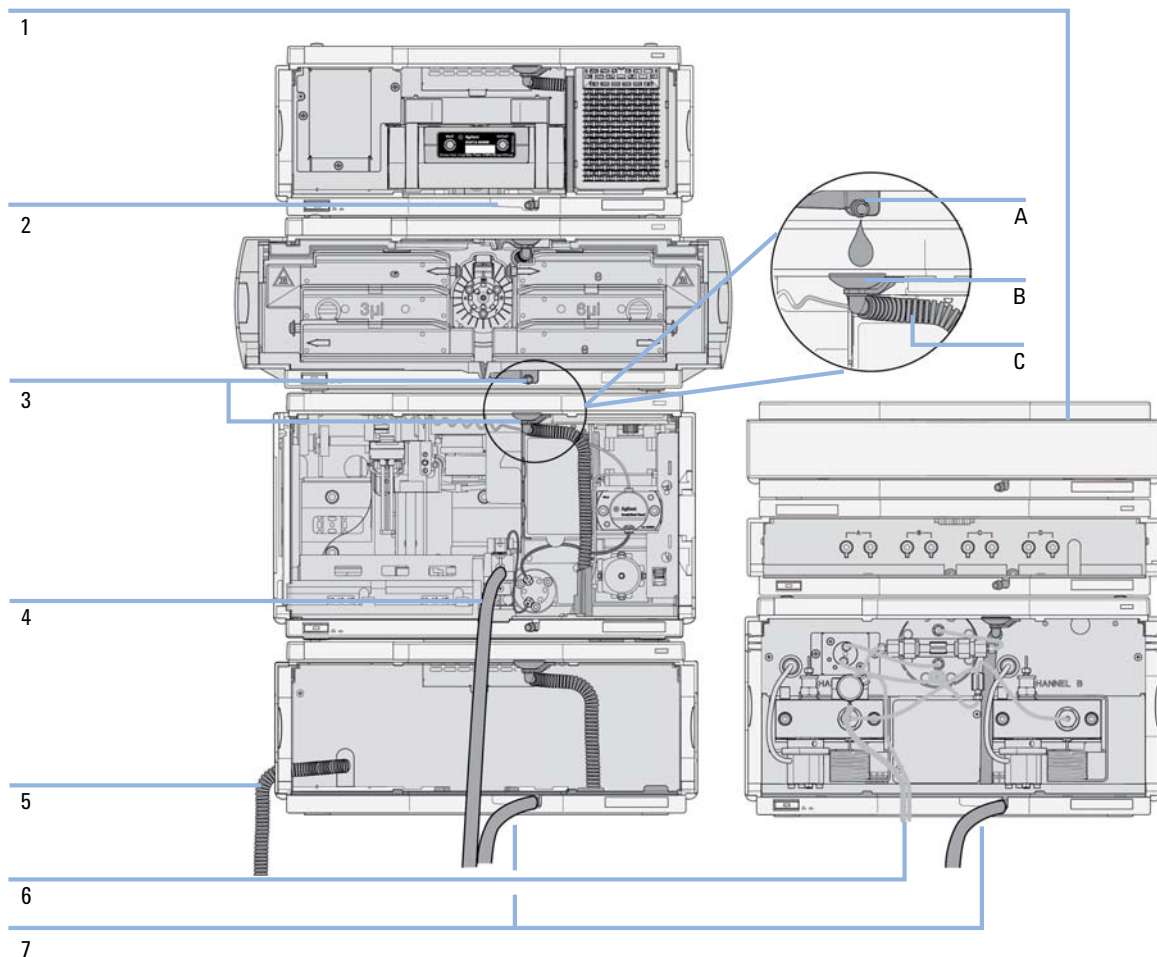


Figura 17 Diseño del sistema de gestión de fugas y residuos (vista general; como ejemplo, se muestra una configuración típica de la torre de módulos)

La cabina de disolventes (1) está diseñada para almacenar un volumen máximo de 6 L de disolventes. El volumen máximo de cualquier botella almacenada en la cabina de disolventes no debe superar los 2,5 L. Para obtener más información, consulte las directrices de uso de las cabinas de disolventes Agilent Serie 1200 Infinity (junto con la cabina de disolventes se envía una copia impresa; asimismo, dicha documentación está disponible en formato electrónico en Internet).

La bandeja de fugas (2), diseñada específicamente para cada módulo, conduce los disolventes hacia la parte frontal del módulo. Dicho diseño también permite recoger las fugas de las piezas internas (p. ej., la celda de flujo del detector). El sensor de fugas de la bandeja de fugas detendrá el funcionamiento del sistema en el momento en el que se alcance el nivel de detección de fugas.

El puerto de salida de la bandeja de fugas (3, A) conducirá el líquido sobrante de un módulo hasta el siguiente, a medida que el disolvente fluye hacia el embudo para fugas (3, B) del siguiente módulo y el tubo de residuos ondulado conectado (3, C). El tubo de residuos ondulado conduce el disolvente hasta la bandeja y el sensor de fugas del siguiente módulo situado a una altura inferior.

El tubo de residuos del puerto de lavado de la aguja del inyector (4) conduce los disolventes hasta la zona de residuos.

La salida de drenaje del condensado del refrigerador del inyector automático (5) conduce el condensado hacia la zona de residuos.

El tubo de residuos de la válvula de purga (6) conduce los disolventes hacia la zona de residuos.

El tubo de residuos conectado a la salida de la bandeja de fugas en cada uno de los instrumentos inferiores (7) conduce el disolvente hacia un contenedor de residuos adecuado.

Materiales bioinertes

En el caso del sistema LC bioinerte Agilent 1260 Infinity, Agilent Technologies utiliza materiales de la mejor calidad en el paso de flujo (es decir, las piezas húmedas). Dichos materiales están ampliamente aceptados por los científicos, ya que son óptimamente inertes a las muestras biológicas y garantizan una compatibilidad idónea con las muestras y disolventes comunes en un amplio rango de pH. En concreto, el paso de flujo completo no contiene acero inoxidable ni otras aleaciones con metales como hierro, níquel, cobalto, cromo, molibdeno o cobre, que pueden afectar a las muestras biológicas. El paso de flujo aguas abajo de la zona de introducción de la muestra no contiene ningún tipo de metal.

Tabla 2 Materiales bioinertes utilizados en los sistemas Agilent 1260 Infinity

Módulo	Materiales
Bomba cuaternaria bioinerte Agilent 1260 Infinity (G5611A)	Titanio, oro, platino-iridio, cerámica, rubí, PTFE y PEEK
Inyector automático de alto rendimiento bioinerte Agilent 1260 Infinity (G5667A)	Aguas arriba del punto de introducción de la muestra: • Titanio, oro, PTFE, PEEK y cerámica Aguas abajo del punto de introducción de la muestra: • PEEK y cerámica
Inyector manual bioinerte Agilent 1260 Infinity (G5628A)	PEEK y cerámica
Colector de fracción analítico bioinerte Agilent 1260 Infinity (G5664A)	PEEK, cerámica y PTFE
Celdas de flujo bioinertes:	
Celda de flujo estándar bioinerte, 10 mm, 13 µL, 120 bar (12 MPa) para detectores de longitud de onda múltiple y detectores de diodos, incluye kit de capilares destinados a las celdas de flujo BIO (número de referencia G5615-68755) (G5615-60022) <i>(para los detectores de diodos Agilent 1260 Infinity G1315C/D)</i>	PEEK, cerámica, zafiro y PTFE

Tabla 2 Materiales bioinertes utilizados en los sistemas Agilent 1260 Infinity

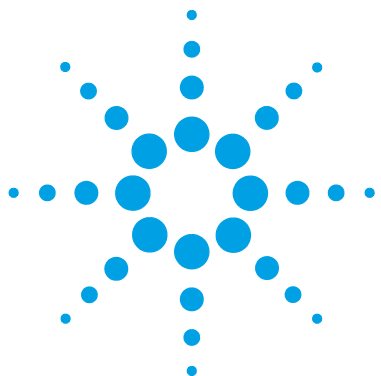
Módulo	Materiales
Celda de cartucho Max-Light bioinerte (10 mm, V(s) 1.0 µL) (G5615-60018) y Celda de cartucho Max-Light bioinerte (60 mm, V(s) 4.0 µL) (G5615-60017) (para los detectores de diodos Agilent Serie 1200 Infinity G4212A/B)	PEEK y sílice fundida
Celda de flujo bioinerte, 8 µL, 20 bar (pH 1–12), que incluye celdas de flujo BIO con kit de capilares (referencia G5615-68755) (G5615-60005) (para el detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity G1321B)	PEEK, sílice fundida y PTFE
Intercambiador de calor bioinerte G5616-60050 (para el compartimento de columna termostatzado Agilent 1290 Infinity G1316C)	PEEK (revestimiento de acero)
Cabezas de válvulas bioinertes	G4235A, G5631A y G5639A: PEEK y cerámica (con base de Al ₂ O ₃)
Capilares de conexión bioinertes	Aguas arriba del punto de introducción de la muestra: • Titanio Aguas abajo del punto de introducción de la muestra: • Agilent utiliza capilares de PEEK con revestimiento de acero inoxidable que mantienen el paso de flujo libre de cualquier componente de acero y proporcionan una presión estable a más de 600 bar.

NOTA

Para garantizar una compatibilidad biológica óptima de su sistema LC bioinerte Agilent 1260 Infinity, no incluya módulos ni piezas estándar que no sean inertes en el paso de flujo. No utilice ninguna pieza que no haya sido etiquetada como "bioinerte" por Agilent. Para obtener información sobre la compatibilidad de los disolventes con estos materiales, consulte ["Información sobre disolventes para las piezas del sistema LC bioinerte 1260 Infinity"](#) en la página 111.

1 **Introducción al detector de fluorescencia**

Materiales bioinertes



2 Requisitos y especificaciones de las instalaciones

Requisitos de las instalaciones 36

Especificaciones físicas 39

Especificaciones de rendimiento 40

En este capítulo se ofrece información acerca de los requisitos del entorno y de las especificaciones físicas y de rendimiento.



Requisitos de las instalaciones

Es importante disponer de un entorno adecuado para garantizar un rendimiento óptimo del instrumento.

Consideraciones sobre la alimentación

La fuente de alimentación del módulo dispone de un amplio rango de capacidad. Acepta cualquier voltaje de línea dentro del rango indicado en [Tabla 3](#) en la página 39. Por lo tanto, no hay ningún selector de voltaje en la parte trasera del módulo. Tampoco existen fusibles accesibles externamente, ya que la fuente de alimentación incluye fusibles electrónicos automáticos.

ADVERTENCIA

Podría producirse una descarga eléctrica o daños en los instrumentos, si los dispositivos se conectan a un voltaje de línea superior al especificado.

→ Conecte el instrumento al voltaje de línea especificado únicamente.

ADVERTENCIA

El módulo no estará del todo apagado mientras el cable de alimentación esté conectado.

Los trabajos de reparación del módulo entrañan riesgos de sufrir lesiones personales, por ejemplo, una descarga eléctrica, si se abre la cubierta del instrumento mientras esté conectado a la corriente.

→ Desenchufe siempre el cable de alimentación antes de abrir la cubierta.

→ No conecte el cable al instrumento mientras las cubiertas no estén colocadas.

PRECAUCIÓN

Conector de corriente inaccesible.

En caso de emergencia, se debe poder desconectar el instrumento de la red en cualquier momento.

- Asegúrese de que se pueda llegar a desenchufar fácilmente el conector de corriente del instrumento.
 - Deje espacio suficiente detrás del enchufe de corriente del instrumento para poder desenchufar el cable.
-

Cables de alimentación

Se proporcionan diferentes opciones de cables de alimentación con el módulo. Los terminales hembra de todos los cables de alimentación son idénticos. Se introduce en el conector de entrada de corriente de la parte posterior. El terminal macho de cada cable de alimentación es diferente y está diseñado para coincidir con los enchufes de cada país o región.

ADVERTENCIA

Ausencia de conexión de tierra o uso de un cable de alimentación no especificado

La ausencia de conexiones de tierra o el uso de un cable de alimentación no especificado pueden provocar electrocución o cortocircuitos.

- No utilice nunca los instrumentos con una toma de corriente desprovista de conexión de tierra.
 - No utilice nunca un cable de alimentación distinto al cable de Agilent Technologies diseñado para su región.
-

ADVERTENCIA

Utilización de cables no suministrados

Si se usan cables que no haya suministrado Agilent Technologies se pueden producir daños en los componentes electrónicos o daños personales.

- No utilice nunca cables que no sean los suministrados por Agilent Technologies, con el fin de asegurar una correcta funcionalidad y el cumplimiento de los reglamentos de seguridad o de compatibilidad electromagnética.
-

ADVERTENCIA

Uso no indicado de los cables de alimentación proporcionados

El uso de los cables de alimentación para propósitos no indicados pueden causar lesiones personales o daños a los equipos electrónicos.

- Nunca utilice los cables de alimentación proporcionados por Agilent Technologies con este instrumento para ningún otro equipo.
-

Espacio en el banco

Las dimensiones y el peso del módulo (consulte [Tabla 3](#) en la página 39) permiten colocar el módulo en prácticamente cualquier banco de laboratorio. Necesita un espacio adicional de 2,5 cm a cada lado y de, aproximadamente, 8 cm en la parte posterior para la circulación del aire y las conexiones eléctricas.

Si el banco tiene que soportar un sistema HPLC completo, asegúrese de que esté diseñado para aguantar el peso de todos los módulos.

El módulo se debe utilizar en posición horizontal.

Condensación

PRECAUCIÓN

Condensación dentro del módulo

La condensación dañará la electrónica del sistema.

- No guarde, traslade ni utilice el módulo bajo condiciones en las que las fluctuaciones de temperatura pudieran provocar condensación dentro del módulo.
 - Si el traslado del módulo se realizó bajo condiciones ambientales frías, manténgalo en su caja hasta que alcance lentamente la temperatura ambiente, para evitar problemas de condensación.
-

Especificaciones físicas

Tabla 3 Especificaciones físicas

Tipo	Especificación	Comentarios
Peso	11,5 kg	
Dimensiones (altura × anchura × profundidad)	140 x 345 x 435 mm	
Voltaje de línea	100 – 240 VAC, ± 10 %	Capacidad de rango amplio
Frecuencia de línea	50 o 60 Hz, ± 5 %	
Consumo de corriente	180 VA / 70 W / 239 BTU	Máximo
Temperatura ambiente operativa	0 - 40 °C	
Temperatura ambiente no operativa	-40 – 70 °C	
Humedad	< 95 % de humedad relativa a 40 °C	Sin condensación
Altitud operativa	Hasta 2000 m	
Altitud no operativa	Hasta 4600 m	Para guardar el módulo
Estándares de seguridad: IEC, CSA, UL	Categoría de instalación II, grado de contaminación 2	Sólo para su utilización en interiores

Especificaciones de rendimiento

Tabla 4 Especificaciones de rendimiento del detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity (G1321B)

Tipo	Especificación	Comentarios
Tipo de detección	Detector de fluorescencia de señal múltiple de barrido rápido en línea con capacidad de análisis de datos espectrales	
Especificaciones de rendimiento	Funcionamiento con longitud de onda única: • RAMAN (H₂O) > 500 (referencia de ruido medida para la señal) Ex = 350 nm; Em = 397 nm; valor oscuro = 450 nm; celda de flujo estándar • RAMAN (H₂O) > 3.000 (referencia de ruido medida para el valor oscuro) Ex = 350 nm; Em = 397 nm; valor oscuro = 450 nm; celda de flujo estándar Funcionamiento con longitud de onda doble: RAMAN (H₂O) > 300; Ex = 350 nm, Em = 397 nm; y Ex = 350 nm, Em = 450 nm; celda de flujo estándar	Consulte la nota que sigue a esta tabla Consulte el Manual de servicio para obtener más información
Fuente de luz	Lámpara de flash de xenón: modo normal = 20 W; modo “económico” = 5 W; vida útil = 4000 h	
Frecuencia de pulso	296 Hz para el modo de señal única 74 Hz para el modo “económico”	
Velocidad de muestreo máxima	74 Hz, 145 Hz	145 Hz con las versiones de firmware A.06.54 y posteriores

Tabla 4 Especificaciones de rendimiento del detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity (G1321B)

Tipo	Especificación	Comentarios
Monocromador de excitación	Rango: ajustable (200 nm - 1200 nm) y de orden cero Ancho de banda: 20 nm (fijo) Monocromador: red de difracción holográfica cóncava; F/1,6; longitud de onda óptima: 300 nm	
Monocromador de emisión	Rango: ajustable (200 nm - 1200 nm) y de orden cero Ancho de banda: 20 nm (fijo) Monocromador: red de difracción holográfica cóncava; F/1,6; longitud de onda óptima: 400 nm	
Sistema de referencia	Medida de excitación en línea	
Programación de la tabla de tiempos	Hasta 4 longitudes de onda de señal, tiempo de respuesta, ganancia PMT, comportamiento de la línea base ("append", "free" o "zero") y parámetros espectrales	
Adquisición de espectros	Espectros de excitación o emisión Velocidad de barrido: 28 ms por punto de datos (p. ej., 0,6 s/espectro de 200 – 400 nm, paso de 10 nm) Tamaño del paso: 1 – 20 nm Almacenamiento de espectros: todos	
Características de longitud de onda	Repetibilidad: $\pm 0,2$ nm Exactitud: ajuste de ± 3 nm	

2 Requisitos y especificaciones de las instalaciones

Especificaciones de rendimiento

Tabla 4 Especificaciones de rendimiento del detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity (G1321B)

Tipo	Especificación	Comentarios
Celdas de flujo	Estándar: volumen de 8 μL y presión máxima de 20 bar (2 MPa); bloque de sílice fundida Elementos opcionales: • Cubeta de fluorescencia para medidas espectroscópicas fuera de línea con una jeringa de 1 mL, con un volumen de 8 μL • Bioinerte: volumen de 8 μL y presión máxima de 20 bar (2 MPa); pH: 1–12 • Micro: volumen de 4 μL y presión máxima de 20 bar (2 MPa)	
Control y evaluación de datos	Agilent ChemStation para LC, Agilent Instant Pilot G4208A con capacidades limitadas de análisis de datos espectrales e impresión de espectros	
Salidas analógicas	Registrador/integrador: 100 mV ó 1 V; rango de salida: > 100 LU; dos salidas	Se recomienda un rango de 100 LU; consulte la sección <i>"Rango de escala y condiciones de funcionamiento del detector de fluorescencia"</i>
Comunicaciones	Red de área del controlador (CAN), RS-232C, LAN y APG Remotas: señales de "preparado", "iniciar", "detener" y "apagar"	

Tabla 4 Especificaciones de rendimiento del detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity (G1321B)

Tipo	Especificación	Comentarios
Seguridad y mantenimiento	Dispone de un apoyo amplio para la resolución de problemas y el mantenimiento a través de Instant Pilot, Agilent Lab Advisor y el sistema de datos cromatográfico (CDS). Las funciones asociadas a la seguridad son las siguientes: detección de fugas, gestión segura de fugas, señal de salida de fugas para apagar el sistema de bombeo y tensiones bajas en las áreas de mantenimiento principales.	
Características de GLP	Mantenimiento preventivo asistido (EMF) para un seguimiento continuo de la utilización del instrumento en términos de tiempo de encendido de la lámpara, con límites ajustables por parte del usuario y mensajes de aviso. Registros electrónicos de las tareas de mantenimiento y los errores. Verificación de la exactitud de la longitud de onda, utilizando la banda Raman del agua.	
Carcasa	Todos los materiales son reciclables.	
Entorno	Temperatura constante de entre 0 – 40 °C con una humedad < 95 % (sin condensación)	
Dimensiones	Altura x anchura x profundidad: 140 mm x 345 mm x 435 mm (5,5 x 13,5 x 17 pulgadas)	
Peso	11,5 kg (25,5 lbs)	

2 Requisitos y especificaciones de las instalaciones

Especificaciones de rendimiento

Tabla 5 Especificaciones de rendimiento del detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity (G1321C)

Tipo	Especificación	Comentarios
Tipo de detección	Longitud de onda de la señal (excitación y emisión)	Detector de fluorescencia de longitud de onda única programable (excitación y emisión)
Especificaciones de rendimiento	Funcionamiento con longitud de onda única: • RAMAN (H₂O) > 500 (referencia de ruido medida para la señal) Ex = 350 nm; Em = 397 nm; valor oscuro = 450 nm; celda de flujo estándar • RAMAN (H₂O) > 3.000 (referencia de ruido medida para el valor oscuro) Ex = 350 nm; Em = 397 nm; valor oscuro = 450 nm; celda de flujo estándar	Consulte la nota que sigue a esta tabla Consulte el Manual de servicio para obtener más información
Fuente de luz	Lámpara de flash de xenón: modo normal = 20 W; modo "económico" = 5 W; vida útil = 4000 h	
Frecuencia de pulso	296 Hz para el modo de señal única 74 Hz para el modo "económico"	
Velocidad de muestreo máxima	74 Hz	
Monocromador de excitación	Rango: ajustable (200 nm - 1200 nm) y de orden cero Ancho de banda: 20 nm (fijo) Monocromador: red de difracción holográfica cóncava; F/1,6; longitud de onda óptima: 300 nm	

Tabla 5 Especificaciones de rendimiento del detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity (G1321C)

Tipo	Especificación	Comentarios
Monocromador de emisión	Rango: ajustable (200 nm - 1200 nm) y de orden cero Ancho de banda: 20 nm (fijo) Monocromador: red de difracción holográfica cóncava; F/1,6; longitud de onda óptima: 400 nm	
Sistema de referencia	Medida de excitación en línea	
Programación de la tabla de tiempos	Hasta 4 longitudes de onda de señal, tiempo de respuesta, ganancia PMT, comportamiento de la línea base ("append", "free" o "zero") y parámetros espectrales	
Características de longitud de onda	Repetibilidad: $\pm 0,2$ nm Exactitud: ajuste de ± 3 nm	
Celdas de flujo	Estándar: volumen de 8 μ L y presión máxima de 20 bar (2 MPa); bloque de sílice fundida Elementos opcionales: - Cubeta de fluorescencia para medidas espectroscópicas fuera de línea con una jeringa de 1 mL, con un volumen de 8 μL - Bioinerte: volumen de 8 μL y presión máxima de 20 bar (2 MPa); pH: 1–12 - Micro: volumen de 4 μL y presión máxima de 20 bar (2 MPa)	
Control y evaluación de datos	Agilent ChemStation para LC, Agilent Instant Pilot G4208A con capacidades limitadas de análisis de datos espectrales e impresión de espectros	

2 Requisitos y especificaciones de las instalaciones

Especificaciones de rendimiento

Tabla 5 Especificaciones de rendimiento del detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity (G1321C)

Tipo	Especificación	Comentarios
Salidas analógicas	Registrador/integrador: 100 mV ó 1 V; rango de salida: > 100 LU; dos salidas	Se recomienda un rango de 100 LU; consulte la sección <i>"Rango de escala y condiciones de funcionamiento del detector de fluorescencia"</i>
Comunicaciones	Red de área del controlador (CAN), RS-232C, LAN y APG Remotas: señales de "preparado", "iniciar", "detener" y "apagar"	
Seguridad y mantenimiento	Dispone de un apoyo amplio para la resolución de problemas y el mantenimiento a través de Instant Pilot, Agilent Lab Advisor y el sistema de datos cromatográfico (CDS). Las funciones asociadas a la seguridad son las siguientes: detección de fugas, gestión segura de fugas, señal de salida de fugas para apagar el sistema de bombeo y tensiones bajas en las áreas de mantenimiento principales.	
Características de GLP	Mantenimiento preventivo asistido (EMF) para un seguimiento continuo de la utilización del instrumento en términos de tiempo de encendido de la lámpara, con límites ajustables por parte del usuario y mensajes de aviso. Registros electrónicos de las tareas de mantenimiento y los errores. Verificación de la exactitud de la longitud de onda, utilizando la banda Raman del agua.	
Carcasa	Todos los materiales son reciclables.	
Entorno	Temperatura constante de entre 0 – 40 °C con una humedad < 95 % (sin condensación)	

Tabla 5 Especificaciones de rendimiento del detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity (G1321C)

Tipo	Especificación	Comentarios
Dimensiones	Altura x anchura x profundidad: 140 mm x 345 mm x 435 mm (5,5 x 13,5 x 17 pulgadas)	
Peso	11,5 kg (25,5 lbs)	

Tabla 6 Especificaciones de rendimiento del detector de fluorescencia Agilent Serie 1200 (G1321A)

Tipo	Especificación	Comentarios
Tipo de detección	Detector de fluorescencia de señal múltiple de barrido rápido en línea con capacidad de análisis de datos espectrales	
Especificaciones de rendimiento	Funcionamiento con longitud de onda única: RAMAN (H₂O) > 500 (referencia de ruido medida para la señal) Ex = 350 nm; Em = 397 nm; valor oscuro = 450 nm; celda de flujo estándar Funcionamiento con longitud de onda doble: RAMAN (H₂O) > 300; Ex = 350 nm, Em = 397 nm; y Ex = 350 nm, Em = 450 nm; celda de flujo estándar	Consulte la nota que sigue a esta tabla Consulte el Manual de servicio para obtener más información
Fuente de luz	Lámpara de flash de xenón: modo normal = 20 W; modo "económico" = 5 W; vida útil = 4000 h	
Frecuencia de pulso	296 Hz para el modo de señal única 74 Hz para el modo "económico"	
Velocidad de muestreo máxima	37 Hz	

2 Requisitos y especificaciones de las instalaciones

Especificaciones de rendimiento

Tabla 6 Especificaciones de rendimiento del detector de fluorescencia Agilent Serie 1200 (G1321A)

Tipo	Especificación	Comentarios
Monocromador de excitación	Rango: ajustable (200 nm - 1200 nm) y de orden cero Ancho de banda: 20 nm (fijo) Monocromador: red de difracción holográfica cóncava; F/1,6; longitud de onda óptima: 300 nm	
Monocromador de emisión	Rango: ajustable (200 nm - 1200 nm) y de orden cero Ancho de banda: 20 nm (fijo) Monocromador: red de difracción holográfica cóncava; F/1,6; longitud de onda óptima: 400 nm	
Sistema de referencia	Medida de excitación en línea	
Programación de la tabla de tiempos	Hasta 4 longitudes de onda de señal, tiempo de respuesta, ganancia PMT, comportamiento de la línea base ("append", "free" o "zero") y parámetros espectrales	
Adquisición de espectros	Espectros de excitación o emisión Velocidad de barrido: 28 ms por punto de datos (p. ej., 0,6 s/espectro de 200 – 400 nm, paso de 10 nm) Tamaño del paso: 1 – 20 nm Almacenamiento de espectros: todos	
Características de longitud de onda	Repetibilidad: $\pm 0,2$ nm Exactitud: ajuste de ± 3 nm	

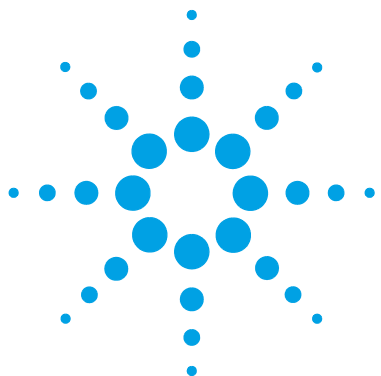
Tabla 6 Especificaciones de rendimiento del detector de fluorescencia Agilent Serie 1200 (G1321A)

Tipo	Especificación	Comentarios
Celdas de flujo	Estándar: volumen de 8 μL y presión máxima de 20 bar (2 MPa); bloque de sílice fundida Elementos opcionales: - Cubeta de fluorescencia para medidas espectroscópicas fuera de línea con una jeringa de 1 mL, con un volumen de 8 μL - Bioinerte: volumen de 8 μL y presión máxima de 20 bar (2 MPa); pH: 1–12 - Micro: volumen de 4 μL y presión máxima de 20 bar (2 MPa)	
Control y evaluación de datos	Agilent ChemStation para LC, Agilent Instant Pilot G4208A con capacidades limitadas de análisis de datos espectrales e impresión de espectros	
Salidas analógicas	Registrador/integrador: 100 mV ó 1 V; rango de salida: > 100 LU; dos salidas	Se recomienda un rango de 100 LU; consulte la sección "Rango de escala y condiciones de funcionamiento del detector de fluorescencia"
Comunicaciones	Red de área del controlador (CAN), RS-232C, LAN y APG Remotas: señales de "preparado", "iniciar", "detener" y "apagar"	
Seguridad y mantenimiento	Diagnóstico completo, detección y visualización de errores (a través del sistema Instant Pilot G4208A y el sistema ChemStation), detección de fugas, gestión segura de fugas y señal de salida de fugas para apagar el sistema de bombeo. Tensiones bajas en las áreas de mantenimiento principales.	

2 Requisitos y especificaciones de las instalaciones
Especificaciones de rendimiento

Tabla 6 Especificaciones de rendimiento del detector de fluorescencia Agilent Serie 1200 (G1321A)

Tipo	Especificación	Comentarios
Características de GLP	Mantenimiento preventivo asistido (EMF) para un seguimiento continuo de la utilización del instrumento en términos de tiempo de encendido de la lámpara, con límites ajustables por parte del usuario y mensajes de aviso. Registros electrónicos de las tareas de mantenimiento y los errores. Verificación de la exactitud de la longitud de onda, utilizando la banda Raman del agua.	
Carcasa	Todos los materiales son reciclables.	
Entorno	Temperatura constante de entre 0 – 40 °C con una humedad < 95 % (sin condensación)	
Dimensiones	Altura x anchura x profundidad: 140 mm x 345 mm x 435 mm (5,5 x 13,5 x 17 pulgadas)	
Peso	11,5 kg (25,5 lbs)	



3 Instalación del módulo

Desembalaje del módulo	52
Optimización de la configuración de la torre de módulos	54
Configuración de una torre de módulos	55
Configuración de dos torres de módulos	57
Información sobre gestión de fugas y residuos para la instalación	59
Instalación del módulo	63
Conexiones de flujo del módulo	66

En este capítulo se ofrece información acerca de la configuración de la torre de módulos aconsejada para su sistema y la instalación del módulo.



Desembalaje del módulo

Embalaje dañado

Si el embalaje de envío muestra signos de daño externo, llame inmediatamente a la oficina de ventas y servicio técnico de Agilent Technologies. Informe al representante del departamento de servicio técnico de que el instrumento se pudo haber dañado durante el envío.

PRECAUCIÓN

Problemas "Envío defectuoso"

Si presenta signos de posibles daños, no intente instalar el módulo. Es necesario que Agilent realice una inspección para evaluar si el instrumento se encuentra en buen estado o está dañado.

- En caso de estar dañado, notifíquelo a la oficina de ventas y servicio técnico de Agilent.
 - Un representante del departamento de servicio técnico de Agilent lo inspeccionará en su domicilio e iniciará las acciones adecuadas.
-

Lista de control de la entrega

Asegúrese de que haya recibido todas las piezas y materiales necesarios junto con el módulo. Más abajo se muestra la lista de control de la entrega.

Para identificar las piezas, consulte el desglose ilustrado de las piezas en [“Piezas para mantenimiento”](#) en la página 207.

Si alguna pieza falta o presenta daños, informe al representante comercial y de asistencia técnica local de Agilent Technologies.

Tabla 7 Lista de control del detector

Descripción	Cantidad
Detector	1
Cable de alimentación	1
Cable CAN	1
Celda de flujo	Según el pedido
Celda de flujo/cubeta opcional	Según el pedido
<i>Manual de usuario</i>	En el CD de documentación (parte del envío; no es específico del módulo)
Kit de accesorios (consulte “Kit de accesorios estándar” en la página 210)	1

Optimización de la configuración de la torre de módulos

Si el módulo forma parte de un cromatógrafo de líquidos completo Agilent 1260 Infinity, el rendimiento puede optimizarse mediante las configuraciones mencionadas a continuación. Estas configuraciones optimizan el paso de flujo del sistema y garantizan un volumen de retardo mínimo.

Configuración de una torre de módulos

Optimice el rendimiento instalando los módulos del sistema LC Agilent 1260 Infinity en la siguiente configuración (consulte [Figura 18](#) en la página 55 y [Figura 19](#) en la página 56). Esta configuración optimiza el paso de flujo para reducir el volumen de retardo y el espacio necesario en el banco.

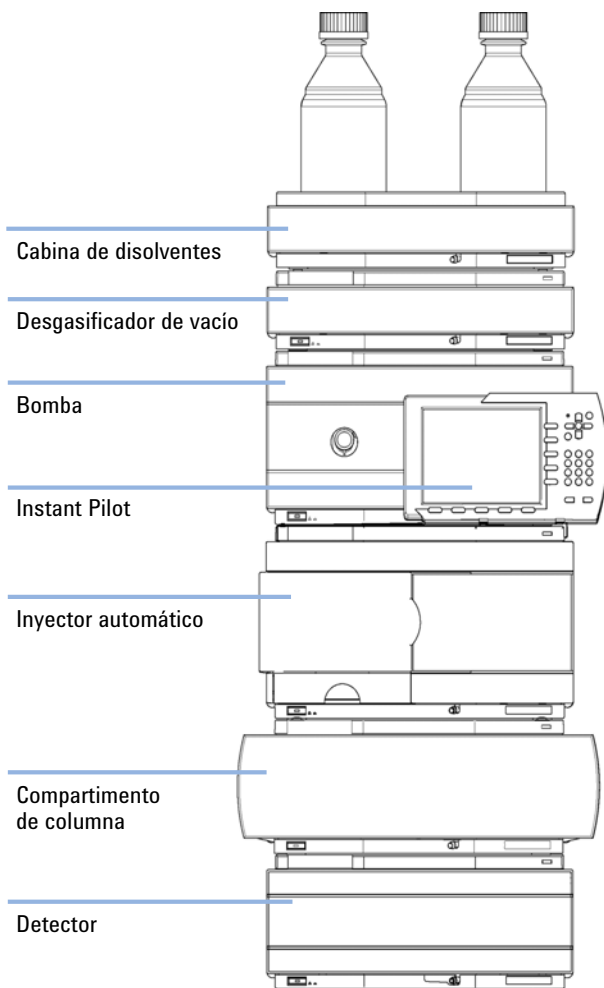


Figura 18 Configuración recomendada de una torre de módulos para el modelo 1260 Infinity (vista frontal)

3 Instalación del módulo

Optimización de la configuración de la torre de módulos

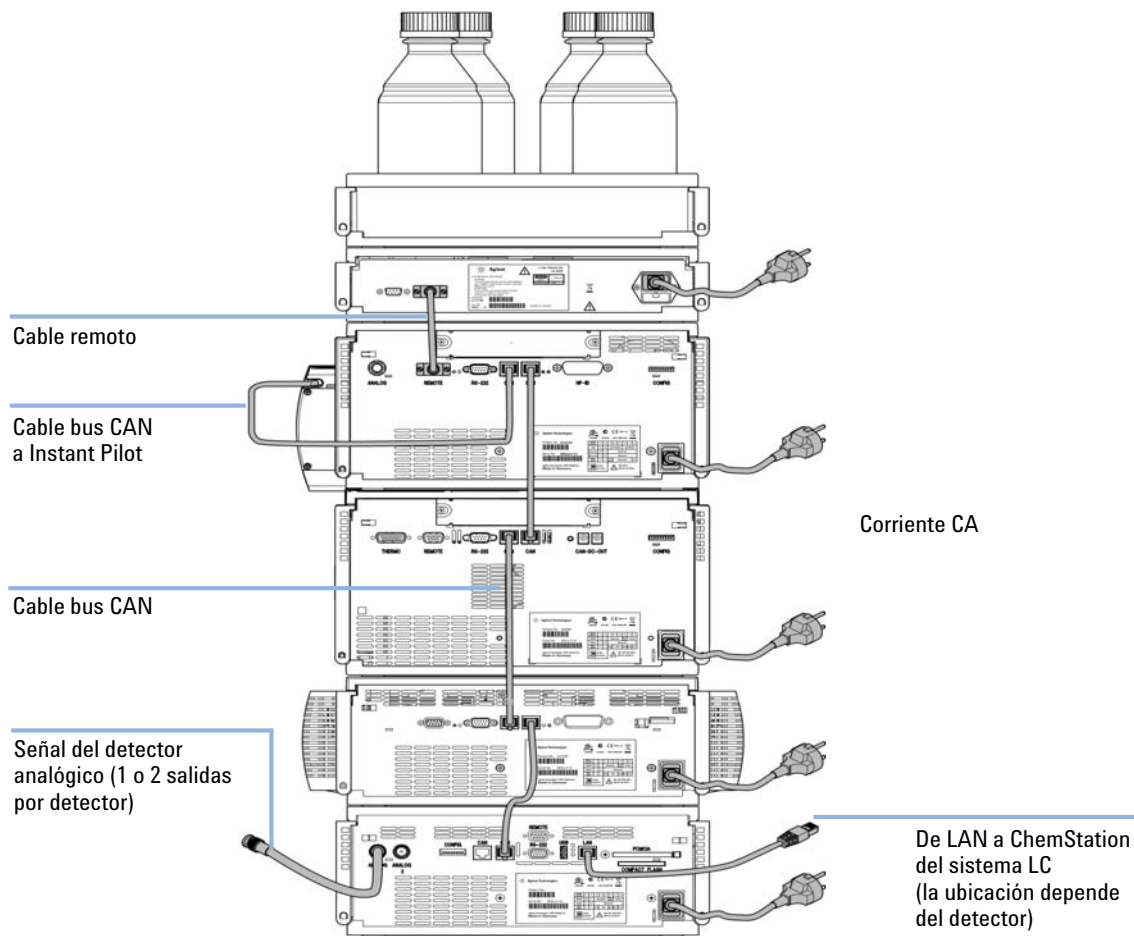


Figura 19 Configuración recomendada de una torre de módulos para el modelo 1260 Infinity (vista posterior)

Configuración de dos torres de módulos

Para evitar una altura excesiva de la torre de módulos cuando se incorpora el termostato del inyector automático al sistema, se recomienda formar dos torres de módulos. Algunos usuarios prefieren la menor altura de esta distribución, incluso sin el termostato del inyector automático. Se necesita un capilar ligeramente más largo entre la bomba y el inyector automático. (Consulte la [Figura 20](#) en la página 57 y la [Figura 21](#) en la página 58).

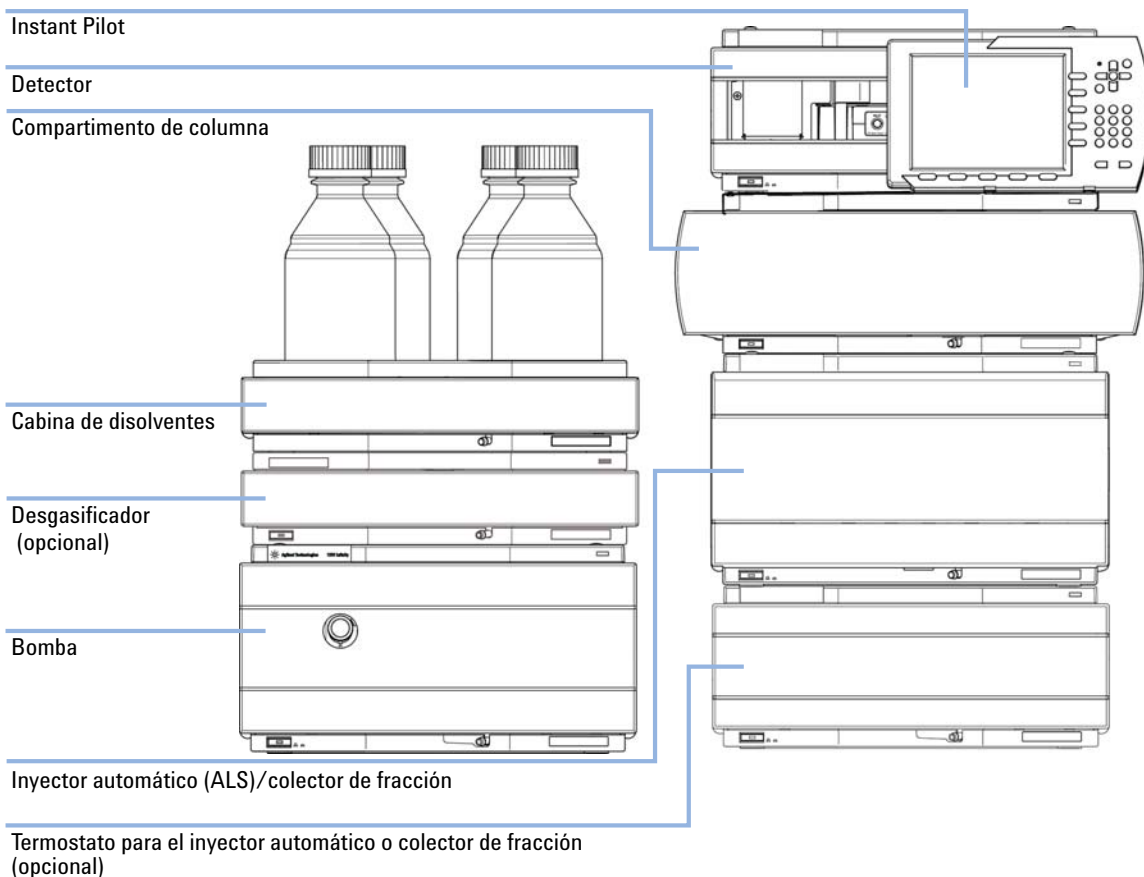


Figura 20 Configuración recomendada de dos torres de módulos para el modelo 1260 Infinity (vista frontal)

3 Instalación del módulo

Optimización de la configuración de la torre de módulos

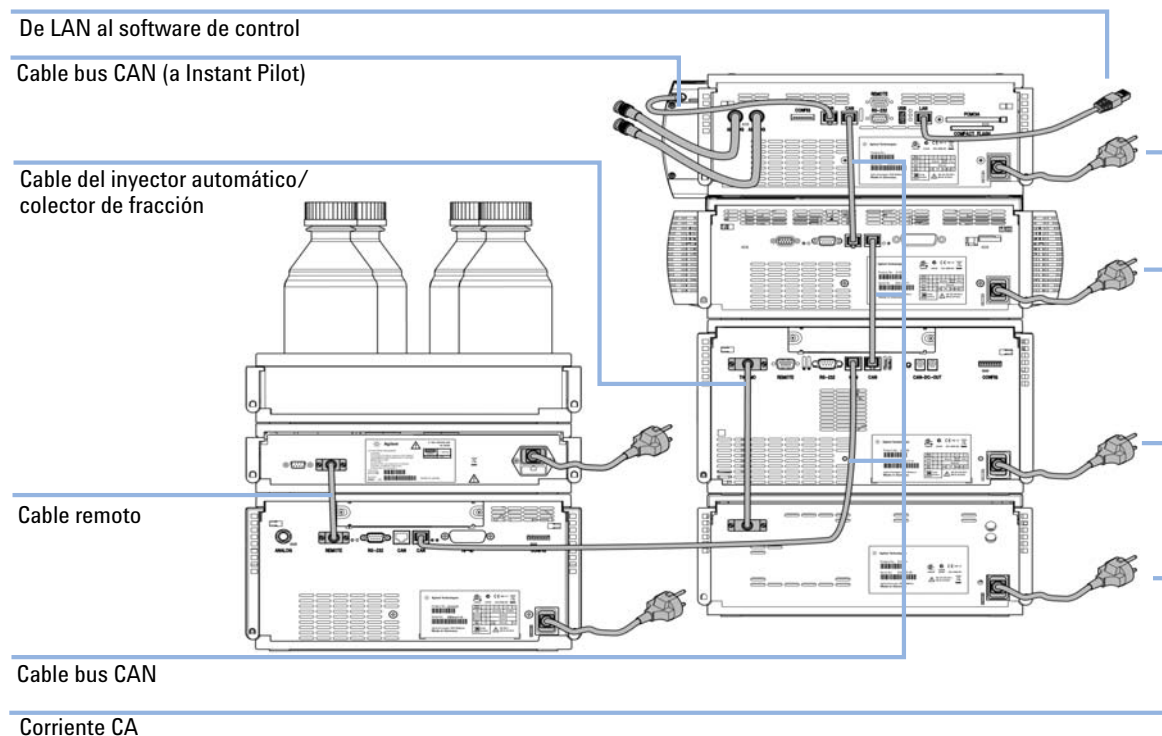


Figura 21 Configuración recomendada de dos torres de módulos para el modelo 1260 (vista posterior)

Información sobre gestión de fugas y residuos para la instalación

Los detectores Agilent Serie 1200 Infinity se han diseñado para conseguir una gestión segura de fugas y residuos. Es importante que comprenda todos los conceptos de seguridad y observe rigurosamente todas las instrucciones.

ADVERTENCIA

Disolventes, muestras y reactivos tóxicos, inflamables y peligrosos

La manipulación de disolventes, muestras y reactivos puede generar riesgos para la salud y la seguridad.

- Cuando se trabaje con ese tipo de sustancias, se deberán observar los procedimientos de seguridad correspondientes (por ejemplo, el uso de gafas, guantes y ropa de protección) descritos en la información sobre manipulación del material y la ficha de datos de seguridad suministrada por el proveedor; asimismo, deberán aplicarse buenas prácticas de laboratorio.
- El volumen de sustancias deberá limitarse al mínimo requerido para el análisis.
- Nunca debe superarse el volumen máximo admisible de disolventes (6 L) en la cabina de disolventes.
- No utilice botellas cuyo volumen sea mayor que el volumen máximo admisible especificado en las directrices de uso de las cabinas de disolventes Agilent Serie 1200 Infinity.
- Coloque las botellas tal como se especifique en las directrices de uso de la cabina de disolventes.
- Junto con la cabina de disolventes podrá encontrar una copia impresa de las directrices de uso; asimismo, dicho documento se encuentra disponible en formato electrónico en Internet.

NOTA

Recomendaciones asociadas a la cabina de disolventes

Para obtener más información, consulte las directrices de uso de las cabinas de disolventes Agilent Serie 1200 Infinity.

3 Instalación del módulo

Información sobre gestión de fugas y residuos para la instalación

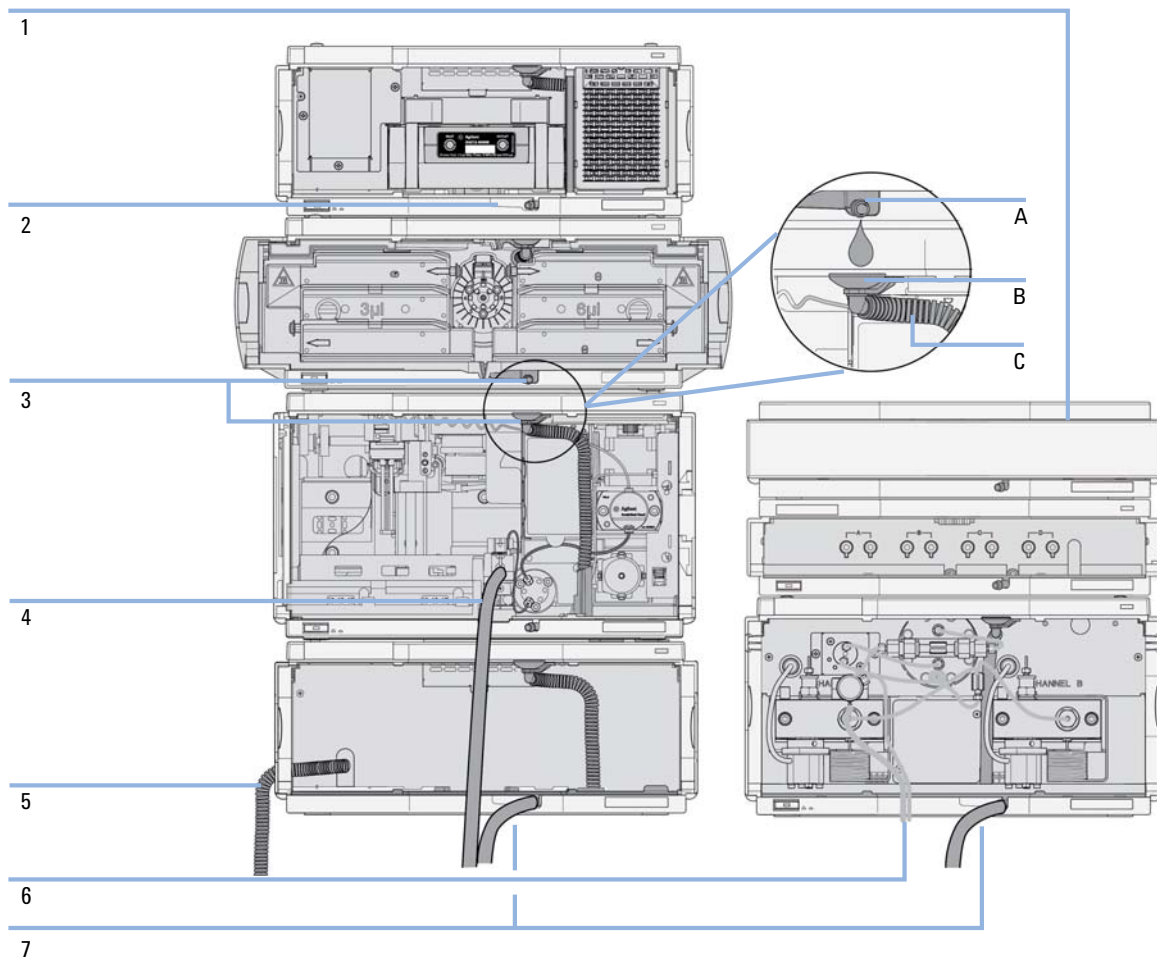


Figura 22 Sistema de gestión de fugas y residuos (vista general; como ejemplo, se muestra una configuración típica de la torre de módulos)

1	Cabina de disolventes
2	Bandeja de fugas
3	Puerto de salida de la bandeja de fugas (A), embudo para fugas (B) y tubo de residuos ondulado (C)
4	Tubo de residuos del lavado de la aguja del inyector
5	Puerto de drenaje del condensado del refrigerador del inyector automático
6	Tubo de residuos de la válvula de purga
7	Tubo de residuos

- 1 Apile los módulos de acuerdo con la configuración adecuada de la torre de módulos.
La bandeja de fugas del módulo superior debe quedar situada justo encima de la bandeja de fugas del módulo inferior; consulte [Figura 22](#) en la página 60.
- 2 Conecte los cables de transmisión de datos y alimentación a los módulos; consulte la sección *Instalación del módulo* siguiente.
- 3 Conecte los capilares y los tubos a los módulos; consulte la sección *Conexiones de flujo del módulo* de este manual o el manual del sistema correspondiente.

ADVERTENCIA

Disolventes, muestras y reactivos tóxicos, inflamables y peligrosos

- Evite la obstrucción de las zonas de paso del disolvente.
- Mantenga el paso de flujo cerrado (si la bomba del sistema incluye una válvula de entrada pasiva, podrían producirse fugas de disolvente debido a la presión hidrostática incluso si el instrumento está apagado).
- Evite que los tubos se enrollen.
- Evite que los tubos se comben.
- No doble los tubos.
- No sumerja el extremo del tubo en los residuos líquidos.
- No introduzca los tubos en otros tubos.
- Para colocar correctamente los tubos, siga las instrucciones de la etiqueta adherida al módulo.

3 Instalación del módulo

Información sobre gestión de fugas y residuos para la instalación



Figura 23 Etiqueta de aviso (ilustración sobre la colocación correcta del tubo de residuos)

Instalación del módulo

Piezas necesarias	Descripción Cable de alimentación Para otros cables, consulte “Visión general de los cables” en la página 214.
Software necesario	Sistema de datos de Agilent y/o Instant Pilot G4208A.
Preparaciones	Localice el espacio necesario Consiga las conexiones de corriente Desempaque el detector

ADVERTENCIA

El módulo no estará del todo apagado cuando se desenchufa, mientras el cable de alimentación esté conectado.

Los trabajos de reparación del módulo entrañan riesgos de daños personales, por ejemplo, descargas, si abre la cubierta del instrumento y éste está conectado a la corriente.

→

Asegúrese de poder acceder siempre al enchufe de corriente.

→

Retire el cable de corriente del instrumento antes de abrir la cubierta del módulo.

→

No conecte el cable al instrumento mientras las cubiertas no estén colocadas.

- 1

Instale la tarjeta de interfase LAN en el detector (si fuera necesario); consulte “[Sustitución de la tarjeta de interfaz](#)” en la página 203.
- 2

Coloque el detector en la pila de módulos o sobre el banco de trabajo en posición horizontal.

3 Instalación del módulo

Instalación del módulo

- 3 Asegúrese de que el interruptor principal de la parte frontal del detector esté apagado.

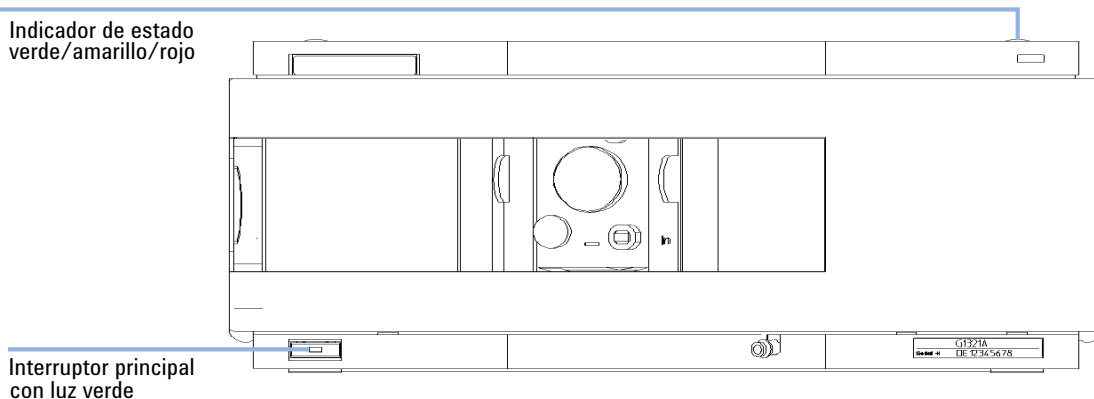


Figura 24 Vista frontal del detector

- 4 Conecte el cable de alimentación al conector de corriente de la parte posterior del detector.
- 5 Conecte el cable CAN a otros módulos.
- 6 Si Agilent ChemStation actúa como controlador, acople la conexión LAN a la tarjeta de interfaz LAN del detector.

NOTA

El detector (de diodos/de longitud de onda múltiple/de fluorescencia/de longitud de onda variable/de índice de refracción) es el punto de acceso aconsejado para el control mediante LAN (debido a la mayor carga de datos).

- 7 Conecte el cable analógico (opcional).
- 8 Conecte el cable remoto APG (opcional) para los módulos no Agilent.

- 9
- Encienda el equipo. Para ello, pulse el botón situado en la parte inferior izquierda del detector. El LED de estado debería estar verde.

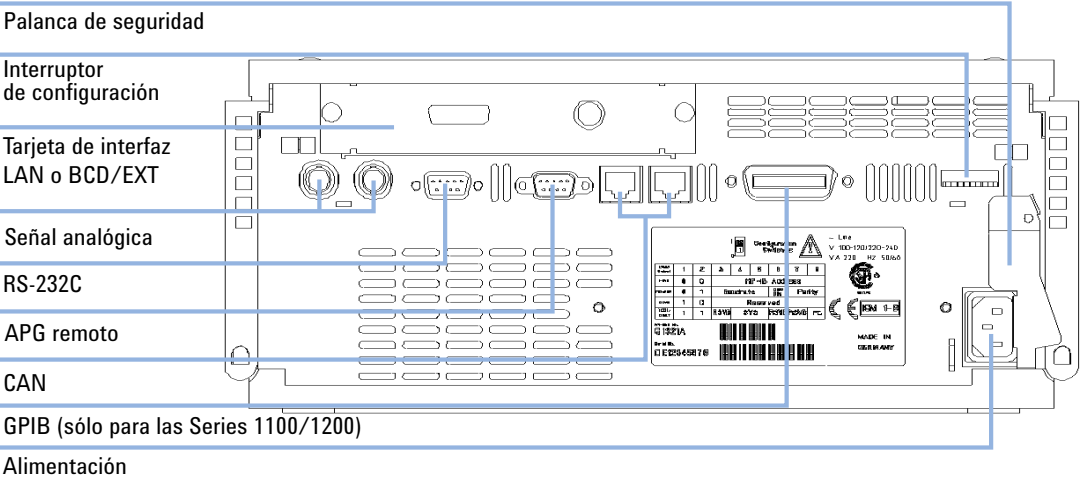


Figura 25 Vista trasera del detector

NOTA

El detector estará encendido cuando el interruptor principal esté pulsado y el indicador verde esté iluminado. El detector estará apagado cuando el interruptor principal sobresalga y la luz verde esté apagada.

NOTA

El detector se entrega con los valores de configuración predeterminados.

NOTA

La interfaz GPIOB se ha eliminado con la introducción de los módulos 1260 Infinity.

Conexiones de flujo del módulo



Utilice únicamente piezas bioinertes en los módulos bioinertes.

Herramientas necesarias	Descripción	
	Llave, 1/4 – 5/16 inch (para conexiones capilares)	
Piezas necesarias	Referencia	Descripción
	G1321-68755	Kit de accesorios
Preparaciones	El detector está instalado en el sistema LC.	

ADVERTENCIA

Disolventes, muestras y reactivos tóxicos, inflamables y peligrosos

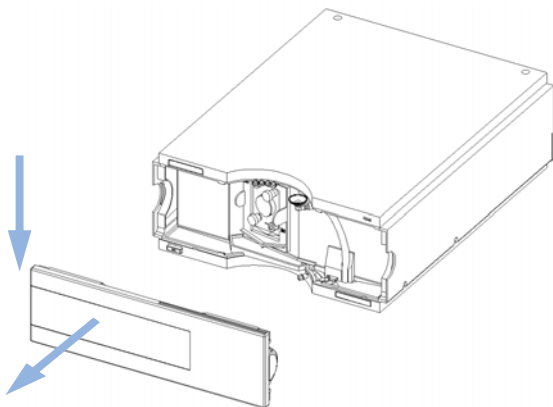
La manipulación de disolventes, muestras y reactivos puede suponer riesgos para la salud y la seguridad.

- Cuando se trabaje con esas sustancias, se deben observar los procedimientos de seguridad (por ejemplo, llevar gafas, guantes y ropa protectora) descritos en la información sobre tratamiento de material y datos de seguridad, suministrada por el vendedor y se debe seguir una buena práctica de laboratorio.
- El volumen de sustancias se debe reducir al mínimo requerido para el análisis.
- No manipule el instrumento en un ambiente explosivo.

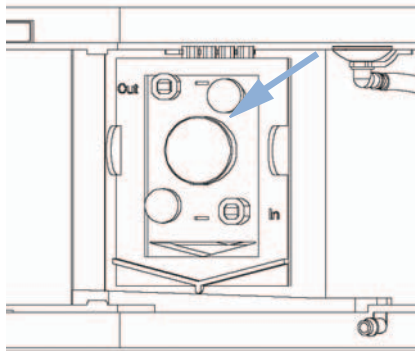
NOTA

La celda de flujo se envía llena de isopropanol (esto también se recomienda si el instrumento o la celda de flujo deben enviarse a otra ubicación). Esto se hace para evitar roturas debido a posibles condiciones subambientales.

- 1** Pulse las lengüetas y retire la cubierta frontal para acceder al área de la celda de flujo.



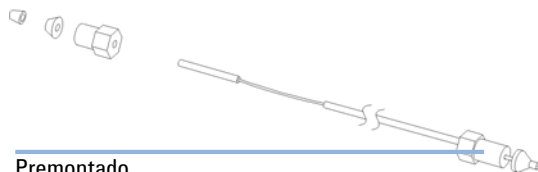
- 2** Localice la celda de flujo.



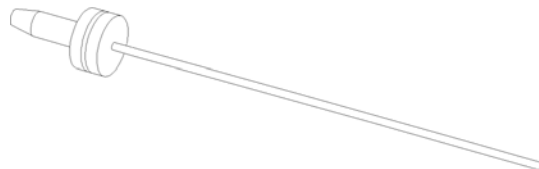
3 Instalación del módulo

Conexiones de flujo del módulo

- 3** Monte el capilar del detector de la columna del kit de accesorios. Una parte vendrá montada de fábrica.



- 4** Monte el tubo de residuos del kit de accesorios.



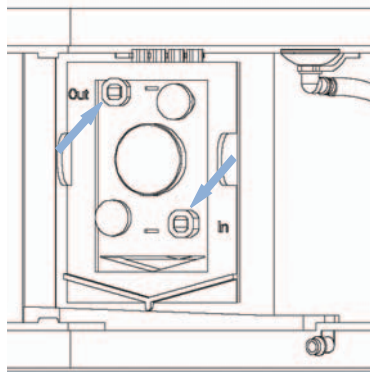
NOTA

El detector de fluorescencia debe ser el último módulo del sistema de flujo. Debe instalarse un detector adicional antes del detector de fluorescencia para evitar posibles sobrepresiones en la celda (valor máximo: 20 bar).

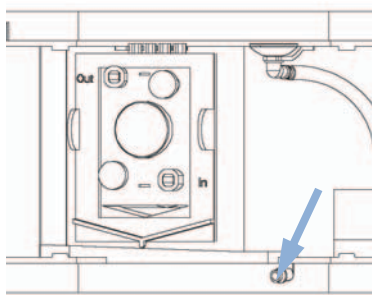
Si va a trabajar con un detector detrás del detector de fluorescencia (por su cuenta y riesgo), determine previamente la retropresión de este detector; para ello:

- Desmonte la columna y el último detector y mida la presión del sistema con el caudal de la aplicación.
- Conecte el último detector (sin la columna ni el detector de fluorescencia) y mida la presión del sistema con flujo.
- La diferencia de presión se deberá a la retropresión generada por el último detector y será la presión que observe el detector de fluorescencia.

- 5** Inserte la celda de flujo e instale los capilares en ella (el superior es la salida y el inferior es la entrada).

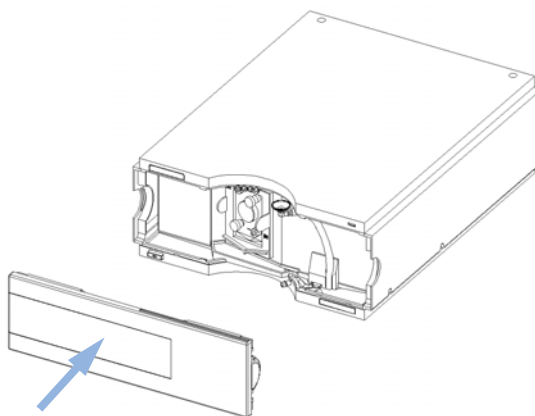


- 6** Conecte el tubo de residuos a la conexión de residuos inferior.



- 7** Establecer un flujo y observar si se producen fugas.

- 8** Vuelva a colocar la cubierta frontal.



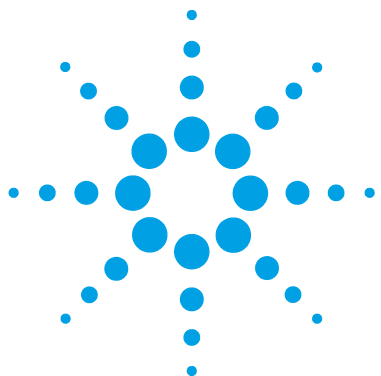
Llegado este punto, la instalación del detector habrá finalizado.

NOTA

El detector debe funcionar con la cubierta frontal colocada para proteger el área de la celda de flujo frente a corrientes exteriores fuertes.

3 **Instalación del módulo**

Conexiones de flujo del módulo



4

Utilización del detector de fluorescencia

Gestión de fugas y residuos	72
Antes de comenzar	74
Iniciación y comprobación	75
Arranque del detector	75
Configuración de las condiciones cromatográficas	76
Observación del máximo a través del gráfico de isoabsorbancia	78
Desarrollo de métodos	79
Paso 1: Comprobación de las posibles impurezas del sistema LC	80
Paso 2: Optimización de los límites de detección y la selectividad	82
Paso 3: Configuración de los métodos rutinarios	93
Ejemplo: Optimización de compuestos múltiples	97
Obtención de espectros con los modos SPECTRA ALL IN PEAK (Todos los espectros del pico) y APEX SPECTRA ONLY (Sólo los espectros del máximo)	107
Información sobre disolventes	111

En este capítulo se explica cómo comenzar a trabajar con el detector.



Gestión de fugas y residuos

ADVERTENCIA

Disolventes, muestras y reactivos tóxicos, inflamables y peligrosos

La manipulación de disolventes, muestras y reactivos puede generar riesgos para la salud y la seguridad.

- Cuando se trabaje con ese tipo de sustancias, se deberán observar los procedimientos de seguridad correspondientes (por ejemplo, el uso de gafas, guantes y ropa de protección) descritos en la información sobre manipulación del material y la ficha de datos de seguridad suministrada por el proveedor; asimismo, deberán aplicarse buenas prácticas de laboratorio.
- El volumen de sustancias deberá limitarse al mínimo requerido para el análisis.
- No utilice el instrumento en atmósferas explosivas.
- Nunca debe superarse el volumen máximo admisible de disolventes (6 L) en la cabina de disolventes.
- No utilice botellas cuyo volumen sea mayor que el volumen máximo admisible especificado en las directrices de uso de las cabinas de disolventes Agilent Serie 1200 Infinity.
- Coloque las botellas tal como se especifique en las directrices de uso de la cabina de disolventes.
- Junto con la cabina de disolventes podrá encontrar una copia impresa de las directrices de uso; asimismo, dicho documento se encuentra disponible en formato electrónico en Internet.
- El volumen libre residual del contenedor de residuos oportuno deberá ser lo suficientemente grande como para recoger los residuos líquidos.
- Compruebe periódicamente el nivel de llenado del contenedor de residuos.
- Para garantizar una seguridad máxima, compruebe periódicamente que la instalación funcione correctamente.

NOTA

Recomendaciones asociadas a la cabina de disolventes

Para obtener más información, consulte las directrices de uso de las cabinas de disolventes Agilent Serie 1200 Infinity.

Para obtener más detalles sobre su correcta instalación, consulte [“Información sobre gestión de fugas y residuos para la instalación”](#) en la página 59.

Antes de comenzar

Los disolventes de grado normal para LC ofrecen, generalmente, buenos resultados la mayor parte del tiempo. Sin embargo, la experiencia indica que el ruido de la línea base puede ser mayor (menor relación señal-ruido) si existen impurezas en los disolventes.

Lave el sistema de suministro de disolvente durante al menos 15 minutos antes de comprobar la sensibilidad. Si la bomba tiene canales múltiples, deberá lavar también los canales no utilizados.

Para obtener unos resultados óptimos, consulte [“Optimización del detector”](#) en la página 115.

NOTA

Algunas de las características descritas en este capítulo (p. ej., la adquisición de espectros o la detección de longitud de onda múltiple) no se encuentran disponibles para los detectores de fluorescencia G1321C.

Iniciación y comprobación

En este capítulo se describe la comprobación del detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity mediante la utilización de la muestra de comprobación isocrática de Agilent.

Arranque del detector

Cuándo	Si se desea revisar el detector		
Piezas necesarias	Número	Referencia	Descripción
	1	5063-6528	Kit de iniciación, incluye
	1		Columna LC y piezas indicadas a continuación
	1	01080-68704	Muestra de verificación isocrática de Agilent Esta ampolla de 0,5 mL contiene 0,15 wt.% de ftalato de dimetilo, 0,15 wt.% de ftalato de dietilo, 0,01 wt.% de bifenilo, 0,03 wt.% de o-terfenil en metanol.
	1	0100-1516	Conexión macho PEEK, 2/paq.
	1	5021-1817	Capilar de acero inoxidable (0,17 mm x 150 mm)
Hardware necesario	Sistema LC con detector de fluorescencia		
1 Encender el detector. 2 Encender la lámpara. Cuando se enciende la lámpara por primera vez, el instrumento realiza ciertas comprobaciones internas y una calibración que dura unos 5 minutos. 3 Ahora se puede cambiar la configuración del detector.			

Configuración de las condiciones cromatográficas

- 1 Configurar el sistema con las siguientes condiciones cromatográficas y esperar hasta que la línea base se estabilice.

Tabla 8 Condiciones cromatográficas

Fases móviles	A = agua = 35 % B = acetonitrilo = 65 %
Columna	Columna OSD-Hypersil, 125 mm x 4 mm d.i. con partículas de 5 µm
Muestra	Muestra estándar isocrática, 1:10 diluida en metanol
Velocidad de flujo	1,5 ml/min
Compresibilidad A (agua)	46
Compresibilidad B (Acetonitrilo)	115
Embolada A y B	auto
Tiempo de parada	4 minutos
Volumen de inyección	5 µl
Temperatura del horno (1200)	30 °C
Longitud de onda de excitación/emisión del FLD	EX = 246 nm, EM = 317 nm
Ganancia PMT del FLD	PMT = 10
Tiempo de respuesta del FLD	4 s

- 2 Fije los valores del detector de fluorescencia según la [Figura 26](#) en la página 77.

En este ejemplo se han utilizado longitudes de onda de excitación adicionales (B, C y D). Esto puede aumentar el tiempo de barrido y reducir el rendimiento.

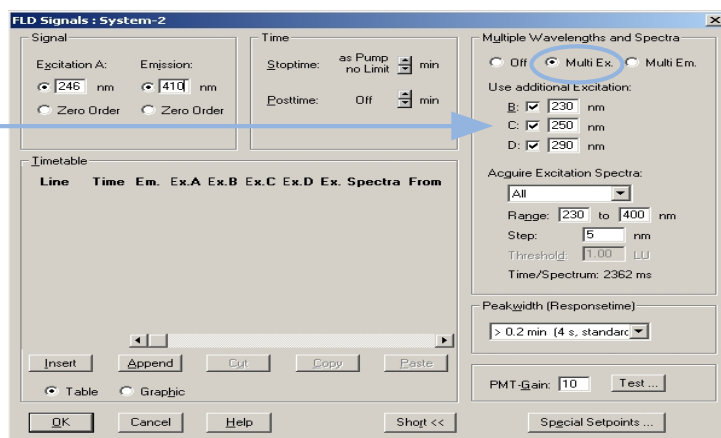


Figura 26 Parámetros del detector de fluorescencia

3 Inicie el análisis.

Los cromatogramas resultantes se muestran más abajo:

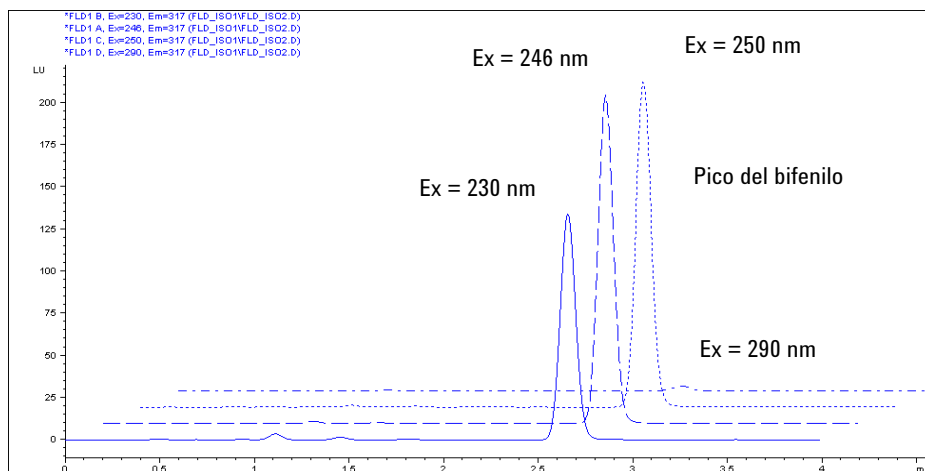


Figura 27 Pico del bifenilo con diferentes longitudes de onda de excitación

El máximo de excitación se produce en torno a 250 nm.

Observación del máximo a través del gráfico de isoabsorbancia

- 1 Cargue el archivo de datos ($\lambda_{EX} = 246 \text{ nm}$, $\lambda_{EM} = 317 \text{ nm}$) y abra el gráfico de isoabsorbancia.
- 2 El máximo (λ_{EX}) estará en torno a 250 nm.

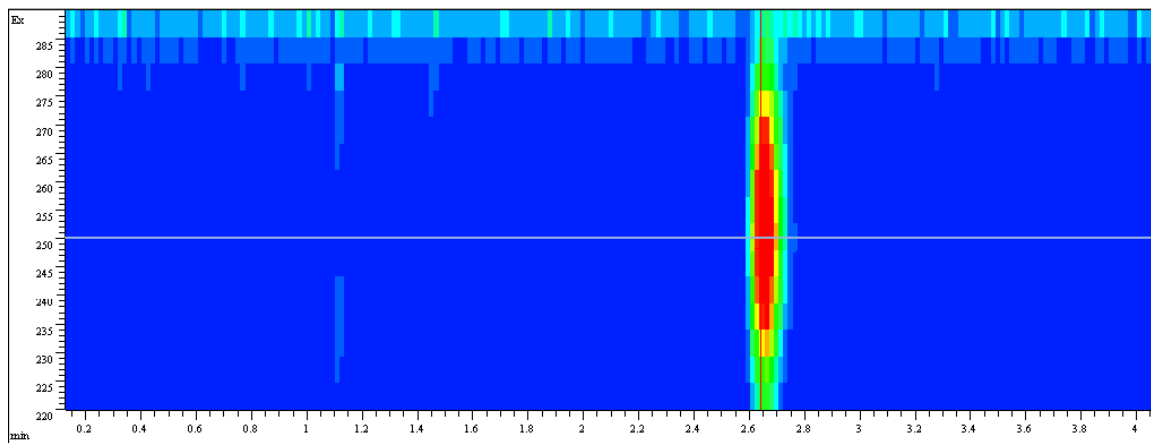


Figura 28 Gráfico de isoabsorbancia

Desarrollo de métodos

Los detectores de fluorescencia se utilizan en cromatografía líquida cuando es necesario disponer de límites de detección superiores y de una mayor selectividad. Un desarrollo intensivo de métodos, incluida la adquisición de espectros, resulta fundamental para conseguir buenos resultados. En este capítulo se describen tres pasos diferentes que pueden seguirse para el detector de fluorescencia Agilent. La [Tabla 9](#) en la página 79 presenta un esquema sobre cómo beneficiarse de los modos de funcionamiento durante estos pasos.

Tabla 9 Pasos para un desarrollo de métodos en todo detalle

	Paso 1: Verificar el sistema	Paso 2: Optimizar los límites de detección y selectividad	Paso 3: Configurar métodos de rutina
Barrido de fluorescencia	Búsqueda de impurezas (p. ej., en disolventes y agentes)	Determinar simultáneamente los espectros de excitación y emisión de un compuesto puro	
Modo de señal		Cambiar la longitud de onda	Utilizar para los límites de detección más bajos
Detección en modo espectral/longitud de onda múltiple		Determinar los espectros Ex/Em para todos los compuestos separados en un único análisis	Tomar espectros en línea, realizar búsquedas de librería, determinar la pureza de pico
		Activar hasta cuatro longitudes de onda simultáneamente	Desactivar el cambio de la longitud de onda

Paso 1: Comprobación de las posibles impurezas del sistema LC

Para la detección de fluorescencia con valores de trazas, resulta esencial disponer de un sistema LC libre de contaminación fluorescente. La mayoría de los contaminantes proceden de disolventes impuros. La realización de un barrido de fluorescencia es un método adecuado para comprobar la calidad del disolvente en pocos minutos. Esto puede hacerse, por ejemplo, rellenando la cubeta del detector de fluorescencia directamente con el disolvente para realizar una medida fuera de línea, incluso antes de comenzar el análisis cromatográfico. El resultado puede visualizarse como un gráfico de isofluorescencia o tridimensional. Los diferentes colores reflejan diferentes intensidades.

La [Figura 29](#) en la página 80 se corresponde con una muestra de agua ligeramente impura que iba a utilizarse como fase móvil. El área donde puede verse la fluorescencia del agua contaminada se sitúa entre las áreas de luz dispersa: la luz dispersa Rayleigh de primer y segundo orden y la luz dispersa Raman.

Se introdujo una muestra de agua pura en la celda de flujo. Se registraron los espectros con un valor de paso de 5 nm.

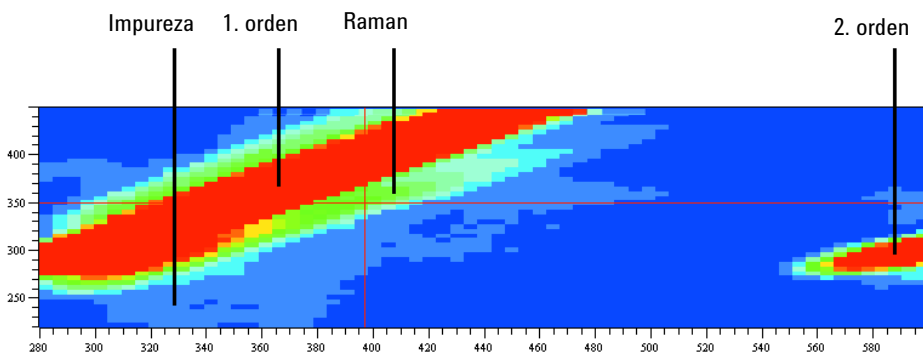


Figura 29 Gráfico de isofluorescencia de una fase móvil

Dado que las longitudes de onda de “excitación” y “emisión” son iguales para la luz dispersa Rayleigh, el área de luz dispersa Rayleigh de primer orden queda visible en la parte superior izquierda del diagrama. Las bandas Raman del agua pueden verse bajo la luz dispersa Rayleigh de primer orden. Dado que el filtro de corte elimina la luz por debajo de 280 nm, la luz dispersa Rayleigh de segundo orden comienza por encima de 560 nm.

La luz dispersa actúa de igual modo que las impurezas, es decir, simulando ruido de fondo. En ambos casos, se obtiene un nivel de ruido mayor y, por tanto, un límite de detección más elevado. Esto indica que las medidas de elevada sensibilidad deben realizarse lejos de los valores de longitud de onda que tengan un ruido de fondo de luz dispersa elevado.

Paso 2: Optimización de los límites de detección y la selectividad

Con el fin de conseguir unos límites de detección y una selectividad óptimos, los analistas deben averiguar las propiedades fluorescentes de los compuestos de interés. Las longitudes de onda de excitación y emisión pueden seleccionarse para obtener unos límites de detección y una selectividad óptimos. En general, los espectros de fluorescencia obtenidos con diferentes instrumentos pueden mostrar diferencias significativas en función del hardware y el software utilizados.

La estrategia tradicional consiste en extraer una longitud de onda de excitación adecuada del espectro UV, que sea similar al espectro de excitación de fluorescencia (consulte [Figura 30](#) en la página 82), y registrar el espectro de emisión. Después, una vez determinada la longitud de onda de emisión óptima, se adquiere el espectro de excitación.

Espectro de excitación con emisión a 440 nm y espectro de emisión con excitación a 250 nm de 1 µg/ml de quinidina. Configuración del detector: tamaño de paso: 5 nm; PMT 12; tiempo de respuesta: 4 s.

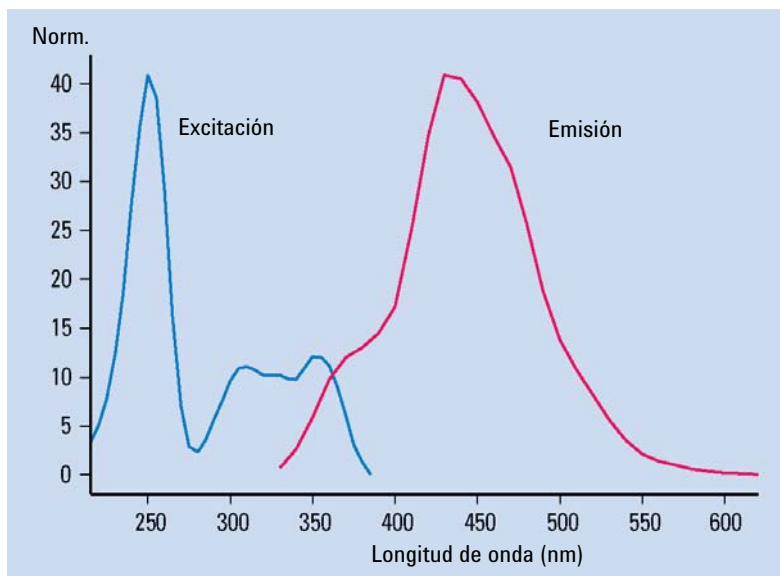


Figura 30 Espectros de excitación y emisión de la quinidina

Estas tareas han de repetirse para cada compuesto utilizando un espectrofotómetro de fluorescencia o usando condiciones de parada de flujo en la LC. Generalmente, cada compuesto requiere un análisis independiente. Como resultado, se obtiene un espectro de excitación y emisión (Figura 29 en la página 80) para cada compuesto. Se trata de un procedimiento laborioso, por lo que sólo resulta aplicable cuando exista un número limitado de compuestos de interés.

El sistema LC Agilent Serie 1200 Infinity ofrece tres formas distintas de obtener información completa sobre la fluorescencia de un compuesto:

Procedimiento I: Realizar un barrido de fluorescencia fuera de línea para un único compuesto, según se ha descrito anteriormente para la fase móvil. Esto debe hacerse preferiblemente con una cubeta manual del detector de fluorescencia cuando haya compuestos puros disponibles.

Procedimiento II: Realizar dos análisis de LC con el detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity para separar la mezcla de compuestos bajo condiciones conocidas y adquirir espectros de excitación y emisión por separado.

Procedimiento III: Utilizar una combinación de detector de fluorescencia y detector de diodos Agilent Serie 1200 Infinity para adquirir espectros UV/visibles (equivalentes a los espectros de excitación) con el detector de diodos y espectros de emisión con el detector de fluorescencia en un único análisis.

Procedimiento I: Realización de un barrido de fluorescencia

Dado que, tradicionalmente, los espectros de fluorescencia no podían obtenerse fácilmente con los antiguos detectores de fluorescencia de LC, en el pasado se utilizaron espectrofotómetros de fluorescencia estándar para adquirir información espectral de compuestos desconocidos. Desafortunadamente, esta estrategia limita la optimización, ya que es previsible que existan diferencias entre el diseño óptico del detector de LC y el espectrofotómetro de fluorescencia específico, o incluso entre detectores. Estas diferencias pueden conducir a variaciones en las longitudes de onda óptimas de excitación y emisión.

El detector de fluorescencia Agilent Serie 1260 ofrece un barrido de fluorescencia que suministra toda la información espectral previamente obtenida con un espectrofotómetro de fluorescencia estándar, independientemente del detector de fluorescencia de LC. La Figura 31 en la página 85 muestra la información completa obtenida para la quinidina con el detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity y una cubeta manual en una única medida fuera de línea.

4 Utilización del detector de fluorescencia

Desarrollo de métodos

Las longitudes de onda óptimas de excitación y emisión pueden extraerse como coordenadas de los máximos del gráfico tridimensional. Puede elegirse uno de los tres máximos del centro del gráfico para definir la longitud de onda de excitación. La selección dependerá de los compuestos adicionales que se vayan a analizar en el análisis cromatográfico y del ruido de fondo, que puede ser diferente en función de la excitación a 250 nm, 315 nm ó 350 nm. El máximo de emisión se observa a 440 nm.

Detalles para la [Figura 31](#) en la página 85:

En el gráfico se muestran todos los espectros de excitación y emisión de la quinidina (1 µg/ml). La intensidad de fluorescencia se representa frente a las longitudes de onda de excitación y emisión.

Configuración del detector: tamaño de paso: 5 nm; PMT 12 ; tiempo de respuesta: 4 s.

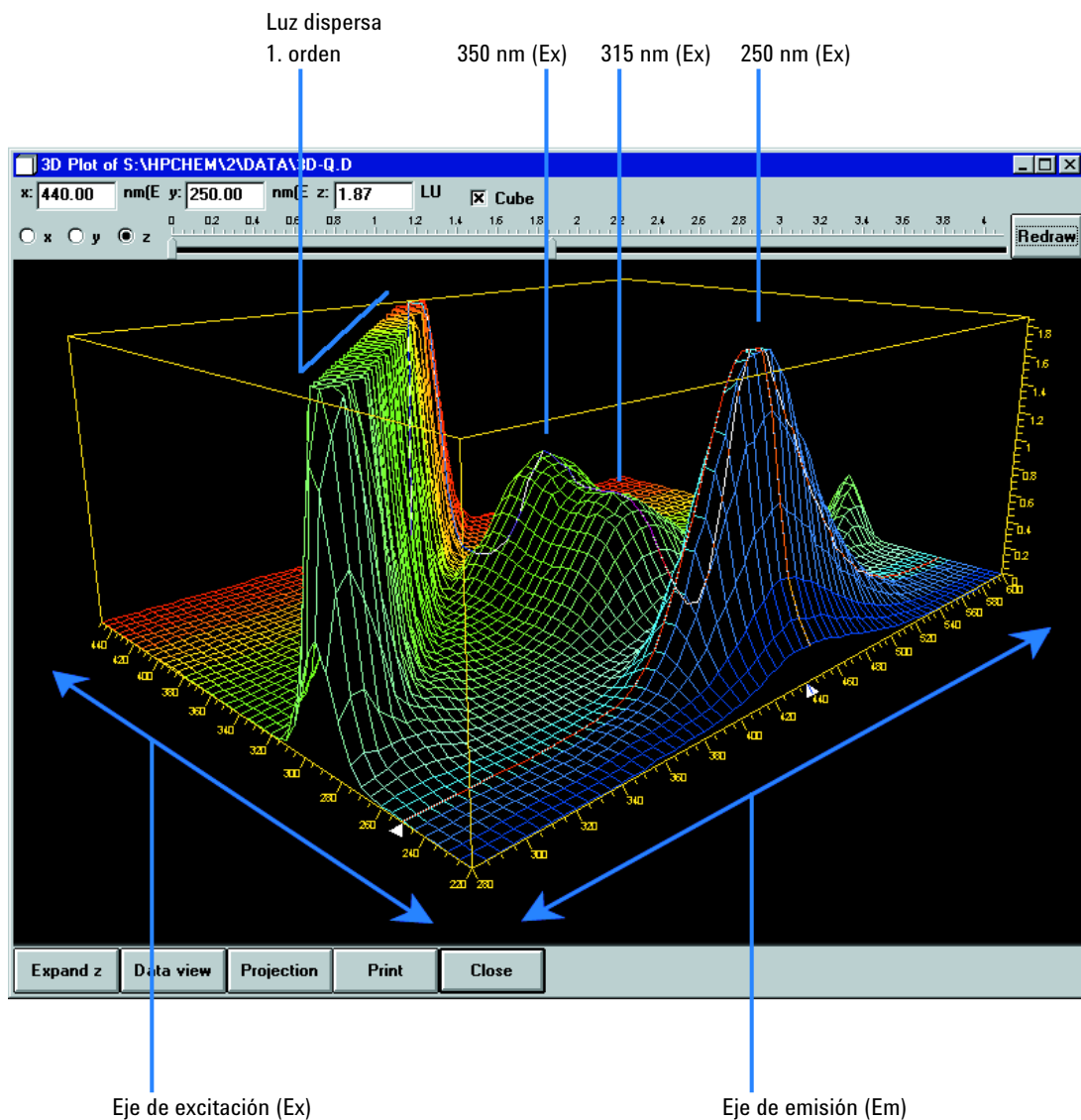


Figura 31 Caracterización de un compuesto puro a partir de un barrido de fluorescencia

Procedimiento II: Realización de dos análisis de LC con el detector de fluorescencia

Las condiciones para la separación de compuestos orgánicos como hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) se describen de forma adecuada en diversos métodos estándar, incluidos los métodos EPA y DIN, comúnmente utilizados. Para alcanzar unos niveles de detección óptimos deben buscarse las longitudes de onda óptimas de excitación y emisión de todos los compuestos. Sin embargo, la necesidad de realizar barridos de fluorescencia individuales hace que resulte un proceso laborioso. Una estrategia más adecuada es adquirir espectros en línea para todos los compuestos durante un análisis. Esto acelera enormemente el desarrollo de los métodos. Dos análisis son suficientes para la optimización.

Durante el *primer análisis*, se elige una longitud de onda del rango UV bajo como longitud de onda de excitación y una longitud de onda de emisión del rango espectral de longitudes de onda de emisión. La mayoría de los fluoróforos muestran una fuerte absorción a estas longitudes de onda y un rendimiento cuántico elevado. La excitación resulta suficiente para recoger espectros de emisión.

La [Tabla](#) en la página 88 contiene todos los espectros de emisión obtenidos en un único análisis de una mezcla de 15 HAP. Este conjunto de espectros se utiliza para configurar una tabla de tiempos con las longitudes de onda de emisión óptimas de todos los compuestos.

Los espectros de compuestos individuales del gráfico de iso fluorescencia muestran que se necesitan al menos tres longitudes de onda de emisión para detectar correctamente los 15 HAP.

Tabla 10 Tabla de tiempos para el análisis de PNA

0 minutos:	350 nm	para naftaleno a fenantreno
8,2 minutos:	420 nm	para antraceno a benzo(g,h,i)perileno
19,0 minutos:	500 nm	para indeno(1,2,3-cd)pireno

En el segundo análisis, se introducen tres valores para las longitudes de onda de emisión en el programa de tiempos y se registran los espectros de excitación, tal como se muestra en la [Figura 33](#) en la página 89. El área de intensidad elevada (color rojo) la genera la luz dispersa cuando los espectros de emisión se solapan con la longitud de onda de excitación. Esto puede evitarse

fijando el rango espectral automáticamente. La excitación a 260 nm es la más apropiada para todos los HAP.

Tabla 11 Condiciones para optimización del análisis de PNA según los siguientes datos

Columna	Vydac, 2,1 x 200 mm, PNA, 5 µm
Fase móvil	A = agua; B = acetonitrilo (50: 50)
Gradiente	3 minutos, 60% 14 minutos, 90% 22 minutos, 100%
Velocidad de flujo	0,4 ml/min
Temperatura de la columna	18 °C
Volumen de inyección	5 µl
Parámetros del FLD	PMT 12, tiempo de respuesta 4 s, tamaño del paso 5 nm

4 Utilización del detector de fluorescencia

Desarrollo de métodos

En la ilustración se muestra el gráfico de iso fluorescencia del espectro de emisión de 15 HAP (5 µg/ml) con una longitud de onda de excitación fija (260 nm).

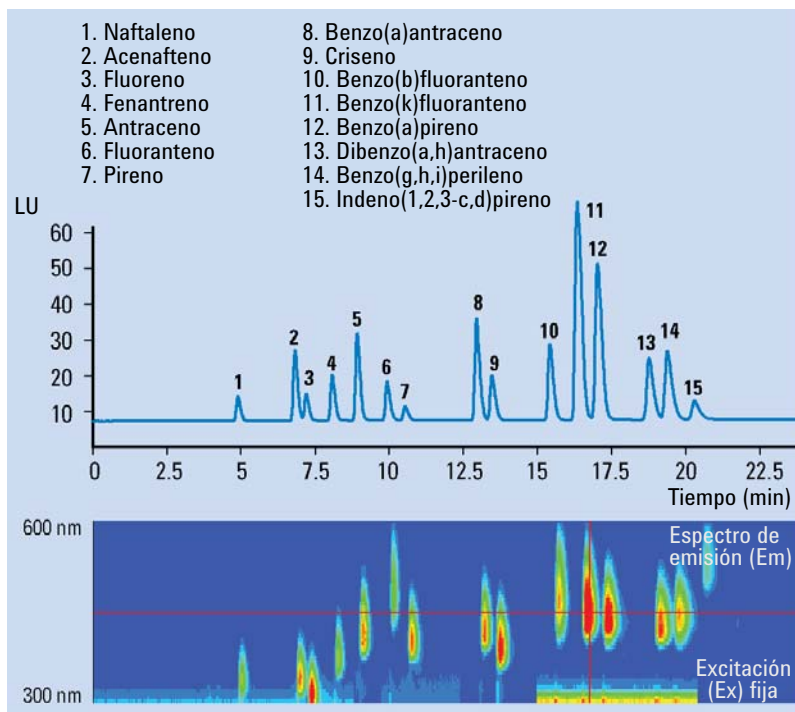


Figura 32 Optimización del programa de tiempos para la longitud de onda de emisión

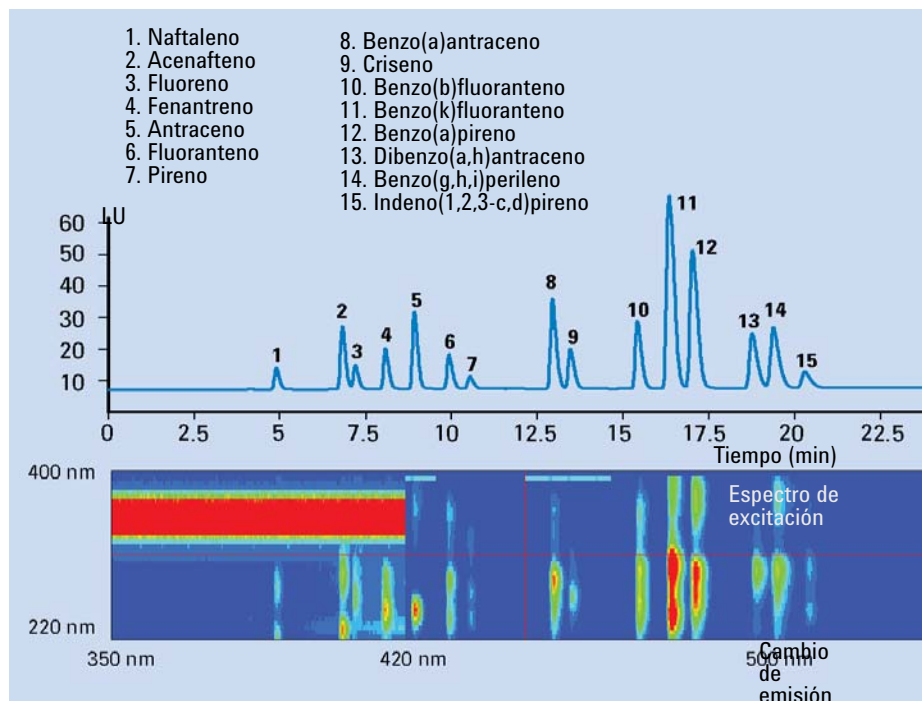


Figura 33 Optimización del programa de tiempos para la longitud de onda de excitación

Los datos obtenidos se combinan para configurar la tabla de tiempos de la longitud de onda de excitación y obtener el mejor límite de detección y la mejor selectividad. Los puntos de cambio óptimos de este ejemplo se resumen en la [Tabla 12](#) en la página 89.

Tabla 12 Tabla de tiempos para el análisis de 15 hidrocarburos aromáticos polinucleares

Tiempo [min.]	Longitud de onda de excitación [nm]	Longitud de onda de emisión [nm]
0	260	350
8,2	260	420
19,0	260	500

Esta tabla de tiempos incluye las condiciones para obtener una detección óptima basadas en los resultados de los dos análisis cromatográficos.

Procedimiento III: Realización de un único análisis con una combinación de detector de diodos y detector de fluorescencia

Para la mayoría de los compuestos orgánicos, los espectros UV de los detectores de diodos son prácticamente idénticos a los espectros de excitación de fluorescencia. Las diferencias espectrales se deben a características específicas del detector, como la resolución espectral o las fuentes de luz.

En la práctica, la combinación de un detector de diodos con un detector de fluorescencia en serie proporciona el conjunto completo de datos necesarios para conseguir longitudes de onda óptimas de excitación y de emisión, para una serie de compuestos en un único análisis. El detector de diodos permite conocer los espectros UV/visible/de excitación, mientras que el detector de fluorescencia está configurado para adquirir espectros de emisión con una longitud de onda de excitación fija en el rango UV bajo.

Este ejemplo se ha tomado de un control de calidad de carbamatos. Las muestras se analizaron en busca de las impurezas: 2,3-diaminofenacina (DAP) y 2-amino-3-hidroxifenacina (AHP). Las muestras de referencia de DAP y AHP se analizaron con detectores de diodos y de fluorescencia. La [Tabla](#) en la página 91 muestra los espectros obtenidos con ambos detectores para la DAP. El espectro de excitación de la DAP es muy similar al de absorción UV del detector de diodos. La [Tabla](#) en la página 92 muestra la aplicación satisfactoria del método a una muestra de carbamato y a una mezcla pura de DAP y AHP a modo de referencia. La columna se sobrecargó con el carbamato no fluorescente (éster metílico del ácido 2-bencimidazol-carbámico/MBC) para observar las impurezas conocidas (AHP y DAP).

Ésta es una impureza de los carbamatos. El espectro de excitación del segundo análisis muestra la equivalencia entre el espectro UV y el espectro de excitación de fluorescencia. Se utilizó una longitud de onda de excitación de 265 nm para obtener el espectro de emisión y una longitud de onda de emisión de 540 nm para conseguir el espectro de excitación.

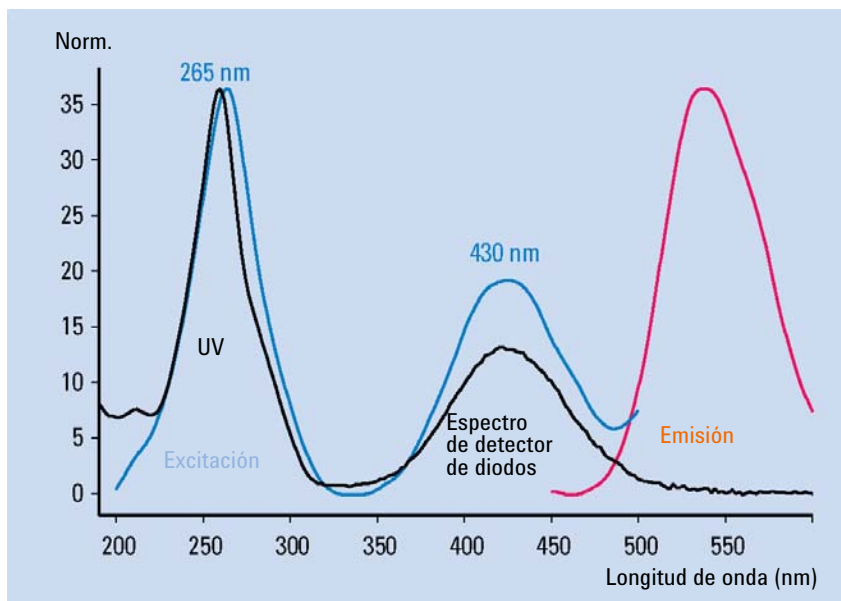


Figura 34 Espectro UV y espectros de fluorescencia de la 2,3-diaminofenacina (DAP)

4 Utilización del detector de fluorescencia
Desarrollo de métodos

Las dos líneas superiores se obtuvieron utilizando dos longitudes de onda de excitación distintas. La línea inferior corresponde a un patrón puro de las impurezas conocidas.

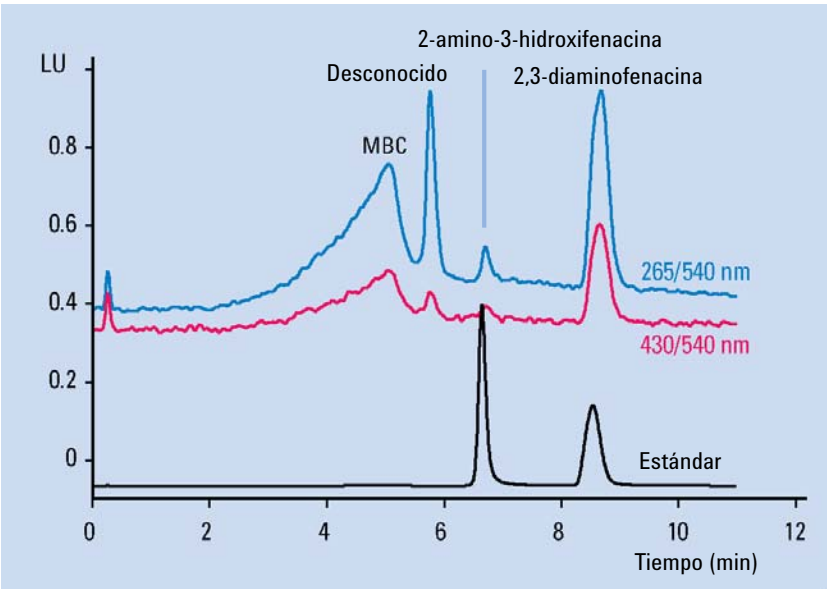


Figura 35 Análisis cualitativo de MBC (éster metílico del ácido 2-bencimidazol-carbámico) e impurezas

Tabla 13 Condiciones para análisis de DAP y MBC de acuerdo con los siguientes datos

Columna	Zorbax SB, 2 x 50 mm, PNA, 5 µm
Fase móvil	A = agua; B = acetonitrilo
Gradiente	0 minutos, 5% 10 minutos, 15 %
Velocidad de flujo	0,4 ml/min
Temperatura de la columna	35 °C
Volumen de inyección	5 µl
Parámetros del FLD	PMT 12, tiempo de respuesta 4 s, tamaño del paso 5 nm Ex 265 nm y 430 nm Em 540 nm

Paso 3: Configuración de los métodos rutinarios

En los análisis rutinarios, las matrices de las muestras pueden influir significativamente sobre los tiempos de retención. Para obtener resultados fiables, la preparación de la muestra debe ser cuidadosa para evitar interferencias y los métodos de LC deben ser lo suficientemente robustos. Con matrices complejas, la detección simultánea de longitudes de onda múltiples ofrece mayor fiabilidad que el cambio de longitud de onda controlado mediante una tabla de tiempos. Además, el detector de fluorescencia puede adquirir espectros de fluorescencia mientras registra las señales del detector para el análisis cuantitativo. Por tanto, en los análisis rutinarios se dispone de datos cualitativos para la confirmación de los picos y las comprobaciones de pureza.

Detección de longitud de onda múltiple

El cambio programado de la longitud de onda se utiliza tradicionalmente para conseguir límites de detección bajos y una elevada selectividad en análisis cuantitativos rutinarios. Dicho cambio resulta difícil si el tiempo de elución de los compuestos es similar y éstos requieren modificar la longitud de onda de excitación o emisión. Los picos pueden verse distorsionados y la cuantificación puede resultar imposible si se produce un cambio de longitud de onda durante la elución de un compuesto. Esto sucede muy a menudo en matrices complejas e influye sobre la retención de los compuestos.

En modo espectral, el detector de fluorescencia puede adquirir hasta cuatro señales diferentes simultáneamente. Todas ellas pueden utilizarse para el análisis cuantitativo. Aparte de para las matrices complejas, esto resulta ventajoso cuando se buscan impurezas a longitudes de onda adicionales. También ofrece ventajas para alcanzar límites de detección bajos o aumentar la selectividad mediante el ajuste de valores óptimos de longitud de onda en cualquier momento. El número de datos adquiridos por señal se reduce y, por tanto, los límites de detección pueden ser más elevados, en función de los parámetros del detector comparados con el modo de señal.

El análisis de HAP, por ejemplo, puede realizarse con detección simultánea de longitud de onda múltiple, en lugar de con detección con cambio de longitud de onda. Con cuatro longitudes de onda diferentes de emisión, pueden monitorizarse los 15 HAP ([Tabla](#) en la página 95).

4 Utilización del detector de fluorescencia

Desarrollo de métodos

Tabla 14 Condiciones para la detección simultánea de longitud de onda múltiple para análisis de HAP (consulte los siguientes datos)

Columna	Vydac, 2,1 x 250 mm, HAP, 5 µm
Fase móvil	A = agua; B = acetonitrilo (50 / 50)
Gradiente	3 min, 60 % 14,5 min, 90 % 22,5 min, 95 %
Caudal	0,4 mL/min
Temperatura de la columna	22 °C
Volumen de inyección	2 µL
Parámetros del detector de fluorescencia	PMT 12 ; tiempo de respuesta: 4 s

La línea superior se obtuvo con un cambio convencional de longitud de onda.

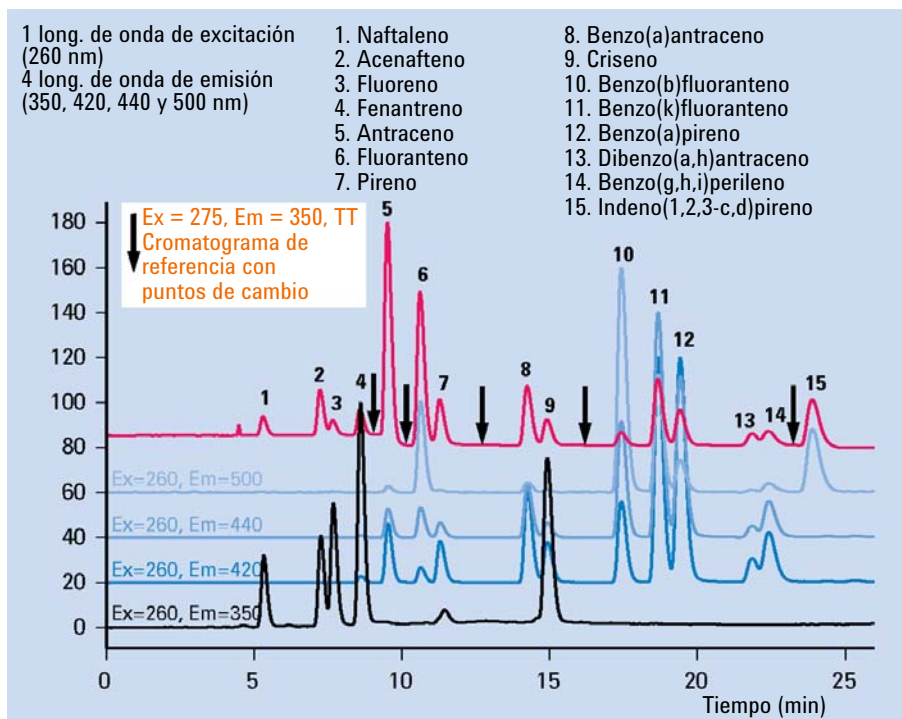


Figura 36 Detección simultánea de longitud de onda múltiple para el análisis de HAP

Previamente, sólo los detectores de diodos y los detectores espectrométricos de masas podían suministrar información espectral en línea para confirmar la identidad de los picos de acuerdo con el tiempo de retención.

Ahora, los detectores de fluorescencia sirven como herramienta adicional para la confirmación automatizada de picos y el control de la pureza. No es necesario realizar análisis adicionales tras el análisis cuantitativo.

Durante el desarrollo de los métodos, se recogen espectros de excitación y emisión de fluorescencia de patrones de referencia y se introducen en una biblioteca, a elección del que desarrolle el método. Posteriormente, todos los datos espectrales de muestras desconocidas podrán compararse automáticamente con los datos de las librerías. [Tabla 15](#) en la página 96 ilustra este principio utilizando un análisis de HAP. El factor de coincidencia incluido en el informe para cada pico indica el grado de similitud entre el espectro de referencia y los espectros de un pico. Un factor de coincidencia de 1.000 implica espectros idénticos.

Además, la pureza de un pico puede investigarse comparando espectros obtenidos para un único pico. Cuando se determine que un pico está dentro de los límites de pureza definidos por el usuario, el factor de pureza será el valor de pureza medio de todos los espectros que estén dentro de los límites de pureza.

La fiabilidad de la pureza y el factor de coincidencia dependen de la calidad de los espectros registrados. Dado el pequeño número de datos que, en general, permite obtener el detector de fluorescencia, los factores de coincidencia y los datos de pureza obtenidos presentan fuertes desviaciones en comparación con los datos del detector de diodos, incluso si los compuestos son idénticos.

La [Tabla 15](#) en la página 96 muestra una búsqueda automatizada en biblioteca basada en los espectros de emisión de una muestra de referencia de HAP.

Tabla 15 Confirmación de pico utilizando una librería espectral de fluorescencia

Medida T. retención	Librería	TblCal	Señal	Cantidad	Pureza	#	Coinci dencia	Nombre librería
[min]	[min]	[min]		[ng]	Factor			
4,859	4,800	5,178	1	1,47986e-1	-	1	993	Naftaleno@em
6,764	7,000	7,162	1	2,16156e-1	-	1	998	Acenafteno@em
7,137	7,100	7,544	1	1,14864e-1	-	1	995	Fluoreno@em
8,005	8,000	8,453	1	2,56635e-1	-	1	969	Fenantreno@em
8,841	8,800	9,328	1	1,76064e-1	-	1	993	Antraceno@em
9,838	10,000	10,353	1	2,15360e-1	-	1	997	Fluoranteno@em
10,439	10,400	10,988	1	8,00754e-2	-	1	1000	Pireno@em
12,826	12,800	13,469	1	1,40764e-1	-	1	998	Benz(a)antraceno@em
13,340	13,300	14,022	1	1,14082e-1	-	1	999	Criseno@em
15,274	15,200	16,052	1	6,90434e-1	-	1	999	Benzo(b)fluoranteno@em
16,187	16,200	17,052	1	5,61791e-1	-	1	998	Benzo(k)fluoranteno@em
16,865	16,900	17,804	1	5,58070e-1	-	1	999	Benz(a)pireno@em
18,586	18,600	19,645	1	5,17430e-1	-	1	999	Dibenz(a,h)antraceno@em
19,200	19,100	20,329	1	6,03334e-1	-	1	995	Benzo(g,h,i)perileno@em
20,106	20,000	21,291	1	9,13648e-2	-	1	991	Indeno(1,2,3-cd)pireno@em

Ejemplo: Optimización de compuestos múltiples

Ejemplo: Optimización de compuestos múltiples

Usando PNAs como muestra, el ejemplo usa las funciones de barrido descritas.

Configuración de las condiciones cromatográficas

En este ejemplo se utilizaron las siguientes condiciones cromatográficas (los parámetros del detector se muestran en [Figura 37](#) en la página 99).

Tabla 16 Condiciones cromatográficas

Fases móviles	A = agua = 50 % B = acetonitrilo = 50 %
Columna	Vydac-C18-PNA, 250 mm x 2,1 mm i.d. con partículas de 5 µm
Muestra	PAH 0,5 ng
Velocidad de flujo	0,4 ml/min
Compresibilidad A (agua)	46
Compresibilidad B (Acetonitrilo)	115
Embolada A y B	auto
Tabla de tiempos	a 0 minutos %B=50
	a 3 minutos %B=60
	a 14,5 minutos %B=90
	a 22,5 minutos %B=95
Tiempo de parada	26 minutos
Tiempo posterior	8 minutos
Volumen de inyección	1 µl
Temperatura del horno (1200)	30 °C
Ganancia PMT del FLD	PMT = 15
Tiempo de respuesta del FLD	4 s

Selección de una longitud de onda de excitación en el rango UV bajo (230-260 nm). Con esto se cubre prácticamente toda la fluorescencia de la muestra.

NO debe seleccionar longitudes de onda de emisión adicionales (B, C y D). Si lo hace, el tiempo de barrido aumentará y el rendimiento se reducirá.

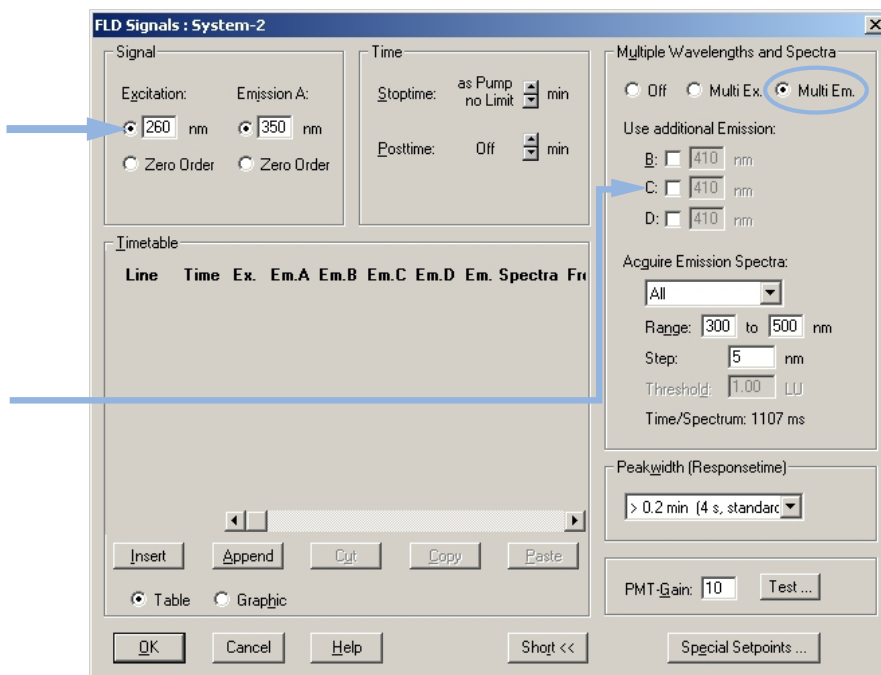


Figura 37 Parámetros del detector para el barrido de emisión

- 1 Esperar hasta que la línea base se estabilice. Completar el análisis.

4 Utilización del detector de fluorescencia

Ejemplo: Optimización de compuestos múltiples

2 Cargar la señal. (En el ejemplo, sólo aparece el rango de tiempo de 13 min).

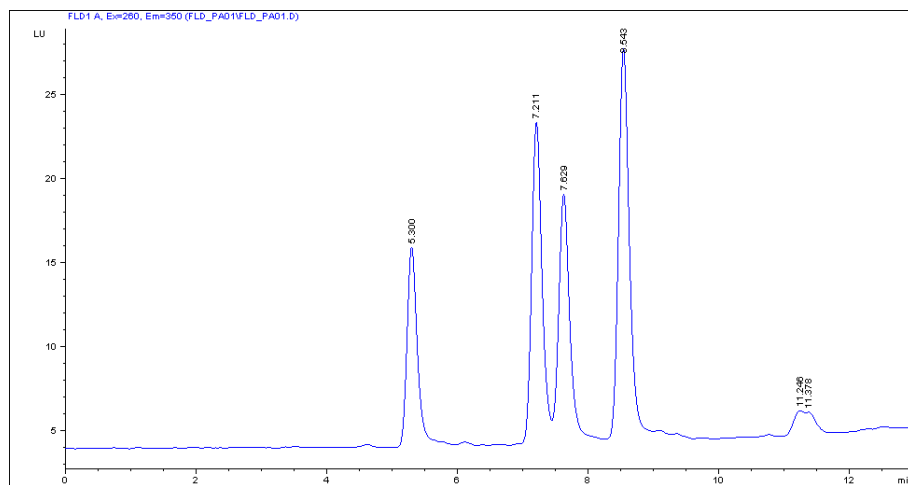


Figura 38 Cromatograma del barrido de emisiones

- 3 Utilice el gráfico de isoabsorbancia y evalúe las longitudes de onda óptimas de emisión, mostradas en la tabla inferior.

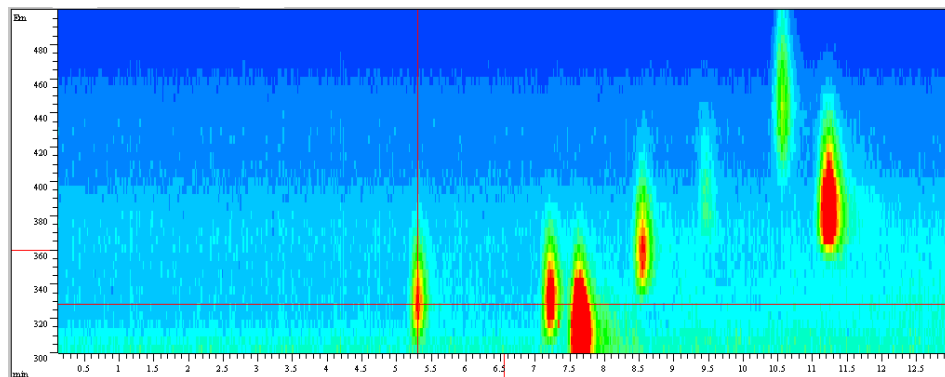


Figura 39 Gráfico de isoabsorbancia del barrido de emisión

Tabla 17

Pico #	Tiempo	Longitud de onda de emisión
1	5,3 minutos	330 nm
2	7,2 minutos	330 nm
3	7,6 minutos	310 nm
4	8,6 minutos	360 nm
5	10,6 minutos	445 nm
6	11,23 minutos	385 nm

4 Utilización del detector de fluorescencia

Ejemplo: Optimización de compuestos múltiples

- Utilizando los valores y la tabla de tiempos (de la página anterior), realice un segundo análisis para evaluar la longitud de onda óptima de excitación. Consulte [Figura 40](#) en la página 102.

NO debe seleccionar longitudes de onda de excitación adicionales (B, C y D).
Si lo hace, el tiempo de barrido aumentará y el rendimiento se reducirá.

Line	Time	From	To	Step	PMT	Threshold	Peakwidth	B
1	4.50	330						
2	8.00	360						
3	10.00	445						
4	10.80	395						

Figura 40 Parámetros del detector para el barrido de excitación

- Esperar hasta que la línea base se estabilice. Iniciar el análisis.

6 Cargue la señal.

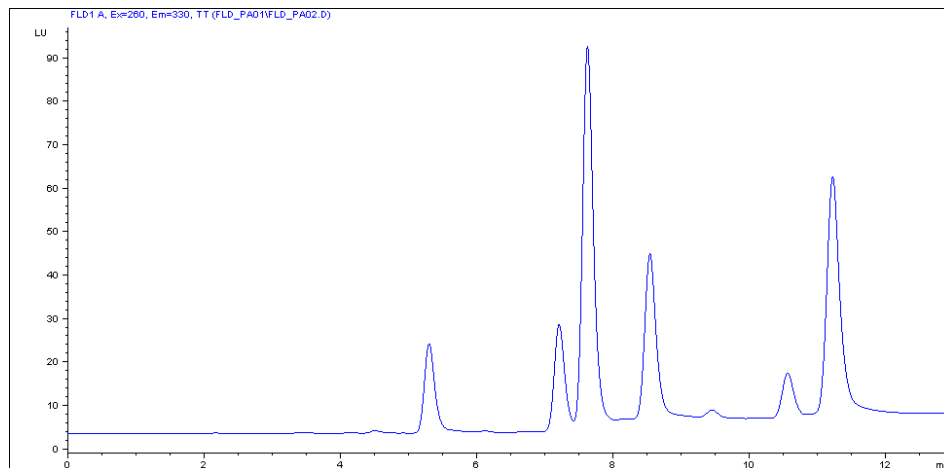


Figura 41 Cromatograma: barrido de excitación a la longitud de onda de referencia (260/330 nm)

7 Utilice el gráfico de isoabsorbancia y evalúe las longitudes de onda óptimas de excitación (en este ejemplo, sólo en un rango de tiempo de 13 minutos).

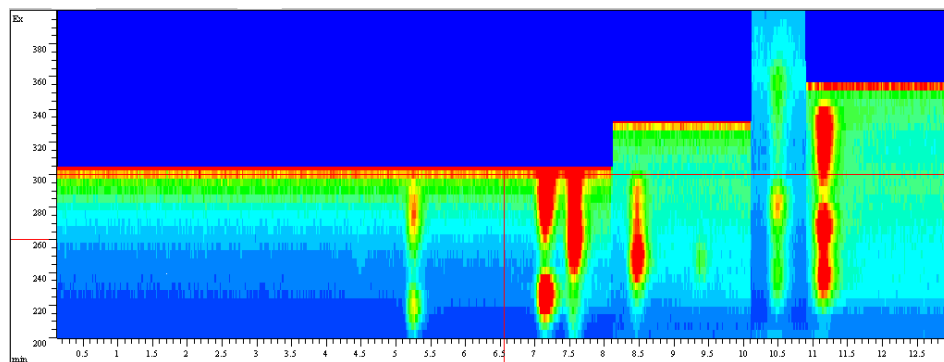


Figura 42 Gráfico de isoabsorbancia: excitación

En la tabla siguiente se muestra toda la información sobre la emisión (a partir de [Figura 39](#) en la página 101) y los máximos de excitación.

4 Utilización del detector de fluorescencia

Ejemplo: Optimización de compuestos múltiples

Tabla 18

Pico #	Tiempo	Longitud de onda de emisión	Longitud de onda de excitación
1	5,3 minutos	330 nm	De 220 a 280 nm
2	7,3 minutos	330 nm	De 225 a 285 nm
3	7,7 minutos	310 nm	265 nm
4	8,5 minutos	360 nm	245 nm
5	10,7 minutos	445 nm	280 nm
6	11,3 minutos	385 nm	De 270 a 330 nm

Evaluación del fondo del sistema

Para el ejemplo inferior se utilizó agua.

- 1 Bombear disolvente a través del sistema.
- 2 Fijar el barrido de fluorescencia bajo valores especiales del FLD de acuerdo a sus necesidades.

NOTA

El tiempo de barrido aumentará cuando aumente el rango. Con los valores por defecto, el barrido tarda unos 2 minutos.

- 3 Fije la ganancia PMT en 16.

El rango de longitud de onda y el valor del paso definirán la duración. Si usa el rango máximo, el barrido requerirá aproximadamente 10 minutos.

FLD Special Setpoints : System-2

Phosphorescence Detection Mode

☒ Off ☐ On

Delay: 50.0 µs

Gate: 200.0 µs

Fluorescence Scan Range

	From	To	Step	
Excitation:	220	400	5	nm
Emission:	300	500	5	nm

Time/Scan: 143 s

Baseline Behavior:

☒ Append ☐ Free ☐ Zero

Signal Polarity:

☒ Positive ☐ Negative

☒ Fit Spectral Range

Lamp

☒ Only On During Run

☐ Economy Mode

now: 74 Hz, High Lamp Current

☐ Enable analysis when lamp is off

Lamp Energy Reference:

☒ On ☐ Off

Restore Defaults OK Cancel Help

Figura 43 Valores especiales del detector de fluorescencia

4 Utilización del detector de fluorescencia

Ejemplo: Optimización de compuestos múltiples

- Defina un nombre para el fichero de datos y realice un barrido de fluorescencia. Una vez completado el barrido, aparecerán los resultados del barrido de isoabsorbancia (consulte [Figura 44](#) en la página 106).

NOTA

Un fondo bajo mejorará la relación señal-ruido (consulte también “[Reducción de la luz dispersa](#)” en la página 132).

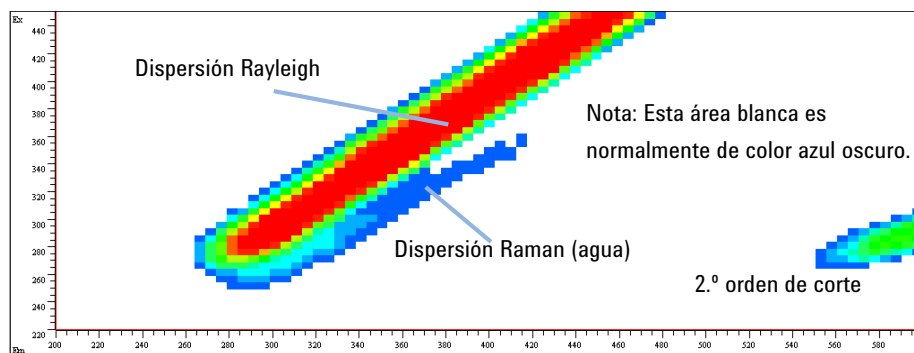


Figura 44 Barrido de fluorescencia del agua

Obtención de espectros con los modos SPECTRA ALL IN PEAK (Todos los espectros del pico) y APEX SPECTRA ONLY (Sólo los espectros del máximo)

Obtención de espectros con los modos SPECTRA ALL IN PEAK (Todos los espectros del pico) y APEX SPECTRA ONLY (Sólo los espectros del máximo)

En esta sección se describe cómo puede resolverse un fallo de funcionamiento durante la implementación en curso del programa Agilent ChemStation con el detector de fluorescencia (G1321A/B). En estos modos, los espectros no se recogen de forma intermitente en el fichero de datos.

La adquisición de espectros activados por picos del detector de fluorescencia se controla por medio de 2 parámetros: THRS (Umbral) y PDPW (Anchura de pico del detector de picos). Por otra parte, el parámetro PKWD (Anchura de pico del detector) únicamente influye sobre el filtrado del cromatograma.

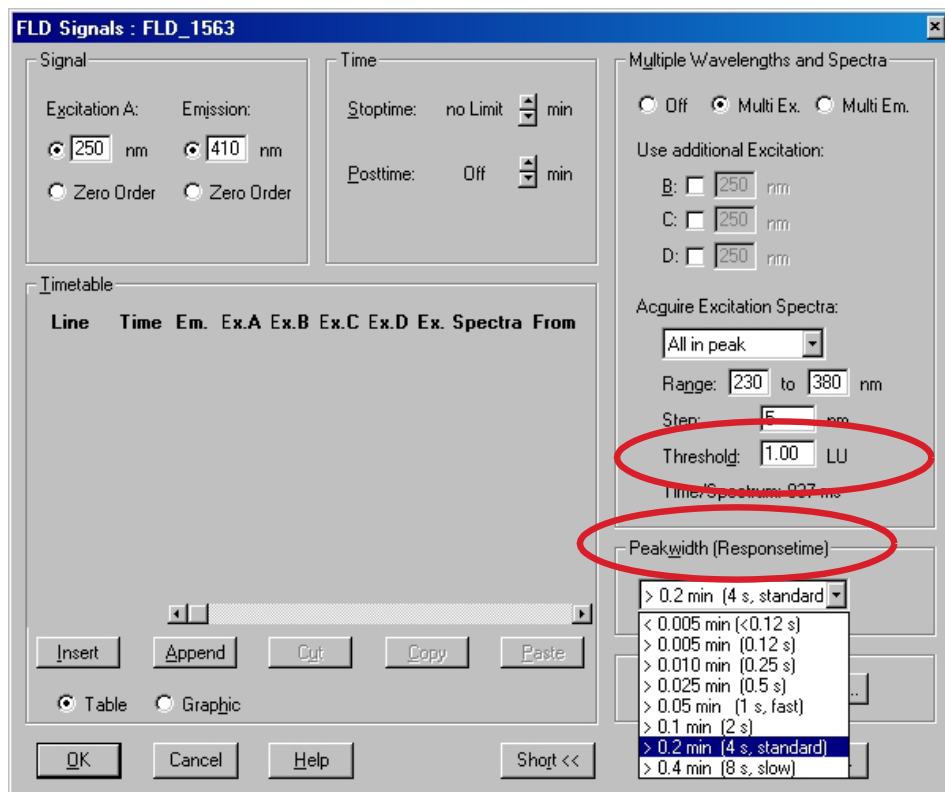
- 1 Ajuste los parámetros THRS, PDPW y PKWD de acuerdo con el cromatograma en curso.

La obtención de espectros activados por picos ofrece unos resultados óptimos cuando el valor del parámetro PDPW es 2 pasos menor que el del parámetro PKWD (consulte [“Ajustes de la anchura de pico”](#) en la página 130).

4 Utilización del detector de fluorescencia

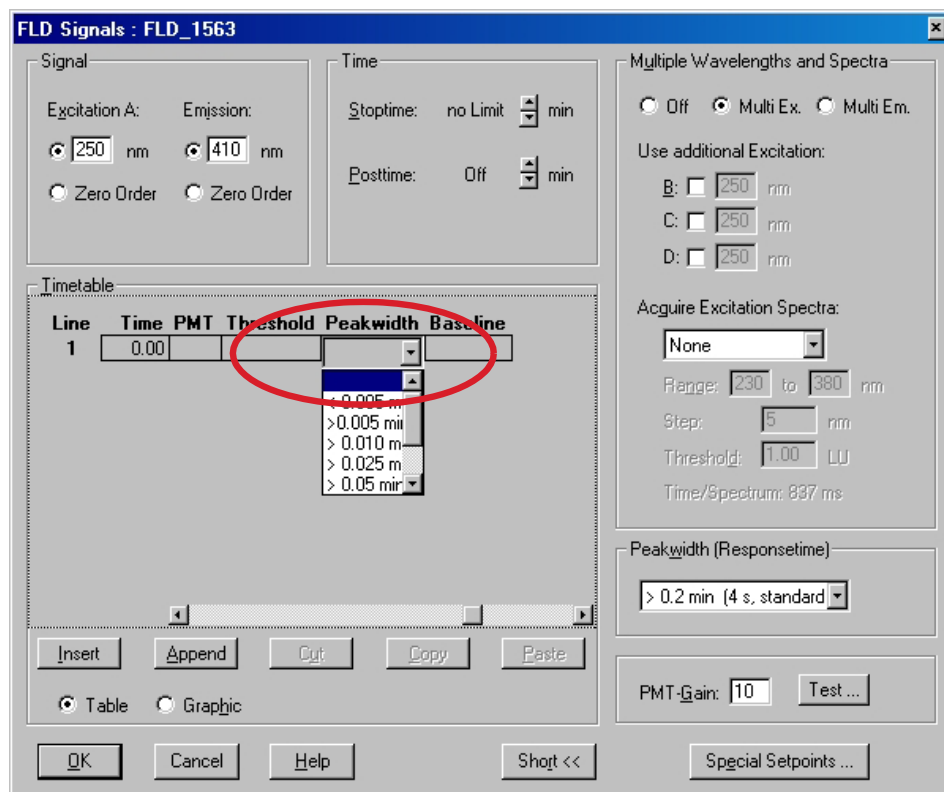
Obtención de espectros con los modos SPECTRA ALL IN PEAK (Todos los espectros del pico) y APEX SPECTRA ONLY (Sólo los espectros del máximo)

- En la pantalla de configuración del detector de fluorescencia existen 2 parámetros que deben configurarse: **Peakwidth (Responsetime)** (PKWD) y **Threshold** (THRS); este último parámetro estará visible cuando se seleccione la opción **Multi-EX** o **Multi-EM**. Los valores predeterminados son los siguientes: PKWD = 6 (0,2 min); THRS = 5,000 LU.



Obtención de espectros con los modos SPECTRA ALL IN PEAK (Todos los espectros del pico) y APEX SPECTRA ONLY (Sólo los espectros del máximo)

Los valores seleccionados se ajustan durante el análisis. Sólo podrán realizarse cambios en el parámetro PDPW ajustando el parámetro **Peakwidth** de la tabla de tiempos; dicho parámetro estará visible cuando se seleccione la opción **Multi-EX** o **Multi-EM**.



NOTA

Si modifica el parámetro PKWD, también deberá cambiar el parámetro PDPW. Introduzca en la tabla de tiempos (en 0,0 min) un valor PDPW = PKWD - 2 (p. ej., PKWD = 0,2 min y PDPW = 0,05 min). Para los cromatogramas de mayor duración en los que se produzca un ensanchamiento de picos más tardío, puede aumentar el valor PDPW en 1 paso efectuando una entrada adicional en **Timetable**.

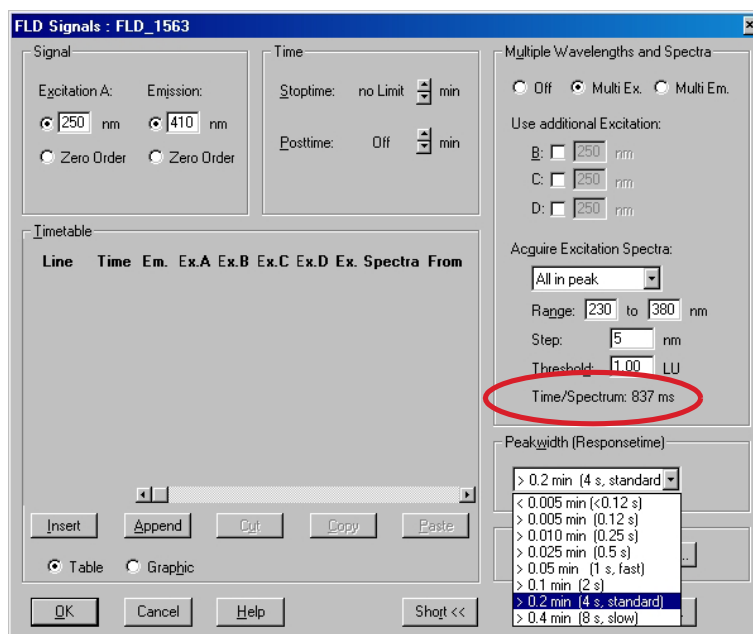
Los parámetros THRS y PDPW influyen sobre la adquisición de espectros activados por picos. Puede modificar el parámetro THRS en la pantalla de configuración del detector de fluorescencia; el parámetro PDPW únicamente puede cambiarse modificando el valor **Peakwidth** en el apartado **Timetable**.

4 Utilización del detector de fluorescencia

Obtención de espectros con los modos SPECTRA ALL IN PEAK (Todos los espectros del pico) y APEX SPECTRA ONLY (Sólo los espectros del máximo)

Notas:

- El algoritmo de detección de picos funciona de manera óptima cuando un pico se reduce a 8 – 16 datos. El detector de fluorescencia realiza la recogida de datos con una velocidad de muestreo de 74,08 Hz (= 13,50 ms; con una única señal). La reducción de datos únicamente se ve afectada por el parámetro PDPW. Si el valor del parámetro PDPW es demasiado pequeño, el detector de picos no encontrará ningún pico; en su lugar, supondrá un ascenso o descenso de la línea base al inicio o final del pico. Por el contrario, si el valor del parámetro PDPW es demasiado grande, el detector de picos considerará el pico como ruido.
- El detector de picos funciona en línea con el cromatograma en curso. Esto significa que el inicio, el máximo y el final de un pico se detectarán con retardo. Además, los puntos del espectro se irán adquiriendo secuencialmente. Esto quiere decir que la adquisición de espectros de rango amplio requerirá mucho más tiempo que la de espectros de rango corto. Cuando la cromatografía sea rápida, será prácticamente imposible obtener un espectro APEX (de máximo) "claro", ya que los primeros y los últimos puntos del espectro se adquirirán antes o después de que se produzca la concentración máxima en la celda del detector.
- La duración de la adquisición de espectros sencillos se muestra en la pantalla de configuración del detector de fluorescencia.



Información sobre disolventes

Siga las siguientes recomendaciones en la utilización de disolventes.

- Siga las recomendaciones para evitar el crecimiento de algas, consulte los manuales de la bomba.
- Las pequeñas partículas pueden bloquear permanentemente los capilares y las válvulas. Por tanto, filtre siempre los disolventes a través de filtros de 0,4 µm.
- Evite o minimice el uso de disolventes que puedan corroer algunas partes del paso de flujo. Tenga en cuenta las especificaciones del rango de pH determinado por diferentes materiales como las celdas de flujo, los materiales de las válvulas, etc. y las recomendaciones de los apartados siguientes.

Información sobre disolventes para las piezas del sistema LC bioinerte 1260 Infinity

En el caso del sistema LC bioinerte Agilent 1260 Infinity, Agilent Technologies utiliza materiales de la mejor calidad (consulte “[Materiales bioinertes](#)” en la página 32) en el paso de flujo (es decir, las piezas húmedas). Dichos materiales están ampliamente aceptados por los científicos, ya que son óptimamente inertes a las muestras biológicas y garantizan la mejor compatibilidad con muestras y disolventes comunes que cubren un amplio rango de pH. En concreto, el paso de flujo completo no contiene acero inoxidable ni otras aleaciones con metales como hierro, níquel, cobalto, cromo, molibdeno o cobre, que pueden afectar a las muestras biológicas. El recorrido a lo largo de la dirección del flujo de la introducción de la muestra no contiene ningún tipo de metal.

Sin embargo, no hay materiales que combinen la adecuación de los instrumentos HPLC versátiles (válvulas, capilares, resortes, cabezas de las bombas, celdas de flujo, etc.) con la compatibilidad completa con todos los productos químicos y las aplicaciones que son posibles. En este apartado se recomiendan los disolventes preferidos. Se deben evitar los productos químicos que causen problemas. Asimismo, se debe minimizar la exposición a los productos químicos, por ejemplo, en los procedimientos de limpieza a corto plazo. Tras utilizar productos químicos potencialmente agresivos, se debe enjuagar el sistema con disolventes HPLC estándares compatibles.

PEEK

El PEEK (polieteretercetona) posee unas propiedades excelentes con respecto a la compatibilidad biológica, la resistencia química y la estabilidad mecánica y térmica. Por lo tanto, es el material más adecuado para los instrumentos bioquímicos. Es estable en el rango de pH especificado. Asimismo, es inerte a muchos disolventes comunes. Todavía existen varias incompatibilidades conocidas con productos químicos como el cloroformo, el cloruro de metileno, THF, DMSO, los ácidos fuertes (ácido nítrico > 10 %, ácido sulfúrico > 10 %, ácidos sulfónicos, ácido tricloroacético), los halógenos o las disoluciones halógenas acuosas y el fenol y sus derivados (cresoles, ácido salicílico, etc.).

Cuando se utiliza por encima de la temperatura ambiente, el PEEK es sensible a las bases y a varios disolventes orgánicos que causan que se expanda. Ya que los capilares de PEEK normales son muy sensibles a las altas presiones, y especialmente en dichas condiciones, Agilent utiliza capilares de PEEK con revestimientos de acero inoxidable para mantener el paso de flujo libre de cualquier componente de acero y garantizar una presión estable de al menos 600 bar. En caso de duda, consulte la documentación disponible sobre la compatibilidad química del PEEK.

Titanio

El titanio es altamente resistente a los ácidos oxidantes (por ejemplo, ácido nítrico, perclórico e hipocloroso) en un amplio rango de concentraciones y temperaturas. Esta característica se debe a una fina capa de óxido en la superficie que se estabiliza con compuestos oxidantes. Los ácidos reductores (por ejemplo, ácido clorhídrico, sulfúrico y fosfórico) pueden provocar una ligera corrosión que aumenta con la concentración y la temperatura del ácido. Por ejemplo, la tasa de corrosión con HCl al 3 % (aproximadamente, pH de 0,1) a temperatura ambiente es de alrededor de 13 $\mu\text{m/año}$. A temperatura ambiente, el titanio es resistente a concentraciones de ácido sulfúrico de alrededor del 5 % (aproximadamente, pH de 0,3). La adición de ácido nítrico a los ácidos clorhídrico o sulfúrico reduce en gran medida las tasas de corrosión. El titanio es susceptible a la corrosión en metanol anhidro. Esta situación se puede evitar si se añade una pequeña cantidad de agua (alrededor del 3 %). Se puede producir una ligera corrosión con > 10 % de amoníaco.

Sílice fundida

La sílice fundida es inerte frente a todos los disolventes y los ácidos comunes, excepto el ácido fluorhídrico. Las bases fuertes lo corroen y no se debe utilizar a temperatura ambiente con un pH mayor que 12. La corrosión de las ventanas de las celdas de flujo puede afectar negativamente a los resultados de medición. En el caso de un pH mayor que 12, se recomienda el uso de celdas de flujo con ventanas de zafiro.

Oro

El oro es inerte a todos los disolventes, los ácidos y las bases comunes de HPLC en el rango de pH especificado. Los cianuros complejos y los ácidos concentrados como el agua regia (una mezcla de ácidos clorhídricos y ácidos nítricos concentrados) lo pueden corroer.

Óxido de circonio

El óxido de circonio (ZrO_2) es inerte a casi todos los ácidos, las bases y los disolventes comunes. En el caso de las aplicaciones de HPLC, no existe ninguna incompatibilidad documentada.

Platino/iridio

El platino/iridio es inerte a casi todos los ácidos, las bases y los disolventes comunes. En el caso de las aplicaciones de HPLC, no existe ninguna incompatibilidad documentada.

PTFE

El PTFE (politetrafluoroetileno) es inerte a casi todos los ácidos, las bases y los disolventes comunes. En el caso de las aplicaciones de HPLC, no existe ninguna incompatibilidad documentada.

Zafiro, rubí y cerámica con base de Al_2O_3

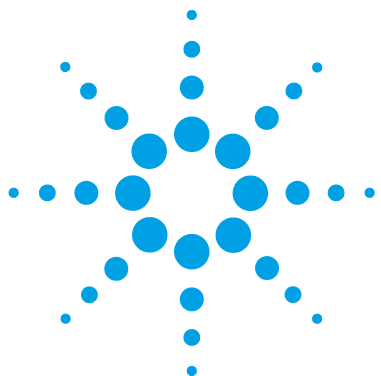
El zafiro, el rubí y la cerámica con base de Al_2O_3 son inertes a casi todos los ácidos, las bases y los disolventes comunes. En el caso de las aplicaciones de HPLC, no existe ninguna incompatibilidad documentada.

Los datos anteriores se han recopilado de fuentes externas y solo deben considerarse como referencia. Agilent no garantiza que dicha información sea

4 Utilización del detector de fluorescencia

Información sobre disolventes

correcta ni que esté completa. La información no se puede generalizar debido a los efectos catalíticos de las impurezas, como los iones metálicos, los ligandos, el oxígeno, etc. La mayoría de los datos disponibles corresponden a temperatura ambiente (normalmente, 20 – 25 °C, 68 – 77 °F). Si es posible que aparezca corrosión, suele aumentar a temperaturas superiores. En caso de duda, consulte los recursos adicionales.



5 Optimización del detector

- Descripción general de la optimización 116
- Características de diseño que facilitan la optimización 118
 - Comprobación del rendimiento antes de iniciar el análisis 118
- Búsqueda de las longitudes de onda óptimas 119
 - Un ejemplo real 120
- Búsqueda de la amplificación de señal óptima 121
 - Rango de escala y condiciones de funcionamiento del detector de fluorescencia 122
- Cambio de la frecuencia de la lámpara de flash de xenón 127
 - Prolongación de la vida útil de la lámpara 128
- Selección del tiempo de respuesta óptimo 129
- Reducción de la luz dispersa 132

En este capítulo se ofrece información sobre cómo optimizar el detector.



Descripción general de la optimización

NOTA

Algunas de las características descritas en este capítulo (p. ej., la adquisición de espectros o la detección de longitud de onda múltiple) no se encuentran disponibles para los detectores de fluorescencia 1260 Infinity G1321C.

1 Ajuste del valor adecuado del tubo fotomultiplicador (PMT)

Para la mayoría de las aplicaciones, un valor igual a 10 resulta adecuado (consulte [“Búsqueda de la amplificación de señal óptima”](#) en la página 121). El convertidor analógico-digital del detector de fluorescencia muestra un rango lineal amplio, lo que hace innecesario el cambio del valor del PMT en la mayoría de las aplicaciones. Por ejemplo, si a elevadas concentraciones un pico queda cortado, disminuya el valor del PMT. Recuerde que los valores bajos del PMT disminuyen la relación señal-ruido.

El test de ganancia PMT incorporado utiliza los parámetros del detector. Al utilizar el test de ganancia PMT, el valor de la longitud de onda y el modo de energía de la lámpara (modo de longitud de onda múltiple y modo “económico”) afectarán al cálculo de la ganancia PMT.

NOTA

Si ha cambiado uno o más parámetros, deberá pulsar **"OK"** para guardar los nuevos valores en el detector de fluorescencia. A continuación, entre de nuevo en **"FLD-Signals"** e inicie el test de ganancia PMT.

2 Utilización de un tiempo de respuesta adecuado

Para la mayoría de las aplicaciones, un valor igual a 4 segundos resulta adecuado (consulte [“Selección del tiempo de respuesta óptimo”](#) en la página 129). Sólo se recomienda usar un valor inferior cuando se realicen análisis de alta velocidad (columnas cortas con caudales elevados). Tenga en cuenta que, incluso si el tiempo de respuesta es demasiado elevado, los picos rápidos aparecerán un poco más pequeños y anchos pero el tiempo de retención y las áreas de los picos seguirán siendo correctas y reproducibles.

3 Búsqueda de la longitud de onda óptima

La mayoría de las moléculas fluorescentes activas absorben a 230 nm (consulte [“Búsqueda de las longitudes de onda óptimas”](#) en la página 119). Fije la longitud de onda de excitación en 230 nm y realice un barrido en línea de

los espectros de emisión (modo de emisión múltiple). Después, establezca la longitud de onda de emisión determinada y realice un barrido de excitación múltiple (modo de excitación múltiple) para encontrar la longitud de onda óptima de excitación.

4 Evaluación de los espectros de fluorescencia

A diferencia de los detectores UV de diodos, donde los espectros UV se evalúan tomando un espectro en el máximo del pico y seleccionando un espectro de referencia en la línea base, los espectros de fluorescencia se obtienen seleccionando un espectro en el máximo del pico y una referencia en torno a los puntos de inflexión. La selección de espectros de referencia en la línea base no resulta útil ya que el espectro en la línea base presenta mucho ruido (ausencia de luz).

5 Encendido de la lámpara (únicamente para el análisis)

A menos que sea necesario conseguir una sensibilidad máxima, la vida útil de la lámpara puede aumentarse significativamente si se enciende únicamente para el análisis. A diferencia de otros detectores de LC, el detector de fluorescencia se equilibra en segundos una vez encendida la lámpara.

NOTA

Para conseguir una reproducibilidad y linealidad máximas, cambie el ajuste de la lámpara para que permanezca siempre encendida (por defecto, se enciende únicamente durante el análisis).

Se recomienda realizar una hora de calentamiento inicial del instrumento.

6 Evitar presiones excesivas en la celda de flujo del detector

Procure que la caída de presión no sea mayor de 20 bar tras la celda de flujo si conecta dispositivos adicionales, como otros detectores o un colector de fracción. Es mejor colocar un detector UV antes del detector de fluorescencia.

NOTA

Al comparar espectros de excitación de fluorescencia directamente con espectros de detectores de diodos o de absorbancia basados en referencias bibliográficas, deben considerarse las grandes diferencias en la anchura de banda óptica utilizada (detector de fluorescencia: 20 nm), que provocan una variación máxima sistemática de la longitud de onda en función del espectro de absorbancia del compuesto a evaluar.

Características de diseño que facilitan la optimización

El módulo incorpora varias características que puede utilizar para optimizar la detección:

PMTGAIN	Factor de amplificación
LAMP	Frecuencia de destello
RESPONSETIME	Intervalo de reducción de datos

Comprobación del rendimiento antes de iniciar el análisis

Antes de comenzar, debe comprobarse si el funcionamiento del detector está dentro de las especificaciones publicadas por Agilent Technologies.

Los disolventes normales de grado HPLC pueden dar lugar a buenos resultados la mayor parte del tiempo, pero nuestra experiencia indica que el ruido de la línea base puede ser mayor con disolventes de grado para HPLC que con disolventes de grado para fluorescencia.

Limpiar el sistema de suministro de disolvente durante al menos 15 minutos antes de comprobar la sensibilidad. Si la bomba tiene canales múltiples, deben limpiarse también los canales no utilizados.

Búsqueda de las longitudes de onda óptimas

Los parámetros más importantes a optimizar en la detección de fluorescencia son las longitudes de onda de excitación y de emisión. Generalmente, se asume que la longitud de onda óptima de excitación puede obtenerse a partir del espectro de excitación adquirido en un espectrofluorímetro. También se asume que, una vez encontrada la longitud de onda óptima de excitación para un tipo de instrumento en particular, también puede aplicarse ésta a otros instrumentos.

Ambas suposiciones son erróneas.

La longitud de onda óptima de excitación depende de la absorción de los compuestos, pero también de las características del instrumento (por ejemplo, del tipo de lámpara y de las redes de difracción). Dado que la mayoría de las moléculas orgánicas absorben mejor en el rango ultravioleta, el módulo se diseñó para proporcionar una relación señal-ruido óptima en el rango del espectro entre 210 nm y 360 nm. Para conseguir una sensibilidad máxima, la longitud de onda de absorbancia de la molécula de muestra debe coincidir con el rango de longitudes de onda del instrumento. En otras palabras, con una longitud de onda de excitación del espectro ultravioleta. El módulo ofrece un amplio rango de longitudes de onda de excitación, pero para conseguir una sensibilidad mayor debe seleccionarse una longitud de onda del rango ultravioleta (cerca de 250 nm).

Los elementos que pueden provocar una reducción de la eficacia en el rango ultravioleta bajo son la lámpara de flash de xenón y las redes de difracción. Las lámparas de flash desplazan la longitud de onda óptima hacia rangos más bajos, alcanzando un máximo de 250 nm. La red de difracción de excitación está diseñada para ofrecer una eficacia máxima a 300 nm.

Un ejemplo real

Aunque en las referencias bibliográficas se cite un valor de 340 nm, el barrido del módulo para el ortoftalaldehído, un derivado del aminoácido alanina (Figura 45 en la página 120), muestra un máximo entre 220 nm y 240 nm.

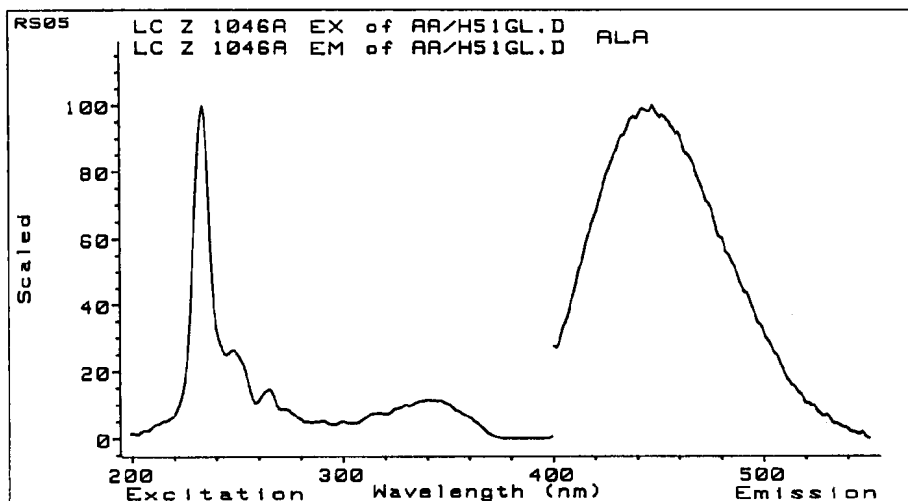


Figura 45 Barrido correspondiente al ortoftalaldehído (un derivado de la alanina)

Quando se busca la longitud de onda mediante barrido, ha de recorrerse todo el rango. Como se muestra en este ejemplo, puede encontrarse un máximo en un rango de longitud de onda completamente diferente.

NOTA

Al comparar espectros de excitación de fluorescencia directamente con espectros de detectores de diodos o de absorbancia basados en referencias bibliográficas, deben considerarse las grandes diferencias en la anchura de banda óptica utilizada (detector de fluorescencia: 20 nm), que provocan una variación máxima sistemática de la longitud de onda en función del espectro de absorbancia del compuesto a evaluar.

Búsqueda de la amplificación de señal óptima

Un aumento de la ganancia del tubo fotomultiplicador (PMTGAIN) incrementa tanto la señal como el ruido. Hasta un cierto factor, el aumento de señal es mayor que el aumento de ruido.

El paso entre ganancias es igual a un factor de 2 (idéntico al del detector de fluorescencia HP 1046A).

En [Figura 46](#) en la página 121, el valor PMTGAIN se elevó gradualmente desde 4 hasta 11 (el pico corresponde a una muestra isocrática de Agilent Technologies diluida 1.000 veces). Al aumentar el valor PMTGAIN hasta 10, se produjo una mejora de la relación señal-ruido. Por encima de 10, el ruido aumentó proporcionalmente a la señal sin que se observase mejora alguna en la relación señal-ruido.

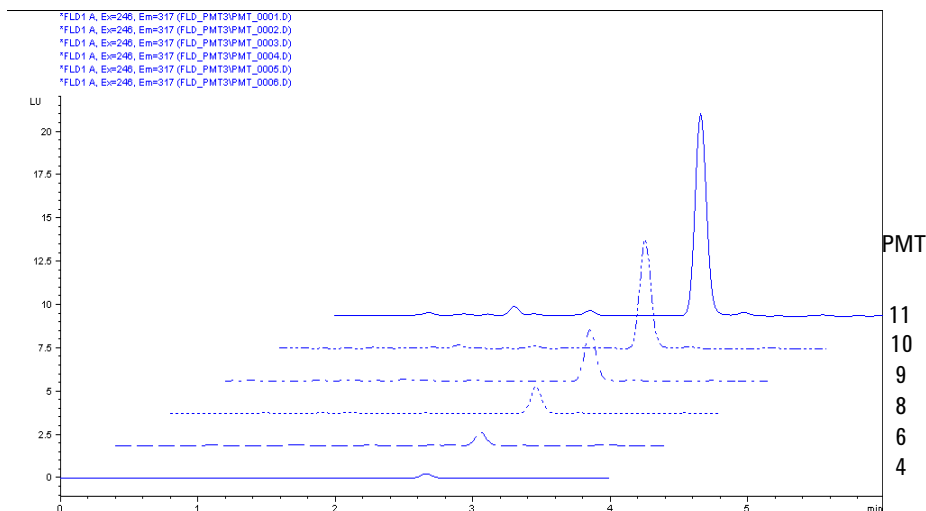


Figura 46 Búsqueda del valor PMTGAIN óptimo para el bifenilo

La causa de este comportamiento es el hecho de que la cuantificación de las líneas base (especialmente con niveles de fondo bajos) no resulta suficiente para los métodos de filtrado de base estadística. Para conseguir una ganancia óptima, realice una prueba con su disolvente en condiciones de flujo con la

función de ganancia automática. Si no es necesario, no utilice valores mayores que los propuestos por el sistema, para evitar señales de fluorescencia demasiado elevadas.

Utilice el test PMT para determinar automáticamente el valor del parámetro.

Rango de escala y condiciones de funcionamiento del detector de fluorescencia

Si utiliza distintos detectores de fluorescencia:

- La altura de la señal de los módulos detectores de fluorescencia G1321 individuales puede superar el rango recomendado para la señal (0 – 100 LU). En determinadas circunstancias, esto podría dar lugar a picos truncados.
- Distintos módulos detectores de fluorescencia G1321 pueden mostrar diferentes alturas de señal con métodos idénticos. En general, esto no es un problema, aunque podría resultar incómodo si se utiliza más de un detector de fluorescencia G1321 en el laboratorio.

Ambos problemas asociados a la escala pueden solucionarse. Consulte la [“Optimización del valor de la ganancia PMT \(PMTGAIN\)”](#) en la página 122.

Optimización del valor de la ganancia PMT (PMTGAIN)

Inicie el test PMTGAIN empleando sus condiciones de funcionamiento: parámetros del método utilizados, longitudes de onda de excitación/emisión (EX/EM), caudal, etc. El valor de ganancia PMT resultante le ofrecerá el mejor rendimiento posible en términos de relación señal-ruido, con un rango de señal utilizable máximo para el método y el instrumento específicos. Para otro detector de fluorescencia, el valor de la ganancia PMT podría variar (tomando como referencia el test PMTGAIN individual).

En la figura siguiente puede observar el impacto que genera el cambio de la ganancia PMT.

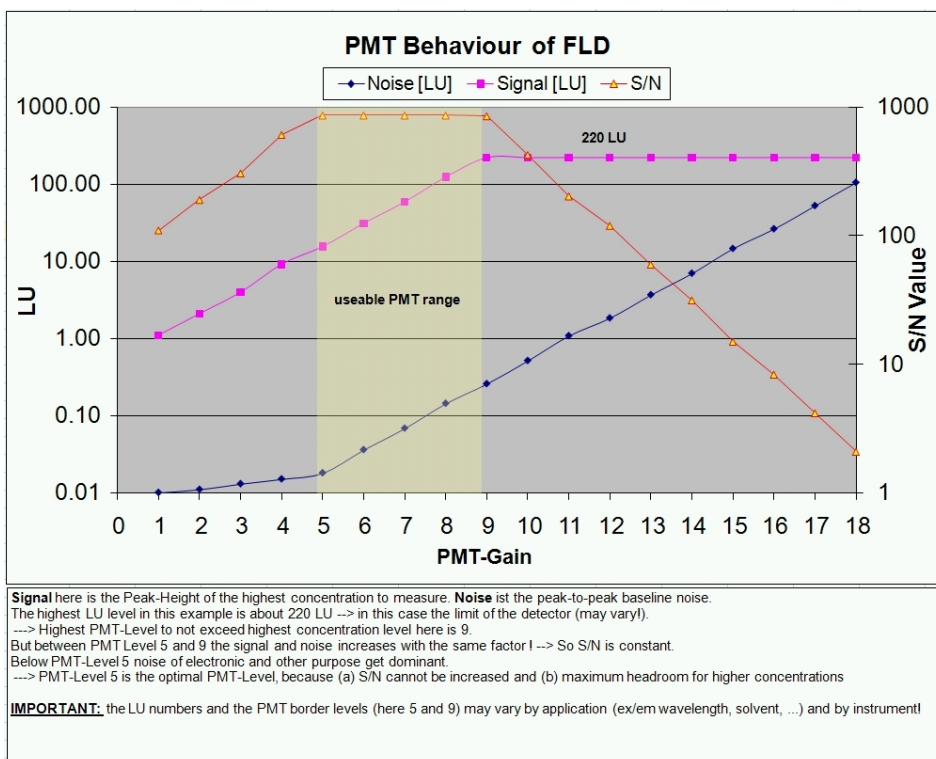


Figura 47 Evolución en función del valor de la ganancia PMT

En este ejemplo, la salida máxima se produce alrededor de 220 LU; un aumento adicional de la ganancia PMT (por encima de 9) genera una sobrecarga de la señal (truncado) y una disminución del valor de la relación señal-ruido.

1 Ajuste del valor de la ganancia PMT (PMTGAIN)

Compruebe, utilizando el valor máximo de concentración, que el pico más alto no quede truncado o se sature.

- Si la comprobación arroja un resultado correcto, puede dar por terminada la optimización del valor de la ganancia PMT. Vaya al paso "Ajuste de las unidades de luminiscencia (en LU)".
- Si la comprobación muestra que la concentración máxima no se ajusta al rango seleccionado (p. ej., si existe truncado), puede disminuir la sensibilidad de su detector de fluorescencia reduciendo el valor de la ganancia PMT en 1, con el fin de obtener una señal con la mitad de altura en

cada paso. Debe ser consciente de que, al hacerlo, perderá sensibilidad en los niveles de señal bajos (LOD).

2 Ajuste de las unidades de luminiscencia (en LU)

Si no queda satisfecho con el nivel de salida (en LU) del detector o desea homogeneizar la salida de múltiples instrumentos con distintos niveles de salida, puede realizar un escalado de la salida de cada instrumento.

El valor recomendado para el detector de fluorescencia G1321 se sitúa en torno a 100 LU para la altura de pico más alta (para obtener unos rangos óptimos de relación señal-ruido y señal). Los valores más bajos (en LU) no afectarán al rendimiento del instrumento si el test de ganancia PMT se realizó correctamente.

Para salidas analógicas menores de 100 LU, lo idóneo es conseguir un rendimiento de señal analógica óptimo con la atenuación predeterminada de 100 LU/1 V. Adapte el valor (en LU) de forma que el valor máximo de la señal con la atenuación predeterminada quede entre 50 y 80 LU (salida analógica equivalente a entre 500 mV y 800 mV).

Tras obtener el valor de ganancia PMT correcto, podrá adaptar cualquier instrumento al nivel favorable (en LU). Le recomendamos que no supere un valor en torno a 100 LU. El parámetro de selección se denomina "factor de escalado" y puede aplicarse mediante el controlador local (Instant Pilot, versión B.02.07 o posterior).

Si posee una versión más antigua, puede introducir el "factor de escalado" en la línea de comandos de:

- Agilent ChemStation:
PRINT SENDMODULE\$(LFLD, "DMUL x.xx")
- Instant Pilot: Modo de servicio del detector de fluorescencia; a continuación, escriba
DMUL x.xx y pulse **SEND**.
- Herramienta de actualización de firmware LAN/RS-232; a través del menú de instrucciones "Send" (Enviar):
DMUL x.xx
- Software Agilent Lab Advisor; a través del menú de instrucciones:
DMUL x.xx

Este valor quedará guardado en el instrumento incluso para las actualizaciones de firmware y es independiente del entorno de software.

Dicho valor (en LU) no es una medida de la sensibilidad del instrumento. En el límite de concentración más bajo (límite de detección), la relación

señal-ruido (p. ej., obtenida mediante el test señal-ruido Raman) es la única medida que puede utilizarse para comparar con exactitud cromatogramas y resultados y verificar el rendimiento del instrumento.

Para conseguir un fondo bajo y una sensibilidad máxima, mantenga la celda de flujo limpia y utilice siempre agua limpia para evitar el fondo biológico generado por la fluorescencia natural de las algas y bacterias.

Visualización de los límites del convertidor analógico-digital

Para el detector de fluorescencia G1321A/B se ha lanzado un nuevo firmware (A.06.11), que incluye una nueva característica denominada "Visualization of ADC Limits" (Visualización de los límites del convertidor analógico-digital).

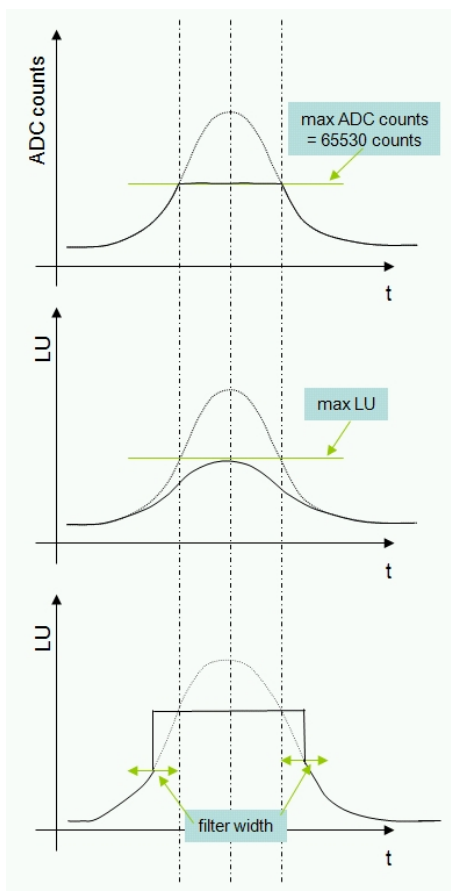
Hasta la versión de firmware A.06.10, la saturación del convertidor analógico-digital no resultaba visible en el cromatograma en determinadas condiciones de los métodos.

La saturación podía ocultarse suavizándola mediante un filtro, de forma que no resultara visible para el usuario. En el software Agilent ChemStation, el suceso "ADC overflow" (Saturación del convertidor analógico-digital) únicamente se mostraba en el libro de registro.

Este problema sólo se producía cuando el valor del parámetro "Peakwidth (Responsetime)" (Anchura de pico (tiempo de respuesta)) era similar o mayor que el ancho real del pico cromatográfico.

5 Optimización del detector

Búsqueda de la amplificación de señal óptima



Conteos brutos del convertidor analógico-digital

La intensidad luminosa medida queda limitada por el rango máximo del convertidor analógico-digital.

Un filtro atenúa el pico, haciendo que no resulte evidente que se ha alcanzado la intensidad máxima. Asimismo, el área y la altura del pico se deforman, lo que conduce a un comportamiento lineal deficiente. Tenga en cuenta que el valor "max LU" (LU máx.) no es fijo, sino que depende de la intensidad del canal de referencia.

Nueva implementación (versiones de firmware A.06.11 y posteriores)

Aunque cualquier valor de una muestra que quede dentro del ancho del filtro presente el estado "ADC overflow" (Saturación del convertidor analógico-digital), en el cromatograma aparecerá el valor máximo posible de LU.

Tenga en cuenta que el valor "max LU" (LU máx.) dependerá ligeramente de la deriva y el ruido de la lámpara y en gran medida de la longitud de onda de excitación.

Debido a esto, la saturación del convertidor analógico-digital puede observarse como un pico plano real en el cromatograma, lo que indica al usuario que el valor del parámetro correspondiente del detector (ganancia PMT o concentración de la disolución) es demasiado elevado.

NOTA

La transferencia de métodos "tal cual" de un detector a otro puede dar lugar al problema anterior de saturación del convertidor analógico-digital. Para obtener más información, consulte la sección "[Rango de escala y condiciones de funcionamiento del detector de fluorescencia](#)" en la página 122 "[Rango de escala y condiciones de funcionamiento del detector de fluorescencia](#)".

Cambio de la frecuencia de la lámpara de flash de xenón

Modos

La frecuencia de la lámpara de flash puede modificarse y situarse en los siguientes modos:

Tabla 19 Modos de la lámpara de flash

Positioning	296 Hz (Estándar), 560 V	63 mJ (18,8 W)
	74 Hz (Económico), 560 V	63 mJ (4,7 W)
Rotation (Multi Ex/Em)	74 Hz (Estándar), 950 V	180 mJ (13,3 W)
	74 Hz (Económico), 560 V	63 mJ (4,7 W)

La sensibilidad óptima se correspondería con el modo “no economy”; consulte [Figura 48](#) en la página 127.

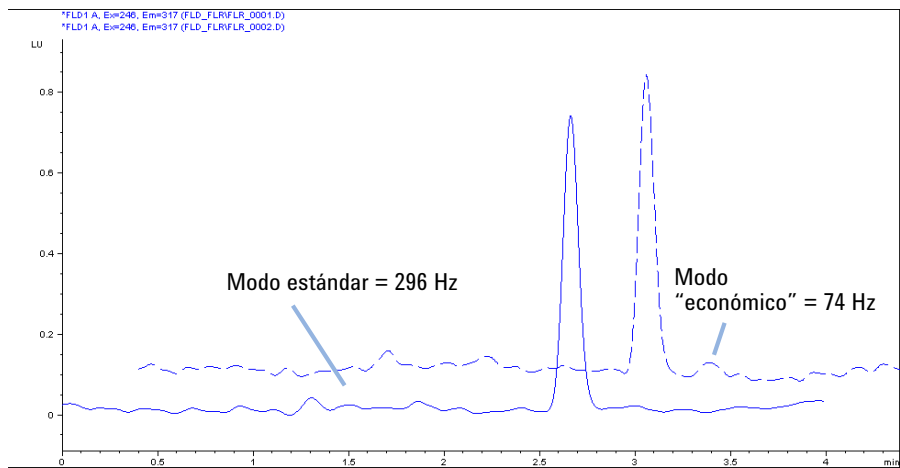


Figura 48 Frecuencia de la lámpara de flash de xenón

Prolongación de la vida útil de la lámpara

Hay tres formas de prolongar la duración de la lámpara:

- cambiar a “**lamp on during run**”, sin pérdida de sensibilidad.
- cambiar al modo “**economy**”, con cierta pérdida de sensibilidad.
- utilizando una combinación de ambas.

Selección del tiempo de respuesta óptimo

Selección del tiempo de respuesta óptimo

La reducción de datos utilizando la función "RESPONSETIME" (Tiempo de respuesta) aumentará la relación señal-ruido.

Por ejemplo, consulte [Figura 49](#) en la página 129.

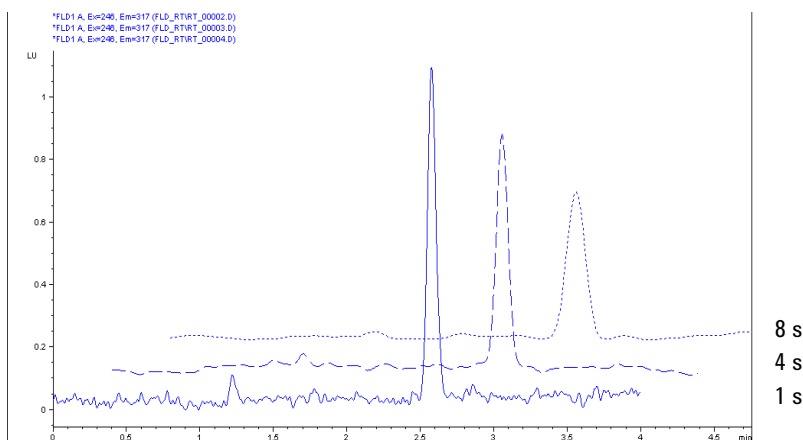


Figura 49 Búsqueda del tiempo de respuesta óptimo

Los detectores de fluorescencia de LC funcionan normalmente con tiempos de respuesta de 2 ó 4 s. El valor predeterminado para el módulo es de 4 segundos. Es importante conocer que, para poder comparar la sensibilidad, es necesario utilizar el mismo tiempo de respuesta. Un tiempo de respuesta de 4 s (predeterminado) equivale a una constante de tiempo de 1,8 s y resulta adecuado para las condiciones cromatográficas estándar.

5 Optimización del detector

Selección del tiempo de respuesta óptimo

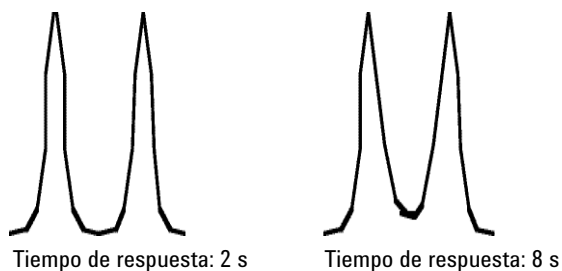


Figura 50 Separación de picos utilizando el tiempo de respuesta

Ajustes de la anchura de pico

NOTA

No utilice una anchura de pico más estrecha de la necesaria.

El parámetro "Peakwidth" permite seleccionar la anchura de pico (tiempo de respuesta) del análisis. Se define como la anchura, en minutos, en el punto medio de altura del pico. Ajuste la anchura de pico en función del pico más estrecho que espere encontrar en el cromatograma. La anchura de pico determina el tiempo de respuesta óptimo del detector. El detector de picos ignorará aquellos picos que sean mucho más estrechos o anchos que el valor de anchura de pico establecido. El tiempo de respuesta es el tiempo entre el 10 % y el 90 % de la señal de salida en respuesta a una función escalonada de entrada.

Límites: Cuando ajuste la anchura de pico (en minutos), el tiempo de respuesta correspondiente se configurará automáticamente y se seleccionará la velocidad de muestreo apropiada para la adquisición de la señal y los espectros, tal como se indica en la tabla inferior.

Tabla 20 Ajustes de la anchura de pico

Anchura de pico		Velocidad de muestreo		
Anchura de pico a media altura (min)	Respuesta (s)	Hz	ms	
> 0,0016	0,016	144,93	6,9	G1321B y K1321B (con las versiones de firmware A.06.54 y posteriores)
< 0,003	0,03	74,07	13,5	G1321B/C y K1321B
> 0,003	0,06	37,04	27,0	G1321A/B/C y K1321B
> 0,005	0,12	37,04	27,0	
> 0,01	0,25	37,04	27,0	
> 0,025	0,5	18,52	54,0	
> 0,05	1,0	9,26	108,0	
> 0,1	2,0	4,63	216,0	
> 0,2	4,0	2,31	432,0	
> 0,4	8,0	1,16	864,0	

Reducción de la luz dispersa

Los filtros de corte se utilizan para eliminar la luz dispersa y de 2.º orden o la luz dispersa superior, posibilitando una transmisión completa por encima del punto de corte y una transmisión escasa o nula por debajo de dicho punto. Se utilizan entre las redes de difracción de excitación y emisión, para evitar que la luz dispersa de excitación alcance el tubo fotomultiplicador cuando esté midiendo la emisión.

Cuando las longitudes de onda de emisión y excitación estén próximas, la distorsión generada por la dispersión limitará seriamente la sensibilidad. Cuando la longitud de onda de emisión sea el doble que la de excitación, la luz de 2.º orden será el factor limitante. Para explicar el efecto de la luz de orden tan elevado, ha de asumirse que el detector está encendido y que no se eluye muestra a través de la celda de flujo.

La lámpara envía 1 millón de fotones a la celda de flujo (por ejemplo, con una longitud de onda de 280 nm). La dispersión en la superficie de la celda de flujo y la generada por las moléculas de disolvente permiten que un 0,1 % de esta luz abandone la celda, a través de la ventana con el ángulo adecuado para la luz incidente. Sin un filtro de corte, estos 1.000 fotones restantes alcanzarían la red de difracción de emisión. Un 90 % se reflejaría totalmente hacia el fotomultiplicador sin dispersión alguna. El 10 % restante se dispersaría con unas longitudes de onda de 280 nm (1.º orden) y 560 nm (2.º orden). Para eliminar esta luz dispersa, debe utilizarse un filtro de corte con una longitud de onda en torno a 280 nm.

Debido a la experiencia con un conjunto conocido de aplicaciones, se incorpora un filtro de corte de 295 nm que permite trabajar sin perturbaciones hasta 560 nm sin ningún tipo de riesgo (consulte [Figura 51](#) en la página 133).

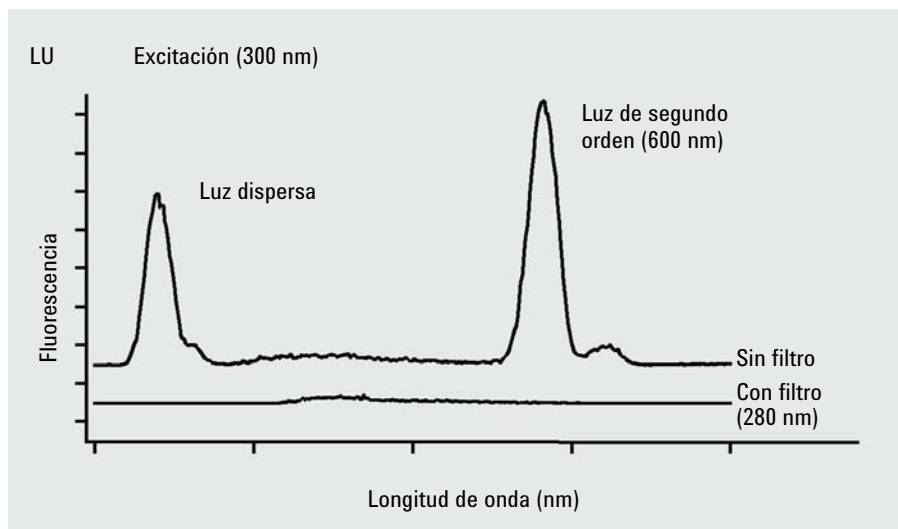
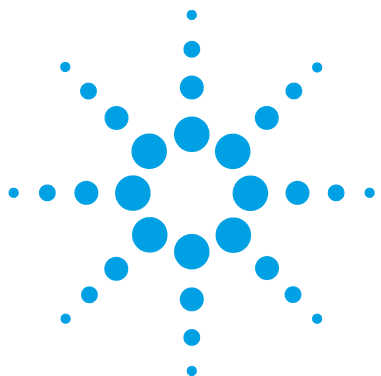


Figura 51 Reducción de la luz dispersa

5 Optimización del detector

Reducción de la luz dispersa



6

Diagnóstico y resolución de problemas

Visión general de los indicadores del módulo y las funciones de test 136

Indicadores de estado 137

Indicador de la fuente de alimentación 137

Indicador de estado del módulo 138

Interfaces de usuario 139

Software Agilent Lab Advisor 140

En este capítulo se ofrece una visión general de las funciones de resolución de problemas y de diagnóstico, así como de las diferentes interfaces de usuario.



Visión general de los indicadores del módulo y las funciones de test

Indicadores de estado

El módulo se suministra con dos indicadores de estado que informan del estado operativo (preanálisis, análisis y error). Los indicadores de estado proporcionan un control visual rápido del funcionamiento del módulo.

Mensajes de Error

En el caso de producirse un fallo electrónico, mecánico o hidráulico, el módulo genera un mensaje de error en la interfase de usuario. Para cada mensaje, se presenta una breve descripción del fallo, una lista de probables causas del problema y una serie de sugerencias para resolver el problema (consulte el capítulo Información de errores).

Funciones de test

Existe una serie de funciones de test para la resolución de problemas y la verificación operativa tras el cambio de componentes internos (consultar Tests y calibraciones).

Recalibración de la longitud de onda

Se recomienda recalibrar la longitud de onda después de reparar componentes internos, con el fin de asegurar el correcto funcionamiento del detector. Éste utiliza propiedades específicas de las características de la luz de excitación y emisión (consulte [“Procedimiento de calibración de la longitud de onda”](#) en la página 183).

Indicadores de estado

Hay dos indicadores de estado ubicados en la parte frontal del módulo. El indicador inferior izquierdo permite conocer el estado de la fuente de alimentación, mientras que el superior derecho muestra el estado del módulo.

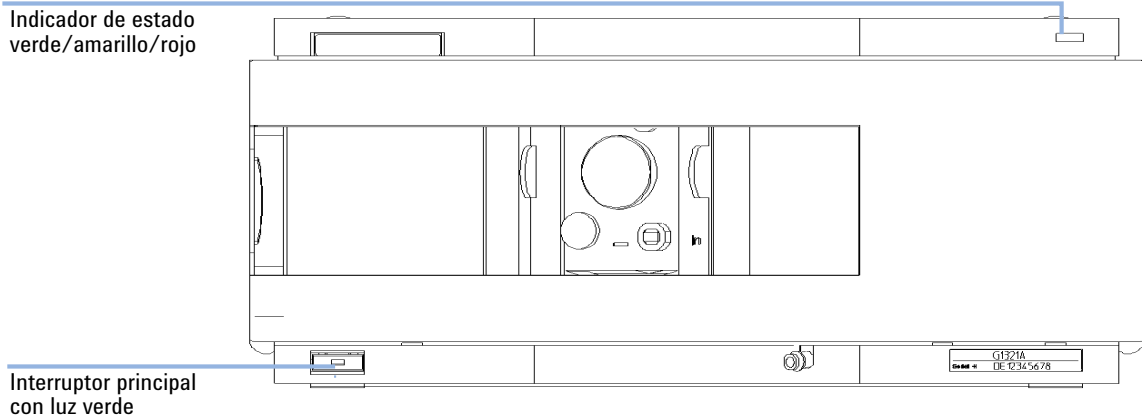


Figura 52 Ubicación de los indicadores de estado

Indicador de la fuente de alimentación

El indicador de la fuente de alimentación está integrado en el interruptor principal de encendido. Cuando el indicador está iluminado (*verde*) el equipo está encendido *ENCENDIDO*.

Indicador de estado del módulo

El indicador de estado del módulo muestra una de las seis posibles condiciones del módulo:

- Cuando el indicador de estado está *APAGADO* (y la luz del interruptor de alimentación está encendida), el módulo se encuentra en condición de *preanálisis* y está preparado para comenzar el análisis.
- Un indicador de estado *verde* indica que el módulo está realizando un análisis (modo de *análisis*).
- Un indicador de estado *amarillo* informa de una condición de *no preparado*. El módulo se encuentra en estado de no preparado cuando está esperando alcanzar o completar una determinada condición (por ejemplo, inmediatamente después de cambiar un valor) o mientras se está ejecutando un procedimiento de autotest.
- Una condición de *error* se indica con el indicador de estado *rojo*. Una condición de error indica que el módulo ha detectado un problema interno que afecta a su correcto funcionamiento. Normalmente, una condición de error requiere atención (por ejemplo, una fuga, un componente interno defectuoso). Una condición de error siempre interrumpe el análisis.

Si el error se produce durante el análisis, se propaga dentro del sistema LC; por ejemplo, un LED rojo puede indicar un problema en un módulo diferente. Utilice el indicador de estado de la interfaz de usuario para encontrar la causa o el módulo del error.

- Un indicador que *parpadea* indica que el módulo está en modo residente (por ejemplo, durante la actualización del firmware principal).
- Un indicador que *parpadea rápidamente* indica que el módulo está en un modo de error de nivel bajo. En estos casos, intente reiniciar el módulo o lleve a cabo un arranque en frío (consulte [“Ajustes especiales”](#) en la página 249). A continuación, intente actualizar el firmware (consulte [“Sustitución del firmware del módulo”](#) en la página 204). Si esto no soluciona el problema, es necesario sustituir la placa base.

Interfaces de usuario

En función de la interfaz de usuario, los tests disponibles variarán. Todas las descripciones de estos tests se basan en el uso del software Agilent ChemStation como interfaz de usuario. Algunas descripciones sólo están disponibles en el Manual de servicio.

Tabla 21 Tests disponibles en función de la interfaz de usuario

Test	ChemStation	Instant Pilot G4208A	Lab Advisor
Convertidor digital-analógico	No	No	Sí
Cromatograma de prueba	Sí (C)	No	Sí
Calibración de la longitud de onda	Sí	Sí (M)	Sí
Intensidad de la lámpara	Sí	No	Sí
Corriente oscura	Sí	No	Sí

C	A través de comandos
M	Sección Mantenimiento
D	Sección Diagnóstico

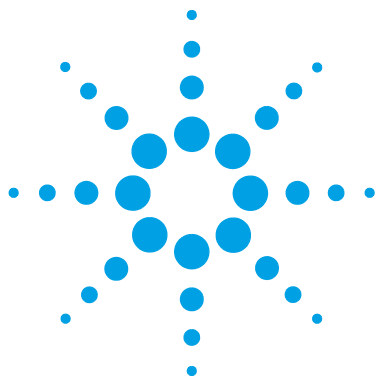
Software Agilent Lab Advisor

El software Agilent Lab Advisor es un producto independiente que se puede utilizar con o sin un sistema de datos. El software Agilent Lab Advisor es una ayuda para la gestión de los laboratorios que permite obtener resultados cromatográficos de gran calidad y puede realizar un seguimiento en tiempo real de un único LC de Agilent o de todos los GC y LC de Agilent configurados en la intranet del laboratorio.

El software Agilent Lab Advisor ofrece capacidades de diagnóstico para todos los módulos Agilent Serie 1200 Infinity. Entre éstas se incluyen capacidades de diagnóstico, procedimientos de calibración y rutinas para todo tipo de mantenimiento.

Asimismo, el software Agilent Lab Advisor permite a los usuarios controlar el estado de sus instrumentos LC. La función de mantenimiento preventivo asistido (EMF, por las siglas de "Early Maintenance Feedback") ayuda a realizar las tareas de mantenimiento preventivo. Además, los usuarios pueden generar un informe de estado para cada instrumento LC por separado. Las funciones de test y diagnóstico incluidas en el software Agilent Lab Advisor pueden presentar diferencias con respecto a las descripciones de este manual. Para obtener información detallada, consulte los ficheros de ayuda del software Agilent Lab Advisor.

El software Instruments Utilities es una versión básica de Lab Advisor con las funciones limitadas requeridas para la instalación, el uso y el mantenimiento. No incluye funciones avanzadas de reparación, resolución de problemas y control.



7 Información sobre errores

Qué son los mensajes de error	142
Mensajes de error generales	143
Timeout	143
Shutdown	144
Remote Timeout	145
Lost CAN Partner	146
Leak	147
Leak Sensor Open	148
Leak Sensor Short	149
Compensation Sensor Open	149
Compensation Sensor Short	150
Fan Failed	151
Mensajes de error del detector	152
Lamp Cover Open	152
FLF Board not found	153
ADC Not Calibrated	153
A/D Overflow	154
Flash Lamp Current Overflow	155
No light at reference diode despite lamp is on	156
Flash Trigger Lost	157
Wavelength Calibration Failed	158
Wavelength Calibration Lost	159
Flow Cell Removed	159
Errores de los motores	160

En este capítulo se describe el significado de los mensajes de error y se proporciona información sobre sus posibles causas. Asimismo, se sugieren las acciones que hay que seguir para corregir dichos errores.



Qué son los mensajes de error

Los mensajes de error aparecen en la interfaz de usuario cuando tiene lugar algún fallo electrónico, mecánico o hidráulico (paso de flujo) que es necesario solucionar antes de poder continuar el análisis (por ejemplo, cuando es necesaria una reparación o un cambio de un consumible). En el caso de un fallo de este tipo, se enciende el indicador de estado rojo de la parte frontal del módulo y se registra una entrada en el libro de registros del módulo.

Si se produce un error ajeno a una ejecución del método, no se informará a otros módulos de este error. Si ocurre durante una ejecución del método, todos los módulos conectados recibirán una notificación, todos los LED se mostrarán en rojo y la ejecución se detendrá. Esta parada se implementará de manera diferente en función del tipo de módulo. Por ejemplo, el flujo se detendrá por motivos de seguridad en el caso de una bomba. En el caso de un detector, la luz indicadora seguirá encendida para evitar el tiempo de equilibrio. Dependiendo del tipo de error, la ejecución siguiente solo puede comenzar si el error se ha subsanado (por ejemplo, si el líquido de una fuga se ha secado). Los errores de supuestos eventos de tiempo únicos se pueden recuperar mediante el encendido del sistema en la interfaz de usuario.

En caso de fuga se lleva a cabo un proceso especial. Ya que una fuga implica un posible problema de seguridad y puede haber ocurrido en un módulo diferente del que se ha observado, ésta siempre provoca el apagado de todos los módulos, incluso fuera de una ejecución del método.

En todos los casos, la propagación del error se realiza a través del bus CAN o de un cable APG remoto (consulte la documentación de la interfase APG).

Mensajes de error generales

Los mensajes de error generales son comunes a todos los módulos Agilent series HPLC y puede mostrarse también en otros módulos.

Timeout

Error ID: 0062

Tiempo de espera

Se ha superado el valor del tiempo de espera máximo predeterminado.

Causa probable

- 1 El análisis finalizó satisfactoriamente y la función de tiempo de espera desconectó el módulo según lo requerido.
- 2 Se ha producido una situación de estado "no preparado" durante la secuencia o análisis de inyección múltiple durante un periodo de tiempo superior al umbral establecido para el tiempo de espera.

Acciones recomendadas

Compruebe en el logbook el momento y la causa de dicha condición de "no preparado". Reinicie el análisis donde sea necesario.

Compruebe en el logbook el momento y la causa de dicha condición de "no preparado". Reinicie el análisis donde sea necesario.

Shutdown

Error ID: 0063

Desconexión

Un instrumento externo ha generado una señal de desconexión en la línea remota.

El módulo monitoriza continuamente las señales de estado en los conectores de entrada remota. Una entrada de señal BAJA en la clavija 4 del conector remoto genera el mensaje de error.

Causa probable

- 1** Fuga detectada en un instrumento externo con una conexión CAN al sistema.
- 2** Fuga detectada en un instrumento externo, con una conexión remota al sistema.
- 3** Desconexión de un instrumento externo, con una conexión remota al sistema.
- 4** El desgasificador no generó suficiente vacío para desgasificar el disolvente.

Acciones recomendadas

- Repare la fuga en el instrumento externo antes de reiniciar el módulo.
- Repare la fuga en el instrumento externo antes de reiniciar el módulo.
- Compruebe la condición de apagado en los instrumentos externos.
- Compruebe las condiciones de error en el desgasificador de vacío. Consulte el *Manual de servicio* para el desgasificador o la bomba 1260 que tiene el desgasificador integrado.

Remote Timeout

Error ID: 0070

Tiempo de espera remoto

Sigue habiendo una condición "no preparado" en la entrada remota. Al iniciar un análisis, el sistema espera que todas las condiciones de estado "no preparado" (por ejemplo, durante el equilibrado del detector) cambien a condiciones de análisis durante el minuto siguiente. Si al cabo de un minuto la condición de "no preparado" sigue presente en la línea remota, se genera el mensaje de error.

Causa probable

- 1 Condición de "no preparado" en uno de los instrumentos conectados a la línea remota.
- 2 Cable remoto defectuoso.
- 3 Componentes defectuosos en el instrumento que muestran la condición de "no preparado".

Acciones recomendadas

- Asegúrese de que el instrumento que muestra la condición de "no preparado" esté instalado correctamente y configurado adecuadamente para el análisis.
- Cambie el cable remoto.
- Compruebe si el instrumento presenta defectos (consulte la documentación que acompaña a este).

Lost CAN Partner

Error ID: 0071

Proveedor CAN perdido

Durante un análisis, ha fallado la sincronización interna o la comunicación entre uno o más módulos del sistema.

Los procesadores del sistema controlan continuamente la configuración del sistema. Si uno o más módulos no se reconocen como conectados al sistema, se genera el mensaje de error.

Causa probable	Acciones recomendadas
1 Cable CAN desconectado.	- Asegúrese de que todos los cables CAN estén correctamente conectados. - Asegúrese de que todos los cables CAN estén correctamente instalados.
2 Cable CAN defectuoso.	Cambie el cable CAN.
3 Tarjeta principal defectuosa en otro módulo.	Apague el sistema. Reinicie el sistema y determine qué módulo o módulos reconoce el sistema.

Leak

Error ID: 0064

Fuga

Se detectó una fuga en el módulo.

El algoritmo de fugas utiliza las señales de los dos sensores de temperatura (sensor de fugas y sensor de compensación de temperatura montado en la placa) para determinar si existe una fuga. Cuando tiene lugar alguna fuga, el sensor se enfría con el disolvente. Esto cambia la resistencia del sensor y el circuito de la placa base detecta el cambio.

Causa probable

- 1 Conexiones flojas.
- 2 Capilar roto.

Acciones recomendadas

- Asegúrese de que todas las conexiones están bien apretadas.
- Cambie los capilares defectuosos.

Leak Sensor Open

Error ID: 0083

Sensor de fugas abierto

Ha fallado el sensor de fugas del módulo (circuito abierto).

La corriente que atraviesa el sensor de fugas depende de la temperatura. La fuga se detecta cuando el disolvente enfría el sensor de fugas, provocando que la corriente del sensor varíe dentro de unos límites definidos. Si la corriente cae por debajo del límite inferior, se genera el mensaje de error.

Causa probable	Acciones recomendadas
1 Sensor de fugas no conectado a la placa base.	Póngase en contacto con un representante del departamento de servicio técnico de Agilent.
2 Sensor de fugas defectuoso.	Póngase en contacto con un representante del departamento de servicio técnico de Agilent.
3 Sensor de fugas mal colocado, presionado por un componente metálico.	Póngase en contacto con un representante del departamento de servicio técnico de Agilent.

Leak Sensor Short

Error ID: 0082

Fallo en el sensor de fugas

El sensor de fugas del módulo ha fallado (cortocircuito).

La corriente que atraviesa el sensor de fugas depende de la temperatura. La fuga se detecta cuando el disolvente enfría el sensor de fugas, provocando que la corriente del sensor varíe dentro de unos límites definidos. Si la corriente se eleva por encima del límite superior, se genera el mensaje de error.

Causa probable

- 1 Sensor de fugas defectuoso.

Acciones recomendadas

Póngase en contacto con un representante del departamento de servicio técnico de Agilent.

Compensation Sensor Open

Error ID: 0081

Sensor de compensación abierto

El sensor de compensación ambiental (NTC) de la placa base del módulo ha fallado (circuito abierto).

La resistencia del sensor de compensación de temperatura (NTC) en la placa base depende de la temperatura ambiente. El cambio de la resistencia se utiliza para medir la temperatura ambiental y compensar los cambios producidos en la misma. Si la resistencia a lo largo del sensor aumenta por encima del límite superior, se genera el mensaje de error.

Causa probable

- 1 Placa base defectuosa.

Acciones recomendadas

Póngase en contacto con un representante del departamento de servicio técnico de Agilent.

Compensation Sensor Short

Error ID: 0080

Fallo en el sensor de compensación

El sensor de compensación ambiental (NTC) de la placa base del módulo ha fallado (cortocircuito).

La resistencia del sensor de compensación de temperatura (NTC) en la placa base depende de la temperatura ambiente. El cambio de la resistencia se utiliza para medir la temperatura ambiental y compensar los cambios producidos en la misma. Si la resistencia a lo largo del sensor está por debajo del límite inferior, se genera el mensaje de error.

Causa probable

- 1 Placa base defectuosa.

Acciones recomendadas

Póngase en contacto con un representante del departamento de servicio técnico de Agilent.

Fan Failed

Error ID: 0068

Fallos en el ventilador

Ha fallado el ventilador de refrigeración del modulo.

La placa base utiliza el sensor del eje del ventilador para controlar la velocidad del ventilador. Si ésta desciende por debajo de un determinado límite durante un cierto período de tiempo, se genera el mensaje de error.

En función del módulo, se apagan los dispositivos (por ejemplo, la lámpara del detector) para asegurar que el módulo no tenga un sobrecalentamiento.

Causa probable

- 1Cable del ventilador desconectado.
- 2Ventilador defectuoso.
- 3Placa base defectuosa.

Acciones recomendadas

- Póngase en contacto con un representante del departamento de servicio técnico de Agilent.
- Póngase en contacto con un representante del departamento de servicio técnico de Agilent.
- Póngase en contacto con un representante del departamento de servicio técnico de Agilent.

Mensajes de error del detector

Lamp Cover Open

Error ID: 6622, 6731

Cubierta de la lámpara abierta

La cubierta de la lámpara, ubicada en el compartimento óptico, se ha desmontado. La lámpara no podrá encenderse mientras este mensaje permanezca activo.

Causa probable

- 1 Desmontaje de la cubierta de la lámpara.

Acciones recomendadas

Póngase en contacto con un representante del departamento de asistencia técnica de Agilent.

FLF Board not found

Error ID: 6620, 6730

Tarjeta FLF no detectada

La tarjeta principal (FLM) no puede detectar la tarjeta FLF. Este mensaje aparecerá combinado con algunos otros mensajes asociados a la tarjeta FLF (p. ej., fugas).

Causa probable

- 1 La tarjeta FLF no está conectada a la tarjeta FLM.
- 2 Tarjeta FLF defectuosa.
- 3 Tarjeta FLM defectuosa.

Acciones recomendadas

Póngase en contacto con un representante del departamento de asistencia técnica de Agilent.

Póngase en contacto con un representante del departamento de asistencia técnica de Agilent.

Póngase en contacto con un representante del departamento de asistencia técnica de Agilent.

ADC Not Calibrated

Error ID: 6621, 6732

Convertidor analógico-digital no calibrado

No puede realizarse la calibración del convertidor analógico-digital existente en la tarjeta FLF.

Causa probable

- 1 Fallo del convertidor analógico-digital (o de otros componentes electrónicos de la tarjeta FLF).

Acciones recomendadas

Póngase en contacto con un representante del departamento de asistencia técnica de Agilent.

A/D Overflow

Error ID: 6618, 6619

Saturación del convertidor analógico-digital

Este mensaje no se incluye para las versiones de firmware A.03.66 y anteriores.

Indica una saturación del convertidor analógico-digital (señal de la muestra). La interfaz de usuario mostrará un mensaje indicando que el detector de fluorescencia no está preparado y la información sobre el suceso se anotará en el libro de registro. Si el mensaje aparece durante un análisis, incluirá información sobre los instantes en los que se produjo y desapareció.

1200 FLD 1 A/D overflow (RT is 0.32 min) 16:33:24 02/11/99

1200 FLD 1 A/D overflow finished (RT is 0.67 min) 16:33:46 02/11/99

Si el suceso se produjo antes de un análisis, el sistema no podrá iniciar el análisis o la secuencia.

En las versiones de firmware A.06.11 y posteriores, la saturación del convertidor analógico-digital dará lugar a un pico plano en el cromatograma. Para obtener más información, consulte [“Visualización de los límites del convertidor analógico-digital”](#) en la página 125.

Causa probable

- 1 Valor de la ganancia PMT demasiado elevado.
- 2 Ajuste erróneo de la longitud de onda.

Acciones recomendadas

- Reduzca el valor de la ganancia PMT.
- Cambie el valor de longitud de onda.

Flash Lamp Current Overflow

Error ID: 6704

Saturación de corriente de la lámpara de flash

La corriente de la lámpara de flash de xenón se controla constantemente. Si el valor de corriente aumenta demasiado, se generará un error y se apagará la lámpara.

Causa probable

- 1 Fallo del conjunto de activación o tarjeta FLL defectuosa.
- 2 Fallo del conjunto de la lámpara de flash.

Acciones recomendadas

Póngase en contacto con un representante del departamento de asistencia técnica de Agilent.

Póngase en contacto con un representante del departamento de asistencia técnica de Agilent.

No light at reference diode despite lamp is on

Error ID: 6721

No llega luz al diodo de referencia a pesar de que la lámpara está encendida

- Versiones A, B y C de la tarjeta frontal (FLF):
No existe ningún mecanismo de control que compruebe si la lámpara está encendida. Si en el cromatograma no aparecen picos, la interfaz de usuario seguirá mostrando el estado **Ready** para el módulo. Realice primero un "Test de intensidad de la lámpara" (consulte [“Test de intensidad de la lámpara”](#) en la página 164). Si no aparecen picos, siga los pasos indicados a continuación.
- Versión D de la tarjeta frontal (FLF):
El destello de la lámpara de flash de xenón se controla constantemente. Si la lámpara no ha emitido ningún flash durante más de 100 ocasiones consecutivas, se generará un error y la lámpara se apagará.

Causa probable

- 1 Sistema averiado.

Acciones recomendadas

Póngase en contacto con un representante del departamento de asistencia técnica de Agilent.

Flash Trigger Lost

Error ID: 6722

Fallo de activación del flash

Este mensaje se muestra cuando deja de producirse la activación del flash.

Causa probable

- 1 Problema de firmware.
- 2 Modo múltiple desactivado
- 3 Codificador defectuoso.

Acciones recomendadas

- Reinicie el detector (ciclo de alimentación).
- Póngase en contacto con un representante del departamento de asistencia técnica de Agilent.
- Póngase en contacto con un representante del departamento de asistencia técnica de Agilent.

Wavelength Calibration Failed

Error ID: 6703

Fallo de la calibración de la longitud de onda

Este mensaje puede aparecer durante la calibración de la longitud de onda.

Si la desviación prevista es mayor que la exactitud especificada para la longitud de onda, aparecerá el mensaje **“Wavelength Calibration Failed”** (Fallo de la calibración de la longitud de onda) y el instrumento permanecerá en el estado **Not Ready**.

Causa probable

- 1 Lámpara de flash apagada o en posición incorrecta.
- 2 Posición de la celda incorrecta.
- 3 Disolvente impuro o burbuja de aire en la celda.
- 4 Posición incorrecta del conjunto del monocromador (tras su sustitución).

Acciones recomendadas

- Póngase en contacto con un representante del departamento de asistencia técnica de Agilent.
- Compruebe la posición de la celda.
- Lave la celda de flujo.
- Póngase en contacto con un representante del departamento de asistencia técnica de Agilent.

Wavelength Calibration Lost

Error ID: 6691

Pérdida de la calibración de la longitud de onda

Tras sustituir los conjuntos de los monocromadores, los factores de calibración deberían devolverse a los valores predeterminados (las tarjetas FLM nuevas se suministran con dichos valores). En este caso, aparecerá el mensaje **"Wavelength Calibration Lost"** (Pérdida de la calibración de la longitud de onda) y el instrumento permanecerá en el estado **Not Ready**.

Causa probable

- 1 Reinicie los valores del monocromador tras la sustitución.
- 2 Sustituya la tarjeta FLM.

Acciones recomendadas

- Realice una calibración de la longitud de onda.
- Realice una calibración de la longitud de onda.

Flow Cell Removed

Error ID: 6616, 6702, 6760

Celda de flujo desmontada

El detector posee un sistema automático de detección de la celda. Si la celda de flujo se desmonta, la lámpara se apagará y el sistema permanecerá en estado **NOT READY**. Si la celda de flujo se desmonta durante un análisis, se producirá una **SHUT DOWN**.

Causa probable

- 1 La celda de flujo se ha desmontado durante el análisis.

Acciones recomendadas

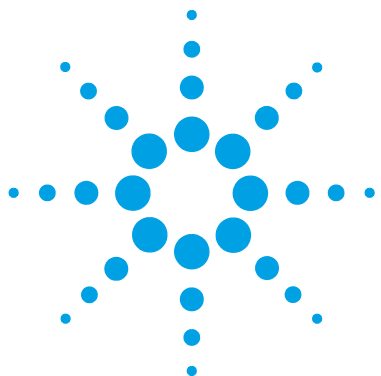
- Monte la celda de flujo y encienda la lámpara.

Errores de los motores

NOTA

Los errores de los motores de los monocromadores pueden aparecer durante la *inicialización* o el *funcionamiento* del detector. Existen mensajes específicos tanto para el lado de excitación como para el de emisión. Si se produce un error, encienda la lámpara. Al hacerlo, desaparecerá el error y se reinicializarán los motores.

Si aparecen mensajes de error de los motores, póngase en contacto con un representante del departamento de asistencia técnica de Agilent.



8

Funciones de test

Introducción	162
Diagrama de la trayectoria de la luz	163
Test de intensidad de la lámpara	164
Historial de intensidad de la lámpara	165
Test de señal-ruido ASTM Raman	166
Utilizando el software Agilent Lab Advisor	169
Interpretación de los resultados	169
Uso del cromatograma de prueba integrado	170
Procedimiento utilizando el software Agilent Lab Advisor	170
Verificación y calibración de la longitud de onda	172
Test de exactitud de la longitud de onda	176
Utilizando el software Agilent Lab Advisor	176
Interpretación de los resultados	178
Utilización del software Agilent ChemStation (procedimiento manual)	179
Procedimiento de calibración de la longitud de onda	183

En este capítulo se describen las funciones de test que incorpora el detector.



Introducción

La descripción de todos los tests se basa en el software Agilent Lab Advisor de versión B.02.03 o superior.

Es posible que otras interfaces de usuario no contengan ningún test o tan sólo algunos de ellos.

Tabla 22 Interfaces y funciones de test disponibles

Interfaz	Comentario	Funciones disponibles
Agilent Instrument Utilities	Dispone de tests de mantenimiento	• Intensidad • Calibración de la longitud de onda
Agilent Lab Advisor	Dispone de todos los tests	• Intensidad • Deriva y ruido ASTM • Corriente oscura • Convertidor digital-analógico • Exactitud de longitud de onda • Calibración de la longitud de onda • Cromatograma de prueba (herramientas) • Barrido de espectros (herramientas) • Información de módulos (herramientas) • Diagnóstico (herramientas)
Agilent ChemStation	Puede disponer de algunos tests Adición de la temperatura	• Algunos tests de Lab Advisor
Agilent Instant Pilot	Dispone de algunos tests	• Intensidad • Calibración de la longitud de onda • Barrido de espectros (herramientas) • Información de módulos (herramientas) • Diagnóstico

Para obtener más información sobre la utilización de la interfaz, consulte la documentación de ésta.

Diagrama de la trayectoria de la luz

La trayectoria de la luz se muestra en la [Figura 53](#) en la página 163.

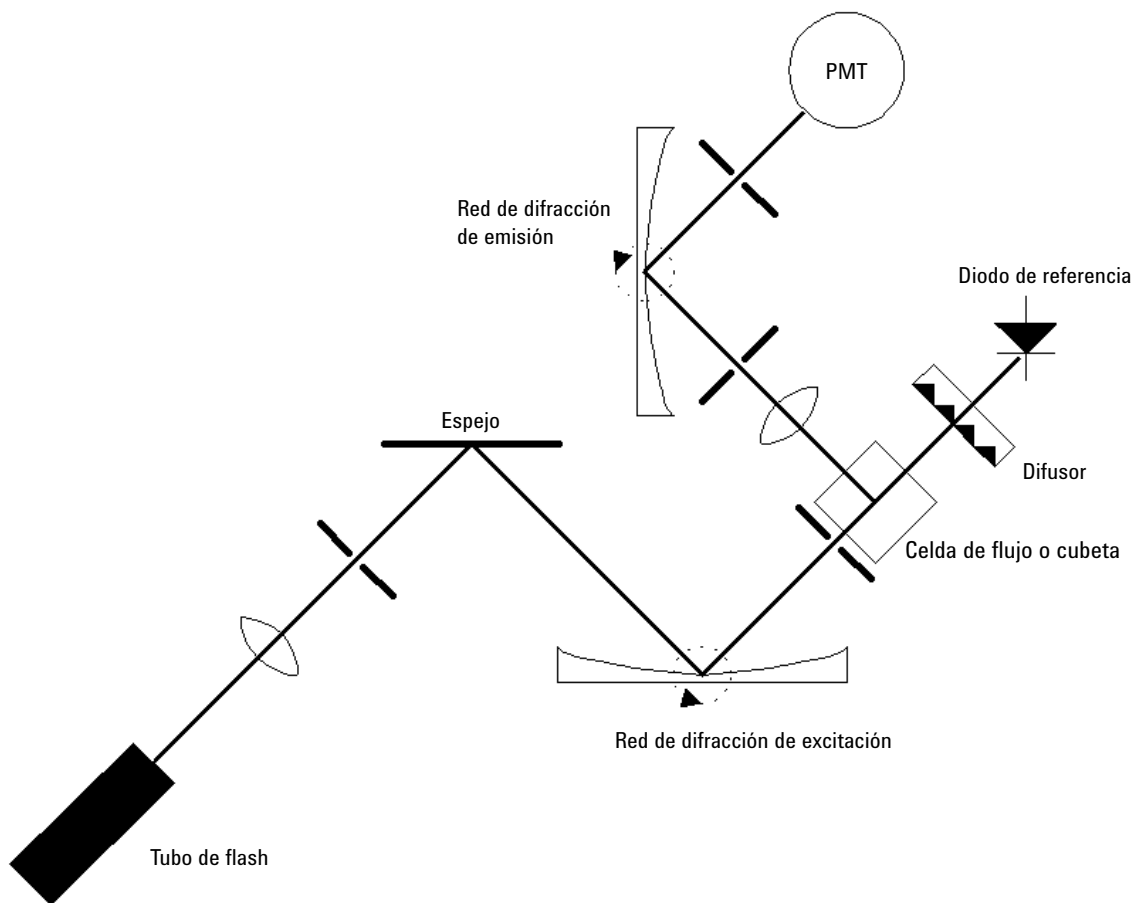


Figura 53 Esquema de la trayectoria de la luz

Test de intensidad de la lámpara

El test de intensidad realiza un barrido de un espectro de intensidad a través del diodo de referencia (200-1200 nm en pasos de 1 nm) y lo almacena en la memoria de diagnóstico. El barrido se muestra en una ventana gráfica. El test no conlleva ningún tipo de evaluación adicional.

Los resultados de este test se almacenan como historial de la lámpara (código de fecha e intensidad).

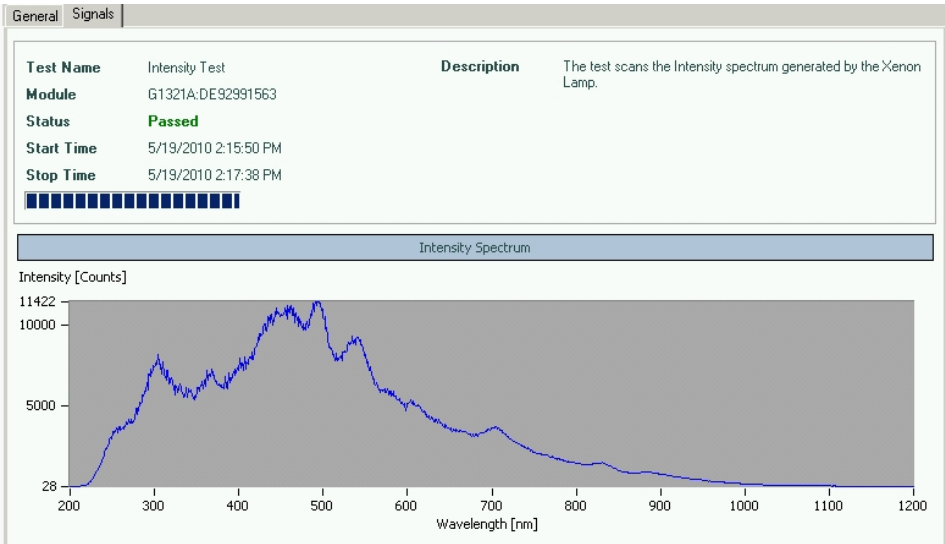


Figura 54 Test de intensidad de la lámpara (Agilent Lab Advisor)

NOTA

El perfil puede variar de un instrumento a otro. Depende de la antigüedad de la lámpara y del contenido de la celda de flujo (utilice agua limpia).

La degradación UV, especialmente por debajo de 250 nm, es significativamente mayor si se compara con el espectro visible de longitudes de onda. Generalmente, el parámetro **"LAMP ON during run"** o la utilización del **"economy mode"** prolongará en cierta medida la vida útil de la lámpara.

Historial de intensidad de la lámpara

Los resultados del test de intensidad de la lámpara (si el último se ha realizado hace más de una semana) se almacenan como historial de la lámpara (código de fecha, e intensidad con cuatro longitudes de onda diferentes (250, 350, 450 y 600 nm)) en una memoria. La representación de datos puede recuperarse a través del menú de diagnóstico y permite conocer los datos de intensidad durante un cierto período de tiempo.

Available tables:
Lamp Intensity History

Date	Reference Diode Counts at 250nm	Reference Diode Counts at 350nm	Reference Diode Counts at 450nm	Reference Diode Counts at 600nm
01/28/2013 14:15	2143	2994	7166	3150
12/17/2012 13:55	10	9	9	9
12/17/2012 13:55	9	9	11	10
12/17/2012 13:49	10	11	10	10
10/29/2012 16:48	388	2120	5776	2766
12/08/2011 10:39	88	1004	1227	935
12/06/2011 11:31	576	2155	5532	2679

Figura 55 Historial de intensidad de la lámpara: sección **Module Info** del software Agilent Lab Advisor

Test de señal-ruido ASTM Raman

Este test permite comprobar la relación señal-ruido ASTM Raman para los detectores de fluorescencia G1321.

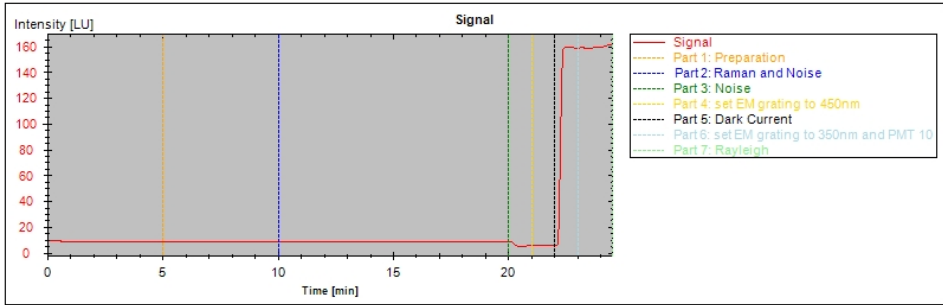


Figura 56 Test de señal-ruido ASTM Raman (software Lab Advisor)

En función de la versión del detector, la especificación puede haber sufrido modificaciones.

Tabla 23 Especificación señal-ruido ASTM Raman

Instrumento	Especificación de relación señal-ruido Raman/oscura	Especificación de relación señal-ruido para long. de onda doble	Comentario
G1321C (1260)	500 / 3000		Versión D y posteriores de la tarjeta FLF
G1321B (1260)	500 / 3000	300	Versión D y posteriores de la tarjeta FLF
G1321A (1200)	500	300	Versión D y posteriores de la tarjeta FLF
G1321A (1100)	400		Versión B y posteriores de la tarjeta FLF
G1321A (1100)	200		Versión A de la tarjeta FLF

Condiciones: Celda de flujo estándar (G1321-60005 o G5615-60005); caudal de agua de 0,25 mL/min.

NOTA

Los valores **Dark** y **Dual WL** son simplemente especificaciones adicionales. Únicamente el valor **Raman** se utiliza para la comprobación estándar del instrumento.

NOTA

El software Agilent Lab Advisor permite medir la especificación para una longitud de onda única. El resto de especificaciones (no utilizadas para la comprobación estándar) deben configurarse manualmente con la información de [Tabla 26](#) en la página 167 y [Tabla 27](#) en la página 168.

Tabla 24 Condiciones para el test de señal-ruido ASTM Raman

Duración	Aproximadamente 23 minutos
Celda de flujo estándar	G1321-60005 o G5615-60005
Disolvente	Agua de calidad LC desgasificada
Caudal	0,25 mL/min
Especificación (señal de longitud de onda única)	> 500 (según los valores de la Tabla 25 en la página 167)
Especificación (fondo con longitud de onda única)	> 3.000 (según los valores de Tabla 26 en la página 167)
Especificación (longitud de onda doble)	> 300 (según los valores de Tabla 27 en la página 168)

Tabla 25 Valores de las especificaciones con longitud de onda única (señal)

Tiempo	EX	EM	PMT	Línea base
0	350	397	12	Libre
20,30	350	450	12	Libre

Tabla 26 Valores de las especificaciones con longitud de onda única (fondo)

Tiempo	EX	EM	PMT	Línea base
0	350	450	14	Libre
20,30	350	397	14	Libre

Tabla 27 Valores de las especificaciones con longitud de onda doble (barrido de emisión múltiple)

Tiempo	EX	EM_A	EM_B	Espectros	Desde	Hasta	Paso	PMT	Línea base	Ajuste de espectros
00.00	350	397	450	Ninguno	280	450	10	12	Libre	Desactivado
20.30	350	450	450	Ninguno	280	450	10	12	Libre	Desactivado

Las fórmulas para el cálculo del valor de relación señal-ruido ASTM Raman son las siguientes (consulte [Figura 57](#) en la página 168 para obtener más información):

$$\text{SNR_Raman} = \frac{\text{mean_raman (ex = 350, em = 397)} - \text{mean_background (ex = 350, em = 450)}}{\text{noise_raman (ex = 350, em = 397)}}$$

$$\text{SNR_Dark} = \frac{\text{mean_raman (ex = 350, em = 397)} - \text{mean_background (ex = 350, em = 450)}}{\text{noise_background (ex = 350, em = 450)}}$$

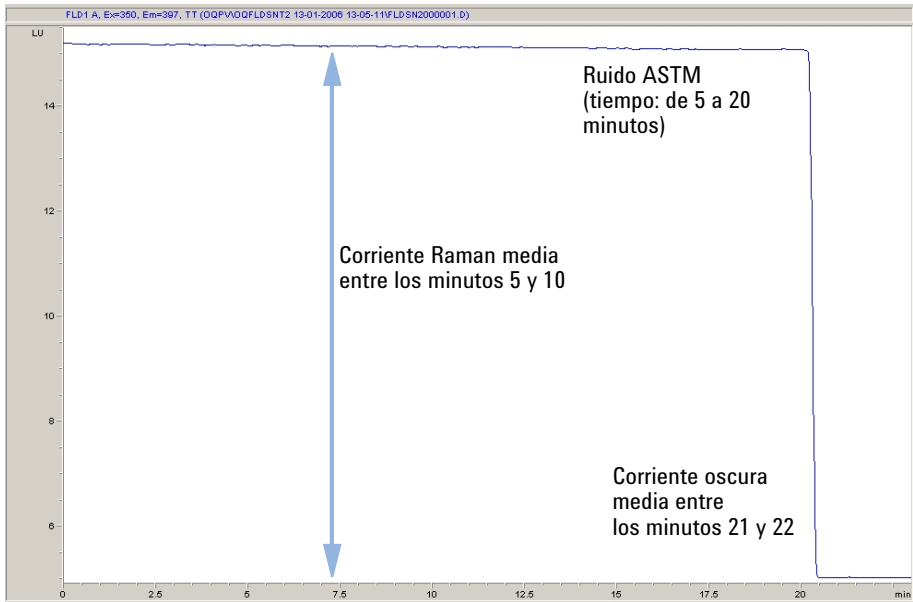


Figura 57 Cálculo de la relación señal-ruido ASTM Raman

Utilizando el software Agilent Lab Advisor

- 1 Configure el sistema HPLC y el software Lab Advisor.
- 2 Lave la celda de flujo con agua bidestilada limpia.
- 3 Inicie el test con el software Lab Advisor.

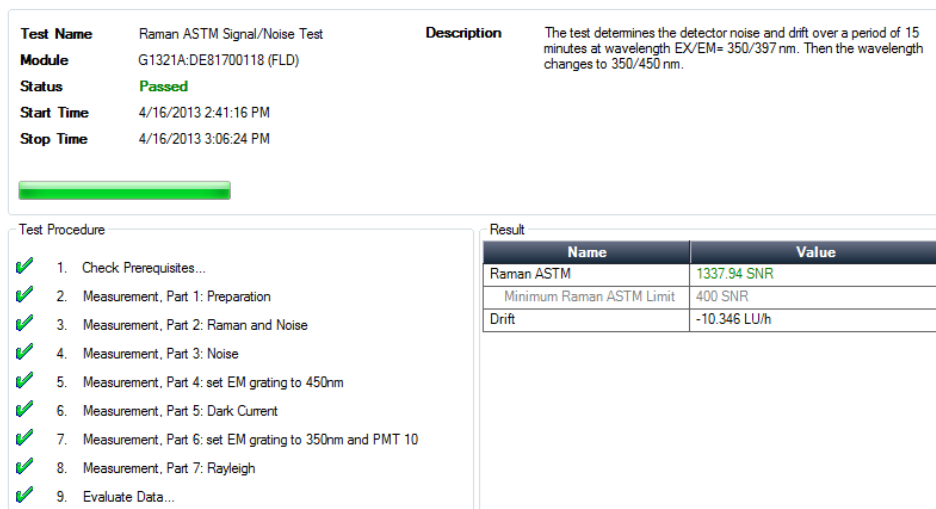


Figura 58 Test de señal-ruido ASTM Raman (software Agilent Lab Advisor)

Si el resultado de este test no fuera satisfactorio (a diferencia de lo que se observa en la imagen superior), consulte [“Interpretación de los resultados”](#) en la página 169.

Interpretación de los resultados

Si el test indica unos valores Raman bajos, efectúe las siguientes comprobaciones:

- ✓ La celda de flujo debe estar correctamente colocada.
- ✓ La celda de flujo debe estar limpia (lavada con agua bidestilada limpia).
- ✓ No deben existir burbujas de aire (verifíquelo mediante un barrido de fluorescencia o una inspección visual de la celda o cubeta).
- ✓ Revise el filtro de entrada de disolvente (puede generar burbujas de aire en la celda de flujo).

Uso del cromatograma de prueba integrado

Esta función se encuentra disponible en Agilent ChemStation, LabAdvisor e Instant Pilot.

El cromatograma de prueba integrado se puede usar para comprobar el paso de señal desde el detector hasta el sistema de datos y el análisis de datos o a través de la salida analógica hasta el integrador o el sistema de datos. El cromatograma se repetirá continuamente hasta que se detenga manualmente o al alcanzarse un límite de tiempo.

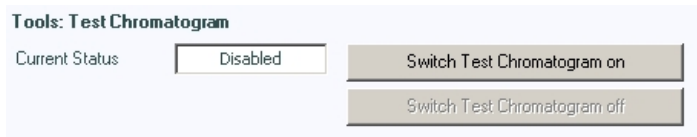
NOTA

La altura de los picos siempre será la misma, pero el área y el tiempo de retención dependerán de la anchura de pico ajustada; consulte el siguiente ejemplo.

Procedimiento utilizando el software Agilent Lab Advisor

El procedimiento funciona en todos los detectores Agilent 1200 Infinity (detectores de diodos, detectores de longitud de onda múltiple, detectores de longitud de onda variable, detectores de fluorescencia y detectores de índice de refracción). La ilustración del ejemplo corresponde a un detector de índice de refracción (RID).

- 1 Asegúrese de que el método LC predeterminado esté cargado a través del software de control.
- 2 Inicie el software Agilent Lab Advisor (B.01.03 SP4 o superior) y abra la selección **Tools** del detector.
- 3 Abra la pantalla del cromatograma de test.



- 4 Active la función **Test Chromatogram**.
- 5 Cambie al **Module Service Center** y añada la señal del detector en la ventana "Gráfico de señales".

6 Para iniciar un cromatograma de test, escriba en la línea de comandos: STRT

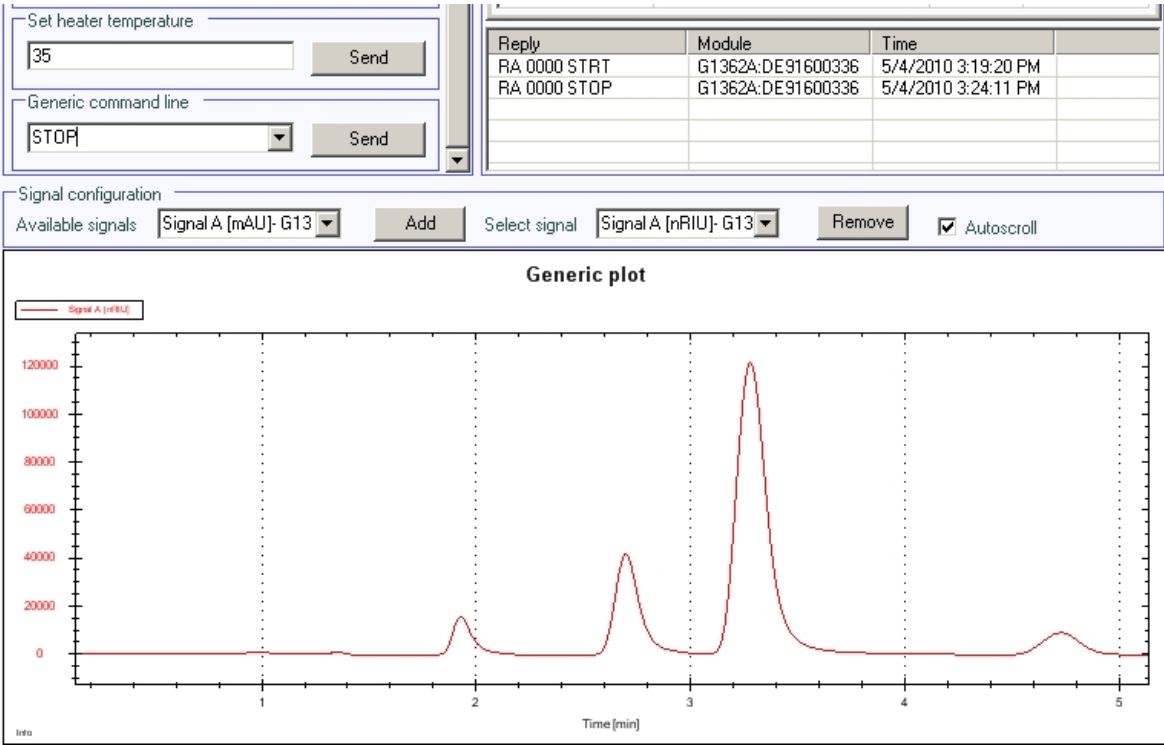


Figura 59 Cromatograma de test con Agilent Lab Advisor

7 Para detener el cromatograma de test, escriba en la línea de comandos: STOP

NOTA

El cromatograma de test se apaga automáticamente al final de un análisis.

Verificación y calibración de la longitud de onda

La calibración de la longitud de onda se basa en una disolución de glicógeno, que provoca una dispersión fuerte y elástica de la luz; consulte el método de ensayo E388-72-1993 de la ASTM, “*Spectral Band width and Wavelength Accuracy of Fluorescence Spectrometers*” (Exactitud del ancho de banda espectral y la longitud de onda de los espectrómetros de fluorescencia). La disolución de glicógeno se introduce en la celda de flujo y, a continuación, se usa la función de calibración de la longitud de onda incorporada.

El algoritmo se basa en la evaluación de diferentes órdenes de difracción y en el cálculo de las escalas de longitud de onda de ambos monocromadores (de excitación y emisión), aplicando para ello la ecuación fundamental de difracción.

NOTA

No siempre resulta necesario realizar una calibración completa de la longitud de onda. En la mayoría de los casos, basta con llevar a cabo una verificación rápida de la exactitud de la longitud de onda (consulte [Tabla 28](#) en la página 172).

Tabla 28 Motivos para realizar una verificación o una calibración

	Verificación	Calibración de la longitud de onda
Interés	X	
Cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio (GLP)	X	
Cambio de celda	X	(X)
Cambio de lámpara	X	(X)
Cambio de monocromador		X
Cambio de la tarjeta principal		X
Cambio de la unidad óptica		X

La indicación "(X)" implica que únicamente debe realizarse si la desviación es excesivamente grande.

NOTA

Antes de proceder a calibrar la longitud de onda, debería llevarse a cabo una verificación de la exactitud de la longitud de onda (consulte [“Test de exactitud de la longitud de onda”](#) en la página 176). Si la desviación es mayor de ± 3 nm, debería realizarse una calibración de la longitud de onda según se especifica en [“Procedimiento de calibración de la longitud de onda”](#) en la página 183.

NOTA

La duración aproximada de la calibración de la longitud de onda es de unos 15 minutos, más el tiempo necesario para la configuración de la muestra y el sistema de calibración. En función de la intensidad máxima hallada durante este barrido, la ganancia PMT se modificará automáticamente, lo que requerirá 1 minuto adicional por barrido.

La [Tabla 29](#) en la página 175 muestra los pasos realizados durante la calibración de la longitud de onda.

Las redes de difracción de excitación y de emisión se calibran utilizando la luz dispersa Rayleigh de la celda de flujo o cubeta medida con el tubo fotomultiplicador.

8 Funciones de test
Verificación y calibración de la longitud de onda

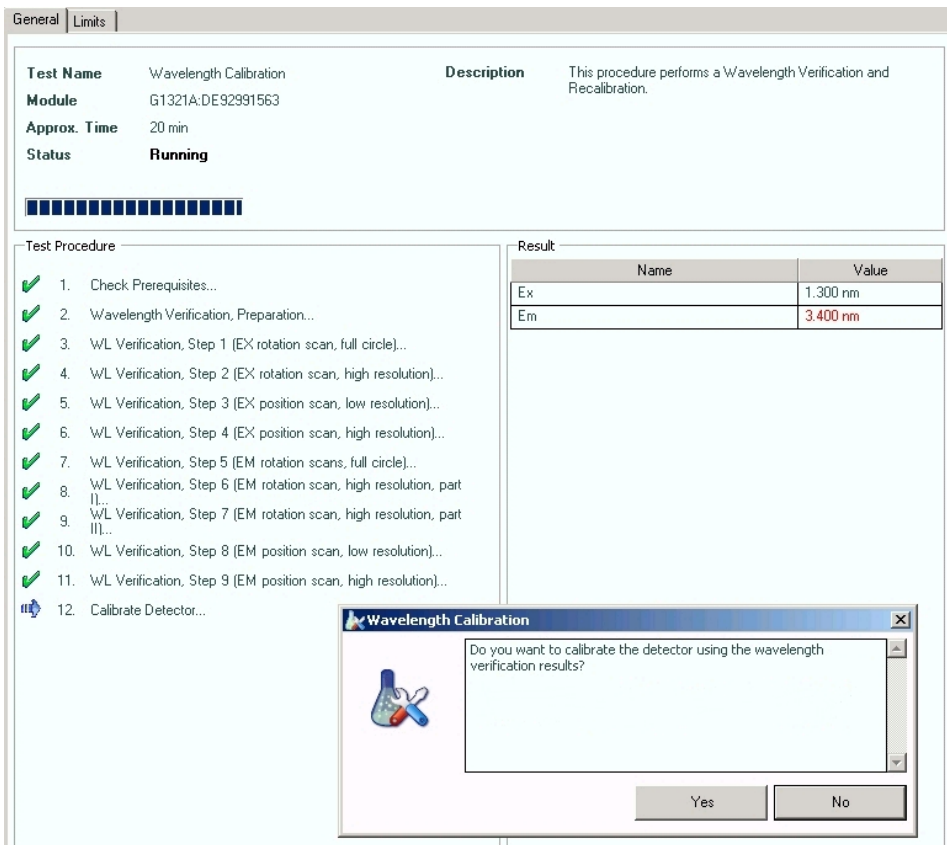


Figura 60 Calibración de la longitud de onda (software Agilent Lab Advisor)

Tabla 29 Pasos de calibración de la longitud de onda

Paso	Descripción	Duración
1	Preparación	30 s, máx.
2	Barrido giratorio de excitación (círculo completo)	60 s
3	Barrido giratorio de excitación (alta resolución)	44 s
4	Barrido de posición de excitación (baja resolución)	55 s, variable
5	Barrido de posición de excitación (alta resolución)	260 s, variable
6.n	Barrido giratorio de emisión (círculo completo); el número de barridos dependerá de la ganancia PMT requerida (1 minuto por barrido)	61 s, variable
6.n	Barrido giratorio de emisión (círculo completo; perfil del instrumento)	9 s
6.n	Barrido giratorio de emisión (círculo completo; perfil del instrumento)	9 s
6.n	Barrido giratorio de emisión (círculo completo; perfil del instrumento)	9 s
6.n	Barrido giratorio de emisión (círculo completo; perfil del instrumento)	9 s
7	Barrido giratorio de emisión (alta resolución; 1.ª parte)	44 s
8	Barrido giratorio de emisión (alta resolución; 2.ª parte)	44 s
9	Barrido de posición de emisión (baja resolución)	50 s, variable
10	Barrido de posición de emisión (alta resolución)	250 s, variable

NOTA

La indicación "variable" quiere decir que los tiempos podrían ser ligeramente mayores.

Cuando la lámpara esté apagada, el proceso de calibración se detendrá dentro de los dos primeros pasos y se mostrará el mensaje "Wavelength Calibration Failed" (Fallo de la calibración de la longitud de onda); consulte "[Wavelength Calibration Failed](#)" en la página 158.

Test de exactitud de la longitud de onda

Utilizando el software Agilent Lab Advisor

- 1 Configure el sistema HPLC y el software Agilent Lab Advisor.
- 2 Lave la celda de flujo con agua bidestilada limpia.
- 3 Encienda la lámpara del detector de fluorescencia.
- 4 Realice el test de exactitud de la longitud de onda.
- 5 El detector de fluorescencia se situará en el modo de excitación múltiple, con una longitud de onda de emisión de 397 nm, y realizará un barrido en el rango en el que se prevé la aparición del máximo ($350 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$).

El máximo debería detectarse para un valor igual a $350 \text{ nm} \pm 3 \text{ nm}$ (consulte [Figura 61](#) en la página 176).

El detector de fluorescencia se situará en el modo de emisión múltiple, con una longitud de onda de excitación de 350 nm, y realizará un barrido en el rango en el que se prevé la aparición del máximo ($397 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$).

El máximo debería detectarse para un valor igual a $397 \text{ nm} \pm 3 \text{ nm}$ (consulte [Figura 61](#) en la página 176).

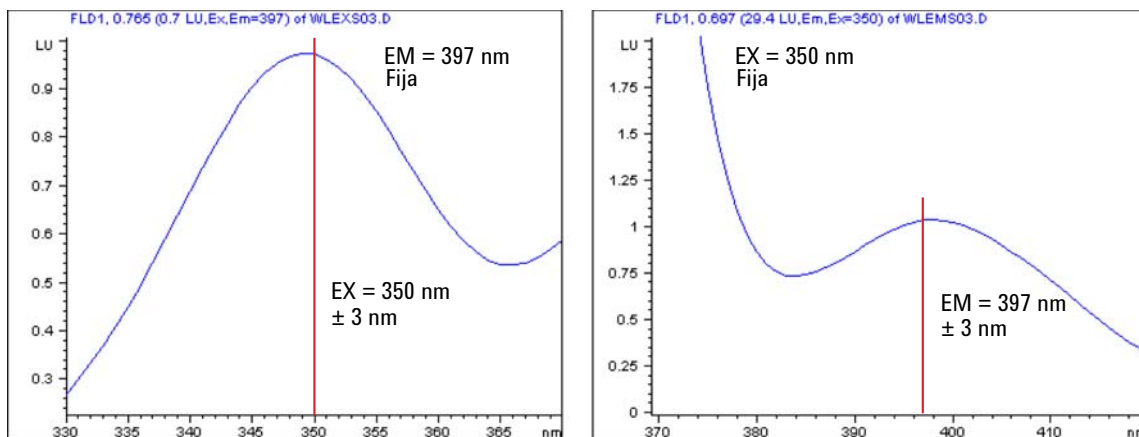


Figura 61 Espectros de excitación y emisión (resultados esperados)

NOTA

Si los gráficos no presentan un máximo en torno a EM = 397 nm y EX = 350 nm (± 3 nm), el test no se habrá superado. Consulte [“Interpretación de los resultados”](#) en la página 178.

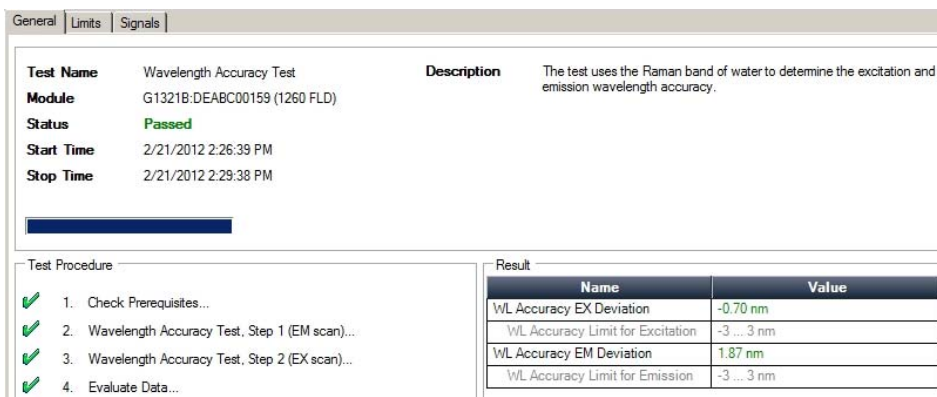


Figura 62 Test de exactitud de la longitud de onda con el software Lab Advisor

Si el resultado del test no es satisfactorio, compruebe el máximo del lado de excitación o emisión en la pestaña **Signals**.

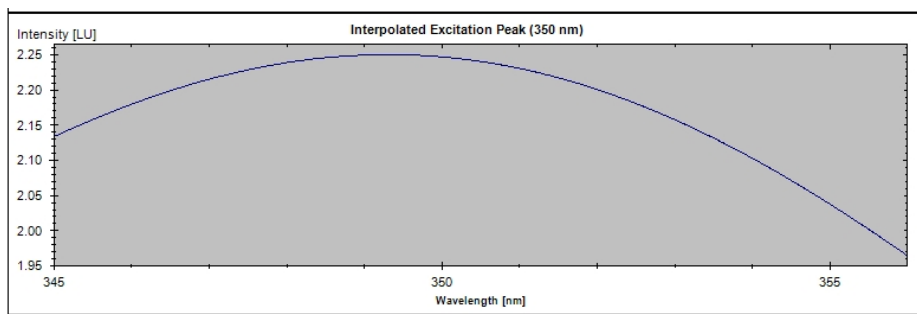


Figura 63 Ejemplo de un máximo de excitación (EX) correcto

Si los gráficos no presentan un máximo en torno a EM = 397 nm y EX = 350 nm (± 3 nm), el test no se habrá superado (consulte la siguiente figura). Consulte la [“Interpretación de los resultados”](#) en la página 178.

8 Funciones de test

Test de exactitud de la longitud de onda

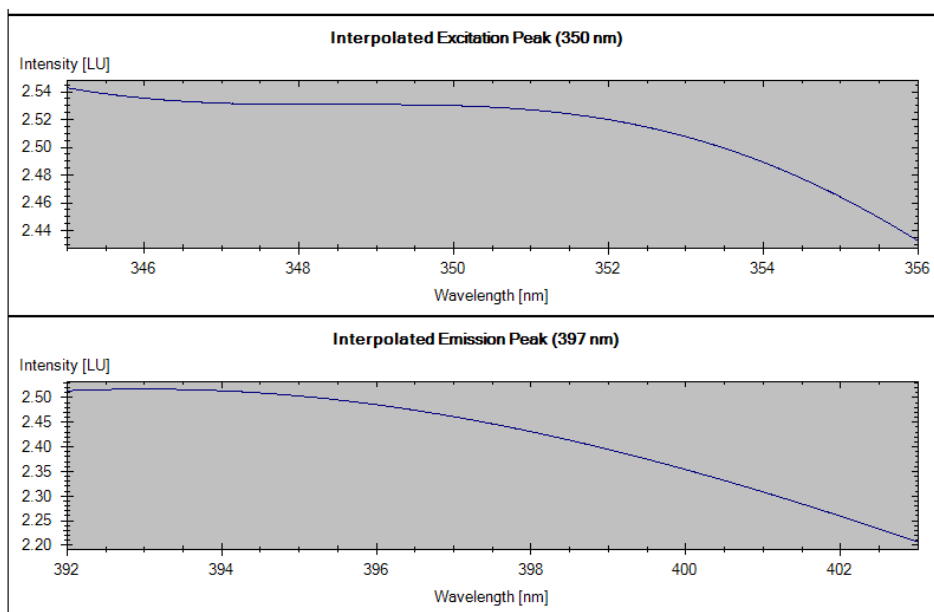


Figura 64 Ejemplo de máximos de excitación/emisión (EX/EM) incorrectos (no se detecta ningún máximo)

Interpretación de los resultados

Si el test no resulta satisfactorio, efectúe las siguientes comprobaciones:

- ✓ La celda de flujo debe estar correctamente colocada.
- ✓ La celda de flujo debe estar limpia (lavada con agua bidestilada limpia).
- ✓ No deben existir burbujas de aire (verifíquelo mediante un barrido de fluorescencia o una inspección visual de la celda o cubeta).
- ✓ Revise el filtro de entrada de disolvente (puede generar burbujas de aire en la celda de flujo).
- ✓ Compruebe si existe contaminación en el paso óptico (mantenimiento).
- ✓ Compruebe la alineación de la lámpara y el conjunto de activación (mantenimiento).
- ✓ Realice una calibración de la longitud de onda.

Utilización del software Agilent ChemStation (procedimiento manual)

- 1 Cree los métodos WLEMTEST y WLEXTEST, según se indica en la [Tabla 30](#) en la página 179.

Tabla 30 Parámetros de los métodos

Parámetro	Comprobación de la long. de onda de emisión (397 nm) WLEMTEST	Comprobación de la long. de onda de excitación (350 nm) WLEXTEST
Anchura de pico	> 0,2 min (4 s, estándar)	> 0,2 min (4 s, estándar)
Ajuste del rango espectral	Desactivado	Desactivado
Ganancia PMT	12	12
Lámpara de flash	Encendida	Encendida
Rango del espectro	Emisión: 367-417 nm (paso: 1 nm)	Excitación: 330-380 nm (paso: 1 nm)
Almacenamiento de espectros	Todos, sin señal	Todos, sin señal
Longitud de onda de excitación (EX)	350 nm, activada	350 nm, desactivada
Longitud de onda de emisión (EM)	397 nm, desactivada	397 nm, activada
Ajustes de longitud de onda múltiple	Emisión múltiple	Excitación múltiple

8 Funciones de test

Test de exactitud de la longitud de onda

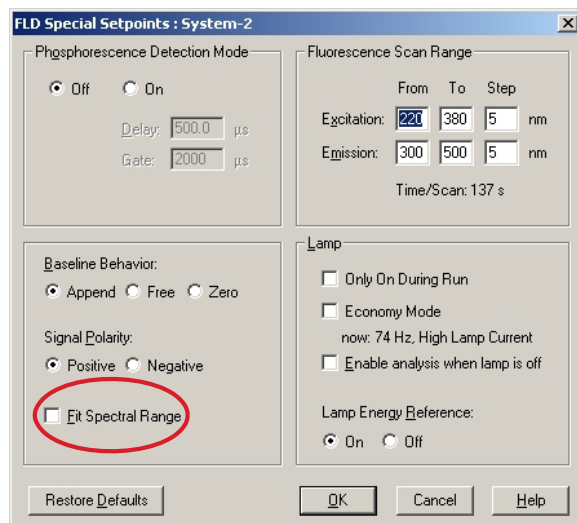


Figura 65 Ajustes de valores especiales

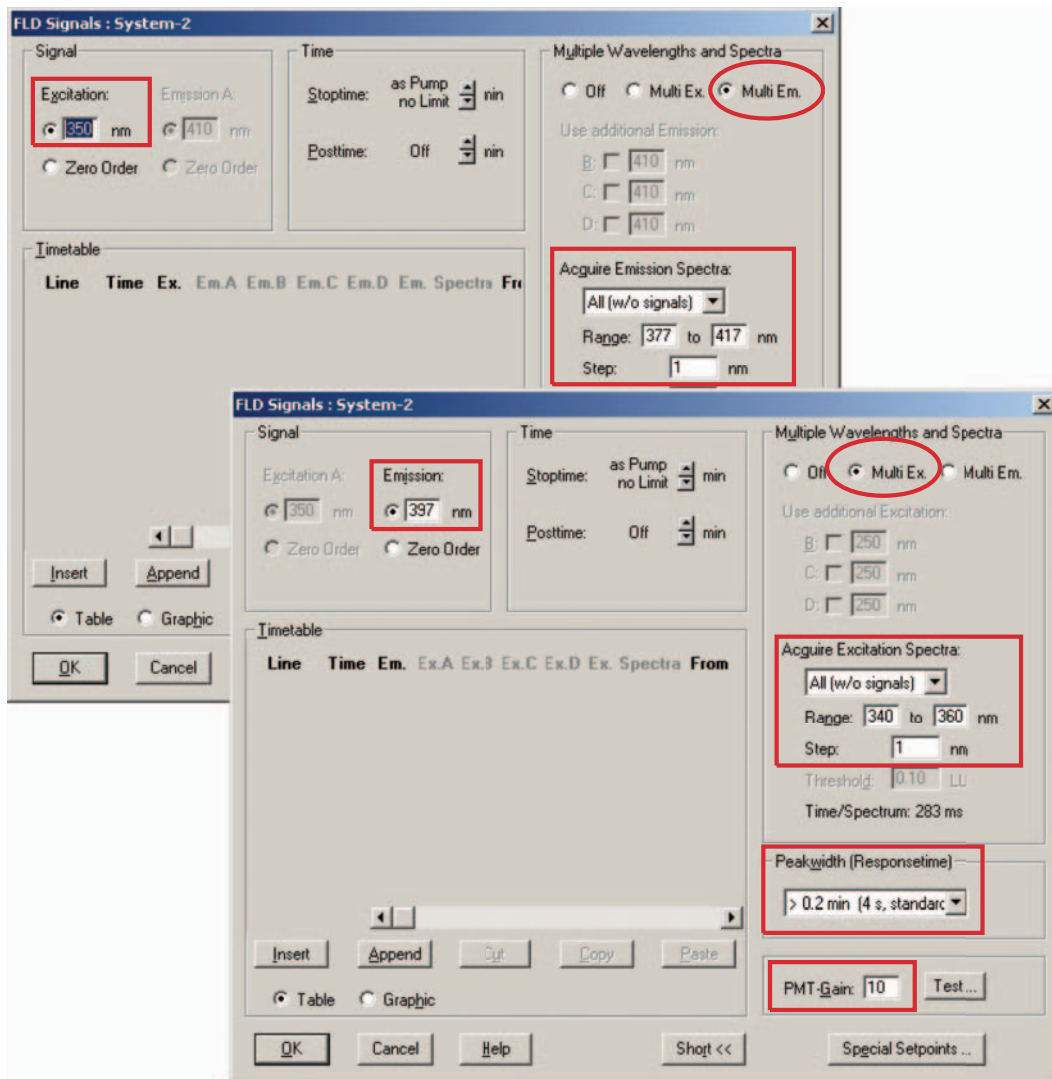


Figura 66 Ajustes del barrido de emisión/excitación (EM/EX)

- 2 Cargue el método **WLEXTEST**. El detector de fluorescencia pasará a situarse en el modo de emisión múltiple y realizará un barrido en el rango en el que se prevé que aparezca el máximo (397 ± 20 nm).

8 Funciones de test

Test de exactitud de la longitud de onda

- 3 Arranque la bomba y lave la celda de flujo con agua durante algunos minutos para garantizar que esté limpia. El caudal utilizado debería estar entre 0,5 y 1 ml/min y la línea base debería ser estable.

NOTA

Puede extraer la celda de flujo y comprobar si existen burbujas de aire. Tras volver a colocar la celda, encienda la lámpara.

- 4 Abra el gráfico "Online Spectra" (Espectros en línea) y compruebe si aparece el máximo tal como se muestra en la [Figura 61](#) en la página 176 (izquierda).
- 5 Cargue el método **WLEMTEST**. El detector de fluorescencia pasará a situarse en el modo de excitación múltiple y realizará un barrido en el rango en el que se prevé que aparezca el máximo (350 ± 20 nm).
- 6 Abra el gráfico "Online Spectra" (Espectros en línea) y compruebe si aparece el máximo tal como se muestra en [Figura 61](#) en la página 176 (derecha).

Procedimiento de calibración de la longitud de onda

Cuándo Si la aplicación lo requiere (consulte la [Tabla 29](#) en la página 175).

Herramientas necesarias

Descripción

Báscula de laboratorio

Piezas necesarias	Referencia	Descripción
	5063-6597	Muestra de calibración, Glicógeno
	9301-1446	Jeringa
	9301-0407	Aguja
	5190-5111	Filtro de jeringa, 0,45 µm (100/paquete)
	0100-1516	Conexión macho PEEK, 2/paq.

- 1 Preparación de la muestra de calibración de glicógeno:

a

Para preparar 10 ml de disolución de calibración ha de utilizar 10 mg de la muestra de glicógeno (una tolerancia de ± 20 % no resulta crítica).

b

Introduzca la cantidad preparada en un vial o botella adecuado.

c

Añada al vial 10 ml de agua destilada y agítelo.

d

Espere 5 minutos y agítelo de nuevo. Después de 10 minutos, la disolución estará preparada.

2 Preparación de la celda de flujo:

a

Lave la celda de flujo con agua.

b

Retire el capilar de entrada de la celda de flujo.

c

Sujete la jeringa y acople la aguja al adaptador de la jeringa.

d

Succione aproximadamente 1,0 ml de la muestra de calibración con la jeringa.

e

Mantenga la jeringa en posición horizontal.

f

Quite la aguja.

8 Funciones de test

Procedimiento de calibración de la longitud de onda

- g Coloque el filtro en la jeringa y acople la aguja al filtro.

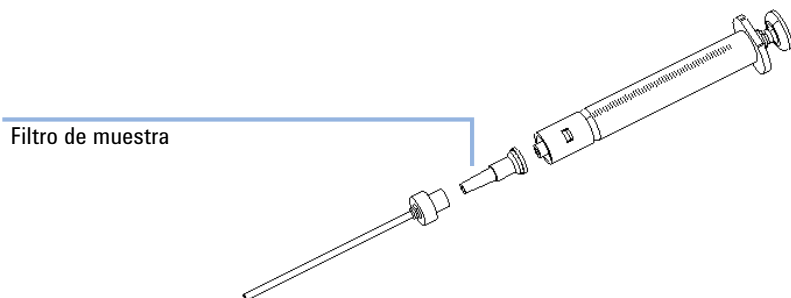


Figura 67 Jeringa con filtro de muestra

- h Levante la punta de la aguja y expulse cuidadosamente unos 0,5 ml para eliminar el aire de la jeringa y lavar la aguja.
- i Añada la conexión de PEEK a la punta de la aguja y fije ambas a la entrada de la celda de flujo.

NOTA

No inyecte la muestra de calibración sin el filtro de muestra.

- j Inyecte lentamente unos 0,2 ml; espere durante unos 10 segundos e inyecte 0,1 ml más. De esta forma, se garantizará que la celda se llene correctamente.

3 Calibración de la longitud de onda:

- a Desde la interfaz de usuario, inicie la calibración de la longitud de onda del detector de fluorescencia (consulte la [Figura 70](#) en la página 186).
- Agilent Lab Advisor: **Calibrations**
 - Agilent ChemStation: **Diagnosis > Maintenance > FLD Calibration**
 - Instant Pilot (G4208A): **Maintenance > FLD > Calibration**

NOTA

Si el resultado del proceso de calibración es incorrecto, consulte [“Wavelength Calibration Failed”](#) en la página 158.

- b Si se indica una desviación, pulse el botón **Yes** (Sí) del software Lab Advisor para seleccionar los nuevos valores, o bien los botones **Adjust** (Ajustar) y **OK** (Aceptar) del software ChemStation (consulte la página siguiente). La tabla del historial se actualizará.

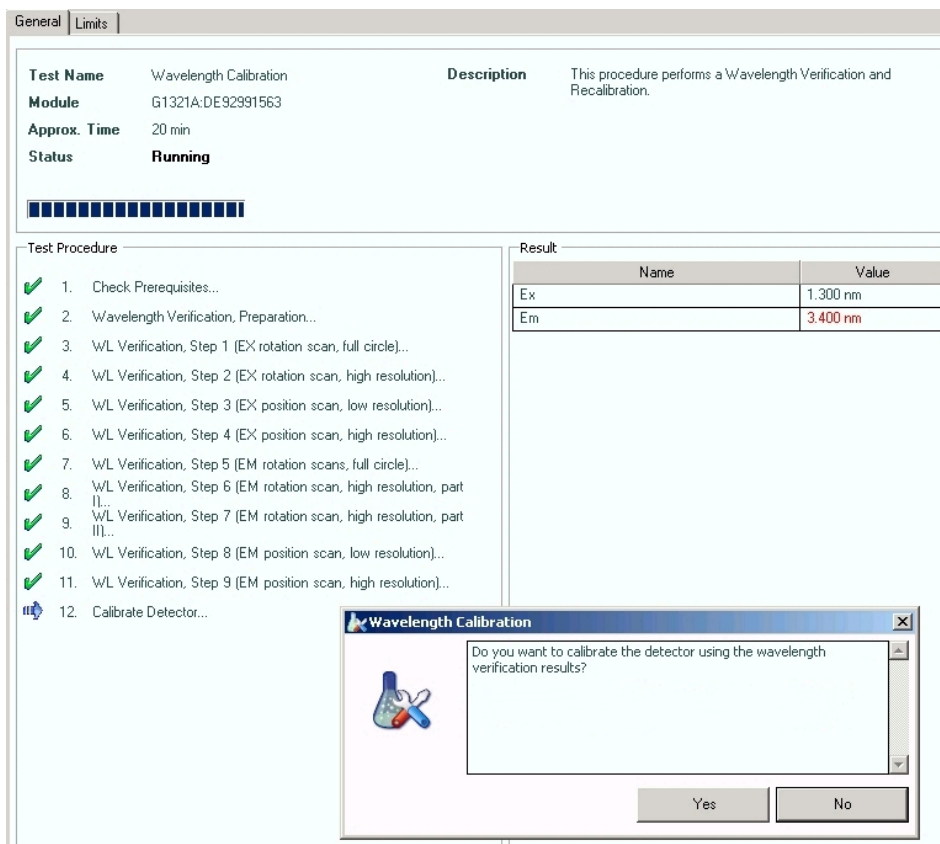


Figura 68 Calibración de la longitud de onda (software Agilent Lab Advisor)

8 Funciones de test

Procedimiento de calibración de la longitud de onda

WL Calibration History		
Date	Deviation of Excitation	Deviation of Emission
02/11/2010 12:54	0.3	-1.6
02/09/2010 12:22	0.0	0.0
02/09/2010 11:48	13.2	12.5
10/20/2009 10:41	-2.2	0.5
07/21/2009 13:41	23.2	-1.1
07/21/2009 12:22	0.1	0.1
07/21/2009 11:31	-19.7	-6.6
08/25/2006 12:05	-0.2	0.2
01/09/2006 16:02	-0.2	-0.1
01/09/2006 15:30	0.6	0.8

Figura 69 Historial de calibración: sección Module Info (Información del módulo) del software Agilent Lab Advisor

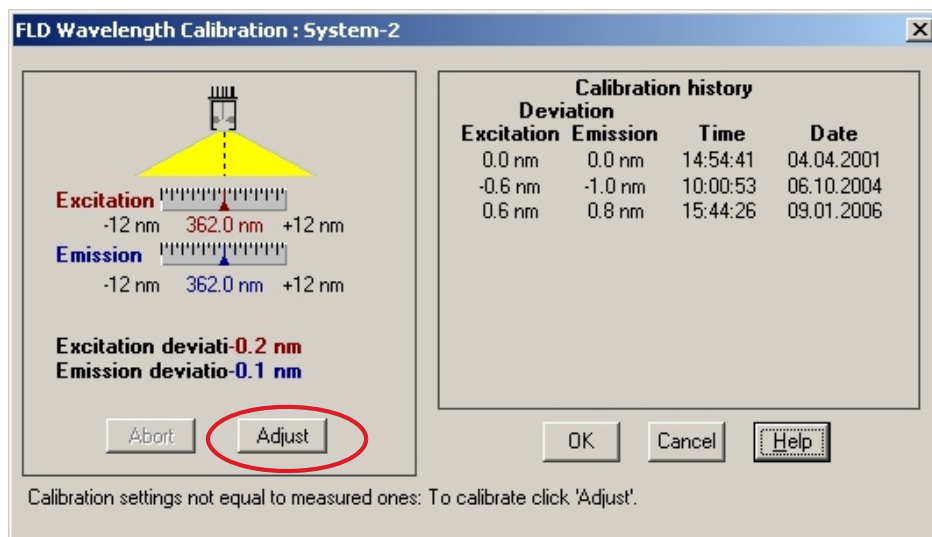


Figura 70 Calibración de la longitud de onda (software Agilent ChemStation)

NOTA

Para consultar la tabla del historial (ChemStation), inicie una calibración de la longitud de onda y cancélela de inmediato. No se realizarán cambios en la calibración en ese punto.

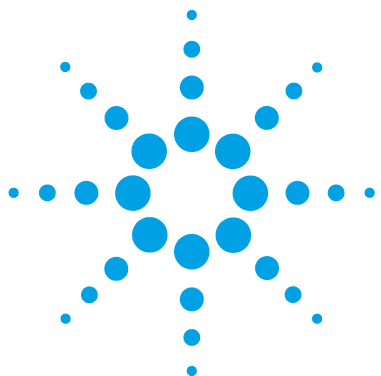
NOTA

Aclare la celda de flujo con un caudal mínimo de agua pura de 1,5 ml/min para eliminar el glicógeno de la celda y los capilares. Si se utiliza un disolvente orgánico justo a continuación (sin aclarado), podría producirse la obstrucción de los capilares.

- 4 Verificación utilizando “Test de exactitud de la longitud de onda” en la página 176.
 - a Conecte de nuevo el capilar a la celda de flujo.
 - b Siga el procedimiento descrito en “Test de exactitud de la longitud de onda” en la página 176.

8 Funciones de test

Procedimiento de calibración de la longitud de onda



9 Mantenimiento

Introducción al mantenimiento	190
Avisos y precauciones	191
Descripción general del mantenimiento	193
Limpieza del módulo	194
Cambio de la celda de flujo	195
Cómo utilizar la cubeta	199
Lavado de la celda de flujo	200
Corrección de fugas	201
Sustitución de las piezas del sistema de gestión de fugas	202
Sustitución de la tarjeta de interfaz	203
Sustitución del firmware del módulo	204
Tests y calibraciones	205

En este capítulo se ofrece información general sobre el mantenimiento del detector.



Introducción al mantenimiento

El módulo está diseñado para facilitar el mantenimiento. El mantenimiento se puede llevar a cabo desde la parte frontal con el módulo colocado en la torre de módulos del sistema.

NOTA

No contiene piezas reparables.

No abra el módulo.

Avisos y precauciones

ADVERTENCIA

Disolventes, muestras y reactivos tóxicos, inflamables y peligrosos

La manipulación de disolventes, muestras y reactivos puede suponer riesgos para la salud y la seguridad.

- Cuando se trabaje con esas sustancias, se deben observar los procedimientos de seguridad (por ejemplo, llevar gafas, guantes y ropa protectora) descritos en la información sobre tratamiento de material y datos de seguridad, suministrada por el vendedor y se debe seguir una buena práctica de laboratorio.
 - El volumen de sustancias se debe reducir al mínimo requerido para el análisis.
 - No manipule el instrumento en un ambiente explosivo.
-

ADVERTENCIA

Daños oculares ocasionados por la luz del detector



Pueden producirse daños oculares al mirar directamente la luz UV producida por la lámpara del sistema óptico que utiliza este equipo.

- Apague siempre la lámpara del sistema óptico antes de extraerla.
-

ADVERTENCIA

Descarga eléctrica

Los trabajos de reparación del módulo entrañan riesgos de daños personales, por ejemplo, descargas, si la cubierta está abierta.

- No extraiga la cubierta del módulo.
 - Sólo el personal certificado está autorizado a realizar reparaciones dentro del módulo.
-

ADVERTENCIA

Daños personales o daños en el producto

Agilent no se responsabiliza de ningún daño, total o parcial, resultante de la utilización inadecuada de los productos, alteraciones no autorizadas, ajustes o modificaciones en los productos, incumplimiento del seguimiento de procedimientos contenidos en las guías de usuario de productos de Agilent o utilización de productos en contravención de leyes, normas y normativas aplicables.

- Utilice los productos Agilent sólo en la manera descrita en las guías de productos Agilent.
-

PRECAUCIÓN

Estándares de seguridad para equipos externos

- Si conecta el equipo externo al instrumento, asegúrese de utilizar únicamente accesorios testados y aprobados de conformidad con los estándares de seguridad adecuados para el tipo de equipo externo.
-

Descripción general del mantenimiento

En las siguientes páginas se describen las tareas de mantenimiento del detector (reparaciones simples) que pueden llevarse a cabo sin abrir la cubierta principal.

Tabla 31 Reparaciones simples

Procedimiento	Frecuencia típica	Notas
Cambio de la celda de flujo	Si la aplicación requiere un tipo diferente de celda de flujo o si está defectuosa.	Conjunto completo Debe realizarse una calibración de la longitud de onda después del cambio. Si se quita y vuelve a colocar la celda de flujo, deberá realizarse una comprobación de calibración rápida. Si ésta falla, deberá recalibrarse la longitud de onda (consulte “Verificación y calibración de la longitud de onda” en la página 172).
Lavado de la celda de flujo	Si la celda de flujo está contaminada.	
Secado del sensor de fugas	Si se ha producido una fuga.	Compruebe si existen fugas.
Cambio del sistema de gestión de fugas	Si está roto o corroído.	Compruebe si existen fugas.

Limpieza del módulo

Para mantener limpia la caja del módulo, utilice un paño suave ligeramente humedecido con agua o una disolución de agua y un detergente suave.

ADVERTENCIA

El goteo de líquido en el compartimento electrónico del módulo supone un riesgo de descarga y puede dañar el módulo.

- No utilice paños demasiado húmedos cuando limpie el módulo.
 - Vacíe todas las líneas de disolvente antes de abrir las conexiones del paso de flujo.
-

Cambio de la celda de flujo



Utilice únicamente piezas bioinertes en los módulos bioinertes.

Cuándo	Si alguna aplicación necesita un tipo diferente de celda de flujo o si la celda de flujo está defectuosa (tiene fugas).		
Herramientas necesarias	Descripción Llave inglesa, 1/4 inch para los capilares de conexión		
Piezas necesarias	Número	Referencia	Descripción
	1	G1321-60005	Celda de flujo, 8 µL, 20 bar (pH = 1 – 9,5)
	1	G1321-60015	Celda de flujo, 4 µL, 20 bar (pH = 1 – 9,5)
	1	G5615-60005	Celda de flujo bioinerte, 8 µL, 20 bar (pH 1–12), que incluye celdas de flujo BIO con kit de capilares (referencia G5615-68755)
	1	G1321-60007	Kit de cubeta FLD, 8 µL, 20 bar
Preparaciones	Apagar el flujo.		

PRECAUCIÓN

- Degradación de la muestra y contaminación del instrumento
- Las piezas metálicas del paso de flujo pueden interactuar con las moléculas biológicas de la muestra y provocar la degradación y la contaminación de la muestra.
- En el caso de las aplicaciones bioinertes, utilice siempre piezas bioinertes especiales que se puedan identificar mediante el símbolo de bioinerte o mediante otros marcadores descritos en este manual.
 - En un sistema bioinerte, no mezcle módulos ni piezas bioinertes con los que no sean inertes.

9 Mantenimiento

Cambio de la celda de flujo

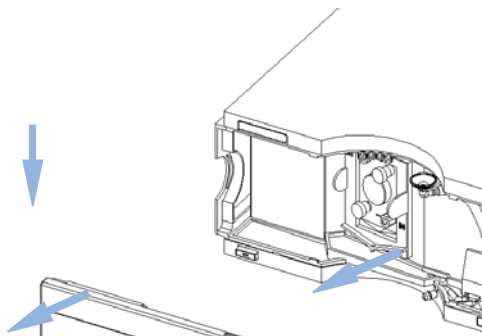
NOTA

NO conecte el capilar de entrada a la conexión de salida de la celda de flujo. Esto dará lugar a un rendimiento deficiente.

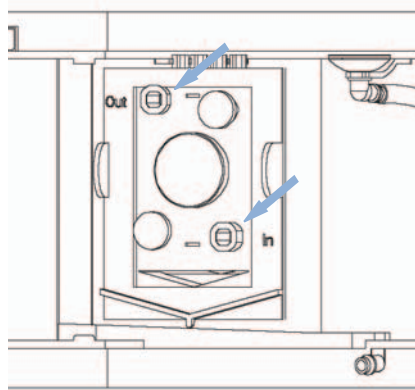
NOTA

Si la celda de flujo no se ha utilizado durante algún tiempo (p. ej., si ha permanecido almacenada), lávela con isopropanol y ciérrela con Tornillo roscado de conexión (0100-1259).

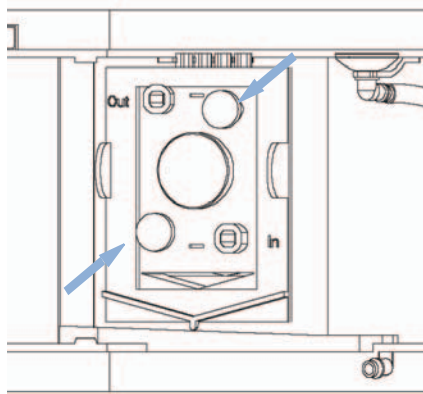
- 1** Pulsar las lengüetas y quitar la cubierta frontal para acceder al área de la celda de flujo.



- 2** Desconectar los capilares de la celda de flujo.



3 Aflojar los tornillos y extraer la celda del compartimento.

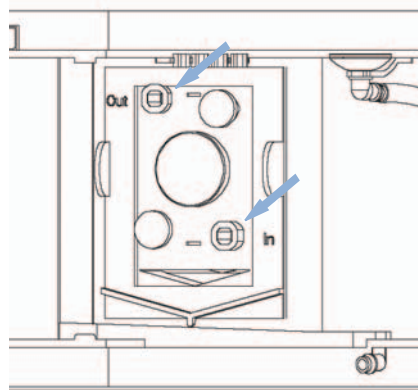


NOTA

La etiqueta de la celda de flujo proporciona información sobre el número de referencia, el volumen de la celda y la presión máxima. El tipo de celda se detectará automáticamente.

No hay piezas que puedan cambiarse en la celda de flujo. Si la celda de flujo está defectuosa (tiene fugas), ha de cambiarse entera.

4 Inserte la celda de flujo y apriete los tornillos. Conecte de nuevo los capilares a la celda de flujo. NO conecte el capilar de entrada a la conexión de salida de la celda de flujo. Esto dará lugar a un rendimiento deficiente o puede producir daños.



NOTA

Si se añade un detector adicional al sistema, el detector de fluorescencia debe ser el último en el paso de flujo, a excepción de los detectores por evaporación (como el LC-MSD). De lo contrario, la retropresión generada por el otro detector podría sobrecargar la celda de flujo y producir su fallo; la presión máxima es de 20 bar (2 MPa).

Utilice siempre el conjunto de capilares de salida suministrado con el kit de accesorios.

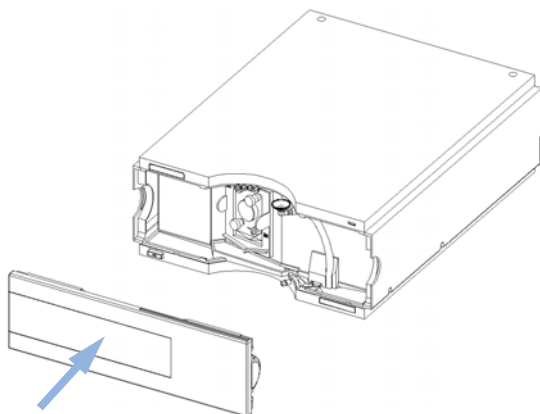
NOTA

Para comprobar si existen fugas, genere flujo y observe la celda de flujo (el exterior del compartimento de la celda) y todos los capilares de conexión.

9 Mantenimiento

Cambio de la celda de flujo

- 5 Vuelva a colocar la cubierta frontal.



NOTA

Verifique la longitud de onda para comprobar que la celda de flujo esté en su posición correcta, según lo especificado en la sección “[Verificación y calibración de la longitud de onda](#)” en la página 172.

Cómo utilizar la cubeta

La cubeta se utiliza para realizar medidas fuera de línea (no es necesario que exista flujo en el sistema); se trata básicamente de una celda de flujo estándar con algunos cambios:

- Conexiones para capilares de mayor diámetro, lo que facilita la inyección con una jeringa.
 - Palanca de identificación para el sistema de reconocimiento automático de la celda.
- 1** Instalar la cubeta en lugar de la celda de flujo estándar.
 - 2** Conectar el tubo de residuos a la salida de la cubeta.
 - 3** Utilizar la jeringa (consultar “[Kit de cubeta](#)” en la página 209) para inyectar el compuesto.
 - 4** Configurar los parámetros para el barrido de fluorescencia (bajo Special Setpoints (parámetros especiales)).
 - 5** Seleccionar “Take Fluorescence Scan” en la interfase de usuario para iniciar la medida fuera de línea.

Lavado de la celda de flujo

Cuándo Si la celda de flujo está contaminada

**Herramientas
necesarias** **Descripción**

Jeringa de vidrio
Adaptador

Piezas necesarias	Número	Descripción
	1	Agua bidestilada, ácido nítrico (65 %) y tubos de residuos

ADVERTENCIA **Concentración peligrosa de ácido nítrico**

El procedimiento de lavado con ácido nítrico no es un remedio infalible para las celdas sucias. Se utiliza como último recurso para intentar recuperar la celda antes de cambiarla. Tenga en cuenta que la celda es un consumible.

→ Preste la debida atención a los procedimientos de seguridad.

NOTA

Los disolventes acuosos pueden provocar la acumulación de algas en la celda de flujo. Las algas son organismos fluorescentes. Por lo tanto, no deben dejarse disolventes acuosos en la celda de flujo durante periodos prolongados. Añada un pequeño porcentaje de disolventes orgánicos (por ejemplo, alrededor de un 5 % de acetonitrilo o metanol).

- 1 Aclarar con agua bidestilada.
- 2 Aclarar con ácido nítrico (65 %) utilizando una jeringa de vidrio.
- 3 Dejar esta disolución en la celda durante aproximadamente una hora.
- 4 Aclarar con agua bidestilada.

NOTA

No superar el límite de presión de 20 bares (0,2 MPa).

Corrección de fugas

Cuándo Si se ha producido alguna fuga en el área de la celda de flujo o en las conexiones capilares

**Herramientas
necesarias**

Descripción

Pañuelo de papel
Llave inglesa, 1/4 inch
para los capilares de conexión

- 1 Retirar la cubierta frontal.
- 2 Utilice un pañuelo de papel para secar el área del sensor de fugas y la bandeja de fugas.
- 3 Observe si hay fugas en las conexiones capilares y en el área de la celda de flujo y corríjelas, si fuera necesario.
- 4 Volver a instalar la cubierta frontal.

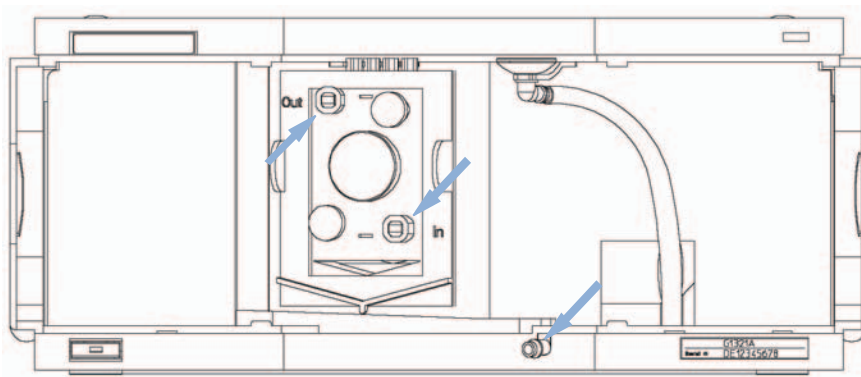


Figura 71 Comprobación de fugas

Sustitución de las piezas del sistema de gestión de fugas

Cuándo Si las piezas están corroídas o rotas.

Piezas necesarias	Número	Referencia	Descripción
	1	5041-8388	Embudo para fugas
	1	5041-8389	Soporte del embudo para fugas
	1	5042-9974	Tubo de fugas (dimensiones requeridas: 1,5 m, 120 mm)

- 1 Retirar la cubierta frontal.
- 2 Retire el embudo de fugas de su soporte.
- 3 Retire el embudo con el tubo.
- 4 Inserte el embudo de fugas con el tubo, en su posición.
- 5 Inserte el embudo de fugas en su soporte.
- 6 Vuelva a colocar la cubierta frontal.

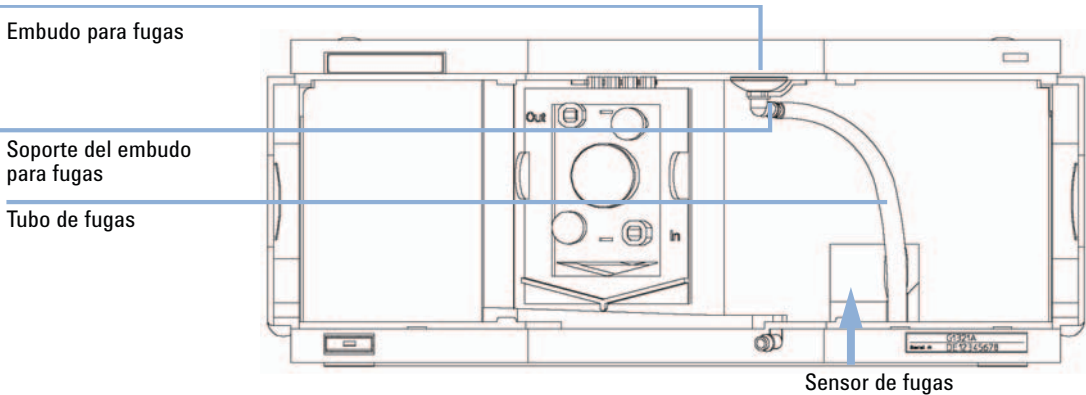


Figura 72 Sustitución de las piezas del sistema de gestión de fugas

Sustitución de la tarjeta de interfaz

Cuándo Para todas las reparaciones dentro del detector o para la instalación de la tarjeta

Piezas necesarias	Número	Referencia	Descripción
	1	G1351-68701	Tarjeta de la interfase (BCD) con contactos externos y salidas BCD
	1	G1369B o G1369-60002	Placa de interfase (LAN)
o	1	G1369C o G1369-60012	Placa de interfase (LAN)

- 1 Para cambiar la tarjeta de interfaz, desatornille los dos tornillos, extraiga la tarjeta, deslice la nueva tarjeta de interfaz y sujétela con los tornillos.

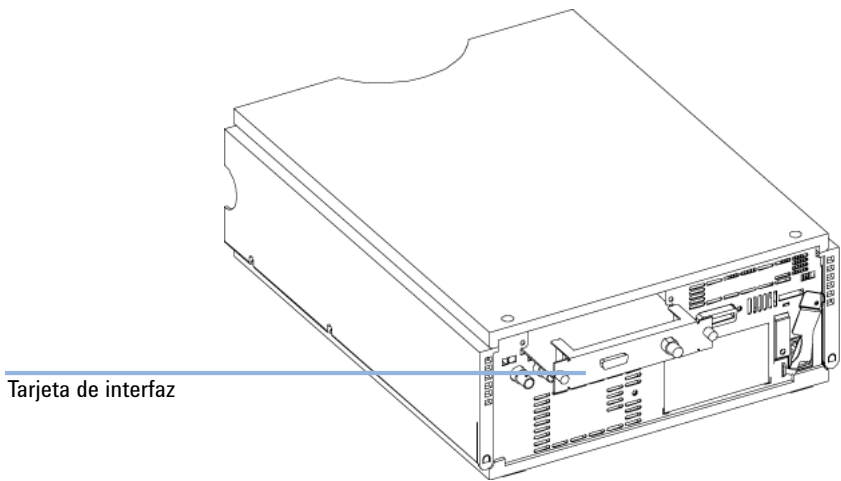


Figura 73 Ubicación de la tarjeta de interfaz

Sustitución del firmware del módulo

Cuándo

- Es posible que sea necesario instalar un firmware más reciente
- si la versión más reciente resuelve los problemas de las versiones anteriores o
 - para mantener todos los sistemas en la misma revisión (validada).
- Es posible que sea necesario instalar un firmware más antiguo
- para mantener todos los sistemas en la misma revisión (validada),
 - si se incorpora un módulo nuevo con un firmware más reciente a un sistema o
 - si el software de control de un tercero requiere una versión especial.

Herramientas necesarias

Descripción

- o Herramienta de actualización del firmware LAN/RS-232
- o Software Agilent Lab Advisor
- o Instant Pilot G4208A
(solo si es compatible con el módulo)

Piezas necesarias

Número

Descripción

- | Número | Descripción |
|--------|---|
| 1 | Firmware, herramientas y documentación del sitio web de Agilent |

Preparaciones

Lea la documentación de la herramienta de actualización del firmware

Para actualizar el firmware del módulo (o volver a una versión anterior del mismo), lleve a cabo los siguientes pasos:

- 1 Descargue el firmware necesario del módulo, la última herramienta de actualización del firmware LAN/RS-232 y la documentación del sitio web de Agilent.
 - http://www.chem.agilent.com/_layouts/agilent/downloadFirmware.aspx?whid=69761
- 2 Para cargar el firmware en el módulo, siga las instrucciones indicadas en la documentación.

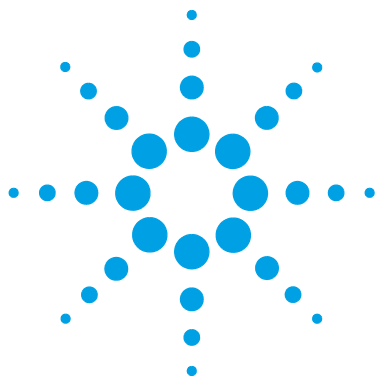
Información específica sobre el módulo

No existe ninguna información específica sobre este módulo.

Tests y calibraciones

Tras llevar a cabo el mantenimiento de las lámparas y las celdas de flujo, deben realizarse los siguientes tests:

- [“Test de intensidad de la lámpara”](#) en la página 164.
- [“Verificación y calibración de la longitud de onda”](#) en la página 172



10

Piezas para mantenimiento

Descripción general de las piezas para mantenimiento [208](#)

Kit de cubeta [209](#)

Kit de accesorios [210](#)

En este capítulo se ofrece información sobre las piezas para mantenimiento.



Descripción general de las piezas para mantenimiento

Referencia	Descripción
G1321-60005	Celda de flujo, 8 μ L, 20 bar (pH = 1 – 9,5)
o G1321-60015	Celda de flujo, 4 μ L, 20 bar (pH = 1 – 9,5); requiere un capilar de 0,12 mm de d.i. (p. ej., la referencia G1316-87318, de 300 mm de longitud); pieza del kit de capilares de 0,12 mm de d.i. (referencia G1316-68716)
o G5615-60005	Celda de flujo bioinerte, 8 μ L, 20 bar (pH 1–12), que incluye celdas de flujo BIO con kit de capilares (referencia G5615-68755)
G5615-68755	Kit de capilares para celdas de flujo bioinertes; incluye un paquete de capilares (0,18 mm x 1,5 m) y conexiones de PEEK (10/paquete; referencia 5063-6591)
G1321-60007	Kit de cubeta FLD, 8 μ L, 20 bar
9301-0407	Aguja
9301-1446	Jeringa
5067-4691	Panel frontal del detector de diodos/de longitud de onda variable/de fluorescencia (1260/1290)
5041-8388	Embudo para fugas
5041-8389	Embudo para fugas
5041-8387	Clip del tubo
5062-2463	Tubos ondulados, PP, 6,5 mm de d.i., 5 m
5062-2462	Tubo de PTFE, 0,8 mm x 2 m, pedido: 5 m
5181-1516	Cable CAN, módulo a módulo Agilent, 0,5 m
5181-1519	Cable CAN, módulo a módulo Agilent, 1 m
G1369B o G1369-60002	Placa de interfase (LAN)
5023-0203	Cable cruzado de red, blindado, 3 m (para conexiones punto a punto)
5023-0202	Cable de red de par trenzado, blindado, 7 m (para conexiones punto a punto)
01046-60105	Módulo Agilent para fines generales (analógico)
G1351-68701	Tarjeta de la interfase (BCD) con contactos externos y salidas BCD

Piezas para la calibración de la longitud de onda: consulte [“Kit de accesorios estándar”](#) en la página 210.

Kit de cubeta

Referencia	Descripción
G1321-60007	Kit de cubeta para detector de fluorescencia, 8 µL; 20 bar incluye:
5062-2462	Tubo de PTFE, 0,8 mm x 2 m, pedido: 5 m
79814-22406	Conexión de acero
0100-0043	Virola frontal de acero
0100-0044	Virola trasera de acero
0100-1516	Conexión macho PEEK, 2/paq.
9301-0407	Aguja
9301-1446	Jeringa

Kit de accesorios

Kit de accesorios estándar

Kit de accesorios (G1321-68755) contiene algunos accesorios y herramientas necesarios para la instalación, reparación y calibración del detector.

Elemento	Referencia	Descripción
1	5062-2462	Tubo de PTFE, 0,8 mm x 2 m, pedido: 5 m
2	0100-1516	Conexión macho PEEK, 2/paq.
3	G1315-87311	Capilar de acero inoxidable, 0,17 mm x 380 mm Columna-detector (incluye virola frontal, virola trasera y conexión, todas ellas en acero)
4	0100-0043	Virola frontal de acero
5	0100-0044	Virola trasera de acero
6	79814-22406	Conexión de acero

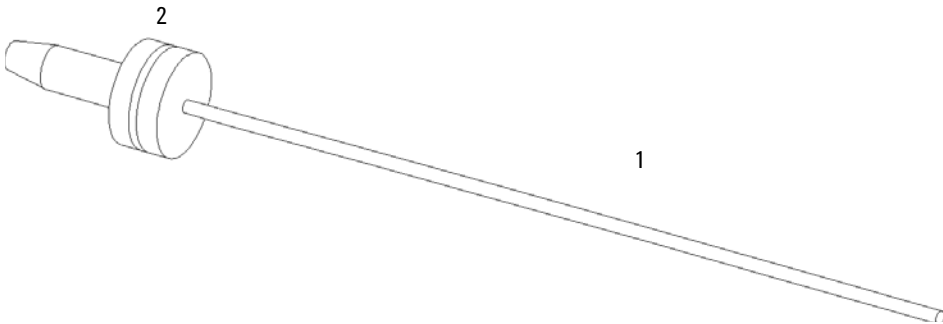


Figura 74 Piezas de los tubos de residuos

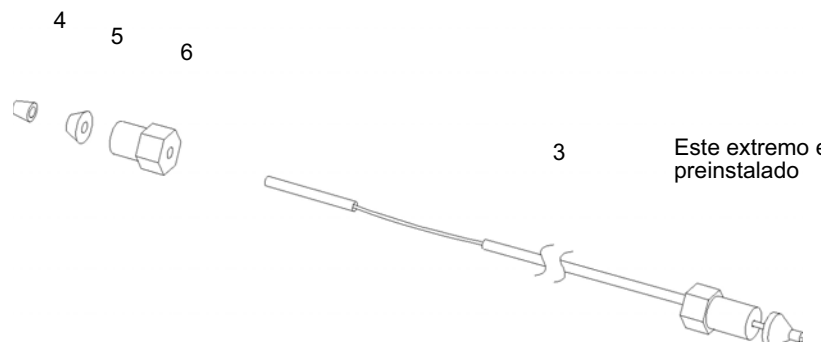


Figura 75 Piezas del capilar de entrada (columna-detector)

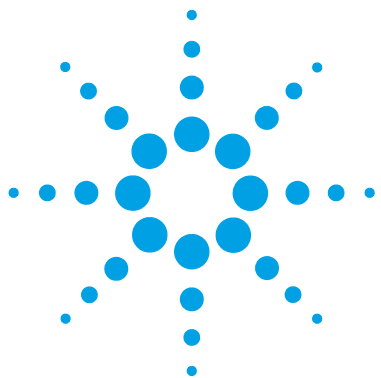
Kit de capilares para celdas de flujo bioinertes

Kit de capilares para celdas de flujo bioinertes; incluye un paquete de capilares (0.18 mm x 1.5 m) y conexiones de PEEK (10/paquete; referencia 5063-6591) (G5615-68755) incluye:

Referencia	Descripción
0890-1763	Paquete de capilares (0,18 mm x 1,5 m)
5063-6591	Conexiones PEEK 10/paquete

10 Piezas para mantenimiento

Kit de accesorios



11 Identificación de cables

Visión general de los cables [214](#)

Cables analógicos [216](#)

Cables remotos [218](#)

Cables BCD [221](#)

Cables CAN/LAN [223](#)

Cable de contacto externo [224](#)

Conexión del módulo Agilent con el PC [225](#)

En este capítulo se ofrece información acerca de los cables utilizados con los módulos Agilent Serie 1200 Infinity.



Visión general de los cables

NOTA

No utilice nunca cables que no sean los suministrados por Agilent Technologies, con el fin de asegurar una correcta funcionalidad y el cumplimiento de los reglamentos de seguridad o de compatibilidad electromagnética.

Cables analógicos

Referencia	Descripción
35900-60750	Módulo Agilent para integradores 3394/6
35900-60750	Convertidor A/D Agilent 35900A
01046-60105	Cable analógico (BNC para uso general con terminales planos)

Cables remotos

Referencia	Descripción
03394-60600	Módulo Agilent a integradores 3396A Serie I Integrador 3396 Serie II/3395A, consulte la información detallada en la sección “Cables remotos” en la página 218
03396-61010	Módulo Agilent para integradores 3396 Serie III / 3395B
5061-3378	Cable remoto
01046-60201	Módulo Agilent para uso general

Cables BCD

Referencia	Descripción
03396-60560	Módulo Agilent a integradores 3396
G1351-81600	Módulo Agilent para uso general

Cables CAN

Referencia	Descripción
5181-1516	Cable CAN
5181-1519	Cable CAN, módulo a módulo Agilent, 1 m

Cables de LAN

Referencia	Descripción
5023-0203	Cable cruzado de red, blindado, 3 m (para conexiones punto a punto)
5023-0202	Cable de red de par trenzado, blindado, 7 m (para conexiones punto a punto)

Cables RS-232

Referencia	Descripción
G1530-60600	Cable RS-232, 2 m
RS232-61601	Cable RS-232, 2,5 m Del instrumento al ordenador, de 9 a 9 contactos (hembra). Este cable dispone de una salida de contactos especial y no es compatible con la conexión a impresoras y plóteres. También se denomina “cable de módem nulo” con establecimiento de comunicación completo en el que la conexión se establece entre los contactos 1-1, 2-3, 3-2, 4-6, 5-5, 6-4, 7-8, 8-7 y 9-9.
5181-1561	Cable RS-232, 8 m

Cables analógicos

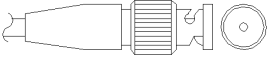


Un extremo de estos cables dispone de un conector BNC para su conexión a los módulos de Agilent. El otro extremo depende del instrumento al que se va a conectar.

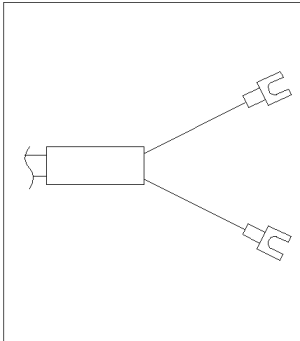
Módulo Agilent a integradores 3394/6

Referencia 35900-60750	Clavija 3394/6	Clavija del módulo Agilent	Nombre de la señal
	1		No conectado
	2	Apantallamiento	Analógico -
	3	Centro	Analógico +

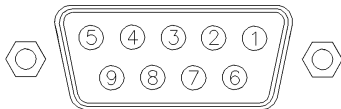
Módulo Agilent a conector BNC

Referencia 8120-1840	Clavija BNC	Clavija del módulo Agilent	Nombre de la señal
	Blindaje	Blindaje	Analógico -
	Centro	Centro	Analógico +

Módulo Agilent para fines generales

Referencia 01046-60105	Clavija	Clavija del módulo Agilent	Nombre de la señal
	1		No conectado
	2	Negro	Analógico -
	3	Rojo	Analógico +

Cables remotos



Un extremo de estos cables dispone de un conector remoto de Agilent Technologies APG (Analytical Products Group) para conectarlo a los módulos de Agilent. El otro extremo depende del instrumento al que se va a conectar.

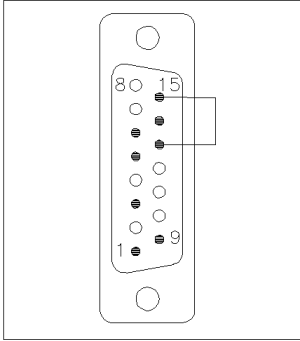
Módulo Agilent a integradores 3396A

Referencia 03394-60600	Clavija 3396A	Clavija del módulo Agilent	Nombre de la señal	Activo-TTL
A diagram of the Agilent module connector, a vertical rectangular plate with a central row of pins. The pins are numbered 1, 8, 9, and 15 from bottom to top. A small rectangular tab is attached to the right side of the connector, near pin 15.	9	1 - Blanco	A tierra digital	
	NC	2 - Marrón	Preparar análisis	Baja
	3	3 - Gris	Iniciar	Baja
	NC	4 - Azul	Apagado	Baja
	NC	5 - Rosa	No conectado	
	NC	6 - Amarillo	Encendido	Alta
	5,14	7 - Rojo	Preparado	Alta
	1	8 - Verde	Parar	Baja
	NC	9 - Negro	Petición de inicio	Baja
	13, 15		No conectado	

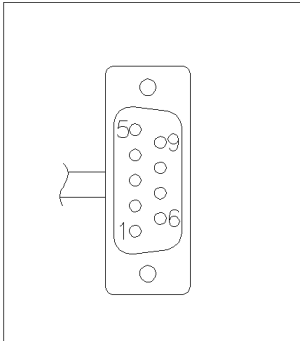
Módulo Agilent a integradores 3396 Serie II / 3395A

Utilice el cable Módulo Agilent a integradores 3396A Serie I (03394-60600) y corte la patilla N.º 5 del lateral del integrador. De lo contrario, el integrador imprime Iniciar; no preparado.

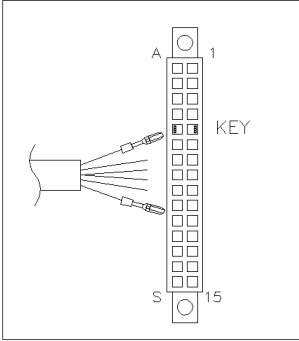
Módulo Agilent para integradores 3396 Serie III / 3395B

Referencia 03396-61010	Clavija 33XX	Clavija del módulo Agilent	Nombre de la señal	Activo-TTL
	9	1 - Blanco	Tierra digital	
	NC	2 - Marrón	Preparar análisis	Baja
	3	3 - Gris	Iniciar	Baja
	NC	4 - Azul	Apagado	Baja
	NC	5 - Rosa	No conectado	
	NC	6 - Amarillo	Encendido	Alta
	14	7 - Rojo	Preparado	Alta
	4	8 - Verde	Parar	Baja
	NC	9 - Negro	Petición de inicio	Baja
	13, 15		No conectado	

Módulo Agilent a convertidores A/D Agilent 35900

Referencia 5061-3378	Clavija 35900 A/D	Clavija del módulo Agilent	Nombre de la señal	Activo-TTL
	1 - Blanco	1 - Blanco	Tierra digital	
	2 - Marrón	2 - Marrón	Preparar análisis	Baja
	3 - Gris	3 - Gris	Iniciar	Baja
	4 - Azul	4 - Azul	Apagado	Baja
	5 - Rosa	5 - Rosa	No conectado	
	6 - Amarillo	6 - Amarillo	Encendido	Alta
	7 - Rojo	7 - Rojo	Preparado	Alta
	8 - Verde	8 - Verde	Parar	Baja
	9 - Negro	9 - Negro	Petición de inicio	Baja

Módulo Agilent para fines generales

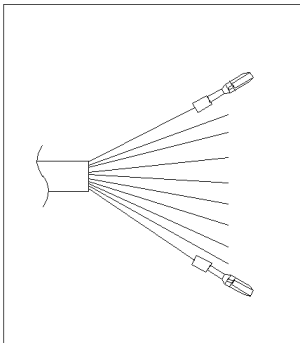
Referencia 01046-60201	Color del cable	Clavija del módulo Agilent	Nombre de la señal	Activo-TTL
	Blanco	1	A tierra digital	
	Marrón	2	Preparar análisis	Baja
	Gris	3	Iniciar	Baja
	Azul	4	Apagado	Baja
	Rosa	5	No conectado	
	Amarillo	6	Encendido	Alta
	Rojo	7	Preparado	Alta
	Verde	8	Parar	Baja
	Negro	9	Petición de inicio	Baja

Cables BCD

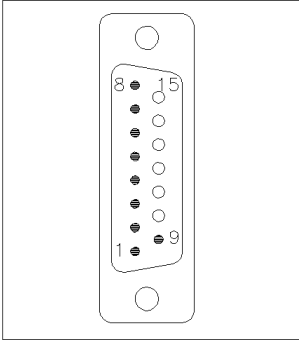


Un extremo de estos cables dispone de un conector BCD de 15 patillas que se conecta a los módulos Agilent. El otro extremo depende del instrumento al que se vaya a conectar

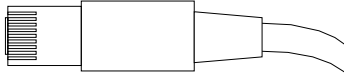
Módulo Agilent para uso general

Referencia G1351-81600	Color del cable	Clavija del módulo Agilent	Nombre de la señal	Dígito BCD
	Verde	1	BCD 5	20
	Violeta	2	BCD 7	80
	Azul	3	BCD 6	40
	Amarillo	4	BCD 4	10
	Negro	5	BCD 0	1
	Naranja	6	BCD 3	8
	Rojo	7	BCD 2	4
	Marrón	8	BCD 1	2
	Gris	9	Tierra digital	Gris
	Gris/rosa	10	BCD 11	800
	Rojo/azul	11	BCD 10	400
	Blanco/verde	12	BCD 9	200
	Marrón/verde	13	BCD 8	100
	No conectada	14		
	No conectada	15	+ 5 V	Baja

Módulo Agilent a integradores 3396

Referencia 03396-60560	Clavija 3396	Clavija del módulo Agilent	Nombre de la señal	Dígito BCD
	1	1	BCD 5	20
	2	2	BCD 7	80
	3	3	BCD 6	40
	4	4	BCD 4	10
	5	5	BCD0	1
	6	6	BCD 3	8
	7	7	BCD 2	4
	8	8	BCD 1	2
	9	9	Tierra digital	
	NC	15	+ 5 V	Baja

Cables CAN/LAN



Ambos extremos de este cable disponen de una clavija modular que se conecta a los conectores CAN o LAN de los módulos Agilent.

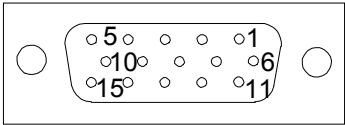
Cables CAN

Referencia	Descripción
5181-1516	Cable CAN
5181-1519	Cable CAN, módulo a módulo Agilent, 1 m

Cables de LAN

Referencia	Descripción
5023-0203	Cable cruzado de red, blindado, 3 m (para conexiones punto a punto)
5023-0202	Cable de red de par trenzado, blindado, 7 m (para conexiones punto a punto)

Cable de contacto externo



Un extremo de este cable cuenta con un enchufe de 15 patillas que puede conectarse a la tarjeta de interfaz de los módulos de Agilent. El otro extremo es de uso general.

Placa de interfase del módulo Agilent de uso general

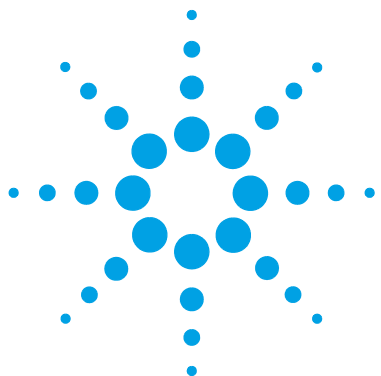
Referencia G1103-61611	Color	Clavija del módulo Agilent	Nombre de la señal
	Blanco	1	EXT 1
	Marrón	2	EXT 1
	Verde	3	EXT 2
	Amarillo	4	EXT 2
	Gris	5	EXT 3
	Rosa	6	EXT 3
	Azul	7	EXT 4
	Rojo	8	EXT 4
	Negro	9	No conectado
	Violeta	10	No conectado
	Gris/rosa	11	No conectado
	Rojo/azul	12	No conectado
	Blanco/verde	13	No conectado
	Marrón/verde	14	No conectado
	Blanco/amari llo	15	No conectado

Conexión del módulo Agilent con el PC

Referencia	Descripción
G1530-60600	Cable RS-232, 2 m
RS232-61601	Cable RS-232, 2,5 m Del instrumento al ordenador, de 9 a 9 contactos (hembra). Este cable dispone de una salida de contactos especial y no es compatible con la conexión a impresoras y plóteres. También se denomina "cable de módem nulo" con establecimiento de comunicación completo en el que la conexión se establece entre los contactos 1-1, 2-3, 3-2, 4-6, 5-5, 6-4, 7-8, 8-7 y 9-9.
5181-1561	Cable RS-232, 8 m

11 Identificación de cables

Conexión del módulo Agilent con el PC



12 Información del hardware

- Descripción del firmware [228](#)
- Tarjetas de interfaz opcionales [231](#)
- Conexiones eléctricas [235](#)
 - Vista trasera del módulo [236](#)
 - Información del número de serie [237](#)
- Interfaces [238](#)
 - Descripción general de las interfaces [242](#)
- Ajuste del interruptor de configuración de 8 bits (sin tarjeta LAN integrada) [246](#)
 - Ajustes de comunicación para RS-232C [247](#)
 - Ajustes especiales [249](#)
- Mantenimiento preventivo asistido [251](#)
- Disposición del instrumento [252](#)

En este capítulo se describe el detector prestando especial atención al hardware y los componentes electrónicos.



Descripción del firmware

El firmware del instrumento se compone de dos secciones independientes:

- una sección no específica del instrumento denominada *sistema residente*
- una sección específica del instrumento denominada *sistema principal*

Sistema residente

Esta sección residente del firmware es idéntica para todos los módulos de las series 1100/1200/1220/1260/1290 de Agilent. Sus propiedades son:

- capacidades de comunicación completas (CAN, LAN y RS-232C)
- gestión de la memoria
- capacidad de actualizar el firmware del "sistema principal"

Sistema principal

Sus propiedades son:

- capacidades de comunicación completas (CAN, LAN y RS-232C)
- gestión de la memoria
- capacidad de actualizar el firmware del "sistema residente"

Además, el sistema principal incluye funciones del instrumento que se dividen en funciones comunes como

- sincronización de análisis a través del APG remoto
- gestión de errores
- funciones de diagnóstico
- o en funciones específicas del módulo como
 - eventos internos como el control de la lámpara o los movimientos del filtro
 - recopilación de datos sin procesar y conversión a absorbancia.

Actualizaciones del firmware

Las actualizaciones del firmware se pueden llevar a cabo con la interfaz de usuario:

- Herramienta de actualización del ordenador y del firmware con archivos locales en el disco duro
- Instant Pilot (G4208A) con archivos de una memoria Flash USB
- Software Agilent Lab Advisor de la versión B.01.03 o superior

Las convenciones de designación de los ficheros son:

PPPP_RVVV_XXX.dlb, donde

PPPP es el número del producto, por ejemplo, 1315AB para el detector de diodos G1315A/B;

R es la revisión del firmware, por ejemplo, A para el detector de diodos G1315B o B para el detector de diodos G1315C;

VVV es el número de revisión, por ejemplo, 102 es la revisión 1.02;

XXX es el número de la versión de compilación del firmware.

Para obtener instrucciones acerca de las actualizaciones del firmware, consulte el apartado *Sustitución del firmware* en el capítulo "Mantenimiento" o utilice la documentación suministrada con las *herramientas de actualización del firmware*.

NOTA

La actualización del sistema principal solo se pueda llevar a cabo desde el sistema residente. La actualización del sistema residente solo se pueda llevar a cabo desde el sistema principal.

El firmware de los sistemas principal y residente debe pertenecer al mismo conjunto.

12 Información del hardware

Descripción del firmware

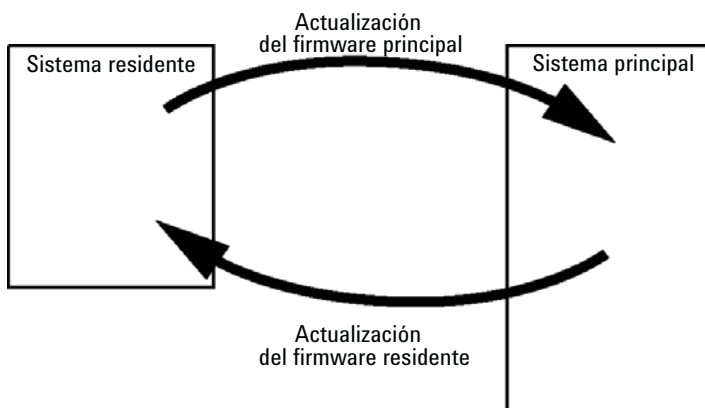


Figura 76 Mecanismo de actualización del firmware

NOTA

Algunos módulos están limitados a la hora de volver a la versión anterior debido a la versión de la tarjeta principal o a la revisión del firmware inicial. Por ejemplo, un detector de diodos SL G1315C no permite volver a una revisión del firmware inferior a B.01.02 o a una versión A.xx.xx.

Se puede cambiar el nombre de algunos módulos (por ejemplo, de G1314C a G1314B) para permitir el funcionamiento en entornos específicos de software de control. En este caso, se utiliza el conjunto de características del destino y se pierde el conjunto de características del original. Después de cambiar el nombre (por ejemplo, de G1314B a G1314C), el conjunto de características del original se encuentra de nuevo disponible.

Toda esta información específica se describe en la documentación suministrada con las herramientas de actualización del firmware.

Las herramientas de actualización del firmware, el firmware y la documentación se encuentran disponibles en el sitio web de Agilent.

- http://www.chem.agilent.com/_layouts/agilent/downloadFirmware.aspx?whid=69761

Tarjetas de interfaz opcionales

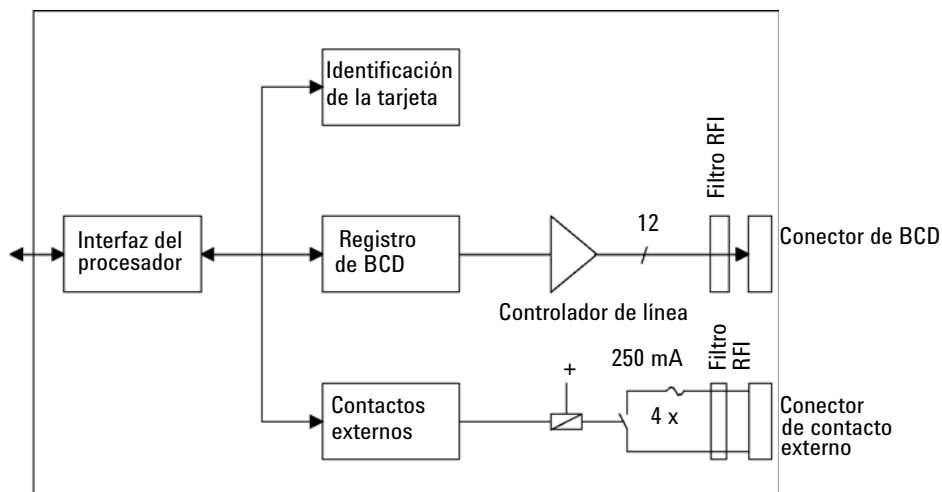
Tarjeta BCD/de contactos externos

Los módulos Agilent Serie 1200 Infinity disponen de una ranura opcional que posibilita añadir una tarjeta de interfaz. Algunos módulos no incluyen esta ranura de interfaz. Consulte “Interfaces” en la página 238 para obtener mas información.

Tarjetas de interfaz opcionales

Referencia	Descripción
G1351-68701	Tarjeta de la interfase (BCD) con contactos externos y salidas BCD
2110-0004	Fusible para la tarjeta BCD, 250 mA

La tarjeta BCD incluye una salida BCD para el número de botella del inyector automático Agilent Serie 1200 y cuatro contactos externos. Para los contactos externos se utilizan contactos de cierre de relés. Los valores máximos son los siguientes: 30 V (c.a./c.c.); 250 mA (con fusible).



12 Información del hardware

Tarjetas de interfaz opcionales

Existen cables de uso general disponibles para realizar la conexión con la salida BCD (consulte “[Cables BCD](#)” en la página 221) y las salidas externas (consulte “[Cable de contacto externo](#)” en la página 224) para los dispositivos externos.

Tabla 32 Distribución detallada de los conectores (Serie 1200)

Clavija	Nombre de la señal	Dígito BCD
1	BCD 5	20
2	BCD 7	80
3	BCD 6	40
4	BCD 4	10
5	BCD 0	1
6	BCD 3	8
7	BCD 2	4
8	BCD 1	2
9	A tierra (digital)	
10	BCD 11	800
11	BCD 10	400
12	BCD 9	200
13	BCD 8	100
15	+5 V	Bajo

Tarjeta de interfaz de comunicación LAN

Los módulos Agilent disponen de una ranura opcional que posibilita añadir una tarjeta de interfaz. Algunos módulos no incluyen esta ranura de interfaz. Consulte “[Interfaces](#)” en la página 238 para obtener mas información.

Referencia	Descripción
G1369B o G1369-60002	Placa de interfase (LAN)
o G1369C o G1369-60012	Placa de interfase (LAN)

NOTA

Se necesita una tarjeta por cada instrumento Agilent 1260 Infinity. Se recomienda conectar la tarjeta LAN al detector con una velocidad de muestreo más alta.

NOTA

Para configurar la tarjeta de interfaz de comunicación LAN G1369, consulte su documentación.

Los módulos Agilent 1260 Infinity pueden utilizarse junto con las siguientes tarjetas.

Tabla 33 Tarjetas LAN

Tipo	Proveedor	Redes compatibles
Placa de interfase (LAN) (G1369B o G1369-60002) o Placa de interfase (LAN) (G1369C o G1369-60012)	Agilent Technologies	Fast Ethernet, Ethernet/802.3 y RJ-45 (10/100Base-TX) <i>Recomendamos solicitar esta tarjeta en los nuevos pedidos</i>
Tarjeta de interfase para comunicación LAN (G1369A ó G1369-60001)	Agilent Technologies	Fast Ethernet, Ethernet/802.3 y RJ-45 (10/100Base-TX) <i>Obsoleta</i>
J4106A ¹	Hewlett Packard	Ethernet/802.3 y RJ-45 (10Base-T)

12 Información del hardware
Tarjetas de interfaz opcionales

Tabla 33 Tarjetas LAN

Tipo	Proveedor	Redes compatibles
J4105A ¹	Hewlett Packard	Token Ring/802.5, DB9 y RJ-45 (10Base-T)
J4100A ¹	Hewlett Packard	Fast Ethernet, Ethernet/802.3 y RJ-45 (10/100Base-TX) + BNC (10Base2)

¹ Es posible que ya no puedan realizarse pedidos de estas tarjetas. Para estas tarjetas JetDirect de Hewlett Packard, debe utilizarse como mínimo la versión de firmware A.05.05.

Cables LAN recomendados

Referencia	Descripción
5023-0203	Cable cruzado de red, blindado, 3 m (para conexiones punto a punto)
5023-0202	Cable de red de par trenzado, blindado, 7 m (para conexiones punto a punto)

Conexiones eléctricas

- El bus CAN es un bus de serie con transferencia de datos de alta velocidad. Los dos conectores del bus CAN se utilizan para la transferencia y la sincronización de los datos internos del módulo.
- Dos salidas analógicas independientes proporcionan señales para los integradores o el procesamiento de datos.
- La ranura de la tarjeta de interfaz se utiliza para los contactos externos, la salida del número de botella BCD y las conexiones LAN.
- El conector REMOTO puede utilizarse en combinación con otros instrumentos analíticos de Agilent Technologies si se desean utilizar funciones de encendido, parada, apagado común, preparación, etc.
- Con el software apropiado, el conector RS-232C puede utilizarse para controlar el módulo desde un ordenador a través de una conexión RS-232C. Este conector se activa y se puede configurar con el interruptor de configuración.
- El enchufe de corriente de entrada acepta una línea de voltaje de 100 – 240 VAC $\pm$ 10 % con una frecuencia de línea de 50 o 60 Hz. El consumo máximo de electricidad varía en función del módulo. El módulo no integra ningún selector de voltaje, ya que la fuente de alimentación cuenta con una capacidad de rango amplio. No hay fusibles accesibles externamente, ya que la fuente de alimentación incorpora fusibles electrónicos automáticos.

NOTA

Con el fin de garantizar una correcta funcionalidad y el cumplimiento de los reglamentos de seguridad o de compatibilidad electromagnética, no utilice nunca cables distintos de los suministrados por Agilent Technologies.

Vista trasera del módulo

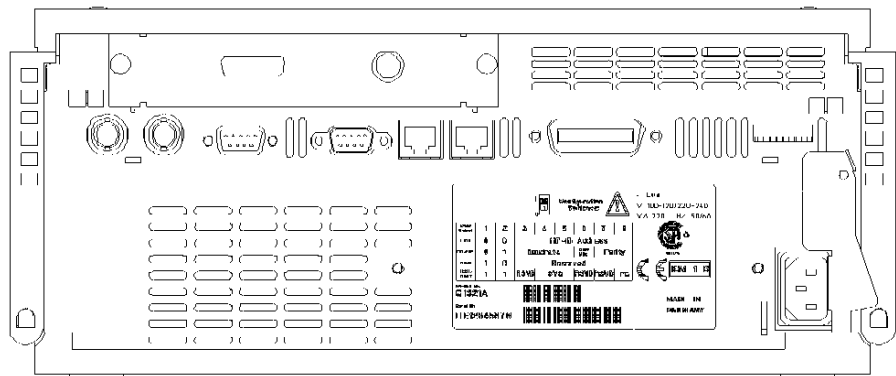


Figura 77 Vista trasera del detector: conexiones eléctricas y etiqueta

NOTA

La interfaz GPIB se ha eliminado con la introducción de los módulos 1260 Infinity.

Información del número de serie

Información del número de serie de los sistemas 1260 Infinity

La información del número de serie que se encuentra en las etiquetas del instrumento proporcionan la siguiente información:

CCXZZ00000	Formato
CC	País de fabricación • DE = Alemania • JP = Japón • CN = China
X	Carácter alfabético A-Z (utilizado por la fabricación)
ZZ	Código alfanumérico 0-9, A-Z, donde cada combinación denomina de modo inequívoco un módulo (puede existir más de un código para el mismo módulo)
00000	Número de serie

Información del número de serie de los sistemas 1290 Infinity y de las series 1200

La información del número de serie que se encuentra en las etiquetas del instrumento proporcionan la siguiente información:

CCYWWSSSSS	Formato
CC	País de fabricación • DE = Alemania • JP = Japón • CN = China
YWW	Año y semana del último cambio de fabricación importante, por ejemplo, 820 podría corresponder a la semana 20 de 1998 o 2008
SSSSS	Número de serie auténtico

Interfaces

Los módulos de la serie Agilent 1200 Infinity proporcionan las siguientes interfaces:

Tabla 34 Interfaces: Agilent Serie 1200 Infinity

Módulo	CAN	LAN/BCD (opcional)	LAN (integrada)	RS-232	Ana- lógica	APG remoto	Especial
Pumps							
Bomba isocrática G1310B	2	Sí	No	Sí	1	Sí	
Bomba cuaternaria G1311B							
Bomba cuaternaria VL G1311C							
Bomba binaria G1312B							
Bomba binaria K1312B (aplic. médicas)							
Bomba binaria VL G1312C							
Bomba capilar 1376A							
Bomba nano G2226A							
Bomba cuaternaria bioinerte G5611A							
Bomba binaria G4220A/B	2	No	Sí	Sí	No	Sí	Salida CAN-DC para CAN secundarias
Bomba cuaternaria G4204A							
Bomba preparativa G1361A	2	Sí	No	Sí	No	Sí	Salida CAN-DC para CAN secundarias

Tabla 34 Interfaces: Agilent Serie 1200 Infinity

Módulo	CAN	LAN/BCD (opcional)	LAN (integrada)	RS-232	Ana- lógica	APG remoto	Especial
Samplers							
Inyector automático de líquidos G1329B	2	Si	No	Si	No	Si	Termostato para G1330B/K1330B
Inyector automático de líquidos preparativo G2260A							
FC-PS G1364B	2	Si	No	Si	No	Si	Termostato para G1330B/K1330B Salida CAN-DC para CAN secundarias
FC-AS G1364C							
FC-μS G1364D							
Inyector automático de líquidos HiP G1367E							
Inyector automático de líquidos HiP K1367E (aplic. médicas)							
Microinyector automático de líquidos HiP G1377A							
Inyector automático de líquidos DL G2258A							
FC-AS bioinerte G5664A							
Inyector automático bioinerte G5667A							
Inyector automático de líquidos G4226A	2	Si	No	Si	No	Si	
Detectors							
Detector de longitud de onda variable VL G1314B	2	Si	No	Si	1	Si	
Detector de longitud de onda variable VL+ G1314C							
Detector de longitud de onda variable G1314E/F	2	No	Si	Si	1	Si	
K1314F (aplic. médicas)							
Detector de diodos G4212A/B	2	No	Si	Si	1	Si	
Detector de diodos K4212B (aplic. médicas)							

Tabla 34 Interfaces: Agilent Serie 1200 Infinity

Módulo	CAN	LAN/BCD (opcional)	LAN (integrada)	RS-232	Ana- lógica	APG remoto	Especial
Detector de diodos VL+ G1315C Detector de longitud de onda múltiple G1365C Detector de diodos VL G1315D Detector de longitud de onda múltiple VL G1365D	2	No	Si	Si	2	Si	
Detector de fluorescencia G1321B Detector de fluorescencia K1321B (aplic. médicas) Detector de fluorescencia G1321C	2	Si	No	Si	2	Si	
Detector de índice de refracción G1362A	2	Si	No	Si	1	Si	
Detector evaporativo de dispersión de luz G4280A	No	No	No	Si	Si	Si	Contacto EXT Puesta a cero automática
Others							
Controlador de válvula G1170A	2	No	No	No	No	No	1
Compartimento de columna termostatizado G1316A/C Compartimento de columna termostatizado K1316C (aplic. médicas)	2	No	No	Si	No	Si	
Desgasificador G1322A Desgasificador K1322A (aplic. médicas)	No	No	No	No	No	Si	AUX
Desgasificador G1379B	No	No	No	Si	No	Si	
Desgasificador G4225A Desgasificador K4225A (aplic. médicas)	No	No	No	Si	No	Si	

Tabla 34 Interfaces: Agilent Serie 1200 Infinity

Módulo	CAN	LAN/BCD (opcional)	LAN (integrada)	RS-232	Ana-lógica	APG remoto	Especial
Cubo flexible G4227A	2	No	No	No	No	No	Salida CAN-DC para CAN secundarias ¹
CUBO CHIP G4240A	2	Si	No	Si	No	Si	Salida CAN-DC para CAN secundarias Termostato para G1330A/B (no utilizado) o K1330B

¹ Requiere un módulo HOST con una tarjeta LAN integrada (p. ej., G4212A o G4220A con una versión de firmware B.06.40 o C.06.40 u otra posterior) o con una tarjeta LAN G1369C adicional.

NOTA

El detector (de diodos/de longitud de onda múltiple/de fluorescencia/de longitud de onda variable/de índice de refracción) es el punto de acceso aconsejado para el control mediante LAN. La comunicación entre módulos se realiza a través de CAN:

- Conectores CAN como interfase a otros módulos
- Conector LAN como interfase al software de control
- RS-232C como interfase para un ordenador
- Conector REMOTO como interfase para otros productos Agilent
- Conector(es) de salida analógica para la salida de la señal

Descripción general de las interfaces

CAN

CAN es una interfase de comunicación entre módulos. Es un sistema de bus serie de 2 cables que admite comunicación de datos a alta velocidad y en tiempo real.

LAN

Los módulos incorporan una ranura de interfaz para una tarjeta LAN (por ejemplo, la interfaz LAN Agilent G1369B/C) o una interfaz LAN integrada (por ejemplo, el detector de diodos G1315C/D y el detector de longitud de onda múltiple G1365C/D). Esta interfaz permite controlar el módulo o el sistema a través de un ordenador con el software de control adecuado. Algunos módulos no incorporan ni la interfaz LAN integrada ni una ranura de interfaz para una tarjeta LAN (p. ej. el accionamiento de válvula G1170A o el cubo flexible G4227A). Se trata de módulos alojados que requieren un módulo host con firmware B.06.40 o superior o una tarjeta LAN G1369C adicional.

NOTA

Si el sistema consta de un detector de Agilent (de diodos, de longitud de onda múltiple, de fluorescencia, de longitud de onda variable o de índice de refracción), la interfaz LAN debería conectarse al detector de diodos, de longitud de onda múltiple, de fluorescencia, de longitud de onda variable o de índice de refracción (debido a la mayor carga de datos). Si el sistema no consta de un detector de Agilent, la interfaz LAN debería instalarse en la bomba o en el inyector automático.

RS-232C (Serie)

El conector RS-232C se utiliza para controlar el módulo desde un ordenador a través de una conexión RS-232C, con el software adecuado. Este conector necesita ser configurado con el módulo del interruptor de configuración en la parte posterior del módulo. Consulte *Parámetros de comunicación para RS-232C*.

NOTA

No existe configuración posible en las placas base con LAN integrada. Éstas están preconfiguradas para

- 19200 baudios,
- 8 bits de datos sin paridad y
- siempre se utilizan un bit de inicio y uno de parada (no seleccionables).

El RS-232C está diseñado como DCE (equipo de comunicación de datos) con un conector tipo SUB-D de 9 clavijas macho. Las clavijas se definen como:

Tabla 35 Tabla de conexión RS-232C

Clavija	Dirección	Función
1	Entrada	DCD
2	Entrada	RxD
3	Salida	TxD
4	Salida	DTR
5		Tierra
6	Entrada	DSR
7	Salida	RTS
8	Entrada	CTS
9	Entrada	RI

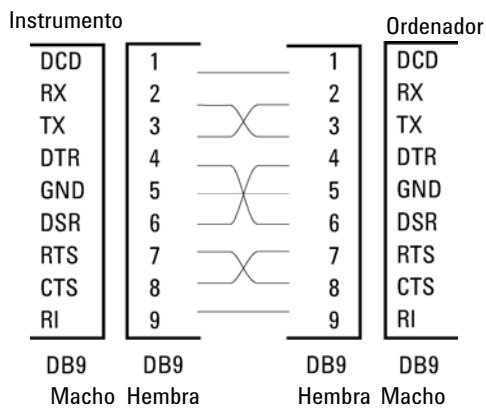


Figura 78 Cable RS-232

Salida de señal analógica

La salida de la señal analógica se puede distribuir a un registrador. Para obtener información consulte la descripción de la placa base del módulo.

APG remoto

El conector APG remoto puede utilizarse en combinación con otros instrumentos analíticos de Agilent Technologies si se desean utilizar funciones como el apagado común, la preparación, etc.

El control remoto permite realizar una conexión sencilla entre los instrumentos o los sistemas individuales y garantiza un análisis coordinado con requisitos sencillos de acoplamiento.

Se utiliza el conector D subminiatura. El módulo proporciona un conector remoto de entrada/salida (con cable o técnico).

Para garantizar la máxima seguridad en un sistema de análisis distribuido, una línea se dedica a **SHUT DOWN** las partes críticas del sistema en caso de que un módulo detecte un problema grave. Para detectar si todos los módulos participantes están encendidos o adecuadamente enchufados, se define una línea para resumir el estado **POWER ON** de todos los módulos conectados. El control del análisis se mantiene con la señal **READY** para el siguiente análisis, seguido por **START** del análisis y **STOP** opcional del análisis activado en las líneas respectivas. Además, es posible emitir las señales **PREPARE** y **START REQUEST**. Los niveles de la señal se definen como:

- los niveles TTL estándares (0 V es verdad, + 5,0 V es falso),
- la cargabilidad de salida es 10 ,
- la carga de entrada es 2,2 kOhm en comparación con + 5,0 V,
- la salida es del tipo de colector abierto, entradas/salidas (cable o técnica).

NOTA

Todos los circuitos TTL funcionan con una fuente de alimentación de 5 V. Una señal TTL se define como "baja" o L cuando se encuentra entre 0 V y 0,8 V y "alta" o H cuando se encuentra entre 2,0 V y 5,0 V (con respecto al terminal de tierra).

Tabla 36 Distribución de la señal remota

Clavija	Señal	Descripción
1	DGND	Tierra digital
2	PREPARE	(L) Petición de preparación para el análisis (por ejemplo, calibración, lámpara del detector encendida). El receptor es cualquier módulo que realice actividades de preanálisis.
3	START	(L) Petición de inicio de análisis/tabla de tiempos. El receptor es un módulo que realiza actividades controladas en función del tiempo.
4	SHUT DOWN	(L) El sistema tiene un problema (por ejemplo, fuga: la bomba se para). El receptor es cualquier módulo capaz de reducir riesgos.
5		No utilizado
6	POWER ON	(H) Todos los módulos conectados al sistema están encendidos. El receptor es un módulo que depende del funcionamiento de otros.
7	READY	(H) El sistema está preparado para el siguiente análisis. El receptor es cualquier controlador de secuencia.
8	STOP	(L) Petición para que el sistema se prepare lo antes posible (por ejemplo, parar análisis, abortar o terminar y parar la inyección). El receptor es un módulo que realiza actividades controladas en función del tiempo.
9	START REQUEST	(L) Petición de inicio del ciclo de inyección (por ejemplo, mediante la tecla de inicio de cualquier módulo). El receptor es el inyector automático.

Interfaces especiales

No existe ninguna interfaz especial para este módulo.

Ajuste del interruptor de configuración de 8 bits (sin tarjeta LAN integrada)

El interruptor de configuración de 8 bits está situado en la parte posterior del módulo.

Este módulo no tiene su propia interfase LAN integrada. Se puede controlar a través de la interfase LAN de otro módulo y una conexión CAN a dicho módulo.

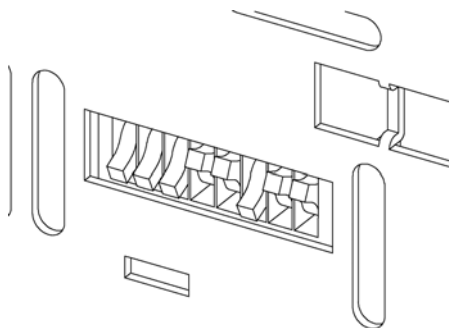


Figura 79 Interruptor de configuración (los ajustes dependen del modo configurado)

Todos los módulos sin LAN integrada:

- de forma predeterminada TODOS LOS DIP hacia ABAJO (= mejores ajustes)
 - Modo bootp para LAN y
 - 19200 baudios, 8 bits de datos / 1 bit de parada sin paridad para RS-232
- DIP 1 hacia ABAJO y DIP 2 hacia ARRIBA permite los ajustes especiales de RS-232
- para modos de arranque/test los DIP 1+2 deben estar hacia ARRIBA, más el modo requerido

NOTA

Para el funcionamiento normal, utilice los (mejores) ajustes predeterminados.

Ajuste del interruptor de configuración de 8 bits (sin tarjeta LAN integrada)

Los ajustes del interruptor proporcionan los parámetros de configuración para el protocolo de comunicación de serie y los procedimientos de inicialización específicos de un instrumento.

NOTA

Con la introducción de Agilent 1260 Infinity, se han eliminado todas las interfases GPIB. La comunicación aconsejada es la LAN.

NOTA

Las tablas siguientes representan los ajustes del interruptor de configuración solo para los módulos sin LAN integrada.

Tabla 37 Interruptor de configuración de 8 bits (sin LAN integrada)

Modo	1	2	3	4	5	6	7	8
RS-232C	0	1	Baudios			Bits datos	Paridad	
Reserved	1	0	Reserved					
TEST/BOOT	1	1	RSVD	SYS		RSVD	RSVD	FC

NOTA

Los ajustes LAN se realizan en la tarjeta de interfase LAN G1369B/C. Consulte la documentación suministrada con la tarjeta.

Ajustes de comunicación para RS-232C

El protocolo de comunicación utilizado en el compartimento de columna sólo admite control de transferencia por hardware (CTS/RTR).

El interruptor 1 hacia abajo y el 2 hacia arriba establecen que los parámetros RS-232C se cambiarán. Una vez realizado el cambio, el instrumento de columna debe encenderse de nuevo para almacenar los valores en la memoria no volátil.

12 Información del hardware

Ajuste del interruptor de configuración de 8 bits (sin tarjeta LAN integrada)

Tabla 38 Ajustes de comunicación para la comunicación RS-232C (sin LAN integrada)

Selección de modo	1	2	3	4	5	6	7	8
RS-232C	0	1	Velocidad de baudios			Bits de datos	Paridad	

Utilice las siguientes tablas para seleccionar el ajuste que desea utilizar para la comunicación RS-232C. El número 0 significa que el interruptor está hacia abajo y el 1 hacia arriba.

Tabla 39 Ajustes de velocidad de baudios (sin LAN integrada)

Interruptores			Velocidad de baudios	Interruptores			Velocidad de baudios
3	4	5		3	4	5	
0	0	0	9600	1	0	0	9600
0	0	1	1200	1	0	1	14400
0	1	0	2400	1	1	0	19200
0	1	1	4800	1	1	1	38400

Tabla 40 Ajustes de bits de datos (sin LAN integrada)

Interruptor 6	Tamaño de la palabra de datos
0	Comunicación de 7 Bits
1	Comunicación de 8 Bits

Tabla 41 Ajustes de paridad (sin LAN integrada)

Interruptores		Paridad
7	8	
0	0	Sin paridad

Tabla 41 Ajustes de paridad (sin LAN integrada)

0	1	Paridad impar
1	1	Paridad par

Siempre se utilizan un bit de inicio y uno de parada (no seleccionables).

De forma predeterminada, el módulo utilizará 19200 baudios, 8 bits de datos sin paridad.

Ajustes especiales

Los ajustes especiales se utilizan para acciones específicas (normalmente para mantenimientos).

Residente de arranque

Los procedimientos de actualización del firmware pueden requerir este modo en caso de que se produzcan errores de carga del firmware (parte firmware principal).

Si utiliza los siguientes ajustes de interruptor y enciende el instrumento de nuevo, el firmware del instrumento se mantendrá en modo residente. No funciona como un módulo. Tan sólo utiliza funciones básicas del sistema operativo, por ejemplo, para tareas de comunicación. En este modo es posible cargar el firmware principal (utilizando herramientas de actualización).

Tabla 42 Ajustes del sistema residente de arranque (sin LAN integrada)

Selección de modo	SW1	SW2	SW3	SW4	SW5	SW6	SW7	SW8
TEST/ARRANQUE	1	1	0	0	1	0	0	0

Inicio en frío forzado

Es posible utilizar un inicio en frío forzado para configurar el módulo en un modo definido con ajustes de parámetro predeterminados.

12 Información del hardware

Ajuste del interruptor de configuración de 8 bits (sin tarjeta LAN integrada)

PRECAUCIÓN

Pérdida de datos

Un inicio en frío forzado borra todos los métodos y datos almacenados en la memoria no volátil. Las excepciones son los ajustes de calibración, los registros de diagnóstico y reparación que no se borran.

→ Guarde sus métodos y datos antes de ejecutar un inicio en frío forzado.

Si se utilizan los siguientes ajustes de interruptor y se enciende el instrumento de nuevo, se completará un inicio en frío forzado.

Tabla 43 Ajustes del arranque en frío forzado (sin tarjeta LAN integrada)

Selección de modo	SW1	SW2	SW3	SW4	SW5	SW6	SW7	SW8
TEST/ARRANQUE	1	1	0	0	0	0	0	1

Mantenimiento preventivo asistido

El mantenimiento requiere el cambio de los componentes que están sujetos a desgaste o tensión. Idealmente, la frecuencia de cambio de los componentes debe basarse en la intensidad de utilización del módulo y en las condiciones analíticas, no en un intervalo de tiempo predefinido. La función de mantenimiento preventivo asistido (**EMF**) controla la utilización de componentes específicos del instrumento y suministra información cuando se superan los límites que selecciona el usuario. La información visual de la interfaz de usuario indica que deben programarse procedimientos de mantenimiento.

Contadores de EMF

Los contadores de EMF aumentan con el uso y se les puede asignar un límite máximo, que dé lugar a un aviso en la interfase de usuario cuando se exceda dicho límite. Ciertos contadores pueden volver a fijarse en cero una vez que se haya realizado el procedimiento de mantenimiento.

Uso de los contadores de EMF

Los límites seleccionables por el usuario para el contador de EMF permiten adaptar el mantenimiento preventivo asistido a los requisitos específicos del usuario. El ciclo útil de mantenimiento depende de los requisitos de uso. Por tanto, los límites máximos se deben determinar de acuerdo con las condiciones específicas de funcionamiento del instrumento.

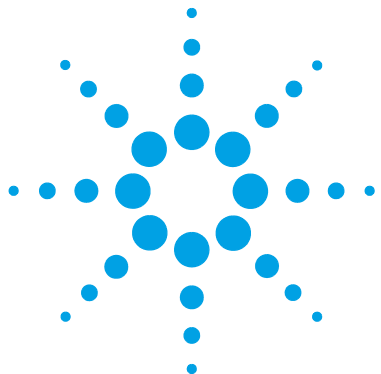
Configuración de los límites de EMF

La configuración de los límites de EMF debe optimizarse durante uno o dos ciclos de mantenimiento. En primer lugar deberán definirse los límites de EMF por defecto. Cuando el rendimiento indique que el mantenimiento es necesario, anote los valores indicados en los contadores de EMF. Introduzca estos valores (o ligeramente inferiores a los mostrados) como límites de EMF y reinicie los contadores de EMF (llévelos a cero). La próxima vez que los contadores excedan los nuevos límites de EMF, aparecerá la señal EMF, recordando que debería realizarse el mantenimiento.

Disposición del instrumento

El diseño industrial del módulo incorpora varias funciones innovadoras. Utiliza el concepto E-PAC de Agilent para el embalaje de piezas electrónicas y mecánicas. Este concepto se basa en la utilización de láminas espaciadoras de espuma de polipropileno expandido (EPP) entre las que se colocan los componentes mecánicos y electrónicos del módulo. El paquete se guarda en una cabina metálica recubierta por otra de plástico. Las ventajas de este embalaje son:

- se eliminan tornillos de sujeción, cerrojos o ataduras, reduciendo el número de componentes y facilitando los procesos de embalaje y desembalaje,
- las láminas de plástico incorporan canales de aire que guían con exactitud el aire refrigerado hasta los lugares necesarios,
- las láminas plásticas amortiguan los choques que puedan sufrir las piezas electrónicas y mecánicas, y
- la cabina interior metálica protege la electrónica interna de interferencias electromagnéticas e incluso ayuda a reducir las emisiones de frecuencia de radio del propio instrumento.



13 Anexo

Información general sobre seguridad [254](#)

Directiva sobre residuos de aparatos eléctricos y electrónicos (RAEE)
(2002/96/EC) [257](#)

Información sobre las baterías de litio [258](#)

Interferencias de radio [259](#)

Emisión de sonido [260](#)

Radiación UV (sólo para lámparas UV) [261](#)

Información sobre disolventes [262](#)

Agilent Technologies en Internet [264](#)

En este capítulo se ofrece información sobre seguridad y otros temas generales.



Información general sobre seguridad

Símbolos de seguridad

Tabla 44 Símbolos de seguridad

Símbolo	Descripción
	El aparato incluye este símbolo cuando el usuario debe consultar el manual de instrucciones para evitar cualquier riesgo de lesión al operario y proteger al aparato de los daños.
	Indica voltajes peligrosos.
	Indica un terminal de conexión a tierra protegido.
	Pueden producirse daños oculares al mirar directamente la luz de la lámpara de deuterio utilizada en este equipo.
	El aparato incluye este símbolo cuando el usuario está expuesto a superficies calientes que no deben tocarse cuando estén a gran temperatura.

ADVERTENCIA	Un AVISO advierte de situaciones que podrían causar daños personales o la muerte. → No continuar tras un aviso, hasta haber entendido y cumplido totalmente las condiciones indicadas.
PRECAUCIÓN	Una PRECAUCIÓN advierte de situaciones que podrían causar una pérdida de datos o dañar el equipo. → No continuar tras un mensaje de este tipo hasta haber comprendido y cumplido totalmente las condiciones indicadas.

Información de seguridad

Las siguientes precauciones generales deben aplicarse durante el funcionamiento, mantenimiento o reparación de este instrumento. Si no se cumplen estas normas o los avisos específicos que aparecen en diversas partes de este manual, se invalidan los estándares de seguridad de diseño, fabricación y utilización de este instrumento. Agilent Technologies no se responsabiliza del incumplimiento de estos requisitos por parte del usuario.

ADVERTENCIA

Asegurarse de que el equipo se utiliza correctamente.

La protección proporcionada por este equipo puede verse perjudicada.

→ El operario de este instrumento tiene que utilizar el equipo tal y como se describe en este manual.

Estándares de seguridad

Éste es un instrumento de seguridad de Primera Clase (dotado de un terminal de toma de tierra) y ha sido fabricado y comprobado de acuerdo con las normas internacionales de seguridad.

Funcionamiento

Antes de conectar el instrumento a la red, siga atentamente las instrucciones de la sección de instalación. Además, debe tener en cuenta lo siguiente.

No retire las cubiertas del instrumento mientras esté funcionando. Antes de encender el instrumento, todos los terminales protegidos con toma a tierra, los alargadores, los autotransformadores y los dispositivos conectados a él se deben conectar a un enchufe con toma a tierra. Cualquier interrupción de la toma a tierra de protección supondrá un riesgo potencial de descarga que puede provocar lesiones personales graves. Siempre que exista la posibilidad de que la protección no funcione, se debe apagar el instrumento y evitar cualquier funcionamiento previsto.

Asegúrese de utilizar como recambio solo fusibles con la corriente nominal necesaria y del tipo especificado (fusión normal, fusión retardada, etc.). Se debe evitar el uso de fusibles reparados y de portafusibles con cortocircuitos.

Algunos de los ajustes descritos en este manual deben hacerse con el instrumento conectado a la red y con alguna de las cubiertas de protección abierta. El alto voltaje existente en algunos puntos puede producir daños personales si llegan a tocarse estos puntos.

Siempre que sea posible, debe evitarse cualquier ajuste, mantenimiento o reparación del instrumento abierto y conectado a la red. Si no lo es, debe realizarlo el personal especializado consciente del riesgo existente. No intente llevar a cabo este tipo de trabajo si no está presente otra persona capaz de proporcionarle primeros auxilios, en caso necesario. No cambie ningún componente con el cable de red conectado.

No ponga en marcha el instrumento en presencia de gases o vapores inflamables. El encendido de cualquier instrumento eléctrico en estas circunstancias, constituye un riesgo para la seguridad.

No instale componentes que no correspondan al instrumento, ni realice modificaciones no autorizadas.

Los condensadores que contiene el aparato pueden mantener su carga aunque el equipo haya sido desconectado de la red. El instrumento posee voltajes peligrosos, capaces de producir daños personales. Extrema las precauciones cuando proceda al ajuste, comprobación o manejo de este equipo.

Cuando se trabaje con disolventes, se deben observar los procedimientos de seguridad (por ejemplo, gafas, guantes y ropa protectora) descritos en la información sobre tratamiento de material y datos de seguridad, suministrada por el vendedor de disolventes, especialmente cuando se utilicen productos tóxicos o peligrosos.

Directiva sobre residuos de aparatos eléctricos y electrónicos (RAEE) (2002/96/EC)

Resumen

La directiva sobre residuos de aparatos eléctricos y electrónicos (RAEE) (2002/96/EC), adoptada por la Comisión Europea el 13 de febrero de 2003 regula la responsabilidad del productor sobre los aparatos eléctricos y electrónicos desde el 13 de agosto de 2005.

NOTA



Este producto cumple los requisitos de marcado establecidos por la Directiva RAEE (2002/96/EC). La etiqueta indica que no debe desechar el producto eléctrico o electrónico junto con los residuos domésticos.

Categoría de producto: según la clasificación de los tipos de equipos del Anexo I de la Directiva RAEE, este producto está clasificado como un "Instrumento de monitorización y control".

No se deshaga de él junto con los residuos domésticos

Para devolver productos que no desee, póngase en contacto con su distribuidor oficial Agilent o consulte www.agilent.com si desea más información.

Información sobre las baterías de litio

ADVERTENCIA

Las baterías de litio no se deben eliminar con la basura doméstica. No se permite el transporte de baterías de litio descargadas a través de transportistas regulados por IATA/ICAO, ADR, RID e IMDG.

Peligro de explosión si la batería está colocada de forma incorrecta.

- Para deshacerse de las baterías o accesorios de litio, consulte las normativas legales del lugar donde están instaladas.
 - Sustituya las baterías por otras iguales o de tipo equivalente, recomendadas por el fabricante del equipo.
-

Interferencias de radio

Los cables proporcionados por Agilent Technologies se apantallan para proporcionar una protección optimizada contra interferencias de radio. Todos los cables cumplen las normas de seguridad o de compatibilidad electromagnética.

Prueba y medida

Si los equipos de prueba y medida operan mediante cables no apantallados o se utilizan para medidas en configuraciones abiertas, el usuario debe asegurarse de que bajo las condiciones operativas, los límites de interferencia de radio están dentro de los márgenes permitidos.

Emisión de sonido

Declaración del fabricante

Se incluye esta declaración para cumplir con los requisitos de la Directiva Alemana de Emisión Sonora del 18 de enero de 1991.

El nivel de presión acústica de este producto (en el puesto del operario) es inferior a 70 dB.

- Nivel de presión acústica < 70 dB (A)
- En la posición del operador
- Operación normal
- De acuerdo con la norma ISO 7779:1988/EN 27779/1991 (Prueba tipo)

Radiación UV (sólo para lámparas UV)

La emisión de radiación ultravioleta (200-315 nm) de este producto está limitada, de manera que la exposición accidental a la radiación del operador o del personal de mantenimiento, sin protección de la piel o de los ojos, queda limitada a los siguientes TLV (valores umbral límite), de acuerdo con la American Conference of Governmental Industrial Hygienists:

Tabla 45 Límites de radiación UV

Exposición/día	Irradiación efectiva
8 horas	0,1 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$
10 minutos	5,0 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$

Normalmente, los valores de radiación son mucho menores que estos límites:

Tabla 46 Valores típicos de radiación UV

Posición	Irradiación efectiva
Lámpara instalada (distancia: 50 cm)	0,016 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ (media)
Lámpara instalada (distancia: 50 cm)	0,14 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ (valor máximo)

Información sobre disolventes

Celda de flujo

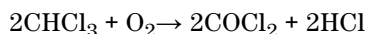
Para proteger la funcionalidad óptima de su celda de flujo:

- Evite la utilización de soluciones alcalinas ($\text{pH} > 9,5$) que ataquen al cuarzo y puedan deteriorar las propiedades ópticas de la celda de flujo.
- Si la celda de flujo se transporta a temperaturas inferiores a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$, debe asegurarse de que esté llena de alcohol.
- Los disolventes acuosos pueden provocar la acumulación de algas en la celda de flujo. Por lo tanto, es aconsejable no dejar este tipo de disolventes en la celda de flujo. Añada un pequeño porcentaje de disolventes orgánicos (por ejemplo, acetonitrilo o metanol $\sim 5\%$).

Utilización de disolventes

Siga estas recomendaciones cuando utilice los disolventes.

- El vidrio de color marrón puede evitar el crecimiento de algas.
- Las pequeñas partículas pueden bloquear permanentemente los capilares y las válvulas. Por tanto, filtre siempre los disolventes a través de filtros de $0,4\text{ }\mu\text{m}$.
- Evite la utilización de los siguientes disolventes corrosivos del acero:
 - Disoluciones de halógenos alcalinos y sus ácidos respectivos (por ejemplo, yoduro de litio, cloruro potásico, etc.).
 - Altas concentraciones de ácidos inorgánicos como ácido sulfúrico y ácido nítrico, especialmente a temperaturas elevadas (si el método cromatográfico lo permite, sustitúyalos por ácido fosfórico o tampón de fosfato, que son menos corrosivos frente al acero inoxidable).
 - Disolventes o mezclas halogenados que formen radicales y/o ácidos, por ejemplo:



Esta reacción, en la que el acero inoxidable probablemente actúa como catalizador, ocurre rápidamente con el cloroformo seco, si el proceso de secado elimina el alcohol estabilizante.

- Éteres de calidad cromatográfica, que puedan contener peróxidos (por ejemplo, THF, dioxano, diisopropiléter). Estos éteres deben filtrarse con óxido de aluminio seco, que adsorbe los peróxidos.
- Disolventes que contengan fuertes agentes complejos (por ejemplo, EDTA).
- Mezclas de tetracloruro de carbono con 2-propanol o THF.

Agilent Technologies en Internet

Para conocer las novedades más recientes sobre nuestros productos y servicios, visite nuestro sitio web en la dirección de Internet:

<http://www.agilent.com>

Glosario UI

A

Adjust
Ajustar

C

Calibrations
Calibrations (Calibraciones)

D

Dark
Oscura

Detectors
Detectores

Diagnosis > Maintenance > FLD Calibration
Diagnóstico > Mantenimiento > Calibración del detector de fluorescencia

Dual WL
Longitud de onda doble

E

economy
económico

economy mode
modo económico

F

FLD-Signals
Señales del detector de fluorescencia

L

LAMP ON during run
Lámpara encendida durante el análisis

M

Maintenance > FLD > Calibration
Mantenimiento > Detector de fluorescencia > Calibración

Module Info
Información del módulo

Module Service Center
Centro de servicio del módulo

Multi-EM
Emisión múltiple

Multi-EX
Excitación múltiple

N

no economy
No económico

Not Ready
No preparado

NOT READY
NO PREPARADO

O

OK
Aceptar

Others
Otros elementos

P

Peakwidth
Anchura de pico

Peakwidth (Responsetime)
Anchura de pico (Tiempo de respuesta)

POWER ON
ENCENDIDO

PREPARE
PREPARAR

Pumps
Bombas

R

Ready
Preparado

S

Samplers
Inyectores

SEND
ENVIAR

SHUT DOWN
PARADA

Signals
Señales

START
INICIO

START REQUEST
PETICIÓN DE INICIO

STOP
FINAL

T

Test Chromatogram
Cromatograma de test

Threshold
Umbral

Timetable
Tabla de tiempos

Glosario UI

Tools
Herramientas

Y

Yes
Si

Índice

A

Agilent Lab Advisor 140
 Agilent
 en Internet 264
 Ajustes de comunicación
 RS-232C 247
 ajustes de la anchura de pico 130
 ajustes del tiempo de respuesta 130
 ajustes especiales
 inicio en frío forzado 249
 residente de arranque 249
 ajustes
 anchura de pico 130
 tiempo de respuesta 130
 algas 262, 200, 262
 altitud no operativa 39
 altitud operativa 39
 analógico
 cable 216
 anchura de pico
 selección 129
 apg remoto 244
 avisos y precauciones 191

B

batería
 información de seguridad 258
 baterías de litio 258
 BCD
 cable 221
 bioinerte 195
 bioinertes
 materiales 32

C

cable
 analógico 216
 BCD 221
 CAN 223
 contacto externo 224
 LAN 223
 que conecta APG remoto 58
 que conecta CAN 58
 que conecta la alimentación 58
 que conecta la ChemStation 58
 que conecta LAN 58
 remoto 218
 RS-232 225
 cables de alimentación 37
 cables
 analógicos 214
 BCD 214
 CAN 215
 LAN 215
 remotos 214
 RS-232 215
 visión general 214
 calibración de la longitud de onda 173
 CAN
 cable 223
 Características de GLP 43, 46, 50
 características
 seguridad y mantenimiento 43, 46, 49
 celda de flujo 16, 21, 262
 información sobre disolventes 262
 cómo utilizar la cubeta 199
 condensación 38
 condensador de emisión 16

condensador de excitación 16
 conexiones eléctricas
 descripciones de 235
 configuración de la torre de módulos 57, 58
 vista frontal 57
 vista posterior 58
 Configuración
 dos torres de módulos 57
 una torre de módulos 55
 consideraciones sobre la alimentación 36
 consumo de corriente 39
 contacto externo
 cable 224
 contactos externos
 tarjeta BCD 231
 cromatograma de prueba 170
 cubeta; 11
 cubeta
 cómo utilizarla 199

D

Degradación UV 18, 18, 164, 164
 desarrollo de métodos
 1 - comprobación de las posibles impurezas del sistema LC 80
 2 - optimización de los límites de detección y la selectividad 82
 3 - configuración de los métodos rutinarios 93
 detección de longitud de onda múltiple 93
 realización de un barrido de fluorescencia 83

desconexión 144
 descripción general de la unidad
 óptica 16
 desembalaje 52
 detección de fluorescencia 24
 detección de fosforescencia 25
 detección de longitud de onda
 múltiple 93
 dimensiones 39
 diodo de referencia 23
 disolventes 262
 disposición del instrumento 252

E

embalaje
 dañado 52
 EMF
 mantenimiento preventivo
 asistido 251
 emisión de sonido 260
 envío defectuoso 52
 espacio en el banco 38
 especificaciones de rendimiento 40, 44,
 47
 especificaciones físicas 39
 especificaciones
 características de GLP 43, 46, 50
 celda de flujo 42, 45, 49
 comunicaciones 42, 46, 49
 exactitud de la longitud de onda 40
 físicas 39
 frecuencia de pulso 40, 44, 47
 monocromadores 41, 44, 48
 rendimiento 40, 44, 47
 salidas analógicas 42, 46, 49
 seguridad y mantenimiento 43, 46,
 49
 espejo 16
 exactitud de la longitud de onda 40

F

fallo en el sensor de compensación 150
 fallo en el sensor de fugas 149
 fallos en el ventilador 151
 filtro de corte 16
 firmware
 actualizaciones 229, 204
 actualizar/volver a una versión
 anterior 204
 descripción 228
 herramienta de actualización 229
 sistema principal 228
 sistema residente 228
 fluorescencia y fosforescencia 13
 fotoluminiscencia 12
 frecuencia de línea 39
 fuga 147
 fugas
 corrección 201
 Funcionamiento del detector 12
 funciones de test 136, 163

G

glicógeno 183

H

historial de intensidad de la lámpara 165
 humedad 39

I

identificación de piezas
 cables 213
 descripción general 208
 kit de accesorios 210
 indicador de estado 138
 indicador de la fuente de
 alimentación 137
 información de seguridad

baterías de litio 258

información sobre disolventes 111, 262
 información

de mantenimiento 251

instalación y configuración del sistema
 optimización de la configuración de la
 torre de módulos 54

instalación

conexiones de flujo 66

de la celda de flujo y los

capilares 66

del detector 63

espacio en el banco 38

requisitos de las instalaciones 35

interfaces especiales 245

interfases 238

interferencia de radio 259

Internet 264

interruptor de configuración de 8 bits
 sin LAN integrada 246

Introducción al detector 10

L

lámpara de flash de xenón 16, 17

LAN

cable 223

tarjeta de interfaz de
 comunicación 233

limpieza 194

lista de control de la entrega 53

longitud de onda

recalibración 136, 163

luminiscencia 12

luz dispersa 132

M

mantenimiento

definición de 190

descripción general 193

sustitución del firmware 204

materiales

- bioinertes 32

mediciones fuera de línea; 11

mensaje

- Celda de flujo desmontada 159
- Convertidor analógico-digital no calibrado 153
- Cubierta de la lámpara abierta 152
- Fallo de activación del flash 157
- Fallo de la calibración de la longitud de onda 158
- mensajes de los motores 160
- Pérdida de la calibración de la longitud de onda 159
- Saturación de corriente de la lámpara de flash 155
- Saturación del convertidor analógico-digital 154
- Tarjeta FLF no detectada 153
- tiempo de espera remoto 145

mensajes de error generales 143

mensajes de error

- Celda de flujo desmontada 159
- Convertidor analógico-digital no calibrado 153
- Cubierta de la lámpara abierta 152
- desconexión 144
- errores de los motores 160
- Fallo de activación del flash 157
- Fallo de la calibración de la longitud de onda 158
- fallo en el sensor de compensación 150
- fallo en el sensor de fugas 149
- fallos en el ventilador 151
- fuga 147
- Pérdida de la calibración de la longitud de onda 159
- proveedor CAN perdido 146
- Saturación de corriente de la lámpara de flash 155

Saturación del convertidor analógico-digital 154

sensor de compensación abierto 149

sensor de fugas abierto 148

Tarjeta FLF no detectada 153

tiempo de espera remoto 145

tiempo de espera 143

monocromador de emisión 20

monocromador de excitación 18

monocromador

- EM 16, 20
- EX 18, 16

muestra de calibración 183

N

número de serie

- información 237, 237

O

optimización

- configuración de la torre de módulos 54
- ejemplo 97

P

peso 39

piezas del kit de accesorios 210

piezas

- dañadas 53
- que faltan 53

PMT

- ganancia 121, 22
- rango 27
- test de ganancia 116
- tubo fotomultiplicador 22

precauciones y avisos 191

principios de funcionamiento del detector 12

procedimiento de calibración de la longitud de onda 173, 183

proveedor CAN perdido 146

R

Raman 15

rango de frecuencia 39

rango de voltaje 39

ranura de emisión 16

ranura de excitación 16

recalibración de la longitud de onda 136, 163

red de difracción de emisión 16

red de difracción de excitación 16

remoto

- cable 218

reparaciones

- cambio de la celda de flujo 195
- corrección de fugas 201
- del detector 189
- precauciones y avisos 191
- sustitución del firmware 204
- sustitución del sistema de gestión de fugas 202

requisitos de instalaciones

- cables de alimentación 37

requisitos de las instalaciones 35

resolución de problemas

- indicadores de estado 137, 136
- mensajes de error 136, 142

responsetime 27

RS-232C

- ajustes de comunicación 247
- cable 225

S

seguridad de primera clase 255

seguridad

- estándares 39

Índice

- información general 255
- símbolos 254
- selección
 - anchura de pico 129
 - tiempo de respuesta 129
- señal analógica 243
- sensor de compensación abierto 149
- sensor de fugas abierto 148
- sensor de temperatura 147
- sistema de referencia 23, 23
- Software Agilent Lab Advisor 140
- sustitución de la tarjeta de interfaz (BCD/LAN) 203

T

- tarjeta BCD
 - contactos externos 231
- tarjeta HP JetDirect 233
- tarjetas
 - tarjeta LAN 233
- tarjeta
 - tarjeta HP JetDirect 233
- temperatura ambiente no operativa 39
- temperatura ambiente operativa 39
- temperatura no operativa 39
- temperatura operativa 39
- test de intensidad de la lámpara 164
- Test de señal-ruido Raman 166
- tests
 - funciones 163
 - historial de intensidad de la lámpara 165
 - intensidad de la lámpara 164
 - Señal-ruido ASTM Raman 166
 - test de ganancia PMT 116
- test
 - cromatograma de prueba 170
- tiempo de espera 143
- tiempo de respuesta

- selección 129
- tubo fotomultiplicador
 - PMT 22
 - ubicación del tubo fotomultiplicador 16

V

- variación de la longitud de onda de los espectros 117, 117
- vista frontal del módulo 63
- voltaje de línea 39

En este manual

Este manual contiene información técnica de referencia sobre el detector de fluorescencia Agilent 1260 Infinity (G1321B SPECTRA y G1321C) y los detectores de fluorescencia Agilent Serie 1100 y 1200 (G1321A; obsoletos):

- introducción y especificaciones;
- instalación;
- utilización y optimización;
- diagnóstico y resolución de problemas;
- mantenimiento;
- identificación de piezas; y,
- seguridad e información relacionada.

© Agilent Technologies 2010-2012, 2013

Printed in Germany
05/2013



G1321-95014



Agilent Technologies