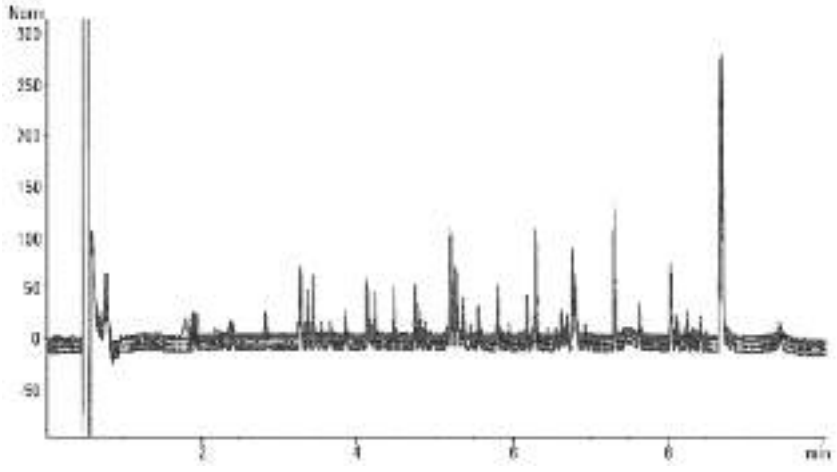
Aplicaciones biofarmacéuticas

NUEVO

Análisis de digestión de proteínas

Columna:	**ZORBAX 300SB-C18** **858750-902** **2,1 x 100 mm, 1,8 µm**
Fase móvil:	A: TFA al 0,1% en agua B: TFA al 0,085% en ACN
Velocidad de flujo:	0,5 ml/min
Presión:	640 bares
Gradiente:	B al 2% en 1 min, B al 2-45% en 8,8 min, B al 45-95% en 0,2 min, B al 95% en 2 min, B al 98-2% en 0,2 min, B al 2% en 1,8 min
Temperatura:	50 °C
Detector:	LC Agilent 1290 Infinity
Inyección:	5 µl
Muestra:	Digestión proteica
Concentración de la muestra:	1 mg/ml

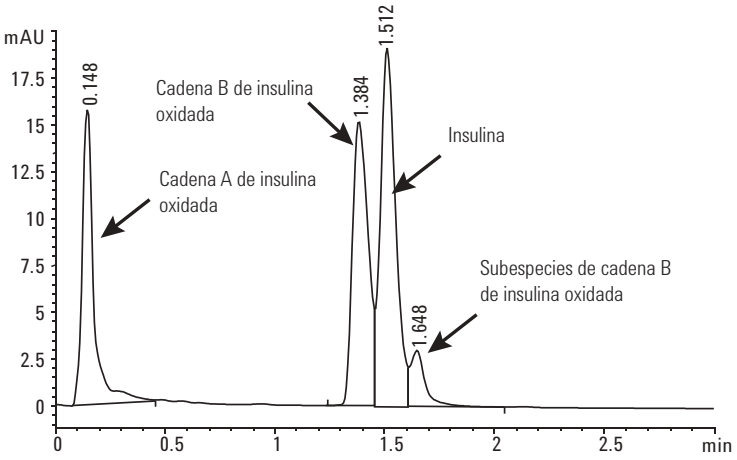


Cromatogramas superpuestos de 30 análisis de un digesto proteico con una columna Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18.

NUEVO

Análisis de cadenas de insulina oxidada

Columna:	**ZORBAX RRHD 300SB-C18 857750-902 2,1 x 50 mm, 1,8 µm**
Fase móvil:	A: TFA al 0,1% en agua B: ACN al 80% + TFA al 0,01% en agua
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Presión:	650-700 bares
Gradiente:	B al 33-50% en 0-4 min y B al 33% en 4-5 min
Detector:	UV, 280 nm LC Agilent 1290 Infinity
Muestra:	Insulina, cadenas A y B de insulina oxidada de páncreas bovino (Sigma Aldrich, St. Louis, MO)
Concentración de la muestra:	1 mg/ml
Inyección:	2 µl

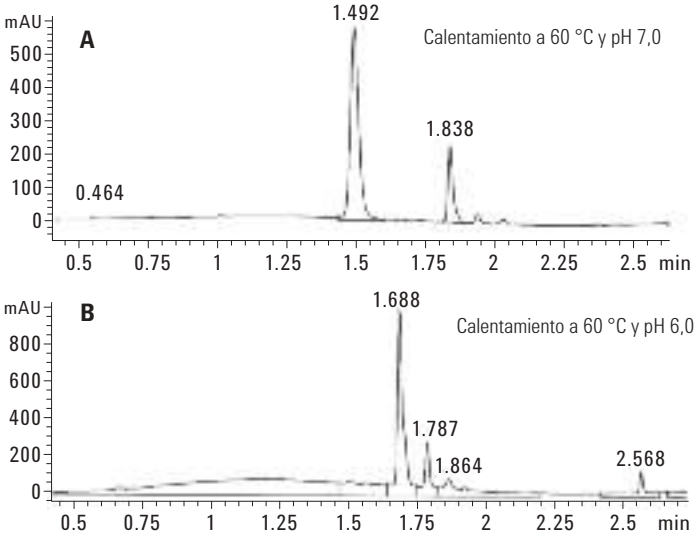


Las cadenas de insulina e insulina oxidada A y B se resuelven rápido pero las cadenas de insulina y insulina oxidada B coeluyen frecuentemente.

NUEVO

Separación rápida de eritropoyetina recominante humana

Columna:	**ZORBAX RRHD 300SB-C18 857750-902 2,1 x 50 mm, 1,8 µm**
Fase móvil:	A: TFA al 0,1% en agua B: TFA al 0,01% en ACN
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Presión:	650 bares
Gradiente	5 al 100% de disolvente B de 0 a 2,5 min.
Detector:	UV, 280 nm LC Agilent 1290 Infinity
Muestra:	EPO recombinante humana (rEPO)
Concentración de la muestra:	1,0 mg/ml
Inyección:	3 µl



La proteina rEPO tratada con calor se resuelve adecuadamente con la columna Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18. La columna separó estaás proteinas rEPO tratadas con calor.

NUEVO

Optimización de la separación para el análisis ultrarrápido de anticuerpos monoclonales reducidos y alquilados

Columna: **ZORBAX RRHD 300SB-C8**
858750-906
2,1 x 100 mm, 1,8 µm

Fase móvil: (Varios)
A: H_{20} + TFA al 0,1% (v/v)
B: n-propanol:ACN:H_2O (80:10:10) + TFA al 0,1% (v/v)

Inyección: 1-3 µl

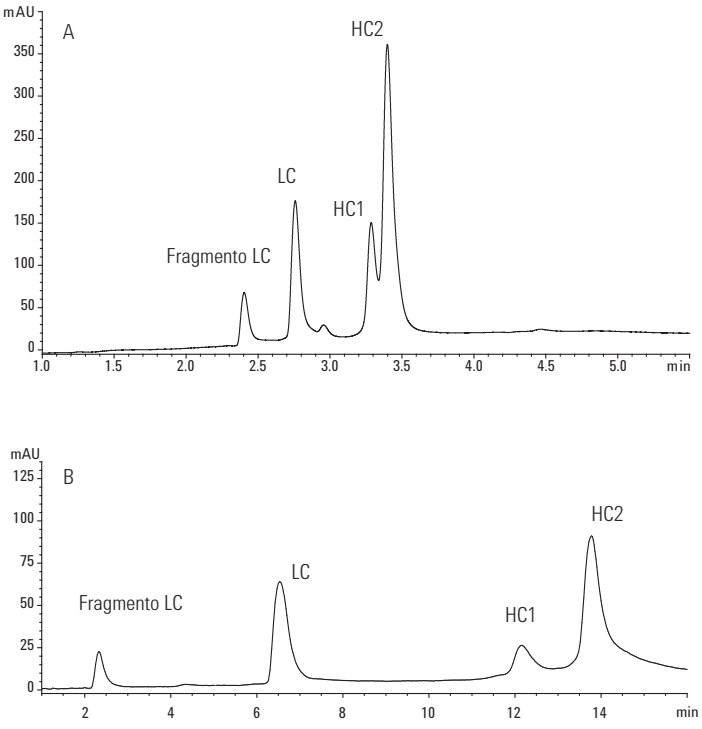
Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

Gradiente: Multisegmentado
A (optimizado para velocidad): B al 20% en 0 min, B al 35% en 3 min, B al 40% en 4 min, B al 40% en 5 min, B al 90% en 5,1 min, B al 90% en 5,5 min, B al 25% en 6 min
B (optimizado para resolución): B al 25% en 0 min, B al 32% en 15 min, B al 32% en 16 min, B al 90% en 17 min, B al 90% en 17,5 min, B al 25% en 18 min

Temperatura: 75 °C

Detector: UV, 225 nm
LC Agilent 1290 Infinity

En el caso de los análisis cromatográficos consecutivos, se ha añadido un análisis posterior de 2 minutos para reequilibrar la columna.



Comparación de dos gradientes optimizados para la separación ultrarrápida de anticuerpos monoclonales reducidos y alquilados en una columna Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C8. En la parte superior se detalla una separación rápida de las variantes de cadenas ligeras y pesadas de un análisis de duración reducida (menos de 4 minutos). En la parte inferior se muestra la resolución de línea base completa de dos variantes de cadenas pesadas durante un análisis de mayor duración mediante un perfil de gradiente más superficial. Ambas separaciones se realizaron a 75 °C y se completaron con una fase de lavado rápida con 1-propanol al 90% (no se muestran los datos de UV).

NUEVO

Reproducibilidad entre columnas: 200 inyecciones de anticuerpos monoclonales reducidos utilizando una columna Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C3

Columna: **RRHD Agilent ZORBAX 300SB-C3**
858750-909
2,1 x 100 mm, 1,8 µm

Fase móvil: A: TFA al 0,1% en agua
B: alcohol n-propílico al 80%, ACN al 10%, agua al 9,9% y TFA al 0,1%

Velocidad de flujo: 0,4 ml/min

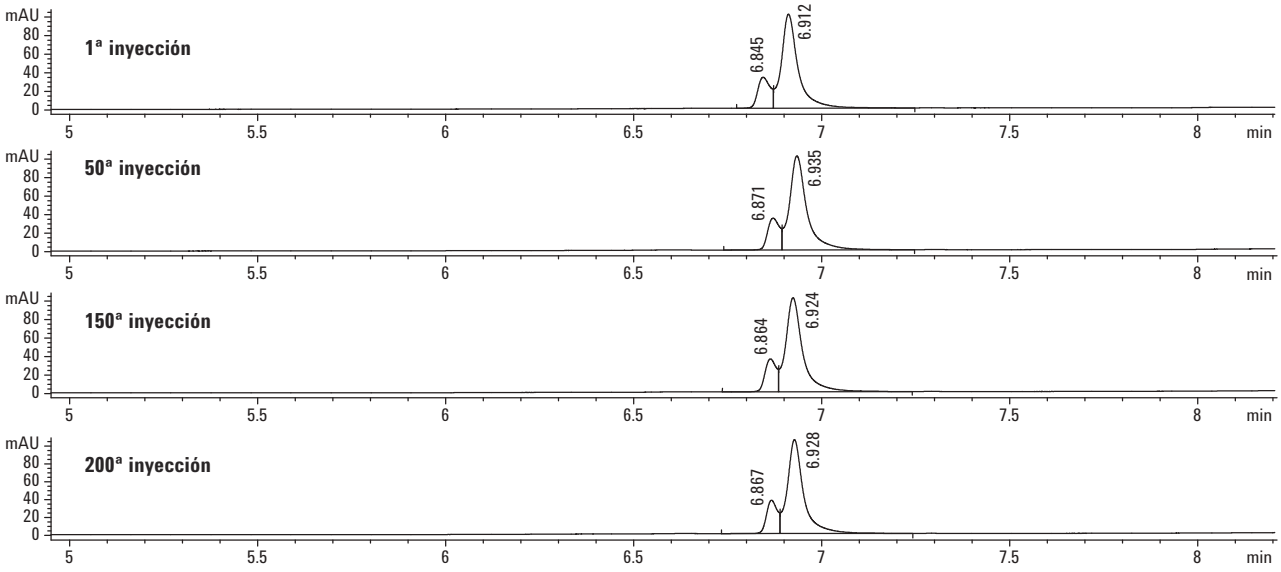
Gradiente: B al 1% en 0 min, B al 20% en 2 min, B al 50% en 5 min, B al 50% en 7 min, B al 90% en 8,0 min, B al 1% en 8,3 min, retención del 1% durante 2 min

Temperatura: 75 °C

Detector: UV, 280
LC Agilent 1290 Infinity

Muestra: Anticuerpos monoclonales reducidos (IgG1) (1,0 mg/ml), IgG1 de BL05 Agilent

Inyección: 2 µl



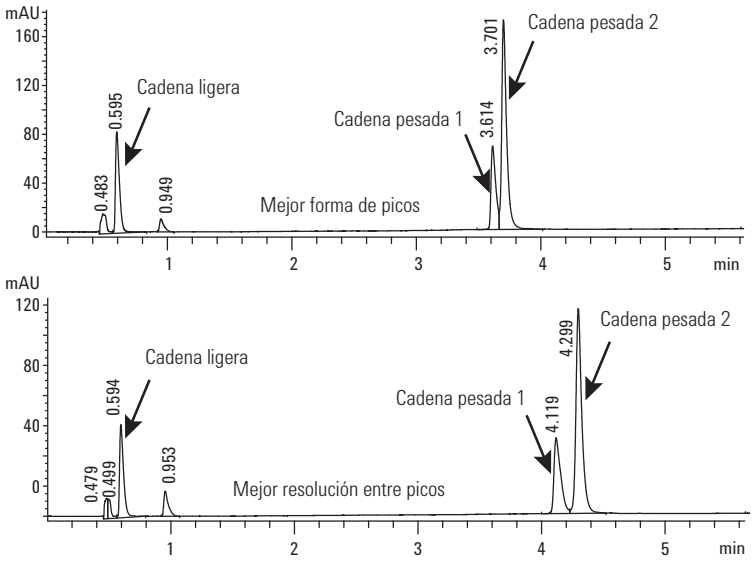
Perfiles de mAb reducido y alquilado durante la repetición de 200 inyecciones.

Para obtener una lista completa de los cromatogramas, con la posibilidad de buscar por nombre del compuesto, visite nuestra biblioteca de cromatogramas online en **www.agilent.com/chem/library**

NUEVO

Optimización de gradientes para análisis ultrarrápidos de anticuerpos monoclonales reducidos

Columna:	**Agilent ZORBAX RRHD 300-Diphenyl 858750-944 2,1 x 100 mm, 1,8 µm**	
Fase móvil:	A: TFA al 0,1% en agua B: alcohol propílico al 80%, ACN al 10%, agua al 9,9% y TFA al 0,1%	
Velocidad de flujo:	0,5 ml/min	
Gradiente:	Primera condición:	B al 1% en 0 min, B al 20% en 2 min, B al 70% en 5 min
	Segunda condición:	B al 1% en 0 min, B al 20% en 2 min, B al 50% en 5 min
Temperatura:	74 °C	
Detector:	UV, 280 nm	
Muestra:	Anticuerpos monoclonales reducidos (IgG1) (1,0 mg/ml): IgG1 de BioCreative	
Inyección:	2 µl	



Comparación de dos separaciones ultrarápidas de anticuerpos monoclonales reducidos realizada con una columna Agilent ZORBAX RRHD 300SD-Diphenyl bajo diferentes condiciones optimizadas. La separación mostrada en el cromatograma superior muestra una anchura de pico estrecho con un tiempo de retención mas corto. La separación del cromatograma inferior muestra una resolución mayor entre los dos picos de las cadenas pesadas, pero con menor eficacia.

Para obtener una lista completa de los cromatogramas, con la posibilidad de buscar por nombre del compuesto, visite nuestra biblioteca de cromatogramas online en **www.agilent.com/chem/library**

NUEVO

Velocidad ultra alta y alta resolución de anticuerpos monoclonales intactos

Columna: **Agilent ZORBAX RRHD 300-Diphenyl 858750-944 2,1 x 100 mm, 1,8 µm**

Fase móvil: A: TFA al 0,1% en agua
B: alcohol n-propílico al 80%, ACN al 10%, agua al 9,9% y TFA al 0,1%

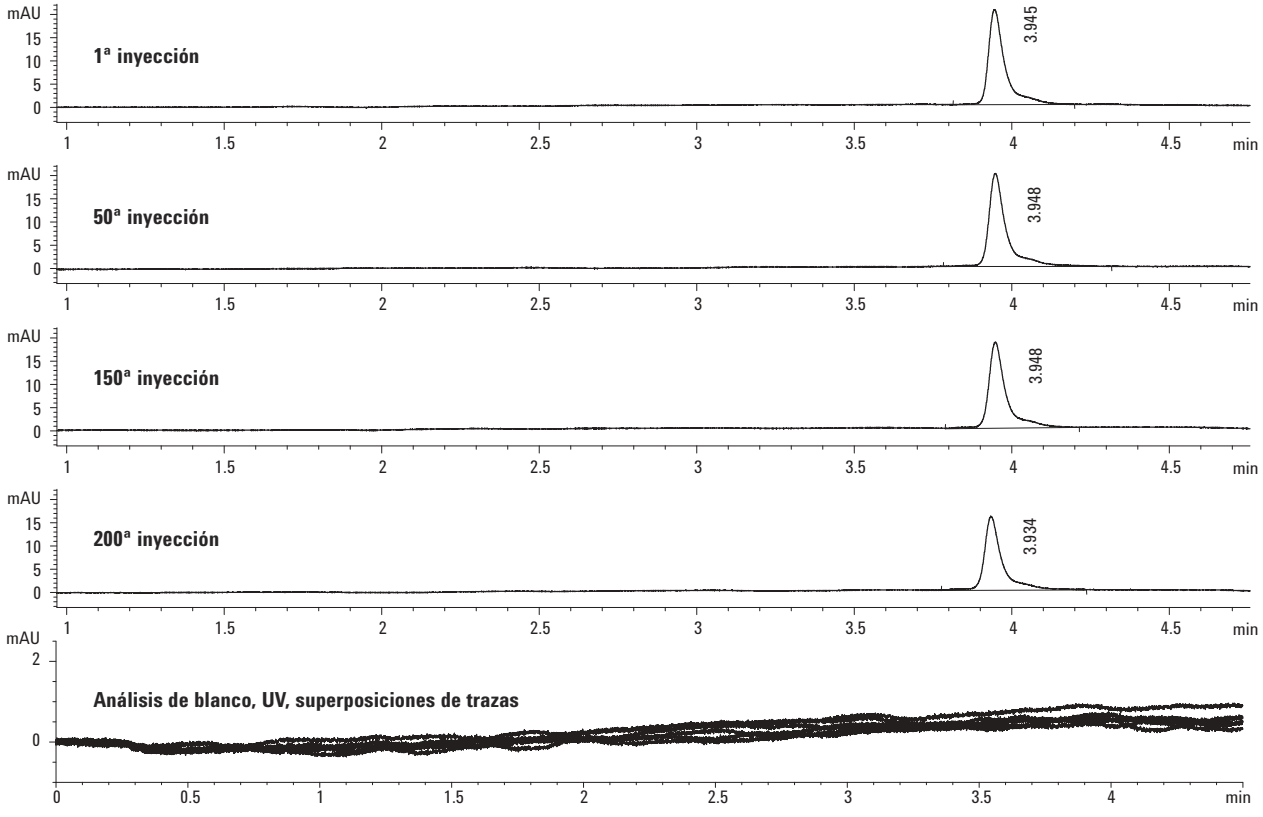
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Temperatura: 74 °C

Detector: UV, 280 nm

Muestra: Anticuerpo monoclonal (IgG1) (1,0 mg/ml): IgG1 de BioCreative y patrón de IgG1 Agilent

Inyección: 1 µl



Detalles del perfil de mAb intacto durante las 200 inyecciones repetidas. Las separaciones que se muestran fueron recogidas en los intervalos de las carreras 1,50, 150 y 200. El último gráfico muestra el blanco 5 UV, recogida cada 20 carreras durante la evaluación de la columna.

NUEVO

Optimización de separaciones de proteínas con columnas Agilent de intercambio catiónico débil

Columna: **Agilent Bio WCX, acero inoxidable**
5190-2453
4,6 x 250 mm, 10 µm

Columna: **Agilent Bio WCX, acero inoxidable**
5190-2445
4,6 x 250 mm, 5 µm

Fase móvil: A: Agua
B: NaCl 1,6 M
C: NaH_2PO_4 40,0 mM
D: Na_2HPO_4 40,0 mM
Las soluciones tampón de 20 mM en el intervalo de pH correspondiente se obtuvieron mediante la combinación de proporciones predeterminadas de C y D (proporciones calculadas mediante el software Buffer Advisor).

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

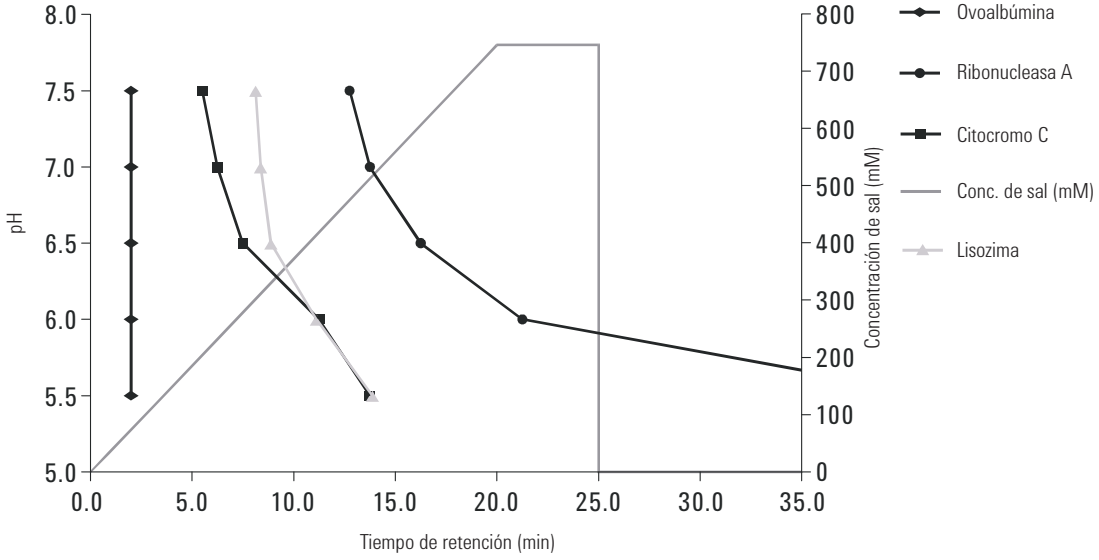
Gradiente: B del 0 al 50%, de 0 a 20 min
B al 50%, de 20 a 25 min
B al 0%, de 25 a 35 min

Temperatura: Ambiente

Detector: UV, 220 nm
Sistema LC cuaternario Agilent 1260 Infinity Bio-inert

Muestra: Ovoalbúmina, ribonucleasa A, citocromo c, lisozima

Concentración de la muestra: 2 mg/ml (en tampón de fosfato sódico, 20 mM, pH 6,0)



Efecto del pH en el tiempo de retención en patrones de proteinas utilizando columnas Agilent Bio WCX.

NUEVO

Mejor resolución con partículas más pequeñas con columnas Agilent de intercambio catiónico débil.

Columna: **Agilent Bio WCX, acero inoxidable**
5190-2453
4,6 x 250 mm, 10 µm

Columna: **Agilent Bio WCX, acero inoxidable**
5190-2445
4,6 x 250 mm, 5 µm

Fase móvil: A: Agua
B: NaCl 1,6 M
C: NaH_2PO_4 40,0 mM
D: Na_2HPO_4 40,0 mM
Las soluciones tampón de 20 mM en el intervalo de pH correspondiente se obtuvieron mediante la combinación de proporciones predeterminadas de C y D (proporciones calculadas mediante el software Buffer Advisor).

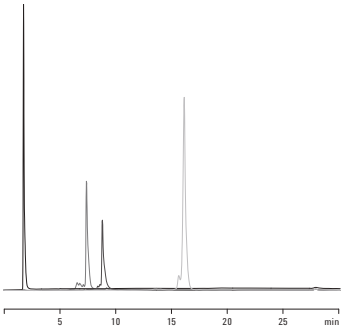
Gradiente: B del 0 al 50%, de 0 a 20 min
B al 50%, de 20 a 25 min
B al 0%, de 25 a 35 min

Temperatura: Ambiente

Detector: UV, 220 nm
Sistema LC cuaternario Agilent 1260 Infinity Bio-inert

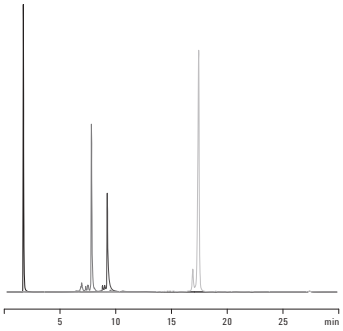
Muestra: Ovoalbúmina, ribonucleasa A, citocromo c, lisozima

Concentración de la muestra: 2 mg/ml (en tampón de fosfato sódico, 20 mM, pH 6,0)



Separación de patrones de proteínas a pH 6,5 mediante una columna Agilent Bio WCX NP10.

1. Ovoalbúmina
2. Ribonucleasa A
3. Citocromo C
4. Conc. de sal (mM)

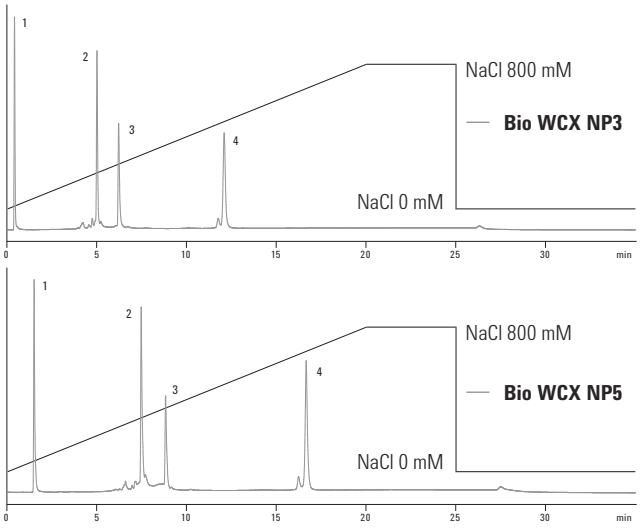


Separación de patrones de proteínas a pH 6,5 mediante una columna Agilent Bio WCX NP5.

Para obtener una lista completa de los cromatogramas, con la posibilidad de buscar por nombre del compuesto, visite nuestra biblioteca de cromatogramas online en **www.agilent.com/chem/library**

NUEVO

Separaciones más rápidas con las columnas Agilent de intercambio catiónico débil



Separación de proteinas con la columna Agilent Bio WCX NP5 y Agilent Bio WCX NP3.

Columna: **Agilent Bio WCX, acero inoxidable 5190-2445 4,6 x 250 mm, 5 µm**

Columna: **Agilent Bio WCX, acero inoxidable 5190-2443 4,6 x 50 mm, 3 µm**

Columna: **Agilent Bio WCX, acero inoxidable 5190-2441 4,6 x 50 mm, 1,7 µm**

Fase móvil: A: Fosfato sódico 20 mM, pH 6,5
B: A + NaCl 1,6 M

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Gradiente: B del 0 al 50%

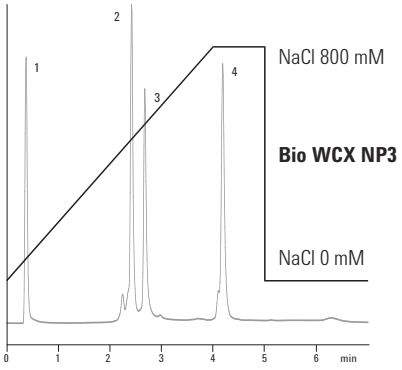
Temperatura: Ambiente

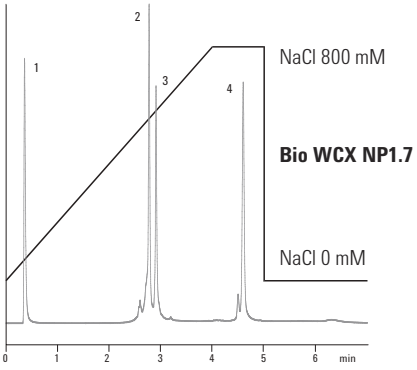
Detector: UV, 220 nm
Sistema LC cuaternario Agilent 1260 Infinity Bio-inert

Muestra: Ovoalbúmina, ribonucleasa A, citocromo c, lisozima

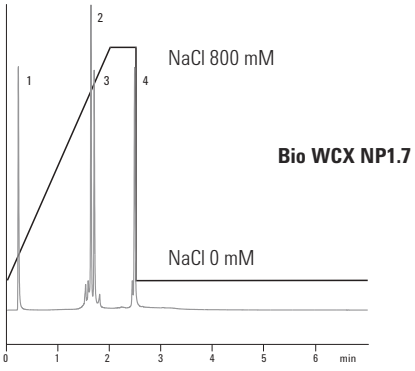
Concentración de la muestra: 0,5 mg/ml

1. Ovoalbúmina
2. Ribonucleasa A
3. Citocromo C
4. Lisozima





Comparación de Agilent Bio WCX NP3 y Agilent Bio WCX NP1.7 (velocidad de flujo de 1,0 ml/min).

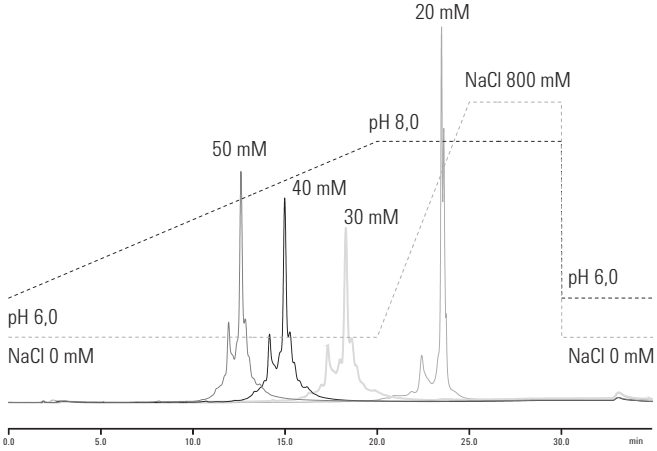


Agilent Bio WCX NP1.7 para separaciones de proteínas en menos de 3 minutos (velocidad de flujo de 1,7 ml/min).

NUEVO

Elución con gradientes de pH para la separación mejorada de variantes con carga de anticuerpos monoclonales

Columna:	**Bio MAb, acero inoxidable** **5190-2405** **4,6 x 250 mm, 5 µm**
Fase móvil:	A: Agua B: NaCl 1,6 M C: NaH_2PO_4 100 mM D: Na_2HPO_4 100 mM Las soluciones tampón en el intervalo de pH correspondiente se obtuvieron a las concentraciones de tampón seleccionadas mediante la combinación de proporciones predeterminadas de C y D.
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Gradiente:	pH de 6,0 a 8,0, de 0 a 20 minutos NaCl de 0 a 800 mM, de 20 a 25 minutos NaCl 800 mM, de 25 a 30 minutos
Temperatura:	Ambiente
Detector:	UV, 220 nm Sistema LC cuaternario Agilent 1260 Infinity Bio-inert
Muestra:	Anticuerpos monoclonales IgG
Conc. de muestra:	2 mg/ml (en tampón de fosfato sódico, 20 mM, pH 6,0)



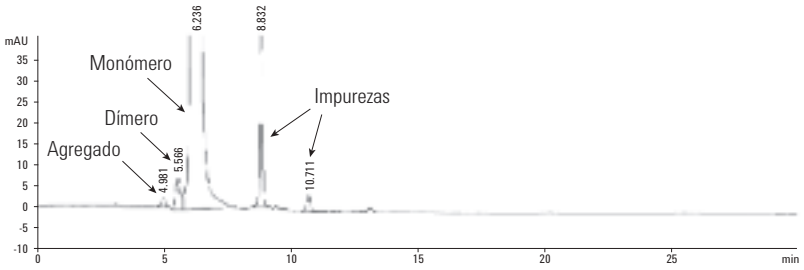
Cromatogramas del anticuerpo IgG monoclonal con diferentes fuerzas iónicas.

Para obtener una lista completa de los cromatogramas, con la posibilidad de buscar por nombre del compuesto, visite nuestra biblioteca de cromatogramas online en **www.agilent.com/chem/library**

NUEVO

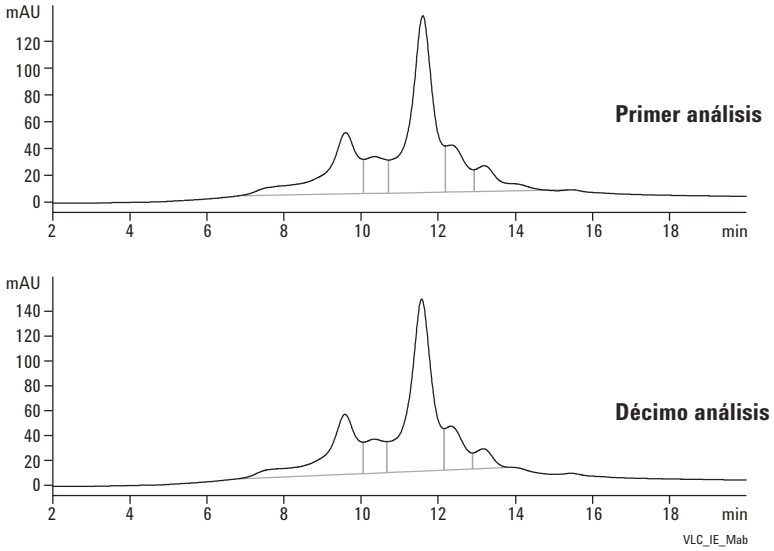
Separación de eritropoyetina humana recombinante (rEPO) con Agilent Bio SEC-3

Columna:	**Bio SEC-3, 100Å** **5190-2503** **4,6 x 300 mm, 3 µm**
Fase móvil:	Tampón de fosfato sódico 150 mM, pH 7,0
Velocidad de flujo:	0,35 ml/min
Detector:	UV, 225 nm Sistema LC cuaternario Agilent 1260 Infinity Bio-inert
Muestra:	EPO recombinante humana (rEPO)
Concentración de la muestra:	1,0 mg/ml



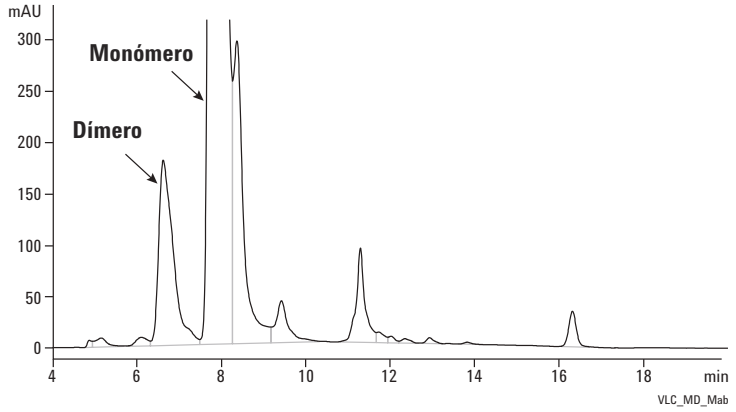
Separación de MAb por intercambio iónico uniforme

Columna:	**Bio MAb, PEEK** **5190-2411** **2,1 x 250 mm, 5 µm**
Tampón:	A: Tampón de fosfato sódico, 20 mM B: Tampón A + NaCl 400 mM
Gradiente:	Tampón B al 15-35% desde 0-30 min
Velocidad de flujo:	0,65 ml/min
Muestra:	Anticuerpos monoclonales humanizados anti-CHO, 1 mg/ml
Inyección:	2,5 µl
Detector:	UV, 220 nm
Temperatura:	Ambiente



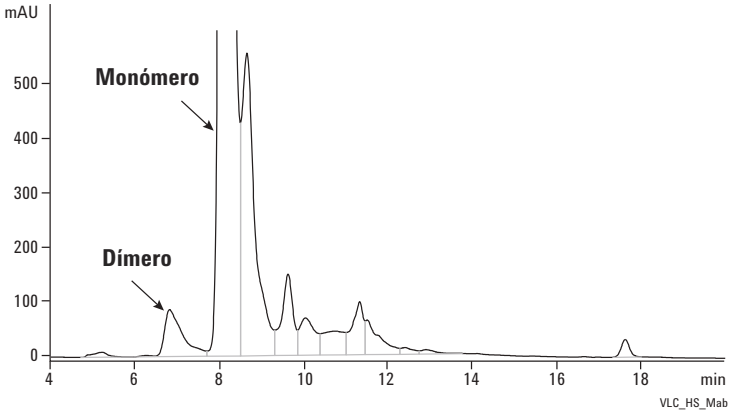
Separación de monómeros y dímeros de MAb intactos

Columna:	**Bio SEC-3, 300Å 5190-2511 7,8 x 300 mm, 3 µm**
Tampón:	Tampón de fosfato sódico, pH 7,0, 150 mM
Gradiente	Tampón A al 0-100% desde 0-30 min
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Muestra:	Anticuerpo monoclonal de CHO humanizado, 5 mg/ml, intacto
Inyección:	5 µl
Detector:	UV, 220 nm
Temperatura:	Ambiente



Separación de MAb en condiciones de tensión térmica

Columna:	**Bio SEC-3, 300Å 5190-2511 7,8 x 300 mm, 3 µm**
Tampón:	Tampón de fosfato sódico, pH 7,0, 150 mM + sulfato sódico 150 mM
Gradiente	Tampón A al 0-100% desde 0-30 min
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Muestra:	Anticuerpos monoclonales humanizados en células CHO, 5 mg/ml, calentados a 60 °C
Inyección:	5 µl
Detector:	UV, 220 nm
Temperatura:	Ambiente



Para obtener una lista completa de los cromatogramas, con la posibilidad de buscar por nombre del compuesto, visite nuestra biblioteca de cromatogramas online en **www.agilent.com/chem/library**

Nucleósidos, purinas y pirimidinas

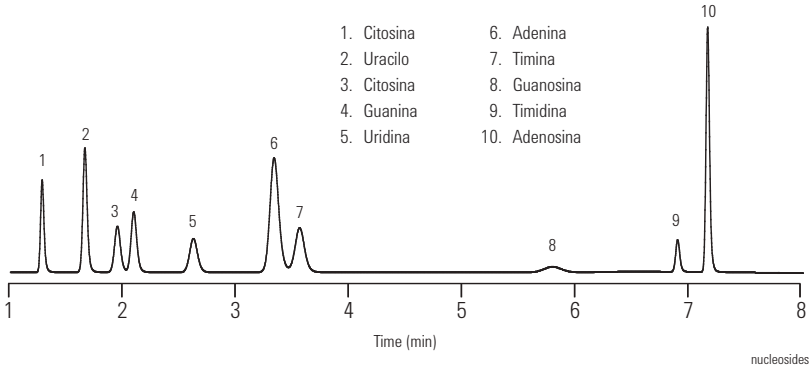
Columna: **Eclipse Plus Phenyl Hexyl**
959993-912
4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: MeOH al 1%: acetato amónico al 99%, 20 mm, pH 4,5

Velocidad de flujo: 1 ml/min

Detector: UV; 254 nm

1. Citosina
2. Uracilo
3. Citosina
4. Guanina
5. Uridina
6. Adenina
7. Timina
8. Guanosina
9. Timidina
10. Adenosina



nucleosides

Separación de aminoácidos estándar en Eclipse Plus C18

Columna: **Eclipse Plus C18**
959763-902
2,1 x 150 mm, 3,5 µm

Fase móvil: A: Na_2HPO_4 10 mM, $Na_2B_4O_7$ 10 mM, NaN_3 0,5 mM, pH 8,2
B: acetonitrilo:metanol:agua (45:45:10) (v/v/v)

Velocidad de flujo: 0,42 ml/min

Temperatura: 40 °C

Detector: UV, 338 nm y cambio a 280 nm en 15,7 min

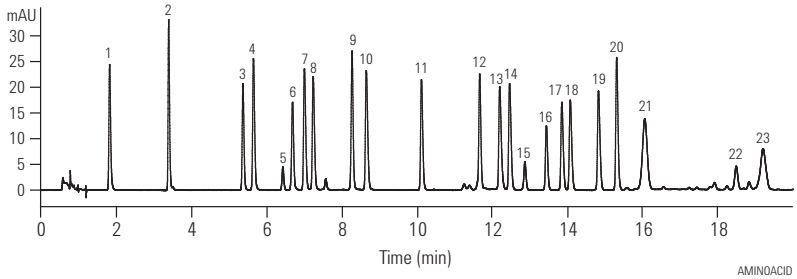
Muestra: 900 pmol, aminoácidos con patrones de aminoácidos e internos ampliados (500 pmol)

Derivación: OPA/FMOC, automatizado, en línea

1. ASP
2. GLU
3. ASN
4. SER
5. GLN
6. HIS
7. GLY
8. THR
9. ARG
10. ALA
11. TYR
12. CY2
13. VAL
14. MET
15. NVA
16. TRP
17. PHE
18. ILE
19. LEU
20. LYS
21. HYP
22. SAR
23. PRO

Gradiente

Tiempo (min)	% B
0	2
0,5	2
20	57
20.1	100
23,5	100
23,6	2
25	Parada



AMINOACID

Anticuerpos: separación rápida de anticuerpos IgM e IgG

Columna: **ZORBAX GF-250**
884973-701
4,6 x 250 mm, 4 µm

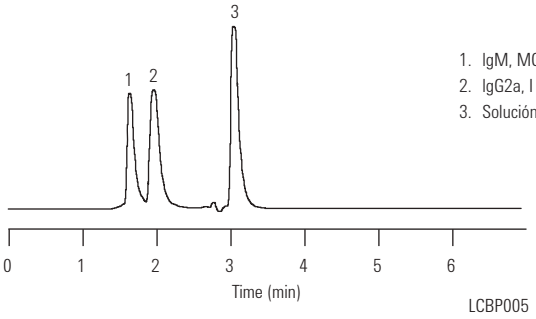
Fase móvil: Fosfato de sodio 200 mM (pH 7), Azida 0,01%

Velocidad de flujo: 0,94 ml/min

Temperatura: Ambiente

Detector: UV, 230 nm

Muestra: 2,5 µl (1 mg/ml)



1. IgM, MOPC-104E
2. IgG2a, I HOPC-1
3. Solución tampón

LCBP005

Proteínas glicosiladas: moléculas de gran tamaño en Poroshell 300SB-C18 y 300SB-C8

Columna A: **Poroshell 300SB-C18**
661750-902
1,0 x 75 mm, 5 µm

Columna B: **Poroshell 300SB-C8**
661750-906
1,0 x 75 mm, 5 µm

Columna C: **ZORBAX 300SB-C18**
865630-902
1,0 x 50 mm, 3,5 µm

Fase móvil: A: TFA al 0,1% en H_2O
B: TFA al 0,07% en ACN

Velocidad de flujo: A, B: 0,454 ml/min
C: 0,071 ml/min

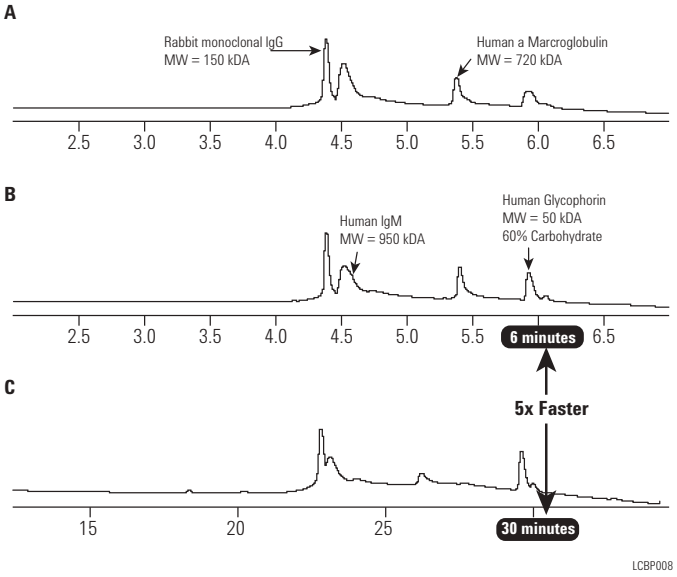
Gradiente: A, B: B al 5% en 0 min
B al 100% en 10 min
C: B al 5% en 0 min
B al 100% en 50 min

Temperatura: 70 °C

Detector: DAD, 212 nm, celda de flujo de 1,7 µl, anchura de picos mínima de <0,01

Muestra: Proteínas glicosiladas de gran tamaño

Cortesía de:
Novartis AG, Basel.
Dr. Kurt Forrer
Patrik Roethlisberger



LCBP008

Para obtener una lista completa de los cromatogramas, con la posibilidad de buscar por nombre del compuesto, visite nuestra biblioteca de cromatogramas online en **www.agilent.com/chem/library**

Producto de la digestión tríptica de la albúmina sérica humana en ZORBAX HT de resolución rápida, 1,8 µm

Columna A: **ZORBAX SB-C18**
883700-922
2,1 x 150 mm, 5 µm

Columna B: **ZORBAX SB-C18**
822700-902
2,1 x 50 mm, 1,8 µm

Fase móvil: A: Agua con TFA al 0,1%
B: ACN con TFA al 0,1%

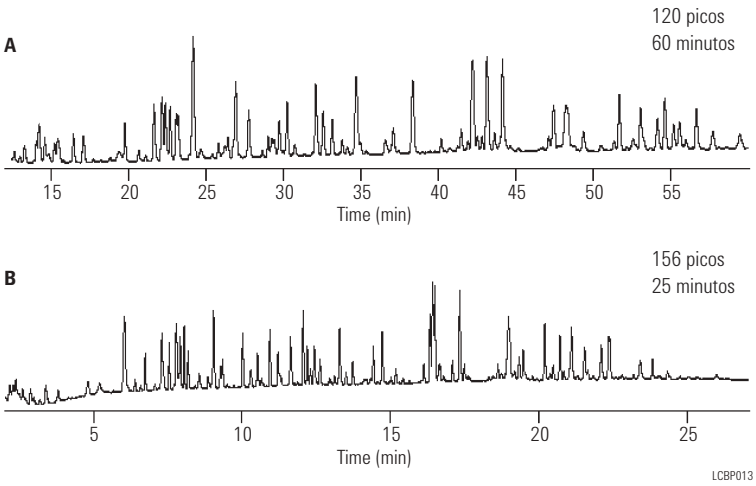
Velocidad de flujo: A: 0,2 ml/min
B: 0,5 ml/min

Gradiente: A: B del 2 al 50% en 70 min
B: B del 2 al 50% en 30 min

Temperatura: 50 °C

Detector: UV, 214 nm

Muestra: Producto de la digestión tríptica de la albúmina sérica humana, 8 µl de 15 pmoles/µl (120 pmoles en columna)



Suero humano: aislamiento de proteínas de baja abundancia e identificación mediante LC/MS

Columna: **ZORBAX 300SB-C18**
Trampa: 0,3 x 5 mm, 5 µm,
5065-9913
Analítica: 0,3 x 150 mm, 5 µm,
5064-8263

Fase móvil: A: Agua + ácido fórmico al 0,1%
B: Acetonitrilo + ácido fórmico al 0,1%

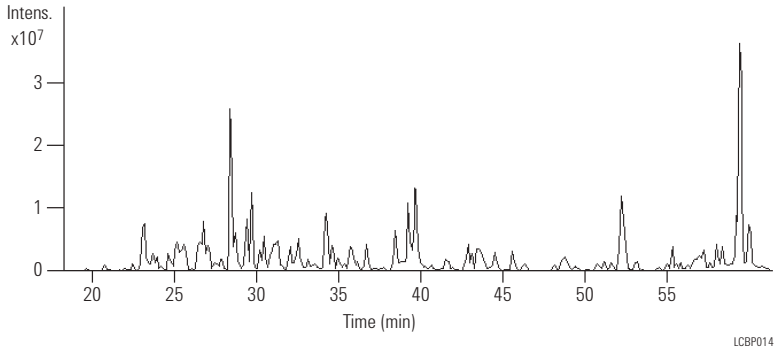
Velocidad de flujo: 6 µl/min

Gradiente: 0 min 3% B
5 min 3% B (cargando)
50 min 45% B
52 min 80% B
57 min 80% B
60 min 3% B

Muestra: Banda en 1-D en gel con digestos

Preparación de una muestra de suero humano:
La mayoría de las proteinas del suero se eliminan utilizando la columna de eliminación por múltiple afinidad: 4,6 x 100 mm, P/N 5185-5985 seguida por un digesto en gel 1-D.

Cromatograma de picos base



Proteínas identificadas

1. α-1-Antiquimiotripsina
2. Antitrombina-III, precursor
3. Complemento del Factor B, precursor

Cadenas de IgG1 monoclonales: separación en Poroshell 300SB-C8

Columna: **Poroshell 300SB-C8**
660750-906
2,1 x 75 mm, 5 µm

Fase móvil: A: Agua al 90%: ACN al 10% + 3 ml/l de PEG, PM 300
B: Agua al 10%: ACN al 90% + 3 ml/l de PEG, PM 300

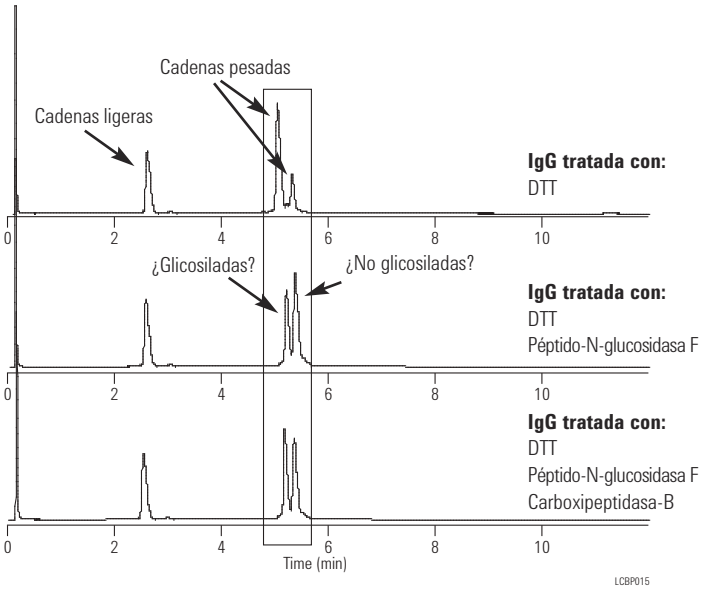
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Gradiente: 0 min 25% B
10 min 40% B
10,1 min 25% B
12 min 25% B

Temperatura: 70 °C

Muestra: IgG1 monoclonal

Cortesía de:
Novartis AG, Basel.
Dr. Kurt Forrer
Patrik Roethlisberger



Uso de ZORBAX Extend-C18 para una selectividad alternativa a pH alto

Columna: **ZORBAX Extend-C18**
773700-902
2,1 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: A: TFA al 0,1% en agua
B: TFA al 0,085% en 80% de ACN

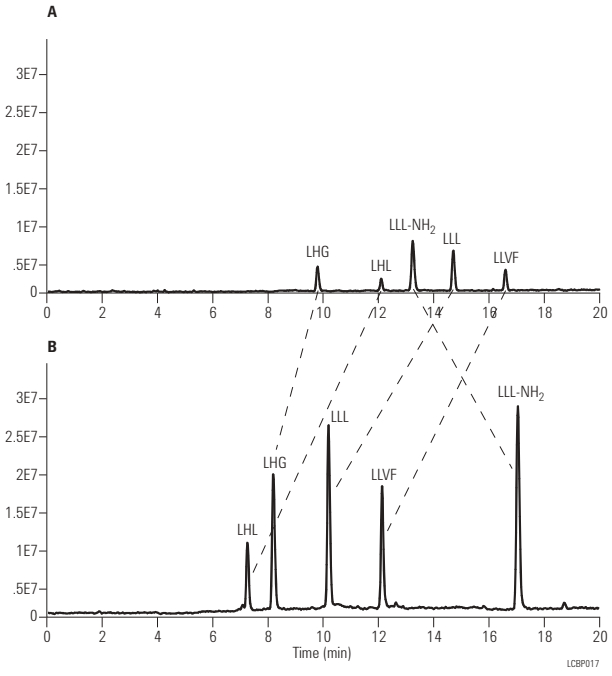
A: 20 mM de NH_4OH en agua
B: 20 mM de NH_4OH en 80% de ACN

Velocidad de flujo: 0,25 ml/min

Gradiente: 5-60% B in 20 min

Temperatura: 25 °C

Condiciones de MS: Iones positivos, ESI- Vf 70 V, Vcap 4,5 kV
N_2, 35 psi, 12 l/min, 300 °C
4 µl (50 ng cada péptido)



La columna Extend se puede usar para separaciones de péptidos de pH alto. Se pueden obtener valores de selectividad muy diferentes a pH altos y bajos. Cambiando simplemente el pH, se puede desarrollar un método complementario y es posible determinar si se resuelven todos los picos. Dado que la columna Extend se puede usar a pH altos y bajos, la separación complementaria se puede analizar en una sola columna. Además, la sensibilidad de MS para esta muestra es óptima a pH alto.

Nucleósidos: separación de desoxirribonucleósidos y ribonucleósidos

Columna: **ZORBAX SB-C3**
883975-909
4,6 x 150 mm, 5 µm

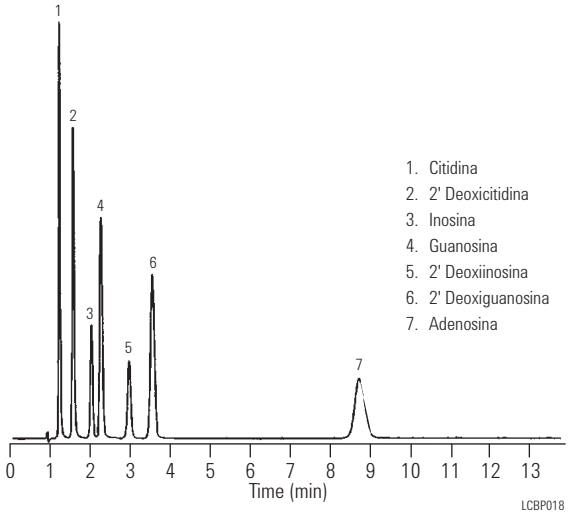
Fase móvil: Fosfato amónico, 4 mM (pH 4,0 con ácido fosfórico)

Velocidad de flujo: 2,0 ml/min

Temperatura: 35 °C

Detector: UV; 254 nm

Muestra: 2 µl (1,6 µg cada uno)



1. Citidina
2. 2' Deoxicitidina
3. Inosina
4. Guanosina
5. 2' Deoxiinosina
6. 2' Deoxiguanosina
7. Adenosina

Nucleótidos: separación de mononucleótidos

Columna: **ZORBAX SAX**
880952-703
4,6 x 250 mm, 5 µm

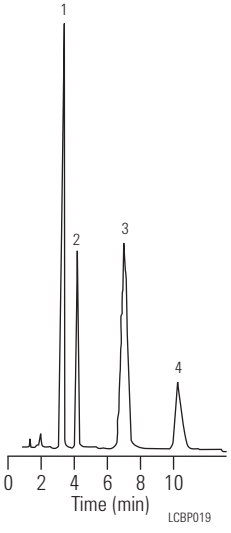
Fase móvil: 0,1 M $NH_4H_2PO_4$

Velocidad de flujo: 2,0 ml/min

Temperatura: Ambiente

Detector: UV, 254 nm

Muestra: Ácido orótico, UMP, GMP, XMP



1. Ácido orótico
2. UMP
3. GMP
4. XMP

Separación de péptidos básicos en Bonus-RP frente a una fase alquílica convencional

Columna A: **ZORBAX Bonus-RP**
883668-901
4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna B: **Fase C8 alquílica**

Fase móvil: A: Fosfato amónico 0,010 M, pH 7/perclorato sódico 0,050 M
B: Fosfato amónico 0,010 M/perclorato sódico 0,050 M en ACN al 50%

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

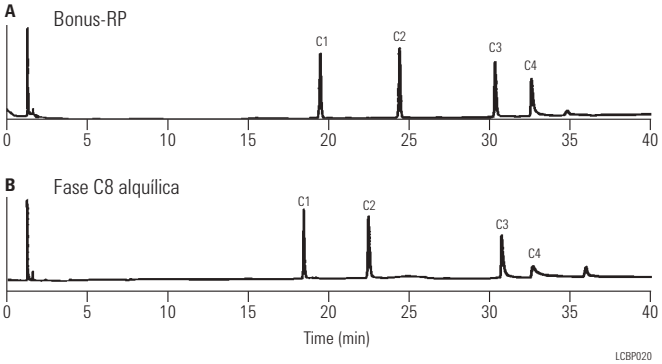
Gradiente: B del 0-100% en 50 minutos

Temperatura: 40 °C

Detector: 215 nm

Muestra: Péptidos básicos de 11 residuos con carga neta positiva de +1, +2, +3 y +4 a pH neutro

C1: Ac-Gly-Gly-Gly-Leu-Gly-Gly-Ala-Gly-Gly-Leu-Lys-amide
C2: Ac-Lys-Tyr-Gly-Leu-Gly-Gly-Ala-Gly-Gly-Leu-Lys-amide
C3: Ac-Gly-Gly-Ala-Leu-Lys-Ala-Leu-Lys-Gly-Leu-Lys-amide
C4: Ac-Lys-Tyr-Ala-Leu-Lys-Ala-Leu-Lys-Gly-Leu-Lys-amide



LCBP020

Péptidos: efecto de la concentración de TFA

Columna: **ZORBAX 300SB-C8**
883995-906
4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: A: agua y TFA
B: ACN y TFA

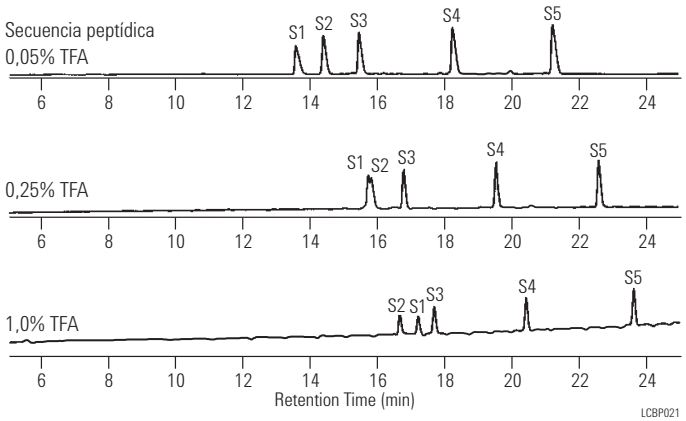
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Gradiente: 0 min 0% B
30 min 30% B

Temperatura: 40 °C

Detector: UV, 254 nm

Muestra: Péptidos estándar S1-S5, decapéptidos que se diferencian sutilmente en la hidrofobicidad, 6 µl



LCBP021

Ventajas de la estabilidad química: concentración de TFA

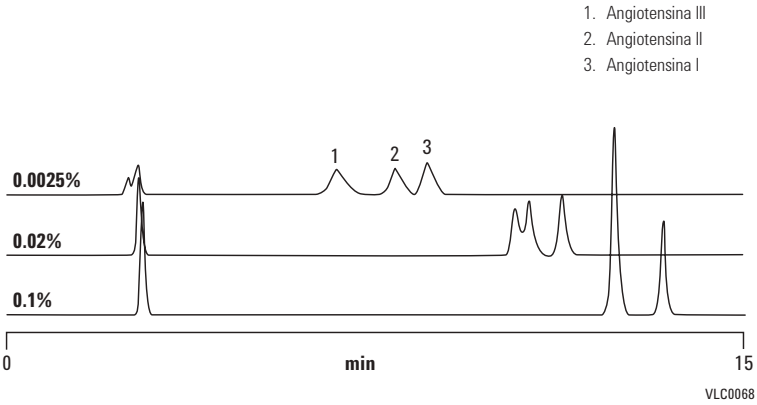
Columna: **PLRP-S 100 Å**
PL1512-5500
4,6 x 250 mm, 5 µm

Fase móvil: A: TFA (varios porcentajes) en agua
B: TFA (varios porcentajes) en ACN

Gradiente: Lineal, 12-40% B en 15 minutos

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: ELS (neb = 75 °C, evap = 85 °C, gas = 1,0 SLM)



Péptidos: separación de angiotensina I, II y III con TFA y NH4OH

Columna: **ZORBAX Extend-C18**
773700-902
2,1 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: A: Condiciones ácidas
A: TFA al 0,1% en agua
B: TFA al 0,085% en ACN al 80%
B: Condiciones básicas
A: NH_4OH 10 mM en agua
B: NH_4OH 10 mM en ACN al 80%

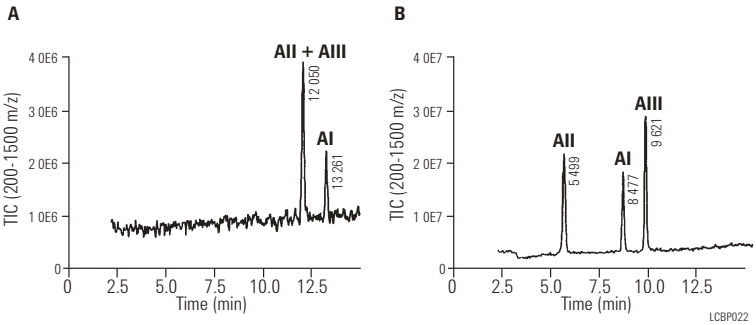
Velocidad de flujo: 0,2 ml/min

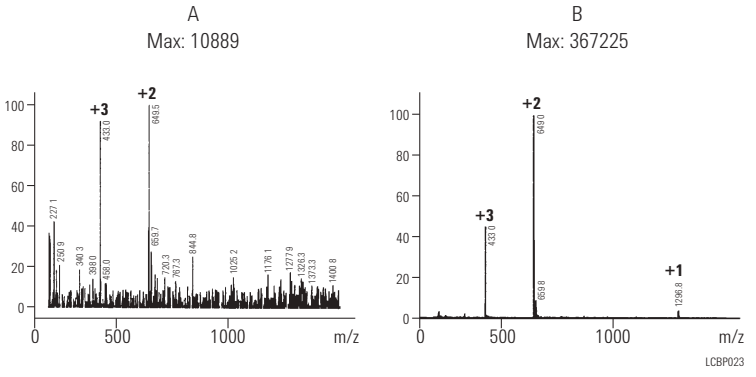
Gradiente: 15-50% B en 15 min

Temperatura: 35 °C

Condiciones de MS: Iones positivos, ESI-Vf 70 V, Vcap 4,5 kV
N_2, 35 psi, 12 l/min, 325 °C

Muestra: 2,5 µl de muestra (50 pmol cada uno)





Péptidos y proteínas: separaciones de gradiente equivalentes

Columna: **ZORBAX 300SB-C8**
883995-906
4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna: **ZORBAX 300SB-C8**
883750-906
2,1 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: A: 95% de agua: ACN al 5% con TFA al 0,1%
A: 5% de agua: ACN al 95% con TFA al 0,085%

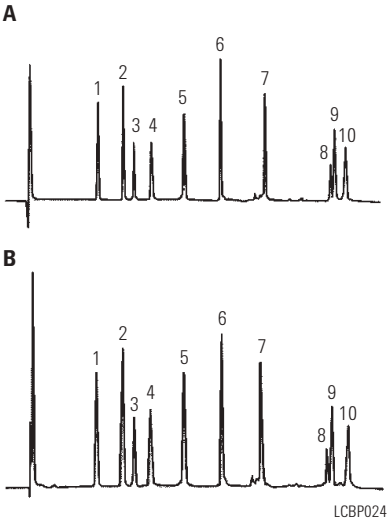
Velocidad de flujo: A: Analítica
1 ml/min
B: Diámetro estrecho
0,2 ml/min

Gradiente: 10-60% B en 30 min

Temperatura: 35 °C

Detector: UV, 215 nm

Muestra: Inyección de 10 µl, concentración 2-6 µg



LCBP024

1. Met encefalina
2. Leu encefalina
3. Angiotensina II
4. Neurotensina
5. RNasa
6. Insulina (BOV)
7. Lisozima
8. Calmodulina
9. Mioglobina
10. Anhidrasa carbónica

Péptidos/proteínas: efecto de la temperatura elevada

Columna: **ZORBAX 300SB-C3**
883995-909
4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: A: 5:95 ACN:agua con TFA al 0,10% (v/v%)
B: 95:5 ACN:agua con TFA al 0,085% (v/v%)

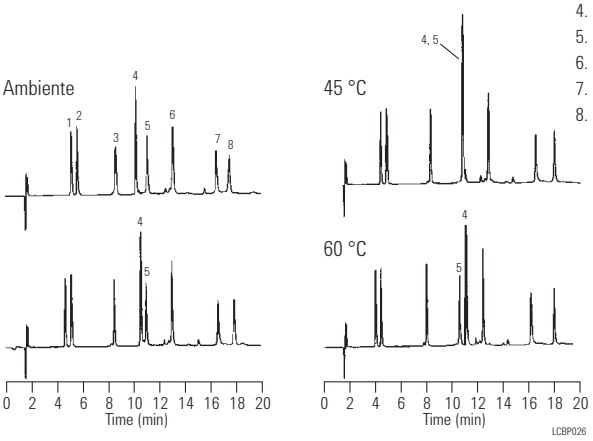
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Gradiente: 15-53% en 20 min, tiempo posterior de 12 min

Temperatura: Ambiente – 60 °C

Detector: UV, 215 nm

Muestra: Polipéptidos



LCBP026

1. Leucina encefalina
2. Angiotensina II
3. RNasa A
4. Insulina (BOV)
5. Citocromo C
6. Lisozima
7. Mioglobina
8. Anhidrasa carbónica

Separación de polipéptidos en menos de 1 minuto

Columna: **Poroshell 300SB-C18**
660750-902
2,1 x 75 mm, 5 µm

Fase móvil: A: TFA al 0,1%, H_2O
B: TFA al 0,07%, ACN

Velocidad de flujo: 3 ml/min

Gradiente: 0-100% B en 1,33 min

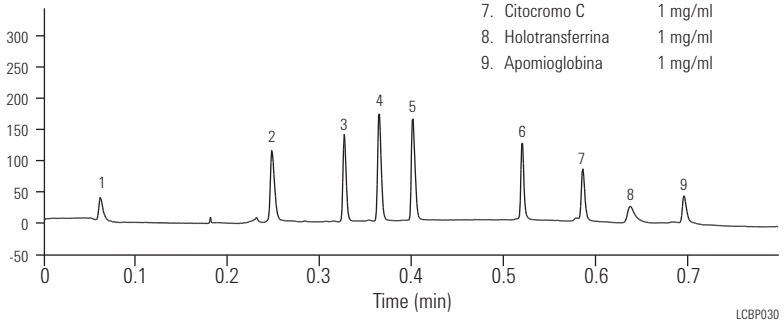
Temperatura: 70 °C

Detector: DAD 215/16 nm, ref = 310/10 nm

Muestra: Péptidos/proteínas, 0,5 µl

Muestra (proteínas y péptidos)

1.	Glicina-tirosina	0,125 mg/ml
2.	Valina-tirosina-valina	0,5 mg/ml
3.	Metencefalina	0,5 mg/ml
4.	Leucoencefalina	0,5 mg/ml
5.	Angiotensina II	0,5 mg/ml
6.	ARNasa A	1 mg/ml
7.	Citocromo C	1 mg/ml
8.	Holotransferrina	1 mg/ml
9.	Apomioglobina	1 mg/ml



LCBP030

Separación rápida de alta resolución de péptidos y proteínas con Poroshell 300SB-C18

Columna: **Poroshell 300SB-C18**
660750-902
2,1 x 75 mm, 5 µm

Fase móvil: A: TFA al 0,1%
B: TFA al 0,07% en ACN

Velocidad de flujo: 3,0 ml/min (Presión de 360 bares)

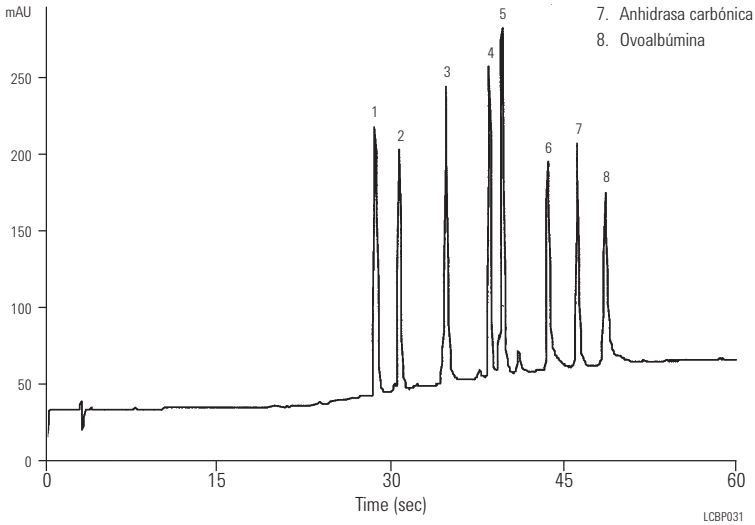
Gradiente: 5-100% B en 1,0 min

Temperatura: 70 °C

Detector: UV, 215 nm

Los espacios entre los solutos indican una capacidad óptima de los picos para la separación rápida de muestras complejas.

1. Angiotensina II
2. Neurotensina
3. RNasa
4. Insulina
5. Lisozima
6. Mioglobina
7. Anhidrasa carbónica
8. Ovoalbúmina



LCBP031

RP-HPLC/ESI-MS de péptidos utilizando una fase móvil de NH_4OH genera espectros de iones positivos y negativos

Columna: **ZORBAX Extend-C18**
773700-902
2,1 x 150 mm, 5 µm

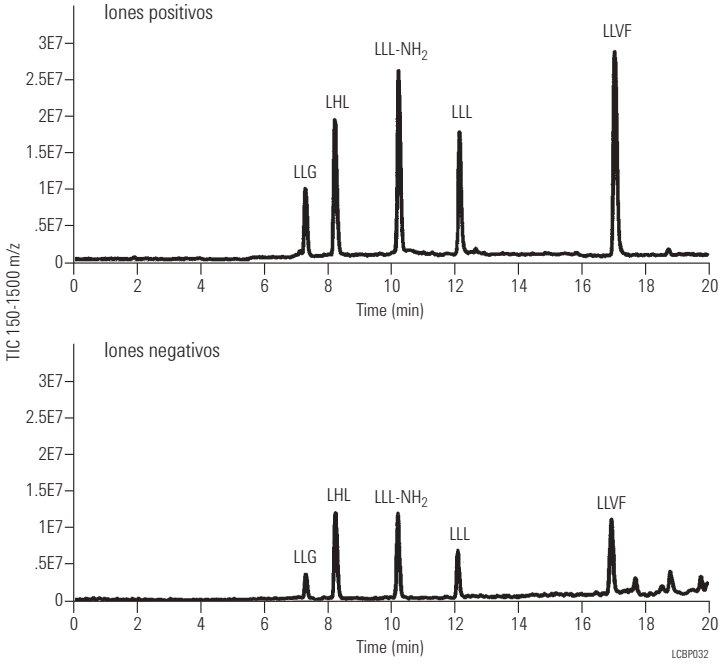
Velocidad de flujo: 0,25 ml/min

Gradiente: 5-60% B en 20 min

Temperatura: 25 °C

Condiciones de MS: Iones positivos, ESI-Vf 70 V, Vcap 4,5 kV
N_2, 35 psi, 12 l/min, 300 °C
TIC 150-1.500 m/z

Muestra: 4 µl (50 ng de cada péptido)



Comparación de separaciones RP-HPLC de péptidos Aβ con nivel de pH bajo y alto

Columna: **ZORBAX Extend-C18**
773700-902
2,1 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: A: TFA al 0,1% en agua
B: TFA al 0,085% en 80% de ACN

Velocidad de flujo: 0,25 ml/min

Gradiente: 29-41% B en 30 min

Temperatura: 80 °C

Detector: UV, 210 nm

Muestra: 5 µl de muestra (100 pmol de cada una)

Fase móvil: A: NH_4OH 20 mM en agua
B: NH_4OH 20 mM en ACN al 80%

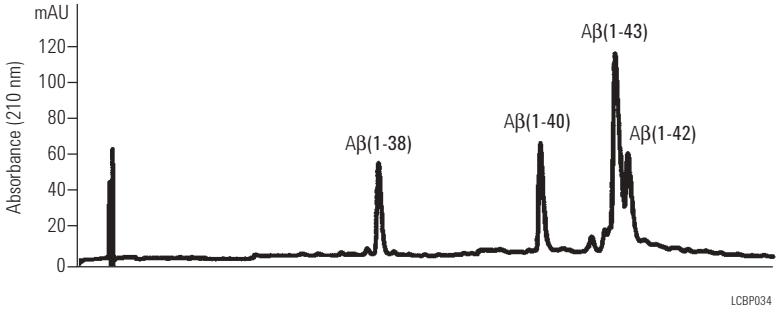
Velocidad de flujo: 0,25 ml/min

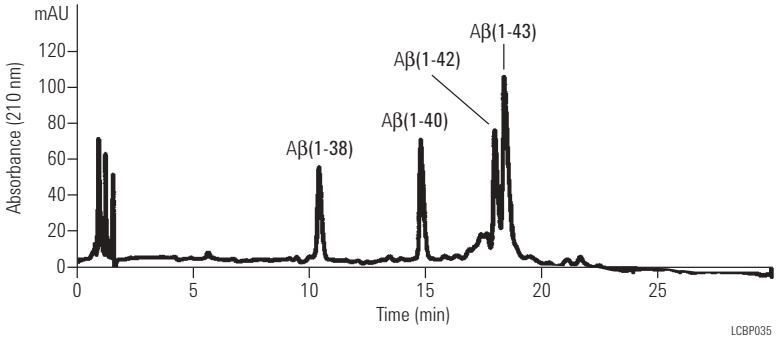
Gradiente: 26-38% B en 30 min

Temperatura: 25 °C

Detector: UV, 210 nm

Muestra: 5 µl de muestra (100 pmol de cada una)





Comparación de la selectividad de TFA y NH_4OH para análisis RP-HPLC\ESI-MS de péptidos

Columna: **ZORBAX Extend-C18**
773700-902
2,1 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: Condiciones de TFA:
A: TFA al 0,1% en agua
B: TFA al 0,085% en ACN
al 80% Condiciones de NH_4OH:
A: 20 mM de NH_4OH en agua
B: 20 mM de NH_4OH en 80% de ACN

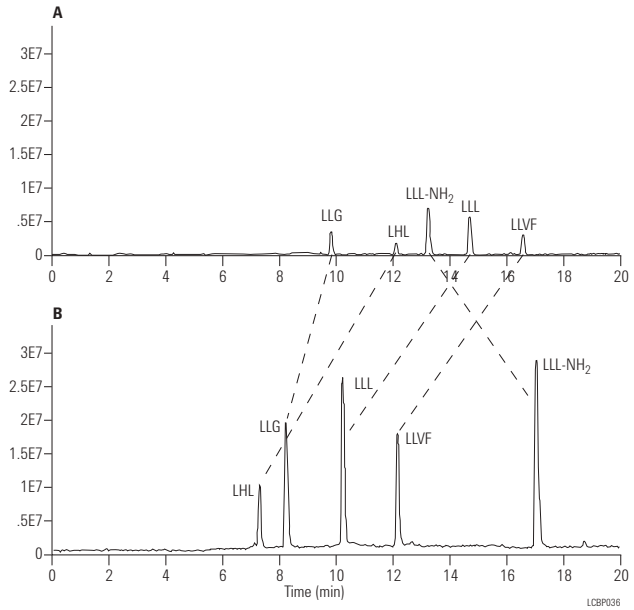
Velocidad de flujo: 0,25 ml/min

Gradiente: 5-60% B en 20 min

Temperatura: 25 °C

Condiciones de MS: Iones positivos, ESI-Vf 70 V, Vcap 4,5 kV
N_2, 35 psi, 12 l/min, 300 °C
TIC 150-1.500 m/z

Muestra: 4 µl (50 ng de cada péptido)



Áreas de fosforilación de péptidos mediante LC y LC/MS en columnas capilares para LC

Columna: **ZORBAX 300SB-C18**
5064-8268
0,5 x 150 mm, 3,5 µm

Fase móvil: A: Agua + ácido fórmico al 0,1%
B: Acetonitrilo + ácido fórmico al 0,1%

Velocidad de flujo: 5,5 µl/min

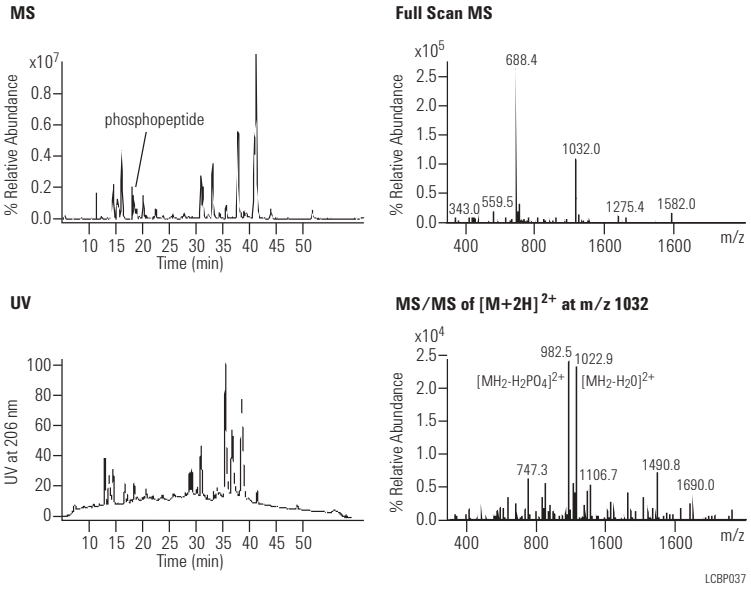
Gradiente: 5-55% B en 50 min
85% B en 55-57

Detector: UV, 206 nm

Condiciones de MS: LC/MS: iones positivos, ESI con trampa LC/MSD

Vcap:	4 000 V
Flujo de gas de secado:	7 l/min
Temperatura de gas de secado:	250 °C
Nebulizador:	15 psi
Tensión de salida de la columna capilar:	50 V máx.
Tiempo de acumulación:	300 ms
Promedios totales:	3
Anchura del aislamiento:	3 m/z
Amplitud de fragmentación:	1,0 V

Muestra: Digestión de beta-caseína, 100 nl (4 pmol)



Proteínas: efecto de la fase ligada, RP

Columna A: **ZORBAX 300SB-C8**
883995-906
4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna B: **ZORBAX 300SB-CN**
883995-905
4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: A: TFA al 0,1% en agua
B: TFA al 0,1% en 50/50 de ACN/agua

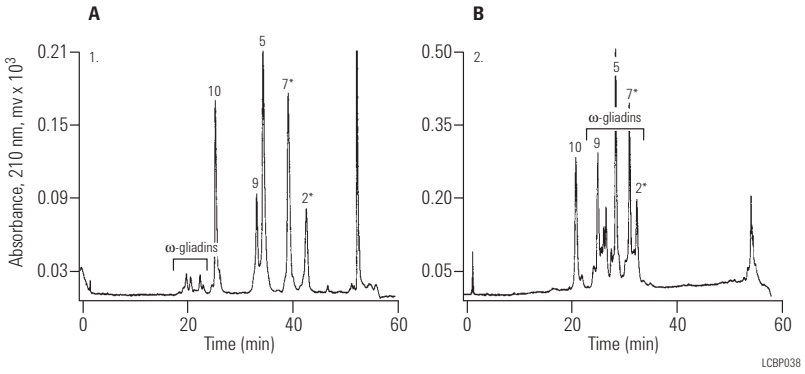
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Gradiente: 1. B al 46-96% en 60 min, ACN al 23-48%
2. B al 50-86% en 60 min, ACN al 25-43%

Temperatura: 50 °C

Detector: UV, 210 nm

Muestra: Proteínas de trigo incluidas las w-gliadinas



Proteínas: efecto de la fase ligada

Columna A: **ZORBAX RRHD 300SB-C18**
883995-902
4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna B: **ZORBAX 300SB-C8**
883995-906
4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna C: **ZORBAX 300SB-C3**
883995-909
4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna D: **ZORBAX 300SB-CN**
883995-905
4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: A: TFA al 0,1% en H_2O
B: TFA al 0,09% en 80% de ACN/20 de agua

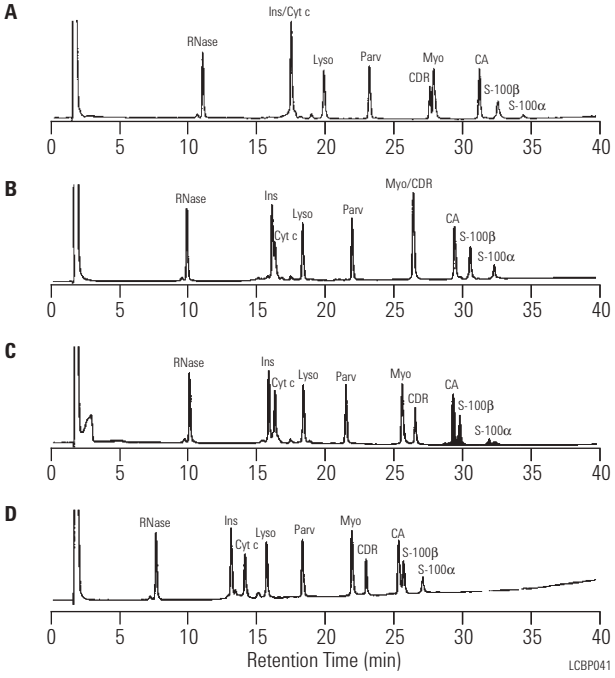
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Gradiente: 25-70% B in 40 min

Temperatura: 60 °C

Detector: UV, 210 nm

Muestra: Polipéptidos, 3 µg de cada uno



Proteínas estándar mediante fase reversa

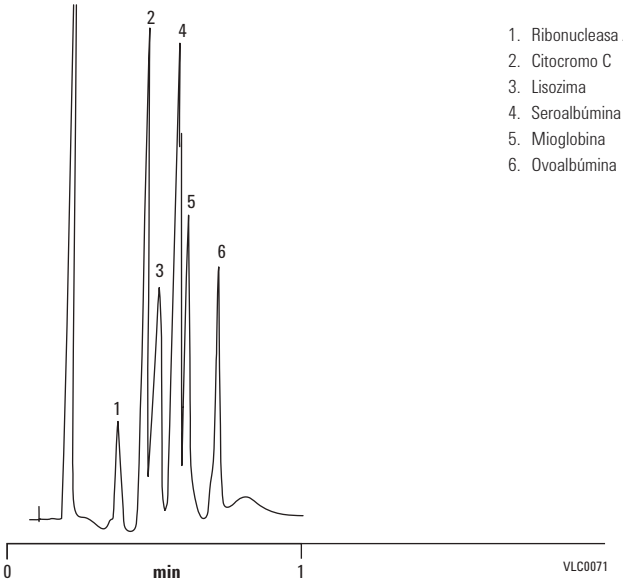
Columna: **PLRP-S 4000 Å**
PL1512-1803
4,6 x 50 mm, 8 µm

Fase móvil: A: TFA al 0,1% en 95% de agua:5% de ACN
B: TFA al 0,1% en 5% de agua:95% de ACN

Gradiente: Lineal, 18-60% B en 1 minuto

Velocidad de flujo: 4,0 ml/min

Detector: UV, 280 nm



1. Ribonucleasa A
2. Citocromo C
3. Lisozima
4. Seroalbúmina bovina
5. Mioglobina
6. Ovoalbúmina

Separación de proteínas por intercambio iónico estándar

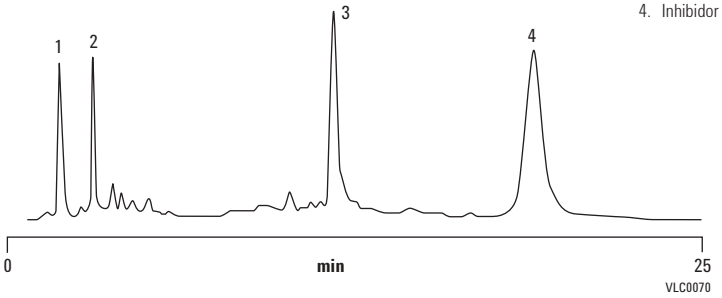
Columna: **PL-SAX 1000 Å**
PL1551-1502
4,6 x 50 mm, 5 µm

Fase móvil: A: Tris HCl, 10 mM, pH 8
B: A + NaCl, 0,35 M, pH 8

Gradiente: 0-100% B en 20 minutos

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: UV, 220 nm



1. Mioglobina
2. Anhidrasa carbónica bovina
3. Ovoalbúmina
4. Inhibidor de la tripsina de soja

Desoxinucleósidos: columnas de 3,5 µm de resolución rápida

Columna A: **ZORBAX SB-CN 883975-905 4,6 x 150 mm, 5 µm**

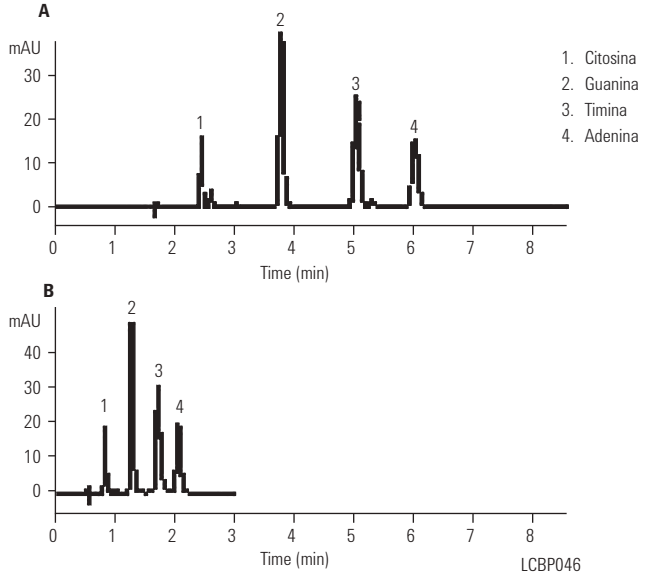
Columna B: **ZORBAX SB-CN 835975-905 4,6 x 50 mm, 3,5 µm**

Fase móvil: A: TFA al 0,1%
B: Metanol/agua 90/10 v/v (TFA al 0,1%)
Isocrático, A al 97,5%, B al 2,5%

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Temperatura: 30 °C

Detector: UV, 254 nm



Productos de digestión tríptica de albúmina sérica bovina en RRHT

Columna: **ZORBAX SB-C18 820700-902 2,1 x 150 mm, 1,8 µm**

Fase móvil: A: TFA al 0,1%, ACN al 5%
A: TFA al 0,08%, ACN al 95%

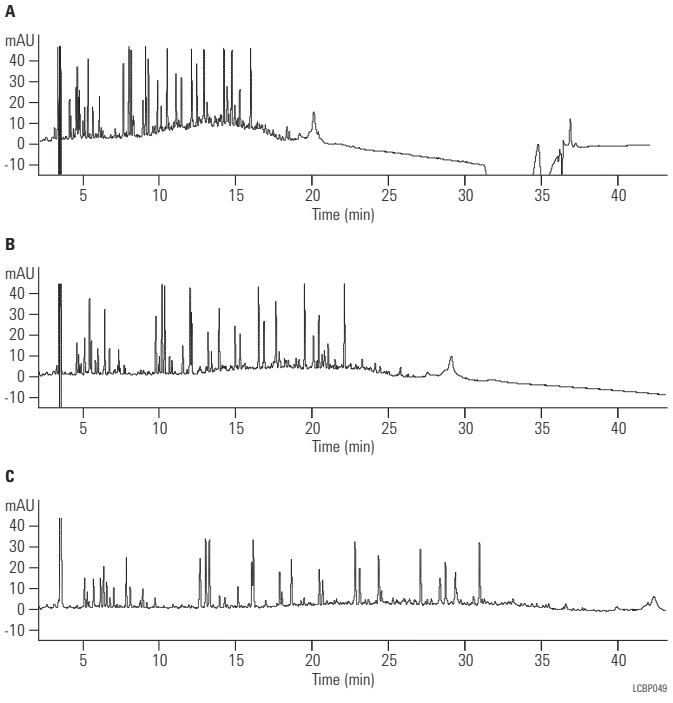
Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

Gradiente: A: Tiempo B al 0% en 5 min, tiempo B al 30% en 60 min
B: Tiempo B al 0% en 5 min, tiempo B al 45% en 60 min
C: Tiempo B al 0% en 5 min, tiempo B al 67,5% en 60 min

Temperatura: 80 °C

Detector: UV, 214 nm

Muestra: Productos de digestión tríptica de albúmina sérica bovina



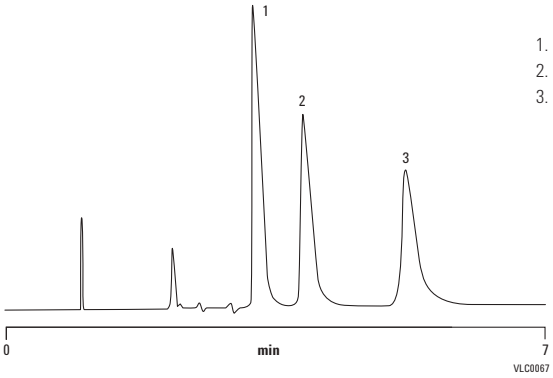
Catecolaminas

Columna: **PLRP-S 100 Å**
PL1111-3500
4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: 95%, ácido cítrico, 25 mM, Na_2HPO_4, 25 mM, ácido Ácido sulfónico: 5% ACN, pH 2.85

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: UV, 280 nm



1. Norepinefrina
2. Epinefrina
3. Dopamina

Proteínas de suero en muestras de lácteos (leche)

Columna: **PLRP-S 300 Å**
PL1512-3801
4,6 x 150 mm, 8 µm

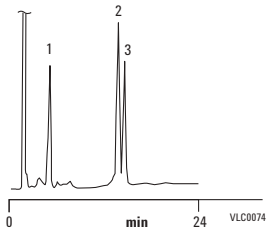
Fase móvil: A: TFA al 0,1% en 99% agua:1% ACN
B: TFA al 0,1% en 1% agua:99% ACN

Gradiente: 36-48% B, 0-24 min, 48-100% B, 24-30 min
100% B, 30-35 min, 100-36% B, 35-40 min

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Volumen de inyección: 10 µl

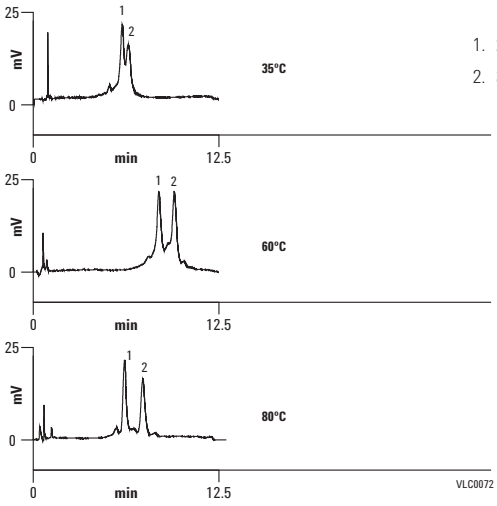
Detector: UV, 220 nm



1. α-lactoalbúmina
2. β-lactoglobulina (cadena B)
3. β-lactoglobulina (cadena A)

La temperatura se usa para mejorar la transferencia de masa y aumentar la resolución de los oligonucleótidos en los sistemas HPLC de fase reversa con par iónico.

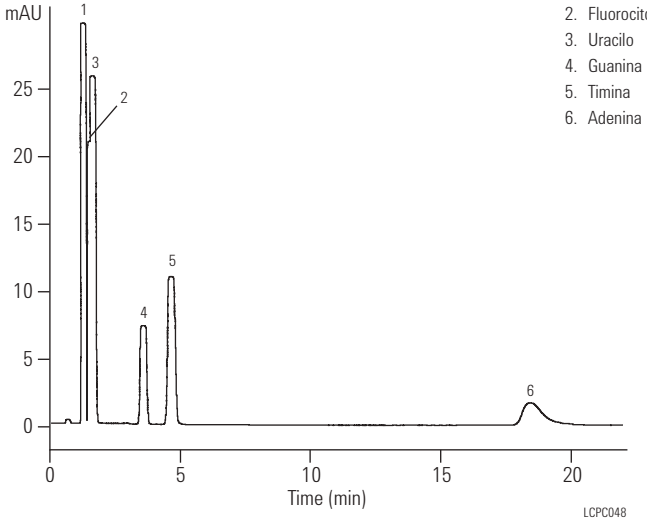
Columna:	**PLRP-S 100 Å** **PL1512-1300** **4,6 x 50 mm, 3 µm**
Fase móvil:	A: TEAA 100 mM B: TEAA 100 mM en ACN al 25%
Gradiente:	Cambio del 5% en tampón B en 5 minutos
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Temperatura:	35 °C, 60 °C u 80 °C
Detector:	UV; 254 nm



1. 29 mer
2. 30 mer

Separación de purina/pirimidina hidrófila

Columna:	**ZORBAX SB-Aq** **883975-914** **4,6 x 150 mm, 5 µm**
Fase móvil:	50 mM NaOAc, pH 4,6
Velocidad de flujo:	2,0 ml/min
Temperatura:	35 °C
Detector:	UV, 254 nm



1. Citosina
2. Fluorocitosina
3. Uracilo
4. Guanina
5. Timina
6. Adenina

Para obtener una lista completa de los cromatogramas, con la posibilidad de buscar por nombre del compuesto, visite nuestra biblioteca de cromatogramas online en **www.agilent.com/chem/library**

Aplicaciones para productos químicos e industriales

Análisis de biocidas en desinfectantes de manos

Columna: **ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18**
959757-902
2,1 x 50 mm, 1,8 µm

Fase móvil: A: H_2O (TFA al 0,5%)
B: ACN (TFA al 0,04%)

Velocidad de flujo: 1,7 ml/min

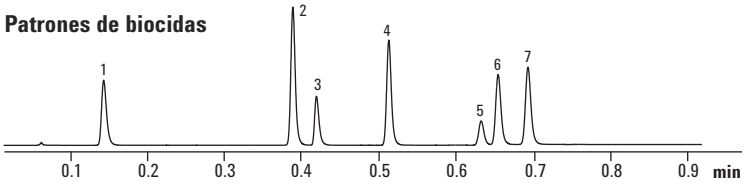
Gradiente: Tiempo 0,0, 95/5 A/B,
Tiempo 1,0, 55/45 A/B,
Tiempo 1,1, 0/100 A/B,

DAD: 275 nm (0 min)
225 nm (0,46 min)
255 nm (0,67 min)

Muestra: Inyección de 1 µl de patrón 50 ppm

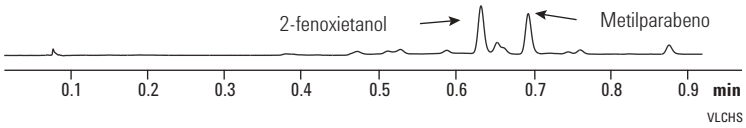
Temperatura: 30 °C

Patrones de biocidas



1. Kathon 1A
2. Kathon 1B
3. Carbendazim
4. 1,2-bencisotiazol-3(2H)-ona
5. 2-fenoxietanol
6. Ácido benzoico
7. Metilparabeno

Muestra de desinfectante de manos (inyección sin mezcla)



VLCHS

Triton X-114: reducción del tiempo de análisis mediante el cambio de la fase ligada

Columna A: **ZORBAX SB-C3**
883975-909
4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna B: **ZORBAX SB-C18**
883975-902
4,6 x 150 mm, 5 µm

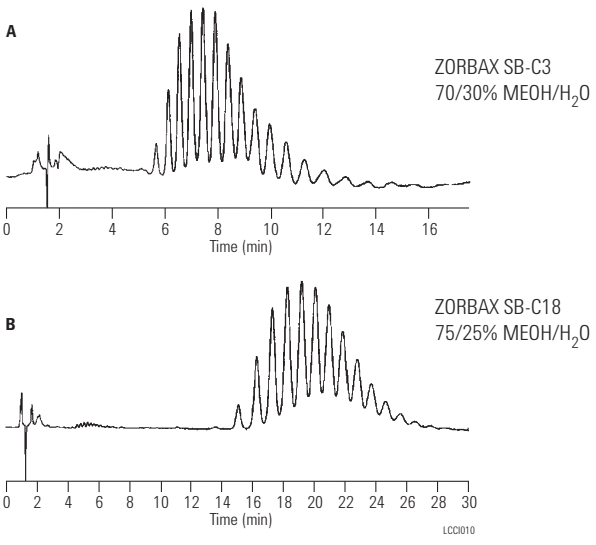
Fase móvil: MeOH and H_2O (as indicated)

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Temperatura: 50 °C

Detector: UV, 225 nm

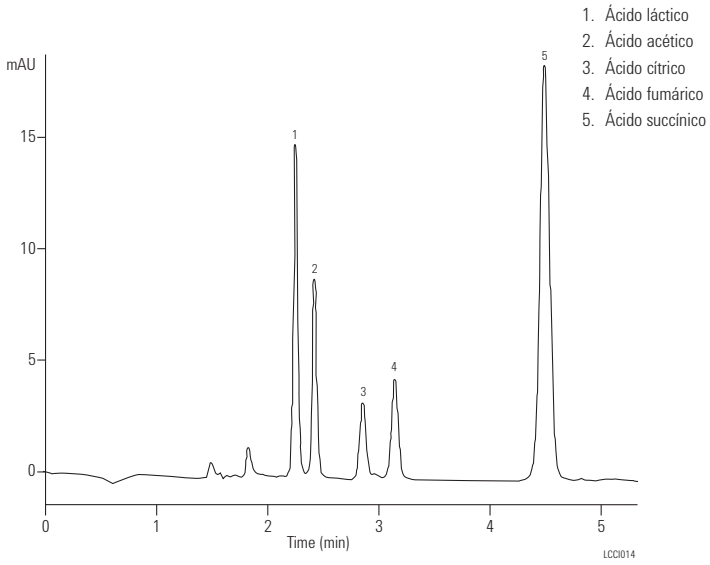
Muestra: Triton X-114



LCCI010

Separación de ácidos orgánicos en ZORBAX SB-Aq

Columna:	**ZORBAX SB-Aq** **883975-914** **4,6 x 150 mm, 5 µm**
Fase móvil:	NaH_2PO_4 20 mM al 99%, pH 2, ACN al 1%
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Temperatura:	35 °C
Detector:	UV, 210 nm



Brij 35

Columna:	**PLRP-S 100 Å** **PL1111-3500** **4,6 x 150 mm, 5 µm**
Fase móvil:	A: Agua B: ACN
Gradiente:	0-100% B en 40 minutos
Velocidad de flujo:	0,8 ml/min
Volumen de inyección:	10 µl
Concentración de la muestra:	1 mg/ml
Detector:	ELS (neb = 50 °C, evap = 70 °C, gas = 1,5 SLM)

