

Waters™

Alliance iS HPLC Systems

Guía del usuario

Contenido

1 Información general	7
1.1 Información sobre los derechos de autor (copyright).....	7
1.2 Acerca de la documentación de los Alliance iS Systems.....	7
1.2.1 Buscar información.....	7
1.3 Marcas comerciales.....	8
1.4 Consideraciones de seguridad.....	8
1.4.1 Aviso de seguridad sobre los símbolos de peligro.....	8
1.4.2 Aviso de seguridad sobre la corriente eléctrica.....	9
1.4.3 Aviso sobre el uso indebido del equipo.....	9
1.4.4 Consejos de seguridad.....	9
1.5 Utilizar el dispositivo.....	9
1.5.1 Símbolos aplicables.....	9
1.5.2 Destinatarios y objeto.....	11
1.5.3 Uso previsto del sistema.....	11
1.5.4 Información sobre el Alliance iS Bio HPLC System.....	11
1.5.5 Calibración.....	12
1.5.6 Control de calidad.....	12
1.6 Consideraciones sobre la compatibilidad electromagnética (CEM).....	12
1.6.1 Aviso de la FCC sobre emisiones de radiación.....	12
1.6.2 Aspectos de las comunicaciones de campo cercano (NFC)/identificación por radiofrecuencia (RFID).....	12
1.6.3 Clasificación ISM: ISM grupo 1, clase A.....	13
1.6.4 Aviso canadiense sobre la gestión de emisiones del espectro radioeléctrico.....	13
1.6.5 Otras consideraciones de CEM específicas del país.....	13
1.7 Recursos adicionales.....	14
1.8 Contacto con Waters.....	15
1.9 Comentarios del cliente.....	16
2 Consejos de seguridad	17
2.1 Símbolos de advertencia.....	17
2.2 Avisos.....	18
2.3 Símbolo de prohibición de uso de botellas.....	18

2.4 Protección necesaria.....	19
2.5 Advertencias que se aplican a todos los instrumentos y dispositivos de Waters.....	19
2.6 Símbolos eléctricos.....	23
2.7 Símbolos de manejo.....	24
3 Descripción general del sistema.....	25
3.1 Características del sistema.....	25
3.1.1 Inyector de flujo a través de aguja.....	26
3.2 Componentes del sistema.....	26
3.2.1 Características del detector TUV.....	28
3.2.2 Características del detector PDA.....	35
3.2.3 Características del sistema de gestión de muestras.....	46
3.2.4 Características de la bomba.....	52
3.2.5 Características del termostatizador de columnas.....	52
3.2.6 Funciones de la pantalla táctil.....	54
3.2.7 Funciones de Empower.....	60
4 Preparación del sistema.....	61
4.1 Encender el sistema.....	61
4.2 Apagar el sistema.....	62
4.3 Conector de señales de entrada y salida (I/O).....	62
4.4 Instalar la columna.....	64
4.5 Abrir la consola desde el software Empower.....	65
4.6 Cebiar el sistema.....	66
4.6.1 Cebiar el sistema de lavado de las juntas.....	67
4.6.2 Cebiar la bomba.....	69
4.6.3 Cebiar el sistema de gestión de muestras.....	70
4.7 Elegir los loops de extensión.....	71
4.8 Instalar y sustituir los loops de extensión.....	72
4.8.1 Instalar un loop de extensión en un sistema de válvula única.....	72
4.9 Modificar los parámetros de configuración del loop de extensión y la aguja.....	74
4.10 Elegir el valor de ajuste de posición de la aguja.....	75

4.11 Crear un nuevo tipo de placa.....	76
4.11.1 Crear un nuevo tipo de placa usando un tipo de placa existente como plantilla.....	76
4.12 Configuración avanzada.....	76
4.12.1 Elegir una velocidad de aspiración para la jeringa de muestra.....	76
4.12.2 Recuperar la máxima cantidad de muestra de los viales.....	76
4.13 Separar los residuos de condensación de los residuos de LC.....	77
5 Gestión de métodos.....	83
5.1 Transferir métodos.....	83
5.2 Medir el volumen de permanencia.....	83
6 Análisis de rutina diaria.....	84
6.1 Iniciar y cerrar sesión en el Alliance iS HPLC System.....	84
6.2 Puesta en marcha del hardware y el software.....	84
6.3 Configurar eluyentes.....	85
6.4 Instalar o sustituir la columna.....	87
6.5 Equilibrar el Alliance iS HPLC System.....	87
6.6 Preparar y cargar muestras.....	88
6.7 Verificar el estado y las condiciones del sistema.....	91
6.7.1 Comprobaciones de adquisición de datos.....	91
6.7.2 Monitorizar desde la pantalla táctil.....	92
6.7.3 Monitorizar desde el panel de control de Empower.....	92
6.7.4 Monitorizar desde la consola del Alliance iS HPLC System.....	93
6.7.5 Adquirir datos.....	93
6.8 Revisar los resultados.....	93
6.9 Imprimir el informe.....	94
6.10 Preparar el apagado del Alliance iS HPLC System.....	94
6.10.1 Apagado durante menos de 24 horas.....	94
6.10.2 Apagado durante más de 24 horas.....	95
7 Optimización del funcionamiento.....	96

7.1 Directrices generales.....	96
7.1.1 Arrastre.....	97
7.2 Evitar fugas.....	98
7.2.1 Recomendaciones para la instalación de los conectores.....	99
7.3 Configurar un método.....	107
7.4 Consideraciones acerca de la cámara de muestras.....	107
7.5 Recomendaciones sobre viales y placas.....	107
7.6 Duración del ciclo entre inyecciones.....	108
7.7 Maximizar la vida útil de la columna de LC.....	108
8 Mantenimiento.....	109
8.1 Consultar la información sobre el Alliance iS HPLC System.....	109
8.2 Seguridad y manejo.....	109
8.3 Configurar advertencias de mantenimiento.....	109
8.4 Realizar pedidos de piezas de repuesto.....	110
8.5 Limpiar el exterior del equipo.....	110
8.6 Sustituir los filtros de las botellas de eluyente.....	111
8.7 Procedimientos de mantenimiento de la bomba.....	112
8.7.1 Programa de mantenimiento de la bomba.....	112
8.7.2 Realizar el mantenimiento del filtro de aire del compartimento de la bomba.....	112
8.7.3 Sustituir el sensor de fugas de la bomba.....	113
8.7.4 Sustituir el mezclador de la bomba.....	116
8.7.5 Sustituir el cartucho de filtro en línea en la válvula de retención primaria.....	118
8.7.6 Sustituir la válvula de retención del acumulador.....	124
8.8 Procedimientos de mantenimiento del sistema de gestión de muestras.....	128
8.8.1 Programa de mantenimiento del sistema de gestión de muestras.....	128
8.8.2 Sustituir el sensor de fugas del sistema de gestión de muestras.....	128
8.8.3 Calibrar el eje z de la aguja.....	131
8.8.4 Sustituir la junta de la aguja y el tubo del puerto de la junta.....	131
8.8.5 Sustituir la aguja de muestra.....	144
8.9 Procedimientos de mantenimiento del detector.....	156
8.9.1 Sustituir el sensor de fugas del detector.....	156
8.9.2 Sustituir la celda de flujo del detector TUV.....	159

8.9.3 Sustituir la celda de flujo del detector PDA.....	162
8.9.4 Sustituir la lámpara del detector TUV.....	165
8.9.5 Sustituir la lámpara del detector PDA.....	168
8.10 Procedimientos de mantenimiento del horno de columnas.....	171
8.10.1 Programa de mantenimiento del horno de columnas.....	172
8.10.2 Sustituir la columna.....	172
8.10.3 Sustituir el sensor de fugas del horno de columnas.....	175
9 Protocolos de eliminación.....	178
9.1 Descripción de los materiales constituyentes.....	178
9.2 Eliminación de los componentes del sistema.....	178
10 Consideraciones sobre los eluyentes.....	179
10.1 Prevenir la contaminación.....	179
10.2 Calidad de los eluyentes.....	179
10.2.1 Eluyentes limpios.....	180
10.2.2 Eluyentes tamponados.....	180
10.2.3 Agua.....	180
10.3 Preparación de los eluyentes.....	181
10.4 Recomendaciones sobre los eluyentes.....	181
10.4.1 Directrices generales sobre los eluyentes.....	181
10.4.2 Directrices sobre los eluyentes de lavado.....	188
10.5 Propiedades de los eluyentes comunes.....	189
10.6 Miscibilidad de los eluyentes.....	191
10.6.1 Usar los valores de miscibilidad.....	192
10.7 Estabilizadores de eluyentes.....	193
10.8 Viscosidad de los eluyentes.....	193
10.9 Selección de la longitud de onda.....	193
10.9.1 Valores de corte de la longitud de onda para eluyentes comunes.....	194
10.9.2 Valores de corte de la longitud de onda para fases móviles mezcladas.....	194
11 Especificaciones.....	199

1 Información general

1.1 Información sobre los derechos de autor (copyright)

© 2024 WATERS CORPORATION. QUEDA TERMINANTEMENTE PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO POR PROCEDIMIENTO ALGUNO SIN EL CONSENTIMIENTO EXPRESO DEL EDITOR.

La información que aparece en este documento está sujeta a modificaciones sin previo aviso y no debe interpretarse como un compromiso contractual por parte de Waters Corporation. Waters Corporation no asume responsabilidad alguna por ningún error que pudiera aparecer en este documento. En el momento de su publicación, se considera que este manual es exacto y está completo. Waters Corporation no será en ningún caso responsable de los daños accidentales o indirectos relacionados con el uso de este documento o derivados del mismo. Para obtener la versión más reciente de este documento, consultar el sitio web de Waters (www.waters.com).

1.2 Acerca de la documentación de los Alliance iS Systems

Se dispone de una amplia documentación en línea para los Alliance iS HPLC systems. Se puede acceder a la documentación navegando por www.waters.com o haciendo clic en el botón Help (Ayuda) de la pantalla táctil del sistema.

En el Waters Help Center (Centro de ayuda de Waters) (<https://help.waters.com/help/es.html>), se pueden buscar términos o frases en el contenido o hacer clic en **I need help with a product** (Necesito ayuda con un producto) para ir a la página Product Support (Soporte para producto) (<https://help.waters.com/help/es/product-support.html>). En esta página, se puede buscar contenido o hacer clic en **Alliance iS HPLC System** para acceder a la página Product Support (Soporte para producto) del Alliance iS HPLC System (<https://help.waters.com/help/es/product-support/alliance-is-system-support.html>). En esta página, se puede buscar contenido o abrir un documento específico.

Nota: Empower CDS tiene documentación en línea que incluye guías de usuario y ayuda a las que se accede desde la interfaz de usuario.

1.2.1 Buscar información

Aparecerá un cuadro de búsqueda en la parte superior de las páginas del Waters Help Center (Centro de ayuda de Waters), incluida la página de Product Support (Soporte para producto) del sistema Alliance iS (<https://help.waters.com/help/es/product-support/alliance-is-system-support.html>). Desde este cuadro, se puede buscar la información específica necesaria mediante la realización de búsquedas de diversa complejidad.

Hay dos tipos de términos de búsqueda de texto sin formato: palabras sueltas y frases. Las frases deben ir entre comillas, como en "data acquisition" (adquisición de datos). El operador booleano AND (Y) está implícito. La función de búsqueda examina los títulos de los temas y busca palabras clave específicas.

Si la búsqueda no produce resultados, o si los resultados no proporcionan la información que se busca, se debe intentar buscar términos diferentes o eliminar las comillas de las frases.

Si hay demasiados resultados, intentar utilizar los operadores booleanos OR (O) o NOT (NO) de exclusión.

1.3 Marcas comerciales

Alliance™ es una marca comercial de Waters Corporation.

eConnect™ es una marca comercial de Waters Corporation.

Empower™ es una marca comercial de Waters Corporation.

MaxPeak™ es una marca comercial de Waters Corporation.

MP35N® es una marca registrada de SPS Technologies Inc.

TaperSlit™ es una marca comercial de Waters Corporation.

Waters™ es una marca comercial de Waters Corporation.

Waters Quality Parts™ es una marca comercial de Waters Corporation.

Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

1.4 Consideraciones de seguridad

Algunos de los reactivos y las muestras que se utilizan con los instrumentos y dispositivos de Waters pueden suponer un peligro radiológico, biológico o químico (o cualquier combinación de los mismos). Se deben conocer los efectos potencialmente peligrosos de todas las sustancias con las que se trabaja. Se deben seguir siempre las buenas prácticas de laboratorio y consultar los procedimientos normalizados de trabajo de la organización, así como los requisitos locales de seguridad.

1.4.1 Aviso de seguridad sobre los símbolos de peligro

El símbolo  indica un posible peligro. Consultar la documentación para obtener información importante acerca del peligro y las medidas apropiadas que deben tomarse para prevenir y controlar dicho peligro.

1.4.2 Aviso de seguridad sobre la corriente eléctrica

No colocar el dispositivo de forma que resulte complicado desconectar el cable de alimentación.

1.4.3 Aviso sobre el uso indebido del equipo

Si el equipo se utiliza de forma diferente a la especificada por el fabricante, las medidas de protección que aquí se recomiendan podrían resultar insuficientes.

1.4.4 Consejos de seguridad

Consultar el apéndice "Consejos de seguridad" en esta publicación para ver una lista completa de las advertencias y avisos.

1.5 Utilizar el dispositivo

Al utilizar el dispositivo, seguir los procedimientos estándar de control de calidad (QC) y las indicaciones que aparecen en esta sección.

1.5.1 Símbolos aplicables

Los siguientes símbolos pueden aparecer en el dispositivo, el sistema o el embalaje.

Símbolo	Definición
	Fabricante
	Fecha de fabricación
	Garantiza que un producto fabricado cumple todas las directivas vigentes de la Comunidad Europea
	El mercado UKCA (UK Conformity Assessed) confirma que un producto fabricado cumple los requisitos aplicables para los productos vendidos en Gran Bretaña
	Cumple la normativa de EMC australiana
	Confirma que un producto fabricado cumple con todos los requisitos de seguridad estadounidenses y canadienses

Símbolo	Definición
	<p>Confirma que un producto fabricado cumple con todos los requisitos de seguridad estadounidenses y canadienses</p>
	<p>Periodo de uso respetuoso con el medio ambiente (ROHS de China): Indica el número de años a partir de la fecha de fabricación hasta la fecha probable en que el producto o los componentes que contiene se eliminen o se degraden en el entorno</p>
	<p>ACT (Responsabilidad, Consistencia y Transparencia) es una etiqueta de factor de impacto ambiental que proporciona la verificación de terceros del impacto en sostenibilidad de un producto de laboratorio de ciencias de la vida, sus operaciones y el final de su vida útil</p>
	<p>Consultar las instrucciones de uso</p>
	<p>Corriente alterna</p>
	<p>El equipo eléctrico y electrónico que tiene este símbolo puede contener sustancias peligrosas y no debe desecharse como un residuo general</p> <p>Para cumplir con la Directiva sobre residuos de aparatos eléctricos y electrónicos, ponerse en contacto con Waters Corporation a fin de obtener instrucciones sobre la correcta eliminación y el reciclado</p>
	<p>Para uso en interiores exclusivamente</p>
	<p>No empujar</p>
	<p>No conectar a un sistema de cromatografía líquida</p>

Símbolo	Definición
	Indica la carga máxima que se puede colocar sobre ese artículo (p. ej., 10 kg)
	Indica que la pieza se puede limpiar en un baño de ultrasonidos
	Número de serie
	Número de referencia, número de catálogo

1.5.2 Destinatarios y objeto

Esta guía está dirigida exclusivamente a personal de laboratorio cualificado y con formación profesional, encargado de utilizar y realizar tareas de mantenimiento en los productos de Waters.

1.5.3 Uso previsto del sistema

Los Alliance iS HPLC Systems realizan cromatografía líquida para separar, identificar y cuantificar los componentes de una mezcla líquida. Admite tamaños de partícula de columna a partir de 2,7 μm y presiones de hasta 12 000 psi para los análisis de laboratorio de rutina. El Alliance iS HPLC System viene de serie con detección de absorbancia UV en forma de detector TUV o PDA.

Nota: El termostatizador de columnas (CHC) Alliance iS es un dispositivo alimentado por CA que aloja la columna de fluidos utilizada para realizar separaciones por HPLC (cromatografía líquida de alta presión) para los Alliance iS HPLC Systems. El conjunto del CHC puede proporcionar temperatura a la columna entre 4 y 90 °C. Si la columna LC está equipada con una etiqueta NFC pasiva (13,56 MHz), se lee cuando se cierra la puerta frontal del CHC. El circuito de la antena normalmente no está activo hasta el evento de servicio de cierre de la puerta. Los datos de la etiqueta se almacenan en el sistema.

1.5.4 Información sobre el Alliance iS Bio HPLC System

El Alliance iS Bio HPLC System es una solución de HPLC bioinerte diseñada para abordar los desafíos específicos a los que se enfrentan los laboratorios de control de calidad que llevan a cabo aplicaciones biofarmacéuticas. La trayectoria del flujo del sistema está diseñada con materiales de fabricación biocompatibles y tecnología de superficies de alto rendimiento (HPS) MaxPeak de Waters.

1.5.5 Calibración

Para calibrar los sistemas de cromatografía líquida (LC), se deben utilizar métodos de calibración adecuados y al menos cinco patrones para generar una curva de calibración. El intervalo de concentraciones de los patrones debe incluir el rango completo de muestras de control de calidad (QC), muestras habituales y muestras atípicas.

1.5.6 Control de calidad

Se recomienda analizar de forma sistemática tres muestras de control de calidad (QC) que representen los niveles por debajo de lo normal, normal y por encima de lo normal de un compuesto. Si las bandejas de muestras son iguales o muy similares, variar la ubicación de las muestras de QC en las bandejas. Los resultados del análisis de estas muestras deben encontrarse dentro de unos límites aceptables y se debe evaluar la precisión entre un día y otro, y entre un análisis y otro. Es posible que los datos obtenidos cuando las muestras de QC estén fuera de los límites no sean válidos. Dichos datos no se deben incluir en un informe hasta asegurarse de que el instrumento funciona satisfactoriamente.

1.6 Consideraciones sobre la compatibilidad electromagnética (CEM)

1.6.1 Aviso de la FCC sobre emisiones de radiación

Cualquier cambio o modificación efectuada en esta unidad que no haya sido expresamente aprobada por la parte responsable del cumplimiento normativo puede anular la autorización del usuario para utilizar el equipo. Este dispositivo cumple con la sección 15 de la normativa de la FCC (Part 15 of the FCC Rules). Su funcionamiento está sujeto a dos condiciones: (1) este instrumento no debe generar interferencias nocivas y (2) debe aceptar cualquier interferencia recibida, incluso aquellas que pueden ocasionar un funcionamiento no deseado.

1.6.2 Aspectos de las comunicaciones de campo cercano (NFC)/ identificación por radiofrecuencia (RFID)

El termostatizador de columnas (CHC) Alliance iS se debe utilizar con los Alliance iS HPLC systems. El CHC puede equiparse con tecnología NFC/RFID. Las aprobaciones nacionales asociadas con esta función de RF solo están asociadas con el CHC y no con otras secciones del sistema o el sistema en su totalidad. El lector NFC/RFID de 13,56 MHz se encuentra en la puerta del CHC. Realiza un ciclo de lectura cuando la puerta está cerrada. La duración del ciclo de lectura es inferior a un segundo. Está inactivo hasta el siguiente evento de apertura/cierre de la puerta. La potencia es inferior a 2 W.

1.6.3 Clasificación ISM: ISM grupo 1, clase A

Esta clasificación fue asignada según la CISPR 11, que contiene los requisitos para los instrumentos industriales científicos y médicos (ISM).

Los productos del Grupo 1 contienen energía de radiofrecuencia acoplada conductivamente, generada o utilizada de forma intencionada, necesaria para el funcionamiento interno del propio equipo.

Los productos de clase A son adecuados para utilizarse en todo tipo de entornos, excepto los residenciales y los conectados directamente a la red de suministro eléctrico de bajo voltaje que abastece a las edificaciones destinadas a uso residencial.

Puede ser difícil garantizar la compatibilidad electromagnética en otros entornos, debido a las perturbaciones conducidas y radiadas.

Este equipo cumple los requisitos de emisión e inmunidad descritos en las secciones correspondientes de la norma IEC/EN 61326: Material eléctrico para medida, control y uso en laboratorio — Requisitos de compatibilidad electromagnética (CEM).

1.6.4 Aviso canadiense sobre la gestión de emisiones del espectro radioeléctrico

Este aparato digital de clase A cumple la norma ICES-001 canadiense.

Cet appareil numérique de la classe A est conforme à la norme NMB-001.

1.6.5 Otras consideraciones de CEM específicas del país

Las siguientes consideraciones específicas del país se aplican al uso del termostizador de columnas (CHC) Alliance iS.

Brasil	Este equipamento não tem direito à proteção contra interferência prejudicial e não pode causar interferência em sistemas devidamente autorizados. Para maiores informações, consulte o site da ANATEL – www.anatel.gov.br
Corea	

Taiwán	取得審驗證明之低功率射頻器材，非經核准，公司、商號或使用者均不得擅自變更頻 率、加大功率或變更原設計之特性及功能。低功率射頻器材之使用不得影響飛航安全 及干擾合法通信；經發現有干擾現象時，應立即停用，並改善至無干擾時方得繼續使 用。前述合法通信，指依電信管理法規定作業之無線電通信。低功率射頻器材須忍受 合法通信或工業、科學及醫療用電波輻射性電機設備之干擾。
Tailandia	 <p>เครื่องวิทยุคมนาคมนี้ ได้รับยกเว้น ไม่ต้องได้ รับใบอนุญาตให้มี ใช้ซึ่งเครื่องวิทยุคมนาคม หรือตั้งสถานีวิทยุคมนาคมตามประกาศ กสทช. เรื่อง เครื่องวิทยุคมนาคม และสถานีวิทยุ คมนาคมที่ได้รับยกเว้นไม่ต้องได้รับใบอนุญาต วิทยุคมนาคมตามพระราชบัญญัติวิทยุคมนาคม พ.ศ. 2498</p> <p> nsnb. โทรคมนาคม กำกับดูแลเพื่อประชาชน Call Center 1200 (Inswr)</p> <p>เครื่องโทรคมนาคมและอุปกรณ์นี้มีความสอดคล้องตามมาตรฐานหรือข้อกำหนดทางเทคนิคของ กสทช.</p>

1.7 Recursos adicionales

Waters proporciona los siguientes recursos adicionales para garantizar el éxito continuo con sus productos.

Base de datos y conocimientos Knowledge Base: Obtener respuestas rápidas a preguntas sobre resolución de problemas y acceder a artículos de ayuda sobre instrumentos, soluciones informáticas y consumibles de Waters.

Cursos eLearning de aprendizaje en línea: Aprender cuando se desee, desde cualquier lugar y al propio ritmo con los cursos de eLearning.

Formación del cliente: El equipo de servicios educativos de Waters es la organización de capacitación líder que permite a los especialistas maximizar los conocimientos en UPLC, HPLC, LC-MS y gestión de datos.

Notas de aplicación: Consultar la biblioteca digital en línea de notas de aplicaciones para tecnologías analíticas avanzadas, entre las que se incluyen la cromatografía, la espectrometría

de masas, la preparación de muestras y columnas, y el software de gestión de datos. Todas ellas con beneficios impactantes tanto a nivel científico como operativo.

Biblioteca de vídeos instructivos: Ver/descargar los últimos vídeos instructivos del producto.

Localizador gráfico de piezas: Identificar y pedir piezas usando un navegador gráfico interactivo. Acceder a procedimientos de mantenimiento y a documentos de referencia.

Herramientas de selección de productos y recursos: Colección de asistentes que ayudan a elegir los consumibles químicos correctos para cumplir con los requisitos de separación, incluidos viales, placas, filtros y gráficos de selectividad de columnas.

1.8 Contacto con Waters

Contactar con Waters en caso de preguntas técnicas relativas al uso, el transporte, la retirada o la eliminación de cualquier producto de Waters. Contactar a través de Internet, teléfono, fax o correo convencional.

Método de contacto	Información
www.waters.com	El sitio web de Waters incluye información de contacto de las filiales internacionales de Waters.
iRequest	iRequest es un formulario de servicio web seguro que permite solicitar soporte técnico y asistencia para los instrumentos y el software de Waters, o programar una actividad de asistencia planificada. Estos tipos de soporte técnico y asistencia pueden incluirse como parte del plan de mantenimiento o plan de soporte técnico. Es posible que se cobre por el servicio solicitado si no se tiene la cobertura del plan adecuada para el producto. Nota: En áreas gestionadas por distribuidores autorizados, es posible que iRequest no esté disponible. Ponerse en contacto con el distribuidor local para obtener más información.
Información de contacto de la oficina local	La información sobre números de teléfono, fax y correo convencional de las oficinas a nivel mundial se encuentra disponible en el sitio web Oficinas locales .
Información de contacto de la empresa	Waters Corporation 34 Maple Street Milford, MA 01757 USA

Método de contacto	Información
	Desde EE. UU. o Canadá, llamar al 800-252-4752.

1.9 Comentarios del cliente

Tenemos muy en cuenta los comentarios enviados por nuestros clientes. Su ayuda para conocer mejor lo que se espera encontrar en la documentación nos permite mejorar de manera continua su exactitud y utilidad. Para informar de cualquier error que se encuentre en este documento o sugerir ideas para mejorarlo, ponerse en contacto con Waters a través de tech_comm@waters.com.

2 Consejos de seguridad

Las siguientes secciones presentan los consejos de seguridad para el Alliance iS HPLC System.

2.1 Símbolos de advertencia

Los símbolos de advertencia alertan del riesgo de muerte, lesiones, o reacciones fisiológicas adversas y graves relacionadas con el uso indebido de un instrumento o dispositivo. Cuando se instale, se repare o se utilice cualquier instrumento o dispositivo de Waters, se deben tener en cuenta todas las advertencias. Waters no asume ninguna responsabilidad en caso de lesión o de daños a la propiedad derivados del incumplimiento del usuario de las precauciones de seguridad durante la instalación, reparación o uso de sus instrumentos o dispositivos.

Los siguientes símbolos advierten de riesgos que pueden surgir durante el uso o mantenimiento de un instrumento o dispositivo de Waters, o un componente de un instrumento o dispositivo. Cuando uno de estos símbolos aparece en el texto o en los procedimientos de un manual, un texto asociado identifica el riesgo aplicable y explica cómo evitarlo.



Advertencia: (Riesgo general de peligro. Si este símbolo aparece en un instrumento, se recomienda consultar la información importante sobre seguridad que se incluye en la documentación del usuario del instrumento antes de su utilización).



Advertencia: (Riesgo de quemaduras producidas por contacto con superficies calientes).



Advertencia: (Riesgo de descarga eléctrica).



Advertencia: (Riesgo de incendio).



Advertencia: (Riesgo de lesiones por objetos punzantes).



Advertencia: (Riesgo de lesiones por aplastamiento de la mano).



Advertencia: (Riesgo de lesiones causadas por maquinaria en movimiento).



Advertencia: (Riesgo de exposición a radiación ultravioleta).



Advertencia: (Riesgo de contacto con sustancias corrosivas).



Advertencia: (Riesgo de exposición a sustancias tóxicas).



Advertencia: (Riesgo de exposición a radiación láser).



Advertencia: (Riesgo de exposición a agentes biológicos que pueden suponer un grave peligro para la salud).



Advertencia: (Riesgo de vuelco).



Advertencia: (Riesgo de explosión).



Advertencia: (Riesgo de fuga de gas a alta presión).

2.2 Avisos

Los avisos aparecen cuando un instrumento, dispositivo o componente puede ser objeto de un uso adecuado o inadecuado que puede dañarlo o afectar a la integridad de una muestra. El signo de admiración y el texto asociado alertan de este riesgo.



Aviso: Para no dañar la superficie del instrumento o dispositivo, no debe limpiarse con abrasivos ni disolventes.

2.3 Símbolo de prohibición de uso de botellas

El símbolo de prohibición de uso de botellas alerta al usuario del riesgo de daños al equipo causados por derrames de eluyente.



Prohibido: Para evitar daños al equipo causados por eluyente derramado, no colocar las botellas de eluyente directamente sobre un instrumento o dispositivo, ni en la repisa delantera. Colocar las botellas en la bandeja de botellas, que funciona como un contenedor secundario en caso de derrames.

2.4 Protección necesaria

Los símbolos correspondientes al uso de protección ocular y de guantes de protección indican que es necesario emplear un equipo de protección personal. Seleccionar el equipo de protección adecuado, de acuerdo con los procedimientos normalizados de trabajo de la organización.



Requisito: Utilizar protección ocular para realizar este procedimiento.



Requisito: Utilizar guantes limpios, sin polvo y resistentes a productos químicos para llevar a cabo este procedimiento.

2.5 Advertencias que se aplican a todos los instrumentos y dispositivos de Waters

Al utilizar este dispositivo se deben seguir los procedimientos estándar de control de calidad y las indicaciones de uso del equipo detalladas en esta sección.



Warning: Changes or modifications to this unit not expressly approved by the party responsible for compliance could void the user's authority to operate the equipment.



Avertissement : Toute modification sur cette unité n'ayant pas été expressément approuvée par l'autorité responsable de la conformité à la réglementation peut annuler le droit de l'utilisateur à exploiter l'équipement.



Warnung: Jedwede Änderungen oder Modifikationen an dem Gerät ohne die ausdrückliche Genehmigung der für die ordnungsgemäße Funktionstüchtigkeit verantwortlichen Personen kann zum Entzug der Bedienungsbezugnis des Systems führen.



Avvertenza: Qualsiasi modifica o alterazione apportata a questa unità e non espressamente autorizzata dai responsabili per la conformità fa decadere il diritto all'utilizzo dell'apparecchiatura da parte dell'utente.



Advertencia: Cualquier cambio o modificación efectuado en esta unidad que no haya sido expresamente aprobado por la parte responsable del cumplimiento puede anular la autorización del usuario para utilizar el equipo.



警告： 未经有关法规认证部门明确允许对本设备进行的改变或改装，可能会使使用者丧失操作该设备的合法性。



警告： 未經有關法規認證部門允許對本設備進行的改變或修改，可能會使使用者喪失操作該設備的權利。



경고: 규정 준수를 책임지는 당사자의 명백한 승인 없이 이 장치를 개조 또는 변경할 경우, 이 장치를 운용할 수 있는 사용자 권한의 효력을 상실할 수 있습니다.



警告: 規制機関から明確な承認を受けずに本装置の変更や改造を行うと、本装置のユーザーとしての承認が無効になる可能性があります。



Warning: Use caution when working with any polymer tubing under pressure:

- Always wear eye protection when near pressurized polymer tubing.
- Extinguish all nearby flames.
- Do not use tubing that has been severely stressed or kinked.
- Do not use nonmetallic tubing with tetrahydrofuran (THF) or concentrated nitric or sulfuric acids.
- Be aware that methylene chloride and dimethyl sulfoxide cause nonmetallic tubing to swell, which greatly reduces the rupture pressure of the tubing.



Avertissement : Manipulez les tubes en polymère sous pression avec précaution:

- Portez systématiquement des lunettes de protection à proximité de tubes en polymère sous pression.
- Éteignez toute flamme se trouvant à proximité de l'instrument.
- Évitez d'utiliser des tubes sévèrement déformés ou endommagés.
- N'exposez pas les tuyaux non métalliques au tétrahydrofurane, ou THF, ou à de l'acide nitrique ou sulfurique concentré.
- Sachez que le chlorure de méthylène et le diméthylesulfoxyde entraînent le gonflement des tuyaux non métalliques, ce qui réduit considérablement leur pression de rupture.



Warnung: Bei der Arbeit mit Polymerschläuchen unter Druck ist besondere Vorsicht angebracht:

- In der Nähe von unter Druck stehenden Polymerschläuchen stets eine Schutzbrille tragen.
- Alle offenen Flammen in der Nähe löschen.
- Keine Schläuche verwenden, die stark geknickt oder überbeansprucht sind.
- Nichtmetallische Schläuche nicht für Tetrahydrofuran (THF) oder konzentrierte Salpeter- oder Schwefelsäure verwenden.
- Durch Methylenchlorid und Dimethylsulfoxid können nichtmetallische Schläuche quellen; dadurch wird der Berstdruck des Schlauches erheblich reduziert.



Avvertenza: Fare attenzione quando si utilizzano tubi in materiale polimerico sotto pressione:

- Indossare sempre occhiali da lavoro protettivi nei pressi di tubi di polimero pressurizzati.
- Spegnerne tutte le fiamme vive nell'ambiente circostante.
- Non utilizzare tubi eccessivamente logorati o piegati.
- Non utilizzare tubi non metallici con tetraidrofurano (THF) o acido solforico o nitrico concentrati.
- Tenere presente che il cloruro di metilene e il dimetilsolfossido provocano rigonfiamento nei tubi non metallici, riducendo notevolmente la resistenza alla rottura dei tubi stessi.



Advertencia: Se recomienda precaución cuando se trabaje con tubos de polímero sometidos a presión:

- El usuario deberá protegerse siempre los ojos cuando trabaje cerca de tubos de polímero sometidos a presión.
- Apagar cualquier llama que pueda estar encendida en las proximidades.
- No se debe trabajar con tubos que se hayan doblado o sometido a altas presiones.
- Es necesario utilizar tubos de metal cuando se trabaje con tetrahidrofurano (THF) o ácidos nítrico o sulfúrico concentrados.
- Hay que tener en cuenta que el diclorometano y el dimetilsulfóxido dilatan los tubos no metálicos, lo que reduce la presión de ruptura de los tubos.



警告： 当有压力的情况下使用聚合物管线时，小心注意以下几点：

- 当接近有压力的聚合物管线时一定要戴防护眼镜。
- 熄灭附近所有的火焰。
- 不要使用已经被压瘪或严重弯曲的管线。
- 不要在非金属管线中使用四氢呋喃或浓硝酸或浓硫酸。
- 要了解使用二氯甲烷及二甲基亚砷会导致非金属管线膨胀，大大降低管线的耐压能力。



警告： 當在有壓力的情況下使用聚合物管線時，小心注意以下幾點。

- 當接近有壓力的聚合物管線時一定要戴防護眼鏡。
- 熄滅附近所有的火焰。
- 不要使用已經被壓扁或嚴重彎曲管線。
- 不要在非金屬管線中使用四氫呋喃或濃硝酸或濃硫酸。
- 要了解使用二氯甲烷及二甲基亞砷會導致非金屬管線膨脹，大大降低管線的耐壓能力。



경고: 가압 폴리머 튜브로 작업할 경우에는 주의하십시오.

- 가압 폴리머 튜브 근처에서는 항상 보호 안경을 착용하십시오.
- 근처의 화기를 모두 끄십시오.
- 심하게 변형되거나 꼬인 튜브는 사용하지 마십시오.
- 비금속(Nonmetallic) 튜브를 테트라히드로푸란(Tetrahydrofuran: THF) 또는 농축 질산 또는 황산과 함께 사용하지 마십시오.
- 염화 메틸렌(Methylene chloride) 및 디메틸설폭사이드(Dimethyl sulfoxide)는 비금속 튜브를 부풀려 튜브의 파열 압력을 크게 감소시킬 수 있으므로 유의하십시오.



警告: 圧力のかかったポリマーチューブを扱うときは、注意してください。

- 加圧されたポリマーチューブの付近では、必ず保護メガネを着用してください。
- 近くにある火を消してください。
- 著しく変形した、または折れ曲がったチューブは使用しないでください。
- 非金属チューブには、テトラヒドロフラン (THF) や高濃度の硝酸または硫酸などを流さないでください。
- 塩化メチレンやジメチルスルホキシドは、非金属チューブの膨張を引き起こす場合があります、その場合、チューブは極めて低い圧力で破裂します。

Esta advertencia se aplica a los instrumentos de Waters con tubos no metálicos o que se utilizan con eluyentes inflamables.



Warning: The user shall be made aware that if the equipment is used in a manner not specified by the manufacturer, the protection provided by the equipment may be impaired.



Avertissement : L'utilisateur doit être informé que si le matériel est utilisé d'une façon non spécifiée par le fabricant, la protection assurée par le matériel risque d'être défectueuse.



Warnung: Der Benutzer wird darauf aufmerksam gemacht, dass bei unsachgemäßer Verwendung des Gerätes die eingebauten Sicherheitseinrichtungen unter Umständen nicht ordnungsgemäß funktionieren.



Avvertenza: Si rende noto all'utente che l'eventuale utilizzo dell'apparecchiatura secondo modalità non previste dal produttore può compromettere la protezione offerta dall'apparecchiatura.



Advertencia: El usuario debe saber que, si el equipo se utiliza de forma distinta a la especificada por el fabricante, las medidas de protección del equipo podrían ser insuficientes.



警告： 使用者必须非常清楚如果设备不是按照制造厂商指定的方式使用，那么该设备所提供的保护将被削弱。



警告： 使用者必須非常清楚如果設備不是按照製造廠商指定的方式使用，那麼該設備所提供的保護將被消弱。



경고: 제조업체가 명시하지 않은 방식으로 장비를 사용할 경우 장비가 제공하는 보호수단이 제대로 작동하지 않을 수 있다는 점을 사용자에게 반드시 인식시켜야 합니다.



警告: ユーザーは、製造元により指定されていない方法で機器を使用すると、機器が提供している保証が無効になる可能性があることに注意して下さい。

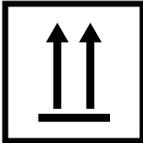
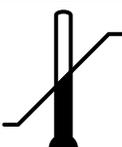
2.6 Símbolos eléctricos

Los siguientes símbolos eléctricos y su texto adjunto pueden aparecer en los manuales del usuario de los instrumentos y en los paneles delantero o posterior de un instrumento.

Símbolo	Descripción
	Suministro eléctrico encendido
○	Suministro eléctrico apagado
⏻	En espera
≡	Corriente continua
~	Corriente alterna
3~	Corriente alterna (trifásica)
⊕	Tierra de seguridad
⏏	Conexión del terminal del chasis o armazón
⏏	Fusible
⏏	Tierra funcional
⤴	Entrada
⤵	Salida
⚡	Indica que el dispositivo o conjunto puede sufrir daños por descargas electrostáticas (ESD)

2.7 Símbolos de manejo

Los siguientes símbolos de manejo y el texto asociado pueden aparecer en las etiquetas del embalaje en el que se envían los instrumentos, dispositivos y componentes.

Símbolo	Descripción
	Mantener en posición vertical
	Mantener seco
	Frágil
	No utilizar ganchos
	Límite superior de temperatura
	Límite inferior de temperatura
	Limitación de temperatura

3 Descripción general del sistema

Alliance iS HPLC System es el primer sistema de HPLC creado específicamente para el software Empower Chromatography Data System (CDS) de Waters y centrado en mejorar los resultados para los laboratorios de control de calidad (QC).

Con capacidades diseñadas específicamente, este sistema ayuda a reducir las ineficacias y la complejidad, mejorar las tasas de éxito en la transferencia y migración de métodos y garantizar resultados oportunos mediante lo siguiente:

- Prevención de forma intuitiva de muchos errores comunes
- Guía rápida y sencilla en el lugar adecuado
- Aumento de la productividad y la capacidad mediante la utilización efectiva de los recursos y un funcionamiento fiable
- Impulso de la eficacia del flujo de trabajo y las mejoras de calidad
- Mejora de la integridad de los datos

Alliance iS Bio HPLC System está diseñado específicamente para los laboratorios biofarmacéuticos de control de calidad (QC). La trayectoria del flujo está diseñada con materiales biocompatibles como MP35N y titanio (Ti), junto con la tecnología HPS MaxPeak bioinerte, garantizando un rendimiento resistente y duradero incluso para las aplicaciones biofarmacéuticas más exigentes. En combinación con la tecnología HPS MaxPeak, Alliance iS Bio HPLC System ofrece:

- Reducción de la adsorción no específica
- Materiales resistentes a la corrosión
- La reducción de errores como estándar
- Guía intuitivamente sencilla en el momento en que se necesita
- Resultados más rápidos y reproducibles
- Integridad de los datos mejorada

3.1 Características del sistema

Las características clave del sistema incluyen una pantalla táctil intuitiva y capacidades de columna inteligente.

El sistema Alliance iS ofrece una serie de funciones nuevas y únicas:

- Un sistema creado para el Empower Software Suite de Waters (Empower) (consultar [Funciones de Empower \(Página 60\)](#))
- Una pantalla táctil avanzada y fácil de usar integrada con el software Empower (consultar [Funciones de la pantalla táctil \(Página 54\)](#))
- Iluminación del estado del sistema a través de la pantalla táctil
- Clips de los tubos de eluyente codificados por colores para mantener la organización y la trazabilidad
- La aplicación Intelligent Method Translator (iMTA) (consultar [Intelligent Method Translator \(Página 60\)](#))
- Columnas eConnect HPLC (consultar [Tecnología eConnect \(Página 53\)](#))
- Monitorización del sistema de waters_connect a través de la plataforma en la nube de waters_connect
- Tecnología inteligente integrada vinculada al nuevo Centro de ayuda de Waters
- Resistente a la corrosión y bioinerte (solo para Alliance iS Bio HPLC System)

3.1.1 Inyector de flujo a través de aguja

El mecanismo FTN facilita la transferencia de métodos de LC y mejora la precisión de la inyección.

El mecanismo FTN del sistema de gestión de muestras aspira una muestra y la retiene en la aguja de muestra, a la vez que la prepara para ser inyectada en la columna. La aguja forma parte de la trayectoria del flujo de inyección cuando se inyecta la muestra en la columna.

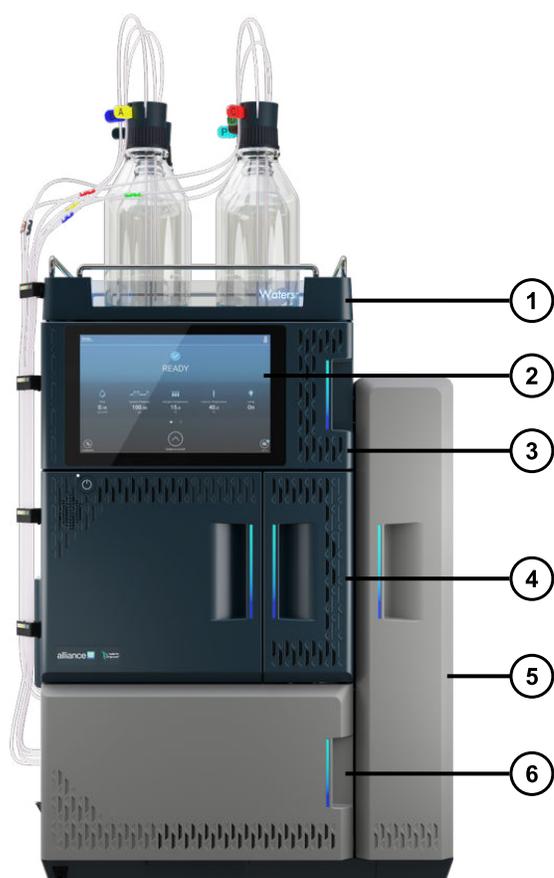
El mecanismo FTN reduce el tiempo del ciclo para las inyecciones de volumen pequeño y no requiere el aprendizaje de nuevos modos de inyección. Los gradientes de fase móvil pasan a través de la aguja durante la inyección, asegurando la recuperación total de la muestra.

3.2 Componentes del sistema

El sistema está compuesto por los siguientes módulos básicos: un sistema de gestión de muestras, una bomba y un compartimento de columnas.

La siguiente ilustración muestra el sistema, que incluye los módulos básicos y un detector.

Figura 3–1: Componentes del Alliance iS System



- ① Bandeja de botellas
- ② Pantalla táctil
- ③ Detector
- ④ Sistema de gestión de muestras
- ⑤ Compartimento de columnas
- ⑥ Bomba

El sistema incluye específicamente los siguientes módulos básicos:

Nota: El área del chasis del sistema que aloja el sistema de gestión de muestras y la bomba se denomina conjunto del módulo de fluidos integrado (IFM).

- Sistema de gestión de muestras: flujo a través de aguja (SM-FTN) (consultar [Características del sistema de gestión de muestras \(Página 46\)](#))
- Bomba: sistema de gestión de eluyentes cuaternario (QSM) (consultar [Características de la bomba \(Página 52\)](#)).
- Compartimento de columnas: termostatizador de columnas (CHC) (consultar [Características del termostatizador de columnas \(Página 52\)](#))

Además de los módulos básicos, el sistema incluye un detector ultravioleta ajustable (TUV) o un detector de fotodiodos en serie (PDA). Consultar [Características del detector TUV \(Página 28\)](#) o [Características del detector PDA \(Página 35\)](#).

3.2.1 Características del detector TUV

El detector funciona como parte integral de un sistema cromatográfico de Waters.

El detector óptico TUV (ultravioleta ajustable) de Alliance iS es un detector de absorbancia ultravioleta/visible (UV/Vis) de dos canales. Empower controla el detector y ofrece una celda de flujo analítico con un volumen de 16,3 µL y un paso óptico de 10 mm.

El diseño de la celda de flujo cuenta con la tecnología TaperSlit de Waters.

Características del detector:

- Mejora del tiempo de equilibrado y calentamiento
- Mejora de la sensibilidad gracias a la celda de flujo patentada TaperSlit, que canaliza la luz a través de la celda para obtener un mejor rendimiento de energía
- Optimización de la lámpara para obtener el mejor rendimiento durante la vida útil de una lámpara de deuterio
- Rendimiento de ruido de línea base bajo (< 5 µAU)
- Funcionalidad nueva y mejorada para mitigar los efectos de los cambios en la temperatura ambiente (consultar la siguiente tabla de capacidades)
- Velocidades de muestreo flexibles, de 1 a 160 Hz, para separaciones por LC normales y rápidas
- La optimización independiente de las velocidades de adquisición de datos y las constantes temporales de filtrado permiten ajustar el detector a los objetivos de separación

Tabla 3–1: Funciones del detector TUV

Función	Descripción
Dos modos de funcionamiento	Longitud de onda simple o doble (Consultar Modo de longitud de onda simple (Página 34) o Modo Dual-Wavelength (Página 34)).

Tabla 3–1: Funciones del detector TUV (continuación)

Función	Descripción
Filtro automático de segundo orden	Admite absorbancia estándar, funcionalidad UV/Vis y función de barrido espectral
Capacidad de diagnóstico completa	Admite herramientas de diagnóstico integradas para optimizar la funcionalidad y el rendimiento.
Control de la variación térmica (mejorado) y control térmico activo (nuevo)	Reducción de los problemas de rendimiento debido a cambios en la temperatura ambiente (Consultar Control de la variación térmica y control térmico activo del detector TUV (Página 35)).
Para celda de cubeta opcional:	
Restricción: Hay que extraer la celda de flujo del detector antes de insertar una celda de cubeta.	
Cualificación de la cubeta	Facilita la cualificación del detector a través de la inserción de un estándar en una cubeta. Esta función es compatible con los kits de cualificación de Waters disponibles para la compra (la cubeta se vende por separado de forma opcional).
Análisis de la muestra de la cubeta	Permite registrar el espectro de cualquier muestra que se coloque en la celda.

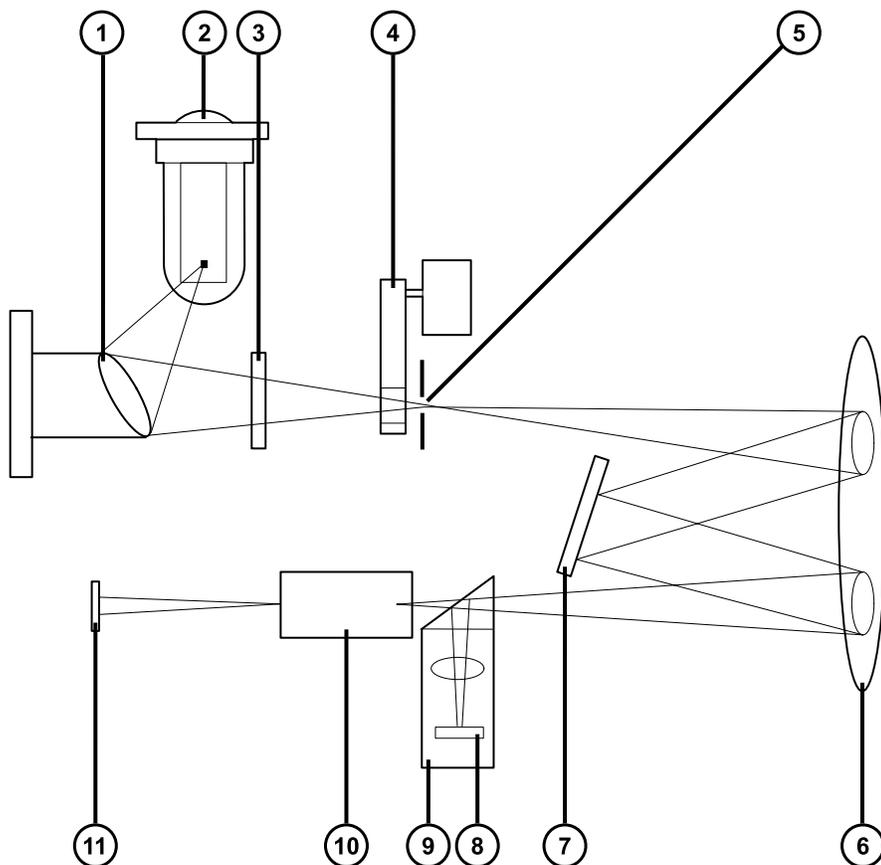
3.2.1.1 Sistema óptico del detector TUV

Los componentes ópticos del detector se basan en un monocromador Fastie-Ebert.

La siguiente figura muestra los componentes que conforman el conjunto de componentes ópticos del detector

Nota: Además de lo que se muestra en la figura, los componentes ópticos del detector también incluyen un obturador, filtro de calibración de longitud de onda y filtro de segundo orden.

Figura 3–2: Conjunto de componentes ópticos del detector



- ① Espejo
- ② Lámpara de deuterio de alta luminosidad (D2)
- ③ Ventana
- ④ Rueda de filtros
- ⑤ Ranura
- ⑥ Espejo
- ⑦ Red de difracción
- ⑧ Fotodiodo de referencia
- ⑨ Divisor de haces
- ⑩ Celda de flujo TaperSlit

11 Fotodiodo de la muestra

3.2.1.1.1 Trayectoria de la luz a través del sistema óptico del TUV

El detector TUV proporciona un diseño extremadamente eficaz para un rendimiento lumínico excepcionalmente elevado.

El detector TUV funciona de la siguiente manera:

1. Un espejo recibe la luz procedente de la lámpara y la enfoca a través de la rueda de filtros hacia la ranura de entrada. Otro espejo dirige la luz hacia la red de difracción, mientras que una parte diferente de este espejo enfoca la luz dispersada de una banda concreta de longitud de onda, determinada por el ángulo de la red, hacia la entrada de la celda de flujo. La luz sale de la celda de flujo hasta el fotodiodo de muestra.
2. El divisor de haces, que está ubicado justo delante de la celda de flujo, desvía parte de la luz hacia un fotodiodo de referencia.
3. Cuando se especifica una longitud de onda nueva a través de la pantalla táctil (o del software Empower), el detector gira la red a la posición adecuada.
4. Las corrientes de los fotodiodos se integran y se digitalizan para su procesamiento mediante los componentes electrónicos de procesamiento de señales y dirige la salida hacia el integrador o PC.

3.2.1.1.2 Filtrar el ruido

Para minimizar el ruido, el detector proporciona un filtro Hamming.

El filtro Hamming del detector es un filtro digital de respuesta finita a impulsos que crea una degradación de la altura del pico y mejora el filtrado del ruido de alta frecuencia.

El comportamiento del filtro depende de la constante temporal de filtrado seleccionada. Las opciones de programación de filtros en el Method Editor (Editor de métodos) son No Filter (Sin filtro), Slow (Lento), Normal (Normal), Fast (Rápido) y Custom (Personalizado). Al seleccionar Slow (Lento), Normal (Normal) o Fast (Rápido), no es necesario especificar un valor. La constante de filtrado está determinada por la velocidad de adquisición de datos. Si se selecciona Custom (Personalizado), se puede especificar un valor, pero este se redondeará hacia arriba o hacia abajo en función de la velocidad de adquisición de datos. Al seleccionar No Filter (Sin filtro) o Custom (Personalizado), y especificar un valor de "0.0", se desactiva toda opción de filtrado.

La constante temporal del filtro ajusta el intervalo de tiempo durante el cual se filtran los datos, lo que controla el grado de suavizado de la línea de base y la repercusión sobre la degradación de la altura del pico. Optimizando este parámetro en el método se garantiza que se consiguen las máximas relaciones señal-ruido para una aplicación determinada.

Un valor más rápido de la constante de tiempo produce los siguientes efectos:

- Picos estrechos con una distorsión del pico y tiempo de retardo mínimos.
- Los picos muy pequeños se vuelven más intensos para distinguirse del ruido de la línea base.
- Se elimina menos ruido de línea base.

Un valor más lento de la constante de tiempo produce los siguientes efectos:

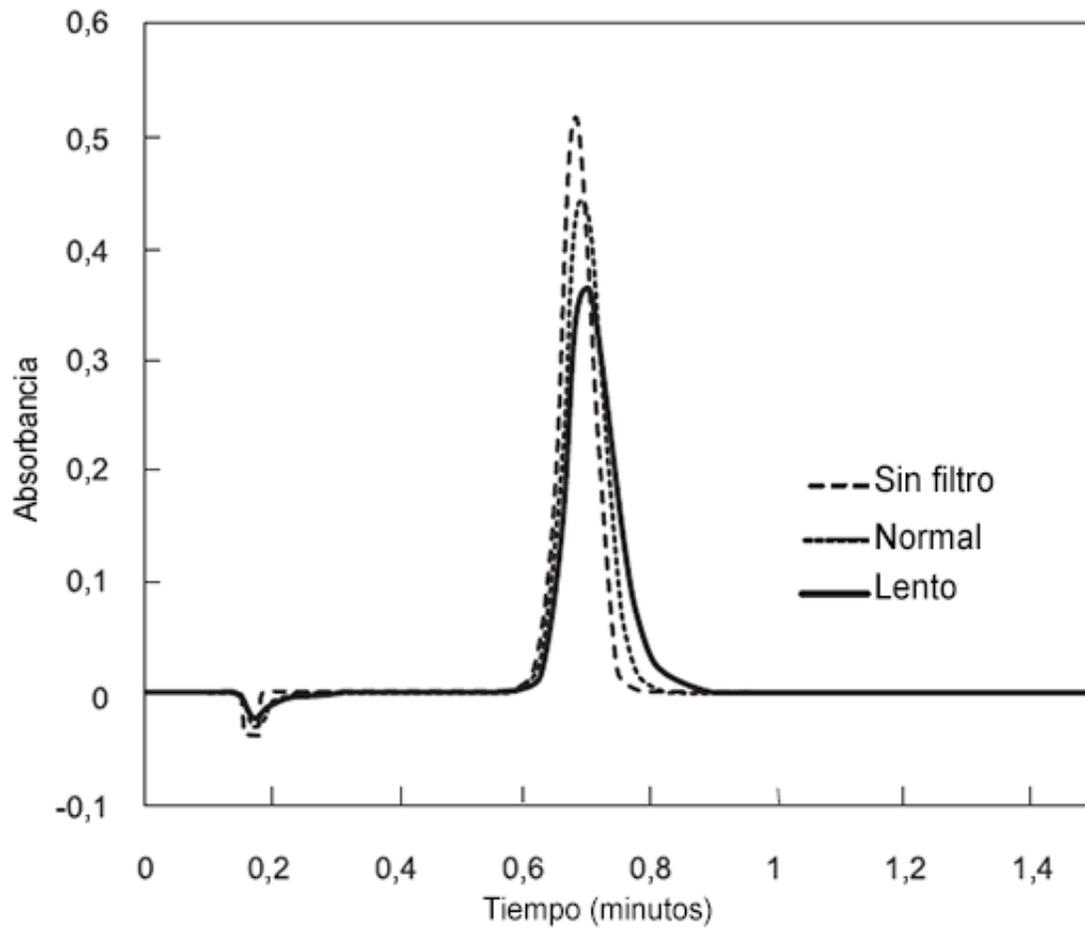
- Disminución importante del ruido de la línea base.
- Picos acortados y ensanchados.

Indicación: Aunque la forma del pico muestra cierta distorsión y la salida de la señal se retrasa con las diferentes constantes de tiempo, el área del pico permanece igual.

En cada velocidad de adquisición de datos, el software incluye constantes de filtrado rápido o normal, que son adecuadas para aplicaciones de alta velocidad y alta sensibilidad, respectivamente.

La siguiente figura muestra la relación entre el aumento de la constante de tiempo de filtrado y la absorbancia.

Figura 3-3: Comparación de las constantes de tiempo de filtrado



3.2.1.2 Verificación y prueba de la longitud de onda del detector TUV

Si se utiliza el detector de manera continua, se recomienda realizar la verificación de la longitud de onda una vez a la semana.

La lámpara de arco de deuterio y el filtro de erbio integral del detector muestran picos en el espectro de transmisión a longitudes de onda conocidas. Durante la puesta en marcha, el detector verifica la calibración, comparando la ubicación de estos picos con las longitudes de onda esperadas a partir de los datos de calibración almacenados en la memoria del detector. Si los resultados de esta verificación difieren de la calibración almacenada en más de 1,0 nm, el detector muestra un mensaje de `Wavelength Verification Failure` (Error en la verificación de la longitud de onda). Cuando es necesario, el detector realiza una verificación (en lugar de una recalibración) durante la puesta en marcha con el fin de evitar errores derivados de la presencia de restos de material en la celda de flujo.

Se puede iniciar una calibración manual de la longitud de onda en cualquier momento. Una calibración manual sustituye los datos de calibración anteriores por datos nuevos.

Los algoritmos de verificación y calibración son prácticamente idénticos. No obstante, el algoritmo de verificación puede producir un mensaje de error que indica que los datos reales no coinciden con los datos almacenados, mientras que los algoritmos de calibración sustituyen los datos almacenados por los nuevos.

Los procedimientos de verificación de la longitud de onda del detector establecen una posición Home (Inicial) aproximada utilizando un sensor de inicialización de la red de difracción. Cuando se ha establecido la posición Home (Inicial), el detector identifica y referencia el pico de 656,1 nm en el espectro de emisión de la lámpara de deuterio.

El filtro de erbio integrado se mueve hacia la trayectoria de luz común, por delante de la ranura de entrada de la celda de flujo, lo que permite que el detector identifique tres características espectrales adicionales en las siguientes longitudes de onda:

- 256,7 nm (UV)
- 379,0 nm
- 521,5 nm

Las pruebas de verificación del detector requieren cinco minutos de tiempo de calentamiento de la lámpara.

3.2.1.3 Modos de funcionamiento

El detector incluye dos modos de funcionamiento.

El detector funciona en los modos Single-Wavelength (Longitud de onda simple) o Dual-Wavelength (Longitud de onda doble) y permite el barrido del espectro con una celda de flujo o una cubeta opcional.

(Consultar el documento *Empower online Information System (Sistema de información en línea de Empower)* para obtener información de control en este entorno de software).

3.2.1.3.1 Modo de longitud de onda simple

El modo de longitud de onda simple es el modo de funcionamiento predeterminado del detector.

El detector permite controlar una única longitud de onda entre 190 nm y 700 nm, configurable en incrementos de 1 nm en el canal A.

En este modo, el detector utiliza de manera automática el filtro óptico de segundo orden para todas las longitudes de onda iguales o superiores a 370 nm, y lo retira para las longitudes de onda inferiores a 370 nm. El filtro impide que la luz UV no deseada llegue a la red de difracción e interfiera con la detección de absorbancias por encima de 370 nm.

Cuando se utiliza el detector en este modo, se pueden configurar los parámetros adicionales enumerados en la siguiente tabla y configurar una tabla de eventos para el detector.

Tabla 3–2: Parámetros configurables del modo de longitud de onda simple

Parámetro	Descripción
Lámpara	Encender o apagar la lámpara del detector.
Velocidad de adquisición de datos (Hz)	Especificar una frecuencia de muestreo de hasta 160 Hz (un solo canal, 2 Hz para dos canales).
Longitud de onda A (nm)	Especificar una longitud de onda para el canal A, entre 190 nm y 700 nm, ajustable en incrementos de 1 nm. Nota: Si el detector se encuentra en el modo de longitud de onda doble, también aparece el valor de la longitud de onda B.
Constante(s) temporal(es) de filtrado	Programar un tiempo de filtrado. Las opciones son No Filter (Sin filtro), Slow (Lento), Normal, Fast (Rápido) y Custom (Personalizado) (consultar Filtrar el ruido (Página 31) para obtener información detallada sobre este parámetro, estas opciones de configuración y los diferentes efectos producidos).
Puesta a cero automática (dos opciones): <ul style="list-style-type: none">• Puesta a cero automática en inicio de inyección• Puesta a cero automática al cambiar la longitud de onda	Establecer cuándo poner a cero automáticamente (restablece los ajustes del detector)

3.2.1.3.2 Modo Dual-Wavelength

En el modo Dual-Wavelength (Longitud de onda doble), el detector puede monitorizar dos longitudes de onda, una en el canal A y otra en el canal B.

Debido a que la frecuencia de adquisición se reduce a 1 o 2 Hz, el uso del modo de longitud de onda doble está limitado a una cromatografía más estándar donde las anchuras de los picos duran al menos 20 segundos para permitir la caracterización completa de un pico.

En este modo se aplican las siguientes condiciones:

- Si las dos longitudes de onda seleccionadas son superiores a 370 nm, el detector aplica el filtro de segundo orden para bloquear la luz ultravioleta no deseada.
- Si las dos longitudes de onda seleccionadas son menores o iguales a 370 nm, el detector elimina el filtro de segundo orden.
- Si las longitudes de onda seleccionadas están a ambos lados del umbral 370 nm, el detector no aplica el filtro de segundo orden y emite un mensaje de advertencia para informar que cualquier dato obtenido para la longitud de onda superior a 370 nm puede ser inexacto debido a la posible interferencia de luz UV (efectos UV).

3.2.1.4 Operaciones con cubeta

La opción de cubeta del detector se utiliza para medir el espectro de absorbancia de una muestra en una cubeta.

Nota: Esta sección se refiere únicamente al uso de la cubeta opcional.

Para generar y almacenar un espectro:

1. Adquirir un barrido de blanco, que mide la absorbancia del contenido de la cubeta en el intervalo de longitudes de onda deseado.
2. Adquirir un barrido de muestra (absorbancia), que mide la absorbancia del analito disuelto en la solución.

Resultado: El detector resta el barrido de blanco del barrido de muestras para crear un espectro de muestras.

3.2.1.5 Control de la variación térmica y control térmico activo del detector TUV

Estas capacidades integradas del detector reducen el riesgo en el rendimiento debido a cambios en la temperatura ambiente.

Control de la variación térmica (mejorado): Para desacoplar el rendimiento de la línea base por los cambios de temperatura ambiente, el detector utiliza aislamiento, ventiladores, deflectores y control térmico activo.

Control térmico activo (nuevo): Para garantizar la estabilidad de la línea base en presencia de cambios en la temperatura ambiente, el detector controla activamente la temperatura del sistema óptico.

3.2.2 Características del detector PDA

El detector funciona como parte integral de un sistema cromatográfico de Waters.

El detector de fotodiodos en serie (PDA) Alliance iS es un detector óptico capaz de funcionar simultáneamente en 2D y 3D. Empower controla el detector y ofrece una celda de flujo analítico con un volumen de 8,4 µL y un paso óptico de 10 mm.

El diseño de la celda de flujo cuenta con la tecnología TaperSlit de Waters.

Características del detector:

- Mejora del tiempo de equilibrado y calentamiento
- Mejora de la sensibilidad gracias a la celda de flujo patentada TaperSlit, que canaliza la luz a través de la celda para obtener un mejor rendimiento de energía
- Ranura variable controlada por el actuador
- ID de la lámpara, la celda de flujo y el filtro óptico
- Opciones de cubeta
- Alineación de precisión de la red de difracción
- Aislamiento y control térmicos
- Confirmación de la posición inicial
- Optimización de la lámpara para obtener el mejor rendimiento durante la vida útil de una lámpara de deuterio
- Rendimiento de ruido de línea base bajo (< 10 µAU)
- Funcionalidad nueva y mejorada para mitigar los efectos de los cambios en la temperatura ambiente (consultar la siguiente tabla de capacidades)
- Velocidades de muestreo flexibles, de 1 a 160 Hz, para separaciones por LC normales y rápidas
- La optimización independiente de las velocidades de adquisición de datos y las constantes temporales de filtrado permiten ajustar el detector a los objetivos de separación

Tabla 3–3: Funciones del detector PDA

Función	Descripción
Filtro automático de segundo orden	Admite absorbancia estándar, funcionalidad UV/Vis y función de barrido espectral
Capacidad de diagnóstico completa	Admite herramientas de diagnóstico integradas para optimizar la funcionalidad y el rendimiento.
Control de la variación térmica (mejorado) y control térmico activo (nuevo)	Reduce los problemas de rendimiento debido a cambios en la temperatura ambiente (Consultar Control de la variación térmica y control térmico activo del detector PDA (Página 41)).

Tabla 3–3: Funciones del detector PDA (continuación)

Función	Descripción
Cualificación de la cubeta	Facilita la cualificación del detector a través de la inserción de un estándar en una cubeta. Esta función es compatible con los kits de cualificación de Waters disponibles para la compra (la cubeta se vende por separado de forma opcional).
Análisis de la muestra de la cubeta	Permite registrar el espectro de cualquier muestra que se coloque en la celda.

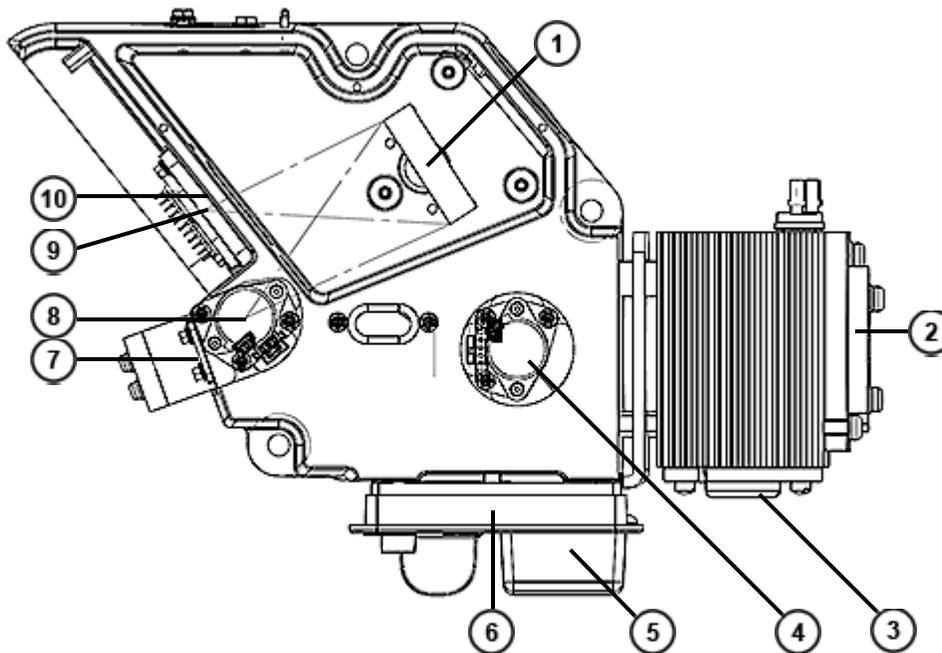
3.2.2.1 Sistema óptico del detector PDA

El sistema óptico del detector PDA hace pasar la luz a través de la solución en estudio y, a continuación, la separa para el análisis.

El detector es un espectrofotómetro de luz ultravioleta/visible (UV/Vis). Con una matriz de 518 fotodiodos, el detector funciona en un intervalo de 190 a 800 nm.

La figura siguiente ilustra la trayectoria de la luz a través del conjunto óptico del detector.

Figura 3–4: Trayectoria de la luz a través del conjunto óptico



- ① Red de difracción: Dispersa la luz en bandas de longitudes de onda y las enfoca sobre el plano de la matriz de fotodiodos.
- ② Espejo M1: Concentra la luz de la lámpara de deuterio como fuente de luz.
- ③ Lámpara: Lámpara de deuterio como fuente de luz.
- ④ Marcador del filtro/obturador: Marca las posiciones para medir la energía del haz de iones: abierta (muestra), bloqueada (oscuridad) o una tercera posición para verificar la longitud de onda.
- ⑤ Soporte de la cubeta: Mantiene la cubeta estable y correctamente alineada en el detector y permite que la luz pase a través de la muestra para un análisis preciso.
- ⑥ Celda de flujo: Aloja el segmento de la trayectoria del flujo (que contiene eluyente y muestra) a través del cual pasa el haz de luz policromática.
- ⑦ Espejo y máscara del espectrógrafo: El espejo enfoca la luz transmitida a través de la celda de flujo sobre la ranura que hay en la entrada de la parte espectrográfica del sistema óptico. La máscara del espejo define el tamaño del haz en la red de difracción.

- ⑧ Ranura variable: Determina la resolución y la cantidad de luz que incide en el sensor del PDA. Los anchos de ranura más pequeños dan como resultado una imagen más pequeña y nítida que produce una mejor resolución, pero con un menor rendimiento de la luz. Los anchos de ranura más grandes tienen un mayor rendimiento de la luz, que puede mejorar la sensibilidad y el ruido a expensas de una menor resolución. El ancho de ranura es variable, pero el valor predeterminado es de 50 μm .
- ⑨ Sensor de fotodiodos en serie (PDA): Un conjunto lineal de 518 fotodiodos de 50 μm de ancho, que mide la intensidad de la luz dispersada en función de la posición en el sensor. La calibración permite convertir los datos de posición a longitud de onda para obtener datos espectrales.
- ⑩ Filtro de orden: Reduce la aportación de la difracción de segundo orden de la luz UV (inferior a 370 nm) a la intensidad de luz observada a longitudes de onda visibles (superiores a 345 nm).

3.2.2.1.1 Trayectoria de la luz a través del sistema óptico del PDA

El detector proporciona un diseño extremadamente eficaz para un rendimiento lumínico excepcionalmente elevado.

El detector funciona de la siguiente manera:

1. La luz emitida por la lámpara de deuterio se reenfoca en un espejo elíptico hacia el interior de la celda de flujo.
2. A continuación, el haz de luz se expande para llenar la red de difracción, que separa el haz en las longitudes de onda que lo componen y, a continuación, las reenfoca en el sensor del PDA.

3.2.2.1.2 Filtrar el ruido

Para minimizar el ruido, el detector proporciona un filtro Hamming.

El filtro Hamming del detector es un filtro digital de respuesta finita a impulsos que crea una degradación de la altura del pico y mejora el filtrado del ruido de alta frecuencia.

El comportamiento del filtro depende de la constante temporal de filtrado seleccionada. Las opciones de programación de filtros en el Method Editor (Editor de métodos) son No Filter (Sin filtro), Slow (Lento), Normal (Normal), Fast (Rápido) y Custom (Personalizado). Al seleccionar Slow (Lento), Normal (Normal) o Fast (Rápido), no es necesario especificar un valor. La constante de filtrado está determinada por la velocidad de adquisición de datos. Si se selecciona Custom (Personalizado), se puede especificar un valor, pero este se redondeará hacia arriba o hacia abajo en función de la velocidad de adquisición de datos. Al seleccionar No Filter (Sin filtro) o Custom (Personalizado), y especificar un valor de "0.0", se desactiva toda opción de filtrado.

La constante temporal del filtro ajusta el intervalo de tiempo durante el cual se filtran los datos, lo que controla el grado de suavizado de la línea de base y la repercusión sobre la degradación de la altura del pico. Optimizando este parámetro en el método se garantiza que se consiguen las máximas relaciones señal-ruido para una aplicación determinada.

Un valor más rápido de la constante de tiempo produce los siguientes efectos:

- Picos estrechos con una distorsión del pico y tiempo de retardo mínimos.
- Los picos muy pequeños se vuelven más intensos para distinguirse del ruido de la línea base.
- Se elimina menos ruido de línea base.

Un valor más lento de la constante de tiempo produce los siguientes efectos:

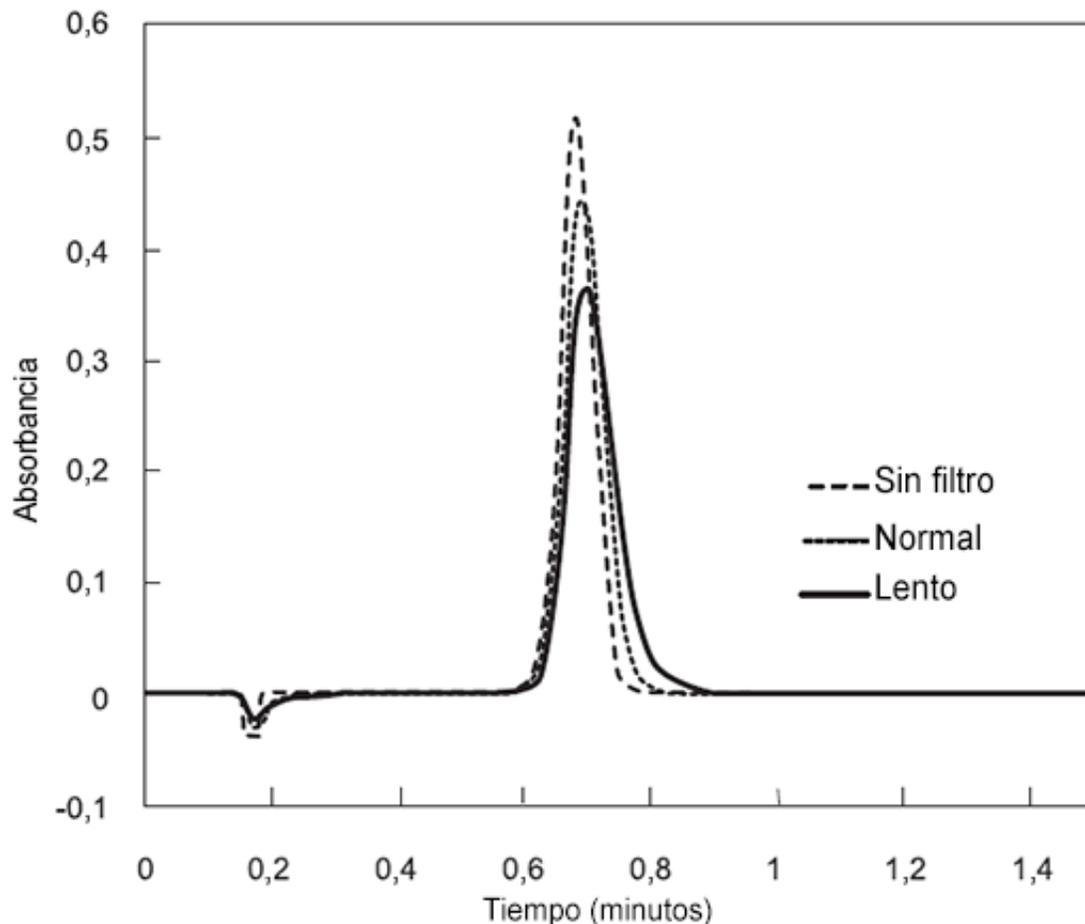
- Disminución importante del ruido de la línea base.
- Picos acortados y ensanchados.

Indicación: Aunque la forma del pico muestra cierta distorsión y la salida de la señal se retrasa con las diferentes constantes de tiempo, el área del pico permanece igual.

En cada velocidad de adquisición de datos, el software incluye constantes de filtrado rápido o normal, que son adecuadas para aplicaciones de alta velocidad y alta sensibilidad, respectivamente.

La siguiente figura muestra la relación entre el aumento de la constante de tiempo de filtrado y la absorbancia.

Figura 3–5: Comparación de las constantes de tiempo de filtrado



3.2.2.2 Verificación y prueba de la longitud de onda del detector PDA

Si se utiliza el detector de manera continua, se recomienda realizar la verificación de la longitud de onda una vez a la semana.

La calibración del detector PDA se verifica utilizando dos picos del espectro de la lámpara de deuterio y tres picos de absorbancia del filtro de erbio integrado. Durante la puesta en marcha, el detector verifica la calibración, comparando la ubicación de estos picos con las longitudes de onda esperadas a partir de los datos de calibración almacenados en la memoria del detector. Si los resultados de esta verificación difieren de la calibración almacenada en más de 1,0 nm, el detector muestra un mensaje de `Wavelength Verification Failure` (Error en la verificación de la longitud de onda).

La verificación de la longitud de onda suele requerir un camino óptico limpio a través de la celda de flujo para garantizar que la señal se transmita al sensor. Una celda de flujo que ha estado inactiva durante algún tiempo puede tener burbujas o contaminantes presentes que pueden obstruir la trayectoria de la luz e interferir con la verificación de la longitud de onda. Por motivos de seguridad, el flujo no se inicia en la puesta en marcha del instrumento. Si la verificación de la longitud de onda falla durante la puesta en marcha, se recomienda volver a ejecutar el flujo de trabajo de verificación con la celda de flujo limpia y con el flujo equilibrado.

En caso de que falle la verificación posterior, se puede volver a calibrar el PDA. Tener en cuenta que la recalibración puede invalidar la correspondencia de la biblioteca de espectros y los análisis de pureza de los picos realizados con una calibración anterior.

3.2.2.3 Operaciones con cubeta

La opción de cubeta del detector se utiliza para medir el espectro de absorbancia de una muestra en una cubeta.

Nota: Esta sección se refiere únicamente al uso de la cubeta opcional.

Para generar y almacenar un espectro:

1. Adquirir un barrido de blanco, que mide la absorbancia del contenido de la cubeta en el intervalo de longitudes de onda deseado.
2. Adquirir un barrido de muestra (absorbancia), que mide la absorbancia del analito disuelto en la solución.

Resultado: El detector resta el barrido de blanco del barrido de muestras para crear un espectro de muestras.

3.2.2.4 Control de la variación térmica y control térmico activo del detector PDA

Estas capacidades integradas del detector reducen el riesgo en el rendimiento debido a cambios en la temperatura ambiente.

Control de la variación térmica (mejorado): Para desacoplar el rendimiento de la línea base por los cambios de temperatura ambiente, el detector utiliza aislamiento, ventiladores, deflectores, zonas térmicas aisladas y control térmico activo.

Control térmico activo (nuevo): Para garantizar la estabilidad de la línea base en presencia de cambios en la temperatura ambiente, el detector controla activamente la temperatura del sistema óptico y la lámpara.

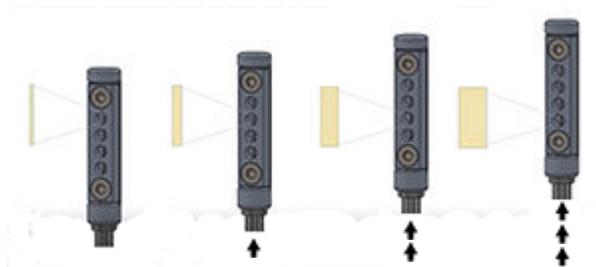
3.2.2.5 Ancho de ranura variable

El ancho de ranura variable permite al usuario equilibrar la resolución y el rendimiento para realizar mejor el análisis.

Este detector PDA Alliance iS cuenta con una ranura variable controlada por un actuador. Los tamaños de ancho de la ranura son:

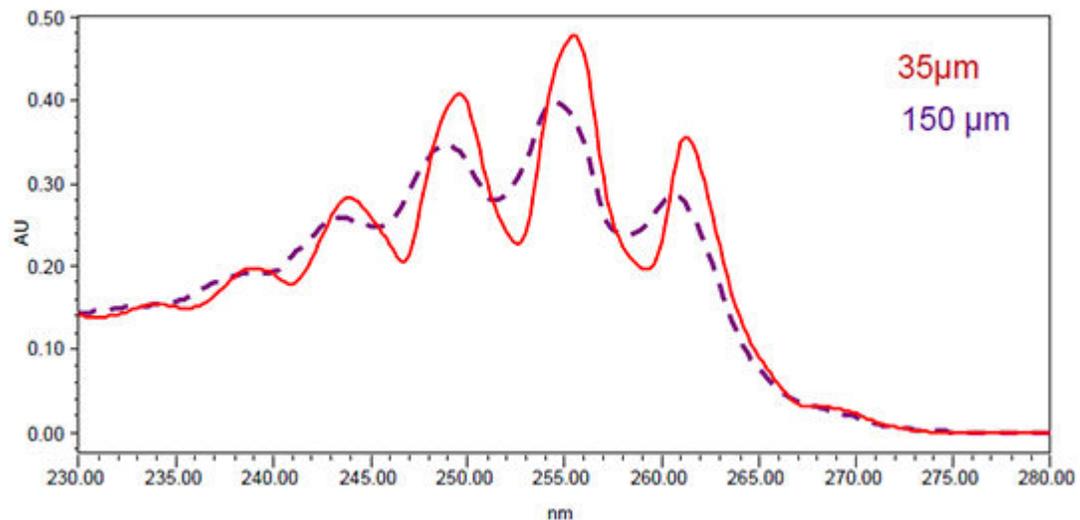
- 35 μm
- 50 μm (predeterminado)
- 100 μm
- 150 μm

Figura 3–6: Ranuras variables del PDA Alliance iS



Una ranura pequeña ofrece la resolución de los picos espectrales mejor definidos, mientras que una ranura grande ofrece la mejor señal respecto al ruido para mejorar la sensibilidad.

Figura 3–7: Impacto del ancho de ranura en la resolución del benceno



Las ranuras están diseñadas para suministrar niveles de energía proporcionales a sus áreas.

3.2.2.6 Verificar la calibración del detector PDA

Verificar la calibración del detector después de extraer y sustituir una celda de flujo o si la verificación falla en la puesta en marcha del sistema.

Para verificar la calibración del detector PDA, cebar el sistema y analizar el flujo durante diez minutos para lavar la celda de flujo con eluyente y asegurarse de que esté completamente humedecida. Se recomienda una mezcla de agua/acetonitrilo 90:10 a 0,5 mL/min. Calentar la lámpara de deuterio durante un mínimo de cinco minutos y asegurarse de que esté en estado "ON" (Encendida) antes de la verificación.

Si se han utilizado soluciones tampón recientemente en la celda de flujo, se recomienda, en primer lugar, lavar con 10 mL de agua de calidad HPLC y, a continuación, con 10 mL de un eluyente de tensión superficial baja como el metanol (siempre que sea miscible con la fase móvil anterior).

Para verificar la calibración del detector:

1. En la pantalla táctil, tocar **Maintain > Verify Calibration** (Mantenimiento > Verificar la calibración). Seguir las indicaciones en pantalla para completar el proceso de verificación. Cuando finaliza la verificación, la pantalla muestra `Verify Calibration Passed` (Verificación de la calibración superada).
2. Pulsar **RE-VERIFY** (Volver a verificar) para volver a ejecutar el proceso de verificación o hacer clic en **DONE** (Listo).

3.2.2.7 Calibración del detector PDA

Calibrar el detector si la verificación de la longitud de onda falla con una celda de flujo correctamente lavada.

Para realizar la calibración del detector, cebar el sistema y analizar el flujo durante 10 minutos para lavar la celda de flujo con eluyente y asegurarse de que esté completamente humedecida. Se recomienda una mezcla de agua/acetonitrilo 90:10 a 0,5 mL/min. La lámpara debe calentarse durante un mínimo de 5 minutos y estar en estado "ON" (Encendido) antes de la calibración.

Si se han utilizado soluciones tampón recientemente en la celda de flujo, se recomienda, en primer lugar, lavar con 10 mL de agua de calidad HPLC y, a continuación, con 10 mL de un eluyente de tensión superficial baja como el metanol (siempre que sea miscible con la fase móvil anterior).

3.2.2.7.1 Calibración con erbio

La calibración con erbio utiliza el filtro de erbio de la unidad para volver a calibrar el instrumento. La calibración con erbio se realiza habitualmente después de sustituir un componente óptico.

Se puede realizar una calibración con erbio para el detector PDA desde la pantalla táctil del sistema.

Importante:

- Una calibración previa con mercurio es un requisito previo para realizar la calibración con erbio.
- La presencia de impurezas en la celda de flujo puede afectar a la calibración de la longitud de onda. Asegurarse de que la celda de flujo está limpia antes de realizar la calibración.
- Este procedimiento puede afectar negativamente a la comparación con la biblioteca de espectros y a los análisis de pureza de picos.
 1. En la pantalla táctil, pulsar **HEALTH > Troubleshoot** (ESTADO > Solucionar problemas).
 2. Tocar el icono del detector.
 3. Tocar **Erbium Calibration** (Calibración con erbio), seguir las indicaciones en pantalla y, a continuación, tocar **START** (Iniciar) para iniciar el proceso de calibración. La pantalla muestra los valores de calibración.
 4. Tocar **DONE** (Listo).

3.2.2.7.2 Calibración con mercurio

La calibración con mercurio utiliza una lámpara de calibración espectral de mercurio-argón para calibrar o recalibrar el instrumento. La calibración con mercurio se realiza normalmente en la fábrica, pero la pueden realizar ingenieros cualificados del Servicio técnico de Waters si es necesario. Tener en cuenta que la recalibración con mercurio solo debe realizarse si la calibración con erbio falla o si los parámetros de calibración con mercurio anteriores se han borrado o dañado.

Un ingeniero del Servicio técnico de Waters puede realizar una calibración con mercurio para el detector PDA desde la pantalla táctil del sistema.

Importante:

- La calibración con mercurio solo debe realizarla un ingeniero del Servicio técnico de Waters.
- La presencia de impurezas en la celda de flujo puede afectar a la calibración de la longitud de onda. Asegurarse de que la celda de flujo está limpia antes de realizar la calibración.
- Este procedimiento puede afectar negativamente a la comparación con la biblioteca de espectros y a los cálculos de pureza de picos.

3.2.2.8 Realizar una prueba de ruido y deriva en el detector PDA

Una celda de flujo sucia o una celda de flujo con burbujas puede producir ruido excesivo y deriva.

Se puede realizar una prueba de ruido y deriva en el detector PDA desde la pantalla táctil del sistema.

1. En la pantalla táctil, pulsar **HEALTH > Troubleshoot** (ESTADO > Solucionar problemas).
2. Tocar el icono del detector.
3. Tocar **Noise and Drift Test** (Prueba de ruido y deriva), seguir las indicaciones en pantalla y, a continuación, tocar **START** (Iniciar) para comenzar el análisis.

La pantalla indica `Noise and Drift Test Completed` (Prueba de ruido y deriva completada) y muestra los resultados del análisis.

4. Tocar **DONE** (Listo).

3.2.2.9 Adquisición 2D y 3D

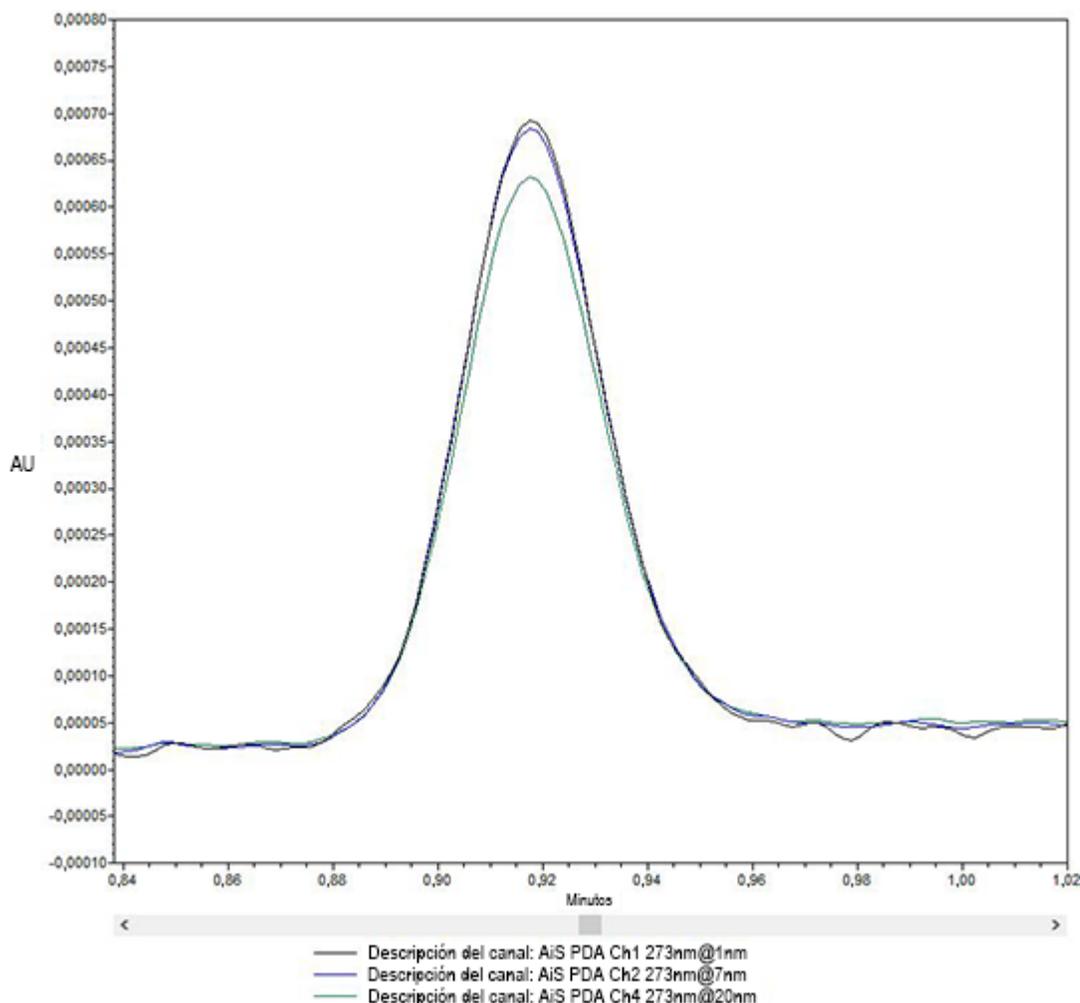
El detector PDA del sistema Alliance iS es capaz de realizar adquisiciones tanto en 2D como en 3D.

El detector PDA puede obtener datos de manera simultánea de dos tipos de canales: espectros (3D) y cromatogramas (2D). Para obtener resultados óptimos en las comparaciones con la biblioteca de espectros y en los análisis de pureza de picos, se recomienda establecer la resolución 3D en 1 nm.

En el caso de los cromatogramas (datos 2D), se debe seleccionar una resolución que optimice la amplitud de la señal, el ruido de la línea base y el rango dinámico lineal. Cuando la longitud de onda elegida para un analito corresponde a una longitud de onda máxima del pico, el aumento del ancho de banda tiende a disminuir la altura del pico a la vez que reduce el ruido de la línea base y el rango dinámico lineal.

Indicación: Una resolución de 4 nm es eficaz para muchos analitos.

Figura 3–8: Comparación de la resolución para la cafeína



3.2.3 Características del sistema de gestión de muestras

El sistema de gestión de muestras utiliza un mecanismo de inyección directa para inyectar muestras extraídas de viales y placas en una columna cromatográfica.

El sistema de gestión de muestras Alliance iS mantiene la temperatura de las muestras, aspira muestras precisas y después las inyecta en la fase móvil utilizando un diseño de flujo a través de aguja (FTN). La aguja forma parte de la trayectoria de los fluidos cuando se inyecta la muestra en la columna. La fase móvil limpia la aguja durante el análisis, asegurando la recuperación completa de la muestra y minimizando el arrastre. Además, el mecanismo de posicionamiento de las muestras controla la ubicación de las placas de muestras con respecto a la aguja de muestras, reduciendo el volumen adicional del sistema.

La configuración estándar admite volúmenes de inyección de muestras de 0,1 a 100 μL . Los loops de extensión opcionales pueden ampliar el volumen de inyección hasta 2000 μL . La temperatura de la muestra se regula en un intervalo de 4 $^{\circ}\text{C}$ (39,2 $^{\circ}\text{F}$) a 40 $^{\circ}\text{C}$ (104 $^{\circ}\text{F}$).

Nota: El loop de extensión de 100 μL se incluye en la configuración estándar.

Características del sistema de gestión de muestras:

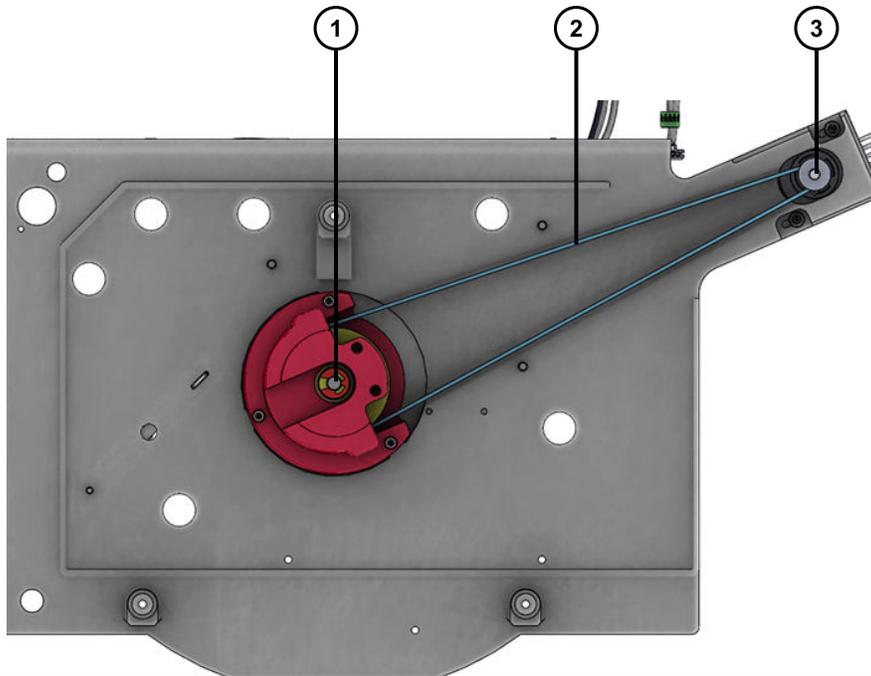
- Capacidad para muestras de tres placas
- Dosificación precisa de las muestras
- Control exacto de la temperatura de la muestra
- Rendimiento excepcional de arrastre (0,002 % como máximo)
- Consumo constante de eluyente
- Punción con fuerza

3.2.3.1 Mecanismo de posicionamiento de la aguja

Un mecanismo de posicionamiento de la aguja de doble eje extrae las muestras de los viales de las placas de muestras que el sistema de gestión de muestras inyectará en una columna cromatográfica.

Para alinear la aguja con los viales de los pocillos de las placas de muestras dentro del compartimento de muestras, los dos ejes giratorios del mecanismo de posicionamiento de la aguja controlan la orientación de las placas de muestras y la posición relativa del soporte móvil de la aguja de muestras. Ambos ejes rotatorios hacen girar un eje utilizando una correa y un motor. El soporte de móvil la aguja gira aproximadamente 90 ° desde el puerto de inyección, mientras que las placas de muestras se encuentran en un eje rotatorio continuo de 360 °.

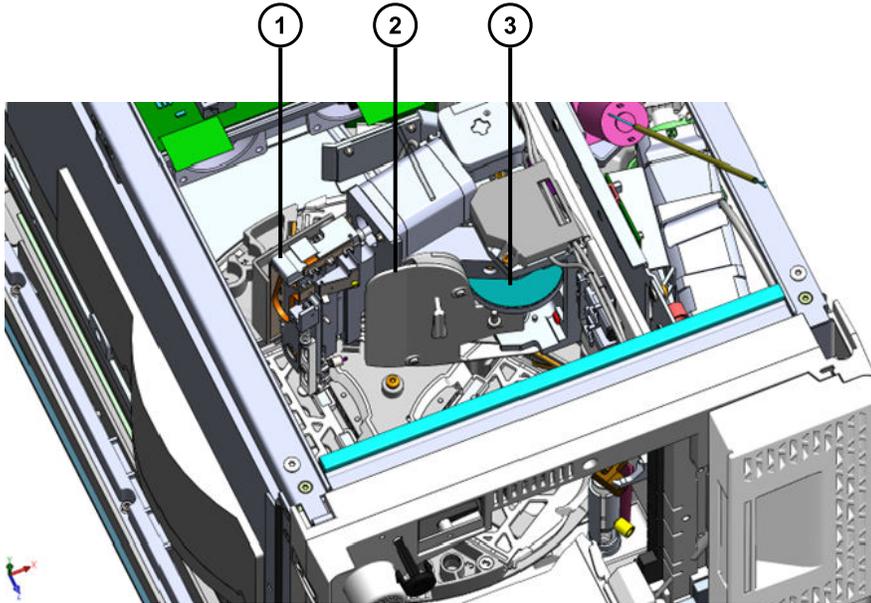
Figura 3–9: Ejes rotatorios dobles del mecanismo de posicionamiento de la aguja, ubicados debajo del compartimento de muestras



① Eje rotatorio de la plataforma

- ② Correa
- ③ Eje del motor

Figura 3–10: Eje rotatorio del soporte de la aguja, ubicado dentro del compartimento de muestras



- ① Soporte móvil de la aguja
- ② Cartucho de la aguja
- ③ Eje rotatorio del soporte móvil de la aguja

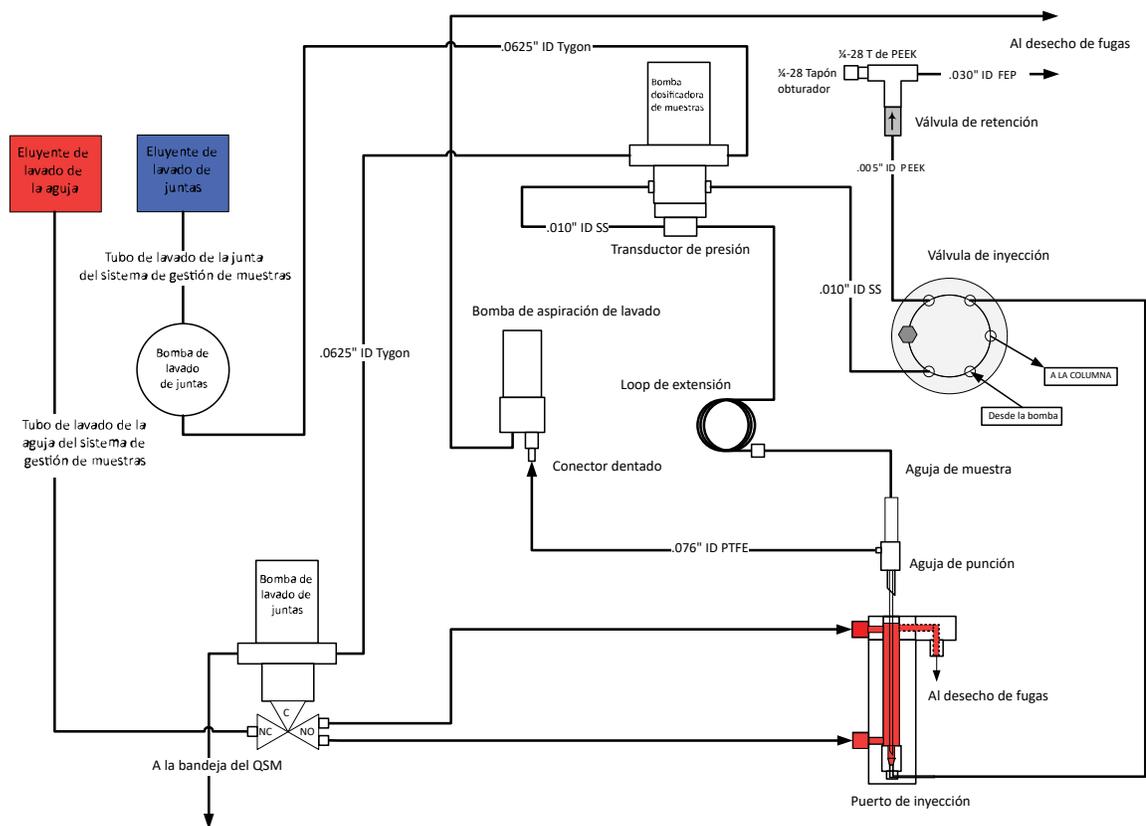
3.2.3.2 Sistema de inyección

La trayectoria del flujo de inyección incluye los conjuntos necesarios para aspirar una muestra y llevarla a la columna.

El proceso de inyección incluye la aguja, el loop de extensión opcional, la bomba dosificadora de muestras, la válvula de inyección y el puerto de inyección/lavado.

Nota: Para una configuración de sistema de extracción múltiple, se encuentra disponible una válvula de extracción múltiple opcional.

Figura 3–11: Trayectoria del flujo del sistema de gestión de muestras para aspiración e inyección de una sola extracción



3.2.3.3 Mecanismos de inyección

La aguja de muestra pasa por una secuencia específica para cada inyección.

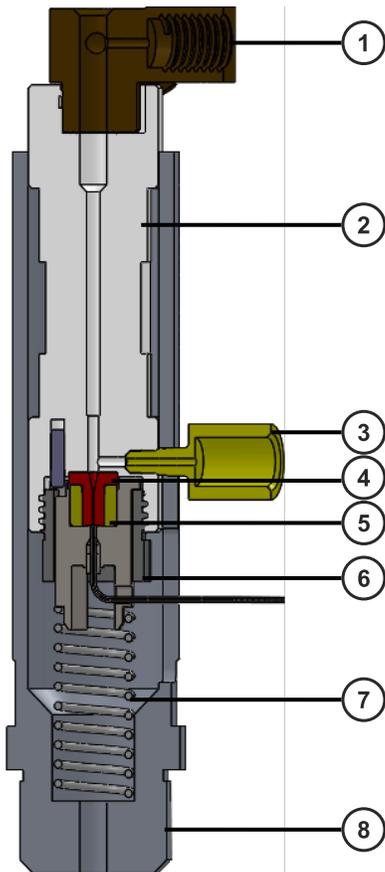
Durante una inyección, se lleva a cabo esta secuencia:

1. La aguja se desplaza hasta el vial de muestra y aspira la muestra.
2. El soporte móvil inserta la aguja en el puerto de inyección/lavado.

Nota: El conjunto del puerto de inyección completo descansa sobre un resorte y se introduce mediante guías en una cubierta metálica.

3. A medida que se inserta la aguja en el puerto de inyección/lavado, esta presiona el asiento y crea un sellado de alta presión.
4. La válvula de inyección gira para iniciar la inyección.
5. La bomba de lavado lava el exterior de la aguja durante la inyección.

Figura 3–12: Conjunto del asiento de la aguja, vista transversal

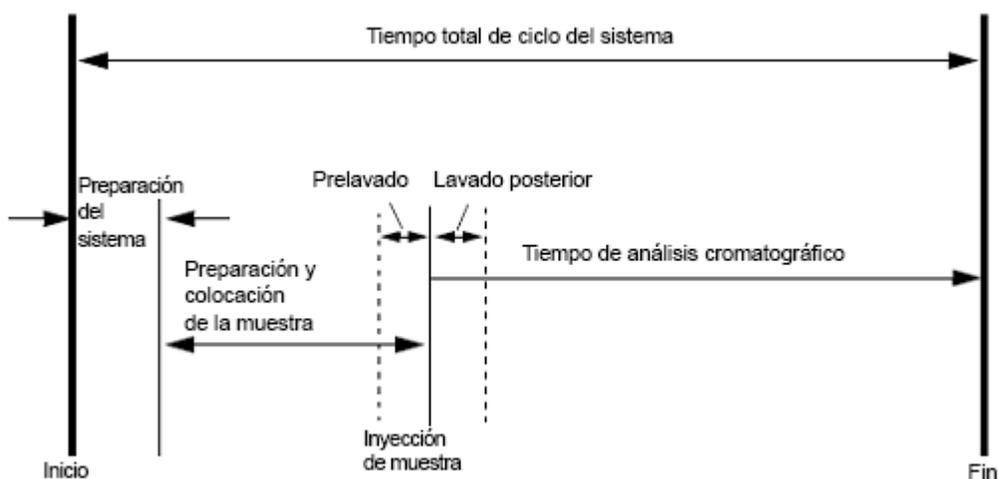


- ① Manifold de lavado en ángulo
- ② Manguito de soporte de la aguja de muestras

- ③ Conector
- ④ Asiento
- ⑤ Conjunto del puerto del asiento
- ⑥ Tuerca de bloqueo de la cazoleta de la junta
- ⑦ Resorte de compresión
- ⑧ Alojamiento del sistema de lavado de la aguja

La siguiente figura muestra el tiempo del ciclo en el modo de inyección estándar.

Figura 3–13: Definición del tiempo del ciclo en el modo de inyección estándar



3.2.3.3.1 Sistema de lavado

La secuencia de lavado no permite que entre eluyente en el flujo de muestra.

El sistema de lavado limpia el exterior de la aguja de muestra mientras se encuentra dentro del puerto de inyección/lavado.

3.2.3.3.2 Modos de cebado

El sistema de gestión de muestras tiene tres modos de cebado.

- Eluyente de lavado de agujas: en el que el eluyente de lavado fluye a través de la bomba de lavado de la aguja.
- Bomba dosificadora de muestras: utiliza el sistema de gestión de eluyentes para cebar la bomba dosificadora de muestras (la bomba dosificadora de muestras se encuentra después de las bombas del sistema de gestión de eluyentes).
- Eluyente de lavado de juntas: el cebado se realiza en el área del sistema de gestión de muestras del IFM y no en el área de la bomba.

3.2.3.3.3 Sistema térmico

El sistema térmico mantiene la temperatura especificada para el compartimento de muestras (intervalo de temperatura ajustable de 4 a 40 °C en incrementos de 0,1 °C).

Indicaciones:

- Los ventiladores del sistema de gestión de muestras dejan de proyectar aire cuando se abre la puerta del compartimento de muestras.
- Cuando el sistema está controlando la temperatura, la bandeja de muestras gira lentamente para ayudar a mantener una temperatura uniforme en todas las placas.

3.2.4 Características de la bomba

El sistema utiliza una bomba con mezcla a baja presión.

El sistema de gestión de eluyentes cuaternario (QSM) Alliance iS puede mezclar hasta cuatro eluyentes desgasificados (A, B, C y D). Se utiliza una válvula generadora de gradientes (GPV) para mezclar dinámicamente los eluyentes en cualquier combinación especificada, produciendo segmentos de gradiente repetibles y reproducibles independientemente de la compresibilidad del eluyente y la contrapresión del sistema. Las cámaras desgasificadoras integradas (una por tubo de eluyente) eliminan automáticamente los gases disueltos de un máximo de cuatro eluyentes de elución.

Características de la bomba:

- Compensación de la compresibilidad continua automatizada para un suministro exacto y preciso a presiones de hasta 12 000 psi
- Sensores de fugas para gestionar e identificar fugas de eluyente durante el funcionamiento sin supervisión
- Intervalos de flujo programables de 0,001 a 10 000 mL/min, en incrementos de 0,001 mL

3.2.4.1 Área del caudal de presión

El módulo de bombas consta de una bomba única y una válvula dosificadora.

La bomba proporciona un caudal de eluyente a caudales analíticos de hasta 5 mL/min y 12 000 psi y un cambio lineal hasta 4000 psi a 10 mL/min.

3.2.5 Características del termostatizador de columnas

Este módulo gestiona y mantiene la temperatura de la columna del sistema.

El termostatizador de columnas (CHC) Alliance iS es un compartimento del sistema que controla el entorno térmico de la columna mediante un sistema conductor de refrigeración y calentamiento combinados. Cuando se configura la temperatura del compartimento, ya sea directamente desde la consola o en un método, se envía un comando al CHC que activa o desactiva el motor de termostatación del compartimento. El CHC continúa calentando o refrigerando hasta que el compartimento alcanza la temperatura programada especificada.

El CHC ofrece:

- Precalentamiento pasivo integrado
- Intervalo de ajuste de temperatura de entre 4 °C (39,2 °F) y 90 °C (194 °F)
- Tecnología de columna eConnect
- Clips de columna para una fácil extracción y sustitución de las columnas
- Conectores sin herramientas (TFF)

Especificaciones de columnas admitidas:

- Longitud: 300 mm (máximo)
- Diámetro interno: 8,0 mm (máximo)
- Precolumna o filtro en línea: 30 mm (máximo)

3.2.5.1 Funcionamiento del termostatizador de columnas

Este módulo es un sistema conductor de refrigeración y calentamiento combinados.

Cuando se configura la temperatura del compartimento de columnas, ya sea directamente desde la consola o en un método, se envía un comando al CHC para que active o desactive el motor termostatizador del compartimento. Basándose en la información recibida del termistor del compartimento, el dispositivo termoeléctrico continúa calentando o refrigerando hasta que el compartimento alcanza la temperatura programada especificada.

Recomendación: Cuando la temperatura de la muestra y de la columna sean importantes para una aplicación, además de especificar valores explícitos de temperatura programada en el método, especificar límites de temperatura adecuados. Juntos, estos parámetros aseguran que el sistema solo funcione dentro de los límites definidos y que cualquier desviación inaceptable de los valores programados se marque con un mensaje de error que indique la variación.

3.2.5.2 Configuración de columnas

Las columnas no se incluyen como parte del sistema, pero se pueden adquirir en el sitio web de Waters.

El compartimento de columnas CHC admite una sola columna de LC, con unas dimensiones máximas de 8,0 mm de diámetro interno y 300 mm de longitud, y un solo consumible precolumna, con unas dimensiones máximas de 8,0 mm de diámetro interno y 30 mm de longitud.

3.2.5.3 Tecnología eConnect

Las capacidades de columna inteligente eConnect garantizan la trazabilidad completa de la columna y facilitan la resolución de problemas posterior al análisis.

La nueva tecnología eConnect de Waters es una función estándar del CHC que se puede utilizar al adquirir versiones de las columnas cromatográficas de Waters compatibles con eConnect (columnas HPLC eConnect). Las columnas eConnect, listas para usar desde el principio,

están equipadas de forma segura con un dispositivo de etiqueta eConnect habilitado para la comunicación de campo cercano (NFC) durante la fabricación, lo que garantiza que el sistema las identifique, las verifique y realice un seguimiento de estas siempre automáticamente.

Después de instalar una columna con etiqueta eConnect en el CHC y cerrar la puerta del componente, la etiqueta se detecta automáticamente. Luego, la tecnología eConnect de la etiqueta interactúa con una versión compatible del software del sistema Empower para leer los identificadores de dispositivo únicos de la columna, mostrar esta información en la pantalla táctil del sistema y registrar esos datos para cada inyección.

3.2.6 Funciones de la pantalla táctil

La pantalla táctil de Alliance iS HPLC System permite al usuario realizar muchas tareas y ahorra tiempo al minimizar el movimiento de un lado a otro entre el sistema y la estación de trabajo Empower. El panel de navegación situado en el lado izquierdo de la pantalla táctil proporciona botones para acceder a las vistas para realizar tareas específicas. La siguiente tabla enumera las vistas.

Tabla 3–4: Vistas y botones de la pantalla táctil

Imagen	Descripción
Home (Inicio) (Página 55)	Muestra información de estado en tiempo real.
Setup (Configuración) (Página 56)	Prepara el sistema para iniciarse o apagarse. Gestiona los eluyentes.
Plots (Gráficos) (Página 56)	Muestra los gráficos disponibles.
Maintain (Mantenimiento) (Página 57)	Proporciona procedimientos de sustitución y calibración de componentes.
Health (Estado) (Página 57)	Proporciona procedimientos para solucionar, notificar y resolver problemas.

Tabla 3–4: Vistas y botones de la pantalla táctil (continuación)

Imagen	Descripción
System (Sistema) (Página 58)	Proporciona acciones para configurar el sistema, crear o revisar registros, realizar tareas de administrador, ver los contadores de rendimiento, configurar sensores de fugas y ver la pantalla About (Acerca de).
Commands (Comandos) (Página 58)	Proporciona acciones con efectos inmediatos, como encender o apagar la lámpara y reiniciar el sistema.

La siguiente tabla describe los controles en la parte superior de la ventana de la pantalla táctil.

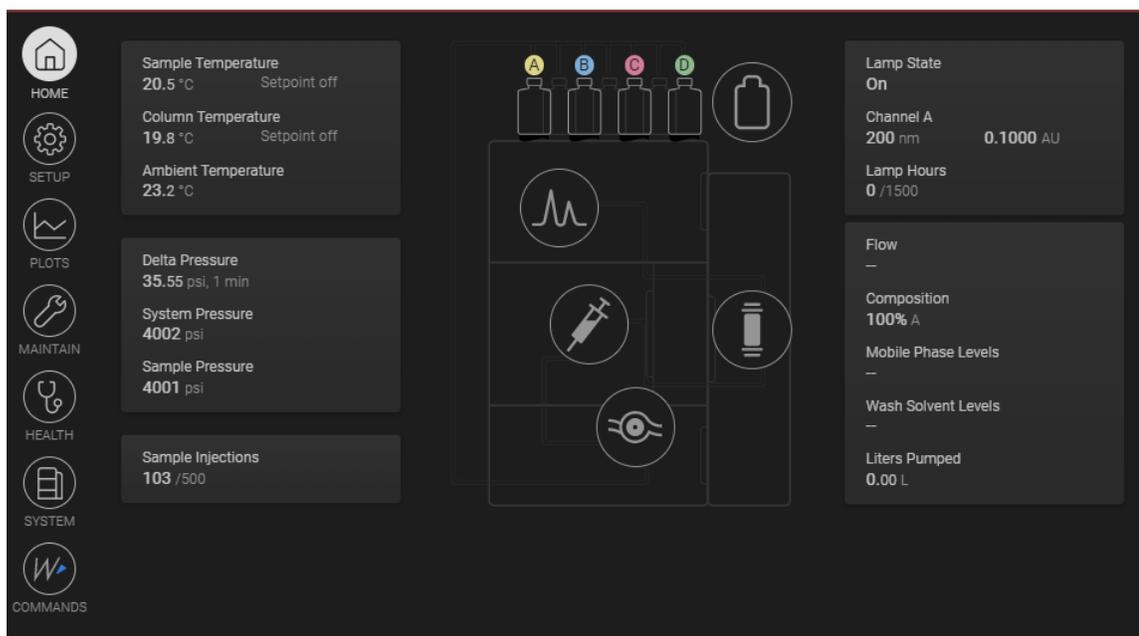
Tabla 3–5: Controles adicionales de la pantalla táctil

Control	Descripción
System status (Estado del sistema)	IDLE (Inactivo), RUNNING (En funcionamiento) o ERROR.
Preferences (Preferencias)	Proporciona acceso a las siguientes configuraciones: Display and Themes (Pantalla y temas), Instrument Name (Nombre del instrumento), Lock Screen (Bloqueo de pantalla) y User Note (Nota del usuario).

3.2.6.1 Vista Home de la pantalla táctil

La vista Home (Inicio) muestra el estado del sistema en tiempo real. La siguiente figura muestra la vista de inicio.

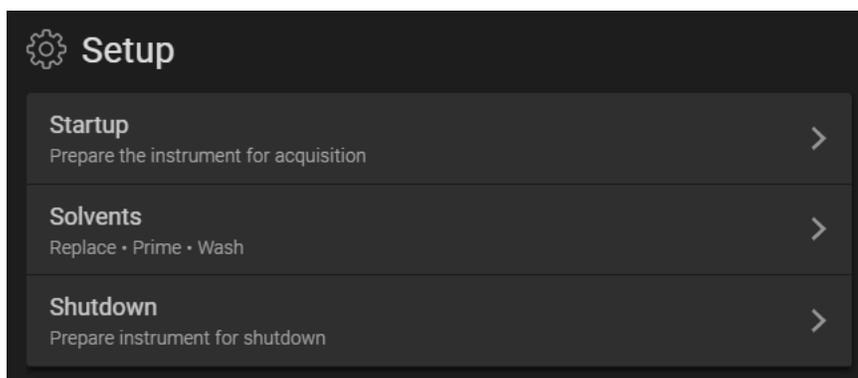
Figura 3–14: Vista Home (Inicio)



3.2.6.2 Vista Setup de la pantalla táctil

La vista Setup (Configuración) proporciona las acciones que se utilizan para preparar el sistema para la adquisición de datos. La siguiente imagen muestra la vista de configuración.

Figura 3–15: Vista de configuración (principal)



Consultar:

- [Cebar un sistema de gestión de eluyentes seco a través de la pantalla táctil \(Página 69\)](#)
- [Equilibrar el Alliance iS HPLC System \(Página 87\)](#)
- [Preparar el apagado del Alliance iS HPLC System \(Página 94\)](#)

3.2.6.3 Vista Plots (Gráficos) de la pantalla táctil

El Alliance iS HPLC System produce gráficos de datos continuamente para mostrarlos en la pantalla táctil. Se pueden configurar hasta cuatro gráficos de diagnóstico para un máximo de 96 horas. La siguiente tabla describe los gráficos disponibles.

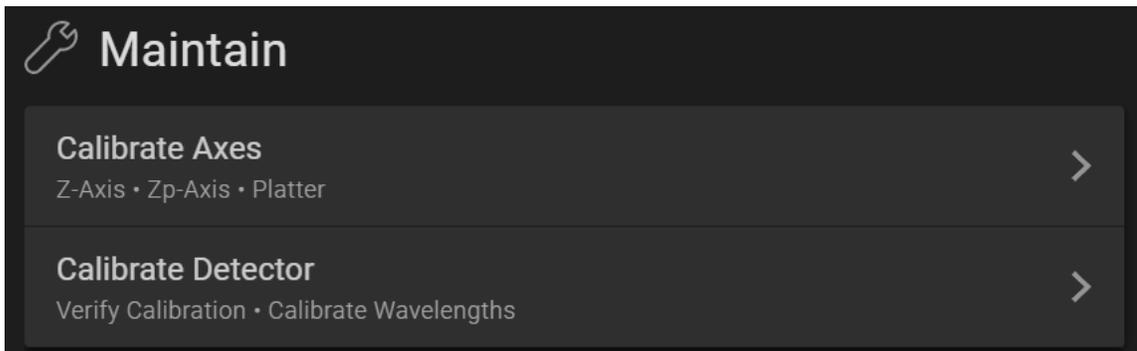
Tabla 3–6: Gráficos de datos producidos por el sistema

Gráfico	Descripción
Diagnóstico del sistema de gestión de muestras	Proporciona la temperatura de la muestra y la temperatura ambiente en °C y la presión de la muestra en psi o en una unidad seleccionada por el usuario.
Diagnóstico del módulo de columnas	Muestra canales como la temperatura de la columna.
Diagnóstico del detector	Muestra canales como la absorbancia y la longitud de onda (solo TUV).
Diagnóstico de la bomba	Muestra canales como la presión del sistema, el flujo y la composición.

3.2.6.4 Vista Maintain de la pantalla táctil

La vista Maintain (Mantenimiento) proporciona los flujos de trabajo que se utilizan para sustituir componentes y calibrar el sistema. La siguiente figura muestra la vista de mantenimiento.

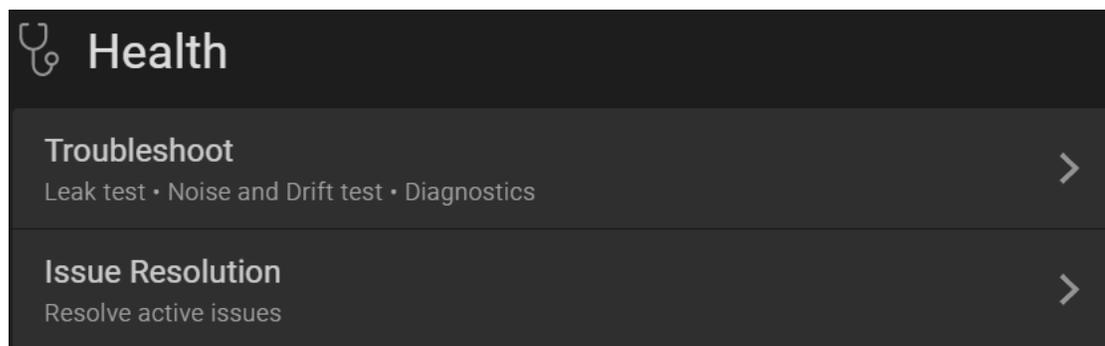
Figura 3–16: Vista de mantenimiento (principal)



3.2.6.5 Vista Health de la pantalla táctil

La vista Health (Estado) presenta los flujos de trabajo que se utilizan para solucionar problemas del sistema. La siguiente figura muestra la vista de estado.

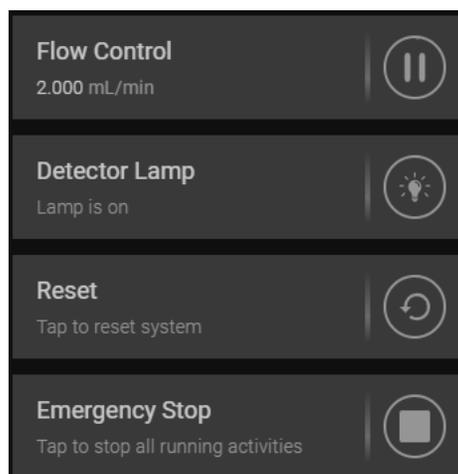
Figura 3–17: Vista de estado (principal)



3.2.6.6 Vista Commands de la pantalla táctil

La vista Commands (Comandos) proporciona acciones que tienen efectos inmediatos. La siguiente figura muestra la vista de comandos.

Figura 3–18: Vista de comandos



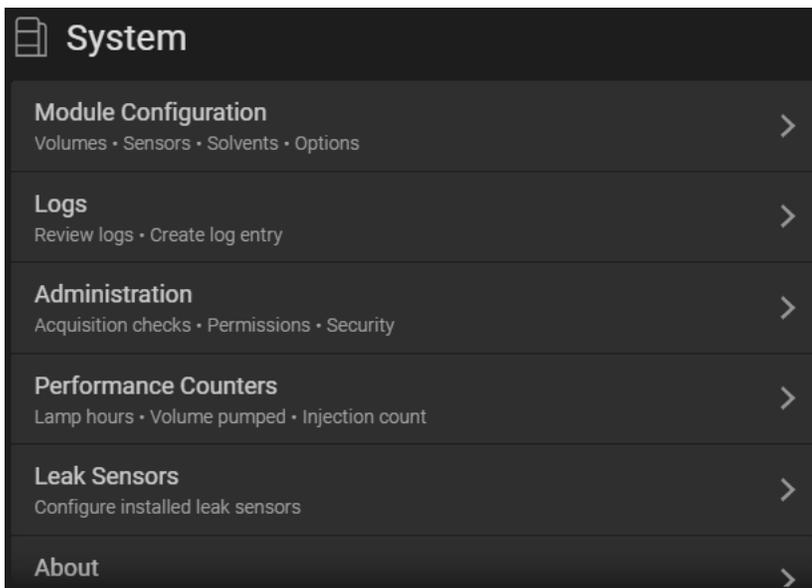
Consultar:

- [Equilibrar el Alliance iS HPLC System \(Página 87\)](#)

3.2.6.7 Vista System de la pantalla táctil

La vista System (Sistema) proporciona diversas acciones que se utilizan para configurar el sistema y proporcionar información sobre el mismo. La siguiente figura muestra la vista del sistema.

Figura 3–19: Vista de sistema (principal)

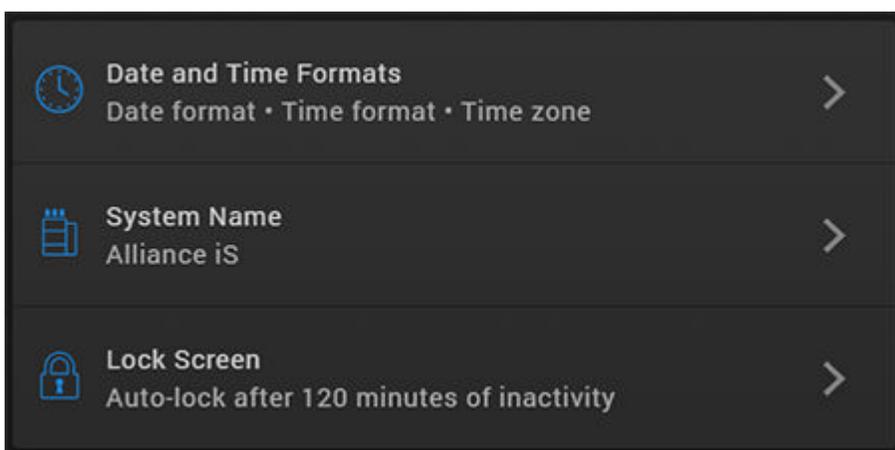


3.2.6.8 Vista de preferencias de la pantalla táctil



En la pantalla de inicio, tocar el icono de preferencias para acceder a la vista Preferencias (Preferencias). La vista de preferencias proporciona ajustes que afectan a la interfaz de usuario de la pantalla táctil, pero no al funcionamiento del sistema. La siguiente figura muestra la vista de preferencias. Los botones **LOCK** (Bloquear) y **DONE** (Listo) están debajo de las preferencias.

Figura 3–20: Vista de preferencias



3.2.6.9 Selección del idioma en la pantalla táctil

Se puede seleccionar el idioma de la pantalla del sistema en la pantalla táctil.

Nota: Este proceso afecta al idioma de la pantalla únicamente en la pantalla táctil y es independiente de la selección del idioma en Empower.

1. Tocar el botón **LANGUAGE** (IDIOMA) en la esquina inferior izquierda de la pantalla de bloqueo del sistema.
2. Tocar para seleccionar el idioma adecuado. De arriba a abajo, las opciones son inglés, chino simplificado, japonés y coreano.

3.2.7 Funciones de Empower

Empower CDS proporciona funciones específicas para el Alliance iS HPLC System. Si se desea obtener más información, consultar los siguientes temas, [Uso previsto del sistema \(Página 11\)](#) y los documentos *Empower online Information System (Sistema de información en línea de Empower)*.

3.2.7.1 Funciones de Alliance iS HPLC System de Empower

Empower presenta las siguientes funciones del sistema:

- El registro de cambios del sistema para auditoría incluye las acciones realizadas en el sistema.
- El sistema envía información sobre el uso de la columna a Empower, que la almacena en las tablas del historial de la columna.
- Empower envía información sobre la muestra actual y el estado de idoneidad del sistema al mismo para su visualización en la pantalla táctil.
- Los usuarios pueden solicitar comprobaciones de validación de muestras por parte del sistema antes del envío y la ejecución. Los problemas resultantes aparecen en el Centro de mensajes.

3.2.7.2 Consola del Alliance iS HPLC System

Se accede a la consola del Alliance iS HPLC System a través del panel de control de Empower. Para mayor comodidad, la consola proporciona parte de la información que aparece en la [vista de inicio \(Página 55\)](#) de la pantalla táctil en la estación de trabajo Empower.

3.2.7.3 Intelligent Method Translator

La aplicación Intelligent Method Translator (iMTA) convierte los métodos que no son de Alliance iS HPLC System en métodos de Alliance iS HPLC System. El proceso de conversión de métodos asigna los parámetros almacenados en los métodos de instrumento de Empower a la configuración del instrumento del sistema. Los métodos de instrumento convertidos se pueden ver en Instrument Method Editor (Editor de métodos de instrumento) de Empower.

Para obtener más información sobre la aplicación Intelligent Method Translator, consultar la *Intelligent Method Translator App User's Guide (Guía del usuario de la aplicación Intelligent Method Translator)* (715008502ES).

4 Preparación del sistema

Esta sección ayuda a preparar el sistema de Waters para su uso. Es fundamental que la configuración sea adecuada para que el funcionamiento del sistema sea el correcto.

4.1 Encender el sistema

El botón de encendido/apagado se encuentra en la puerta frontal del sistema de gestión de muestras.

Después de enchufar el sistema, el indicador LED del botón de encendido parpadeará.

Para encender el sistema:

1. Pulsar el botón de encendido que se encuentra en la puerta frontal del sistema de gestión de muestras.

El indicador LED del botón de encendido se iluminará de forma fija y el sistema se encenderá. Cuando finalice el proceso de encendido, se mostrará la pantalla Idle (Inactivo).

Figura 4–1: Botón de encendido/apagado de Alliance iS



2. Iniciar sesión en el Alliance iS HPLC System. Consultar [Iniciar y cerrar sesión en el Alliance iS HPLC System \(Página 84\)](#).

4.2 Apagar el sistema

El botón de encendido/apagado se encuentra en la puerta frontal del sistema de gestión de muestras.

Para apagar el sistema:

Pulsar el botón de encendido/apagado que se encuentra en la puerta frontal del sistema de gestión de muestras.

El sistema se apagará.

Figura 4–2: Botón de encendido/apagado de Alliance iS



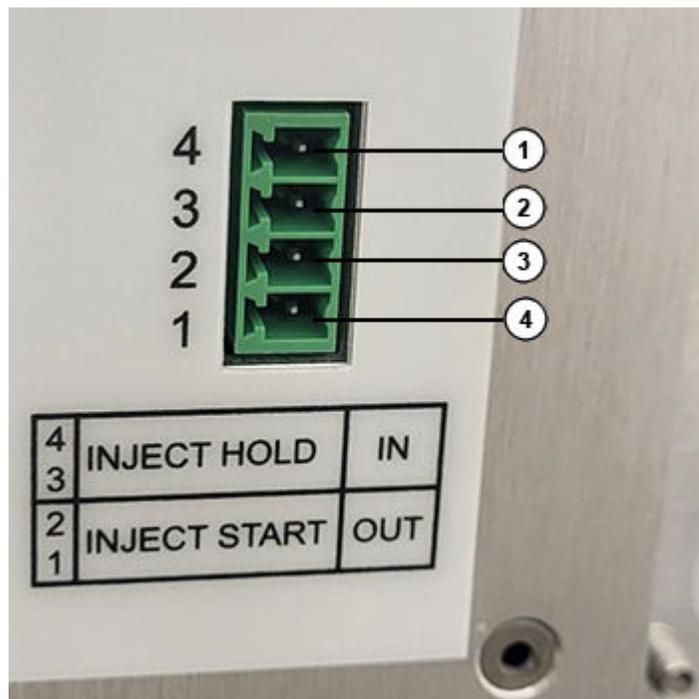
4.3 Conector de señales de entrada y salida (I/O)

El conector de señales de entrada y salida (I/O) proporciona un medio para que el sistema se comuniquen con los componentes de LC externos.

Nota: El conector de señales de entrada y salida (I/O) se ha implementado con la versión 1.1 de Alliance iS HPLC System. Esta información se aplica a los sistemas a partir de la versión 1.1.

El panel posterior del IFM tiene un conector extraíble con los bornes de tornillo para las señales de entrada y salida (I/O). Este conector está adaptado de forma que solo permite insertar los cables de señales de una manera concreta.

Figura 4–3: Conector de señales de entrada y salida (I/O) de Alliance iS



- ① Inject hold (Retener inyección)
- ② Inject hold (Retener inyección)
- ③ Inject start (Inicio de inyección)
- ④ Inject start (Inicio de inyección)

Tabla 4–1: Conexiones analógicas/de eventos de Alliance iS

Conexiones de señales	Descripción
Inject hold (Retener inyección)	Reservada para su uso en el futuro.
Inject start (Inicio de inyección)	Una salida que activa el inicio de otros componentes de LC en el momento de inyección de Alliance iS HPLC System.

4.4 Instalar la columna

Instalar la columna en el CHC antes de analizar las muestras.

Los conectores y los clips de columna están diseñados para utilizarse de forma intuitiva al instalar una columna en el termostatizador de columnas (CHC) Alliance iS.

Nota: Encender el sistema antes de instalar la columna para garantizar la identificación adecuada de la columna de RF cuando la puerta del CHC esté cerrada. Consultar [Encender el sistema \(Página 61\)](#).

1. Abrir la puerta del compartimento de columnas.
2. Mover el clip de la columna inferior según sea necesario para que coincida con el tamaño de la columna.
3. Quitar los tapones de los extremos de entrada y salida de la columna.
4. Orientar la columna de forma que la salida mire hacia arriba (ver la flecha de la columna) y la entrada mire hacia abajo.
5. Enroscar los conectores de los tubos del compartimento de columnas a la entrada y salida de la columna.
6. Insertar la columna en los clips superior e inferior de forma que el clip sujete las roscas expuestas del conector.

Figura 4–4: Columna asentada en el clip de la columna



7. Cerrar la puerta del compartimento de la columna.

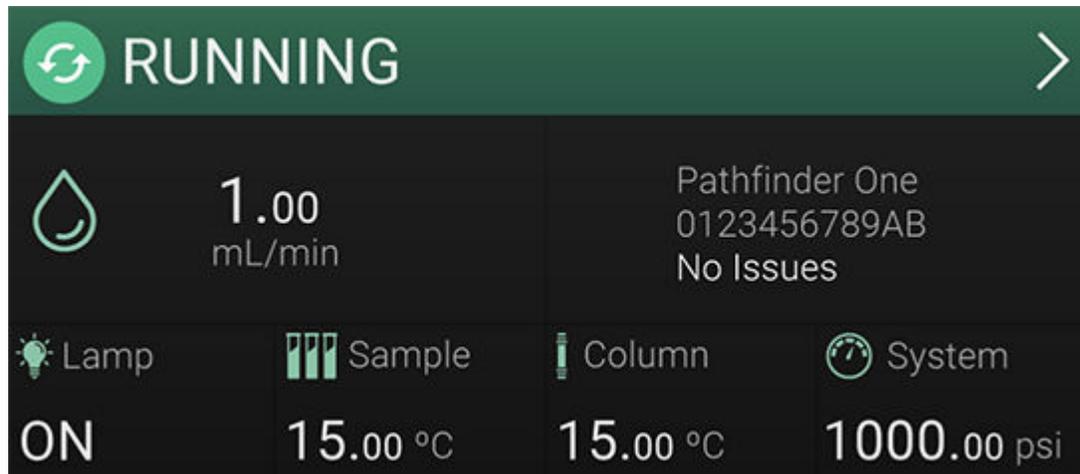
4.5 Abrir la consola desde el software Empower

Después de encender el sistema, abrir la consola desde Empower.

Se puede acceder a la consola desde el panel de estado del sistema Empower.

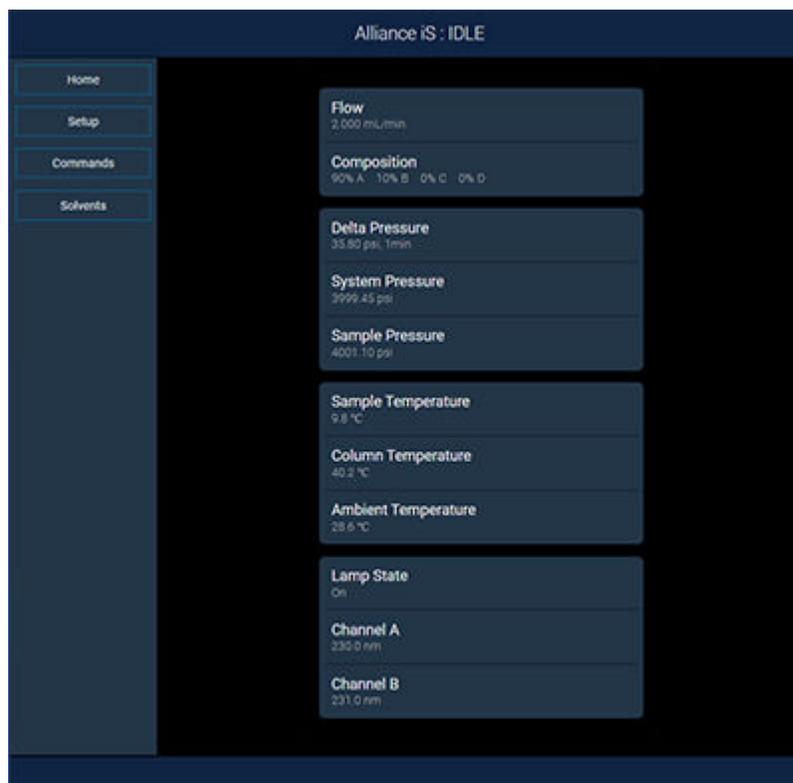
1. En el menú Run Samples (Analizar muestras) de Empower, hacer clic en la flecha de la esquina superior derecha del panel de control del sistema.

Figura 4–5: Iniciar la system console (consola del sistema)



2. Desde la consola, se puede acceder a la configuración y los estados detallados de todas las partes del sistema.

Figura 4–6: System console



4.6 Cebiar el sistema

Después de encender el sistema, se debe cebiar antes de que esté listo para su uso.

Requisito: Es necesario cebiar el sistema después de encenderlo, así como después de cambiar la fase móvil, de sustituir la aguja de muestras o de que el sistema haya pasado cuatro o más horas inactivo.

Requisito: Es necesario instalar una columna antes de cebiar el sistema. Consultar [Instalar la columna \(Página 64\)](#).

Recomendación: Si se van a introducir eluyentes nuevos, cebiarlos a 4 mL/min durante 7 min. De lo contrario, cebiar los eluyentes a 4 mL/min durante 3 min. Asegurarse de que haya una cantidad suficiente de eluyente para el cebado.

Hay varias formas de cebiar el sistema desde la pantalla táctil:

- Tocar **Setup > Startup** (Configuración > Puesta en marcha) para cebiar todos los eluyentes, cebiar el lavado de agujas y el lavado de juntas, y especificar la composición del eluyente, el caudal, las temperaturas de la columna y de la muestra, y la caracterización de la aguja para la siguiente puesta en marcha del sistema.
- Tocar **SETUP > Solvents > Prime Mobile Phase Solvents** (Configuración > Eluyentes > Cebiar eluyentes de la fase móvil) para cebiar la bomba.

- Tocar **HOME** (Inicio), tocar el icono de la botella de eluyente, tocar una tarjeta de estado de la fase móvil y, a continuación, tocar **Prime Solvent** (Cebado eluyente) para cebado una fase móvil individual.
- Tocar **SETUP > Solvents > Prime Sample Metering Pump** (Configuración > Eluyentes > Cebado la bomba dosificadora de muestras) para cebado la bomba dosificadora de muestras.

Indicación: En la pantalla táctil, se puede seleccionar la función **Setup > Startup** (Configuración > Puesta en marcha) para cebado todos los eluyentes, cebado el lavado de la aguja y el lavado de la junta, y especificar la composición del eluyente, el caudal, las temperaturas de la columna y de la muestra, y la caracterización de la aguja para la siguiente puesta en marcha del sistema. Para obtener información detallada, consultar la pantalla táctil.

4.6.1 Cebado el sistema de lavado de las juntas

Cebado el sistema de lavado de las juntas forma parte del flujo de trabajo de la puesta en marcha del sistema en la pantalla táctil.

Cebado el lavado de las juntas en el sistema QSM de Alliance iS para llenar los tubos con eluyente.

Indicación: Una vez cebado, el sistema de lavado de juntas se utiliza para lubricar los émbolos y lavar el eluyente y las sales precipitadas que hayan podido rezumar por las juntas del émbolo, desde el lado de alta presión de las cámaras de pistón.

Cebado el sistema de lavado de las juntas en todas las situaciones siguientes:

- Después de utilizar fase móvil tamponada
- Si la bomba ha estado inactiva durante varias horas o más.
- Cuando la bomba está seca.



Advertencia: Cumplir siempre las buenas prácticas de laboratorio (BPL), en especial cuando se trabaje con materiales peligrosos. Consultar las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets) referentes a los eluyentes utilizados. Además, consultar al responsable de seguridad de la organización acerca de los protocolos de manipulación de dichos materiales.



Advertencia: Para evitar la contaminación personal con compuestos tóxicos o con riesgo biológico, es necesario utilizar siempre guantes limpios, sin polvo y resistentes a productos químicos para realizar este procedimiento.



Advertencia: Para evitar lesiones oculares, utilizar protección ocular al realizar este procedimiento.



Aviso: Para evitar daños en los asientos y las juntas de las válvulas solenoides de la trayectoria de eluyente, no utilizar tampones no volátiles como eluyente de lavado de las juntas.

! **Aviso:** Para evitar obstrucciones en los tubos del sistema, asegurarse de que el eluyente de lavado de juntas sea compatible con las condiciones de la fase móvil.

! **Aviso:** Para evitar la contaminación de los componentes del sistema, no reciclar el lavado de juntas.

Indicación: El sistema de lavado de las juntas realiza el cebado automáticamente. No se puede cebar con una jeringa en condiciones normales de conexión.

Recomendaciones:

- Utilizar una solución de lavado de las juntas que sea totalmente soluble con todos los eluyentes cromatográficos y que contenga al menos un 10 % de eluyente orgánico. Esta concentración evita el crecimiento microbiano y asegura que el lavado de las juntas pueda disolver la fase móvil.
- Antes de cebar el sistema de lavado de juntas, asegurarse de que el volumen de lavado de juntas sea adecuado para el cebado.
- El titanio está sujeto a corrosión en metanol anhidro, lo que se puede evitar añadiendo una pequeña cantidad de agua (~3 %). Es posible una ligera corrosión cuando los porcentajes de amoníaco son superiores al 10 %. Al usar un Alliance iS Bio HPLC System, como alternativa, se pueden extraer los filtros sumergibles de titanio (el sistema pierde la primera línea de protección frente a partículas) o sustituirlos por filtros de acero inoxidable si el análisis no se ve afectado por consideraciones de biocompatibilidad.

Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Gafas protectoras
- Solución de lavado de juntas
- Adaptador de tubos (kit de puesta en marcha)

Para cebar el sistema de lavado de las juntas:

1. Asegurarse de que el tubo de entrada de lavado de juntas se encuentre sumergido en el eluyente de lavado.
2. En la pantalla táctil, tocar **HOME** (Inicio), tocar el icono de la botella de eluyente, tocar la tarjeta de estado de lavado de las juntas y, a continuación, tocar **Prime Solvent** (Cebado eluyente) para cebar el lavado de las juntas.

Nota: También se puede cebar el lavado de las juntas como parte del proceso de puesta en marcha del sistema.

3. En la pantalla táctil, pulsar **Setup > Startup** (Configuración > Puesta en marcha).
4. Seguir el resto de las instrucciones en pantalla para finalizar el proceso de puesta en marcha del sistema.

4.6.2 Cebiar la bomba

Cebiar la bomba forma parte del flujo de trabajo de la puesta en marcha del sistema en la pantalla táctil.

El cebado prepara un nuevo sistema para su uso o para un cambio de recipientes o de eluyentes. También prepara el sistema para reiniciarlo después de que haya estado inactivo durante más de cuatro horas. Durante el cebado, la válvula de purga se mueve a la posición de purga, lo que permite desechar el flujo. Durante el cebado, el caudal es de 10 mL/min.

Recomendación: Asegurarse de que todos los eluyentes de los recipientes de eluyente A, B, C y D estén llenos y sean miscibles.

! **Aviso:** Para evitar que las sales se precipiten en el sistema, introducir un eluyente intermedio, como agua, al cambiar de tampones a eluyentes con contenido altamente orgánico. Consultar las tablas de miscibilidad de eluyentes del apartado Consideraciones generales sobre los eluyentes de la guía del sistema.

Asegurarse de que los recipientes de eluyente contengan suficiente eluyente para un cebado adecuado, y el posterior funcionamiento del sistema, y de que el recipiente de desechos tenga capacidad para todo el volumen de eluyente usado. Por ejemplo, a 10 mL/min, dos minutos de cebado utilizan aproximadamente 20 mL de cada eluyente.



Advertencia: Para evitar derrames, se recomienda vaciar regularmente el recipiente de desechos.

Requisito: Cebiar todos los tubos de eluyente con eluyente para asegurarse de que el desgasificador y la válvula generadora de gradientes funcionan correctamente.

4.6.2.1 Cebiar una bomba seca a través de la pantalla táctil

Cebiar la bomba forma parte del flujo de trabajo de la puesta en marcha del sistema en la pantalla táctil.

Para cebiar una bomba seca a través de la pantalla táctil:

1. Abrir la puerta frontal de la bomba.

Nota: La puerta de la bomba es la puerta inferior del sistema.

2. Localizar el conducto para residuos de eluyente de la válvula de purga de 0,062 pulgadas situado en el lado izquierdo del compartimento de la bomba, anidado en el bisel izquierdo. Dejar el conducto para residuos de eluyente de la válvula de purga de 0,062 pulgadas sumergido en los residuos del proceso por ahora.

Figura 4–7: Ubicación del tubo de purga de eluyente



① Tubo de purga de eluyente

3. En la pantalla táctil, tocar **Setup > Solvents > Prime Mobile Phase Solvents** (Configuración > Eluyentes > Cebear eluyentes de la fase móvil) y seguir las indicaciones que aparecen en la pantalla.
4. En la pantalla Prime Solvent by Solvent Line (Cebear eluyente por tubo de eluyente), tocar **Prime Solvent A** (Cebear eluyente A), **Prime Solvent B** (Cebear eluyente B), **Prime Solvent C** (Cebear eluyente C), y/o **Prime Solvent D** (Cebear eluyente D).
5. Seguir el resto de las instrucciones en pantalla para finalizar el proceso de cebado.
6. Mientras se realiza el cebado, levantar el conducto para residuos de la válvula de purga de 0,062 pulgadas del colector de desechos del proceso, dejando al descubierto el extremo. Se debería ver un flujo constante de eluyente después de cinco minutos. Dirigir cualquier flujo hacia la parte superior de la cubierta de desechos del proceso (colector) para evitar derrames. Si no hay flujo, monitorizar los tubos de entrada de eluyente A, B, C y D para determinar si están llenos de eluyente.

Indicación: Cuando salga un flujo continuo de eluyente del tubo de purga, se habrá cebado el circuito.

Requisito: Asegurarse de que queda suficiente eluyente en las botellas de eluyente para los métodos que se van a utilizar después.

4.6.3 Cebear el sistema de gestión de muestras

Cebear el sistema de gestión de muestras forma parte del flujo de trabajo de la puesta en marcha del sistema en la pantalla táctil.

El cebado llena el sistema de lavado con eluyente de lavado o la trayectoria de inyección con fase móvil. El sistema debe cebarse para realizar las siguientes tareas:

- Preparar un nuevo sistema de gestión de muestras para su funcionamiento
- Preparar el sistema de gestión de muestras para el funcionamiento si ha estado inactivo durante más de 24 horas.
- Cambiar el eluyente de lavado
- Eliminar las burbujas de los tubos

Asegurarse de que la composición del eluyente de lavado sea correcta, y de que sea de calidad LC-MS y miscible con los demás eluyentes utilizados en el sistema. Utilizar filtros en todas las botellas de eluyente y asegurarse de que contienen el volumen suficiente para el cebado.

Nota: Se puede cebar el lavado de las juntas o el de las agujas tocando la tarjeta de estado correspondiente en el panel de estado del sistema. También se puede cebar el lavado de las juntas, el de las agujas y la bomba dosificadora de muestras como parte del flujo de trabajo de puesta en marcha del sistema. Tocar **Setup > Startup** (Configuración > Puesta en marcha) y seguir el resto de las instrucciones en pantalla para finalizar el proceso de puesta en marcha del sistema.

Para cebar la bomba dosificadora de muestras y el eluyente de lavado:

1. En la pantalla táctil, tocar **Setup > Solvents > Prime Sample Metering Pump** (Configuración > Eluyentes > Cebado bomba dosificadora de muestras) y seguir las indicaciones que aparecen en la pantalla.
2. Seguir el resto de las instrucciones en pantalla para finalizar el proceso de puesta en marcha del sistema.

4.7 Elegir los loops de extensión

Un loop de extensión afecta el volumen de inyección y la presión del sistema. Asegurarse de seleccionar el loop correcto para la aplicación.

Los loops de extensión, que aumentan el volumen de muestra aspirada y retenida para la inyección, son componentes opcionales del sistema de inyección. Se instalan entre la aguja y el transductor de presión.

Tabla 4–2: Los siguientes loops de extensión están disponibles para utilizarse en el sistema de gestión de muestras

Tamaño del loop ^a
50 µL
100 µL - estándar

- a. Los tamaños de loops mostrados se corresponden con el tamaño máximo de inyección que admite el mismo. Por ejemplo, el loop de 100 µL admite inyecciones de hasta 100 µL.

4.8 Instalar y sustituir los loops de extensión

Agregar un loop de extensión al sistema de gestión de muestras para añadir un volumen de inyección adicional para muestras más grandes. Sustituir un loop de extensión según sea necesario para compensar un volumen de inyección total diferente.



Advertencia: Para evitar la contaminación personal con compuestos tóxicos o con riesgo biológico, es necesario utilizar siempre guantes limpios, sin polvo y resistentes a productos químicos para realizar este procedimiento.



Advertencia: Para evitar lesiones oculares, utilizar protección ocular al realizar este procedimiento.

Herramientas y materiales necesarios

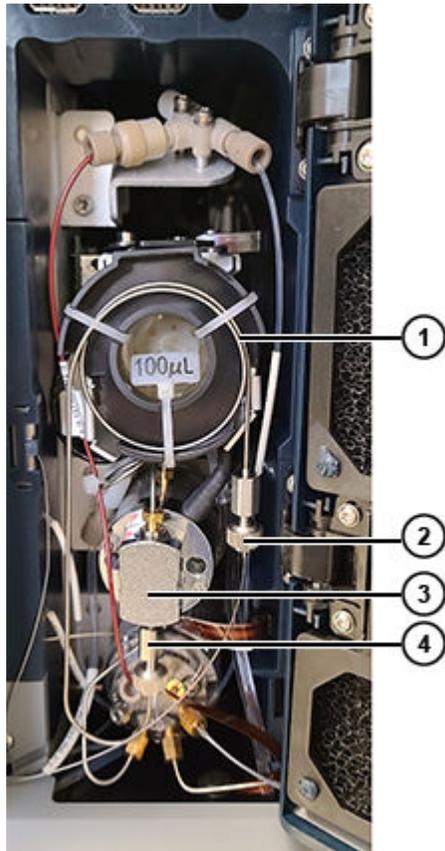
- Kit de loop de extensión
- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Gafas protectoras

4.8.1 Instalar un loop de extensión en un sistema de válvula única

En un sistema de válvula única, el loop de extensión se instala entre el transductor de presión y la aguja de muestra.

1. Si el flujo del sistema está en funcionamiento, detener el flujo. En la pantalla táctil, pulsar **COMMANDS** (Comandos) y luego, el botón de pausa junto a **Flow is On** (Flujo activado).
2. Abrir la puerta del sistema de fluidos del sistema de gestión de muestras.

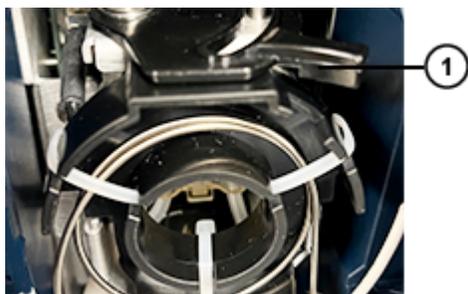
Figura 4–8: Sistema de válvula única



- ① Loop de extensión con soporte
- ② Conector de ajuste sin herramientas de la aguja de muestra
- ③ Puerto del conector del cable
- ④ Conector del adaptador del TFF

3. Desconectar el conector de ajuste sin herramientas (TFF) ② que está conectado al loop de extensión y a la aguja de muestra. No es necesario quitar el conector del adaptador del TFF ④ del transductor de presión.

Figura 4–9: Cierre del loop de extensión



① Cierre del loop de extensión

- Empujar el cierre del loop de extensión ① hacia atrás para liberar el soporte del loop de extensión y extraerlo del sistema de gestión de muestras.
- Instalar un loop de extensión de diferente tamaño entre el conector adaptador del TFF ④ y la aguja de muestras. No es necesario quitar el conector del adaptador del TFF ④ del transductor de presión.
- Empujar el cierre del loop de extensión hacia delante para fijar el soporte del loop de extensión en el sistema de gestión de muestras.
- En la pantalla táctil, tocar **System > Module configuration** (Sistema > Configuración de módulos) y seguir las indicaciones que aparecen en la pantalla para especificar la configuración del volumen del loop de extensión.
- En la pantalla táctil, pulsar **Setup > Startup** (Configuración > Puesta en marcha) y seguir las instrucciones en pantalla para cebar y preparar el sistema para su uso.

4.9 Modificar los parámetros de configuración del loop de extensión y la aguja

La aguja y el loop de extensión deben configurarse correctamente en la pantalla táctil para evitar errores o problemas de rendimiento del sistema.

Para modificar el volumen de la aguja o el loop de extensión:

- En la pantalla táctil, pulsar **System > Module configuration** (Sistema > Configuración de módulos) y, a continuación, pulsar el botón del sistema de gestión de muestras  .
- Seguir el resto de indicaciones en pantalla para seleccionar la configuración correcta del tamaño del loop de extensión.

4.10 Elegir el valor de ajuste de posición de la aguja

Si la aguja se coloca demasiado alto, es posible que no extraiga suficiente muestra. Si la aguja se coloca demasiado baja, aumenta el riesgo de introducir residuos o precipitados en el sistema de fluidos.

La posición de la aguja es la distancia vertical desde la punta de la aguja de muestra hasta el fondo del vial de muestra. El ajuste predeterminado de posición de la aguja evita que esta llegue al fondo del vial.

! **Aviso:** Para evitar dañar la aguja, se deben seguir las pautas indicadas en esta sección, asegurarse de que la aguja esté calibrada y utilizar el ajuste adecuado de posición de la aguja para las placas o viales de muestra con los que se trabaje.

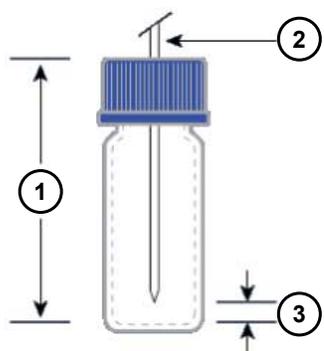
Se puede cambiar la configuración de la posición predeterminada de la aguja en dos lugares del software: en la ficha **Dilution** (Dilución) del editor de métodos de instrumento del sistema de gestión de muestras y en el cuadro de diálogo **Advanced Settings** (Configuración avanzada).

Tabla 4–3: Ajustes predeterminados de posición de la aguja

Tipo de placa	Por defecto
48 viales	4,0 mm (automático)
Todas las demás placas	2,0 mm

Nota: Los valores predeterminados de posición de la aguja indicados en la tabla anterior representan las dimensiones especificadas en **3**, en la figura siguiente.

Figura 4–10: Aguja de muestra en el vial



- 1** Profundidad del vial
- 2** Aguja de muestra
- 3** Distancia desde la punta de la aguja de muestra hasta el fondo del vial de muestra

4.11 Crear un nuevo tipo de placa

Crear placas de muestras estándar o personalizadas para utilizarlas en los métodos de secuencia de muestras. Configurar los tipos de placas correctamente en Empower para evitar que las agujas se doblen.

Consultar *Empower online Information System (Sistema de información en línea de Empower)* para obtener instrucciones sobre cómo crear un nuevo tipo de placa.

4.11.1 Crear un nuevo tipo de placa usando un tipo de placa existente como plantilla

Comenzar con un tipo de placa existente como plantilla puede ahorrar tiempo en comparación con la creación de un tipo de placa completamente nuevo.

Consultar *Empower online Information System (Sistema de información en línea de Empower)* para obtener instrucciones sobre cómo crear un nuevo tipo de placa usando un tipo de placa existente como plantilla.

4.12 Configuración avanzada

El sistema tiene varios ajustes configurables por el usuario adecuados para el usuario avanzado.

Esta sección incluye varias configuraciones avanzadas disponibles con el Alliance iS HPLC System.

4.12.1 Elegir una velocidad de aspiración para la jeringa de muestra

Si la velocidad de aspiración elegida es demasiado alta, puede aparecer un mensaje de "Drawing sample rate excessive" (Velocidad excesiva de aspiración de la muestra).

Se puede cambiar la configuración de la velocidad de aspiración en el editor de métodos del instrumento.

4.12.2 Recuperar la máxima cantidad de muestra de los viales

La configuración incorrecta del sistema puede afectar negativamente a la cantidad de muestra que se extrae del vial.

El sistema tiene una función de detección del fondo del vial opcional. Cuando está habilitado, el sistema sondeará el fondo del vial y luego retrocederá ligeramente para que la aguja quede muy cerca del fondo.

La definición predeterminada de la placa ANSI (48 viales) para los viales Maximum Recovery (Recuperación máxima) de 2 mL puede dejar cierta cantidad de muestra en el vial. Si se debe

recuperar la máxima cantidad de muestra posible, activar la función de detección del fondo del vial.

Consultar también: Para obtener información sobre cómo habilitar la función de detección del fondo del vial, consultar [Configurar un método \(Página 107\)](#).

Consultar también: El folleto Waters Sample Vials and Accessories (Viales de muestras y accesorios de Waters), en www.waters.com.

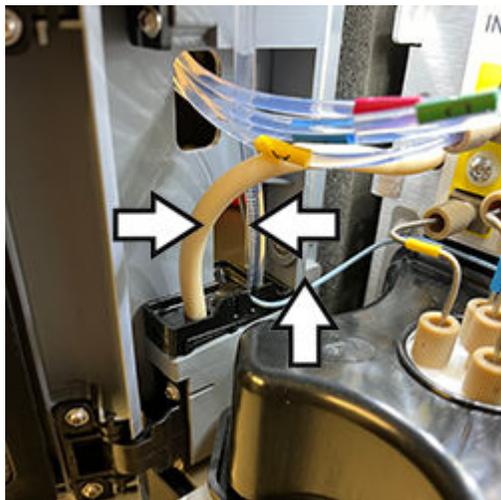
4.13 Separar los residuos de condensación de los residuos de LC

La separación de los residuos de condensación de los residuos de LC permite al usuario desechar los residuos químicos por separado.

Los Alliance iS Systems se envían con los tubos de residuos de condensación y de LC dirigidos a un solo puerto de residuos en la parte frontal del sistema.

1. Abrir la puerta del compartimento de la bomba.
2. Extraer los tubos del conducto de residuos (ver las flechas) de la cazoleta de drenaje.

Figura 4–11: Tubos de la cazoleta de drenaje del compartimento de la bomba



3. Levantar la cazoleta de drenaje.

Figura 4–12: Levantar la cazoleta de drenaje



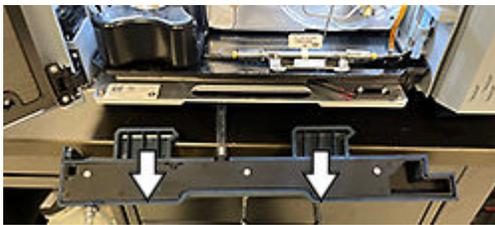
4. Quitar el tornillo (ver la flecha) del lado izquierdo que sujeta la bandeja de drenaje.

Figura 4–13: Tornillo de la bandeja de drenaje



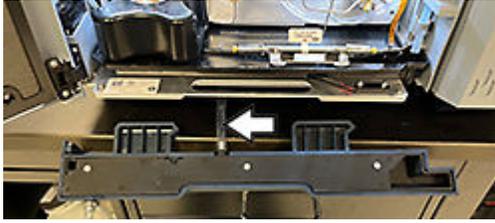
5. Tirar de la bandeja de drenaje hacia delante.

Figura 4–14: Tirar de la bandeja de drenaje hacia delante



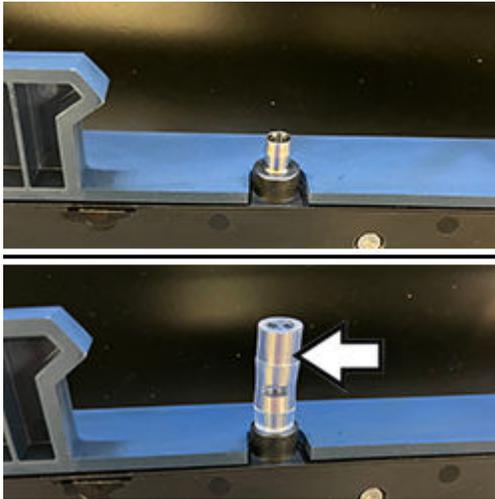
6. Extraer los tubos de la bandeja de drenaje.

Figura 4–15: Extraer los tubos de la bandeja de drenaje



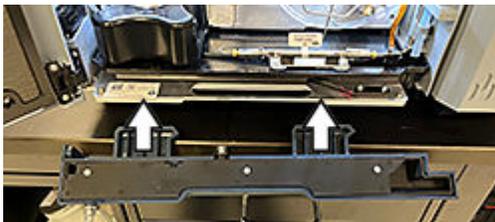
7. Instalar el tapón (ver la flecha) en el conector dentado de la bandeja de drenaje.

Figura 4–16: Instalar el tapón de la bandeja de drenaje



8. Extraer los tubos de la bandeja de drenaje de la parte posterior del sistema y redirigirlos alrededor de la parte exterior del sistema hacia la parte frontal.
9. Volver a introducir la bandeja de drenaje.

Figura 4–17: Introducir la bandeja de drenaje



10. Volver a instalar la cazoleta de drenaje.

Figura 4–18: Instalar la cazoleta de drenaje



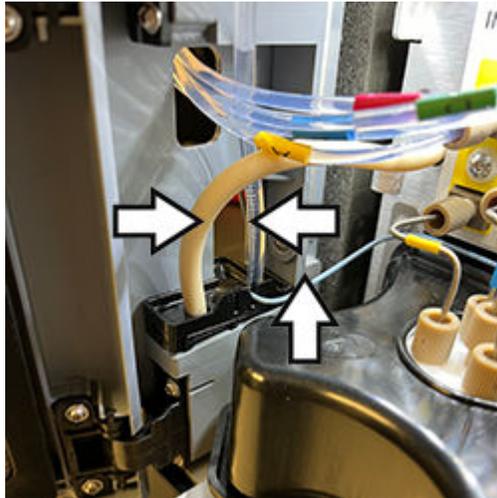
11. Instalar el tornillo (ver la flecha) en el lado izquierdo que sujeta la bandeja de drenaje.

Figura 4–19: Tornillo de la bandeja de drenaje



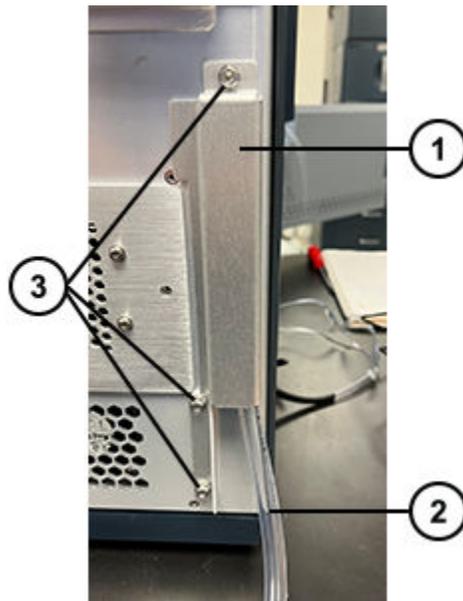
12. Volver a colocar los tubos del conducto de residuos (ver las flechas) en la cazoleta de drenaje.

Figura 4–20: Tubos de la cazoleta de drenaje del compartimento de la bomba



13. Si el conducto de residuos de condensación no es lo suficientemente largo para llegar al contenedor de residuos:
 - a. Quitar los tres tornillos y la cubierta de la parte posterior del sistema que cubre el conducto de residuos de condensación.

Figura 4–21:



- ① Cubierta del conducto de residuos de condensación
- ② Conducto de residuos de condensación

③ Tornillos

- b. Extraer el conducto de residuos de condensación (ver la flecha) de la cazoleta de drenaje del SHC (termostatizador de muestras).

Figura 4–22: Desconectar el conducto de residuos de condensación



- c. Instalar un conducto nuevo lo suficientemente largo como para conectarse a los residuos y conectarlo a la parte posterior del sistema.
- d. Volver a instalar los tres tornillos y la cubierta en la parte posterior del sistema que cubre el conducto de residuos de condensación.
- e. Conectar el conducto nuevo a un recipiente de residuos de condensación adecuado. Para evitar que quede aire atrapado en el conducto, asegurarse de que el tubo esté recto.

5 Gestión de métodos

El Alliance iS HPLC System puede ejecutar métodos de instrumento en proyectos de Empower que se traducen mediante la aplicación Intelligent Method Translator (iMTA). Consultar [Intelligent Method Translator \(iMTA\) \(Página 60\)](#), que especifica los sistemas cuyos métodos de instrumento se pueden traducir.

5.1 Transferir métodos

El Alliance iS HPLC System puede producir resultados comparables a los obtenidos en muchos otros sistemas de HPLC. Sin embargo, al mover un método regulado de un sistema a otro, normalmente no se pueden realizar modificaciones en el método del instrumento. Por ejemplo, el tipo de columna (diámetro) especificado para un método transferido no se puede cambiar. Incluso con el mismo tipo de columna, es posible que los resultados no siempre sean idénticos. Si hay una diferencia significativa en el tiempo de retención, el volumen de permanencia se puede compensar ajustando el inicio del gradiente en relación con la inyección. Los efectos exteriores a la columna también se pueden modificar.

Consultar el documento técnico Dwell Volume and Extra-Column Volume: What Are They and How Do They Impact Method Transfer (*Volumen de permanencia y el volumen extracolumna: ¿Qué son y cómo afectan a la transferencia de métodos?*, 720005723EN) en www.waters.com.

5.2 Medir el volumen de permanencia

Al transferir un método de LC de gradiente, se pueden obtener tiempos de retención comparables midiendo el volumen de permanencia en ambos sistemas. El volumen de permanencia es el volumen del sistema entre el punto en el que se forma el gradiente y la entrada de la columna.

Se puede medir el volumen de permanencia utilizando el punto medio de un gradiente de 0-100 %. Para ello, ejecutar un gradiente entre dos eluyentes idénticos, A y B, añadiendo un marcador al eluyente B. Realizar la medición después de configurar el sistema sin la columna para el método de instrumento que se está transfiriendo, [sustituir la columna \(Página 172\)](#) por un limitador de volumen bajo para garantizar el funcionamiento correcto de la bomba.

Consultar también: "Measuring system volume for methods transfer" (Medir el volumen del sistema para la transferencia de métodos) en el *Empower online Information System (Sistema de información en línea de Empower)*.

6 Análisis de rutina diaria

El Alliance iS HPLC System ayuda a realizar de forma eficaz los análisis de rutina diarios al proporcionar capacidades de hardware avanzadas, una pantalla táctil intuitiva y conectividad con Empower CDS. En esta sección, se proporcionan instrucciones.

6.1 Iniciar y cerrar sesión en el Alliance iS HPLC System

Se puede desbloquear el sistema en el quiosco, o bloquearlo sin apagarlo, iniciando o cerrando sesión.

Para iniciar sesión en el sistema y, a continuación, bloquearlo y cerrar sesión:

1. Observar la pantalla Idle (Inactivo), que muestra que el sistema está bloqueado.
2. Deslizar hacia arriba en la pantalla táctil. Aparecerá la vista [Home view \(Página 55\)](#) (Inicio).
3. Realizar el trabajo hasta que se esté listo para cerrar sesión.
4. Pulsar el botón **Preferences** (Preferencias) en la esquina superior derecha de la pantalla táctil.
5. Tocar el botón **Lock** (Bloquear) en la parte inferior de la pantalla Preferences (Preferencias).
6. Tocar el botón **SIGN OUT** (Cerrar sesión).
Aparecerá la notificación «SIGN OUT displays the lock page. You will be signed out in *n* seconds» (CERRAR SESIÓN muestra la página de bloqueo. La sesión se cerrará en *n* segundos). Al finalizar, el sistema se bloquea y pasa al estado IDLE (Inactivo).

6.2 Puesta en marcha del hardware y el software

Cuando el hardware del Alliance iS HPLC System esté funcionando, iniciar el software Empower.

Para iniciar el hardware y el software:

1. Desbloquear o encender el Alliance iS HPLC System. (Si el sistema está apagado, consultar [Encender el sistema \(Página 61\)](#)).
2. En la pantalla táctil, tocar el botón **Commands** (Comandos) en el panel de la izquierda. Aparecerá la vista [Commands \(Página 58\)](#) (Comandos).
3. Asegurarse de que el estado de **Detector Lamp** (Lámpara del detector) es *Lamp is on* (La lámpara está encendida) o *Lamp is warming* (La lámpara se está calentando).

Si el estado es `Lamp is off` (La lámpara está apagada), mantener pulsado el botón de la bombilla mientras el temporizador cuenta hacia atrás. A continuación, esperar a que el estado cambie de `Lamp is warming` (La lámpara se está calentando) a `Lamp is on` (La lámpara está encendida).

Nota: Esperar 30-60 minutos para que se caliente la lámpara del detector. Por este motivo, es preferible utilizar el comando **Detector Lamp** (Lámpara del detector) para encender la lámpara a encenderla durante el proceso de configuración.

4. Iniciar Empower en la estación de trabajo.
5. Abrir Run Samples (Analizar muestras).
El panel de control de Empower se inicia automáticamente en el panel de estado.
6. Desde el panel de control, iniciar la consola del Alliance iS HPLC System haciendo clic en la flecha hacia la derecha en la esquina superior derecha.
Desde la consola, se puede acceder a la configuración, los diagnósticos y los estados detallados de todas las partes del sistema.
7. Si es necesario, abrir el proyecto de Empower que requiere el análisis.

6.3 Configurar eluyentes

Los eluyentes de la fase móvil y el lavado de juntas, el lavado de la aguja y los eluyentes de purga se configuran antes de realizar el equilibrado.



Advertencia: Para evitar la contaminación personal con compuestos tóxicos o con riesgo biológico, es necesario utilizar siempre guantes limpios, sin polvo y resistentes a productos químicos para realizar este procedimiento.



Advertencia: Para evitar lesiones oculares, utilizar protección ocular al realizar este procedimiento.

Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Gafas protectoras
- Botellas de eluyente limpias

Para configurar eluyentes:

1. Preparar los eluyentes en las botellas limpias según sea necesario para el método.

Nota: Puede haber hasta cuatro líneas de eluyentes de fase móvil, identificadas por el sistema como A, B, C y D. Prestar especial atención a cómo se indican los eluyentes en el proyecto, dado que sus identificadores determinan qué línea de eluyente conectar a

cada botella. Los eluyentes de lavado de juntas, lavado de agujas y purga tienen líneas dedicadas, pero es posible que un método especifique el llenado de una botella con la misma preparación que una botella de fase móvil.

Si es necesario, obtener las especificaciones de eluyentes para el método del PNT o del proyecto de Empower.

2. Girar cada una de las botellas de eluyente:
 - a. Quitar el tapón y el tubo de eluyente de la botella que se va a sustituir.
 - b. Retirar esa botella de la bandeja.
 - c. Pasar el tubo cuya etiqueta de identificación corresponda al eluyente a través de la abertura del tapón de repuesto e instalar el tapón en la botella.
 - d. Colocar esa botella en la bandeja como se muestra en la siguiente figura.

Figura 6–1: Botellas de eluyente conectadas



3. Desde la pantalla táctil, configurar el cebado inicial de los tubos de eluyente como se describe en [Equilibrar el Alliance iS HPLC System \(Página 87\)](#).

Nota: Si es necesario cebar los tubos de eluyente fuera del flujo de trabajo de equilibrado, volver a la pantalla Home (Inicio) y seleccionar el flujo de trabajo adecuado en la pantalla Setup > Solvents (Configuración > Eluyentes).

Consultar:

- [Cebar el sistema de lavado de las juntas \(Página 67\)](#)
- [Cebar la bomba \(Página 69\)](#)
- [Cebar el sistema de gestión de muestras \(Página 70\)](#)
- [Consideraciones sobre los eluyentes \(Página 179\)](#)
- [Sustituir los filtros de las botellas de eluyente \(Página 111\)](#)

6.4 Instalar o sustituir la columna

Instalar o sustituir la columna necesaria para el método después de colocar las botellas de eluyente llenas en la bandeja para que la fase móvil anterior no pueda pasar a través de la columna nueva.

Para instalar la columna, seguir las instrucciones que se indican en [Instalar la columna \(Página 64\)](#).

Para sustituir la columna, seguir las instrucciones que se indican en [Sustituir la columna \(Página 172\)](#).

6.5 Equilibrar el Alliance iS HPLC System

El equilibrado prepara el sistema para una adquisición de datos precisa. Ejecutar el flujo de trabajo de equilibrado cuando el sistema esté inactivo durante cuatro horas o más, o después de cambiar la fase móvil o la aguja de muestra.

Para equilibrar el sistema:

1. En la pantalla táctil, hacer clic en **Commands** (Comandos) para ver la [vista Commands \(Página 58\)](#) (Comandos).
2. Asegurarse de que el estado de **Detector Lamp** (Lámpara del detector) sea `Lamp is on` (La lámpara está encendida). Esperar el tiempo que sea necesario.

Nota: Esperar 30-60 minutos para que se caliente la lámpara del detector. Por este motivo, es preferible utilizar el comando **Detector Lamp** (Lámpara del detector) para encender la lámpara a encenderla durante el siguiente proceso de configuración.

3. Cuando el estado de la lámpara cambie a `Lamp is on` (La lámpara está encendida), volver a la vista [Home \(Página 55\)](#) (Inicio) y tocar **Setup** (Configuración) para ver la vista [Setup \(Página 56\)](#) (Configuración).
4. Tocar **Startup (Puesta en marcha)** y seguir las instrucciones que aparecen en la pantalla. Las acciones incluyen:
 - a. Cebiar la fase móvil
 - b. Cebiar los eluyentes de lavado
 - c. Configurar las temperaturas de las muestras y los puntos de comprobación
 - d. Encender la lámpara del detector
 - e. Configurar el caudal, la composición y la duración
5. Revisar la configuración en la pantalla Summary (Resumen) y pulsar **Start** (Iniciar) para continuar con el equilibrado.

El mensaje `System Startup In progress` (Puesta en marcha del sistema en curso) aparece en la pantalla Status (Estado) mientras se está ejecutando el equilibrado. Cuando finaliza el equilibrado, el sistema está listo para el trabajo de rutina.

6.6 Preparar y cargar muestras

El sistema de gestión de muestras admite tres placas o bandejas que cumplen con las normas ANSI/SBS, que se cargan por la puerta del compartimento de muestras. Las placas de pocillos, las bandejas de viales, los viales y las alfombrillas de cierre o tapas de sellado que cumplen con los estándares ANSI específicos están aprobados y son necesarios para su uso con el sistema. La carga incorrecta de las placas o bandejas puede provocar un error.



Advertencia: Para evitar la contaminación personal con compuestos tóxicos o con riesgo biológico, es necesario utilizar siempre guantes limpios, sin polvo y resistentes a productos químicos para realizar este procedimiento.



Advertencia: Para evitar lesiones oculares, utilizar protección ocular al realizar este procedimiento.

Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Gafas protectoras

Para preparar y cargar muestras:

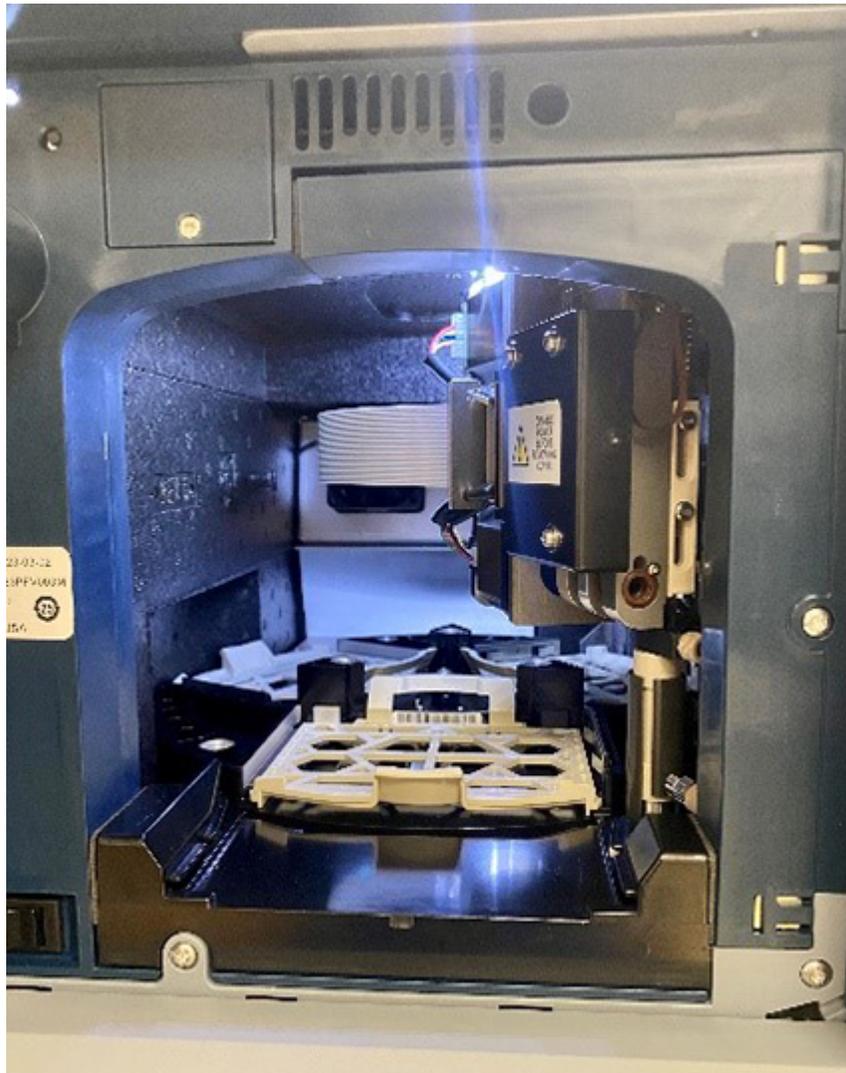
1. Preparar las muestras como se especifica para el método.
2. Llenar las placas o bandejas de muestras como se especifica para el método. Se prefieren los viales de Waters.

Consultar [Recomendaciones sobre viales y placas \(Página 107\)](#).

Indicación: Las posiciones de viales V1 a V12, localizadas en los lados derecho e izquierdo de la bandeja de muestras, pueden contener viales de 4 mL. Se debe contactar con Waters para obtener información sobre microinsertos para viales de 2 mL.

3. Abrir la puerta del compartimento del sistema de gestión de muestras para acceder a la plataforma como se muestra en la figura.

Figura 6–2: Plataforma del sistema de gestión de muestras



4. Pulsar el interruptor del selector de bandeja/placa en la esquina inferior izquierda del sistema de gestión de muestras según sea necesario para seleccionar la posición 1, 2 o 3.

Excepción: Si se pulsa el interruptor del selector cuando se está ejecutando una función de diagnóstico, se está cebando el sistema de gestión de muestras, o la aguja de muestra está accediendo a la bandeja de muestras, realizando una inyección o se está limpiando, la luz del compartimento del sistema de gestión de muestras parpadea de manera continua y no cambia la posición de la placa. El interruptor vuelve a funcionar cuando el sistema de gestión de muestras finaliza la tarea en curso.

5. Tirar del marco hasta la posición seleccionada sujetándolo por el asa.
6. Cargar la placa o bandeja en el marco extendido. La bandeja debe quedar plana.

Indicación: En el caso de las bandejas, “A” representa la fila y “1” representa la posición del vial.

Figura 6–3: Bandejas cargadas en la plataforma de muestras

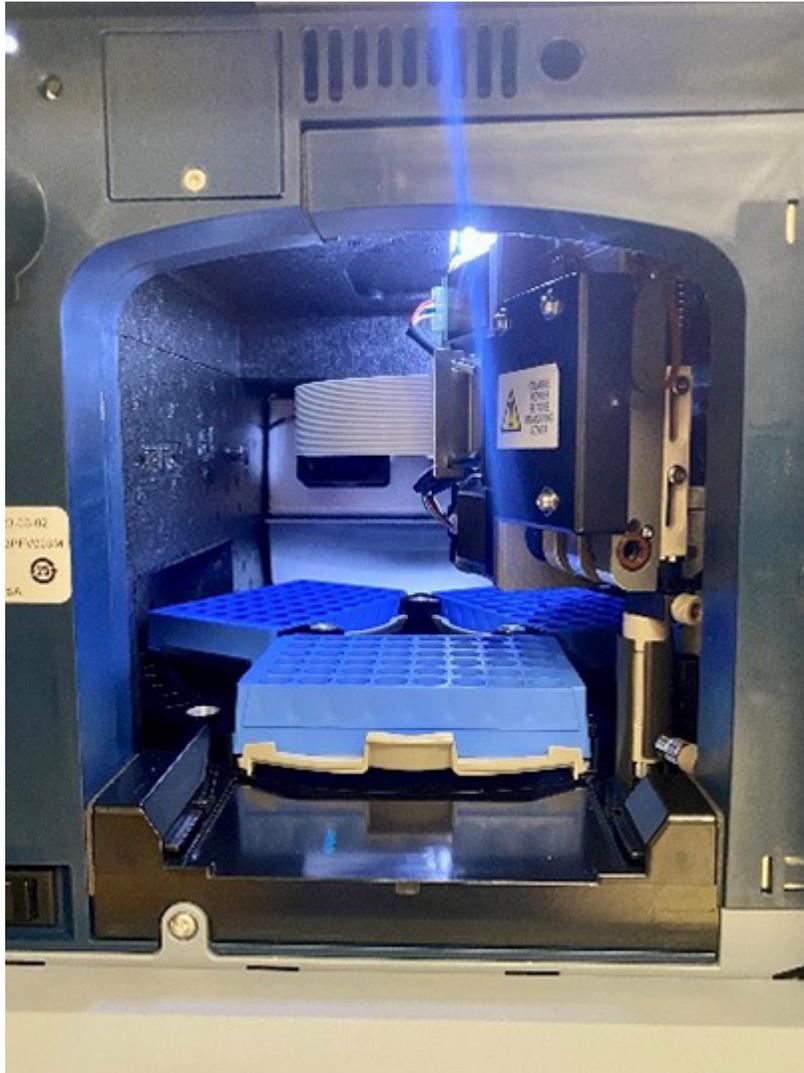
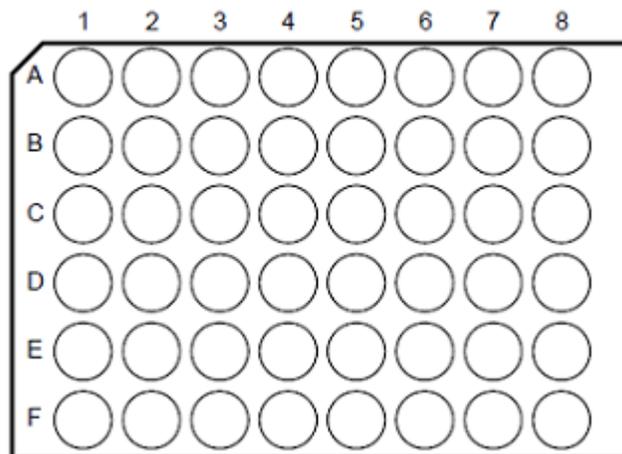


Figura 6–4: Posiciones de los viales en la placa de muestras



7. Deslizar la placa o la bandeja hacia atrás para introducirla en su sitio hasta que se escuche un clic.



Aviso: Para evitar dañar la aguja de muestras, las placas de muestra deben colocarse correctamente y la bandeja de muestras debe estar bien fija.

8. Repetir los pasos anteriores para cada placa o bandeja.
9. Cerrar la puerta del compartimento de muestras.

6.7 Verificar el estado y las condiciones del sistema

Verificar el estado y las condiciones del sistema antes de comenzar a adquirir datos, periódicamente durante el día y siempre que surjan problemas.

6.7.1 Comprobaciones de adquisición de datos

Los responsables del laboratorio pueden configurar comprobaciones de adquisición de datos previas y simultáneas al análisis para minimizar errores comunes. La pantalla táctil facilita la interfaz para configurar las comprobaciones. Desde la pantalla Home (Inicio), la ruta al flujo de trabajo es **System > Administration > Acquisition Checks** (Sistema > Administración > Comprobaciones de adquisición). La pantalla Acquisition Checks (Comprobaciones de adquisición) ofrece **Pre-Run Checks** (Comprobaciones previas a la ejecución) y **Run-Time Checks** (Comprobaciones de tiempo de ejecución).

Nota: Esta función funciona con Empower 3.8.0 y versiones posteriores.

La adquisición de datos puede continuar cuando se pasan todas las comprobaciones activas antes del análisis. Las comprobaciones pueden incluir:

- **Column must be installed** (La columna debe estar instalada): Comprueba si hay una columna instalada en el termostizador de columnas, pero solo si se utiliza una columna de Waters con una etiqueta legible.
- **Column must match method** (La columna debe coincidir con el método): Comprueba si la columna instalada es adecuada en función del método seleccionado, pero solo si se utiliza una columna de Waters con una etiqueta legible.
- **No pending preventative maintenance** (Sin mantenimiento preventivo pendiente): Comprueba la fecha establecida en **Preventative Maintenance > Set Preventative Maintenance** (Mantenimiento preventivo > Establecer mantenimiento preventivo).
- **System is qualified** (El sistema está cualificado): Comprueba la fecha establecida en **Administration > System Qualification > Set the System Qualification** (Administración > Cualificación del sistema > Establecer la cualificación del sistema) Esta fecha debe estar respaldada por documentación y resultados de pruebas válidos y, por lo general, se actualiza cuando un ingeniero de Waters vuelve a cualificar el sistema. La adquisición de datos no puede continuar si la cualificación ha caducado.

- **Mobile phase is not expired** (La fase móvil no ha caducado): Comprueba la fecha de cada uno de los eluyentes de la fase móvil (A, B, C, D) utilizados por el método.
- **Sample plates must be installed (Se deben instalar placas de muestras):**
- **Sample plates must match method (Las placas de muestras deben coincidir con el método)**
- **All vials present (Todos los viales están presentes)**

La adquisición de datos se detiene cuando las comprobaciones de tiempo de ejecución detectan problemas seleccionados mientras se analizan los conjuntos de muestras. Las comprobaciones pueden incluir:

- **Mobile phase is low** (El nivel de la fase móvil es bajo): Cuando el nivel de llenado de cualquier botella de eluyente de la fase móvil sea inferior al 10 %.
- **Wash solvent is low** (El nivel del eluyente de lavado es bajo): Cuando el nivel de llenado de cualquier botella de eluyente de lavado sea inferior al 10 %.
- **Leak is detected** (Fuga detectada): Esta opción está siempre activada. La comprobación de los sensores de fuga de la bomba, la columna, el detector o el sistema de gestión de muestras está controlada por **System > Leak Sensors** (Sistema > Sensores de fuga).
- **Vial is missing** (Falta el vial): Esta opción está siempre activada. La comprobación en busca de viales en las ubicaciones especificadas para el conjunto de muestras es automática.

6.7.2 Monitorizar desde la pantalla táctil

La pantalla táctil proporciona información sobre el estado y las condiciones del sistema. Por ejemplo, la barra de estado de la parte superior de la pantalla táctil indica si el Alliance iS HPLC System está procesando muestras en ese momento. Cuando el sistema está encendido y no está en funcionamiento, el panel muestra el estado Idle (Inactivo) y el color de la pantalla es azul. Cuando el sistema está en funcionamiento, el panel muestra el estado Running (En funcionamiento) y el color de la pantalla es verde. El rojo indica un estado de error.

La vista [Home \(Página 55\)](#) (Inicio) de la pantalla táctil muestra las condiciones actuales del sistema, como temperaturas, presiones y recuentos de inyecciones.

La vista [Health \(Página 57\)](#) (Estado) de la pantalla táctil proporciona algunas herramientas de resolución de problemas.

6.7.3 Monitorizar desde el panel de control de Empower

Se puede monitorizar el Alliance iS HPLC System desde el panel de control de Empower CDS, que aparece en la parte inferior de la ventana Run Samples (Analizar muestras) y también se puede iniciar a través del menú QuickStart. El panel de control muestra las condiciones clave del sistema, como el estado, la temperatura y la presión.

Nota: Los valores del panel de control de Empower son de solo lectura.

6.7.4 Monitorizar desde la consola del Alliance iS HPLC System

Se accede a la consola del Alliance iS HPLC System desde el panel de control de Empower. La consola muestra los valores actuales (o más recientes) de los parámetros, incluidas las temperaturas y presiones, de la siguiente manera:

Nota: No se puede cambiar la configuración a través de la consola. La configuración se cambia en la pantalla táctil o cargando un método.

Figura 6–5: System console



Flow	2.000 mL/min
Composition	100% A 0% B 0% C 0% D
Delta Pressure	39.62 psi, 1min
System Pressure	4002.66 psi
Sample Pressure	3998.70 psi
Sample Temperature	20.3 °C
Column Temperature	19.9 °C
Ambient Temperature	21.4 °C
Lamp State	On
Channel A	200.0 nm
Channel B	230.0 nm

6.7.5 Adquirir datos

Para adquirir datos cromatográficos del sistema Alliance iS, preparar y analizar la secuencia de muestras en Empower. Consultar la sección Data Acquisition, Acquiring Data (Adquisición de datos, Adquirir datos) en el *Empower online Information System (Sistema de información en línea de Empower)*.

6.8 Revisar los resultados

Revisar los resultados de la secuencia de muestras en Empower. Consultar la sección Data Analysis (Análisis de datos) en el *Empower online Information System (Sistema de información en línea de Empower)*.

6.9 Imprimir el informe

Generar e imprimir el informe para los datos de secuencia de muestras en Empower. Consultar la sección Report Generation (Generación de informes) en el *Empower online Information System (Sistema de información en línea de Empower)*.

6.10 Preparar el apagado del Alliance iS HPLC System

Nota: Consultar [Apagar el sistema \(Página 62\)](#) para obtener más información relacionada con el apagado.

1. En la pantalla táctil, pulsar **SETUP** (Configuración) para ver la [vista de configuración \(Página 56\)](#).
2. Tocar **Shutdown** (Apagar) y seguir las instrucciones que aparecen en pantalla para completar los siguientes pasos. Esto es lo que se puede hacer:
 - a. Configurar la temperatura de muestra y el valor programado
 - b. Configurar la temperatura de la columna y el valor programado
 - c. Configurar el caudal y la composición
 - d. Configurar el estado de la lámpara
3. Revisar la configuración en la pantalla Summary (Resumen) y pulsar **Start** (Iniciar) para continuar.
4. Pulsar **Done** (Listo).

El apagado continúa ejecutándose en segundo plano a menos que se produzca un error.

6.10.1 Apagado durante menos de 24 horas

Durante tiempos de inactividad cortos (menos de 24 h), mantener el flujo de eluyente para que la celda de flujo siga estando limpia.

Si van a transcurrir unas horas hasta la inyección siguiente, reducir el caudal mientras tanto a unas décimas de mL/min para conservar el eluyente. Mantener el detector en funcionamiento y el horno para columnas a la temperatura de funcionamiento durante este periodo.

Para apagar el sistema durante menos de 24 horas:

1. Seguir bombeando la mezcla de fase móvil inicial a través de la columna. Esto evita la acumulación de contaminantes en la celda de flujo y mantiene el equilibrio de la columna necesario para una buena reproducibilidad del tiempo de retención.
2. Para prolongar la vida útil de la lámpara, apagar la lámpara del detector tocando **COMMANDS > UV Detector Lamp** (COMANDOS > Lámpara del detector UV).

Aparece `Power off Lamp` (Apagar la lámpara) en la pantalla.

6.10.2 Apagado durante más de 24 horas

Si no se enjuaga el sistema/detector antes de apagarlo, la celda de flujo puede obstruirse.

Para apagar el detector durante más de 24 horas:

1. Apagar la lámpara del detector tocando **COMMANDS > UV Detector Lamp** (COMANDOS > Lámpara del detector UV).
Aparece `Power off Lamp` (Apagar la lámpara) en la pantalla.
2. Eliminar los tampones salinos y los aditivos mediante un lavado con agua.
3. Enjuagar la columna y la celda de flujo con eluyente orgánico puro al 100 %.

7 Optimización del funcionamiento

Revisar los siguientes temas relacionados con la optimización del rendimiento del Alliance iS HPLC System:

- [Directrices generales \(Página 96\)](#)
- [Evitar fugas \(Página 98\)](#)
- [Configurar un método \(Página 107\)](#)
- [Consideraciones acerca de la cámara de muestras \(Página 107\)](#)
- [Recomendaciones sobre viales y placas \(Página 107\)](#)
- [Duración del ciclo entre inyecciones \(Página 108\)](#)
- [Maximizar la vida útil de la columna \(Página 108\)](#)

7.1 Directrices generales

Al realizar un análisis de HPLC, seguir estas recomendaciones generales:

- Utilizar eluyentes, soluciones tampón y aditivos de alta calidad (específicos para HPLC o MS).
- Utilizar agua de alta calidad (específica para HPLC o MS).
- Utilizar siempre filtros de eluyente en los tubos de las botellas de eluyentes.
- Filtrar las soluciones tampón con un filtro de membrana de 0,45 µm.
- Almacenar las soluciones concentradas para preparar las soluciones de trabajo y, para prolongar su duración, refrigerarlas cuando no se utilicen.
- No añadir solución tampón nueva a la antigua (práctica conocida como "relleno"). Esto puede favorecer el crecimiento microbiano.
- Mantener cebados todos los conductos de eluyente.
- Lavar para eliminar las soluciones tampón del sistema cuando no se esté utilizando; tener cuidado de evitar el uso de eluyentes que puedan precipitar o reaccionar de alguna otra forma.
- Utilizar un eluyente orgánico al 10 %-20 % en agua como eluyente de almacenamiento, si el sistema va a permanecer inactivo durante más de 24 horas.
- Mantener el conducto del lavado de juntas cebado.
- Vigilar el nivel del recipiente de desechos para asegurarse de que puede admitir todo el volumen de desechos esperado.

Para obtener información sobre cómo prevenir y eliminar la contaminación, consultar *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Prácticas recomendadas para el control de la contaminación en sistemas LC/MS)* (715001307ES) en el sitio web de Waters (www.waters.com).

7.1.1 Arrastre

Se observa arrastre en los sistemas cromatográficos cuando un analito inyectado con anterioridad aparece como un pico en el cromatograma de las siguientes muestras.

El arrastre se suele producir cuando una pequeña cantidad de analito permanece en el sistema después de inyectar una muestra. El arrastre se puede medir mediante la observación de los picos de analito que aparecen cuando se analiza un blanco de muestra justo después de una muestra analítica.

Se especifica que el arrastre de muestras en el sistema Alliance iS es del 0,002 % como máximo.

Una causa frecuente del arrastre es el lavado inadecuado del sistema, especialmente de la aguja de muestra. La selección de un eluyente de lavado adecuado puede reducir el arrastre para un análisis particular (consultar las [Directrices sobre los eluyentes de purga y de lavado \(Página 188\)](#)). El eluyente de lavado debe ser lo suficientemente fuerte como para disolver cualquier resto de muestra de la aguja y la duración del lavado debe ser la suficiente como para eliminar los residuos del sistema.

Las condiciones de los métodos también pueden afectar al arrastre. Un tiempo de retención demasiado corto en las condiciones finales de un gradiente puede producir un fallo a la hora de eliminar todos los analitos del sistema o de la columna, en particular si el gradiente es brusco. Es importante lavar por completo el sistema y volver a equilibrar la columna antes de proceder a un siguiente análisis.

Para intentar minimizar el arrastre, se han de tener en cuenta factores adicionales como la hidrofobicidad y la solubilidad de las muestras, así como la limpieza durante la preparación de las muestras y la contaminación procedente de las herramientas de preparación de las muestras.

Indicación:

- Hacer una prueba con la muestra en el eluyente de lavado para asegurarse de que no cause la precipitación del analito ni de la matriz.

7.1.1.1 Reducir el arrastre

Si no se siguen las directrices especificadas, puede producirse un arrastre no deseado entre las inyecciones.

En un sistema cromatográfico, cualquier sustancia que produzca picos no deseados o un ruido de fondo excesivo se considera contaminación. La contaminación cruzada, un tipo específico de contaminación, se produce cuando el material de la muestra que queda en el sistema después de una inyección aparece como picos en inyecciones posteriores, dificultando la cuantificación.

Para optimizar el rendimiento del sistema, hay que reducir al mínimo la contaminación cruzada y mantenerla en un nivel aceptable (con frecuencia por debajo de los límites de detección).

Nota: El arrastre puede producirse a partir de interacciones entre columnas o en el sistema. Se puede identificar el arrastre de la columna realizando un doble gradiente en la columna. Si se observa arrastre en el segundo gradiente, se recomienda lavar la columna con un eluyente fuerte.

La contaminación cruzada puede deberse a la instalación incorrecta de tubos, conectores y otras piezas, o al uso de eluyentes de lavado ineficaces. Seguir estos pasos para reducir el contaminación cruzada:

- Restringir el uso del loop de extensión a un solo sistema.
- Asegurarse de que todas las conexiones de los tubos estén correctamente asentadas. Antes de apretar los tornillos de compresión, el tubo debe asentarse correctamente (sin espacios internos) dentro de todos los puertos de conexión. Las conexiones mal asentadas crean espacios vacíos innecesarios que retienen muestra, lo cual aumenta la contaminación cruzada. (Consultar [Evitar fugas \(Página 98\)](#)).
- Inspeccionar la guía de la aguja para descartar la presencia de residuos de muestras o restos, que pueden provocar contaminación cruzada. Si es necesario, limpiar o sustituir la guía.
- Evitar los sistemas de sellado de placas o viales que utilicen sustancias pegajosas que puedan causar contaminación cruzada.
- Si se sospecha interacción de la muestra con el material de la aguja, aumentar la concentración del eluyente de lavado o aumentar el tiempo de lavado.
- Al seleccionar los eluyentes de lavado, seguir estas [Directrices sobre los eluyentes de purga y lavado \(Página 188\)](#).

Consultar también: Para obtener más información sobre el control de la contaminación en los sistemas cromatográficos, consultar el documento *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Prácticas recomendadas para el control de la contaminación en sistemas LC/MS)* (715001307ES) en el sitio web de Waters (www.waters.com).

7.2 Evitar fugas

Evitar fugas durante un análisis asegura una presión de flujo adecuada en el sistema y la integridad de la muestra.

Las fugas se pueden producir en cualquier conexión de los tubos, en la junta metálica o en otras juntas, pero son más frecuentes en las conexiones de los tubos. Las fugas de baja presión (en el lado de entrada de la bomba del sistema de gestión de eluyentes) producen pérdida de eluyente e introducción de aire durante el ciclo de entrada. Las fugas en los conectores de alta presión (después de las válvulas de retención) pueden hacer que salga eluyente, pero no que entre aire.

Para evitar fugas, se deben seguir las recomendaciones de Waters para apretar correctamente las conexiones del sistema. Hay que tener en cuenta que la técnica que se utiliza para volver a apretar los conectores es distinta a la que se emplea para instalarlos por primera vez.

7.2.1 Recomendaciones para la instalación de los conectores

Reducir el riesgo de fugas en la conexión de los tubos siguiendo las recomendaciones de Waters. Además, asegurarse de que se utilicen los conectores adecuados, debidamente apretados, tal como se describe.

En el sistema se utilizan tres tipos de conjuntos de conectores:

- Poliéteretercetona (PEEK), polímero
- Acero inoxidable (SST), chapado en oro
- Conectores sin herramientas (TFF)



Advertencia: Cumplir siempre las buenas prácticas de laboratorio (BPL), en especial cuando se trabaje con materiales peligrosos. Consultar las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets) referentes a los eluyentes utilizados. Además, consultar al responsable de seguridad de la organización acerca de los protocolos de manipulación de dichos materiales.



Advertencia: Para evitar la contaminación personal con materiales con riesgo biológico, es necesario utilizar siempre guantes limpios, sin polvo y resistentes a compuestos químicos para realizar este procedimiento.

Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Gafas protectoras
- Llave fija de 1/4 pulg.: para apretar o aflojar los conectores SST (chapados en oro) con una férula de dos piezas
- Rotulador permanente

Al conectar los tubos, tener en cuenta las siguientes recomendaciones a la hora de instalar y apretar los conectores:

- Antes de apretar los tornillos de compresión, asegurarse de que el tubo esté completamente asentado en el fondo del puerto de conexión.
- Para facilitar el acceso, es conveniente utilizar tornillos de compresión largos para acoplar los tubos al inyector y a la válvula de purga.
- Siempre que durante una tarea de mantenimiento se aflojen los conectores, hay que examinarlos para ver si tienen grietas, roscas forzadas o deformaciones.

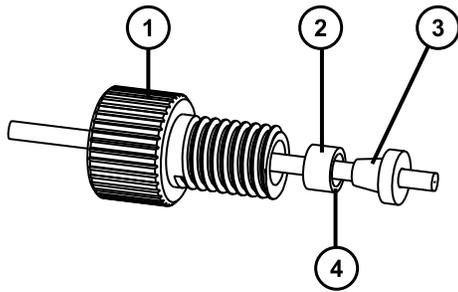
- Siempre que se aflojen o sustituyan los conectores durante el mantenimiento, realizar la prueba de fugas del sistema de gestión de eluyentes (consultar la ayuda online del sistema).
- A excepción de los que no requieren herramientas, no reutilizar los conectores de acero inoxidable más de seis veces.

7.2.1.1 Conector corto o largo 1/4-28 con férula sin ensanchamiento y anillo de bloqueo de acero inoxidable

Apretar manualmente el conector.

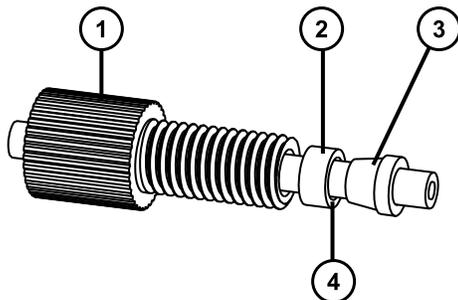
Importante: Los conectores cortos están diseñados para utilizarse con tubos de 1/16 pulg. de diámetro externo. Los conectores largos están diseñados para utilizarse con tubos de 1/8 pulg. de diámetro externo.

Figura 7-1: Conector corto 1/4-28 con férula sin ensanchamiento y anillo de bloqueo de acero inoxidable, primer uso o reinstalación



- ① Tornillo de compresión
- ② Anillo de bloqueo
- ③ Férula
- ④ Extremo del anillo de bloqueo con diámetro interno más grande

Figura 7-2: Conector largo 1/4-28 con férula sin ensanchamiento y anillo de bloqueo de acero inoxidable, primer uso o reinstalación



- ① Tornillo de compresión

- ② Anillo de bloqueo
- ③ Férula
- ④ Extremo del anillo de bloqueo con diámetro interno más grande

7.2.1.2 Tapón de clavija de alta presión

Este tipo de conector se utiliza para tapar un puerto no utilizado o, en algunos casos, para comprobar la presión del sistema.

Apretar manualmente el conector de clavija, más 1/6 de vuelta aproximadamente con una llave.

Figura 7-3: Tapón de clavija de alta presión, primer uso o reinstalación

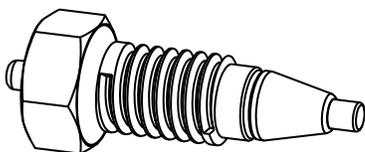
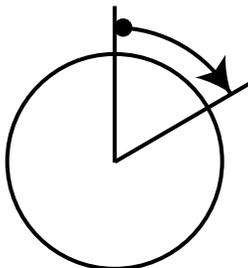


Figura 7-4: Apriete del tapón de clavija de alta presión, primer uso o reinstalación



7.2.1.3 Conector metálico con caras planas cortas o largas y férula metálica de dos piezas (V-detail)

El procedimiento para apretar los conectores metálicos difiere en el caso de los conectores nuevos frente a los reutilizados.

Para evitar fugas, consultar las siguientes recomendaciones de esta guía:

- Consultar [Evitar fugas \(Página 98\)](#) y [Recomendaciones para la instalación de los conectores \(Página 99\)](#).
- Para obtener instrucciones detalladas para montar los conectores nuevos, consultar [Montar los conectores metálicos nuevos \(Página 104\)](#).

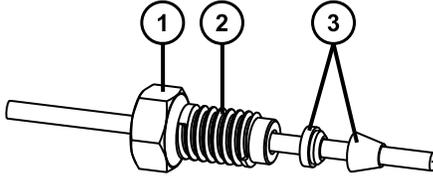
! **Aviso:** Antes de apretar los tornillos de compresión, asegurarse de que el tubo esté completamente asentado en el fondo del puerto de conexión.

! **Aviso:** Se aplican diferentes técnicas para instalar conectores nuevos y volver a apretar los conectores usados anteriormente.

Primer uso

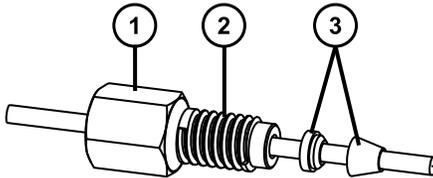
! **Aviso:** Apretar manualmente el conector, más 3/4 de vuelta adicionales con la llave fija de 1/4 pulg.

Figura 7–5: Conector metálico con caras planas cortas y férula metálica de dos piezas, primer uso



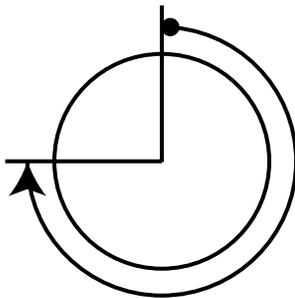
- ① Caras planas cortas
- ② Tornillo de compresión
- ③ Férula metálica de dos piezas

Figura 7–6: Conector metálico con caras planas largas y férula metálica de dos piezas, primer uso



- ① Caras planas largas
- ② Tornillo de compresión
- ③ Férula de dos piezas

Figura 7–7: Conector metálico con caras planas cortas o largas y férula metálica de dos piezas, apriete en el primer uso

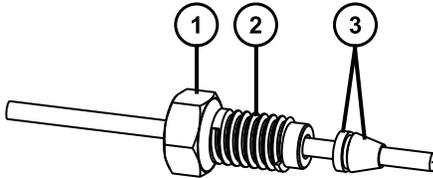


Reinstalación

! **Aviso:** Para obtener el mejor rendimiento, solo volver a instalar esta conexión en el mismo puerto del que se retiró.

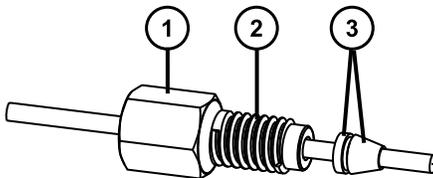
Apretar manualmente el conector un máximo de 1/6 de vuelta adicional con una llave fija de 1/4 pulg.

Figura 7–8: Conector metálico con caras planas cortas y férula metálica de dos piezas, reinstalación



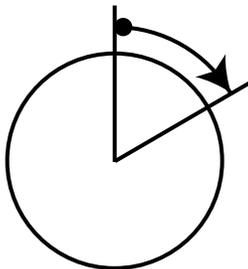
- ① Caras planas cortas
- ② Tornillo de compresión
- ③ Férula metálica de dos piezas

Figura 7–9: Conector metálico con caras planas largas y férula metálica de dos piezas, reinstalación



- ① Caras planas largas
- ② Tornillo de compresión
- ③ Férula de dos piezas

Figura 7–10: Conector metálico con caras planas cortas o largas y férula metálica de dos piezas, apriete en la reinstalación



7.2.1.3.1 Montar los conectores metálicos nuevos

Para garantizar un montaje correcto, es necesario marcar los conectores metálicos nuevos antes de apretarlos.



Advertencia: Para evitar lesiones oculares, utilizar protección ocular al realizar este procedimiento.



Aviso: Para evitar la contaminación de los componentes del sistema, se deben utilizar guantes limpios, sin polvo y resistentes a compuestos químicos al realizar este procedimiento.

Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Gafas protectoras
- Llave fija de 1/4 pulg., para conectores metálicos con férulas de dos piezas
- Rotulador permanente

Para montar un conector metálico nuevo:

1. Introducir el extremo de un tubo en el extremo hexagonal del tornillo de compresión.
2. Introducir el tubo en el extremo grande de la férula.
3. Introducir el tubo en el puerto de conexión.
4. Girar el tornillo de compresión en sentido horario para introducirlo en el puerto de conexión hasta que quede apretado manualmente.



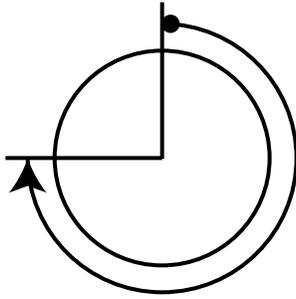
Aviso: Antes de apretar los tornillos de compresión, asegurarse de que el tubo esté completamente asentado en el fondo del puerto de conexión.

5. Con el rotulador permanente, marcar el tornillo de compresión en la posición de las 12 en punto.
6. Con el rotulador permanente, marcar el puerto de conexión en la posición de las 9 en punto.
7. Asegurarse de que el tubo esté en contacto con el fondo del puerto de conexión y después utilizar la llave fija de 1/4 pulg. para girar el tornillo de compresión en sentido horario 3/4 de vuelta hasta que las dos marcas queden alineadas.



Aviso: Antes de apretar los tornillos de compresión, asegurarse de que el tubo esté completamente asentado en el fondo del puerto de conexión.

Figura 7–11: Conector nuevo, apriete de primer uso



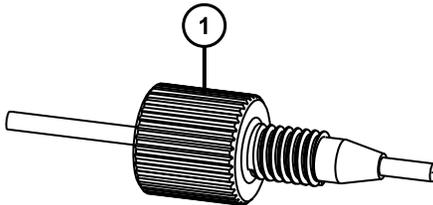
7.2.1.4 Conector de PEEK de una pieza

Apretar manualmente el conector.

Indicación: El uso de la herramienta de extensión para tuercas de aluminio sin ensanchamiento (incluida en el kit de puesta en marcha del sistema) ayudará a lograr el apriete adecuado de este conector.

! **Aviso:** Antes de apretar los tornillos de compresión, asegurarse de que el tubo esté completamente asentado en el fondo del puerto de conexión.

Figura 7–12: Conector de PEEK de una pieza, primer uso o reinstalación



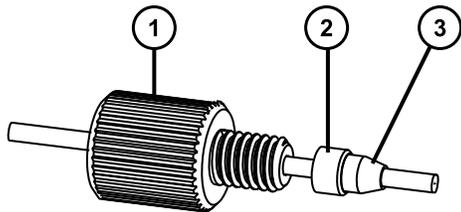
① Tornillo de compresión

7.2.1.5 Conector de PEEK con férula de PEEK y anillo de bloqueo de acero inoxidable

Apretar manualmente el conector.

! **Aviso:** Antes de apretar los tornillos de compresión, asegurarse de que el tubo esté completamente asentado en el fondo del puerto de conexión.

Figura 7–13: Conector de PEEK con férula de PEEK y anillo de bloqueo de acero inoxidable, primer uso o reinstalación

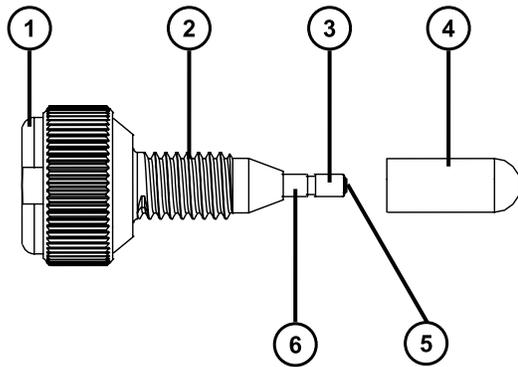


- ① Tornillo de compresión
- ② Anillo de bloqueo
- ③ Férula

7.2.1.6 Conector de ajuste sin herramientas

Apretar manualmente el conector.

Figura 7–14: Primer uso o reinstalación del TFF



- ① Tapón de retención
- ② Tornillo de compresión
- ③ Abrazadera de ajuste
- ④ Tapón protector
- ⑤ Junta de sellado de la cubierta
- ⑥ Conjunto del tubo soldado

7.3 Configurar un método

Se crea un nuevo método con el software Empower del sistema.

(Consultar [Sistema de gestión de métodos \(Página 83\)](#) para obtener información sobre la medición del volumen de permanencia y la transferencia de métodos).

En la ventana de inicio de Empower:

1. Hacer clic en **Browse Projects** (Examinar proyectos).
2. En el menú principal, hacer clic en **File > New Method** (Archivo > Nuevo método) y, a continuación, hacer clic en **Instrument Method** (Método de instrumento), **Processing Method** (Método de procesamiento) o **Method Set** (Conjunto de métodos).
3. Especificar los parámetros del método.

7.4 Consideraciones acerca de la cámara de muestras

Cuando la puerta del sistema de gestión de muestras está abierta, existe la posibilidad de hacerse daño. Tener cuidado.



Advertencia: Para evitar heridas por punción, se recomienda mantener las manos y la ropa holgada alejadas del mecanismo del conjunto de la aguja mientras esté en movimiento. Hay que tener en cuenta que la luz interior del sistema de gestión de muestras parpadeará si la puerta del compartimento de muestras está abierta y el mecanismo del conjunto de la aguja está a punto de moverse.

7.5 Recomendaciones sobre viales y placas

La selección incorrecta de los viales y las placas de muestras puede ocasionar problemas en el funcionamiento y el rendimiento del sistema.

Se recomienda seguir estas pautas de uso para los viales y las placas de muestras en el sistema de gestión de muestras:

- Viales
 - Utilizar solamente viales certificados por Waters.
 - Asegurarse de que los portaviales cumplan las normas ANSI/SBS.
- Placas
 - Utilizar únicamente placas y alfombrillas de cierre aprobadas por Waters.
 - Al seleccionar un nuevo proveedor de placas, especialmente en el caso de las placas de 384 pocillos, medir el tamaño de la placa para confirmar la compatibilidad con las especificaciones de Waters para el sistema de gestión de muestras.

- Para evitar que las placas se deformen, no se deben centrifugar.
- Tener en cuenta que las placas que contienen muestras con altas concentraciones de eluyentes orgánicos pueden producir resultados variables a temperatura ambiente o a temperaturas superiores, debido a la evaporación del eluyente.
- Cubiertas
 - Utilizar películas de termosellado sobre las placas de muestras siempre que sea posible.
 - Utilizar alfombrillas de cierre/tapas de sellado y tapones de viales preperforados. El uso de cubiertas y tapones de viales que no estén preperforados puede causar obstrucciones en los conductos de drenaje del lavado.
 - Para evitar el vertido de muestras o daños en la aguja, solo deben utilizarse cubiertas aprobadas por Waters en los viales de muestras.

Consultar también: Folleto *Waters Sample Vials and Accessories (Viales de muestras y accesorios de Waters)* (720001818ES), o visitar https://www.waters.com/nextgen/es/es/products/vials--plates--and-certified-containers.html?icid=hm-fea_00512 para obtener información sobre placas y viales.

7.6 Duración del ciclo entre inyecciones

La velocidad de aspiración de la muestra afecta a la duración del ciclo.

La duración del ciclo se puede reducir configurando una velocidad de aspiración adecuada que permita la máxima producción y el máximo rendimiento.

7.7 Maximizar la vida útil de la columna de LC

Para obtener la máxima vida útil de la columna, seguir en todo momento las recomendaciones del fabricante.

Importante: Para mejorar en gran medida la vida útil y el rendimiento de la columna, se recomienda obtener y seguir las pautas y los intervalos de funcionamiento del fabricante para la temperatura de la columna, el pH de la fase móvil y los aditivos del tampón.

! **Atención:** Cuando se utilice Alliance iS Bio HPLC System a un pH superior a 10, asegurarse de utilizar el kit opcional para pH alto. Para obtener asistencia adicional, ponerse en contacto con Waters.

8 Mantenimiento

En este capítulo se proporcionan procedimientos de mantenimiento para el Alliance iS HPLC System que los usuarios o el personal de Servicio técnico de Waters pueden realizar.

8.1 Consultar la información sobre el Alliance iS HPLC System

En la pantalla táctil, pulsar **System** > **About** (Sistema > Acerca de). En la pantalla About (Acerca de), se puede seleccionar información de **HARDWARE** o **SOFTWARE**.

8.2 Seguridad y manejo



Advertencia: Cumplir siempre las buenas prácticas de laboratorio (BPL), en especial cuando se trabaje con materiales peligrosos. Consultar las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets) referentes a los eluyentes utilizados. Además, consultar al responsable de seguridad de la organización acerca de los protocolos de manipulación de dichos materiales.



Advertencia: Para evitar descargas eléctricas, no quitar los paneles de protección del dispositivo. El usuario no debe manipular ningún componente en su interior.



Aviso: Para evitar dañar los circuitos y componentes eléctricos, no se debe desconectar nunca un componente eléctrico mientras el módulo esté conectado a la corriente eléctrica. Para interrumpir por completo el suministro eléctrico, situar el interruptor de encendido/apagado en la posición "Off" (Apagado) y después desenchufar el cable de alimentación de la toma de CA. Esperar 10 segundos antes de desconectar cualquier componente.

8.3 Configurar advertencias de mantenimiento

Las advertencias sobre fechas para el mantenimiento preventivo y cualificación del sistema son configurables.

El Alliance iS HPLC System se puede configurar para advertir a los usuarios que se acercan las fechas límite para el mantenimiento preventivo o la cualificación del sistema.

El responsable del laboratorio puede establecer la fecha límite y un recordatorio para el mantenimiento preventivo a través de la interfaz de usuario de la pantalla táctil. Tocar **System > Administration > Preventative Maintenance > Set Preventative Maintenance** (Sistema > Administración > Mantenimiento preventivo > Establecer mantenimiento preventivo).

Del mismo modo, el responsable del laboratorio puede establecer la fecha límite anual y un recordatorio para la cualificación del sistema. Tocar **System > Administration > System Qualifications > Set the System Qualification** (Sistema > Administración > Cualificaciones del sistema > Establecer la cualificación del sistema).

8.4 Realizar pedidos de piezas de repuesto

Para asegurarse de que el sistema funciona tal como está diseñado, utilizar únicamente piezas de calidad de Waters (Waters Quality Parts). Visitar <https://www.waters.com/nextgen/nl/en/c/promo/spare-parts.html> para obtener información sobre las Waters Quality Parts y cómo pedir las.

8.5 Limpiar el exterior del equipo



Advertencia: Para evitar una descarga eléctrica:

- Asegurarse de que se ha desconectado el equipo de la corriente eléctrica.
- Durante la limpieza de la superficie del equipo, aplicar agua a un paño y después frotar el instrumento o dispositivo. No pulverizar ni aplicar el agua directamente sobre ninguna superficie del equipo.



Advertencia: Para evitar lesiones personales, utilizar siempre protección ocular y guantes durante el proceso de limpieza.

Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Gafas protectoras

Para limpiar el exterior del equipo:

- Limpiar las superficies del equipo utilizando únicamente un paño o toallita de papel suave y limpia, que no suelte pelusa, humedecida con agua.

8.6 Sustituir los filtros de las botellas de eluyente

Sustituir los filtros de las botellas de eluyente cuando se observen resultados inesperados provocados por la contaminación.

Los filtros de eluyente son piezas limpias críticas que protegen el sistema de la contaminación. Un filtro de la botella de eluyente obstruido puede causar una pérdida de cebado débil o intermitente, un perfil de gradiente incorrecto, cambios en el tiempo de retención y ensanchamiento de picos. Un filtro de botella de eluyente contaminado puede provocar un pico de contaminación.

Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Gafas protectoras
- Filtros de botella de eluyente, paquete de 6 (700013884)

Para sustituir los filtros de las botellas de eluyente:

1. Extraer el extremo con filtro del tubo de eluyente de la botella de eluyente.
2. Extraer el filtro antiguo del tubo corto de fluoropolímero.

Nota: No quitar el tubo de eluyente de la tapa de la botella de eluyente.

3. Insertar el filtro nuevo en el tubo de fluoropolímero y empujarlo hasta que toque el tubo de eluyente.

Notas:

- Los filtros de eluyente de titanio se identifican con las letras "Ti" en la superficie superior del filtro.
 - El titanio está sujeto a corrosión en metanol anhidro, lo que se puede evitar añadiendo una pequeña cantidad de agua (aproximadamente un 3 %). Es posible una ligera corrosión cuando los porcentajes de amoníaco son superiores al 10%. Al usar un Alliance iS Bio HPLC System, como alternativa, se pueden extraer los filtros sumergibles de titanio (el sistema pierde la primera línea de protección frente a partículas) o sustituirlos por filtros de acero inoxidable si el análisis no se ve afectado por consideraciones de biocompatibilidad.
4. Insertar el extremo con filtro del tubo de eluyente en la botella de eluyente.
 5. Sacudir el tubo de eluyente para eliminar cualquier resto de aire del filtro.
 6. Sumergir todo el filtro en el eluyente.

7. Cegar la bomba. Consultar [Priming the pump \(Página 69\)](#) (Cegar la bomba).

8.7 Procedimientos de mantenimiento de la bomba

En esta sección se proporcionan procedimientos de mantenimiento para la bomba del Alliance iS HPLC System que los usuarios o el personal de Servicio técnico de Waters pueden realizar. Los procedimientos incluyen:

- Realizar el mantenimiento del filtro de aire del compartimento de la bomba
- Sustituir el sensor de fugas de la bomba
- Sustituir el mezclador de la bomba
- Sustituir el cartucho de filtro en línea en la válvula de retención primaria
- Sustituir la válvula de retención del acumulador

8.7.1 Programa de mantenimiento de la bomba

La bomba tiene un programa de mantenimiento recomendado.

Los usuarios pueden realizar los siguientes procedimientos de mantenimiento sistemático de la bomba.

Procedimiento de mantenimiento	Frecuencia
Sustituir los filtros de las botellas de eluyente (Página 111)	Cuando sea necesario; durante el mantenimiento sistemático programado
Realizar el mantenimiento del filtro de aire del compartimento de la bomba (Página 112)	Cuando sea necesario; durante el mantenimiento sistemático programado
Sustituir el sensor de fugas de la bomba (Página 113)	Cuando sea necesario
Sustituir el mezclador de la bomba (Página 116)	Cuando sea necesario; durante el mantenimiento sistemático programado
Sustituir el cartucho de filtro en línea en la válvula de retención primaria (Página 118)	Cuando sea necesario; durante el mantenimiento sistemático programado
Sustituir la válvula de retención del acumulador (Página 124)	Cuando sea necesario; durante el mantenimiento sistemático programado

8.7.2 Realizar el mantenimiento del filtro de aire del compartimento de la bomba

Se puede limpiar o sustituir el filtro de aire del compartimento de la bomba.

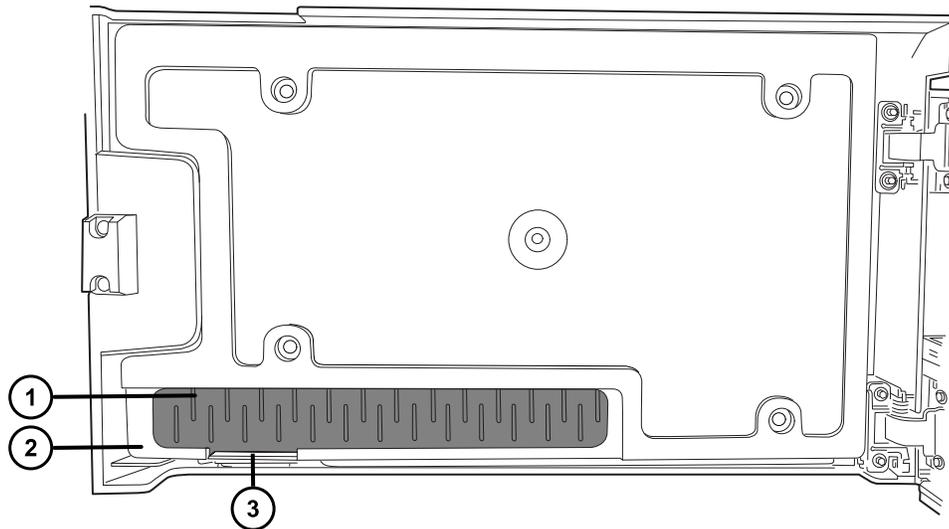
Herramientas y materiales necesarios

- Detergente suave y agua
- Filtro de aire (si se va a sustituir)

Para dar mantenimiento al filtro de aire:

1. Abrir la puerta del compartimento de la bomba.
2. Comprimir el filtro de aire hacia arriba, por encima del área de seguridad del marco. Después, apretar el filtro y extraerlo del marco.

Figura 8–1: Filtro de aire del compartimento de la bomba



- 1 Filtro de aire
- 2 Marco del filtro de aire
- 3 Área de seguridad del marco

3. Realizar una de las siguientes acciones:
 - Limpiar el filtro de aire con un detergente suave y agua, y después secar el filtro.
 - Desechar el filtro de aire usado.
4. Comprimir ligeramente el filtro de aire y volver a colocarlo en el interior del marco.
5. Cerrar la puerta del compartimento de la bomba.

8.7.3 Sustituir el sensor de fugas de la bomba

Los usuarios o el personal de Servicio técnico de Waters pueden sustituir el sensor de fugas de la bomba.



Advertencia: Cumplir siempre las buenas prácticas de laboratorio (BPL), en especial cuando se trabaje con materiales peligrosos. Consultar las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets) referentes a los eluyentes utilizados. Además, consultar al responsable de seguridad de la organización acerca de los protocolos de manipulación de dichos materiales.



Advertencia: Para evitar la contaminación personal con compuestos tóxicos o con riesgo biológico, es necesario utilizar siempre guantes limpios, sin polvo y resistentes a productos químicos para realizar este procedimiento.



Advertencia: Para evitar lesiones oculares, utilizar protección ocular al realizar este procedimiento.



Requisito: Utilizar guantes limpios, sin polvo y resistentes a productos químicos para llevar a cabo este procedimiento.

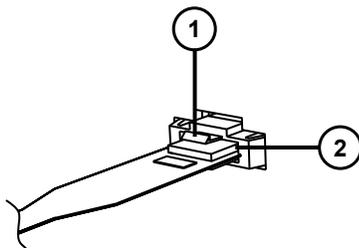
Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Gafas protectoras
- Sensor de fugas de repuesto

Para sustituir el sensor de fugas:

1. Abrir la puerta del compartimento de la bomba.
2. Presionar hacia abajo la lengüeta del conector del sensor de fugas y extraer el conector de la entrada.

Figura 8–2: Conector del sensor de fugas

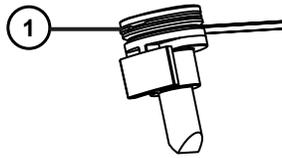


① Pestaña

② Conector del sensor de fugas

3. Sujetar el sensor de fugas por los bordes dentados y tirar de él hacia arriba para extraerlo de su depósito.

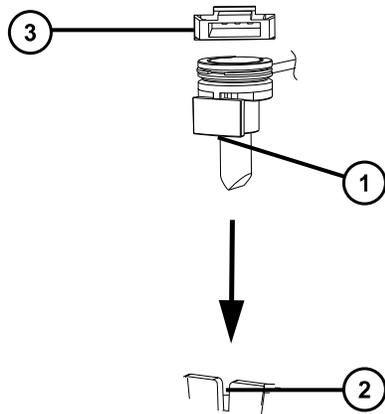
Figura 8–3: Bordes dentados del sensor de fugas



① Bordes dentados

4. Desembalar el nuevo sensor de fugas.
5. Alinear la barra en forma de T del sensor de fugas con la ranura de la parte frontal de la bandeja de la bomba y, a continuación, deslizar el sensor de fugas hasta colocarlo en la ranura.

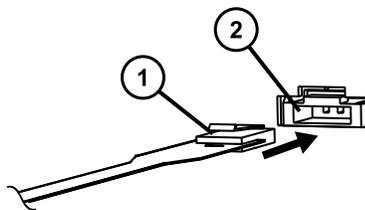
Figura 8–4: Alinear la barra en forma de T con la ranura



- ① Barra en forma de T
- ② Ranura del depósito del sensor de fugas
- ③ Puerto del sensor de fugas en la entrada

6. Acoplar el conector del sensor de fugas a la parte frontal del dispositivo.

Figura 8–5: Acoplar el conector del sensor de fugas



① Conector del sensor de fugas

- ② Entrada del sensor de fugas en la parte frontal de la placa de la bandeja de la bomba
7. Cerrar la puerta del compartimento de la bomba.
8. Desde la vista [Commands \(Página 58\)](#) (Comandos) de la pantalla táctil, tocar **Reset** (Restablecer).
9. Desde la vista [System \(Página 58\)](#) (Sistema) de la pantalla táctil, tocar **Leak Sensors** (Sensores de fugas) y, a continuación, habilitar el **QSM Leak Sensor** (Sensor de fugas del QSM).

8.7.4 Sustituir el mezclador de la bomba

Los usuarios o el personal de Servicio técnico de Waters pueden sustituir el mezclador de la bomba.



Advertencia: Cumplir siempre las buenas prácticas de laboratorio (BPL), en especial cuando se trabaje con materiales peligrosos. Consultar las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets) referentes a los eluyentes utilizados. Además, consultar al responsable de seguridad de la organización acerca de los protocolos de manipulación de dichos materiales.



Aviso: Para evitar la contaminación de los componentes del sistema, se deben utilizar guantes limpios, sin polvo y resistentes a compuestos químicos al realizar este procedimiento.

Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Llave fija de 1/4 pulg.
- Llave fija de 3/8 pulg.
- Mezclador de repuesto

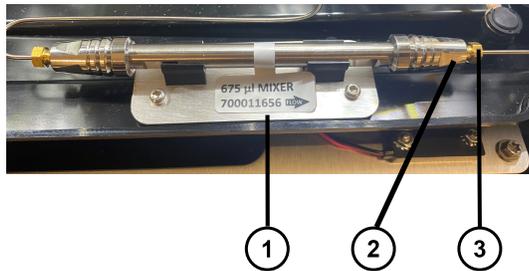
Nota: Hay un kit de mezclador enlazado de difusión de 690 μL que ofrece un rendimiento de mezcla significativamente mejor que los mezcladores tradicionales de 675 μL o 680 μL , lo que da como resultado un ruido de composición más bajo y una línea base más baja en aplicaciones seleccionadas. Para obtener información sobre la instalación del mezclador enlazado de difusión de 690 μL , consultar el documento *Ti Diffusion Bonded Mixer - 690 μL Kit Installation Guide* (Guía de instalación del kit de mezclador enlazado de difusión de Ti de 690 μL) (715009251ES).

Para sustituir el mezclador:

1. Enjuagar la bomba con un eluyente que no sea peligroso.
2. Detener el flujo de eluyente.
3. Abrir la puerta del compartimento de la bomba.
4. Retirar el mezclador del clip.

5. Sujetar el mezclador en su sitio con la llave fija de 3/8 pulg. y desconectar el conector de compresión de salida con la llave fija de 1/4 pulg.

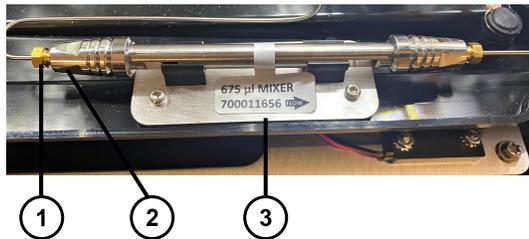
Figura 8–6: Ubicación del conector de compresión de salida del mezclador



- 1 Mezclador
- 2 Caras planas de la llave
- 3 Conector de compresión de salida

6. Sujetar el mezclador con la llave fija de 3/8 pulg. y desconectar el conector de compresión de entrada con la llave fija de 1/4 pulg.

Figura 8–7: Ubicación del conector de compresión de entrada del mezclador



- 1 Conector de compresión de entrada
- 2 Caras planas de la llave
- 3 Mezclador

7. Desembalar el mezclador de repuesto.

Nota: Asegurarse de que la flecha del mezclador apunte de izquierda a derecha.

8. Volver a instalar los conectores de compresión en el mezclador, apretarlos manualmente y después apretarlos con la llave hasta 1/6 de vuelta más para los conectores viejos o 1/2 de vuelta más para los nuevos.
9. Insertar el cuerpo del mezclador en los clips.
10. Cerrar la puerta del compartimento de la bomba.
11. Desde la vista [Commands \(Página 58\)](#) (Comandos) de la pantalla táctil, tocar **Reset** (Restablecer).

8.7.5 Sustituir el cartucho de filtro en línea en la válvula de retención primaria

Los usuarios o el personal de Servicio técnico de Waters pueden sustituir el cartucho del filtro en línea de la válvula de retención primaria de la bomba.



Advertencia: Cumplir siempre las buenas prácticas de laboratorio (BPL), en especial cuando se trabaje con materiales peligrosos. Consultar las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets) referentes a los eluyentes utilizados. Además, consultar al responsable de seguridad de la organización acerca de los protocolos de manipulación de dichos materiales.



Aviso: Para evitar la contaminación de los componentes del sistema, se deben utilizar guantes limpios, sin polvo y resistentes a compuestos químicos al realizar este procedimiento.

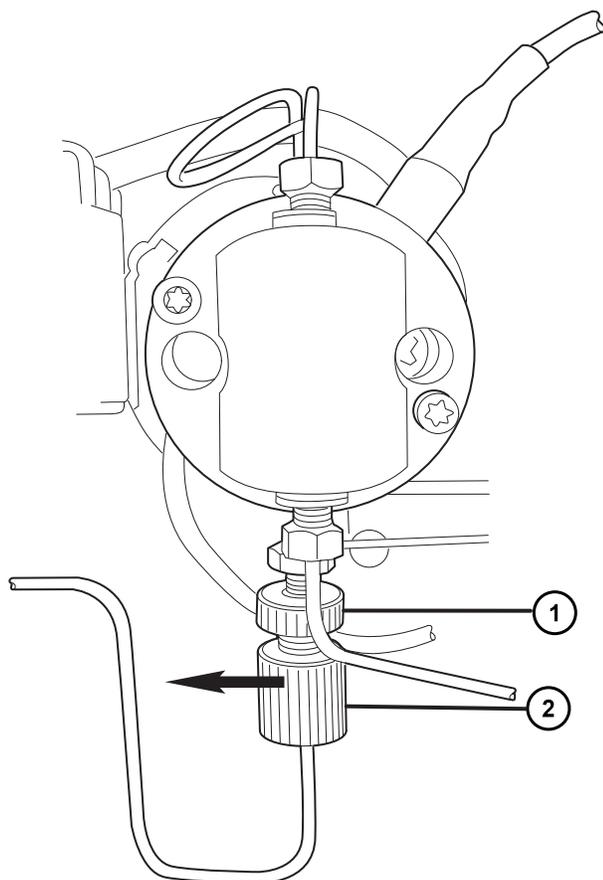
Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Cartucho del filtro en línea de repuesto

Para sustituir el cartucho de filtro en línea en la válvula de retención primaria:

1. Enjuagar la bomba con un eluyente que no sea peligroso.
2. [Apagar el sistema \(Página 62\)](#).
3. Abrir la puerta del compartimento de la bomba.
4. Sujetar el conector del portaférulas mientras se desenrosca y quitar la tuerca tapón del conector.

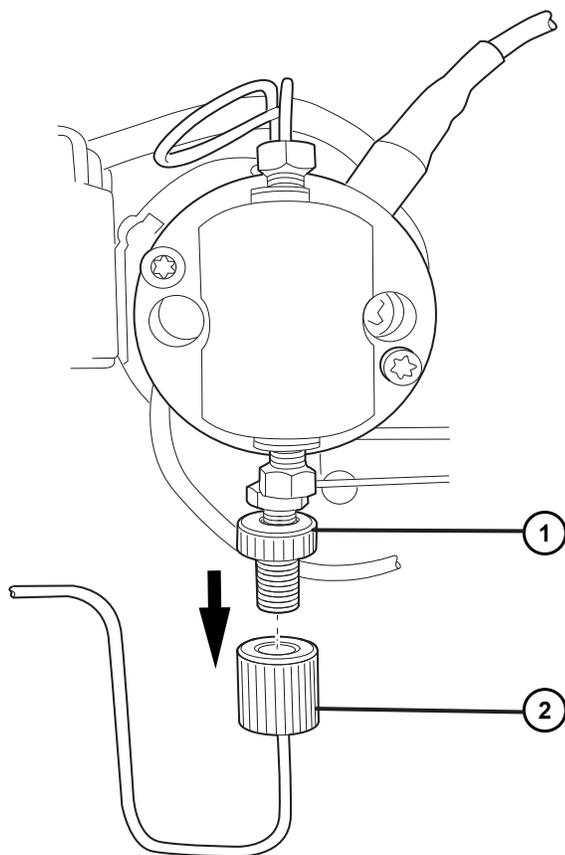
Figura 8–8: Desenroscar la tuerca tapón y el portaférulas



① Conector del portaférulas

② Tuerca tapón

Figura 8-9: Quitar la tuerca tapón del portaférulas

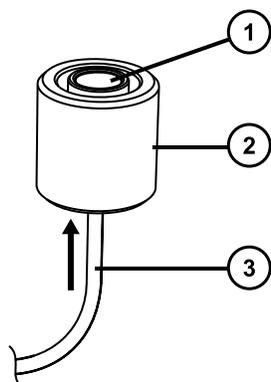


① Conector del portaférulas

② Tuerca tapón

5. Deslizar la tuerca tapón por el tubo y desenganchar el filtro del conector del portaférulas.

Figura 8-10: Quitar la tuerca tapón del tubo

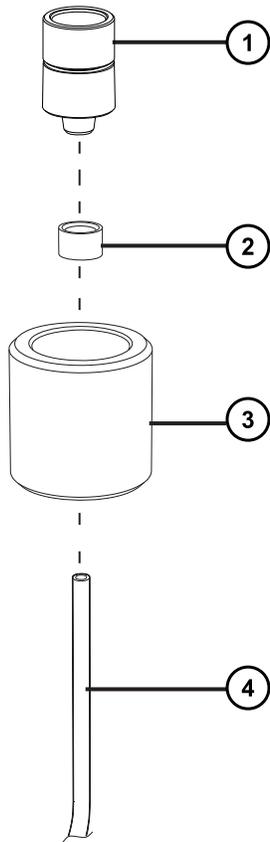


① Cartucho de filtro en línea

② Tuerca tapón

③ Tubo

Figura 8–11: Cartucho de filtro en línea, anillo de bloqueo y tuerca tapón



① Cartucho de filtro en línea

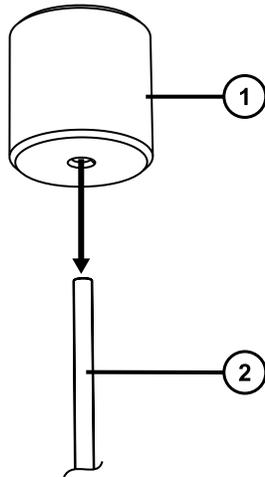
② Anillo metálico de bloqueo

③ Tuerca tapón

④ Tubo

6. Deslizar el anillo metálico de bloqueo hacia abajo fuera del cartucho del filtro en línea y deslizar el cartucho fuera del tubo.
7. Inspeccionar el cartucho del filtro para saber si está hecho de acero inoxidable o de titanio (Ti), y asegurarse de contar con el cartucho de repuesto correcto. Si no hay ninguna marca, el cartucho del filtro está hecho de acero inoxidable; "Ti" indica que el cartucho del filtro está hecho de titanio.
8. Deslizar la tuerca tapón sobre el extremo del tubo.

Figura 8–12: Deslizar la tuerca tapón sobre el tubo

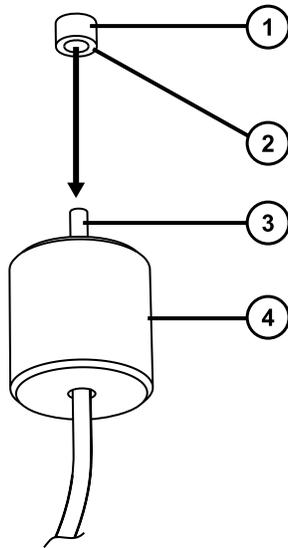


① Tuerca tapón

② Tubo

9. Deslizar el anillo metálico de bloqueo sobre el tubo, comprobando que el extremo más grueso del anillo metálico de bloqueo esté orientado hacia la tuerca tapón.

Figura 8–13: Deslizar el anillo metálico de bloqueo sobre el tubo



① Anillo metálico de bloqueo

② Extremo más grueso del anillo metálico de bloqueo dirigido hacia la tuerca tapón

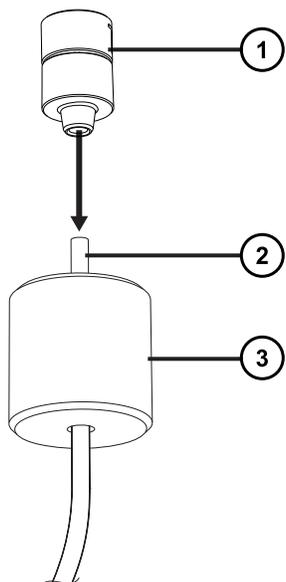
③ Tubo

④ Tuerca tapón

10. Desembalar el nuevo cartucho de filtro en línea.

11. Colocar el nuevo cartucho de filtro en línea sobre el extremo del tubo.

Figura 8–14: Colocar el cartucho de filtro en línea sobre el extremo del tubo



① Cartucho de filtro en línea

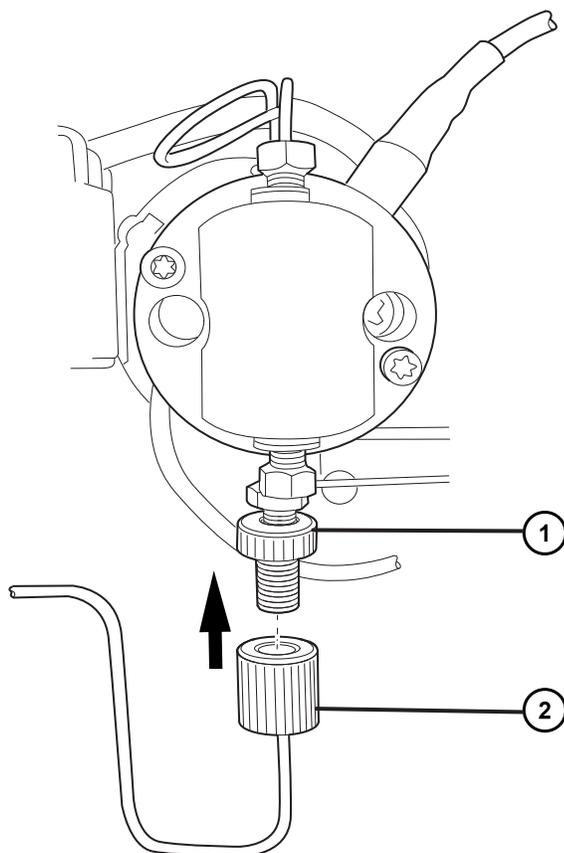
② Tubo

③ Tuerca tapón

12. Verificar que el cartucho esté colocado hasta el fondo del tubo y, a continuación, deslizar el anillo metálico de bloqueo sobre la protuberancia de la parte inferior del cartucho del filtro en línea, asegurándose de que el tubo permanezca en el fondo.

13. Insertar el cartucho del filtro en línea con el tubo en el conector del portaférulas, apretar manualmente la tuerca tapón hasta el fondo y después apretarla 1/4 de vuelta.

Figura 8–15: Instalar la tuerca tapón en el conector del portaférulas



① Conector del portaférulas

② Tuerca tapón

14. Cerrar la puerta del compartimento de la bomba.
15. [Encender el sistema \(Página 61\)](#).
16. [Cebiar la bomba \(Página 69\)](#).

8.7.6 Sustituir la válvula de retención del acumulador

Los usuarios o el personal de Servicio técnico de Waters pueden sustituir la válvula de retención del acumulador de la bomba.



Advertencia: Cumplir siempre las buenas prácticas de laboratorio (BPL), en especial cuando se trabaje con materiales peligrosos. Consultar las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets) referentes a los eluyentes utilizados. Además, consultar al responsable de seguridad de la organización acerca de los protocolos de manipulación de dichos materiales.



Advertencia: Para evitar lesiones oculares, utilizar protección ocular al realizar este procedimiento.



Aviso: Para evitar la contaminación de los componentes del sistema, se deben utilizar guantes limpios, sin polvo y resistentes a compuestos químicos al realizar este procedimiento.

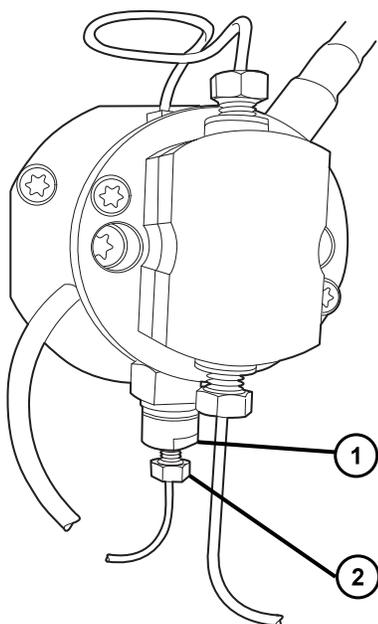
Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Gafas protectoras
- Llave fija de 1/4 pulg.
- Llave fija de 5/16 pulg.
- Llave fija de 1/2 pulg.
- Bloque de la válvula de retención del acumulador de repuesto

Para sustituir la válvula de retención del acumulador:

1. Enjuagar la bomba con un eluyente que no sea peligroso.
2. Apagar el sistema de gestión de eluyentes.
3. Abrir la puerta del compartimento de la bomba.
4. Sostener la válvula de retención en su sitio con la llave fija de 5/16 pulg. y desconectar el conector de compresión con la llave fija de 1/4 pulg.

Figura 8–16: Conector de compresión en la válvula de retención



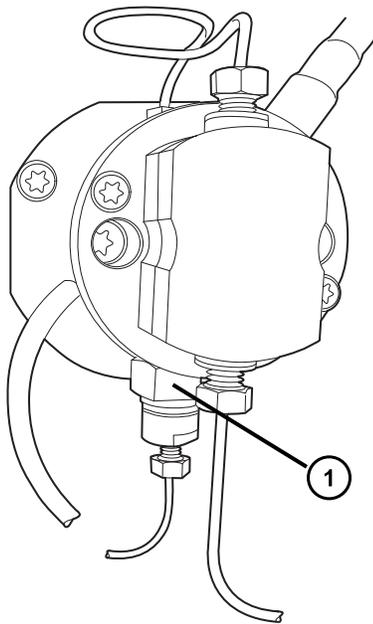
- ① Colocar aquí la llave fija de 5/16 pulg.

② Conector de compresión

5. Aflojar la válvula de retención con la llave fija de 1/2 pulg. y, a continuación, extraer el bloque de la válvula de retención del cabezal de la bomba.

! **Aviso:** Al extraer el conjunto de la válvula, asegurarse de que la arandela de PEEK, que normalmente se encuentra en la cara superior de la válvula de retención, no se haya quedado en el cabezal de la bomba.

Figura 8–17: Bloque de la válvula de retención en el cabezal acumulador de la bomba

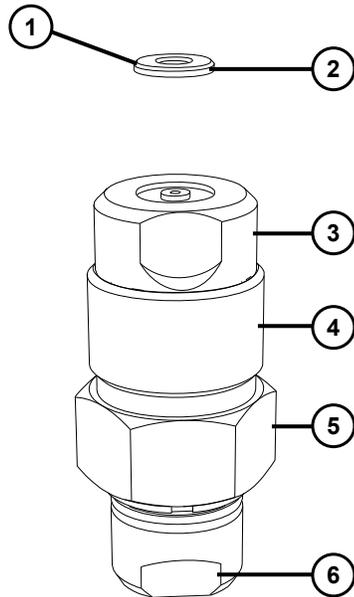


① Colocar aquí la llave fija de 1/2 pulg.

6. Desembalar la válvula de retención nueva.

7. Asegurarse de que la arandela de PEEK nueva esté insertada en la válvula de retención nueva y que el borde biselado quede orientado hacia fuera de la válvula de retención.

Figura 8–18: Válvula de retención del acumulador



- ① Borde biselado
- ② Arandela de PEEK
- ③ Válvula de retención
- ④ Alojamiento de la válvula de retención
- ⑤ Tuerca hexagonal de 1/2 pulg.
- ⑥ Parte plana para llave fija de 5/16 pulg.

8. Insertar el bloque de la válvula de retención en el cabezal de la bomba, apretar la tuerca de la válvula de retención manualmente tanto como sea posible y después utilizar la llave de 1/2 pulg. para apretar la tuerca 1/8 de vuelta más.
9. Utilizar la llave fija de 5/16 pulg. para sujetar en su sitio la válvula de retención y, a continuación, volver a acoplar el conector de compresión a la válvula de retención.
10. Apretar manualmente el conector de compresión tanto como sea posible y después utilizar la llave de 1/4 pulg. para apretar el conector hasta 1/6 de vuelta más, para un conector existente, o hasta 1/2 de vuelta más, para un conector nuevo.
11. Cerrar la puerta del compartimento de la bomba.
12. Encender el sistema de gestión de eluyentes.
13. Cebear el sistema de gestión de eluyentes (consultar [Cebear la bomba \(Página 69\)](#)).

8.8 Procedimientos de mantenimiento del sistema de gestión de muestras

En esta sección se proporcionan procedimientos de mantenimiento para el sistema de gestión de muestras del Alliance iS HPLC System que los usuarios o el personal de Servicio técnico de Waters pueden realizar.

Los procedimientos incluyen lo siguiente:

- Sustituir el sensor de fugas
- Calibrar el eje z de la aguja
- Sustituir la junta de la aguja y el tubo del puerto de la junta
- Sustituir la aguja

8.8.1 Programa de mantenimiento del sistema de gestión de muestras

El sistema de gestión de muestras tiene un programa de mantenimiento recomendado.

Los usuarios pueden realizar los siguientes procedimientos de mantenimiento sistemático del sistema de gestión de muestras.

Procedimiento de mantenimiento	Frecuencia
Sustituir el sensor de fugas del sistema de gestión de muestras (Página 128)	Cuando sea necesario
Calibrar el eje z de la aguja (Página 131)	Después de un cambio de aguja o cuando sea necesario
Sustituir la junta de la aguja y el tubo del puerto de la junta (Página 131)	Durante el mantenimiento sistemático programado o según sea necesario
Sustituir la aguja (Página 144)	Durante el mantenimiento sistemático programado o según sea necesario

8.8.2 Sustituir el sensor de fugas del sistema de gestión de muestras

Los usuarios o el personal de Servicio técnico de Waters pueden sustituir los sensores de fugas del sistema de gestión de muestras.

El sistema de gestión de muestras tiene un sensor de fugas inferior y otro superior. Los sensores de fugas controlan si hay fugas de líquido en el horno de columnas y el sistema de gestión de muestras, y detienen el flujo del sistema cuando cualquiera de los dos sensores detecta aproximadamente 1,5 mL de líquido acumulado. Los sensores de fugas defectuosos pueden provocar derrames de líquido no detectados.

Se utiliza el mismo procedimiento para sustituir los sensores de fugas.



Advertencia: Cumplir siempre las buenas prácticas de laboratorio (BPL), en especial cuando se trabaje con materiales peligrosos. Consultar las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets) referentes a los eluyentes utilizados. Además, consultar al responsable de seguridad de la organización acerca de los protocolos de manipulación de dichos materiales.



Advertencia: Para evitar la contaminación personal con materiales con riesgo biológico, es necesario utilizar siempre guantes limpios, sin polvo y resistentes a compuestos químicos para realizar este procedimiento.



Advertencia: Para evitar lesiones oculares, utilizar protección ocular al realizar este procedimiento.



Aviso: Para evitar dañar los circuitos y componentes eléctricos, no se debe desconectar nunca un componente eléctrico mientras el módulo esté conectado a la corriente eléctrica. Para interrumpir por completo el suministro eléctrico, situar el interruptor de encendido/apagado en la posición "Off" (Apagado) y después desenchufar el cable de alimentación de la toma de CA. Esperar 10 segundos antes de desconectar cualquier componente.

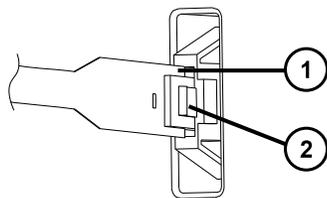
Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Gafas protectoras
- Sensor de fugas de repuesto

Para sustituir el sensor de fugas:

1. [Apagar el sistema \(Página 62\)](#).
2. Abrir la puerta del compartimento del sistema de gestión de muestras.
3. Presionar la pestaña para desconectar el conector del sensor de fugas de la parte frontal del dispositivo.

Figura 8–19: Conector del sensor de fugas

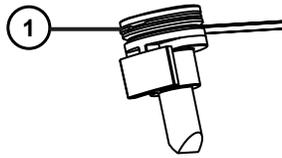


① Conector

② Pestaña

4. Sujetar el sensor de fugas por los bordes dentados y tirar de él hacia arriba para extraerlo de su alojamiento.

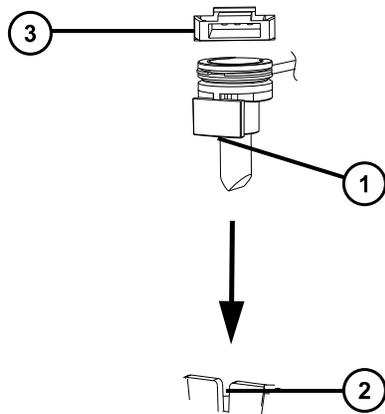
Figura 8–20: Bordes dentados del sensor de fugas



① Bordes dentados

5. Desembalar el nuevo sensor de fugas.
6. Alinear la barra en forma de T del sensor de fugas con la ranura del lateral de su depósito y deslizar el sensor de fugas hasta colocarlo en su sitio.

Figura 8–21: Alinear la barra en T del sensor de fugas con la ranura



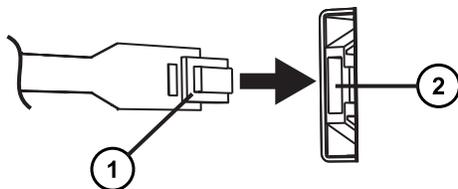
① Barra en T del sensor de fugas

② Ranura del depósito del sensor de fugas

③ Puerto del sensor de fugas en la parte frontal del dispositivo

7. Conectar el conector del sensor de fugas a la parte frontal del sistema de gestión de muestras.

Figura 8–22: Acoplar el conector del sensor de fugas



① Conector del sensor de fugas

- ② Puerto del sensor de fugas en la parte frontal del dispositivo
8. Cerrar la puerta del compartimento del sistema de gestión de muestras.
9. [Encender el sistema \(Página 61\)](#).
10. Desde la vista [Commands \(Página 58\)](#) (Comandos) de la pantalla táctil, tocar **Reset** (Restablecer).
11. Desde la vista [System \(Página 58\)](#) (Sistema) de la pantalla táctil, tocar **Leak Sensors** (Sensores de fugas) y, a continuación, habilitar el **SM Leak Sensor** (Sensor de fugas del SM).

8.8.3 Calibrar el eje z de la aguja

Los usuarios o el personal de Servicio técnico de Waters pueden calibrar el eje z de la aguja del sistema de gestión de muestras.

Es necesario calibrar la aguja antes de utilizar el sistema de gestión de muestras por primera vez y siempre que se cambie la aguja de muestra. Una aguja no calibrada puede sufrir daños. El procedimiento de calibración es el mismo para todas las agujas.

Para calibrar el eje z de la aguja se debe hacer lo siguiente:

1. En la pantalla táctil, tocar **Maintain > Calibrate needle Z axis** (Mantenimiento > Calibrar eje Z de la aguja).
2. Seguir las instrucciones que aparecen en pantalla.

8.8.4 Sustituir la junta de la aguja y el tubo del puerto de la junta

Para evitar una interrupción en el flujo de trabajo, sustituir la junta de la aguja y los tubos del puerto de la junta anualmente durante el programa de mantenimiento preventivo (PM) prescrito o siempre que la junta parezca sucia, contaminada u obstruida. Sustituir también la junta en cualquier otro momento en que sea necesario sustituir la aguja.

Sustituir la junta de la aguja y el tubo del puerto de la junta implica quitar lo siguiente:

- Conjunto de la estación de lavado
- Tuerca de bloqueo que aloja la junta de la aguja
- Junta de la aguja existente
- Tubo del puerto de la junta existente (sujeta la tuerca de bloqueo) y conectado al conjunto de la estación de lavado



Advertencia: Para evitar la contaminación personal con compuestos tóxicos o con riesgo biológico, es necesario utilizar siempre guantes limpios, sin polvo y resistentes a productos químicos para realizar este procedimiento.



Advertencia: Para evitar lesiones oculares, utilizar protección ocular al realizar este procedimiento.

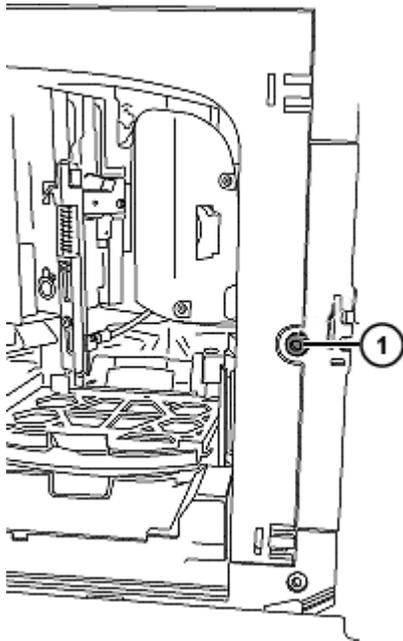
Herramientas y materiales necesarios

- Kit de juntas
- Tubo del puerto de la junta (Nombre de la pieza de Waters: (Conjunto del puerto del asiento de acero inoxidable de 0,007 pulg. de diámetro interno)
- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Gafas protectoras
- Llave fija de 7/16 pulg. (el procedimiento requiere dos llaves)
- Destornillador TORX T10
- Destornillador TORX T20

Para sustituir la junta de la aguja:

1. Asegurarse de que el sistema esté encendido.
2. Abrir las puertas del compartimento de muestras y del compartimento del sistema de fluidos.
3. Retirar las placas de muestras de la cámara de muestras.
4. Colocar la aguja de muestras en la posición de mantenimiento:
 - a. Tocar **MAINTAIN > Service > Prepare to Replace the Needle** (Mantenimiento > Servicio > Preparar para sustituir la aguja).
5. Con el destornillador TORX T20, retirar el tornillo cautivo que sujeta el panel de acceso y retirar el panel.

Figura 8–23: Tornillo cautivo en el panel de acceso



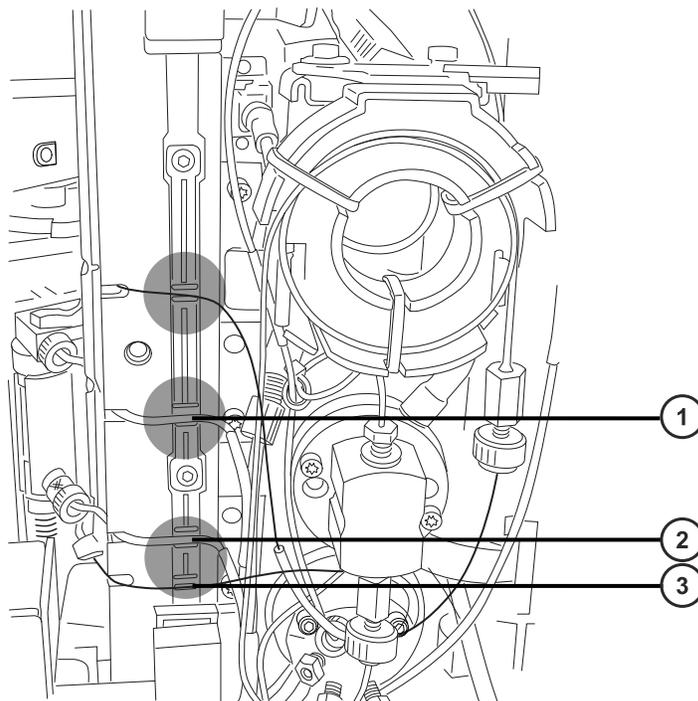
① Tornillo cautivo

6. Para sacar el conjunto de la estación de lavado del soporte:

Nota: No se quitará el conjunto de la estación de lavado (se desconectará temporalmente del soporte).

- a. Localizar el tubo de lavado y el tubo del puerto de la junta sujeto en los tres clips inferiores. Desconectar el tubo de los tres clips.

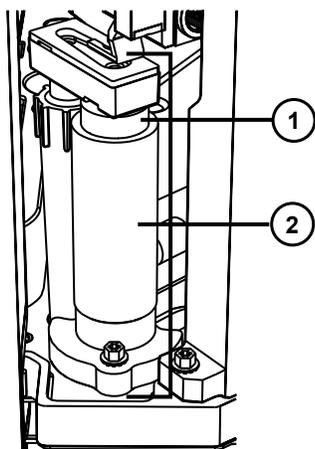
Figura 8–24: Ubicación del tubo de lavado y del tubo del puerto de sellado con clips



- ① Primer tubo de lavado en el clip
- ② Segundo tubo de lavado en el clip
- ③ Sellar el tubo del puerto en el clip

b. Empujar hacia abajo el conjunto de la estación de lavado y después girar en sentido horario para sacarlo temporalmente de su soporte.

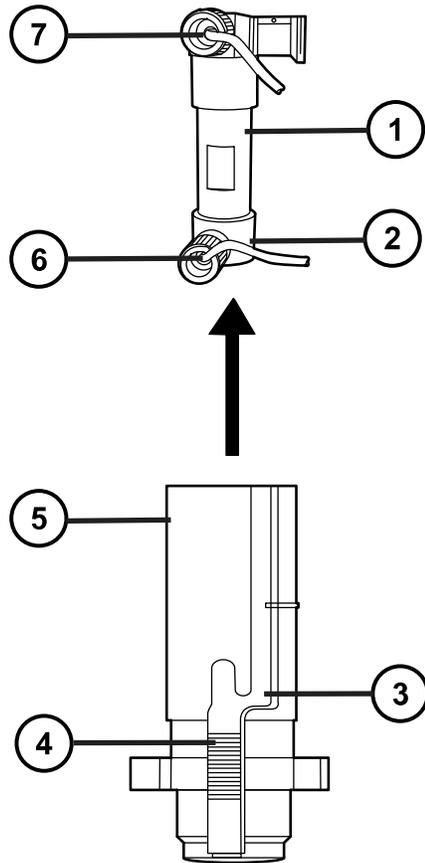
Figura 8–25: Separar el conjunto de la estación de lavado del soporte



- ① Conjunto de la estación de lavado (en el soporte de la estación de lavado)
- ② Soporte de la estación de lavado

7. Sacar el conjunto de la estación de lavado del soporte.

Figura 8–26: Liberar el conjunto de la estación de lavado de su soporte

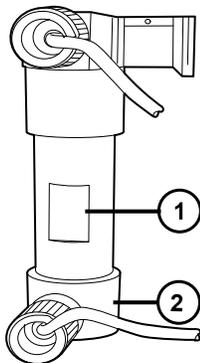


- ① Manguito de soporte
- ② Ubicación de la tuerca de bloqueo (tuerca no visible)
- ③ Ranura
- ④ Muelle
- ⑤ Soporte de la estación de lavado
- ⑥ Tubo del puerto de la junta en el conector de PEEK (en la imagen se muestra más corto de lo que realmente es)
- ⑦ Tubo del puerto de la junta en el conector de PEEK (en la imagen se muestra más corto de lo que realmente es)

Requisito: Asegurarse de que la tuerca de bloqueo permanezca asentada dentro del muelle.

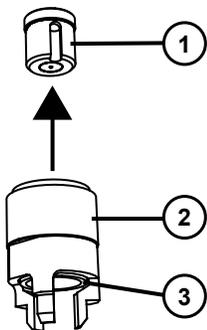
8. Localizar la tuerca de bloqueo unida a la parte inferior del conjunto de la estación de lavado que aloja la junta de la aguja. Para acceder a la junta de la aguja, quitar la tuerca de bloqueo con dos llaves fijas de 7/16 pulg. para asegurar un agarre adecuado.

Figura 8–27: Ubicaciones de colocación de la llave para quitar la tuerca de bloqueo



- ① Colocar aquí una llave fija de 7/16 pulg. sobre el manguito de soporte
- ② Colocar aquí la otra llave fija de 7/16 pulg. cerca de la tuerca de bloqueo (no visible)
9. Levantar el borde exterior (o borde) de la tuerca de bloqueo. Inclinar la tuerca de bloqueo para extraer la junta de la aguja y desecharla.

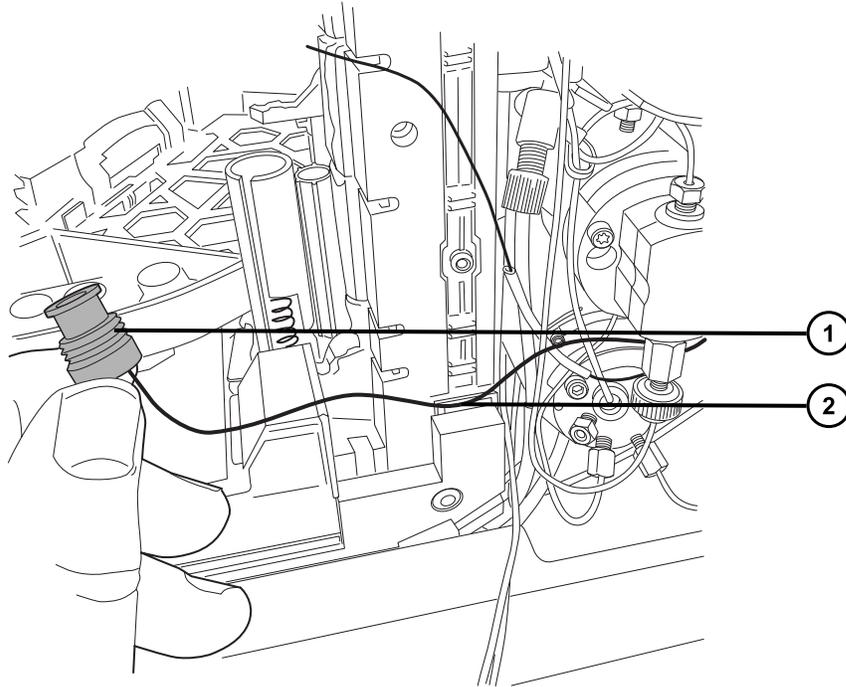
Figura 8–28: Extraer la junta de la aguja de la tuerca de bloqueo



- ① Junta
- ② Tuerca de bloqueo (la tuerca real ha sido actualizada y no tiene dientes)
- ③ Puerto de la junta
10. Se recomienda sustituir el tubo del puerto de la junta cuando se reemplaza la junta de la aguja. Para extraer el tubo del puerto de la junta:

- a. Desenroscar el conector de ajuste sin herramientas conectado al tubo del puerto de la junta y después extraer un extremo del tubo del puerto de la junta del puerto 1 de la válvula de inyección.
- b. Enroscar el tubo del puerto de la junta a través de la tuerca de bloqueo y luego, extraerlo.

Figura 8–29: Quitar el tubo del puerto de la junta



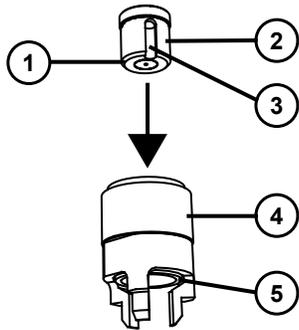
- ① Tuerca de bloqueo
- ② Tubo del puerto de la junta

11. Introducir la junta de repuesto en la tuerca de bloqueo. Para que pueda instalarse correctamente, la junta está diseñada como se muestra en las dos siguientes imágenes.

! **Aviso:** Para evitar la contaminación de los componentes del sistema, se deben utilizar guantes limpios, sin polvo y resistentes a los compuestos químicos, y trabajar sobre una superficie limpia al sustituir la junta.

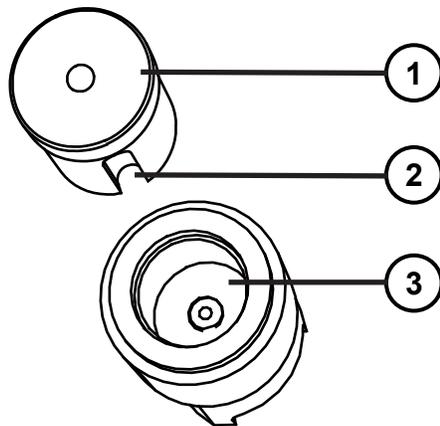
Nota: La siguiente imagen muestra dientes, pero la tuerca de bloqueo real no tiene dientes.

Figura 8–30: Introducir la junta de repuesto en la tuerca de bloqueo



- ① Extremo de menor diámetro
- ② Junta
- ③ Muesca
- ④ Tuerca de bloqueo
- ⑤ Puerto de la junta

Figura 8–31: Ubicación de la muesca de la junta



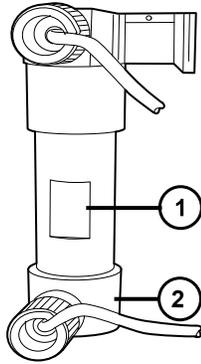
- ① Junta
- ② Muesca
- ③ Cazoleta de la junta

12. Apretar manualmente la tuerca de bloqueo en la parte inferior del conjunto de la estación de lavado.
13. Colocar las dos llaves fijas de 7/16 pulg. en el manguito de soporte de la estación de lavado y después, apretarlas.



Aviso: Para evitar dañar el tubo del puerto de la junta, no retorcerlo en exceso.

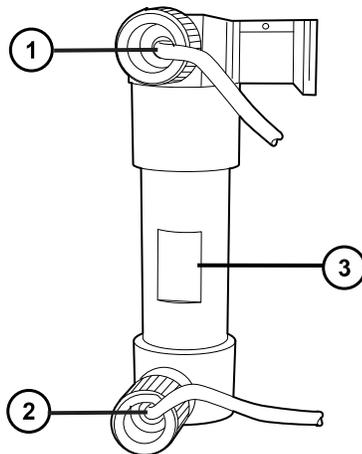
Figura 8–32: Posiciones de colocación de las llaves



- ① Colocar aquí una llave fija de 7/16 pulg. sobre el manguito de soporte
- ② Colocar aquí la otra llave fija de 7/16 pulg.

14. Asegurarse de que el tubo del puerto de la junta permanezca alineado con el conector de PEEK del manguito de soporte.

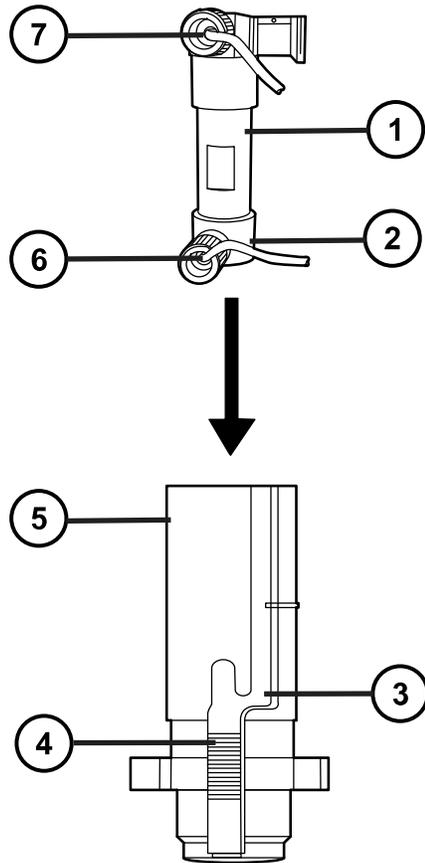
Figura 8–33: Tubo del puerto de la junta en el conector de PEEK



- ① Tubo del puerto de la junta en el conector de PEEK superior
- ② Tubo del puerto de la junta en el conector de PEEK inferior
- ③ Manguito de soporte

15. Deslizar el tubo del puerto de la junta en la ranura del lateral del alojamiento.

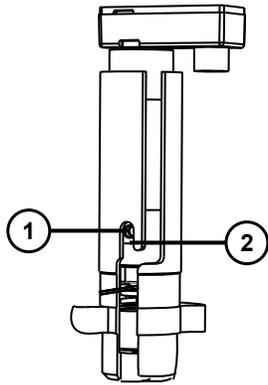
Figura 8–34: Deslizar el tubo del puerto de la junta en la ranura



- ① Manguito de soporte
- ② Ubicación de la tuerca de bloqueo (tuerca no visible)
- ③ Ranura
- ④ Muelle
- ⑤ Soporte de la estación de lavado
- ⑥ Tubo del puerto de la junta en el conector de PEEK (en la imagen se muestra más corto de lo que realmente es)
- ⑦ Tubo del puerto de la junta en el conector de PEEK (en la imagen se muestra más corto de lo que realmente es)

16. Deslizar el manguito de soporte en el alojamiento, asegurándose de que el orificio del conector del manguito de soporte quede alineado con la ranura del alojamiento.

Figura 8–35: Insertar el manguito de soporte en el alojamiento



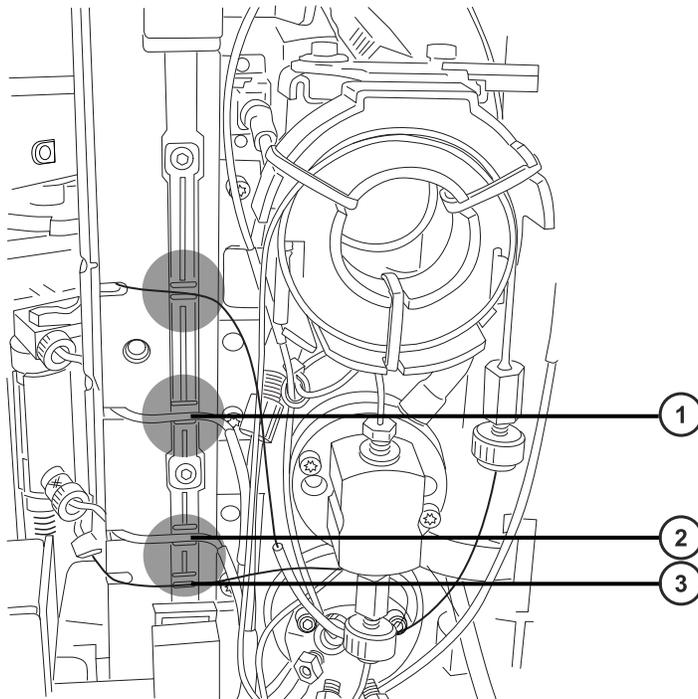
① Orificio del conector

② Ranura

17. Volver a introducir el tubo en los clips en el lateral del compartimento de muestras. Por ejemplo, dirigir el tubo de lavado y el tubo del puerto de la junta a través de los clips.

Requisito: El tubo está sujeto a la pared y no debe interferir con el funcionamiento de la bandeja de muestras ni con el movimiento vertical del puerto de lavado.

Figura 8–36: Volver a colocar el tubo de lavado y el tubo del puerto de junta en los clips de la pared del compartimento de muestras



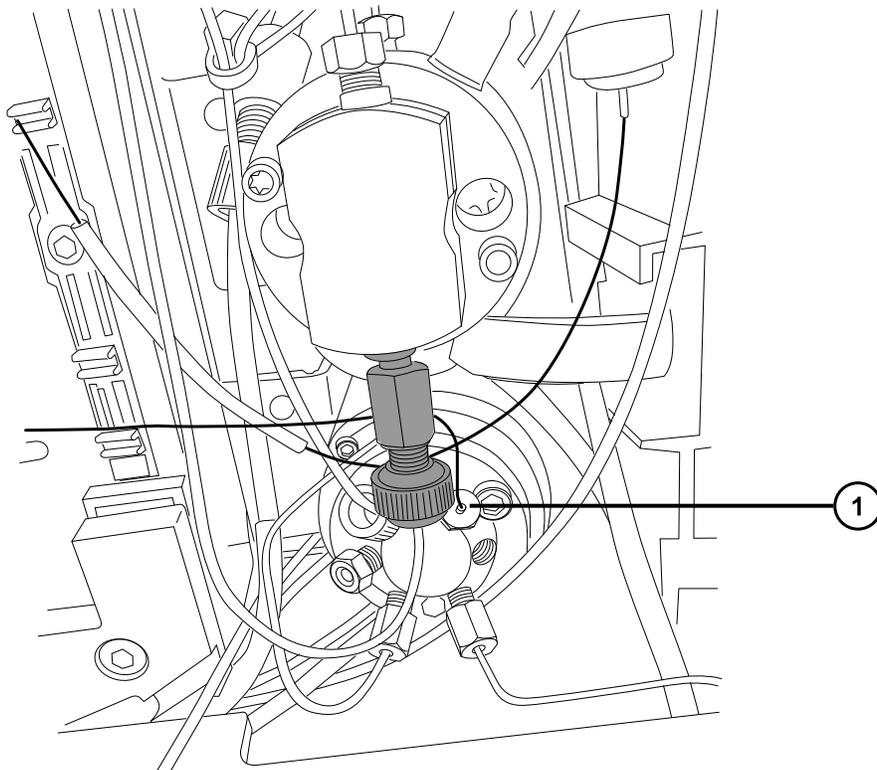
① Primer tubo de lavado en el clip

② Segundo tubo de lavado en el clip

③ Sellar el tubo del puerto en el clip

18. Enroscar el extremo del tubo del puerto de la junta en el puerto 1 de la válvula de inyección y, a continuación, utilizar la llave fija de 1/4 pulg. para apretarlo 1/4 de vuelta más allá del ajuste manual.

Figura 8–37: Conectar el tubo del puerto de la junta a la válvula de inyección



① Puerto 1 de la válvula de inyección

19. Volver a instalar el panel de acceso y utilizar el destornillador TORX T20 para apretar el único tornillo que sujeta el panel de acceso a la parte frontal de la unidad.

Requisito: Asegurarse de que los tubos del puerto de la junta y de la aguja de muestra pasen a través del hueco del panel de acceso, y no se crucen entre sí.

20. Cerrar las puertas del compartimento de muestras y del compartimento de fluidos.
21. Tocar **COMMANDS > Reset** (COMANDOS > Restablecer) para volver a encender los motores y llevar el soporte de la aguja a la posición inicial.
22. Completar la prueba de estado de la junta de la aguja para verificar que la junta de la aguja funcione correctamente.

8.8.5 Sustituir la aguja de muestra

Sustituir la aguja anualmente durante el mantenimiento preventivo (PM) prescrito o siempre que la aguja parezca dañada o doblada.

Recomendación: El Servicio técnico de Waters recomienda cambiar la junta de la aguja cada vez que se cambie la aguja. Consultar [Sustituir la junta de la aguja y el tubo del puerto de la junta \(Página 131\)](#) después de completar este procedimiento.



Advertencia: Para evitar la contaminación personal con compuestos tóxicos o con riesgo biológico, es necesario utilizar siempre guantes limpios, sin polvo y resistentes a productos químicos para realizar este procedimiento.



Advertencia: Para evitar lesiones oculares, utilizar protección ocular al realizar este procedimiento.

Herramientas y materiales necesarios

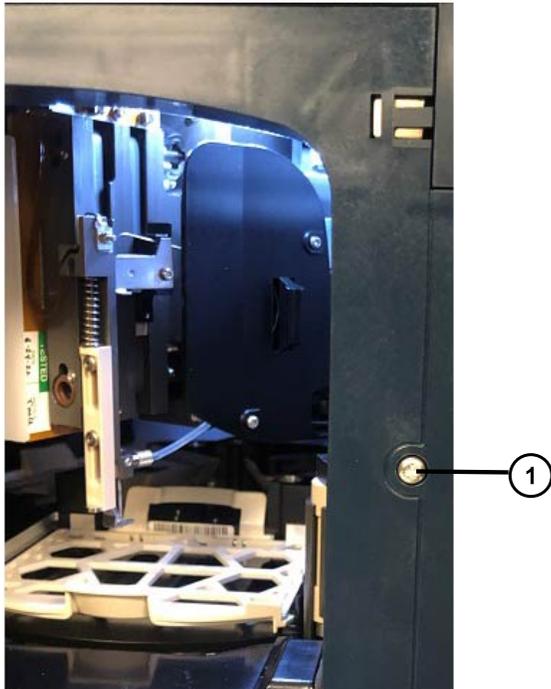
- Conjunto de la aguja, también conocido como cartucho de la aguja de muestras (700013880)
- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Gafas protectoras
- Destornillador TORX T20

Para sustituir la aguja de muestras:

! **Atención:** Asegurarse de instalar el cartucho de la aguja, como se describe en el siguiente procedimiento. La aguja viene montada en el cartucho de la aguja y se puede romper fácilmente si se manipula incorrectamente.

1. Asegurarse de que el sistema esté encendido.
2. Retirar las placas de muestras de la cámara de muestras.
3. Colocar la aguja de muestras en la posición de mantenimiento:
 - a. Tocar **MAINTAIN > Service > Prepare to Replace the Needle** (Mantenimiento > Servicio > Preparar para sustituir la aguja).
4. Abrir las puertas del compartimento de muestras y del compartimento del sistema de fluidos.
5. Con el destornillador TORX T20, aflojar el tornillo cautivo que sujeta el panel de acceso y retirar el panel.

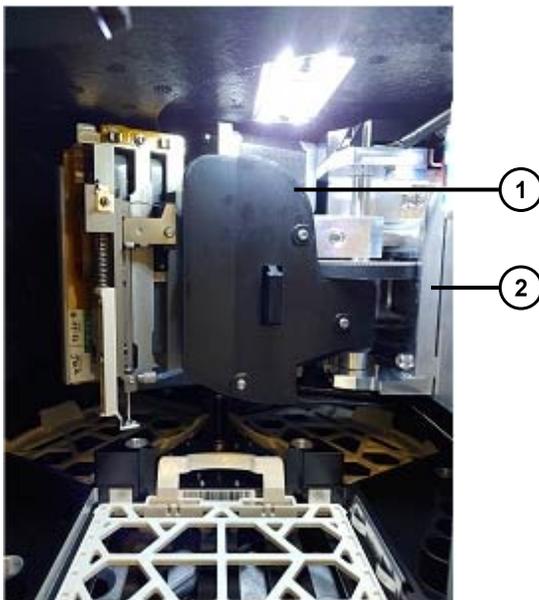
Figura 8–38: Tornillo cautivo en el panel de acceso



① Tornillo cautivo

6. Localizar el cartucho de la aguja en el compartimento de muestras. El cartucho de la aguja aloja la aguja y ayuda a fijarla en su lugar.

Figura 8–39: Ubicación del cartucho de la aguja en el compartimento de muestras

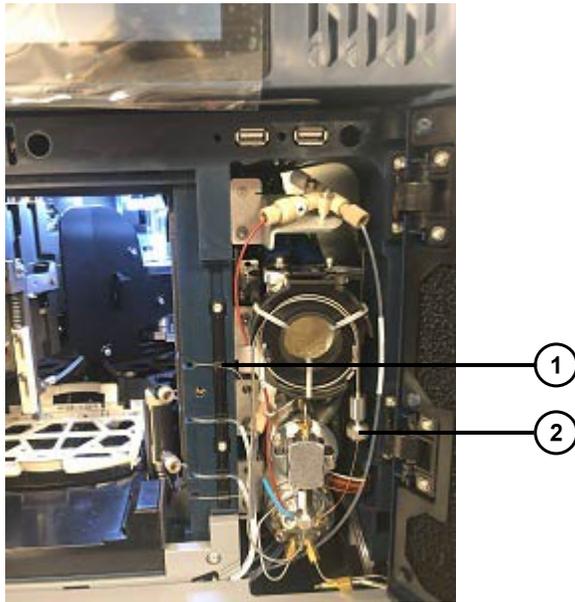


① Cartucho de la aguja

② Zona del compartimento de muestras

7. Desde el compartimento del sistema de fluidos, desenroscar el conector sin herramientas que conecta el loop de muestra al extremo de la aguja. Una vez desenroscado, extraer el tubo de la aguja del clip superior donde la aguja cruza el compartimento del sistema de fluidos hasta el compartimento de muestras.

Figura 8–40: Conector de ajuste sin herramientas y clip

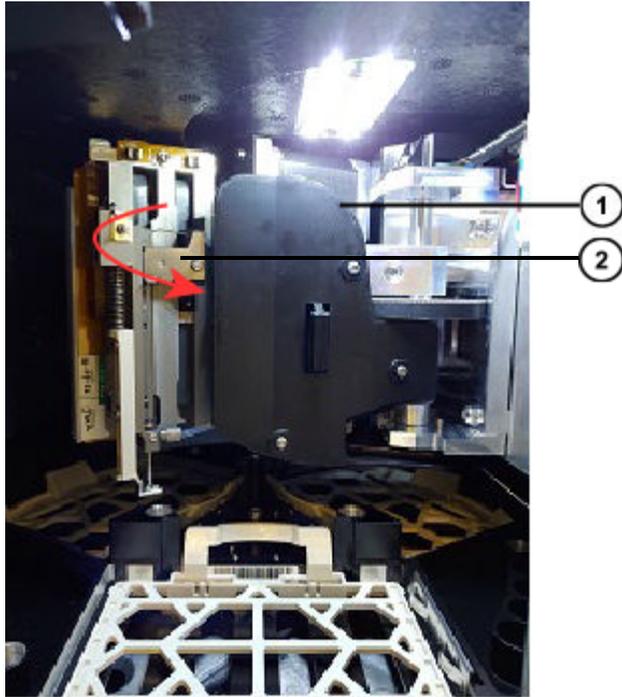


① Clip superior

② Conector de ajuste sin herramientas

8. Girar el cierre giratorio del soporte de la aguja en sentido antihorario para liberar el cartucho de la aguja.

Figura 8–41: Cierre giratorio en el soporte de la aguja (la flecha roja indica la dirección en sentido antihorario para su apertura)

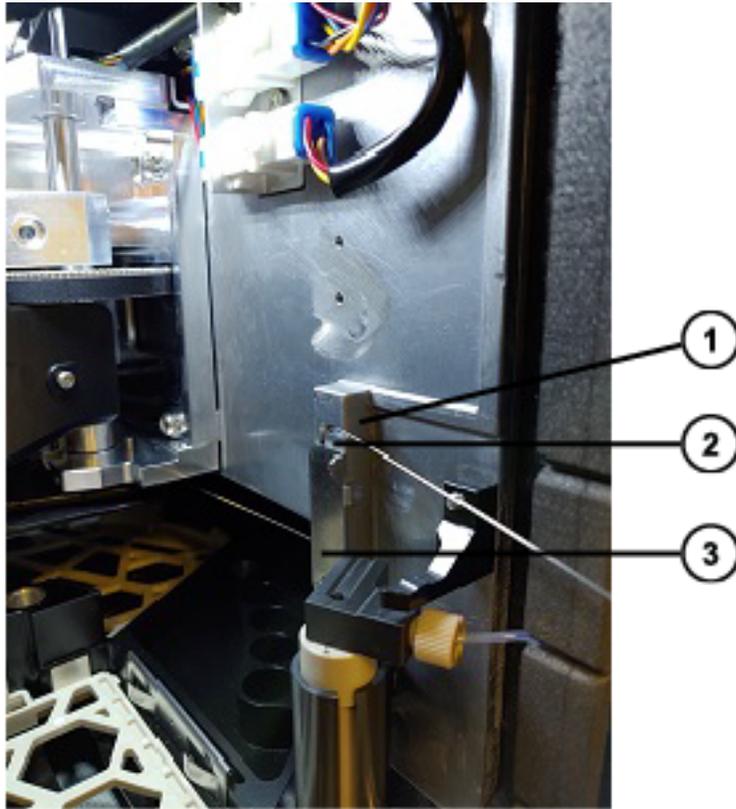


① Cartucho de la aguja

② Cierre giratorio

9. Localizar el bloque con una pequeña muesca que sujeta la aguja de muestras al lado derecho de la pared del compartimento de muestras. Abrir el cierre giratorio en sentido horario y, después, extraer la parte con forma escalonada de la aguja de muestras de la muesca.

Figura 8–42: Segundo cierre giratorio y muesca de la pared del compartimento de muestras



- ① Bloque en la pared del compartimento de muestras
- ② Parte de la aguja de muestras con forma escalonada en la pequeña muesca
- ③ Segundo cierre giratorio en la pared del compartimento

10. Empujar la aguja de muestras hacia delante y, a continuación, levantarla para sacarla del conjunto de la aguja de perforación en la parte inferior del área del soporte de la aguja. Luego extraer el cartucho de la aguja del compartimento de muestras.



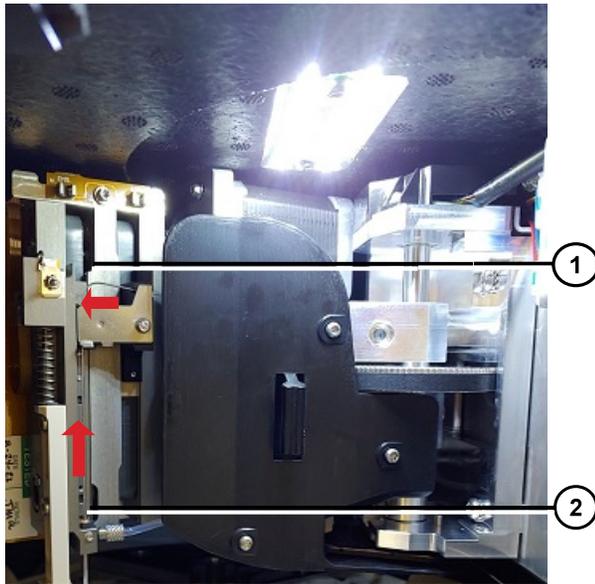
Advertencia: Para evitar heridas por punción, manipular las agujas de muestra, las jeringas, los tubos de sílice fundida y las puntas de borosilicato con muchísimo cuidado.



Aviso: Para evitar dañar el extremo de la aguja, no se debe tocar ni presionar el extremo de la aguja de muestras.

Nota: El conjunto de la aguja de perforación consta de la aguja de perforación, vespel y alojamiento de PEEK.

Figura 8–43: Extraer la aguja de muestras del conjunto de la aguja de perforación



- ① Aguja de muestra
- ② Conjunto de la aguja de perforación

11. Obtener la aguja de muestras de repuesto. Retirar el manguito protector de la punta de la aguja.
12. Localizar el imán en la sección ahuecada del brazo del soporte de la aguja. Montar el cartucho de la aguja en el imán.



Advertencia: Para evitar heridas por punción, manipular las agujas de muestra, las jeringas, los tubos de sílice fundida y las puntas de borosilicato con muchísimo cuidado.



Aviso: Para evitar dañar el extremo de la aguja, no se debe tocar ni presionar el extremo de la aguja de muestras.

Figura 8–44: Ubicación del imán en el brazo del soporte de la aguja

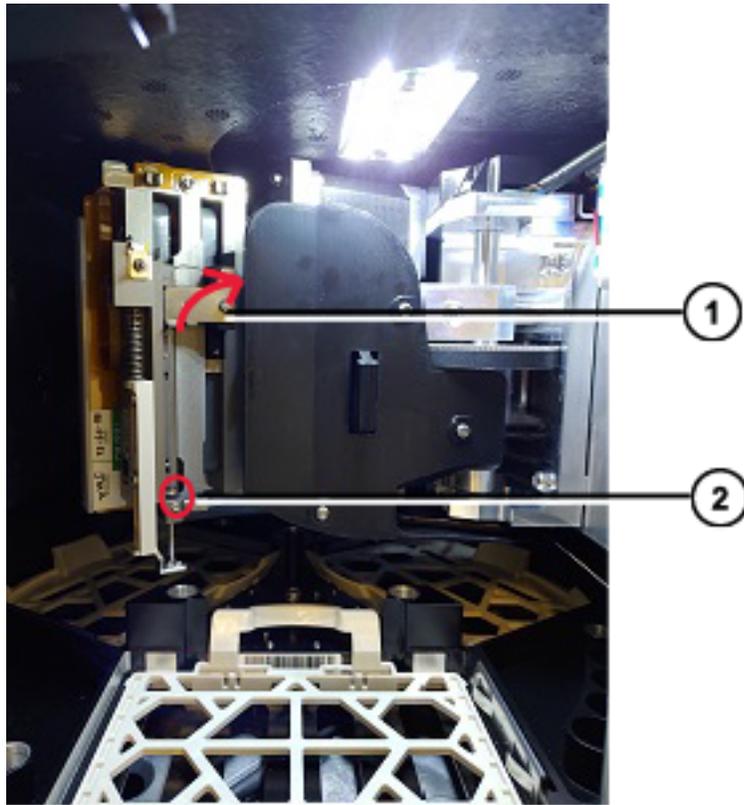


① Brazo del soporte de la aguja

② Imán en la sección ahuecada

13. Para instalar la aguja de muestras en el conjunto del soporte de la aguja:
 - a. Deslizar la aguja de muestras en la guía de vespel de la parte inferior del conjunto de la aguja de perforación como se muestra en la siguiente figura.
 - b. Insertar la férula de la parte superior de la aguja en el soporte de sujeción de la aguja en la parte superior.
 - c. Después de colocar la férula en el soporte de sujeción de la aguja, colocar los tubos en la muesca situada sobre el cierre.
 - d. Cerrar el cierre giratorio girándolo en sentido horario.

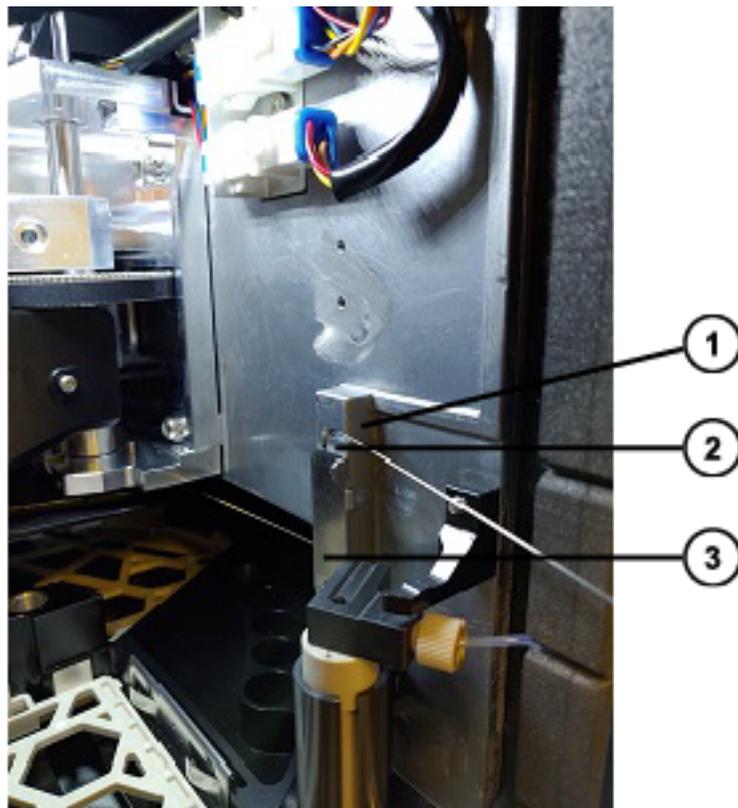
Figura 8–45: Instalar la aguja de muestras en el conjunto del soporte de la aguja



- ① Cierre giratorio (la férula está detrás del cierre giratorio)
- ② Guía de vespel

14. Dirigir el tubo de la aguja a través de la muesca del bloque pequeño de la pared del compartimento de muestras. Luego, girar el cierre giratorio en sentido antihorario para asegurar el tubo de la aguja en la muesca.

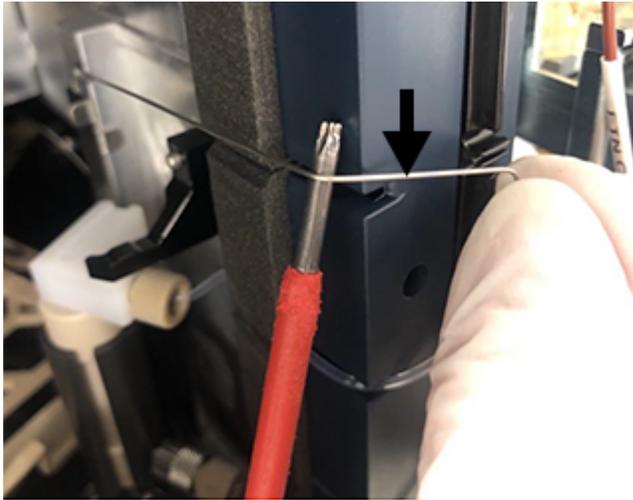
Figura 8–46: Asegurar el tubo de la aguja en la muesca (segundo cierre giratorio en la pared del compartimento)



- ① Bloque pequeño en la pared del compartimento de muestras
- ② Tubo de la aguja en la muesca
- ③ Cierre giratorio en la pared del compartimento de muestras

15. Doblar el tubo de la aguja (flecha) hacia la derecha alrededor del bisel con el destornillador TORX T20.

Figura 8–47: Doblar el tubo de la aguja alrededor del bisel del compartimento



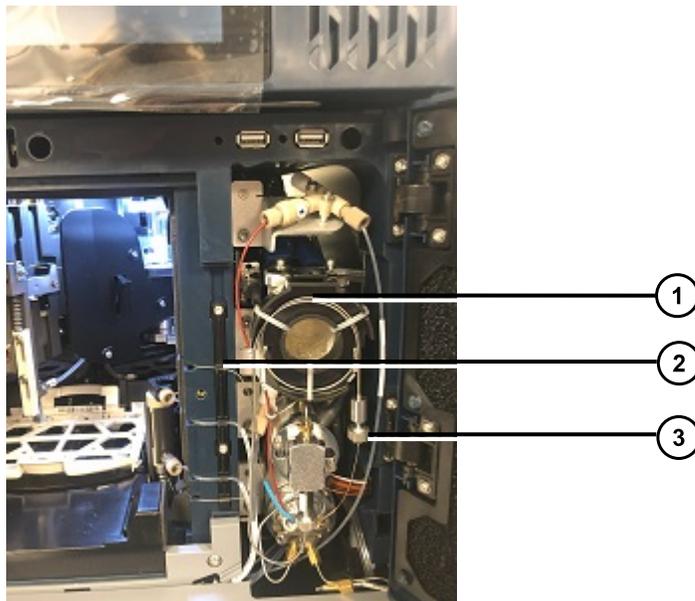
16. Doblar el tubo de la aguja (flecha) hacia abajo como se muestra con el destornillador TORX T20.

Figura 8–48: Doblar el tubo de la aguja hacia abajo



17. Conectar la aguja de muestras al loop de extensión utilizando el conector de ajuste sin herramientas. Después, asegurar el tubo de la aguja en el clip superior.

Figura 8–49: Volver a conectar la aguja de muestras al loop de extensión

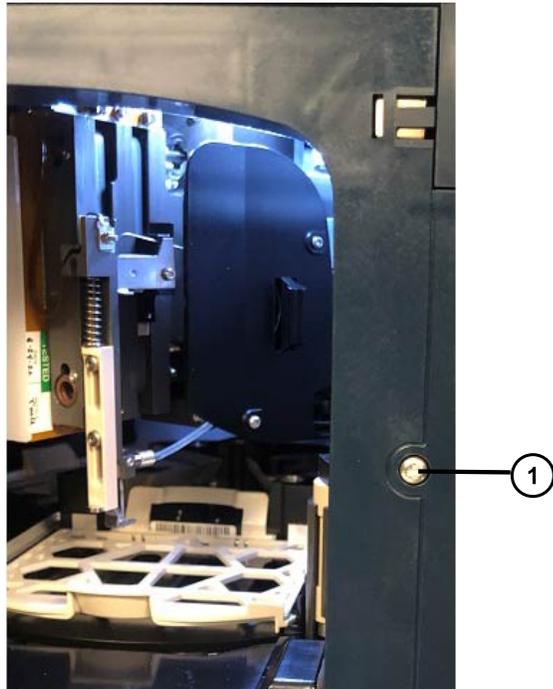


- ① Loop de extensión
- ② Tubo de la aguja en el clip superior
- ③ Conector de ajuste sin herramientas

18. Volver a instalar el panel de acceso y alinear las pestañas de la parte superior del panel de acceso con las ranuras del bisel. A continuación, instalar el panel de acceso y utilizar el destornillador TORX T20 para apretar el tornillo cautivo que sujeta el panel a la parte frontal del sistema.

Requisito: Asegurarse de que el tubo de la aguja esté colocado en el clip superior como se indica en el paso anterior.

Figura 8–50: Tornillo cautivo en el panel de acceso



① Tornillo cautivo

19. Cerrar las puertas del compartimento de muestras y del compartimento de fluidos.

Recomendación: Se recomienda cambiar la junta de la aguja cada vez que se cambie la aguja.

20. Calibrar la aguja:

- a. Tocar **MAINTAIN > Calibrate Axes > Calibrate Z-Axis** (MANTENIMIENTO > Calibrar ejes > Calibrar eje Z) y seguir las indicaciones en pantalla hasta que aparezca **Z-Axis Calibration Passed** (Calibración de eje Z superada) en la pantalla. Tocar **DONE** (Listo).
- b. Tocar **MAINTAIN > Calibrate Axes > Calibrate Zp-Axis** (MANTENIMIENTO > Calibrar ejes > Calibrar eje Zp) y seguir las indicaciones en pantalla hasta que aparezca **Zp-Axis Calibration Passed** (Calibración de eje Zp superada) en la pantalla. Tocar **DONE** (Listo).
- c. Tocar **MAINTAIN > Calibrate Axes > Calibrate BΘ-Axis** (MANTENIMIENTO > Calibrar ejes > Calibrar eje BΘ) y seguir las indicaciones en pantalla hasta que aparezca **BΘ-Axis Calibration Passed** (Calibración de eje BΘ superada) en la pantalla. Tocar **NEXT > HOME > DONE** (SIGUIENTE > INICIO > LISTO).

8.9 Procedimientos de mantenimiento del detector

En esta sección se proporcionan procedimientos de mantenimiento para los detectores TUV y PDA del Alliance iS HPLC System que los usuarios o el personal de Servicio técnico de Waters pueden realizar.

Los procedimientos incluyen lo siguiente:

- Sustituir el sensor de fugas
- Sustituir el sensor de la celda de flujo
- Sustituir la lámpara

8.9.1 Sustituir el sensor de fugas del detector

El sensor de fugas de la bandeja de recogida controla de forma continua la existencia de fugas en el detector.



Advertencia: Para evitar la contaminación personal con compuestos tóxicos o con riesgo biológico, es necesario utilizar siempre guantes limpios, sin polvo y resistentes a productos químicos para realizar este procedimiento.

El sensor de fugas del detector detiene el flujo del sistema cuando detecta una fuga de líquido acumulado en su depósito. Cuando el sensor detecta una fuga, la pantalla táctil del sistema muestra un mensaje de alarma.

Herramientas y materiales necesarios

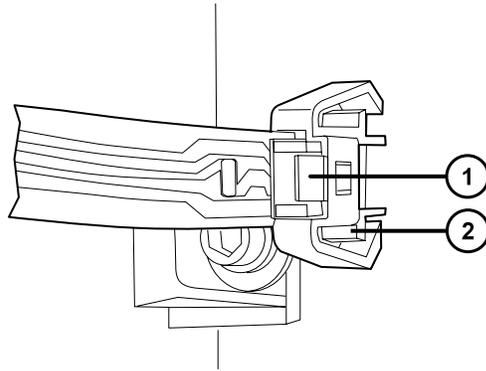
- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Sensor de fugas de repuesto

Para sustituir el sensor de fugas del detector:

1. Abrir la puerta del detector, tirando suavemente del borde derecho hacia afuera.
2. Extraer el sensor de fugas antiguo:
 - a. Para desconectar el conector del sensor de fugas de la parte frontal del instrumento, presionar la lengüeta de liberación.

Nota: La siguiente figura es solo una representación. El hardware puede diferir ligeramente del mostrado.

Figura 8–51: Desconectar el sensor de fugas



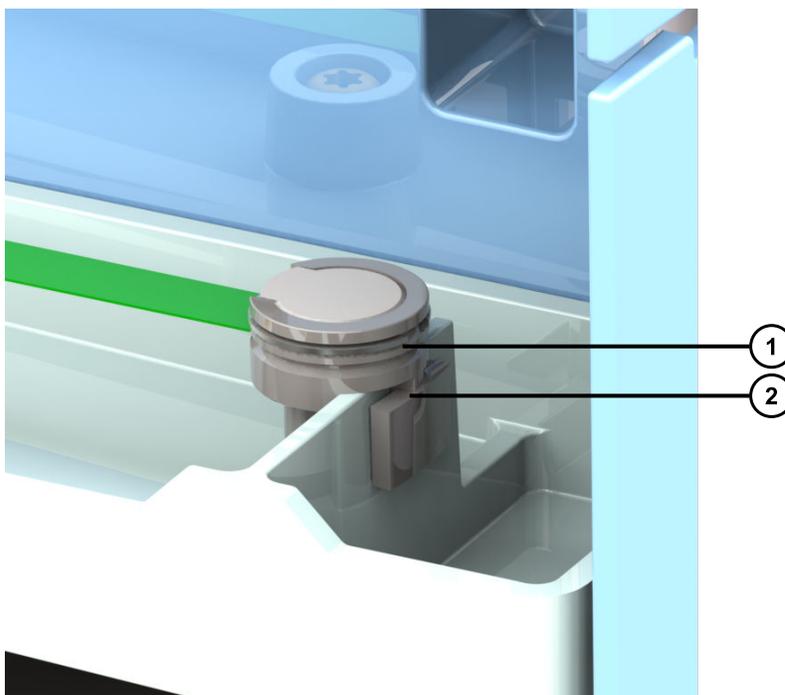
- ① Lengüeta de liberación
- ② Conector del sensor de fugas

b. Para extraer el sensor de fugas del depósito, sujetarlo por los bordes dentados que hay alrededor de la parte superior y tirar de él hacia arriba (consultar la figura «Sensor de fugas instalado, vista posterior»).

3. Instalar el nuevo sensor de fugas:

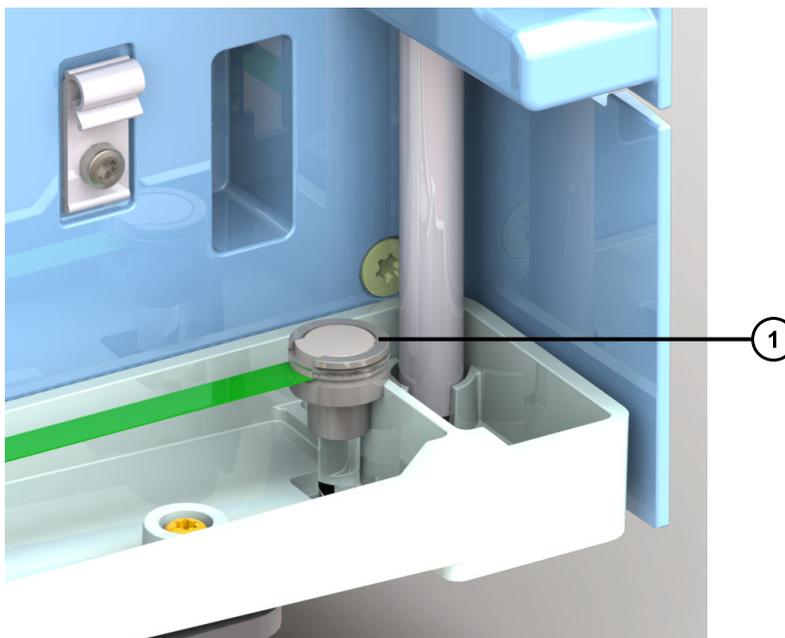
a. Mientras se sujeta el sensor de fugas por los bordes dentados, alinear la barra en forma de T con la ranura del lateral del depósito y deslizarla hasta colocarla en su sitio (consultar la figura «Sensor de fugas instalado, vista posterior»).

Figura 8–52: Sensor de fugas instalado, vista posterior



- ① Bordes dentados
- ② Barra en forma de T acoplada en la ranura del depósito

Figura 8–53: Sensor de fugas instalado, vista frontal



① Sensor de fugas

- b. Enchufar el conector del sensor de fugas en la parte frontal del módulo.
4. Cerrar la puerta del detector.
5. Desde la vista [Commands \(Página 58\)](#) (Comandos) de la pantalla táctil del sistema, tocar **Reset** (Restablecer).

8.9.2 Sustituir la celda de flujo del detector TUV

Para evitar errores del sistema, sustituir la celda de flujo del detector TUV siempre que parezca sucia, contaminada u obstruida.

Consultar también: *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Prácticas recomendadas para el control de la contaminación en sistemas LC/MS) (715001307ES).*

Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Destornillador plano de 1/4 pulg.
- Metanol de calidad HPLC
- Agua de calidad HPLC
- Celda de flujo de repuesto

Para sustituir la celda de flujo del detector TUV:

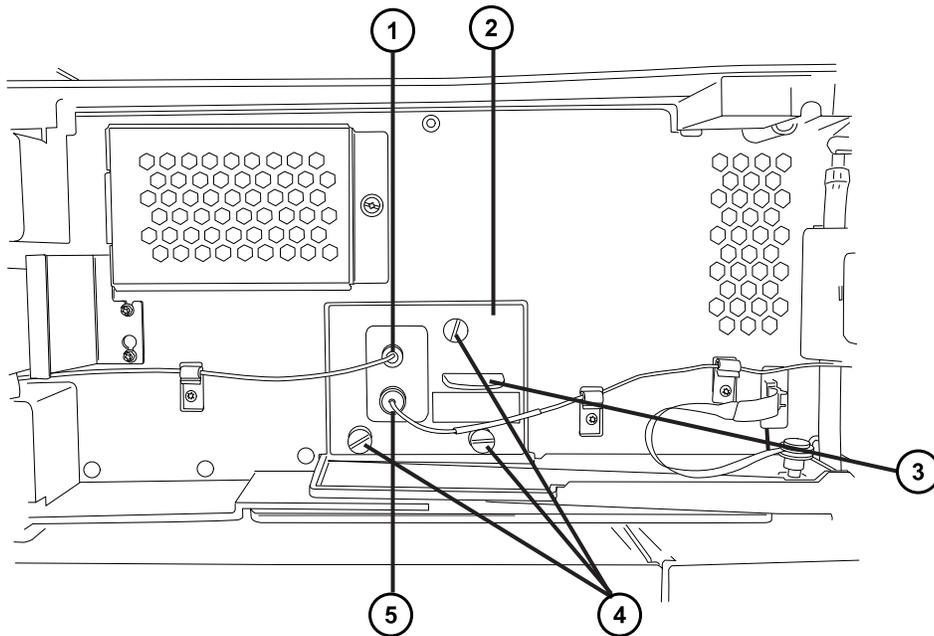


Aviso:

- Para evitar contaminar la celda de flujo, se recomienda utilizar guantes limpios, sin polvo y resistentes a compuestos químicos al manipularla, extraerla o sustituirla.
- Hay que manipular con cuidado la celda de flujo para evitar dañarla. No desmontar la celda de flujo.

1. Abrir la puerta del detector TUV, tirando suavemente del borde derecho hacia afuera.
2. Desconectar los tubos de entrada y salida del detector TUV.

Figura 8-54: Colocar la celda de flujo (vista de la puerta del detector TUV abierta)



- ① Tubo de salida
- ② Bloque de la celda de flujo
- ③ Tirador de celda de flujo
- ④ Tornillos de ajuste manual (3)
- ⑤ Tubo de entrada

3. Extraer y, a continuación, lavar la celda de flujo antes de guardarla:

- a. Con un destornillador, aflojar los tres tornillos de ajuste manual situados en la placa frontal del conjunto de la celda de flujo.
- b. Extraer la celda de flujo sujetándola por el mango y tirando suavemente del conjunto hacia fuera.
- c. Antes de guardarla, se recomienda enjuagar la celda de flujo anterior. Seleccionar un eluyente que sea compatible con las muestras y las fases móviles que se han utilizado. Si se han utilizado soluciones tampón, enjuagar la celda con 10 mL de agua de calidad HPLC y después con 10 mL de un eluyente de tensión superficial baja, como metanol.

Requisito: Comprobar que el eluyente utilizado sea miscible con la fase móvil anterior.

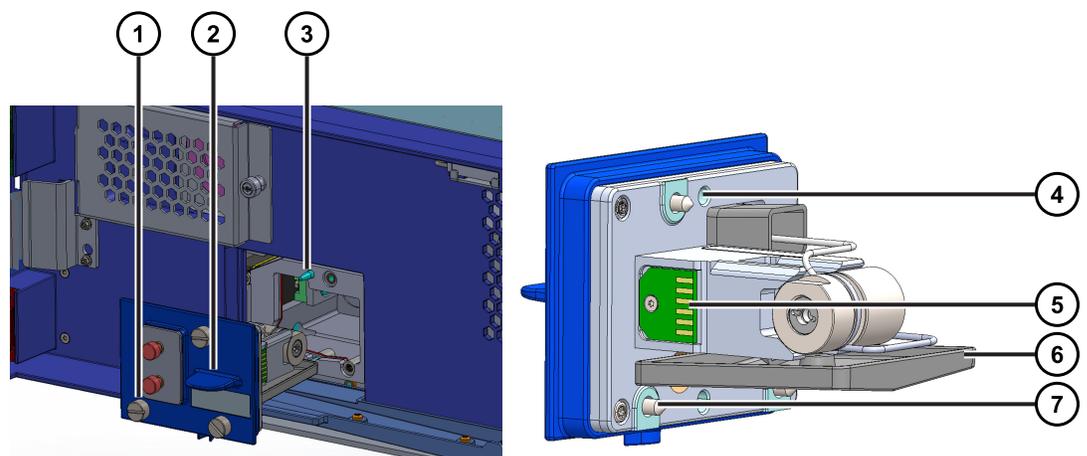
4. Desembalar e inspeccionar la nueva celda de flujo, asegurándose de que el tipo de celda es correcto para la aplicación en cuestión.

Nota: Al sustituir la celda de flujo, cambiar el tubo de entrada de la celda de flujo por el tubo que viene con la nueva celda de flujo.

5. Instalar la nueva celda de flujo:
 - a. Alinear el conjunto de celda de flujo con la parte frontal de la abertura y, a continuación, introducirlo lentamente para que sus dos receptáculos de alineación (en la cara posterior de la parte frontal de la brida de celda) se acoplen en las patillas del compartimiento de la celda.

Indicación: A medida que se inserta la celda, la bandeja de recogida ayuda a garantizar la alineación correcta de las patillas del compartimiento y los receptáculos de la brida de celda.

Figura 8–55: Instalar el conjunto de la celda de flujo del detector TUV



- ① Tornillo de ajuste manual (3)
- ② Tirador de la celda de flujo (la etiqueta de debajo puede variar en función del tipo de celda)

- ③ Clavija de alineación del compartimento (2)
- ④ Receptáculo de alineación de la brida de celda (2)
- ⑤ Chip ID de la celda de flujo
- ⑥ Bandeja de recogida
- ⑦ Tornillo de ajuste manual (3, vista posterior)

- b. Continuar insertando la celda de flujo hasta que los tres tornillos de ajuste manual queden alineados con sus orificios en el plafón.
- c. Apretar a mano los tornillos de ajuste manual y confirmar que están asegurados con un destornillador.

6. Conectar los tubos de entrada a la conexión de la columna principal y a la entrada de la celda de flujo, y, a continuación, conectar los tubos de salida en la salida de la celda de flujo.
7. Comprobar que la celda de flujo está llena de eluyente transparente desgasificado (acetónitrilo o agua) que no contenga burbujas de aire.
8. Apagar y volver a encender el sistema.
9. Después de encender el sistema, en la pantalla táctil, tocar **Maintain > Calibrate Detector > Verify Calibration** (Mantenimiento > Calibrar detector > Verificar la calibración).

Nota: Si la verificación falla, solucionar el problema y volver a intentar la verificación. Si la verificación sigue fallando, tocar **Maintain > Calibrate Detector > Calibrate Wavelengths** (Mantenimiento > Calibrar detector > Calibrar longitudes de onda).

8.9.3 Sustituir la celda de flujo del detector PDA

Para evitar errores del sistema, sustituir la celda de flujo del detector PDA siempre que parezca sucia, contaminada u obstruida.

Consultar también: *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Prácticas recomendadas para el control de la contaminación en sistemas LC/MS) (715001307ES).*

Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Destornillador plano de 1/4 pulg.
- Metanol de calidad HPLC
- Agua de calidad HPLC
- Celda de flujo de repuesto

Para sustituir la celda de flujo del detector PDA:

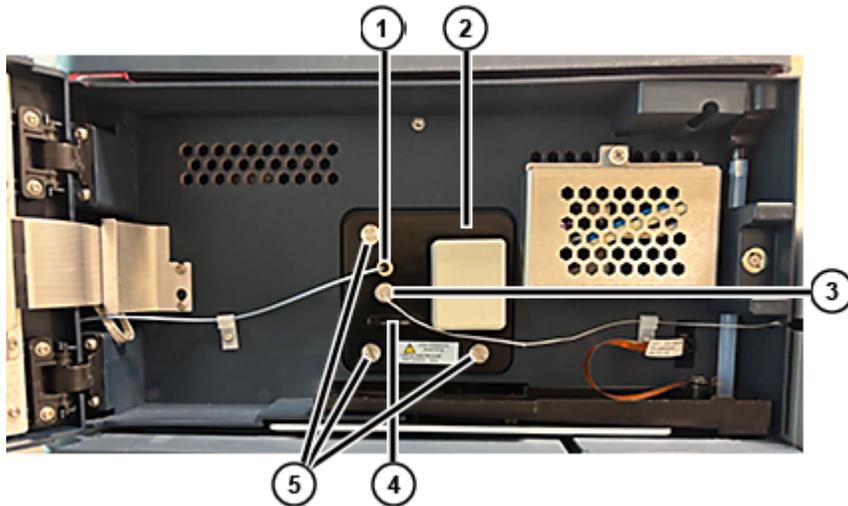


Aviso:

- Para evitar contaminar la celda de flujo, se recomienda utilizar guantes limpios, sin polvo y resistentes a compuestos químicos al manipularla, extraerla o sustituirla.
- Hay que manipular con cuidado la celda de flujo para evitar dañarla. No desmontar la celda de flujo.

1. Abrir la puerta del detector PDA, tirando suavemente del borde derecho hacia afuera.
2. Desconectar los tubos de entrada y salida del detector PDA.

Figura 8–56: Colocar la celda de flujo (vista de la puerta del detector PDA abierta)



- ① Tubo de salida
- ② Bloque de la celda de flujo
- ③ Tubo de entrada
- ④ Tirador de celda de flujo
- ⑤ Tornillos de ajuste manual (3)

3. Extraer y, a continuación, lavar la celda de flujo antes de guardarla:
 - a. Con un destornillador, aflojar los tres tornillos de ajuste manual situados en la placa frontal del conjunto de la celda de flujo.
 - b. Extraer la celda de flujo sujetándola por el mango y tirando suavemente del conjunto hacia fuera.
 - c. Antes de guardarla, se recomienda enjuagar la celda de flujo anterior. Seleccionar un eluyente que sea compatible con las muestras y las fases móviles que se han utilizado. Si se han utilizado soluciones tampón, enjuagar la celda con 10 mL de

agua de calidad HPLC y después con 10 mL de un eluyente de tensión superficial baja, como metanol.

Requisito: Comprobar que el eluyente utilizado sea miscible con la fase móvil anterior.

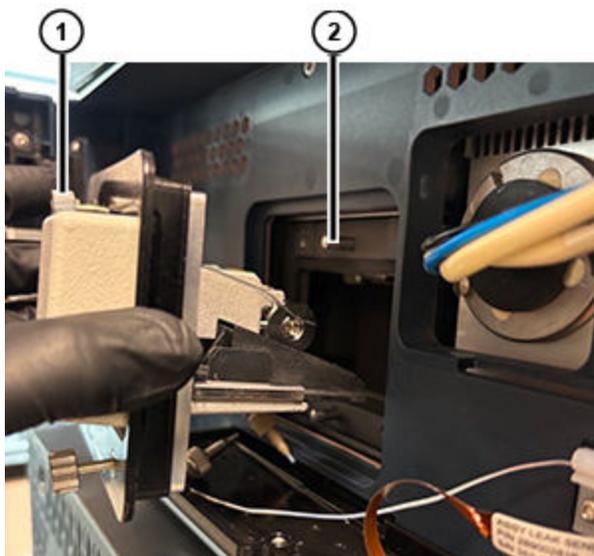
4. Desembalar e inspeccionar la nueva celda de flujo, asegurándose de que el tipo de celda es correcto para la aplicación en cuestión.

Nota: Al sustituir la celda de flujo, cambiar el tubo de entrada de la celda de flujo por el tubo que viene con la nueva celda de flujo.

5. Instalar la nueva celda de flujo:
 - a. Alinear el conjunto de celda de flujo con la parte frontal de la abertura y, a continuación, introducirlo lentamente para que sus dos receptáculos de alineación (en la cara posterior de la parte frontal de la brida de celda) se acoplen en las patillas del compartimento de la celda.

Indicación: A medida que se inserta la celda, la bandeja de recogida ayuda a garantizar la alineación correcta de las patillas del compartimento y los receptáculos de la brida de celda.

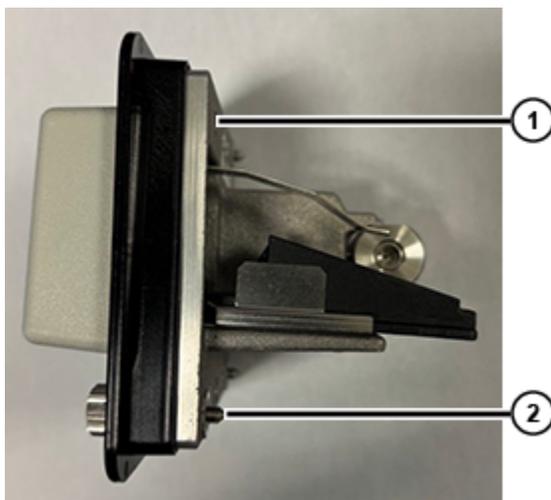
Figura 8–57: Instalar el conjunto de la celda de flujo del detector PDA



- ① Tornillo de ajuste manual (3)
- ② Clavija de alineación del compartimento (2)

- b. Continuar insertando la celda de flujo hasta que los tres tornillos de ajuste manual queden alineados con sus orificios en el plafón.

Figura 8–58: Alinear el conjunto de la celda de flujo del detector



- ① Receptáculo de alineación de la brida de celda (2)
- ② Tornillo de ajuste manual (3)

- c. Apretar a mano los tornillos de ajuste manual y confirmar que están asegurados con un destornillador.
6. Conectar los tubos de entrada a la conexión de la columna principal y a la entrada de la celda de flujo, y, a continuación, conectar los tubos de salida en la salida de la celda de flujo.
7. Comprobar que la celda de flujo está llena de eluyente transparente desgasificado (acetónitrilo o agua) que no contenga burbujas de aire.
8. Apagar y volver a encender el sistema.
9. Después de encender el sistema, en la pantalla táctil, tocar **Maintain > Verify Calibration** (Mantenimiento > Verificar la calibración).

Nota: Si la verificación falla, solucionar el problema y volver a intentar la verificación. Si la verificación sigue fallando, realizar una calibración con erbio. Consultar [Calibración con erbio \(Página 43\)](#).

8.9.4 Sustituir la lámpara del detector TUV

Sustituir la lámpara del detector TUV anualmente durante el mantenimiento preventivo (PM) prescrito o siempre que no se encienda en repetidas ocasiones o cuando el detector no se calibre. El sistema detecta automáticamente la lámpara durante su instalación e introduce su número de serie y fecha de instalación automáticamente en la tabla Lamp Change Records (Registros de cambios de lámpara).

Nota: Waters garantiza 2000 horas de vida de la lámpara o un año desde la fecha de compra, lo que se produzca primero.



Advertencia: Para evitar lesiones por quemaduras, es necesario dejar que la lámpara se enfríe durante 30 minutos antes de retirarla. El alojamiento de la lámpara se calienta mucho durante el funcionamiento.



Advertencia: Para evitar daños oculares derivados de la exposición a la radiación ultravioleta:

- Apagar el detector antes de cambiar la lámpara.
- Utilizar protección ocular para filtrar la luz ultravioleta.
- Mantener la lámpara en el alojamiento durante el funcionamiento.

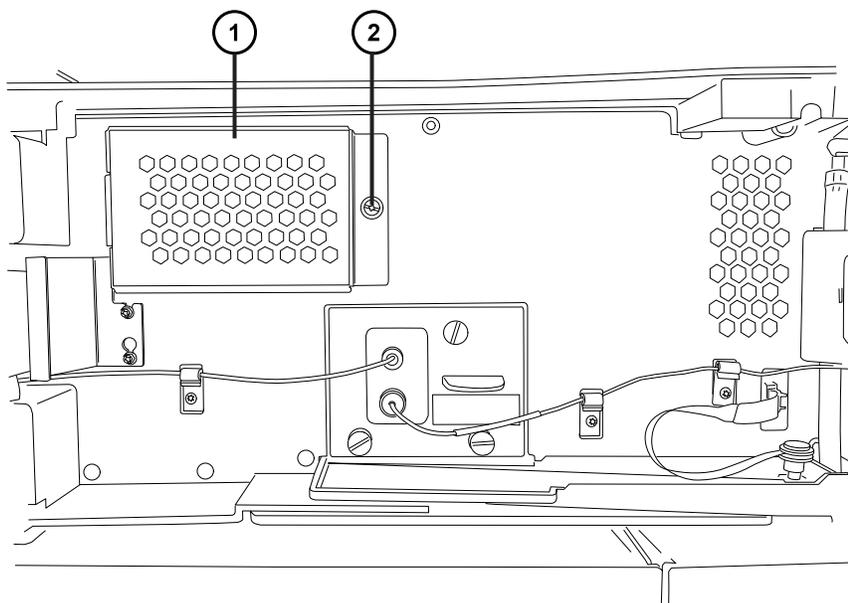
Para sustituir la lámpara:



Atención: Asegurarse de dejar que la lámpara se enfríe durante un mínimo de 30 minutos antes de iniciar este procedimiento.

1. Apagar el sistema y, después, desconectar el cable de alimentación.
2. Abrir la puerta del detector TUV.
3. Localizar la cubierta del conjunto de la lámpara (consultar la siguiente figura).
4. Para quitar la cubierta del conjunto de la lámpara, utilizar un destornillador Phillips para extraer el tornillo de cabeza Phillips (consultar la siguiente figura).
5. Levantar la cubierta del conjunto de la lámpara para quitarla.

Figura 8–59: Cubierta del conjunto de la lámpara

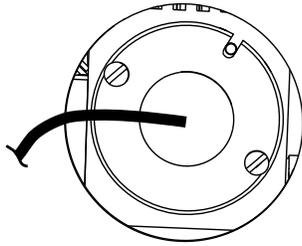


- 1 Cubierta del conjunto de la lámpara
- 2 Tornillo Phillips

6. Desconectar el cable de alimentación de la lámpara.

7. Aflojar los dos tornillos cautivos de la base de la lámpara.

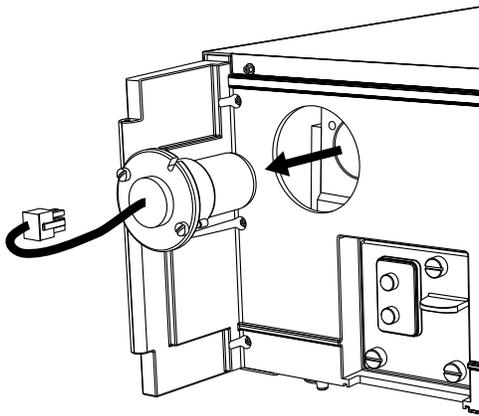
Figura 8–60: Tornillos cautivos de la base del conjunto de la lámpara



8. Extraer el conjunto de la lámpara de su alojamiento.

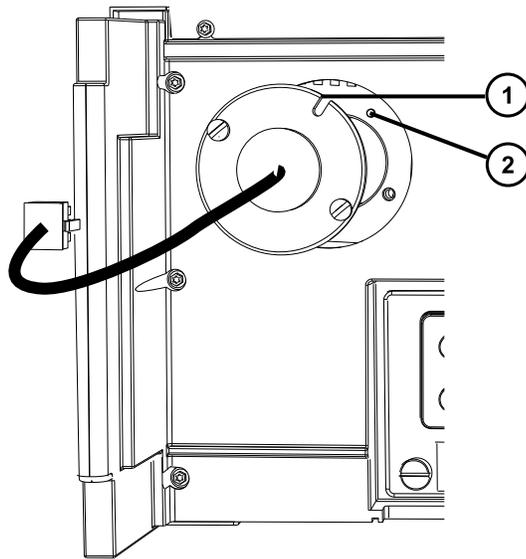
! **Aviso:** Para evitar que se rompa el vidrio, tener cuidado al desechar la lámpara, ya que el gas de esta se encuentra bajo una ligera presión negativa.

Figura 8–61: Extraer el conjunto de la lámpara



9. Colocar la lámpara nueva de modo que la muesca ubicada en la base de la lámpara esté en la posición de la 1 en punto, en línea con la clavija de alineación del alojamiento de la lámpara.

Figura 8–62: Alinear la lámpara



- ① Muesca en la base de la lámpara en la posición de la 1 en punto
- ② Clavija de alineación en el alojamiento de la lámpara

10. Empujar suavemente la lámpara hacia adelante hasta que entre por completo en su lugar.
11. Apretar los dos tornillos cautivos.
12. Volver a conectar el conector eléctrico de la lámpara.
13. Volver a instalar la cubierta del conjunto de la lámpara con el tornillo Phillips.
14. Cuando todo esté listo para iniciar de nuevo la operación del detector TUV, volver a conectar el cable de alimentación y encender el sistema.

8.9.5 Sustituir la lámpara del detector PDA

Sustituir la lámpara del detector PDA anualmente durante el mantenimiento preventivo (PM) prescrito o siempre que no se encienda en repetidas ocasiones o cuando el detector no se calibre. El sistema detecta automáticamente la lámpara durante su instalación e introduce su número de serie y fecha de instalación automáticamente en la tabla Lamp Change Records (Registros de cambios de lámpara).

Nota: Waters garantiza 2000 horas de vida de la lámpara o un año desde la fecha de compra, lo que se produzca primero.



Advertencia: Para evitar lesiones por quemaduras, es necesario dejar que la lámpara se enfríe durante 30 minutos antes de retirarla. El alojamiento de la lámpara se calienta mucho durante el funcionamiento.



Advertencia: Para evitar daños oculares derivados de la exposición a la radiación ultravioleta:

- Apagar el detector antes de cambiar la lámpara.
- Utilizar protección ocular para filtrar la luz ultravioleta.
- Mantener la lámpara en el alojamiento durante el funcionamiento.

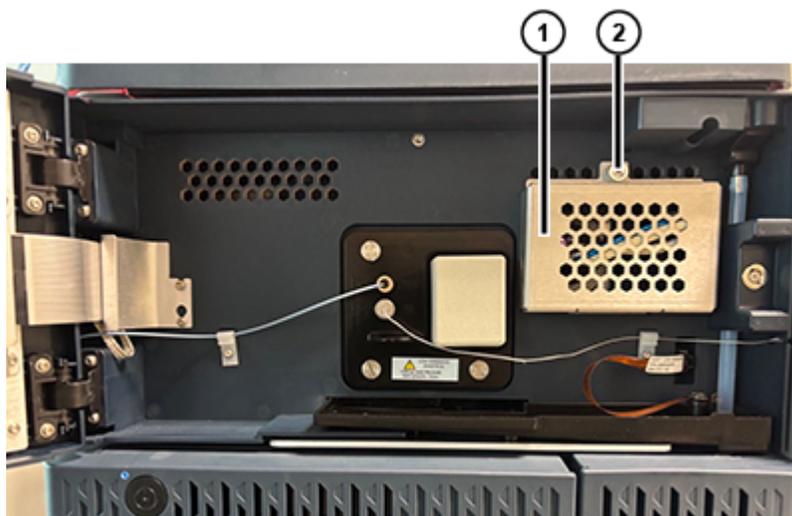
Para sustituir la lámpara:



Atención: Asegurarse de dejar que la lámpara se enfríe durante un mínimo de 30 minutos antes de iniciar este procedimiento.

1. Apagar el sistema y, después, desconectar el cable de alimentación.
2. Abrir la puerta del detector PDA.
3. Localizar la cubierta del conjunto de la lámpara (consultar la siguiente figura).
4. Para quitar la cubierta del conjunto de la lámpara, utilizar un destornillador Phillips para extraer el tornillo de cabeza Phillips (consultar la siguiente figura).
5. Levantar la cubierta del conjunto de la lámpara para quitarla.

Figura 8–63: Cubierta del conjunto de la lámpara

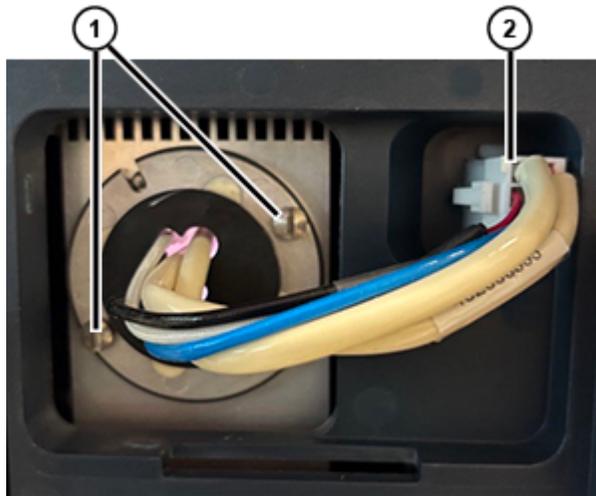


① Cubierta del conjunto de la lámpara

② Tornillo Phillips

6. Desconectar el cable de alimentación de la lámpara.
7. Aflojar los dos tornillos cautivos de la base de la lámpara.

Figura 8–64: Tornillos cautivos de la base del conjunto de la lámpara



- ① Tornillos cautivos
- ② Cable de la lámpara

8. Extraer el conjunto de la lámpara de su alojamiento.

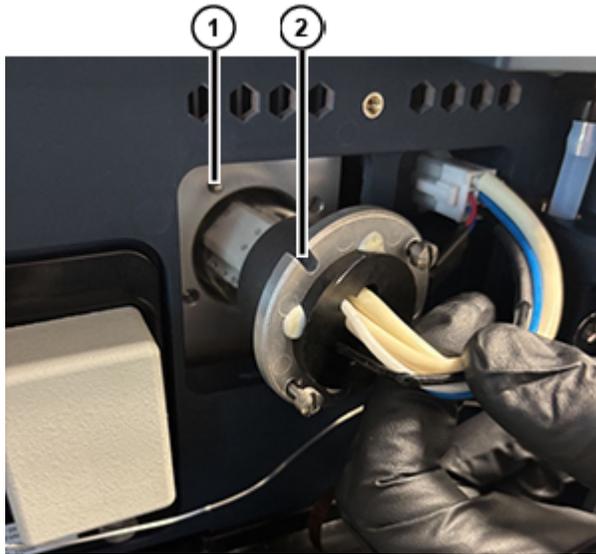
! **Aviso:** Para evitar que se rompa el vidrio, tener cuidado al desechar la lámpara, ya que el gas de esta se encuentra bajo una ligera presión negativa.

Figura 8–65: Extraer el conjunto de la lámpara



9. Colocar la lámpara nueva de modo que la muesca ubicada en la base de la lámpara esté en la posición de las 11 en punto, en línea con la clavija de alineación del alojamiento de la lámpara.

Figura 8–66: Alinear la lámpara



- ① Muesca en la base de la lámpara en la posición de las 11 en punto
- ② Clavija de alineación en el alojamiento de la lámpara

10. Empujar suavemente la lámpara hacia adelante hasta que entre por completo en su lugar.
11. Apretar los dos tornillos cautivos.
12. Volver a conectar el conector eléctrico de la lámpara.
13. Volver a instalar la cubierta del conjunto de la lámpara con el tornillo Phillips.
14. Cuando todo esté listo para iniciar de nuevo la operación del detector PDA, volver a conectar el cable de alimentación y encender el sistema.

8.10 Procedimientos de mantenimiento del horno de columnas

En esta sección se proporcionan procedimientos de mantenimiento para el horno de columnas del Alliance iS HPLC System que los usuarios o el personal de Servicio técnico de Waters pueden realizar.

Los procedimientos incluyen lo siguiente:

- Sustituir la columna
- Sustituir el sensor de fugas de columnas

8.10.1 Programa de mantenimiento del horno de columnas

El horno de columnas tiene un programa de mantenimiento recomendado.

Los usuarios pueden realizar los siguientes procedimientos de mantenimiento sistemático del horno de columnas.

Procedimiento de mantenimiento	Frecuencia
Sustituir los filtros de eluyente (Página 111)	Durante el mantenimiento sistemático programado o según sea necesario
Sustituir la columna (Página 172)	Durante el mantenimiento sistemático programado o según sea necesario
Sustituir el sensor de fugas de columnas (Página 175)	Durante el mantenimiento sistemático programado o según sea necesario

8.10.2 Sustituir la columna

Las columnas habilitadas para etiquetas eConnect de Waters utilizan la tecnología de comunicación de campo cercano (NFC), que proporciona una solución automatizada para identificar y realizar el seguimiento de las columnas de HPLC y su historial de uso. Para garantizar datos cromatográficos de alta calidad, sustituir anualmente o siempre que se observen problemas de forma de los picos o pérdida de resolución.



Advertencia: Para evitar la contaminación personal con compuestos tóxicos o con riesgo biológico, es necesario utilizar siempre guantes limpios, sin polvo y resistentes a productos químicos para realizar este procedimiento.



Advertencia: Para evitar lesiones por quemaduras, esperar el tiempo suficiente a que se enfríe la columna antes de abrir la puerta del compartimento. Es posible que la columna, el compartimento, los tubos, los conectores y el revestimiento de la puerta estén calientes.

Para extraer la columna existente:

Si se instala una columna de la marca Waters, este procedimiento no requiere herramientas. Se puede reemplazar fácilmente con el uso de los clips de columna y los conectores.

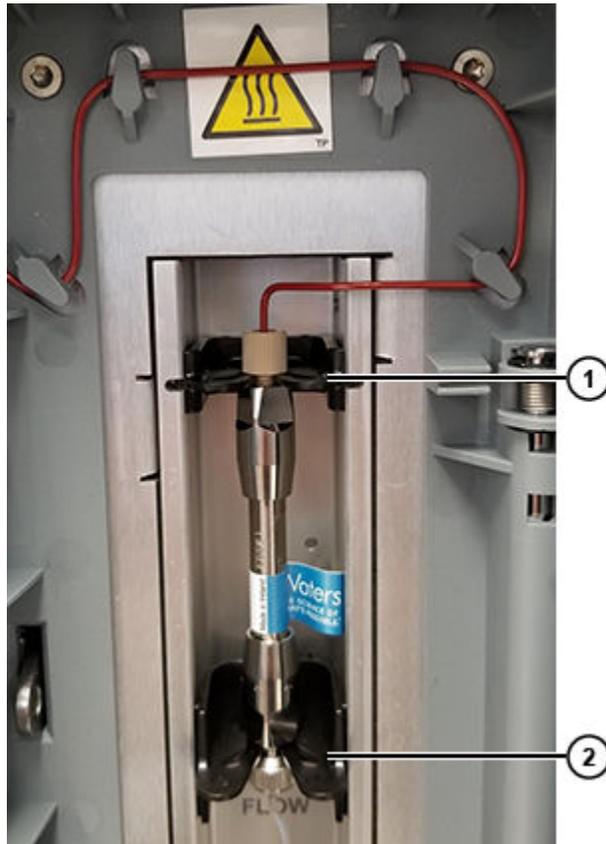
1. Abrir la puerta del compartimento de columnas.

Nota: Antes de extraer la columna, verificar que la temperatura del compartimento sea lo suficientemente fría.

2. Extraer la columna de los dos clips negros que la sujetan en su lugar:

- a. Localizar el conector en la parte inferior de la columna y, a continuación, extraer la parte inferior de la columna del clip negro.
- b. A continuación, extraer la parte superior de la columna. Mientras se sujeta la parte inferior de la columna con una mano, localizar el conector en la parte superior y usar la otra mano para extraer la parte superior de la columna del clip negro.

Figura 8–67: Extraer la columna de los clips negros



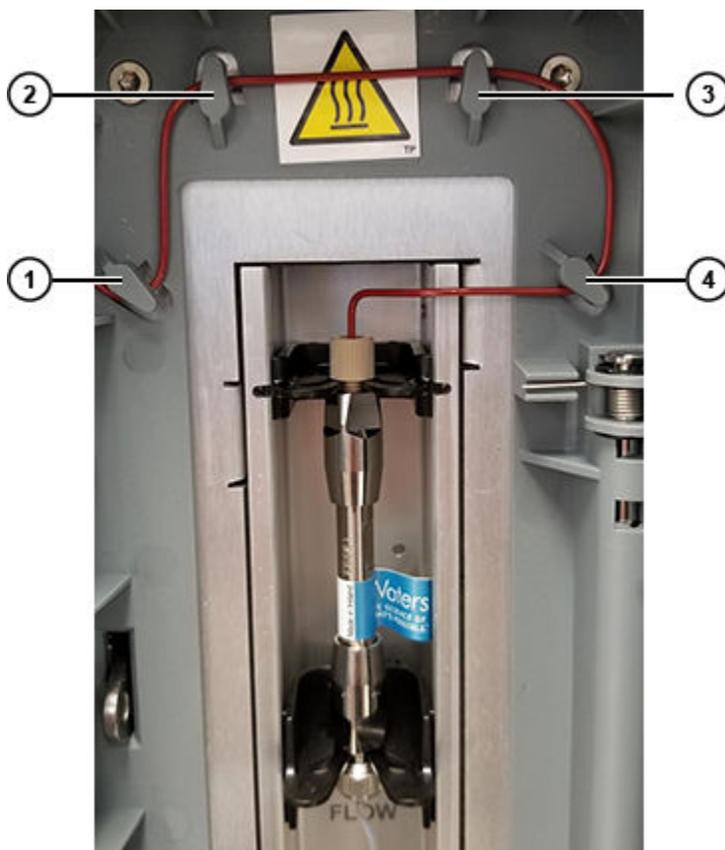
① Clip negro superior

② Clip negro inferior

- c. Localizar los sujetadores que fijan el tubo en la parte superior del compartimento de columnas y luego extraer el tubo de los sujetadores 2 a 4 únicamente.

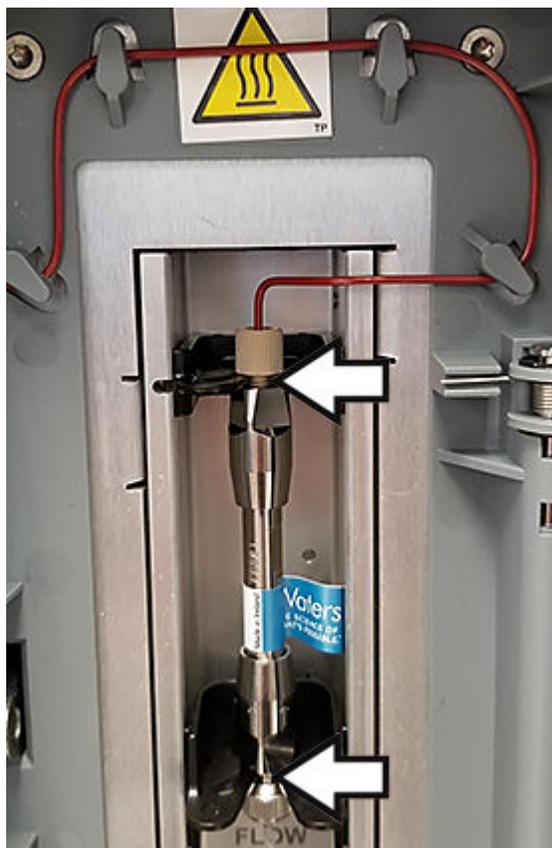
Indicación: No se debe quitar el tubo del sujetador 1, ya que fija el tubo a otro módulo y debe permanecer conectado.

Figura 8–68: Cuatro sujetadores que fijan el tubo



- d. Desenroscar el conector ubicado en la parte inferior de la columna y dejarlo a un lado para instalar la nueva columna.
- e. Desenroscar el conector ubicado en la parte superior de la columna y dejarlo a un lado para instalar la nueva columna. Seguir el resto de los pasos para instalar la nueva columna.
3. Quitar los tapones protectores de la parte superior e inferior de la nueva columna y luego colocarlos en la caja de envío de la columna para usarlos en el futuro.
4. Orientar la columna de forma que la salida mire hacia arriba (ver la flecha de la columna) y la entrada mire hacia abajo.
5. Enroscar a la columna los conectores de entrada y salida de la columna que se apartaron anteriormente, apretándolos manualmente.
6. En caso necesario, ajustar el clip de la columna inferior para que coincida con el tamaño de la nueva columna.
7. Instalar el tubo dirigiéndolo por los sujetadores 2 a 4 ubicados en la parte superior del compartimento de columna.
8. Insertar la columna en los clips negros superior e inferior asegurando que cada clip negro sujete las roscas expuestas del conector.

Figura 8–69: Instalar la columna de repuesto



9. Cerrar la puerta del compartimento de la columna.

Nota: Verificar que el tubo esté situado dentro del compartimento antes de cerrar la puerta del compartimento de la columna.

8.10.3 Sustituir el sensor de fugas del horno de columnas

Los usuarios o el personal de Servicio técnico de Waters pueden sustituir el sensor del horno de columnas.



Advertencia: Cumplir siempre las buenas prácticas de laboratorio (BPL), en especial cuando se trabaje con materiales peligrosos. Consultar las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets) referentes a los eluyentes utilizados. Además, consultar al responsable de seguridad de la organización acerca de los protocolos de manipulación de dichos materiales.



Advertencia: Para evitar la contaminación personal con compuestos tóxicos o con riesgo biológico, es necesario utilizar siempre guantes limpios, sin polvo y resistentes a productos químicos para realizar este procedimiento.



Advertencia: Para evitar lesiones oculares, utilizar protección ocular al realizar este procedimiento.



Requisito: Utilizar guantes limpios, sin polvo y resistentes a productos químicos para llevar a cabo este procedimiento.

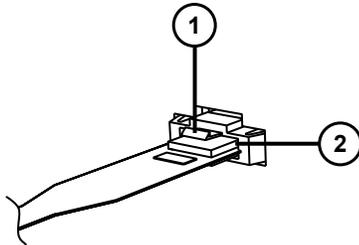
Herramientas y materiales necesarios

- Guantes sin polvo, resistentes a compuestos químicos
- Gafas protectoras
- Sensor de fugas de repuesto

Para sustituir el sensor de fugas:

1. Abrir la puerta del compartimento de columnas.
2. Presionar la pestaña para desconectar el conector del sensor de fugas de la parte frontal del dispositivo.

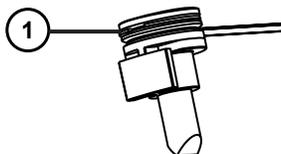
Figura 8–70: Conector del sensor de fugas



- ① Pestaña
- ② Conector del sensor de fugas

3. Sujetar el sensor de fugas por los bordes dentados y tirar de él hacia arriba para extraerlo de su alojamiento.

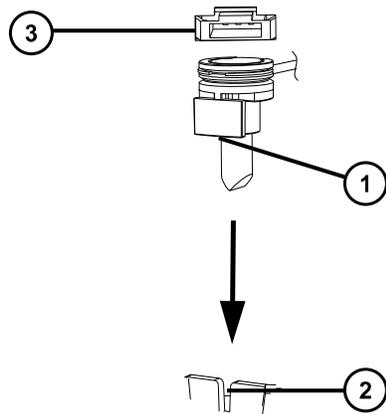
Figura 8–71: Bordes dentados del sensor de fugas



- ① Bordes dentados

4. Desembalar el nuevo sensor de fugas.
5. Alinear la barra en forma de T del sensor de fugas con la ranura del lateral de su depósito y después deslizar el sensor de fugas hasta colocarlo en su posición.

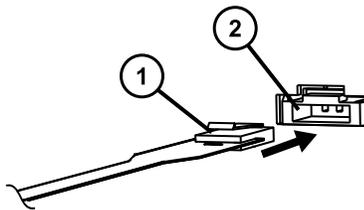
Figura 8–72: Alinear la barra en forma de T con la ranura



- ① Barra en forma de T
- ② Ranura del depósito del sensor de fugas
- ③ Puerto del sensor de fugas en la parte frontal del dispositivo

6. Acoplar el conector del sensor de fugas a la parte frontal del dispositivo.

Figura 8–73: Acoplar el conector del sensor de fugas



- ① Conector del sensor de fugas
- ② Puerto del sensor de fugas en la parte frontal del dispositivo

- 7. Cerrar la puerta del compartimento de la columna.
- 8. Desde la vista [Commands \(Página 58\)](#) (Comandos) de la pantalla táctil, tocar **Reset** (Restablecer).
- 9. Desde la vista [System \(Página 58\)](#) (Sistema) de la pantalla táctil, tocar **Leak Sensors** (Sensores de fugas) y, a continuación, habilitar el **QSM Leak Sensor** (Sensor de fugas del QSM).

9 Protocolos de eliminación

La eliminación de los componentes del sistema debe llevarla a cabo el personal de Waters o el cliente según la jurisdicción local.

9.1 Descripción de los materiales constituyentes

Para obtener descripciones detalladas de los materiales de Waters, consultar las fichas de datos de seguridad en [Ficha de datos de seguridad \(www.waters.com/SDS\)](http://www.waters.com/SDS) en waters.com.

9.2 Eliminación de los componentes del sistema

La eliminación de los componentes del sistema debe llevarla a cabo el personal de Waters o el cliente según la jurisdicción local.

10 Consideraciones sobre los eluyentes



Advertencia: Cumplir siempre las buenas prácticas de laboratorio (BPL), en especial cuando se trabaje con materiales peligrosos. Consultar las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets) referentes a los eluyentes utilizados. Además, consultar al responsable de seguridad de la organización acerca de los protocolos de manipulación de dichos materiales.

Revisar los siguientes temas relacionados con las consideraciones sobre los eluyentes necesarios al utilizar el Alliance iS HPLC System:

- [Prevenir la contaminación \(Página 179\)](#)
- [Calidad de los eluyentes \(Página 179\)](#)
- [Preparación de los eluyentes \(Página 181\)](#)
- [Recomendaciones sobre los eluyentes \(Página 181\)](#)
- [Propiedades de los eluyentes comunes \(Página 189\)](#)
- [Miscibilidad de los eluyentes \(Página 191\)](#)
- [Estabilizadores de eluyentes \(Página 193\)](#)
- [Viscosidad de los eluyentes \(Página 193\)](#)
- [Selección de la longitud de onda \(Página 193\)](#)

10.1 Prevenir la contaminación

Explorar el sitio web de Waters para obtener recursos sobre el control de la contaminación.

Para obtener información sobre cómo prevenir y eliminar la contaminación, consultar *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Prácticas recomendadas para el control de la contaminación en sistemas LC/MS)* (715001307ES) en el sitio web de Waters (www.waters.com).

10.2 Calidad de los eluyentes

Para obtener los mejores resultados posibles, utilizar eluyentes de calidad MS.

El requisito mínimo para los eluyentes es una calidad HPLC. Es necesario filtrar los eluyentes a través de un filtro de membrana apropiado.

Recomendación: Para asegurarse de que el filtro sea adecuado para los eluyentes utilizados, seguir las recomendaciones del fabricante o proveedor del filtro.

10.2.1 Eluyentes limpios

Waters destaca la importancia de utilizar siempre eluyentes limpios en su sistema.

Los eluyentes limpios proporcionan resultados reproducibles y permiten el funcionamiento del sistema con una mínima necesidad de mantenimiento.

Los eluyentes sucios pueden producir ruido y deriva en la línea base del detector, y pueden obstruir los filtros de los recipientes de eluyente, los filtros de entrada y los tubos capilares.

10.2.2 Eluyentes tamponados

Al utilizar un tampón, se deben elegir reactivos de buena calidad y filtrarlos a través de un filtro de membrana de 0,2 µm.

Recomendación: Para evitar el crecimiento microbiano, se debe cambiar el 100 % de la fase móvil acuosa cada día.

Ajustar el pH de los tampones acuosos. Filtrarlos para eliminar el material insoluble y, a continuación, mezclarlos con los modificadores orgánicos adecuados. Tras utilizar un tampón, se debe enjuagar la bomba mediante un cebado en húmedo de al menos cinco volúmenes del sistema de agua destilada o desionizada de calidad HPLC.

! **Atención:** Cuando se utilice Alliance iS Bio HPLC System a un pH superior a 10, asegurarse de utilizar el kit opcional para pH alto. Para obtener asistencia adicional, ponerse en contacto con Waters.

Si la bomba ha estado parada durante más de un día, debe enjuagarse con una solución de metanol (MeOH) al 20 %/agua para evitar el desarrollo de microorganismos.

Consultar también: Para obtener información sobre cómo evitar la contaminación, consultar *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Prácticas recomendadas para el control de la contaminación en sistemas LC/MS)* (715001307ES) en el sitio web de Waters (www.waters.com).

10.2.3 Agua

Utilizar únicamente agua procedente de un sistema de purificación de alta calidad.

! **Aviso:** El uso de agua al 100 % puede producir crecimiento microbiano. Se recomienda cambiar las soluciones que contengan agua al 100 % cada día. Si se añade una pequeña cantidad (~10 %) de eluyente orgánico se evita el crecimiento microbiano.

Si el sistema de agua no proporciona agua filtrada, se debe filtrar con un filtro de membrana de 0,2 µm antes de utilizarla.

10.3 Preparación de los eluyentes

La preparación adecuada de los eluyentes, principalmente mediante filtración, puede evitar muchos problemas con las bombas.

Recomendación: Almacenar las fases móviles en recipientes de vidrio de borosilicato tipo 1, clase A² o tipo 3.3³. Utilizar material de vidrio topacio para inhibir el crecimiento microbiano. Utilizar papel de aluminio o tapas de Waters para cubrir las botellas.

10.4 Recomendaciones sobre los eluyentes

Revisar la información importante sobre los eluyentes recomendados y no recomendados para su sistema.

Para determinar es posible utilizar eluyentes no incluidos en los siguientes temas sin afectar negativamente al funcionamiento de los componentes o del sistema, ponerse en contacto con Waters ([Contactar con Waters \(Página 15\)](#)).

- [Directrices generales sobre los eluyentes \(Página 181\)](#)
- [Directrices sobre los eluyentes de lavado \(Página 188\)](#)

10.4.1 Directrices generales sobre los eluyentes

Tener siempre en cuenta las recomendaciones generales de Waters relacionadas con los eluyentes.

- Para inhibir el crecimiento microbiano, utilizar material de vidrio topacio de alta calidad.
- Pasar los eluyentes por filtros de 0,2 µm o utilizar eluyentes prefiltrados. Las partículas pequeñas pueden obstruir permanentemente los conductos capilares del sistema. Filtrar los eluyentes también mejora el rendimiento de la válvula de retención.

10.4.1.1 Eluyentes recomendados

Consultar esta lista de eluyentes que Waters recomienda usar en el sistema.

Se recomienda utilizar los siguientes eluyentes en el sistema:

- Acetonitrilo (ACN)
- Isopropanol (IPA)
- Metanol (MeOH)

Nota: El titanio está sujeto a corrosión en metanol anhidro, lo que se puede evitar añadiendo una pequeña cantidad de agua (aproximadamente un 3 %). Es posible una ligera corrosión cuando los porcentajes de amoníaco son superiores al 10%.

- Agua

10.4.1.2 Eluyentes que se deben evitar

Consultar esta lista de eluyentes para evitar su uso en el sistema.

Evitar las siguientes sustancias:

- Eluyentes que contengan halógenos:
 - Bromo
 - Cloro
 - Flúor
 - Yodo
-  **Advertencia:** Los contaminantes de peróxido en THF pueden explotar espontáneamente y de forma destructiva cuando el THF se evapora total o parcialmente.

Compuestos que forman peróxidos, como éteres de calidad UV, THF no estabilizado, dioxano y éter diisopropílico (si es imperativo utilizar compuestos que forman peróxidos, asegurarse de filtrarlos a través de óxido de aluminio seco para adsorber los peróxidos formados. No dejar que permanezcan en el sistema durante más de 24 horas).

- Las soluciones que contengan concentraciones elevadas (superiores al 0,1 % en peso) de sustancias que formen complejos, como el EDTA.
-  **Aviso:** El intervalo estándar de pH de funcionamiento para el sistema es de 1,0 a 13,0. Usar el sistema con un pH inferior a 1,0 o superior a 13,0 durante periodos que no sean breves puede provocar un mayor desgaste de los componentes del sistema no incluidos en los kits de mantenimiento preventivo y requiere intervalos de mantenimiento preventivo sistemático más frecuentes.

Ácidos fuertes y bases fuertes

- Para ácidos fuertes, a menos que se utilicen como agentes de limpieza, utilizarlos únicamente en una baja concentración. Evitar el uso de ácidos con un pH inferior a 1,0 como fases móviles.
- Para bases fuertes, utilizarlas únicamente en una baja concentración. Evitar el uso de bases como fases móviles cuando su pH sea superior a 10,0 (o superior a 12,0 cuando se utilice el kit de tubos para pH alto).
- Cuando se utilice Alliance iS Bio HPLC System a un pH superior a 10, asegurarse de utilizar el kit opcional para pH alto. Para obtener asistencia adicional, ponerse en contacto con Waters.

10.4.1.2.1 Limitaciones de los materiales para ácidos y bases fuertes

Los ácidos y bases fuertes pueden afectar negativamente a ciertos tipos de tubos, conectores y materiales de los componentes.

- La poliéteretercetona (PEEK) puede degradarse en ácidos minerales fuertes, como los ácidos nítrico y sulfúrico, especialmente en presencia de halógenos y sustancias químicas que contengan halógenos.
- Los capilares de sílice y sus revestimientos de poliimida comienzan a degradarse a pH 8 o superior.
- El acero inoxidable (SST) puede degradarse cuando se expone a ciertos ácidos con un pH inferior a 2,3, especialmente en presencia de halógenos y sustancias químicas que contengan halógenos, y de ácidos minerales fuertes, como los ácidos nítrico y sulfúrico. El SST también puede sufrir degradación cuando se utiliza con ácidos orgánicos en eluyentes orgánicos.
- Las celdas de flujo de cuarzo pueden ver reducida su vida útil cuando el pH es superior a 12.
- La poliimida utilizada en el asiento de la aguja es estable en un intervalo de pH de 1 a 10 y en la mayoría de los eluyentes orgánicos. Se degrada en presencia de ácidos inorgánicos concentrados, como el ácido sulfúrico, y en presencia de ácido acético glacial. Se degrada en entornos muy básicos, sobre todo en presencia de amoníaco, o sales o acetatos de amonio.
- Para mantener un rendimiento óptimo, se recomienda inspeccionar periódicamente y, si es necesario, sustituir todos los componentes relevantes. Además, cuando se utilice Alliance iS Bio HPLC System a un pH superior a 10, asegurarse de utilizar el kit opcional para pH alto. Para obtener asistencia adicional, ponerse en contacto con Waters.

10.4.1.3 Recomendaciones sobre los eluyentes para el sistema

Seguir estas recomendaciones a nivel del sistema de Waters al elegir los eluyentes.



Advertencia: Para evitar la contaminación personal con materiales tóxicos, corrosivos o con riesgo biológico, hay que conocer los riesgos asociados a su manipulación.

Las pautas para utilizar y manipular correctamente este tipo de materiales se incluyen en la última edición de la publicación *Prudent Practices in the Laboratory: Handling and Management of Chemical Hazards (Prácticas seguras en el laboratorio: manipulación y tratamiento de productos químicos peligrosos)* del National Research Council.

Para evitar lesiones al trabajar con materiales peligrosos, consultar las fichas de datos de seguridad (SDS, por su sigla en inglés) referentes a los eluyentes utilizados. Además, consultar al responsable de seguridad de la organización acerca de los protocolos de manipulación de dichos materiales y seguir las buenas prácticas de laboratorio.

Contactar con Waters para obtener información sobre los procedimientos recomendados de limpieza y aclarado del sistema.

Consultar también: Los procedimientos de limpieza en *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Prácticas recomendadas para el control de la contaminación en sistemas LC/MS)* (715001307ES) en el sitio web de Waters (www.waters.com).

Se hacen las siguientes recomendaciones generales para su sistema:

-  **Advertencia:** Los contaminantes de peróxido en THF pueden explotar espontáneamente y de forma destructiva cuando el THF se evapora total o parcialmente.

Importante: Si se utiliza alguno de los siguientes eluyentes, se debe instalar un kit de compatibilidad con hexano/THF (consultar el [Kit de compatibilidad con hexano/THF \(Página 186\)](#)). Cuando se utilice hexano o THF, se debe minimizar el uso de componentes de PEEK sustituyendo los tubos de PEEK por tubos de SST o MP35N.

Se pueden utilizar los siguientes eluyentes como fase móvil en su sistema:

- Acetona
- Acetato de etilo
- Hexano
- THF

Nota: Al igual que sucede con numerosos eluyentes no acuosos, los eluyentes de la lista anterior pueden acortar la vida útil del sistema y de los componentes en comparación con equipos en los que se utilizan los eluyentes de fase reversa habituales.

- Cuando se utilice THF no estabilizado, hay que asegurarse de que el eluyente esté recién preparado. Las botellas de tetrahidrofurano que se hayan abierto previamente contienen peróxidos contaminantes que producen deriva de la línea base del detector.

Importante: No se recomienda utilizar ácido metanosulfónico en este sistema.

- Se pueden utilizar los siguientes eluyentes en diluciones débiles (menos del 10 % en volumen) como diluyentes de muestra:
 - Cloroformo
 - Eluyentes halogenados
 - Diclorometano
 - Tolueno
- Debido a que sirven como sustrato para las colonias microbianas, los eluyentes acuosos no deben permanecer en un sistema cerrado. Los microbios pueden obstruir los filtros del sistema y los conductos capilares. Para evitar su proliferación, se debe añadir como mínimo un 10 % de un eluyente orgánico, como ACN o MeOH.

Nota: El titanio está sujeto a corrosión en metanol anhidro, lo que se puede evitar añadiendo una pequeña cantidad de agua (aproximadamente un 3 %). Es posible una ligera corrosión cuando los porcentajes de amoníaco son superiores al 10%. Al usar un Alliance iS Bio HPLC System, como alternativa, se pueden extraer los filtros sumergibles de titanio (el sistema pierde la primera línea de protección frente a partículas) o sustituirlos por filtros de acero inoxidable si el análisis no se ve afectado por consideraciones de biocompatibilidad.

- Para determinar si un método específico es adecuado para su uso con los componentes del sistema, contactar con el representante de ventas de Waters o con el departamento de asistencia técnica local.

10.4.1.3.1 Recomendaciones sobre los eluyentes para el módulo del sistema de fluidos integrado

Para optimizar el rendimiento general sin afectar negativamente al sistema de gestión de muestras y al hardware de la bomba, seguir determinadas recomendaciones sobre eluyentes.

El conjunto del módulo del sistema de fluidos integrado (IFM) se refiere al área del chasis del sistema Alliance iS que aloja el sistema de gestión de muestras y la bomba.

Para obtener recomendaciones detalladas relacionadas con los componentes del IFM, consultar:

- [Recomendaciones sobre los eluyentes para el sistema de gestión de muestras \(Página 185\)](#)
- [Recomendaciones sobre los eluyentes para la bomba \(Página 185\)](#)

10.4.1.3.2 Recomendaciones sobre los eluyentes para el sistema de gestión de muestras

Seguir estas recomendaciones sobre los eluyentes específicas para el sistema de gestión de muestras.

- No utilizar tampones como eluyentes de lavado de agujas. Se pueden utilizar ácidos y bases.
- Se admite el uso de diluyentes orgánicos de la muestra habituales, como la DMF y el DMSO.

10.4.1.3.3 Recomendaciones sobre los eluyentes para la bomba

Seguir estas recomendaciones sobre los eluyentes específicas para la bomba.

-  **Aviso:** Para evitar dañar y obstruir los componentes de la trayectoria del flujo de lavado y purga, se recomienda no utilizar soluciones tampón ni aditivos no volátiles como eluyentes de lavado.

El isopropanol (IPA) o los eluyentes orgánicos son eluyentes eficaces para el lavado de las juntas en las separaciones de fase normal que usan fases móviles de polaridad intermedia (como hexano o THF). Cuando se utilicen tampones y sales no volátiles, se debe disminuir la frecuencia del intervalo del eluyente de lavado de juntas (consultar [Recomendaciones sobre los eluyentes de lavado \(Página 188\)](#) para obtener más información sobre el uso de tampones no volátiles).

- El sistema de lavado de las juntas no debe secarse nunca, especialmente durante las separaciones que utilizan una fase móvil polar.
- Asegurarse de que la fase móvil sea completamente soluble en todos los eluyentes utilizados en el sistema y compatible con ellos (consultar [Directrices sobre los eluyentes de lavado \(Página 188\)](#)).
- Para las aplicaciones de fase reversa, utilizar soluciones acuosas de lavado de las juntas con un componente orgánico débil (por ejemplo: MeOH/agua 1:9).

10.4.1.3.4 Recomendaciones sobre los eluyentes para el detector

Seguir esta recomendación sobre los eluyentes específica para el detector.

Para transportar una celda de flujo a temperaturas por debajo de los 5 °C, se debe llenar con alcohol.

10.4.1.4 Otros eluyentes

Esta lista comprende los eluyentes que se pueden utilizar en el sistema después de instalar un kit de compatibilidad de Waters.

Nota: Sin el kit de compatibilidad adecuado, estos eluyentes pueden acortar la vida útil del equipo. Si se usan de forma habitual los eluyentes de esta lista, se recomienda instalar el kit de compatibilidad con hexano/tetrahidrofurano (THF) correspondiente al sistema.

Consultar: [Kits de compatibilidad con hexano/THF de Waters \(Página 186\)](#)

- Acetona
- Acetato de etilo
- Hexano
- THF

Consultar también: [Recomendaciones sobre los eluyentes para el sistema \(Página 183\)](#)

Cuando se cambien los eluyentes, se debe tener en cuenta la polaridad del eluyente. Al cambiar entre eluyentes polares y no polares, se debe lavar el sistema con eluyentes compatibles y miscibles, como el IPA.

10.4.1.4.1 Kits de compatibilidad con hexano/THF de Waters

Se puede instalar un kit de compatibilidad con hexano/THF de Waters en los sistemas de interés.

Los kits de compatibilidad con hexano/THF de Waters están diseñados para usuarios que deben utilizar su sistema con ciertos eluyentes (consultar [Otros eluyentes \(Página 186\)](#)) o combinaciones de estos eluyentes a altas concentraciones y alta presión.

Nota: Para obtener el número de referencia del kit de compatibilidad con hexano/THF correspondiente al sistema, es necesario ponerse en contacto con Waters (consultar [Contactar con Waters \(Página 15\)](#)).

10.4.1.5 Aditivos/modificadores

Consultar esta lista de aditivos y modificadores y las cantidades específicas para usar en el sistema.

- Ácido acético, $\leq 0,3$ % vol.
- Acetato de amonio, ≤ 50 mM
- Bicarbonato de amonio, ≤ 10 mM
- Hidróxido de amonio, ≤ 50 mM
- Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), $\leq 0,1$ % en peso
- Ácido fórmico, $\leq 0,2$ % vol.

-  **Advertencia:** Para evitar dañar los componentes del sistema y para evitar el contacto con materiales corrosivos que puedan estar presentes en componentes que el hexafluoroisopropanol (HFIP) dañe, no utilizar HFIP en los eluyentes de lavado.

HFIP para aplicaciones de oligonucleótidos, soluciones acuosas del 1 % al 4 %

- Ácido heptafluorobutírico, $\leq 0,1$ % vol.
- Tampón de fosfato, ≤ 10 mM
- Trietilamina (TEA), $\leq 0,1$ % vol.
- Ácido trifluoroacético (TFA), $\leq 0,1$ % vol.

10.4.1.6 Diluyentes de muestras

Consultar esta lista de diluyentes de muestras para utilizar en el sistema.

- ACN
- Mezclas de ACN/agua
- Cloroformo
- Dimetilsulfóxido (DMSO)
- Dimetilformamida (DMF)
- IPA
- Isoctano
- MeOH
- Mezclas de MeOH/agua
- Diclorometano
- Agua

10.4.1.7 Productos de limpieza

Se pueden utilizar estos productos de limpieza en el sistema.

Nota: Los productos de limpieza requieren ser aplicados durante tiempos cortos (menos de 30 minutos) al lavar los instrumentos.

- Ácido fórmico (≤ 30 %)
- Ácido fosfórico (≤ 30 %)
- Hidróxido de sodio (≤ 1 M)

Consultar también: Los procedimientos de limpieza en *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Prácticas recomendadas para el control de la contaminación en sistemas LC/MS)* (715001307ES) en el sitio web de Waters (www.waters.com).

10.4.2 Directrices sobre los eluyentes de lavado

Para reducir el riesgo de arrastre, seguir estas directrices sobre los eluyentes de lavado.

Los eluyentes de lavado limpian la aguja de muestras entre inyecciones y eliminan los restos de la muestra anterior. Suelen ser más fuertes que una fase móvil isocrática de la aplicación, y con frecuencia son iguales (o incluso más fuertes) que las condiciones finales de la fase móvil de una separación por gradiente. Dado que no se inyectan en la columna, la determinación del eluyente de lavado adecuado no requiere, para fines prácticos, consideraciones cromatográficas.

Para conseguir un funcionamiento óptimo, seguir estas pautas a la hora de seleccionar los eluyentes de lavado. De lo contrario, se puede incrementar el riesgo de arrastre. No obstante, estas directrices no prohíben todas las demás combinaciones de eluyentes, que pueden utilizarse con peores expectativas en cuanto a rendimiento o manipulando los parámetros de inyección.

! **Aviso:** Para evitar dañar y obstruir los componentes de la trayectoria del flujo de lavado y purga, se recomienda no utilizar soluciones tampón ni aditivos no volátiles como eluyentes de lavado.

Consultar también: [Recomendaciones sobre los eluyentes de lavado \(Página 188\)](#) para obtener información detallada sobre la recomendación de Waters con respecto a los tampones no volátiles.

- **Importante:** Los eluyentes de lavado deben ser compatibles y miscibles tanto con la fase móvil de la aplicación como con los componentes de la muestra. También deben ser completamente solubles con la fase móvil y la muestra y no deben provocar precipitación.

Se recomienda utilizar eluyentes de lavado basados en la composición química de la fase móvil y de la muestra de la aplicación.

- Los eluyentes de lavado deben ser lo suficientemente fuertes como para disolver fácilmente la muestra y, posteriormente, mantener la solubilidad.
- Para condiciones cromatográficas de fase reversa con soluciones acuosas tamponadas, se suele utilizar eluyente de lavado con una alta concentración de eluyente orgánico, como MeOH o ACN al 80-100 % con el resto de agua.

Nota: El titanio está sujeto a corrosión en metanol anhidro, lo que se puede evitar añadiendo una pequeña cantidad de agua (aproximadamente un 3 %). Es posible una ligera corrosión cuando los porcentajes de amoníaco son superiores al 10%. Al usar un Alliance iS Bio HPLC System, como alternativa, se pueden extraer los filtros sumergibles de titanio (el sistema pierde la primera línea de protección frente a partículas) o sustituirlos por filtros de acero inoxidable si el análisis no se ve afectado por consideraciones de biocompatibilidad.

10.4.2.1 Recomendaciones sobre los eluyentes de lavado

Para mantener la condición y el rendimiento general del sistema, seguir esta recomendación sobre los eluyentes de lavado.

El uso de soluciones tampón no volátiles (sales sólidas) en eluyentes de lavado se permite únicamente a concentraciones limitadas. No obstante, generalmente no se recomienda.

Las soluciones tampón basadas en sales sólidas pueden secarse y dejar un residuo de sales que raye las superficies de las juntas, obstruya los tubos y dañe la bomba de lavado. Algunas aplicaciones controlan el pH para favorecer la solubilidad de la muestra, lo que da como resultado una mejor forma de los picos y picos más estrechos tras la elución. Una mejor solubilidad de la muestra en la fase móvil también hace que los componentes de la muestra tengan menos probabilidades de adherirse a superficies como la fase estacionaria o la aguja. Si el control del pH es importante para el funcionamiento de la separación, debe tenerse en cuenta al determinar la composición del eluyente de lavado. Por ejemplo, si se requiere un entorno ácido (pH bajo) para mantener la muestra en solución durante la separación, es probable que sea un componente necesario del eluyente de lavado para disolver la muestra adherida a la superficie de la aguja y para enjuagar la estación de lavado.

! **Atención:** Cuando se utilice Alliance iS Bio HPLC System a un pH superior a 10, asegurarse de utilizar el kit opcional para pH alto. Para obtener asistencia adicional, ponerse en contacto con Waters.

10.4.2.2 Usos opcionales de los eluyentes de lavado

Existe la opción de utilizar eluyentes de lavado para estos fines adicionales.

- De forma predeterminada, el sistema lava el exterior de la aguja de muestras después de una inyección, pero también se puede elegir utilizar los eluyentes de lavado en un procedimiento opcional que limpia el exterior de la aguja antes o después de una inyección.

Consultar también: Sistema de lavado (Página 51), para obtener una descripción más detallada del proceso predeterminado de limpieza de la aguja.

- Para determinar el flujo adecuado a través del tubo de residuos y confirmar que el sistema de lavado funciona correctamente, se puede elegir cebar el sistema de lavado con eluyentes de lavado.

10.5 Propiedades de los eluyentes comunes

Consultar la siguiente tabla de las propiedades de algunos eluyentes de uso común en cromatografía.

Tabla 10–1: Propiedades de los eluyentes comunes

Eluyente	Presión de vapor en mm Hg (Torr)	Punto de ebullición (°C)	Punto de inflamación (°C)
ACN	88,8 a 25 °C	81,6	6
Acetona	184,5 a 20 °C	56,29	-20
Acetato de <i>n</i> -butilo	7,8 a 20 °C	126,11	22
Alcohol <i>n</i> -butílico	4,4 a 20 °C	117,5	37
Cloruro de <i>n</i> -butilo	80,1 a 20 °C	78,44	-9

Tabla 10–1: Propiedades de los eluyentes comunes (continuación)

Eluyente	Presión de vapor en mm Hg (Torr)	Punto de ebullición (°C)	Punto de inflamación (°C)
Clorobenceno	8,8 a 20 °C	131,69	28
Cloroformo	158,4 a 20 °C	61,15	N/A
Ciclohexano	77,5 a 20 °C	80,72	-20
Ciclopentano	400 a 20 °C	49,26	-7
Dimetilacetamida (DMA)	1,3 a 25 °C	166,1	70
DMF	2,7 a 20 °C	153,0	58
DMSO	0,6 a 25 °C	189,0	88
o-diclorobenceno	1,2 a 20 °C	180,48	66
Diclorometano	350 a 20 °C	39,75	N/A
1, 4-Dioxano	29 a 20 °C	101,32	12
Acetato de etilo	73 a 20 °C	77,11	-4
Etanol	43,9 a 20 °C	78,32	15
Éter etílico	442 a 20 °C	34,55	-45
Dicloroetileno	83,35 a 20 °C	83,48	13
Heptano	35,5 a 20 °C	98,43	-4
Hexano	124 a 20 °C	68,7	-22
IPA	32,4 a 20 °C	82,26	12
Iso-octano	41 a 20 °C	99,24	-12
Isobutanol	8,8 a 20 °C	107,7	28
Miristato de isopropilo	<1 a 20 °C	182,6	164
MeOH	97 a 20 °C	64,7	11
Éter metil- <i>t</i> -butílico	240 a 20 °C	55,2	-28
Metiletilcetona	74 a 20 °C	79,64	-9
Metilisobutilcetona	16 a 20 °C	117,4	18
<i>N</i> -metilpirrolidona	0,33 a 25 °C	202,0	86
Pentano	420 a 20 °C	36,07	-49
<i>n</i> -propanol	15 a 20 °C	97,2	23
Carbonato de propileno	N/A	241,7	135
Piridina	18 a 25 °C	115,25	20
TEA	57 a 25 °C	89,5	-9

Tabla 10–1: Propiedades de los eluyentes comunes (continuación)

Eluyente	Presión de vapor en mm Hg (Torr)	Punto de ebullición (°C)	Punto de inflamación (°C)
TFA	97,5 a 20 °C	71,8	-3
THF	142 a 20 °C	66,0	-14
Tolueno	28,5 a 20 °C	110,62	4
1,2,4-triclorobenceno	1 a 20 °C	213,5	106
Agua	17,54 a 20 °C	100,0	N/A
o-xileno	6 a 20 °C	144,41	17

10.6 Miscibilidad de los eluyentes

Antes de cambiar de eluyente, consultar la tabla siguiente para determinar su miscibilidad.

Tener en cuenta los siguientes efectos y consideraciones:

- La temperatura afecta a la miscibilidad de los eluyentes. Si se está trabajando con una aplicación a alta temperatura, se debe tener en cuenta el efecto de la temperatura sobre la solubilidad del eluyente.
- Las soluciones tampón disueltas en agua pueden precipitar al mezclarse con eluyentes orgánicos.
- Los cambios que impliquen dos eluyentes miscibles se pueden realizar directamente. Los cambios en los que estén involucrados dos eluyentes que no sean totalmente miscibles (por ejemplo, de cloroformo a agua), requieren un eluyente intermedio, como el *n*-propanol.
- Cuando se cambia de una solución tampón fuerte a un eluyente orgánico, se debe enjuagar a fondo el sistema con agua destilada antes de incorporar el eluyente orgánico.

Nota: El valor de corte de λ es la longitud de onda a la que la absorbancia del eluyente es igual a 1 AU.

Tabla 10–2: Miscibilidad de los eluyentes

Eluyente	Índice de polaridad	Viscosidad cP, 20 °C (a 1 atm)	Punto de ebullición en °C (a 1 atm)	Número de miscibilidad (M)	Valor de corte de λ (nm)
ACN	6,2	0,37	81,6	11, 17	190
Ácido acético	6,2	1,26	117,9	14	N/A
Acetona	5,4	0,32	56,3	15, 17	330

Tabla 10–2: Miscibilidad de los eluyentes (continuación)

Eluyente	Índice de polaridad	Viscosidad cP, 20 °C (a 1 atm)	Punto de ebullición en °C (a 1 atm)	Número de miscibilidad (M)	Valor de corte de λ (nm)
Alcohol bencílico	5,5	5,80	205,5	13	N/A
DMF	6,4	0,90	153,0	12	N/A
DMSO	6,5	2,24	189,0	9	N/A
Etanol	5,2	1,20	78,3	14	210
<i>n</i> -hexano	0,0	0,313	68,7	29	N/A
MeOH	6,6	0,60	64,7	12	210
Metoxietanol	5,7	1,72	124,6	13	N/A
1-Propanol	4,3	2,30	97,2	15	210
2-Propanol	4,3	2,35	117,7	15	N/A
THF	4,2	0,55	66,0	17	220
Trietilamina	1,8	0,38	89,5	26	N/A
Agua	9,0	1,00	100,0	N/A	N/A

10.6.1 Usar los valores de miscibilidad

Los valores de miscibilidad se deben utilizar para predecir la miscibilidad de un líquido con un eluyente estándar.

Para predecir la miscibilidad de dos líquidos, se debe restar el valor de miscibilidad (valor M) más pequeño del más grande.

- Si la diferencia entre los dos valores M es de 15 o menos, los dos líquidos son miscibles en todas las proporciones a 15 °C.
- Una diferencia de 16 indica una temperatura de solución crítica de 25 a 75 °C, en la que 50 °C representa la temperatura óptima.
- Si la diferencia es de 17 o más, los líquidos son inmiscibles o su temperatura de solución crítica se encuentra por encima de los 75 °C.

Algunos eluyentes son inmiscibles con aquellos que se encuentran en cualquiera de los extremos de la escala de lipofilidad. Estos eluyentes reciben un valor M doble:

- El primer número, siempre menor que 16, indica el grado de miscibilidad con eluyentes muy lipofílicos.
- El segundo valor se aplica al extremo opuesto de la escala. Una gran diferencia entre estos dos valores indica un rango limitado de miscibilidad.

Por ejemplo, algunos fluorocarbonos son inmiscibles con todos los eluyentes estándar y tienen valores M de 0 y 32. Dos líquidos con valores M dobles suelen ser miscibles entre sí.

Un líquido se clasifica en el sistema de valores M mediante pruebas de miscibilidad con una serie de eluyentes estándares. Luego se suma o se resta un término de corrección de 15 unidades del punto de corte de la miscibilidad.

10.7 Estabilizadores de eluyentes

Se agregan estabilizadores de eluyentes para retardar o detener la degradación del eluyente.



Advertencia: Algunos eluyentes se degradan o se vuelven inestables con el tiempo. Los eluyentes altamente inestables presentan un riesgo potencial de explosión.



Aviso: No se debe dejar que se sequen los eluyentes que contengan estabilizadores, como THF con hidroxitolueno butilado (BHT), en la trayectoria de flujo del sistema. Si la trayectoria del flujo, incluida la celda de flujo del detector, está seca, se puede contaminar con los residuos de los estabilizadores, por lo que deberá someterse a una limpieza profunda para recuperar las condiciones iniciales.

10.8 Viscosidad de los eluyentes

En una cromatografía en gradiente, los cambios de viscosidad que tienen lugar cuando se mezclan los eluyentes en distintas proporciones pueden producir cambios de presión durante el análisis.

Aunque, por lo general, la viscosidad no es importante cuando se utiliza un solo eluyente o a baja presión, si no se sabe en qué medida afectan los cambios de presión al análisis, se debe monitorizar la presión durante el análisis.

10.9 Selección de la longitud de onda

Consultar estas tablas para obtener los valores de corte de la longitud de onda para los eluyentes comunes y las fases móviles mezcladas.

- [Valores de corte de la longitud de onda para eluyentes comunes \(Página 194\)](#)
- [Valores de corte de la longitud de onda para fases móviles mezcladas \(Página 194\)](#)

10.9.1 Valores de corte de la longitud de onda para eluyentes comunes

Consultar esta tabla para obtener los valores de corte de la longitud de onda para los eluyentes comunes.

Notas:

- El valor de corte de λ (o UV) es la longitud de onda a la que la absorbancia del eluyente es igual a 1 AU.
- El funcionamiento a una longitud de onda cercana o por debajo del valor límite aumenta el ruido de la línea base debido a la absorbancia del eluyente.

Tabla 10–3: Valores de corte de la longitud de onda para eluyentes comunes

Eluyente	Valor de corte de λ (nm)
ACN	190
Acetona	330
Dietilamina	275
Etanol	210
IPA	205
Éter isopropílico	220
MeOH	205
<i>n</i> -propanol	210
THF	230

10.9.2 Valores de corte de la longitud de onda para fases móviles mezcladas

Consultar esta tabla para obtener los valores de corte de longitud de onda aproximados para eluyentes, soluciones tampón, detergentes y fases móviles.

Las concentraciones de eluyente representadas son las que se utilizan con más frecuencia. Si se desea utilizar una concentración diferente, se puede determinar la absorbancia aproximada utilizando la ley de Beer, ya que la absorbancia es proporcional a la concentración.

Notas:

- El valor de corte de λ (o UV) es la longitud de onda a la que la absorbancia del eluyente es igual a 1 AU.
- El funcionamiento a una longitud de onda cercana o por debajo del valor límite aumenta el ruido de la línea base debido a la absorbancia del eluyente.

Tabla 10–4: Valores de corte de la longitud de onda para distintas fases móviles

Fase móvil	Valor de corte de λ (nm)
Ácido acético, 1 %	230
Acetato de amonio, 10 mM	205
Bicarbonato de amonio, 10 mM	190
3-[(3-colamidopropil)-dimetilamonio]-1-propanosulfonato (CHAPS), 0,1 %	215
Fosfato diamónico, 50 mM	205
EDTA disódico, 1 mM	190
Ácido 4-(2-hidroxietilo)-1-piperazinaetanosulfónico (HEPES), 10 mM, pH 7,6	225
Ácido clorhídrico, 0,1 %	190
Ácido 2-(<i>N</i> -Morfolino)-etanosulfónico (MES), 10 mM, pH 6,0	215
4-octilfenol polietoxilato (Triton X-100), 0,1 %	240
Polioxietileno (35) lauril éter (BRIJ 35), 0,1 %	190
Fosfato potásico, dibásico, 10 mM	190
Fosfato de potasio, monobásico, 10 mM	190
Acetato de sodio, 10 mM	205
Cloruro sódico, 1 M	207
Citrato de sodio, 10 mM	225
Dodecilsulfato de sodio (SDS), 0,1 %	190
Formiato de sodio, 10 mM	200
Trietilamina, 1 %	235
Ácido trifluoroacético, 0,1 %	190
Clorhidrato de tris-(hidroximetil)-aminometano (Tris HCl), 20 mM, pH 7,0	202
Tris HCl, 20 mM, pH 8,0	212
Reactivo A, cromatografía de pares iónicos (PIC) de Waters, 1 vial/litro	200
Reactivo B-6 PIC de Waters, 1 vial/litro	225
Reactivo B-6 PIC de Waters, UV baja, 1 vial/litro	190
Reactivo D-4 PIC de Waters, 1 vial/litro	190

10.9.2.1 Absorbancia de la fase móvil

Consultar esta tabla para obtener las absorbancias a diferentes longitudes de onda para las fases móviles más utilizadas.

Para reducir el ruido de la línea base, elegir la fase móvil con cuidado.

La mejor fase móvil para una aplicación es transparente a las longitudes de onda de detección elegidas. Una fase móvil de estas características garantiza que cualquier absorbancia sea atribuible únicamente a la muestra. La absorbancia de la fase móvil también reduce el rango dinámico lineal del detector en la cantidad de absorbancia que resta la función Autozero (Puesta a cero automática). La longitud de onda, el pH y la concentración de la fase móvil afectan a su absorbancia. En la siguiente tabla se muestran ejemplos de varias fases móviles, donde las absorbancias se basan en un camino óptico de 10 mm.

Nota: Cuando se utilicen eluyentes de fase normal, instalar el kit de conversión de hexano/THF de Waters correspondiente al sistema (consultar [Kits de compatibilidad con hexano/THF de Waters \(Página 186\)](#)).

! **Atención:** Cuando se utilice Alliance iS Bio HPLC System a un pH superior a 10, asegurarse de utilizar el kit opcional para pH alto. Para obtener asistencia adicional, ponerse en contacto con Waters.

Tabla 10–5: Absorbancia de la fase móvil medida con referencia a aire o agua

Fase móvil	Absorbancia (AU) a la longitud de onda especificada (nm)									
	200	205	210	215	220	230	240	250	260	280
Eluyentes										
ACN	0,05	0,03	0,02	0,01	0,01	< 0,01	N/A	N/A	N/A	N/A
IPA	1,80	0,68	0,34	0,24	0,19	0,08	0,04	0,03	0,02	0,02
MeOH (desgasificado)	1,91	0,76	0,35	0,21	0,15	0,06	0,02	< 0,01	N/A	N/A
MeOH (no desgasificado)	2,06	1,00	0,53	0,37	0,24	0,11	0,05	0,02	< 0,01	N/A
THF no estabilizado (fresco)	2,44	2,57	2,31	1,80	1,54	0,94	0,42	0,21	0,09	0,05
THF no estabilizado (antiguo)	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	2,5	1,45
Ácidos y bases										
Ácido acético, 1 %	2,61	2,63	2,61	2,43	2,17	0,87	0,14	0,01	< 0,01	N/A

Tabla 10–5: Absorbancia de la fase móvil medida con referencia a aire o agua (continuación)

Fase móvil	Absorbancia (AU) a la longitud de onda especificada (nm)									
	200	205	210	215	220	230	240	250	260	280
Fosfato diamónico, 50 mM	1,85	0,67	0,15	0,02	< 0,01	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
EDTA disódico, 1 mM	0,11	0,07	0,06	0,04	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02
Ácido clorhídrico, 0,1 %	0,11	0,02	< 0,01	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Ácido fosfórico, 0,1 %	< 0,01	N/A	N/A	N/A						
Trietilamina, 1 %	2,33	2,42	2,50	2,45	2,37	1,96	0,50	0,12	0,04	< 0,01
Ácido trifluoroacético, 0,1 %	1,20	0,78	0,54	0,34	0,22	0,06	<0,02	< 0,01	N/A	N/A
Tampones y sales										
Acetato de amonio, 10 mM	1,88	0,94	0,53	0,29	0,15	0,02	< 0,01	N/A	N/A	N/A
Bicarbonato de amonio, 10 mM	0,41	0,10	0,01	< 0,01	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
HEPES, 10 mM, pH 7,6	2,45	2,50	2,37	2,08	1,50	0,29	0,03	< 0,01	N/A	N/A
MES, 10 mM, pH 6,0	2,42	2,38	1,89	0,90	0,45	0,06	< 0,01	N/A	N/A	N/A
Fosfato potásico, dibásico, (K ₂ HPO ₄), 10 mM	0,53	0,16	0,05	0,01	< 0,01	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Fosfato potásico, monobásico (KH ₂ PO ₄), 10 mM	0,03	< 0,01	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Acetato de sodio, 10 mM	1,85	0,96	0,52	0,30	0,15	0,03	< 0,01	N/A	N/A	N/A
Cloruro sódico, 1 M	2,00	1,67	0,40	0,10	< 0,01	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Citrato de sodio, 10 mM	2,48	2,84	2,31	2,02	1,49	0,54	0,12	0,03	0,02	0,01
Formiato de sodio, 10 mM	1,00	0,73	0,53	0,33	0,20	0,03	< 0,01	N/A	N/A	N/A
Fosfato de sodio, 100 mM, pH 6,8	1,99	0,75	0,19	0,06	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	< 0,01
Tris HCl, 20 mM, pH 7,0	1,40	0,77	0,28	0,10	0,04	< 0,01	N/A	N/A	N/A	N/A
Tris HCl, 20 mM, pH 8,0	1,80	1,90	1,11	0,43	0,13	< 0,01	N/A	N/A	N/A	N/A
Surfactantes										

Tabla 10–5: Absorbancia de la fase móvil medida con referencia a aire o agua (continuación)

Fase móvil	Absorbancia (AU) a la longitud de onda especificada (nm)									
	200	205	210	215	220	230	240	250	260	280
Brij 35, 1 %	0,06	0,03	0,02	0,02	0,02	0,01	< 0,01	N/A	N/A	N/A
CHAPS, 0,1 %	2,40	2,32	1,48	0,80	0,40	0,08	0,04	0,02	0,02	0,01
Monolaurato de sorbitano polioxietileno (Tween 20), 0,1 %	0,21	0,14	0,11	0,10	0,09	0,06	0,05	0,04	0,04	0,03
Dodecilsulfato de sodio (SDS), 0,1 %	0,02	0,01	< 0,01	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Triton X-100, 0,1 %	2,48	2,50	2,43	2,42	2,37	2,37	0,50	0,25	0,67	1,42
Reactivos PIC de Waters										
PIC A, 1 vial/L	0,67	0,29	0,13	0,05	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	< 0,01
PIC B6, 1 vial/L	2,46	2,50	2,42	2,25	1,83	0,63	0,07	< 0,01	N/A	N/A
PIC B6, UV baja, 1 vial/L	0,01	< 0,01	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
PIC D4, 1 vial/L	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01

11 Especificaciones

Para ver todas las especificaciones relacionadas con el sistema (especificaciones de funcionamiento) y sus módulos (especificaciones de rendimiento), consultar el recurso *Alliance iS HPLC System Specification Sheet* (Hoja de especificaciones del Alliance iS HPLC System) (720007867ES) o *Alliance iS Bio HPLC System Specification Sheet* (Hoja de especificaciones del sistema Alliance iS Bio HPLC) (720008262ES) en el sitio web de Waters (www.waters.com). La reproducibilidad de las especificaciones depende de las condiciones de cada laboratorio.

Para obtener información adicional sobre las especificaciones del sistema, consultar el recurso *Alliance iS HPLC Systems Site Preparation Guide* (Guía de preparación de la instalación de Alliance iS HPLC Systems) (715008415ES), también en el sitio web de Waters, o ponerse en contacto con Waters (consultar [Contactar con Waters \(Página 15\)](#)).