

HPLC

GUIA DE SOLUÇÃO DE PROBLEMAS



Allcrom
TUDO PARA CROMATOGRAFIA

Rua David Ben Gurion, 701
Morumbi - São Paulo
CEP: 05634-001

Tel: +55 11 3464-8900
facebook.com/allcrom
allcrom@allcrom.com.br
<http://www.allcrom.com.br>

 **phenomenex**[®]
...breaking with traditionSM



www.phenomenex.com

ENTRE EM CONTATO COM A ALLCROM PARA:

- Colunas de HPLC/UHPLC (de Capilares a Preparativas)
- Colunas de SEC: Aquosa (GFC) e Não Aquosa (GPC)
- Análise de Aminoácidos
- Colunas de Extração Super Crítica (SFC)
- Colunas de HPLC especiais para análise de:
 - Medicamentos Básicos, Ácidos e Anfotéricos
 - Separação com pH alto/baixo (pH 1~12)
 - Proteínas/Peptídeos por Fase Reversa
 - Biopolímeros - Proteínas e Ácidos Nucleicos por GFC/SEC
 - Polímeros Sintéticos
 - Alimentos e Bebidas
 - Amostras Ambientais
 - Drogas em Fluidos Biológicos
- Recheio (BULK) para colunas HPLC
- Acessórios de HPLC como:
 - Filtros de Amostras e Solventes
 - Proteção de coluna SecurityGuard™
 - Filtros de Seringa
 - Seringas e Vials
 - Forno de coluna
 - Válvulas de Injeção HPLC
 - Tubos e Conexões
- Colunas de GC
- Acessórios para GC
- Produtos para Preparação de Amostras (SPE, SLE, Precipitação de Proteínas, Filtros)
- Suporte para desenvolvimento e validação de aplicações
- Serviço técnico excepcional

ÍNDICE

I.	Introdução.....	4
II.	Pressão Anormal.....	5
III.	Vazamentos	7
IV.	Problemas com o Cromatograma	9
V.	Problemas com o injetor.....	17
VI.	Problemas detectados por meio da visão, olfato ou audição.....	18
VII.	Problemas mais comuns e Manutenção Preventiva	20
	Proteja sua coluna de HPLC	22
	Filtração simples antes da Cromatografia.....	23

© 2017 Phenomenex, Inc. Todos os direitos reservados.

Nenhuma parte deste documento pode ser copiada sem autorização prévia por escrito da Phenomenex, Inc. EUA.

Embora todas as tentativas tenham sido feitas para garantir a precisão das informações contidas neste guia, a Phenomenex não assume nenhuma responsabilidade por seu uso. Quaisquer adições ou correções para incorporação em futuras edições são bem vindas.

I. INTRODUÇÃO

LOCALIZANDO E CORRIGINDO O PROBLEMA

Uma abordagem sistemática é a melhor maneira para solucionar os problemas do seu sistema de HPLC. Este guia é organizado em cinco principais sintomas para ajudar você a identificar rapidamente a origem dos problemas encontrados:

- Anomalias de pressão
- Vazamentos
- Problemas com o cromatograma
- Problemas com o injetor
- Outros problemas detectados

Quando você corrigir o problema, registre o incidente no livro de registros do sistema para ajudar em problemas futuros.

PREVENÇÃO

Muitos problemas de HPLC podem ser evitados com a manutenção preventiva de rotina. Por exemplo, substituir os selos da bomba em intervalos regulares deve eliminar a falha da vedação da bomba e seus problemas associados. A seção VII lista as áreas problemáticas mais comuns para cada módulo de HPLC e as práticas de manutenção preventiva que reduzirão sua frequência. Essas sugestões devem ser modificadas para se adequar ao seu modelo específico de HPLC e, então, tornar-se uma rotina para seu laboratório.

ONDE OBTER MAIS AJUDA

- A Allcrom/Phenomenex tem consultores técnicos experientes que podem ajudar você com praticamente qualquer problema. Seus telefonemas ou e-mails serão bem-vindos.
- Os manuais do usuário e de serviço do equipamento devem ser consultados. Eles contêm diagramas, procedimentos de solução de problemas para modelos específicos e referências para ajudar você a adquirir peças de reposição.
- Outras pessoas no laboratório podem já ter resolvido um problema que você está tendo agora; elas podem ser um recurso útil.
- O fabricante do seu equipamento pode ajudar você. A maioria dos fabricantes de HPLC oferece suporte técnico gratuito aos seus clientes.
- A Allcrom/Phenomenex oferece seminários sobre HPLC/UHPLC.
- Há uma série de fontes de referência que podem servir de orientação para solucionar problemas:

J.W. Dolan and L.R. Snyder, ***Troubleshooting LC Systems***, Humana Press, NJ (1989).

L.R. Snyder and J.J. Kirkland, ***Introduction to Modern Liquid Chromatography***, 2nd ed., Wiley, NY (1979).

D.J. Runser, ***Maintaining and Troubleshooting HPLC Systems - A User's Guide***, Wiley, NY (1981).

J.W. Dolan, "LC Troubleshooting", LC/GC Magazine.

II. PRESSÃO ANORMAL

Uma mudança na pressão de trabalho é um sinal de que pode haver um problema. Escolha abaixo a categoria que melhor se enquadra nos sintomas observados e siga as sugestões para corrigir o problema.

A. Sem leitura de pressão, sem fluxo

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Alimentação elétrica desligada	1. Ligue a alimentação elétrica
2. Fusível queimado	2. Substitua o fusível
3. Configuração ou falha do controlador	3. a. Verifique as configurações adequadas b. Repare ou substitua o controlador
4. Pistão quebrado	4. Substitua o pistão
5. Ar preso na cabeça da bomba	5. Desgaseifique os solventes; elimine o ar da bomba, inicie a bomba
6. Fase Móvel insuficiente	6. a. Reabasteça o reservatório b. Substitua o Filtro de Solvente caso esteja bloqueado
7. Válvula(s) de retenção com defeito	7. Substitua a(s) válvula(s) de retenção
8. Vazamento	8. Aperte ou substitua as conexões

B. Sem leitura de pressão, com fluxo normal

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Medidor com defeito	1. Substitua o medidor
2. Transdutor de pressão com defeito	2. Substitua o transdutor

C. Pressão constantemente elevada

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Fluxo ajustado muito alto	1. Ajuste a configuração
2. Frit de coluna bloqueada	2. a. Inverta o fluxo da coluna (se permitido) b. Substitua o frit c. Substitua a coluna
3. Fase Móvel inadequada; tampão precipitado	3. a. Use a Fase Móvel correta b. Lave a coluna
4. Coluna inadequada	4. Use uma coluna adequada
5. Obstrução do injetor	5. Remova a obstrução ou substitua o injetor
6. Temperatura da coluna muito baixa	6. Aumente a temperatura
7. Falha no controlador	7. Repare ou substitua o controlador
8. Pré Coluna bloqueada	8. Remova/substitua a Pré Coluna
9. Filtro de linha obstruído	9. Remova/substitua o filtro de linha

* Verifique primeiro a garantia da coluna do fabricante. A remoção das conexões das extremidades pode anular a garantia da coluna.

II. PRESSÃO ANORMAL (CONTINUAÇÃO)

D. Pressão constantemente baixa

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Fluxo ajustado muito baixo	1. Ajuste o fluxo
2. Vazamento no sistema	2. Localize e corrija
3. Coluna inadequada	3. Use uma coluna adequada
4. Temperatura da coluna muito elevada	4. Reduza a temperatura
5. Falha no controlador	5. Repare ou substitua o controlador

E. Elevação da pressão

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Consulte a seção C	1. Consulte a seção C

F. Queda da pressão para zero

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Consulte as seções A e B	1. Consulte as seções A e B

G. Queda da pressão, não para zero

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Consulte a seção D	1. Consulte a seção D

H. Variação de pressão

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Ar na bomba	1. a. Desgaseificar o solvente b. Elimine o ar da bomba
2. Válvula(s) de retenção com defeito	2. Substitua a(s) válvula(s) de retenção
3. Falha nos selos da bomba	3. Substitua os selos da bomba
4. Desgaseificação insuficiente	4. a. Desgaseificar o solvente b. Altere os métodos de desgaseificação
5. Vazamento no sistema	5. Localize e corrija
6. Usando eluição gradiente	6. A variação de pressão é normal devido às mudanças de viscosidade

III. VAZAMENTOS

Os vazamentos geralmente são corrigidos ao apertar ou substituir a conexão. No entanto, esteja ciente de que as compressões em excesso do metal podem ocasionar vazamentos e as peças de plástico apertadas manualmente podem desgastar. Se um vazamento de conexão não parar quando a conexão for apertada, retire a conexão e inspecione se há danos (por exemplo, anilha distorcida ou sujeiras na superfície de vedação); as conexões danificadas devem ser descartadas.

A. Conexões com vazamento

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Conexão frouxa	1. Aperte
2. Conexão espanada	2. Substitua
3. Conexão apertada demais*	3. a. Afrouxe e reaperte b. Substitua
4. Conexão suja	4. a. Desmontar e limpar b. Substituir
5. Peças incompatíveis	5. Utilize todas as peças da mesma marca

B. Vazamentos na bomba

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Válvulas de retenção frouxas	1. a. Aperte a válvula de retenção (não aperte demais) b. Substitua a válvula de retenção
2. Conexões frouxas	2. Aperte as conexões (não aperte demais)
3. Falha na vedação do misturador	3. a. Substitua a vedação do misturador b. Substitua o misturador
4. Falha nos selos da bomba	4. Repare ou substitua
5. Falha no transdutor de pressão	5. Repare ou substitua
6. Falha no amortecedor de pulso	6. Repare ou substitua
7. Falha na válvula de alimentação	7. a. Verifique os diafragmas, substitua caso haja vazamento b. Verifique se há danos na conexão, substitua
8. Válvula de Purga	8. a. Aperte a válvula b. Substitua a válvula Purga

* Use o aperto manual para evitar problemas de vedação e a necessidade de usar chave inglesa

III. VAZAMENTOS (CONTINUAÇÃO)

C. Vazamentos no injetor

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Falha na vedação do rotor	1. Remonte ou substitua o injetor
2. Loop bloqueado	2. Substitua o Loop
3. Vedação da porta de injeção frouxa	3. Ajuste
4. Diâmetro inadequado da agulha da seringa	4. Utilize a seringa correta
5. Sifonagem do cano de descarte	5. Mantenha o cano de descarte acima da linha da superfície
6. Obstrução do cano de descarte	6. Substitua o cano de descarte





D. Vazamentos na coluna

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Conexão de extremidade frouxa	1. Aperte a conexão da extremidade
2. Obstrução da anilha na coluna	2. Desmonte, limpe a anilha, remonte-a
3. Espessura inadequada do frit	3. Utilize o frit adequado (veja a tabela abaixo)

E. Vazamentos no detector

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Falha na vedação da célula	1. a. Evite pressão de trabalho excessiva b. Substitua a vedação
2. Janelas de células rachadas	2. Substitua as janelas
3. Conexões com vazamento	3. Aperte ou substitua
4. Cano de descarte obstruído	4. Substituir o cano de descarte
5. Célula de vazão obstruída	5. Remonte ou substitua

Guia de seleção do tamanho do poro do frit

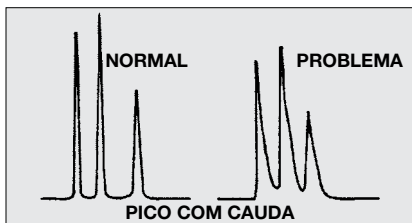
QUANDO O TAMANHO DA PARTÍCULA DO MATERIAL É:	O TAMANHO DO PORO DO FRIT DEVE SER:
2 - 4 μm 	 0,5 μm
5 - 20 μm 	 2 μm

IV. PROBLEMAS COM O CROMATOGRAMA

Muitos problemas no sistema de HPLC são percebidos por meio de alterações no Cromatograma. Alguns deles podem ser resolvidos por simples mudanças no equipamento. No entanto, outros exigem a modificação do procedimento da análise. Selecionar o tipo de coluna apropriada e a Fase Móvel são o segredo para uma “Boa Cromatografia”.

A. Prolongamento de Pico

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Filtro de entrada entupido	1. a. Inverta o fluxo da coluna (se for permitido) b. Substitua o filtro de entrada c. Substitua a coluna
2. Espaço vazio na coluna	2. Preencha o vazio
3. Pico de interferência	3. a. Utilize uma coluna maior b. Mude a Fase Móvel e/ou a coluna/ Seletividade
4. pH da Fase Móvel errado	4. Ajuste o pH. Para compostos Básicos, o pH mais baixo normalmente fornece picos mais simétricos
5. Amostra reagindo com locais ativos	5. a. Adicione um reagente par iônico ou modificador básico volátil b. Troque a coluna



B. Assimetria frontal do pico

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Baixa temperatura	1. Aumente a temperatura da coluna
2. Solvente de amostra errado	2. Utilize a Fase Móvel como solvente de injeção
3. Sobrecarga de amostra	3. Diminua a concentração da amostra
4. Coluna com defeito	4. Consulte A.1. e A.2.

C. Picos divididos

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Contaminação na entrada da pré-coluna	1. Remova a pré coluna e teste a análise. Substitua a pré coluna, se for necessário

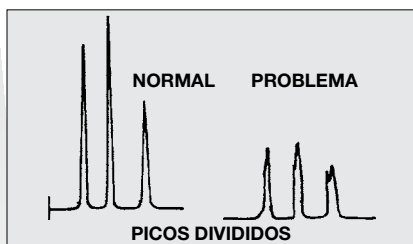
* Verifique primeiro a garantia da coluna do fabricante. A remoção das conexões das extremidades pode anular a garantia da coluna.

IV. PROBLEMAS COM O CROMATOGRAMA (CONTINUAÇÃO)

C. Picos divididos (continuação)

POSSÍVEL CAUSA

SOLUÇÃO



Se a coluna analítica estiver obstruída, inverta-a e lave. Se o problema persistir, a coluna pode estar contaminada com contaminantes fortemente retidos. Utilize o procedimento de restauração apropriado. Se o problema persistir, a entrada provavelmente está bloqueada. Troque o frit ou substitua a coluna.

- | | |
|--|---|
| 2. Solvente da amostra incompatível com a Fase Móvel | 2. Troque o solvente. Sempre que possível, injete amostras com a Fase Móvel |
|--|---|

D. Distorção de picos largos

POSSÍVEL CAUSA

SOLUÇÃO

- | | |
|--------------------------|---|
| 1. Sobrecarga de amostra | 1. Reduza o tamanho da amostra (volume ou concentração) |
|--------------------------|---|

E. Distorção dos picos iniciais

POSSÍVEL CAUSA

SOLUÇÃO

- | | |
|-------------------------------|--|
| 1. Solvente de injeção errado | 1. a. Reduza o volume de injeção
b. Utilize um solvente de injeção mais fraco |
|-------------------------------|--|

F. Prolongamento, picos iniciais maiores do que os posteriores

POSSÍVEL CAUSA

SOLUÇÃO

- | | |
|--------------------------|---|
| 1. Efeitos extra colunas | 1. a. Refaça a tubulação do sistema (tubos mais curtos e mais estreitos)
b. Utilize uma célula de detecção de volume menor |
|--------------------------|---|

G. Aumento da cauda à medida que o fator de capacidade (k) aumenta

POSSÍVEL CAUSA

SOLUÇÃO

- | | |
|--|--|
| 1. Efeitos secundários de retenção, modo de Fase Reversa | 1. a. Adicione Trietilamina (Amostras Básicas)
b. Adicione Acetato (Amostras Ácidas)
c. Adicione sal (Amostras Iônicas)
d. Tente uma coluna diferente |
| 2. Efeitos secundários de retenção, modo de Fase Normal | 2. a. Adicionar Trietilamina (Compostos Básicos)
b. Adicionar Ácido Acético (Compostos Ácidos) |

continue na próxima página

IV. PROBLEMAS COM O CROMATOGRAMA (CONTINUAÇÃO)

G. Aumento da cauda à medida que o fator de capacidade (k) aumenta (continuação)

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
2. Efeitos secundários de retenção, modo de Fase Normal	2. c. Adicione Água (Compostos Polifuncionais). Somente para métodos de Fase Normal que utilizam solventes solúveis em água. d. Tente um método diferente de HPLC
3. Efeitos secundários de retenção, par de ions	3. Adicione Trietilamina (Amostras Básicas)

H. Cauda em picos nos compostos Ácidos ou Básicos

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Tamponamento inadequado	1. a. Utilize concentração de tampão de 50-100 mM b. Utilize tampão com pKa igual ao pH da Fase Móvel

I. Picos extras

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Outros componentes da amostra	1. Normal
2. Pico de eluição remanescente da injeção anterior	2. a. Aumente o tempo de análise ou o declive do gradiente b. Aumente a vazão
3. Sem picos ou picos fantasmas	3. a. Verifique a pureza da Fase Móvel b. Utilize Fase Móvel como solvente de injeção c. Reduza o volume de injeção
4. Contaminação	4. Filtre a amostra

J. Desvios no tempo de retenção


POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Controle de temperatura insatisfatório	1. Controle a temperatura da coluna
2. Mudança da Fase Móvel	2. Evite mudança (evaporação, reação, etc.)
3. Equilíbrio de coluna insatisfatório	3. Permita mais tempo para o equilíbrio da coluna entre análises

K. Mudanças repentinas no tempo de retenção

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Mudança no fluxo	1. Redefina o fluxo
2. Bolha de ar na bomba	2. Elimine o ar da bomba
3. Fase Móvel inadequada	3. a. Substitua por uma Fase Móvel adequada b. Defina a mistura de Fase Móvel adequada no controlador

IV. PROBLEMAS COM O CROMATOGRAMA (CONTINUAÇÃO)

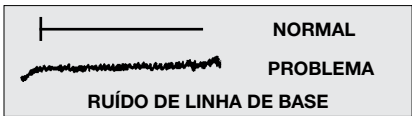
L. Desvio da linha de base

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Oscilação da temperatura da coluna. (Mesmo pequenas mudanças causam a elevação e a queda cíclica da linha de base. Geralmente isso afeta os detectores do índice de refração de condutividade, ou detectores de UV de alta sensibilidade ou em modo fotométrico direto).	1. Controle a temperatura da coluna e da Fase Móvel, utilizando um trocador de calor antes do detector 
2. Fase Móvel não Homogênea. (Desvio geralmente para maior absorbância, em vez de padrão cíclico de oscilação de temperatura).	2. Utilize solventes de grau HPLC, sais de alta pureza e aditivos. Desgaseifique a Fase móvel antes do uso, purgar com Hélio durante o uso
3. Acúmulo de contaminante ou ar na célula do detector	3. Lave a célula com Metanol ou outro solvente forte. Se necessário, limpe a célula com 1N HNO ₃ (nunca com HCl.)
4. Linha da saída conectada após o detector. (A alta pressão racha a janela da célula, produzindo ruído na base da linha.)	4. Desconecte ou substitua a linha. Consulte o manual do detector para substituir a janela
5. Problema de mistura de Fase Móvel ou mudança na vazão	5. Corrija a composição/vazão. Para evitar, monitore regularmente a composição e a vazão
6. Equilíbrio lento da coluna, especialmente ao mudar a Fase Móvel	6. Lave com solvente intermediário forte, corra 10-20 volumes de coluna da nova Fase Móvel antes da análise
7. Fase Móvel contaminada, deteriorada ou preparada com materiais de baixa qualidade	7. Verifique a composição da Fase Móvel. Utilize produtos químicos e solventes para HPLC de alta qualidade
8. Os materiais que são retidos na amostra (k elevado) podem eluir como picos muito amplos e parecer uma linha de base ascendente. (Análises de gradiente podem agravar o problema).	8. Utilize uma Pré Coluna. Se necessário, lave a coluna com solvente forte entre as injeções ou periodicamente durante a análise
9. Fase Móvel reciclada, mas detector não ajustado	9. Redefina a linha de base. Utilize uma nova Fase Móvel quando a faixa dinâmica do detector for excedida
10. Detector (UV) não ajustado na absorbância máxima, mas na inclinação da curva	10. Altere o comprimento de onda para o máximo de absorbância UV


continue na próxima página

IV. PROBLEMAS COM O CROMATOGRAMA (CONTINUAÇÃO)

M. Ruído na linha de base (regular)

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Ar na Fase Móvel, célula do detector ou bomba	1. Desgaseifique a Fase Móvel. Lave o sistema para remover o ar da célula do detector ou da bomba
2. Vazamento	2. Consulte a seção III. Verifique se há conexões soltas no sistema. Verifique se há vazamentos, acúmulo de sal, ruídos incomuns na bomba. Troque os selos da bomba, se for necessário
	
3. Mistura de Fase Móvel incompleta	3. Misture a Fase Móvel manualmente ou utilize um solvente menos viscoso
4. Efeito de temperatura (coluna em alta temperatura, detector não aquecido)	4. Diminua a diferença de temperatura ou adicione um trocador de calor
5. Outros equipamentos eletrônicos na mesma linha	5. Isole o HPLC, detector ou registrador para determinar se a origem do problema é externa. Corrija conforme necessário
6. Pulsações na bomba	6. Coloque amortecedor de pulso no sistema

N. Ruído na linha de base (irregular)

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Vazamento	1. Consulte a seção III. Verifique se há conexões frouxas. Verifique se há vazamentos, acúmulo de sal ou ruídos incomuns na bomba. Troque os selos, se for necessário. Verifique se há vazamento na célula do detector
	
2. Fase Móvel contaminada, deteriorada ou preparada com materiais de baixa qualidade	2. Verifique a composição da Fase Móvel
3. Solventes de Fase Móvel imiscíveis	3. Selecione e use somente solventes miscíveis
4. Componentes eletrônicos do detector/registrador	4. Isole o detector e o registrador eletronicamente. Consulte o manual de instruções para corrigir os problemas
5. Ar preso no sistema	5. Lave o sistema com solvente forte
6. Bolhas de ar no detector	6. Plugue o detector. Instale o dispositivo de pressão após o detector

continue na próxima página

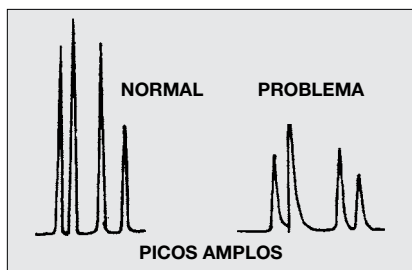
IV. PROBLEMAS COM O CROMATOGRAMA (CONTINUAÇÃO)

N. Ruído na linha de base (irregular) continuação

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
7. Célula do detector contaminada (mesmo pequenas quantidades de contaminantes podem causar ruído)	7. Limpe a célula com 1N HNO ₃ (nunca com HCl)
8. A lâmpada do detector está fraca	8. Substitua a lâmpada
9. Coluna vazando sílica ou acumulando material	9. Substitua a coluna
10. Misturador de Fase Móvel inadequado ou apresentando mau funcionamento	10. Repare ou substitua o misturador ou misture fora da linha se for Isocrático

O. Picos largos

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. A composição da Fase Móvel alterada	1. Prepare uma nova Fase Móvel
2. Vazão de Fase Móvel muito baixa	2. Ajuste o fluxo
3. Vazamentos (especialmente entre a coluna e o detector)	3. Consulte a seção III. Verifique se há conexões frouxas. Verifique se há vazamentos, acúmulo de sal ou ruídos incomuns na bomba. Troque as vedações, se for necessário
4. Configurações do detector estão incorretas	4. Ajuste as configurações
5. Efeitos extra coluna: a. Coluna sobrecarregada b. Tempo de resposta do detector ou volume da célula muito grande c. A tubulação entre a coluna e o detector é muito longa ou o DI é muito grande d. No registrador tempo de resposta alto	5. a. Injete um volume menor (ex.: 10 µL vs. 100 µL) ou diluições 1:10 e 1:100 de amostra b. Reduza o tempo de resposta ou use células menores c. Utilize uma peça de tubulação de 0,005 a 0,007 polegadas de diâmetro interno d. Reduza o tempo de resposta



continue na próxima página

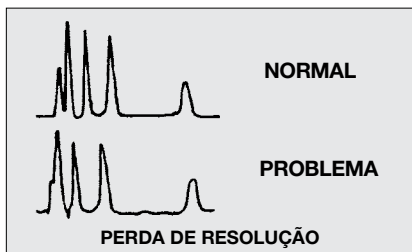
IV. PROBLEMAS COM O CROMATOGRAMA (CONTINUAÇÃO)

O. Picos largos (continuação)

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
6. Concentração muito baixa do tampão	6. Aumente a concentração
7. Proteção da coluna contaminada/desgastada	7. Substitua a pré coluna
8. Coluna contaminada/desgastada. Número baixo de pratos	8. Substitua a coluna por uma nova do mesmo tipo
9. Espaço vazio na entrada da coluna	9. Abra a extremidade da entrada* e preencha o espaço vazio ou substitua a coluna
10. O pico representa dois ou mais compostos mal resolvidos	10. Altere o tipo de coluna para melhorar a separação
11. Temperatura da coluna muito baixa	11. Aumente a temperatura. Não exceda 60°C, a menos que as temperaturas maiores sejam aceitáveis pelo fabricante da coluna
12. Constante de tempo do detector muito grande	12. Utilize uma constante de tempo menor

P. Perda de resolução

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Fase Móvel contaminada/ deteriorada (fazendo com que o tempo de retenção altere)	1. Prepare uma nova Fase Móvel
2. Proteção da coluna ou coluna analítica obstruída	2. Remova a proteção da coluna e faça a análise. Substitua a proteção, se for necessário. Se a coluna analítica estiver obstruída, inverta-a e lave. Se o problema persistir, a coluna pode estar contaminada com contaminantes fortemente retidos. Utilize o procedimento de restauração apropriado. Se o problema persistir. Trocar o frit* ou substitua a coluna.



* Verifique primeiro a garantia do fabricante para a coluna. A remoção das conexões das extremidades pode anular a garantia da coluna.

IV. PROBLEMAS COM O CROMATOGRAMA (CONTINUAÇÃO)

Q. Todos os picos muito pequenos

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Atenuação de detector muito alta	1. Reduza a atenuação
2. Constante de tempo do detector muito alta.	2. Utilize uma constante de tempo menor
3. Volume da injeção muito pequeno	3. a. Aumente a concentração de amostra b. Aumente o volume de injeção, se o tamanho da coluna permitir
4. Conexão incorreta do gravador	4. Utilize uma conexão correta

R. Todos os picos muito grandes

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Atenuação de detector muito baixa	1. Aumente a atenuação
2. Volume da injeção muito grande	2. a. Reduza a concentração de amostra b. Reduza o volume da injeção, use um loop de amostra menor ou use um preenchimento parcial do loop
3. Conexão incorreta no registrador	3. Utilize uma conexão correta

V. PROBLEMAS COM O INJETOR

Esses problemas geralmente são detectados enquanto você está usando a válvula de injeção. As válvulas de injeção com vazamento são explicadas na seção III (Vazamentos).

A. Injetor manual, difícil de girar

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Vedação do rotor danificada	1. Remonte ou substitua a válvula
2. Rotor muito apertado	2. Ajuste a tensão do rotor

B. Injetor manual, difícil de carregar

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Válvula desalinhada	1. Ajuste o alinhamento
2. Loop bloqueado	2. Substitua o loop
3. Seringa suja	3. Limpe ou substitua a seringa
4. Linhas bloqueadas	4. Limpe ou substitua as linhas

C. Autoinjetor, não vira

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Sem pressão de ar (ou energia)	1. Forneça a pressão adequada (energia)
2. Rotor muito apertado	2. Ajuste
3. Válvula desalinhada	3. Ajuste o alinhamento
4. Linhas bloqueadas	4. Limpe ou substitua as linhas

D. Autoinjetor, outros problemas

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Obstrução	1. Limpe ou substitua a parte obstruída
2. Mecanismo emperrado	2. Consulte o manual de serviço
3. Controlador com defeito	3. Repare ou substitua o controlador

VI. PROBLEMAS DETECTADOS POR MEIO DA VISÃO, OLFATO OU AUDIÇÃO

Você precisa usar todos os seus sentidos para identificar problemas dos sistemas de HPLC. Você deve ter o hábito de dedicar alguns minutos todos os dias para usar todos os seus sentidos (exceto o paladar!) no HPLC para que você possa “sentir” como o HPLC funciona normalmente. Isso ajudará você a localizar rapidamente os problemas. Por exemplo, muitas vezes você pode sentir o cheiro de um vazamento antes de observá-lo. A maioria dos problemas são identificados pela visão; a maioria deles está incluída na seção anterior.

A. Cheiro de solvente

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Vazamento	1. Consulte a seção III
2. Derramamento	2. a. Verifique se há um recipiente de resíduos transbordando b. Localize o derramamento e limpe

B. Cheiro “quente”

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Superaquecimento de Módulo	1. a. Verifique se há ventilação adequada b. Verifique o ajuste da temperatura c. Desligue o módulo (consulte o manual de serviço)

C. Leituras anormais do medidor

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Pressão anormal	1. Consulte a seção II
2. Problema no forno da coluna	2. a. Verifique as configurações b. Consulte o manual de serviço
3. Lâmpada do detector falhando	3. Substitua a lâmpada

D. Lâmpadas de advertência

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Limite de pressão excedido	1. a. Verifique se há obstrução b. Verifique a configuração do limite, ajuste
2. Outras lâmpadas de advertência	2. Consulte o manual de serviço

VI. PROBLEMAS DETECTADOS POR MEIO DA VISÃO, OLFATO OU AUDIÇÃO (CONTINUAÇÃO)

E. Sons de alerta

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Vazamento/derramamento de solvente	1. Localize e corrija o vazamento
2. Outros sons de alerta	2. Consulte o manual de serviço

F. Chiados e ruídos

POSSÍVEL CAUSA	SOLUÇÃO
1. Falha do rolamento	1. Consulte o manual de serviço
2. Má lubrificação	2. Lubrifique conforme necessário
3. Desgaste mecânico	3. Consulte o manual de serviço

VII. PRINCIPAIS ÁREAS PROBLEMÁTICAS E MANUTENÇÃO PREVENTIVA

A tabela abaixo lista os problemas mais comuns que ocorrem com cada módulo de HPLC. Na coluna da direita estão listadas as práticas de manutenção preventiva que podem reduzir a taxa de falhas. Os números entre parênteses são os intervalos sugeridos entre manutenções. Os manuais do operador e de serviço do sistema de HPLC podem ter sugestões adicionais de manutenção preventiva para seu modelo de HPLC.

Reservatório

PROBLEMA	MANUTENÇÃO PREVENTIVA
1. Filtro de entrada bloqueado	1. a. Substitua (3-6 meses) b. Filtre a Fase Móvel, filtro de 0,5 µm
2. Bolhas de gás	2. Desgaseifique a Fase Móvel

Bomba

PROBLEMA	MANUTENÇÃO PREVENTIVA
1. Bolhas de ar	1. Desgaseifique a Fase Móvel
2. Falha no selo da bomba	2. Substitua (3 meses)
3. Falha na válvula de retenção	3. Filtre a Fase Móvel, utilize o filtro de linha na entrada. Mantenha peças sobressalentes

Injetor

PROBLEMA	MANUTENÇÃO PREVENTIVA
1. Desgaste na vedação do rotor	1. a. Não aperte demais b. Filtre as amostras

Coluna

PROBLEMA	MANUTENÇÃO PREVENTIVA
1. Filtro bloqueado	1. a. Filtre a Fase Móvel b. Filtre as amostras c. Utilize filtro de linha e/ou proteção de coluna
2. Vazio na cabeça da coluna	2. a. Evite o pH > 8 na Fase Móvel (na maioria das colunas à base de sílica) b. Utilize a pré coluna c. Utilize a pré coluna (saturador da coluna)

VII. PRINCIPAIS ÁREAS PROBLEMÁTICAS E MANUTENÇÃO PREVENTIVA (CONTINUAÇÃO)

Detector

PROBLEMA	MANUTENÇÃO PREVENTIVA
1. Falha da lâmpada; redução da resposta do detector; aumento do ruído do detector	1. Substitua (6 meses) ou mantenha a resposta
2. Bolhas na célula	2. a. Mantenha a célula limpa b. Utilize restritor após a célula c. Desgaseifique a Fase móvel

Geral

PROBLEMA	MANUTENÇÃO PREVENTIVA
1. Danos corrosivos/abrasivos	1. Limpe o tampão do HPLC e mantenha limpo quando não estiver em uso

AVISO: OS CONTAMINANTES PODEM CAUSAR



- Alta pressão de trabalho
- Divisão de Picos
- Picos largos
- Ruído na linha de base
- Desvio na linha de base
- Perda de resolução
- Danos irreversíveis na coluna
- Danos no sistema

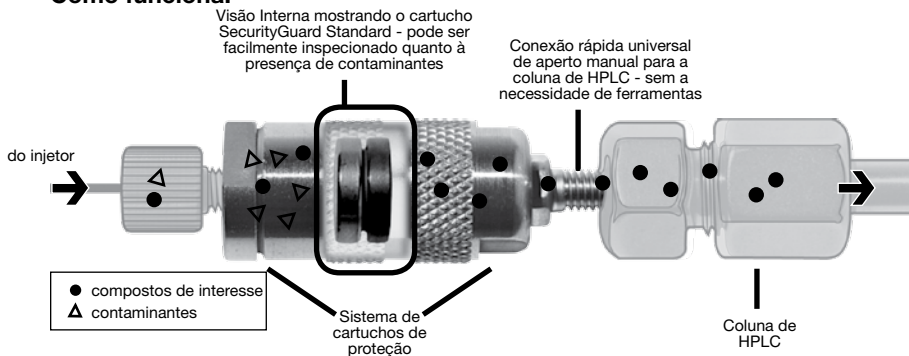
Proteja sua coluna e os seus resultados de HPLC



Maiores informações podem ser encontradas em www.phenomenex.com/securityguard ou www.allcrom.com.br

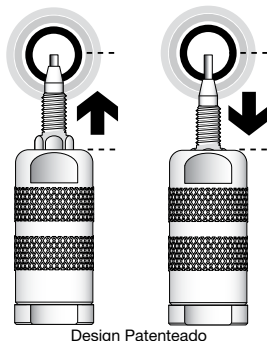
Um sistema universal de cartucho de proteção HPLC projetado para proteger efetivamente suas valiosas colunas analíticas e os resultados do efeito prejudicial dos contaminantes. Capture os contaminantes sem alterar sua cromatografia.

Como funciona:



Encaixe universal:

Com o design patenteado, o SecurityGuard Standard pode ajustar-se para caber em praticamente qualquer conexão de extremidade fêmea/invertida.



SecurityGuard é uma marca comercial da Phenomenex.

O SecurityGuard é patenteado pela Phenomenex. Patente EUA N° 6,162,362.

ATENÇÃO: essa patente se aplica somente ao suporte do cartucho de proteção com dimensões analíticas e não se aplica aos suportes SemiPrep, PREP ou ULTRA ou a quaisquer cartuchos.

FILTROS DE SERINGA PHENEX™

Para purificação das amostras e solventes antes da cromatografia

- Menos tempo de inatividade do sistema
- Resultados mais consistentes e reprodutíveis
- Maior vida útil da coluna



Phenex Oferece:

- Baixa adsorção de Proteínas
- Ampla compatibilidade Química
- Excelente fluxo
- Alto rendimento
- Baixo volume de retenção
- Qualidade certificada
- 100 % testada
- Uso bidirecional

BUSCA DE FILTRO DE SERINGA

Ferramenta com 3 passos desenvolvida para ajudar você a encontrar o filtro de Seringa apropriado que remove as partículas de sua matriz de Amostra.
www.phenomenex.com/SFfinder

TIPOS DE MEMBRANA

RC (Celulose regenerada)	NY (Nylon)
PTFE, Teflon® (Politetrafluoroetileno)	CA (Acetato de celulose)
PES (Polietersulfona)	GF (Fibra de vidro)
PVDF (Fluoreto de polivinilideno)	



Os filtros para seringa abertos não são estéreis.
A carcaça é feita de polipropileno de grau médico (PP).

Dica: Experimente um pacote de amostras!

A melhor maneira de determinar se um filtro Phenex específico é adequado para sua aplicação é solicitar uma amostra.

Solicite a sua hoje mesmo por telefone ou visite www.allcrom.com.br

Entre em contato com a Allcrom, distribuidor exclusivo no Brasil da Phenomenex, para obter informações sobre disponibilidade ou assistência. Compras em grandes quantidades possuem maiores descontos.

Phenex é uma marca comercial da Phenomenex.

Teflon é uma marca registrada da E.I. du Pont de Nemours and Co.

Esta publicação é distribuída gratuitamente. Cópias adicionais estão disponíveis em:

Alemanha

t: +49 (0)6021-58830-0
f: +49 (0)6021-58830-11
anfrage@phenomenex.com

Austrália

t: +61 (0)2-9428-6444
f: +61 (0)2-9428-6445
auinfo@phenomenex.com

Áustria

t: +43 (0)1-319-1301
f: +43 (0)1-319-1300
anfrage@phenomenex.com

Bélgica

t: +32 (0)2 503 4015 (francês)
f: +32 (0)2 511 8666 (holandês)
f: +31 (0)30-2383749
beinfo@phenomenex.com

Canadá

t: +1 (800) 543-3681
f: +1 (310) 328-7768
info@phenomenex.com

China

t: +86 400-606-8099
f: +86 (0)22 2532-1033
phen@agela.com

Dinamarca

t: +45 4824 8048
f: +45 4810 6265
nordicinfo@phenomenex.com

Espanha

t: +34 91-413-8613
f: +34 91-413-2290
espinfo@phenomenex.com

Estados Unidos

t: +1 (310) 212-0555
f: +1 (310) 328-7768
info@phenomenex.com

Finlândia

t: +358 (0)9 4789 0063
f: +45 4810 6265
nordicinfo@phenomenex.com

França

t: +33 (0)1 30 09 21 10
f: +33 (0)1 30 09 21 11
franceinfo@phenomenex.com

Holanda

t: +31 (0)30-2418700
f: +31 (0)30-2383749
nlinfo@phenomenex.com

Índia

t: +91 (0)40-3012 2400
f: +91 (0)40-3012 2411
indiainfo@phenomenex.com

Irlanda

t: +353 (0)1 247 5405
f: +44 1625-501796
eirinfo@phenomenex.com

Itália

t: +39 051 6327511
f: +39 051 6327555
italiainfo@phenomenex.com

Luxemburgo

t: +31 (0)30-2418700
f: +31 (0)30-2383749
nlinfo@phenomenex.com

México

t: 01-800-844-5226
f: 001-310-328-7768
tecnicomx@phenomenex.com

Noruega

t: +47 810 02 005
f: +45 4810 6265
nordicinfo@phenomenex.com

Nova Zelândia

t: +64 (0)9-4780951
f: +1 (310) 328-7768
nzinfo@phenomenex.com

Porto Rico

t: +1 (800) 541-HPLC
f: +1 (310) 328-7768
info@phenomenex.com

Reino Unido

t: +44 (0)1625-501367
f: +44 (0)1625-501796
ukinfo@phenomenex.com

Suécia

t: +46 (0)8 611 6950
f: +45 4810 6265
nordicinfo@phenomenex.com

Para demais países: Matriz Phenomenex E.U.A.

t: +1 (310) 212-0555
f: +1 (310) 328-7768
info@phenomenex.com



www.phenomenex.com

Os produtos Phenomenex estão disponíveis em todo o mundo.
A Allicrom é o Distribuidor Exclusivo autorizado no Brasil.