



**ALLCROM**  
A Ciência em Benefício de Todos



# Comparação entre uma Conexão Convencional de Tubulação de Aço Inoxidável de Baixo Volume e a Conexão SecurityLINK™ de Aço Inoxidável com Zero Volume Morto

Genevieve Hodson e Jason Anspach  
Phenomenex, 411 Madrid Avenue, Torrance, CA 90501 EU

## Contexto

Ao utilizar um sistema UHPLC, colunas de pequeno diâmetro interno (ID) ou colunas com partículas sub-2 µm, o volume morto total do sistema torna-se uma variável crítica que deve ser minimizada. Uma conexão inadequada pode contribuir significativamente para o aumento do volume morto do sistema, resultando em alargamento de picos, pior formato de pico e redução da eficiência cromatográfica geral.

## Introdução

A minimização do volume morto (dead volume) em um sistema UHPLC é um aspecto fundamental para garantir o desempenho cromatográfico. O aumento do volume morto promove maior difusão dos analitos, resultando em alargamento dos picos, perda de eficiência e possíveis falhas durante a transferência de métodos ou nos testes de adequação do sistema. Em sistemas UHPLC, até mesmo pequenos volumes mortos adicionais, decorrentes de conexões inadequadas, podem impactar significativamente o desempenho cromatográfico, uma vez que esses sistemas possuem um volume interno total reduzido. Tanto em UHPLC quanto em HPLC, o aumento do volume morto também pode comprometer as separações quando são utilizadas colunas de menor diâmetro interno ou colunas com partículas core-shell ou sub-2 µm. Uma conexão incorreta ou de baixa qualidade pode ser definida como qualquer conexão em que a extremidade do tubo capilar não esteja perfeitamente alinhada e em contato com a entrada da coluna, gerando um espaço vazio que contribui para o volume morto do sistema. Embora muitos cromatografistas considerem a conexão da coluna como o principal ponto suscetível a esse problema, conexões inadequadas podem ocorrer em diversos locais do sistema, incluindo as conexões entre o amostrador automático (autosampler) e o compartimento da coluna.

Existem duas principais abordagens para obter uma conexão de Zero Volume Morto. A primeira consiste em ajustar permanentemente o tubo de aço inoxidável na profundidade exata da entrada da coluna. Apesar de eficaz, essa solução restringe o uso da tubulação às colunas de um fabricante específico e depende da precisão das medições realizadas pelo operador antes da crimpagem. Caso a profundidade seja determinada incorretamente, o resultado será uma conexão permanentemente inadequada. A segunda abordagem utiliza conexões de Zero Volume Morto que não requerem crimpagem permanente. Esse tipo de conexão permite que a extremidade da tubulação se ajuste automaticamente à entrada da coluna, proporcionando um encaixe perfeitamente nivelado, independentemente da profundidade da porta de entrada da coluna.

Esta nota técnica avalia os efeitos de conexões convencionais e de conexões de Zero Volume Morto utilizando uma coluna com partículas sub-2 µm em um sistema UHPLC.



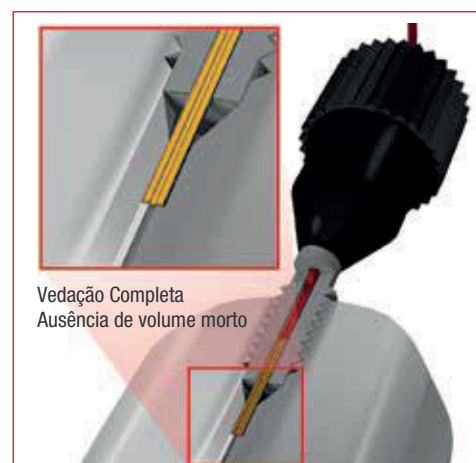
Genevieve Hodson Especialista Técnica

*Genevieve gosta de jogar uma partida de Skee-Ball, observar tempestades elétricas ao longe, aproveitar os tranquilos verões na região montanhosa do Texas e saborear uma boa xícara de café acompanhada de um livro igualmente agradável.*

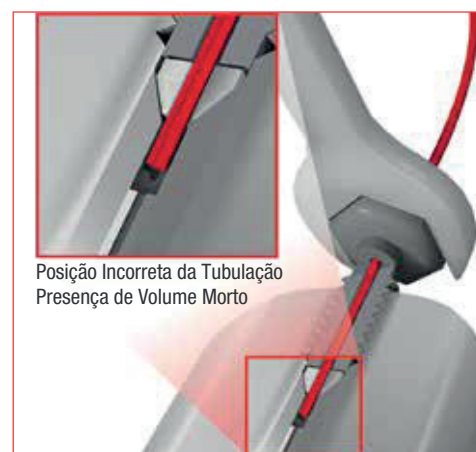
## Condições Experimentais

Foram avaliados dois tipos de conexões em um sistema Agilent® 1290 Infinity II. As tubulações foram conectadas diretamente do amostrador automático (autosampler) a uma coluna Luna® Omega 1,6 µm, 50 × 2,1 mm. A mesma amostra foi injetada utilizando as mesmas condições cromatográficas, sendo que a única variável alterada foi o tipo de conexão na entrada da coluna. A conexão entre a saída da coluna e o detector permaneceu inalterada durante todo o experimento. A conexão considerada inadequada foi obtida pela fixação de uma anilha em uma tubulação de aço inoxidável de 1/16" de diâmetro externo, posicionada de forma que sua extremidade não atingisse a profundidade necessária para o encaixe correto na coluna Phenomenex, resultando na formação de um espaço morto na conexão. A segunda configuração utilizou uma conexão SecurityLINK™ em aço inoxidável, com tubulação de 100 µm de diâmetro interno × 250 mm de comprimento.

**Figura 1.**  
Conexão com Encaixe Perfeitamente Alinhado

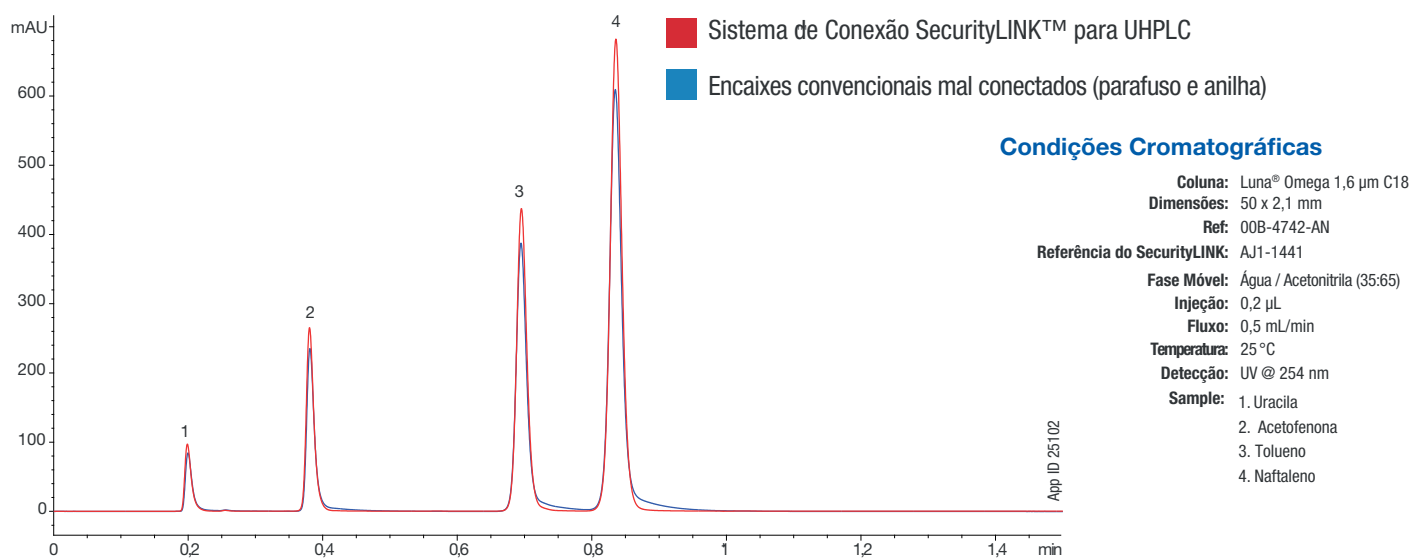


**Figura 2.**  
Conexão incorreta/Mal Executada



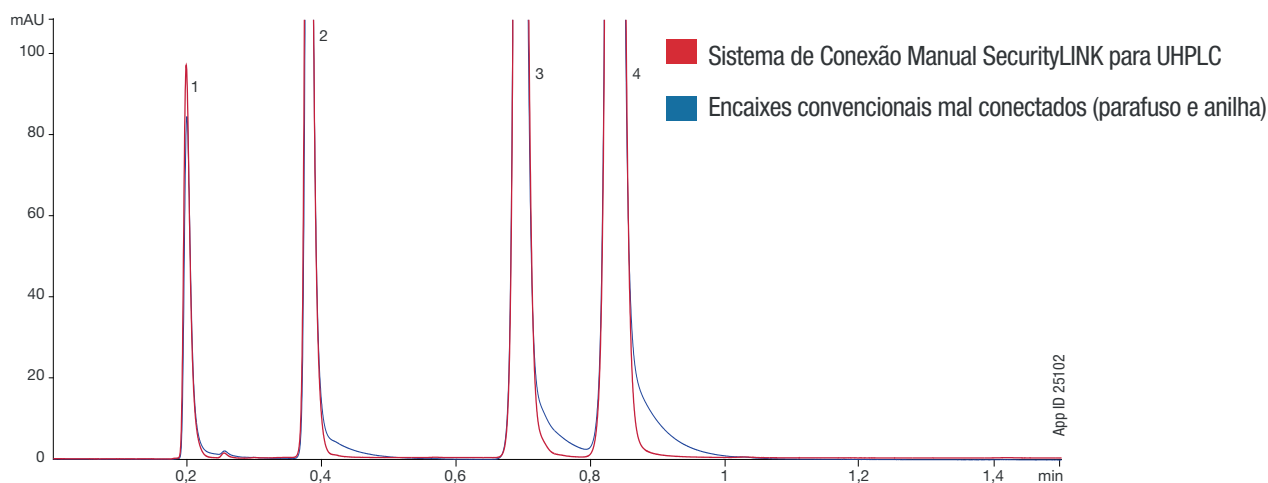
**Figura 3.**

Sobreposição dos cromatogramas da conexão inadequada e da conexão adequada



**Figura 4.**

Ampliação da sobreposição dos cromatogramas da conexão inadequada e da conexão adequada



**Tabela 1.**

Assimetria

| Pico | Analito     | Conexão SecurityLINK | Conexão Ruim |
|------|-------------|----------------------|--------------|
| 1    | Uracila     | 1,72                 | 2,00         |
| 2    | Acetofenona | 1,39                 | 1,72         |
| 3    | Tolueno     | 1,22                 | 1,41         |
| 4    | Naftaleno   | 1,11                 | 1,33         |



**ALLCROM**  
A Ciência em Benefício de Todos



## Resultados e Discussão

A primeira conexão, utilizando tubulação convencional de aço inoxidável e a fixação de uma anilha a uma distância predeterminada, apresentou um valor de assimetria de 1,33 para o naftaleno. Observa-se que, com exceção do pico não retido de uracila, os picos dos analitos retidos exibiram cauda perceptível quando essa conexão foi utilizada. A conexão SecurityLINK™ apresentou um valor de assimetria de 1,11 para o naftaleno, representando uma melhora significativa em relação ao valor obtido anteriormente. Também foi observada uma melhora evidente em todos os picos do cromatograma, tanto em termos de largura quanto de cauda. Todos os dados foram obtidos em triplicata para confirmar que o formato dos picos e a cauda eram decorrentes da conexão inadequada, e não de uma coluna insuficientemente equilibrada.

Vale destacar que a conexão convencional exigiu o uso de duas chaves para sua instalação. Além disso, foi necessário um tempo adicional para garantir que não houvesse vazamentos no ponto de conexão. A conexão SecurityLINK™ utiliza um mecanismo de feedback tátil que emite um "clique" quando a conexão é concluída e o torque correto é aplicado, assegurando uma vedação adequada e evitando vazamentos. Isso permitiu que a segunda conexão fosse realizada de forma rápida e sem a necessidade de ferramentas adicionais.

## Conclusão

Os resultados demonstram a importância da conexão da coluna para a obtenção de um bom formato de pico. A conexão SecurityLINK™, apresentada nesta nota técnica, proporcionou uma conexão com Zero Volume Morto, minimizando a difusão potencial no sistema e resultando em picos com excelente formato e alta reprodutibilidade.

## Informações para cotação do SecurityLINK™

### PEEKsil™

#### Parafusos de ambos os lados em PEEKsil™

| Referência | ID (μm) | Comprimento (mm) |
|------------|---------|------------------|
| AJ1-2111   | 25      | 100              |
| AJ1-2121   | 25      | 150              |
| AJ1-2141   | 25      | 250              |
| AJ1-2151   | 25      | 300              |
| AJ1-2171   | 25      | 500              |
| AJ1-2191   | 25      | 750              |
| AJ1-21A1   | 25      | 1000             |
| AJ1-2211   | 50      | 100              |
| AJ1-2221   | 50      | 150              |
| AJ1-2231   | 50      | 200              |
| AJ1-2241   | 50      | 250              |
| AJ1-2251   | 50      | 300              |
| AJ1-2271   | 50      | 500              |
| AJ1-2291   | 50      | 750              |
| AJ1-22A1   | 50      | 1000             |
| AJ1-2321   | 75      | 150              |
| AJ1-2341   | 75      | 250              |
| AJ1-2371   | 75      | 500              |
| AJ1-23A1   | 75      | 1000             |
| AJ1-2411   | 100     | 100              |
| AJ1-2421   | 100     | 150              |
| AJ1-2441   | 100     | 250              |
| AJ1-2471   | 100     | 500              |
| AJ1-24A1   | 100     | 1000             |

### Aço inoxidável

#### Parafusos de ambos os lados em Aço inoxidável

| Referência | ID (μm) | Comprimento (mm) |
|------------|---------|------------------|
| AJ1-1421   | 100     | 150              |
| AJ1-1441   | 100     | 250              |
| AJ1-1461   | 100     | 350              |
| AJ1-1471   | 100     | 500              |
| AJ1-1481   | 100     | 600              |
| AJ1-1521   | 125     | 150              |
| AJ1-1541   | 125     | 250              |
| AJ1-1561   | 125     | 350              |
| AJ1-1571   | 125     | 500              |
| AJ1-1581   | 125     | 600              |
| AJ1-1621   | 254     | 150              |
| AJ1-1641   | 254     | 250              |
| AJ1-1661   | 254     | 350              |
| AJ1-1671   | 254     | 500              |
| AJ1-1681   | 254     | 600              |

### PEEKsil

#### Parafuso de único lado PEEKsil

| Referência | ID (μm) | Comprimento (mm) |
|------------|---------|------------------|
| AJ1-2224   | 50      | 150              |
| AJ1-2274   | 50      | 500              |
| AJ1-2294   | 50      | 750              |
| AJ1-22A4   | 50      | 1000             |

### PEEK Revestido com Aço Inoxidável

#### Parafusos de ambos os lados em PEEK revestido com Aço inoxidável

| Referência | ID (μm) | Comprimento (mm) |
|------------|---------|------------------|
| AJ1-3121   | 25      | 150              |
| AJ1-3141   | 25      | 250              |
| AJ1-3161   | 25      | 350              |
| AJ1-3171   | 25      | 500              |
| AJ1-3181   | 25      | 600              |
| AJ1-3221   | 50      | 150              |
| AJ1-3241   | 50      | 250              |
| AJ1-3261   | 50      | 350              |
| AJ1-3271   | 50      | 500              |
| AJ1-3281   | 50      | 600              |
| AJ1-3321   | 75      | 150              |
| AJ1-3341   | 75      | 250              |
| AJ1-3361   | 75      | 350              |
| AJ1-3371   | 75      | 500              |
| AJ1-3381   | 75      | 600              |
| AJ1-3421   | 100     | 150              |
| AJ1-3441   | 100     | 250              |
| AJ1-3461   | 100     | 350              |
| AJ1-3471   | 100     | 500              |
| AJ1-3481   | 100     | 600              |

