

Cómo seleccionar el inserto adecuado a su aplicación

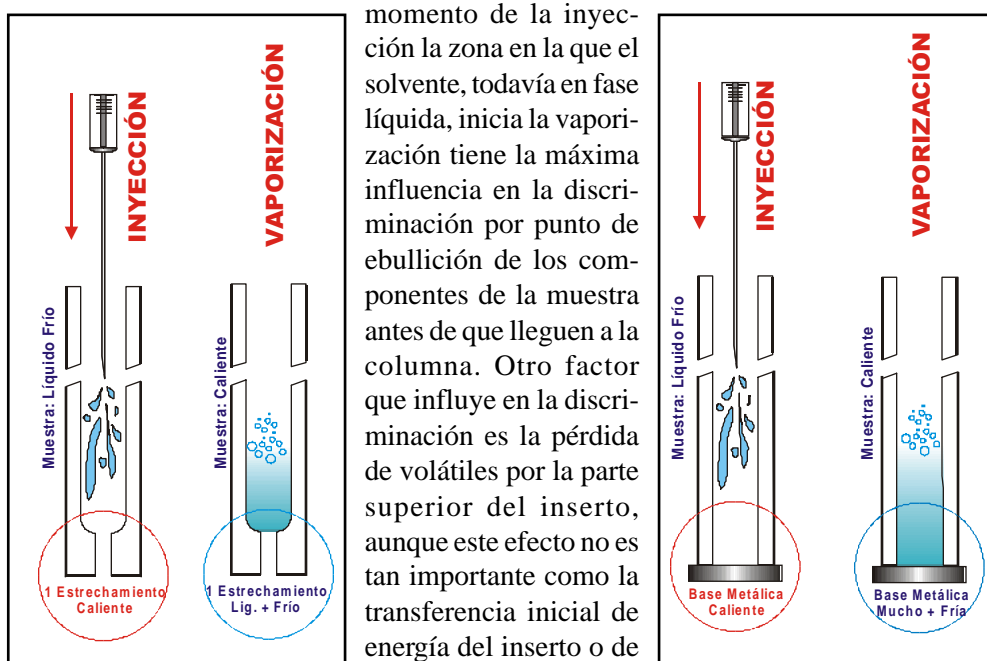
Copa Laminar, Deflector, Discriminación, Discriminación por Alto Punto de Ebullición, Discriminación por Bajo Punto de Ebullición, FlashBack, Inserto, Líner, Lana de Vidrio, Lana de Cuarzo, Silanizar en Fase Gas, Silanizar en Fase Líquida, Split, SplitLess

Aumente la sensibilidad de los compuestos con alto punto de ebullición

La amplia variedad de insertos de inyección disponibles para el cromatografista hace que la selección del tipo más adecuado a cada técnica sea, muchas veces, complicada, puesto que una elección equivocada puede afectar directamente un parámetro tan importante como la sensibilidad.

¿qué es mas adecuado, un inserto recto, con lana de vidrio, con deflectores, de copa laminar, con estrechamientos...?

La eficacia del inserto para transferir calor del inyector depende de su diseño. En el



momento de la inyección la zona en la que el solvente, todavía en fase líquida, inicia la vaporización tiene la máxima influencia en la discriminación por punto de ebullición de los componentes de la muestra antes de que lleguen a la columna. Otro factor que influye en la discriminación es la pérdida de volátiles por la parte superior del inserto, aunque este efecto no es tan importante como la transferencia inicial de energía del inserto o de

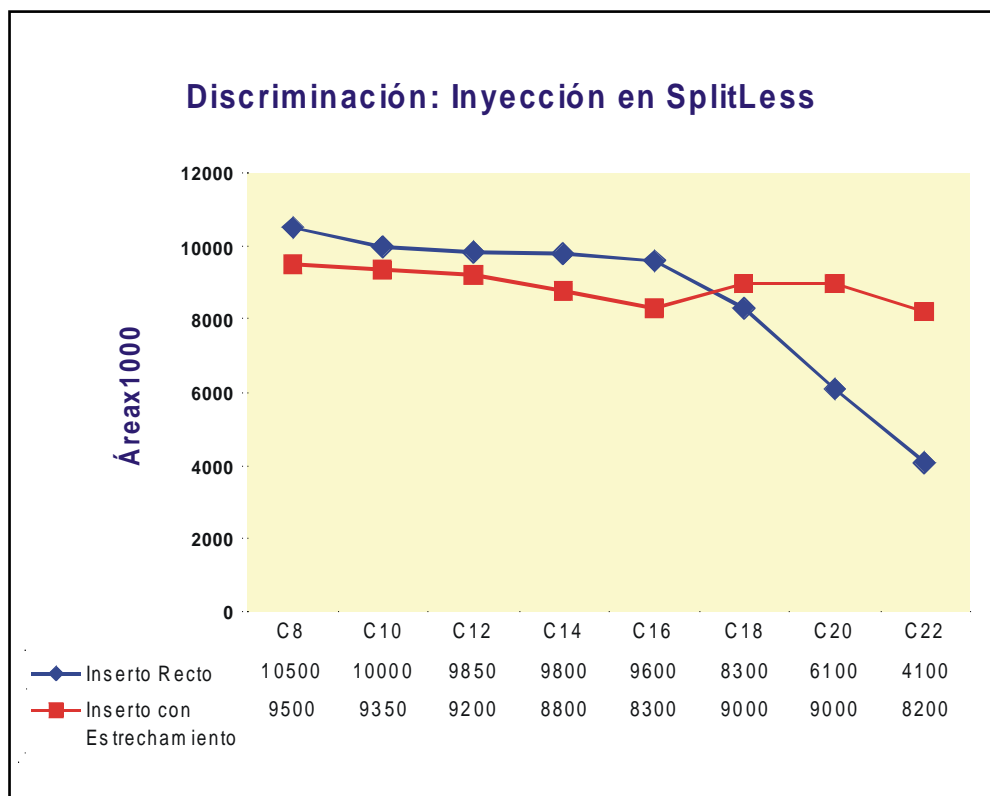
la base metálica del inyector a la muestra. Algunos insertos no transfieren esta energía tan efectivamente como otros y, por lo tanto, frenan el proceso de vaporización.

Cuando una muestra líquida se inyecta mediante un inyector automático en el inserto, sale de la aguja de la jeringa a alta velocidad. En la mayoría de los casos, una parte pequeña de la muestra se nebuliza, pero el resto se mantiene unida hasta que choca contra una superficie. Un inserto puede tener tres tipos de superficie en las que la muestra líquida puede iniciar la vaporización: lana de cuarzo, vidrio (borosilicato ó cuarzo) y metal (generalmente acero inoxidable niquelado) A la misma temperatura estos materiales tienen diferentes cantidades de energía y, por lo tanto, actúan diferentemente cuando la muestra inicia la vaporización usando parte de esta energía. Si se acepta que la masa de las superficies metálicas ó de vidrio son similares, la temperatura de la masa de vidrio no caerá tan rápidamente como la de la masa metáli-

ca cuando se utilice la misma cantidad de energía debido a las diferencias en capacidades térmicas (ver figuras en la página anterior).

Consideremos ahora el orden de vaporización. Si 1 µL de 100 ppm de Hidrocarburos TRPH (Total Recoverable Petroleum Hydrocarbon, C8-C40) en cloruro de metileno se inyecta en SplitLess, tanto el solvente como los hidrocarburos absorberán energía aproximadamente a la misma velocidad. Sin embargo los compuestos con mayor punto de ebullición (>C18) necesitarán un poco más de tiempo para absorber la energía adicional necesaria para la vaporización.

El problema es que el 99,99% de la muestra es solvente, que vaporizará antes, conjuntamente con los compuestos más volátiles y los semivolátiles, usando una gran cantidad de energía del inserto o de la junta inferior metálica (tal como se muestra en las figuras de la página anterior), pero los compuestos menos volátiles todavía no han iniciado la vaporización y la base del inserto o del inyector ahora están mucho más frías que antes de la inyección. Según el volumen de la muestra, de la capacidad térmica específica del solvente y de las superficies de inyección, este enfriamiento puede afectar significativamente a la velocidad de evaporación de los compuestos menos volátiles. En pocas palabras, el C18 y otros hidrocarburos más pesados inician a vaporizar cuando la temperatura del material con el que están en contacto cae, frenando su evaporación. Esta situación no afecta los compuestos más volátiles puesto que éstos ya están en fase vapor. Los resultados pueden verse en el gráfico siguiente donde se muestra que el área del C22 en in inserto recto (straight liner) es la mitad que la que se

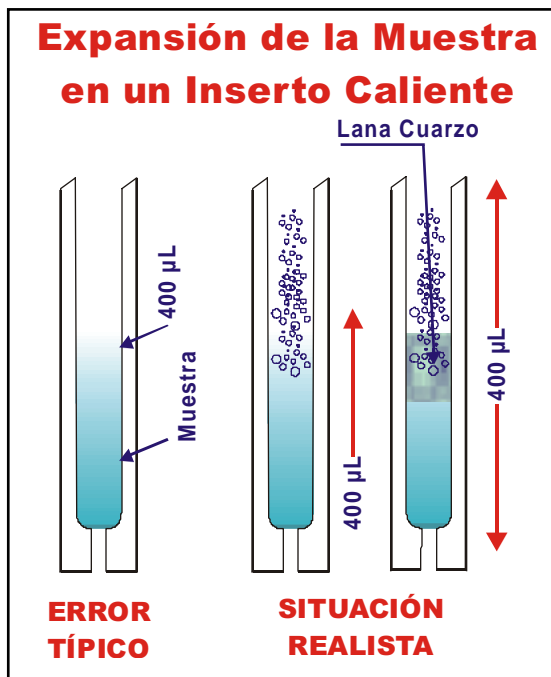


obtiene usando un inyector con estrechamiento inferior (tapered liner). El primer inserto es menos eficiente al transferir la energía puesto que la base metálica del inyector se ha enfriado más rápidamente que el vidrio. También influye el hecho de que el inyector no tiene una temperatura homogénea y la base del mismo suele estar a menor temperatura que la zona central, con lo que su base metálica no sólo se enfría más rápidamente sino que, además, está a una temperatura menor.

Aumente la sensibilidad de los compuestos con bajo punto de ebullición

La mayoría de los usuarios creen que para eliminar la discriminación de los compuestos volátiles, basta con asegurarse de que el inserto tenga un volumen interno mayor que el volumen que ocupa la muestra tras la vaporización para evitar que esta ocupe también las líneas de transferencia y purga del inyector (efecto llamado flashback). En general esta regla resulta adecuada pero en muchos casos la regla opuesta también resulta cierta y el concepto de «flashback» no puede aplicarse realmente a todas las propiedades de los gases.

Cuando una muestra de líquido se expande en un inserto caliente provoca un rápido incremento de la presión en la zona donde la expansión se inicia. La presión se reduce al expandirse la muestra a otras áreas del inyector. En modo SplitLess, si un



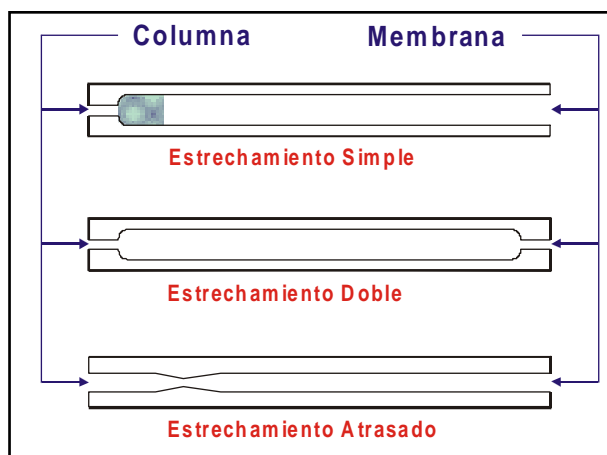
solvente líquido se deposita cerca de la parte inferior del inserto se expandirá hacia la parte superior y puede que hasta las líneas de gas portador para compensar la presión. Si algún analito volátil se evapora al mismo tiempo que el solvente, también se expandirá hacia las líneas de portador y de purga, causando una discriminación por bajo punto de ebullición. De esta manera si 1 µL de Cloruro de Metileno se expande a 400 µL, no llenará hasta un volumen de 400 µL y se parará: el vapor llenará tanto volumen cuanto sea disponible antes de ser eliminado por el portador (ver la figura).

La expansión de la muestra gaseosa en la zona superior del inserto resulta más obvia cuando la velocidad del gas portador es baja en esa zona. En modo SplitLess, si la inyección y los caudales del portador en el inyector son bajos, pueden aparecer problemas de pérdida de volátiles así como en el caso en que la muestra vaporiza en la zona central del inserto con lo que se disminuye la distancia que los vapores han de recorrer par alcanzar la zona superior.

Si se ha de seleccionar un inserto para minimizar las pérdidas de las fracciones volátiles siga las recomendaciones siguientes:

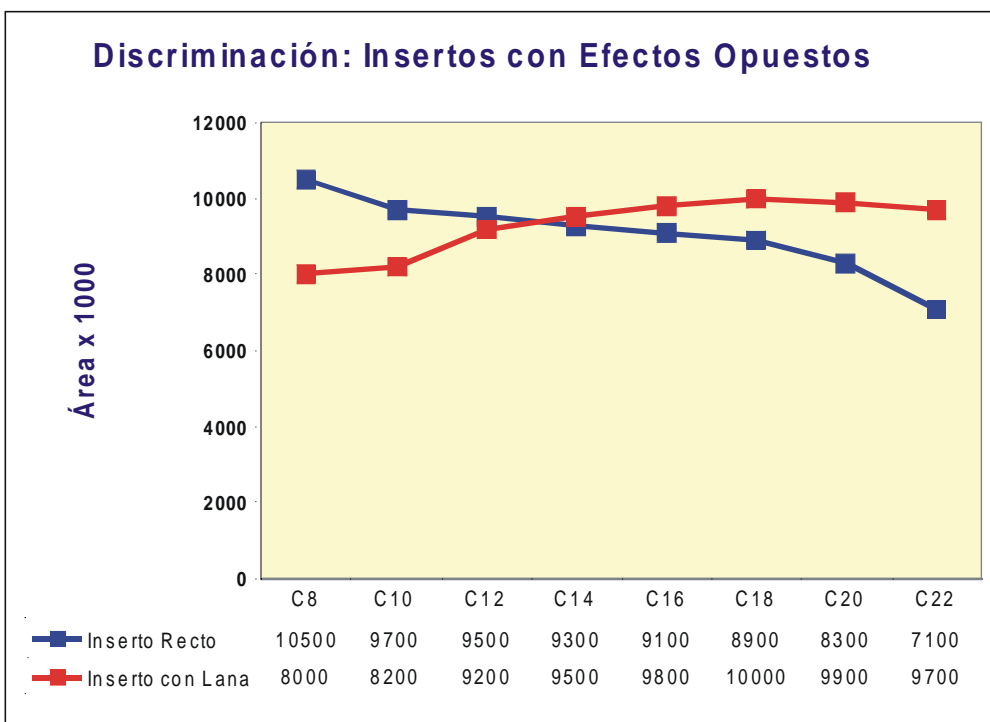
1. Zona de vaporización de la muestra. La discriminación de la fracción volátil ocurre muy a menudo con insertos que contengan lana de cuarzo o cualquier otro objeto que esté situado en la zona central del inserto. Cuando la muestra alcanza este punto, la mayor parte se retiene (depende del diseño del inserto) e inicia su evaporación. Es posible que parte de la fracción volátil escape por la parte superior del inyector puesto que no existe demasiada distancia que recorrer. Por lo tanto el inserto no ha de tener nada en la zona central, y es preferible que la lana de cuarzo ó de vidrio esté situada en la parte inferior. (Ver figura).

2. La velocidad del gas portador a través del inserto. Para evitar que la muestra vaporizada migre hacia la parte superior del inserto se ha de aumentar la velocidad del



gas portador. No es necesario aumentar la presión del gas para aumentar su velocidad lineal: se puede disminuir el diámetro interior del inserto para aumentar la velocidad lineal del gas. Seleccione un inserto con un estrechamiento en la parte superior ó un menor diámetro y descarte los insertos rectos o con elevado diámetro interior (vea los dos ejemplos de la figura).

El gráfico muestra los resultados



obtenidos con un inserto de 1.2 mm de diámetro interior frente a otro de 4 mm con lana en la zona central al inyectar una muestra de hidrocarburos en pentano. El inserto de 1.2 mm permite una mayor sensibilidad para la fracción más volátil puesto que la muestra vaporiza en la parte inferior y la velocidad lineal del gas portador es superior que en el inserto de 4 mm.

El inserto de 4 mm ofrece resultados opuestos: la muestra vaporiza en la zona central y la velocidad del gas portador es baja, aumentando la posibilidad que los compuestos de baja volatilidad alcancen la parte superior del inserto con la expansión inicial del solvente, y la discriminación por punto de ebullición mostrada por cada inserto es diferente.

El mayor inconveniente al usar insertos de poco diámetro interior para evitar la discriminación de los volátiles es que pueden sobrecargarse con facilidad. *Hasta una inyección de 1 µL puede sobrecargar el inserto si se selecciona el solvente inadecuado.* Una vía más adecuada para evitar este tipo de discriminación es usar insertos con estrechamiento en la parte superior. La velocidad del portador es mucho mayor a través del estrechamiento es mucho mayor que en el cuerpo del inserto, obligando a permanecer en el cuerpo del inyector a la fracción más volátil. Los insertos con doble estrechamiento (double tapered liners) permiten la menor discriminación de la fracción volátil. Un inserto con un solo estrechamiento en la parte superior (single tapered liner) es eficaz para mejorar la introducción de muestras volátiles, pero es menos eficaz con la fracción más pesada. Los insertos con menor diámetro son mejores, pero hay que prestar mucha atención a la inyección de muestras por encima de 1 µL.

El problema de la expansión del solvente (Flashback)

No todos los solventes se expanden al mismo volumen bajo unas condiciones determinadas. Es importante recordar que el volumen del gas aumenta al disminuir el peso molecular. La sobrecarga del inserto ó flashback sucede cuando el volumen del gas expandido es superior al volumen interno del inserto.

Éste es uno de los motivos por lo que el agua es un solvente muy difícil. El agua puede expandirse cuatro veces más que la misma cantidad de cloruro de metileno. Un inserto con un diámetro interior de 4 mm y una longitud de 78.5 mm tendrá un volumen de aproximadamente 1.0mL. Una introducción de 1µL de cloruro de metileno a 250°C y a una presión 0,8 bar ocupará un volumen de unos 380µL, adecuada para el inserto usado que tiene un volumen de 1000µL. Sin embargo 1µL de agua ocupará un volumen de 1400µL en las mismas condiciones, que obviamente es superior al volumen geométrico del inserto. El vapor de agua se expansionará más allá del volumen del inserto y puede alcanzar las líneas de gas portador y de purga, con la posibilidad que sea devuelto de nuevo al inyector y a la columna. *Este efecto se denomina Flashback, y el efecto más inmediato es la contaminación del sistema. En el peor de los casos se podrá estar obligado a sustituir parte del sistema neumático del instrumento.*

El flashback aparece con mayor facilidad si se inyecta en SplitLess.

Existen varias posibilidades para evitar dicho efecto. Sea consciente de lo que sucede: si el volumen de muestra inyectado ocupa un volumen de vaporización superior al del

- Recuerde que el Flashback puede causar:**
- Cuantificación errática
 - Contaminación del instrumento
 - Picos fantasma
 - Picos con cola

inserto puede evitar este efecto cambiando el tipo de solvente, disminuyendo el volumen inyectado, ó usando un inserto adecuado.

Desactivación del Inserto

La superficie del vidrio de borosilicato es naturalmente ácida y contiene silanoles libres, silanoles hidratados ó puentes siloxano. La desactivación permite bloquear dichos grupos con grupos funcionales no polares, creando una superficie más inerte.

Existen dos métodos de desactivación: Líquida y en Fase gas a Alta Temperatura. **Selección insertos desactivados a alta temperatura** si es posible (vea Tabla), pero si prefiere desactivar su inserto personalmente utilice el procedimiento recomendado más abajo.

Características y Ventajas de la Desactivación a Alta Temperatura	
Característica	Ventaja
Desactivación en Fase Gas	Mayor recubrimiento de la superficie del inserto y de la lana de cuarzo
Desactivación a Alta Temperatura (400°C)	No se pierde la desactivación en inyectores muy calientes
Desactivación in-situ	No hay manipulación manual de la lana de cuarzo tras la desactivación: mayor estabilidad

Nunca limpie sus insertos con mezcla crómica: no sólo eliminará la desactivación superficial sino que además, causará la aparición de zonas más activas.

¿Cada cuándo hay que substituir el Inserto?

La respuesta más inmediata es en cuanto se deteriore la cuantificación o la forma del pico. Algunos laboratorios que inyectan muestras muy sucias cambian diariamente el inserto. Otros que limpian más sus muestras ó éstas son naturalmente más limpias requieren un cambio mensual. **Es recomendable substituir el inserto de una manera rutinaria al menos una vez al mes.** Aumente la frecuencia de la substitución en función de la limpieza y el número de muestras inyectadas.

Selección del Inserto

Inyección en Split

Seleccione insertos con lana de cuarzo que permite:

- Mejor mezcla de los analitos y mejor cuantificación
- Mayor superficie que ayuda a la vaporización de las muestras líquidas
- Permite absorber residuos no volátiles de la muestra
- Evita que la muestra alcance el fondo del inyector antes de la vaporización

Inyección en SplitLess

Seleccione insertos con estrechamiento en la zona inferior que permite:

- Minimizar el contacto de los analitos con el fondo metálico del inyector. En SplitLess el tiempo de residencia de la muestra en el inyector puede ser muy grande.
- El estrechamiento conduce la muestra a la columna: la distancia de instalación de la columna no es tan crítica.

Inyección en SplitLess de compuestos activos

- Como en el punto anterior pero sin lana de cuarzo o vidrio.

Inyección en Cromatografía Rápida en columnas de poco diámetro interior

Seleccione insertos de poco volumen interno

- Permite menor anchura del pico
- Mayor velocidad lineal del gas en el inserto.

Método para Silanizar Insertos

1. Coloque el Inserto en un tubo roscado con un tapón de membrana teflonada.
2. Manténgalo durante 8 h en una solución de HCl 1N. No lo mantenga más de 24 h. Si la solución está ligeramente coloreada, repita el tratamiento con solución ácida limpia.
3. Saque el Inserto y lávelo con agua desionizada y después con metanol
4. Seque el Inserto a 100-150°C. Si el Inserto a sido lavado con ácido ha de ser silanizado antes de su uso.
5. Ponga el Inserto limpio y seco en un tubo roscado con un tapón de membrana teflonada
6. Cubra el inserto con una solución al 10% de trimetilclorosilano ó dimetildiclorosilano en tolueno ó hexano seco
7. Cierre herméticamente el tubo
8. Mantenga la solución durante 8 h
9. Saque el inserto de la solución silanizante y lávelo con tolueno (ó hexano) y luego con metanol.
10. Seque el inserto a 75-100°C durante 30 a 60 minutos.

Para más información contacte con:

Cromlab S.L.

Acer 30,32

08038 Barcelona

tel. +34 93 223 33 19

fax +34 93 223 16 37

email cial.cromlab@ctv.es

internet www.cromlab.es