Vida útil prolongada de 300Extend-C18 con niveles de pH altos

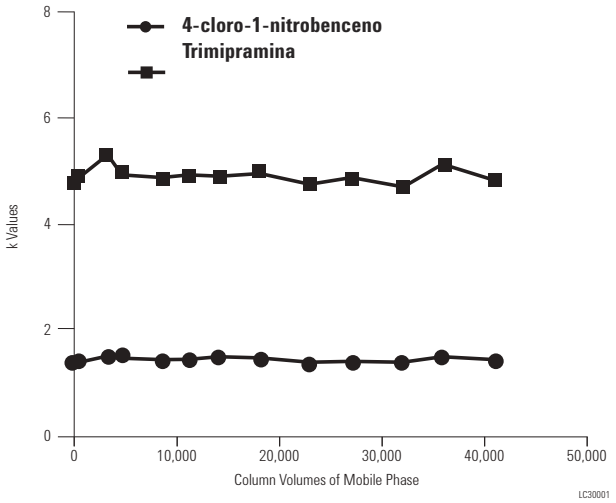
Columna: **ZORBAX Extend-C18**
773450-902
4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: 20% 20 mM NH_4OH, pH 10,5
80% metanol

Velocidad de flujo: 1,5 ml/min

Temperatura: Fermentación 24 °C
Pruebas 40 °C

Cada 10.000 volúmenes de columna equivalen a aproximadamente un mes de trabajo.



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

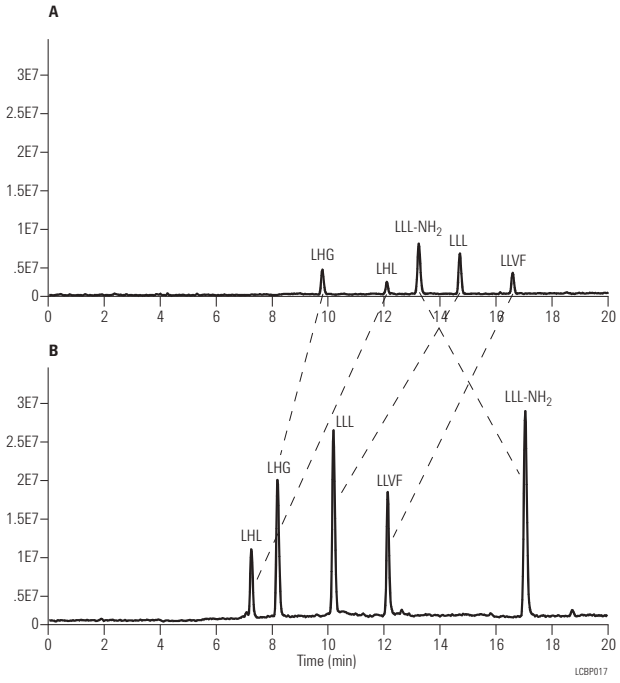
Velocidad de flujo: 0,25 ml/min

Gradiente: 5-60% B in 20 min

Temperatura: 25 °C

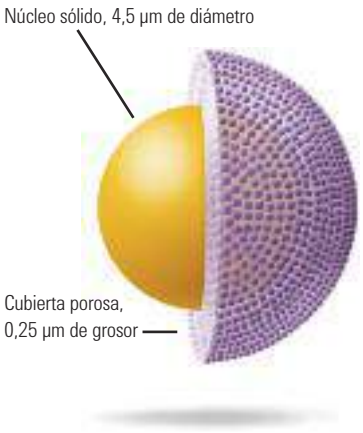
Condiciones de MS: Iones positivos, ESI- Vf 70 V, Vcap 4,5 kV
N_2, 35 psi, 12 l/min, 300 °C
4 µl (50 ng cada péptido)

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.



ZORBAX Extend-C18 de 300 Å

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Referencia
	Analítica	4,6 x 250	5	770995-902
	Analítica	4,6 x 150	5	773995-902
	Resolución rápida	4,6 x 150	3,5	763973-902
	Resolución rápida	4,6 x 100	3,5	761973-902
	Resolución rápida	4,6 x 50	3,5	765973-902
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 150	3,5	763750-902
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 100	3,5	761775-902
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 50	3,5	765750-902
ZGC	Precolumna, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-932
ZGC	Precolumna, 4/paq.	2,1 x 12,5	5	821125-932
ZGC	Kit de soporte de la precolumna			820999-901
Columnas capilares forradas de vidrio				
	Capilar RR	0,3 x 150	3,5	5065-4464
	Capilar RR	0,3 x 100	3,5	5065-4465
	Capilar RR	0,3 x 75	3,5	5065-4466
	Capilar RR	0,3 x 50	3,5	5065-4467



Poroshell 300

- Separaciones UHPLC de biomoléculas con partículas de superficie porosa
- El poro de 300Å proporciona una gran eficacia y recuperación de proteínas (hasta 1 000 kDa) y de anticuerpos monoclonales.
- Consigue una larga vida útil a un nivel de pH bajo con Poroshell 300SB; y a un nivel de pH alto con 300Extend-C18.
- Optimice la recuperación y la selectividad con cuatro fases ligadas distintas: 300SB-C18, 300SB-C8, 300SB-C3 y 300Extend-C18.

Las columnas Agilent Poroshell 300 son ideales para separaciones rápidas de proteínas y péptidos, porque las partículas superficialmente porosas permiten usar flujos altos y mantener la eficacia y la definición de los picos. Las separaciones de péptidos y proteínas se llevan generalmente a cabo lentamente para reducir el potencial ensanchamiento de pico de estos analitos de difusión lenta. Sin embargo, las columnas Poroshell utilizan partículas superficialmente porosas hechas de una fina capa externa de sílice porosa y un núcleo sólido de sílice. Eso reduce la distancia de difusión de las proteínas, haciendo posible separaciones HPLC rápidas de péptidos y proteínas de 500 a 1000 kDa. Las columnas Poroshell con fases ligadas StableBond ofrecen excelentes opciones de estabilidad y selectividad con fases móviles que contienen TFA y ácido fórmico. La columna Poroshell 300Extend-C18 se puede utilizar en el rango de pH de 2 a 11, ofreciendo separaciones exclusivas. Las columnas se pueden utilizar tanto para separaciones analíticas de proteínas como para separaciones LC/MS.



Columnas Poroshell 300

Especificaciones de columnas

Fase ligada	Tamaño de poro	Límites de temperatura*	Rango de pH	Desactivación
Poroshell 300SB-C18, C8, C3	300 Å	90 °C	1,0-8,0	No
Poroshell 300 Extend-C18	300 Å	40 °C por encima de pH 8 60 °C por debajo de pH 8	2,0-11,0	Sí

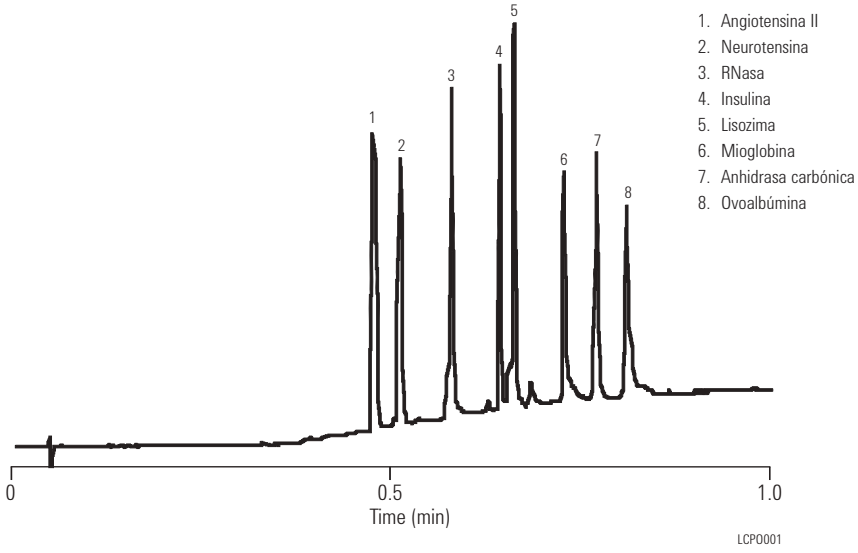
Las especificaciones solo representan los valores típicos.

*Las columnas 300StableBond están diseñadas para un uso óptimo a un pH bajo. A un pH de 6 a 8 se obtiene la mayor estabilidad de columna para las columnas con base de sílice si se trabaja a temperaturas <40 °C y se utilizan concentraciones menores de tampón en el rango de 0,01 a 0,02 M. A pH medio o alto se recomienda 300Extend-C18.

Las columnas Poroshell 300 separan proteínas y péptidos en segundos

Columna:	**Poroshell 300SB-C18** **660750-902** **2,1 x 75 mm, 5 µm**
Fase móvil:	A: 0,1% TFA en H_2O B: TFA al 0,07% en ACN
Velocidad de flujo:	3,0 ml/min
Gradiente:	5-100% B en 1,0 min
Temperatura:	70 °C, presión 260 bares
Detector:	215 nm
Muestra:	Proteínas y péptidos

Esta separación de ocho polipéptidos y proteínas se completa en menos de 60 segundos. Todos los picos obtenidos son nítidos y eficientes.



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

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Encontrará más información en las siguientes publicaciones:

Poroshell 300SB-C18 (n.º de publicación 5988-2100ENUS)

Rapid HPLC Analysis of Monoclonal Antibody IgG_1 Heavy Chains Using ZORBAX Poroshell 300SB-C8 (n.º de publicación 5989-0070EN)

Use of Temperature to Increase Resolution in the Ultrafast HPLC Separation of Proteins with ZORBAX Poroshell 300SB-C8 HPLC Columns (n.º de publicación 5989-0589EN)

Using the High-pH Stability of ZORBAX Poroshell 300Extend-C18 to Increase Signal-to-Noise in LC/MS (n.º de publicación 5989-0683EN).

www.agilent.com/chem/library

Reducción del 90% del tiempo de análisis del mapa de péptidos con Poroshell 300SB

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

Columna B: **ZORBAX 300SB-C18**
883750-902
2,1 x 150 mm, 5 µm

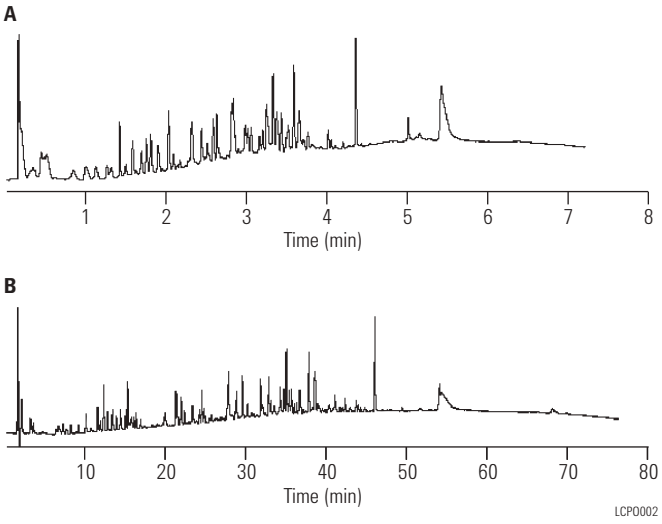
Fase móvil: A: 95% H_2O, ACN al 5%, TFA al 0,1%
B: 5% H_2O, ACN al 95%, TFA al 0,07%

Velocidad de flujo: 1 ml/min
0,208 ml/min

Gradiente: 0-100% B = 12 min
0-100% B = 120 min

Temperatura: 70 °C

Muestra: 20 µl (0,22 µg/1 µl)
Digesto tríptico de BSA
(15 horas, 70 pmol)



Un único análisis cromatográfico de una digestión tríptica de proteínas puede precisar una o más horas. Con las columnas Poroshell, la misma separación compleja puede realizarse en una décima parte de ese tiempo.

Columnas Poroshell MicroBore 300 para maximizar la sensibilidad del sistema de LC/MS

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

Fase móvil: A: agua + ácido fórmico al 0,1%,
B: ACN + ácido fórmico al 0,1%

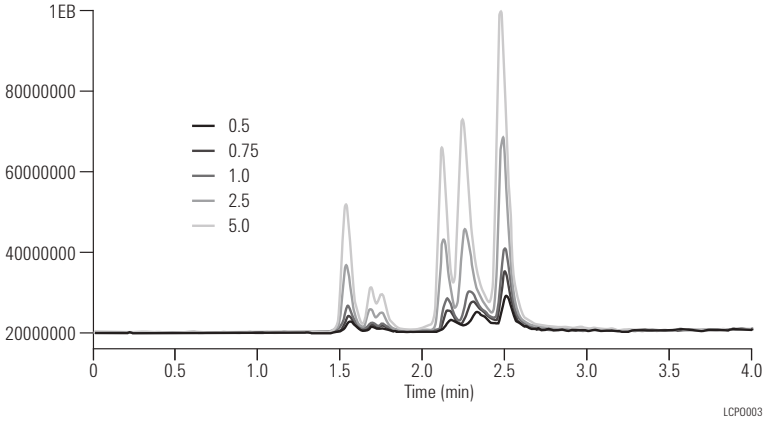
Velocidad de flujo: 600 µl/min

Gradiente: 20-100% B en 5,5 min

Temperatura: 80 °C

Condiciones de MS: LC/MS: iones positivos, ESI – Vcap 6000 V
Flujo de gas de secado: 12 l/min
Temperatura de gas de secado: 350 °C
Nebulizador: 45 psi
Tensión del fragmentador: 140 V
Barrido: 600-2 500
Tamaño del paso: 0,15 uma
Anchura de los picos: 0,06 min

Muestra: 1 µl



Al ser de diámetros estrechos (2,1 mm, 1,0 mm y 0,5 mm), las columnas Poroshell son un complemento ideal para LC/MS. Cuando la muestra es muy limitada, las columnas Poroshell de 1,0 mm o 0,5 mm de d.i. constituyen una opción excelente para los análisis LC/MS de alta sensibilidad. Se puede determinar el peso molecular de MS sensible con tan sólo de 0,5 a 5 pmoles de proteínas en las columnas Poroshell. Las columnas Poroshell también se han usado para la rápida identificación de MS de proteínas intactas, incluso en presencia de estabilizantes y medios de cultivo tisular.

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

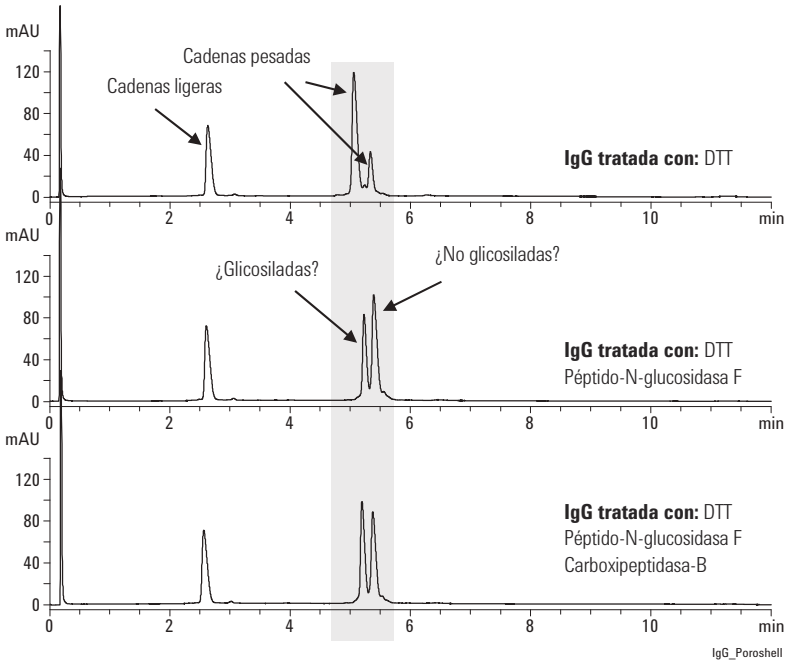
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

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





RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Agilent ofrece una amplia selección de viales de muestras para cromatografía certificados, incluidos los de polipropileno y de vidrio desactivado y siliconado. Para obtener más información, consulte (n.º de publicación 5990-9022EN).

www.agilent.com/chem/library

Patrón de elución de proteínas en ZORBAX Poroshell 300SB-C8

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

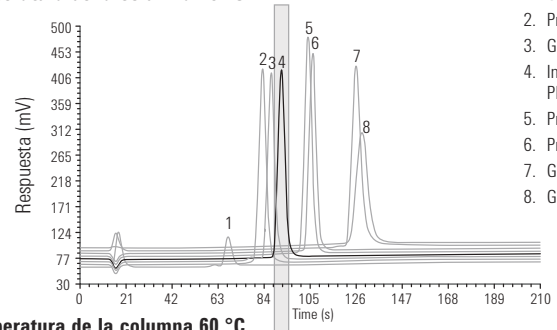
Fase móvil: A: TFA al 0,1% en H_2O
B: TFA al 0,1% en ACN

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

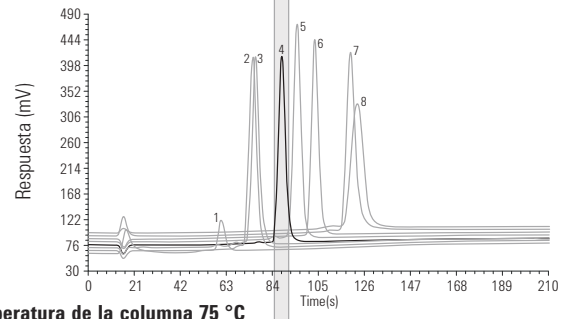
Gradiente: B: del 20 al 70% en 3 min

Detector: UV (214 nm)

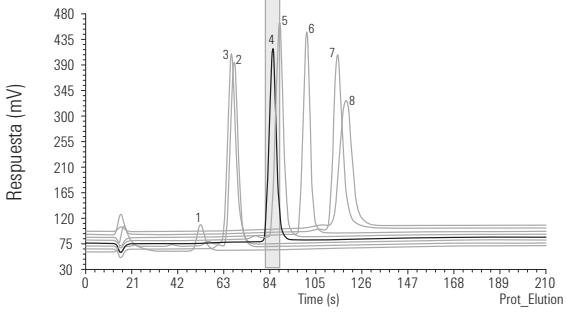
Temperatura de la columna 40 °C



Temperatura de la columna 60 °C



Temperatura de la columna 75 °C



1. Glicoproteína X, PM ~22 kDa
2. Proteína I, PM ~4 kDa
3. Glucagón, PM ~3,5 kDa
4. Insulina humana biosintética, PM ~6 kDa
5. Proteína J, PM ~3 kDa
6. Proteína K, PM ~6 kDa
7. Glicoproteína Y, PM ~45 kDa
8. Glicoproteína Z, PM ~30 kDa

Poroshell 300

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Poroshell 300SB-C18	Poroshell 300SB-C8	Poroshell 300SB-C3	Poroshell 300Extend-C18
	Diámetro estrecho	2,1 x 75	5	660750-902	660750-906	660750-909	670750-902
	MicroBore	1,0 x 75	5	661750-902	661750-906	661750-909	671750-902
	Capilar	0,5 x 75	5		5065-4468		
ZGC	Precolumna, 4/paq.	2,1 x 12,5	5	821075-920	821075-918	821075-924	
ZGC	Kit de soporte de la precolumna			820999-901	820999-901	820999-901	
	Precolumna MicroBore, 3/paq.	1,0 x 17	5	5185-5968	5185-5968	5185-5968	5185-5968

Poroshell 120



- Tamaño de poro de 120 Å para mapeo de péptidos de cadena más corta
- Rendimiento de UHPLC en sistemas de 600 bares
- Hasta un 90% de la eficiencia que las columnas de menos de 2 µm
- El doble de eficiencia que 3,5 µm
- Hasta un 50% menos de presión que las columnas de menos de 2 µm

Las columnas Agilent Poroshell 120 poseen una partícula de 2,7 µm con un núcleo sólido de 1,7 µm y una capa externa porosa de 0,5 µm. Este tamaño de partícula reducido consigue una alta eficiencia, similar a la de columnas de menos de 2 µm, pero con un 40-50% menos de presión. Estas columnas de alta eficiencia y alta resolución se pueden utilizar con cualquier tipo de LC. La capa exterior porosa y el núcleo sólido limitan la distancia de difusión y mejoran la velocidad de separación, al tiempo que la estrecha distribución de tamaños de partícula mejora la eficiencia y la resolución. Las columnas pueden soportar altas presiones y se pueden utilizar múltiples columnas para lograr las mayores resolución y eficiencia posibles. El tamaño de poro de 120 Å, más pequeño, es ideal para análisis rápidos de alta resolución de pequeños péptidos hidrófilos en digestiones de proteínas.

Especificaciones de columnas

Fase ligada	Tamaño de poro	Límites de temperatura	Rango de pH	Desactivación	Carga de carbono
EC-C18	120 Å	60 °C	2,0-8,0	Doble	10%
SB-C18	120 Å	90 °C	1,0-8,0	No	8%

Las especificaciones solo representan los valores típicos.

Si desea obtener más información sobre la gama completa de las fases de Poroshell 120, consulte la página 228.



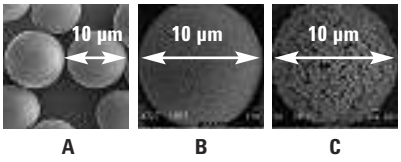
Poroshell 120

Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	EC-C18 USP L1	SB-C18 USP L1
Analítica	4,6 x 150	2,7	693975-902	683975-902
Analítica	4,6 x 100	2,7	695975-902	685975-902
Solvent Saver	3,0 x 150	2,7	693975-302	683975-302
Solvent Saver	3,0 x 100	2,7	695975-302	685975-302
Diámetro estrecho	2,1 x 150	2,7	693775-902	683775-902
Diámetro estrecho	2,1 x 100	2,7	695775-902	685775-902

PLRP-S

- Contiene partículas duraderas y resistentes que proporcionan resultados reproducibles durante más tiempo.
- Térmicamente y químicamente estable.
- Cumple con la designación USP L21.
- Utilizada en los sectores de la biociencia, químico, de investigación clínica, energético, medioambiental, alimenticio y agrícola, de ciencia de los materiales y farmacéutico.

La familia de columnas PLRP-S está compuesta por una gama de tamaños de poro y de partícula, todos con un relleno químico idéntico y las características de adsorción fundamentales. Las partículas son intrínsecamente hidrofóbicas, por lo que no cuentan con fase ligada y es necesario un ligando alquílico para las separaciones de fases reversas. Esto da como resultado un material altamente reproducible libre de silanoles y de iones de metales pesados. Las columnas de la amplia gama de productos son apropiadas para las separaciones micro, incluidas proteómica de arriba a abajo y de abajo a arriba, separaciones analíticas y purificaciones preparativas. Además, las columnas de proceso pueden rellenarse con los medios a granel.



Microscopios electrónicos de barrido (SEM) de partículas PLRP-S de 10 µm.
La diferencia de tamaño del poro se observa claramente.
A es el poro pequeño de 100 Å
B el es poro mayor de 300 Å
C es el gigaporo de 4000 Å

Especificaciones de columnas	
Rango de pH	1-14
Contenido del tampón	Ilimitado
Modificador orgánico	1-100%
Límites de temperatura	200 °C
Presión máxima	5-8 µm: 3000 psi (210 bares)
	3 µm: 4000 psi (300 bares)

Aplicaciones PLRP-S	
Tamaño de poro	**Aplicación**
100 Å	Pequeñas moléculas/péptidos/oligonucleótidos
300 Å	Proteínas/péptidos recombinados
1000 Å	Proteínas grandes
4000 Å	ADN/alta velocidad

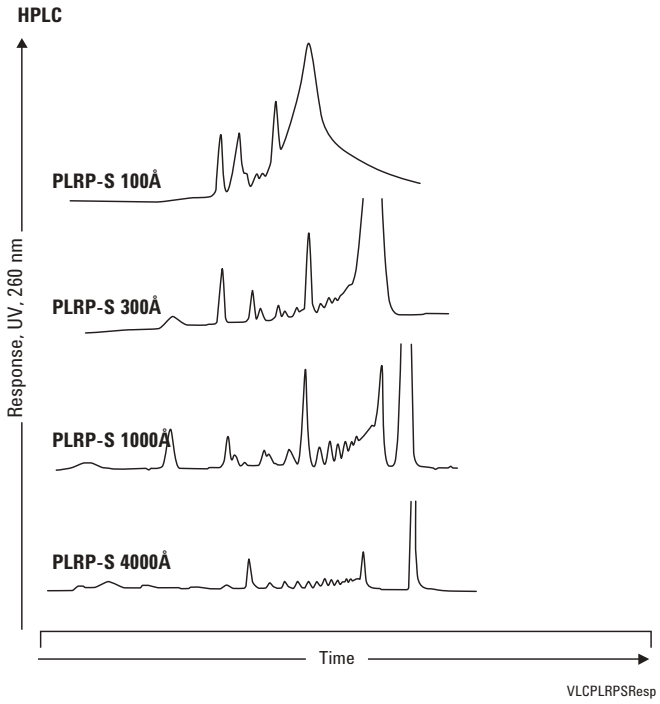
HPLC de marcador de ADN de 25 bp

Columna: **PLRP-S, 2,1 x 150 mm**

Fase móvil: A: 0,1 M TEAA
B: 0,1 M TEAA en 50% de agua:50% de ACN

Velocidad de flujo: 200 µl/min

Gradiente: 12,5-50% B en 150 min



Polietilenglicoles

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

Fase móvil: A: Agua
B: ACN

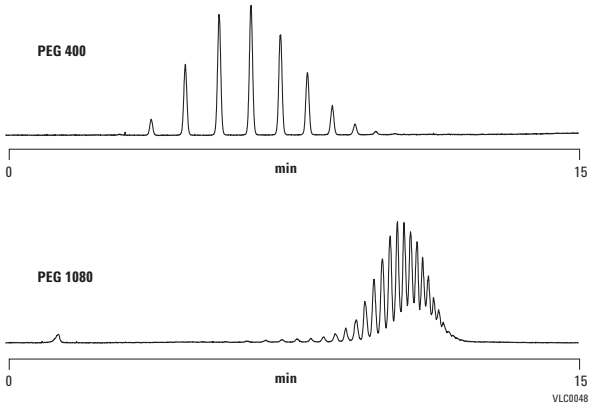
Gradiente: 10 - 30% B en 12 min,
retención al 30% B durante 3 min.

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Volumen de inyección: 10 µl

Concentración de la muestra: 1 mg/ml

Detector: ELS (neb = 50 °C, evap = 70 °C, gas = 1,6 SLM)



Ventajas de la estabilidad química: concentración de TFA

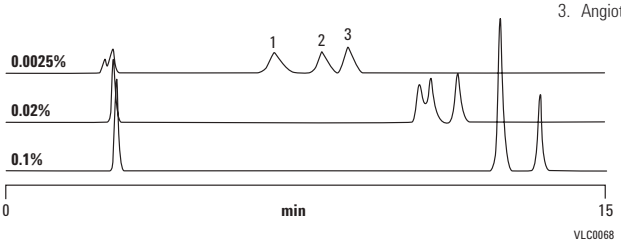
Columna: **PLRP-S 100 Å**
PL1512-5500
4,6 x 250 mm, 5 µm

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)



1. Angiotensina III
2. Angiotensina II
3. Angiotensina I

Selectividad de la RP-LC de péptidos

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

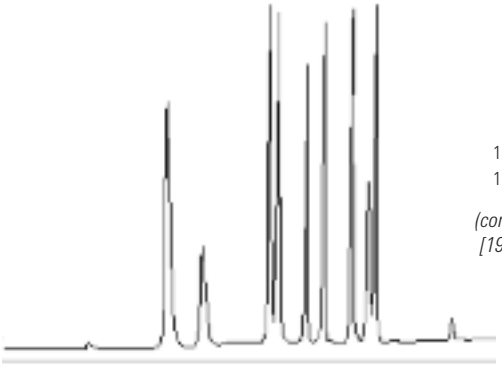
Fase móvil: A: TFA al 0,1%/2-propanol/agua al 1%
B: TFA al 0,1%/2-propanol/ACN al 1%

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Gradiente: 95% de A (0-3 min)
hasta 50% de A (13 min)

Detector: UV, 220 nm

Buena separación de patrones de péptidos con la columna Agilent PLRP-S



1. YG
2. GYG
3. PY
4. YV
5. YY
6. GLY
7. YF
8. GFL
9. YGGFM
10. Ácido oxálico (marcador)
11. Ácido benzoico (marcador)

(consulte J.Chromatography 512 [1990] 315-23)

Ventajas de la estabilidad química: concentración de NH_4OH

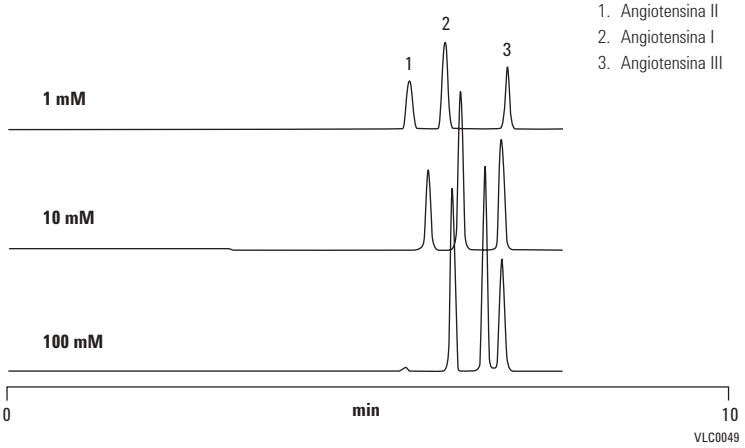
Columna: **PLRP-S 100 Å**
PL1512-5500
4,6 x 250 mm, 5 µm

Fase móvil: A: NH_4OH (varios mm) en agua
B: NH_4OH (varios mm) en ACN

Gradiente: Lineal 10 - 100% B en 15 min.

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: ELS (neb = 80 °C, evap = 85 °C, gas = 1,0 SLM)



Mezcla de prueba del Alberta Peptide Institute

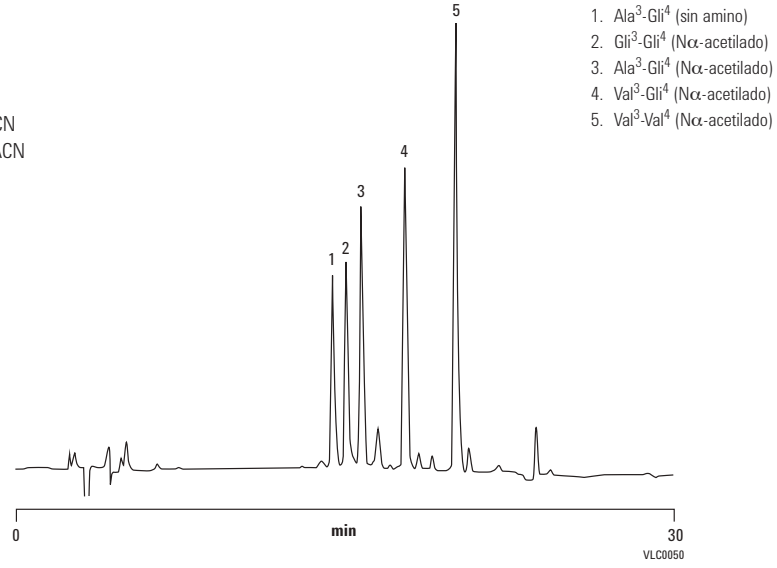
Columna: **PLRP-S 100 Å**
PL1512-5500
4,6 x 250 mm, 5 µm

Fase móvil: A: TFA al 0,1% en 99% de agua:1% de ACN
B: TFA al 0,1% en 70% de agua:30% de ACN

Gradiente: 0 - 100% B en 30 min.

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: UV, 220 nm



Proteínas de suero en muestras de lácteos (leche)

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

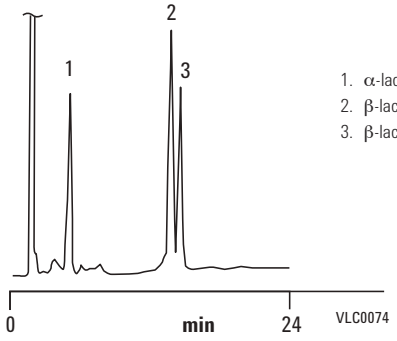
Fase móvil: A: TFA al 0,1% en 99% agua:1% ACN
B: TFA al 0,1% en 1% agua:99% ACN

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

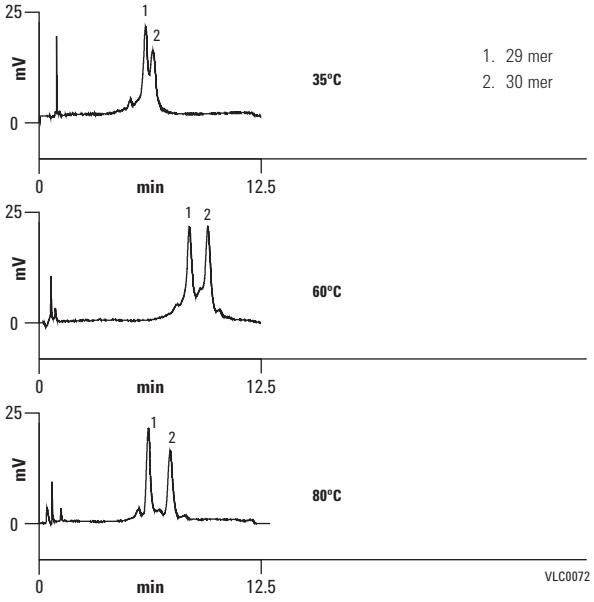
Fase móvil: A: TEAA 100 mM
B: TEAA 100 mM en ACN al 25%

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

Proteínas fibrosas grandes

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

Columna: **PLRP-S 1000 Å**
PL1512-3802
4,6 x 150 mm, 8 µm

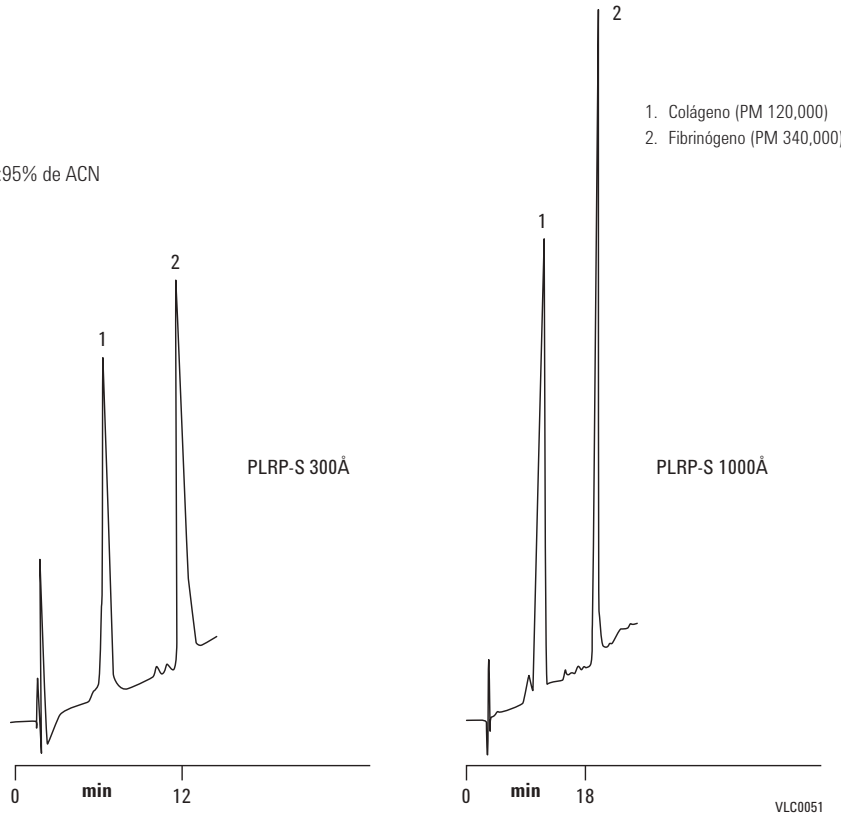
Fase móvil: A: TFA al 0,25% en agua
B: TFA al 0,25% en 5% de agua:95% de ACN

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Gradiente: 20 - 60% B en 15 min.

Detector: UV, 220 nm

1. Colágeno (PM 120,000)
2. Fibrinógeno (PM 340,000)



Columnas HPLC PLRP-S

Hardware	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	PLRP-S 100 Å USP L21	PLRP-S 300 Å USP L21	PLRP-S 1.000 Å USP L21	PLRP-S 4.000 Å USP L21
	4,6 x 250	8	PL1512-5800	PL1512-5801	PL1512-5802	
	4,6 x 150	8	PL1512-3800	PL1512-3801	PL1512-3802	PL1512-3803
	4,6 x 50	8		PL1512-1801	PL1512-1802	PL1512-1803
	4,6 x 250	5	PL1512-5500	PL1512-5501		
	4,6 x 150	5	PL1111-3500	PL1512-3501		
	4,6 x 50	5	PL1512-1500	PL1512-1501	PL1512-1502	PL1512-1503
	4,6 x 150	3	PL1512-3300	PL1512-3301		
	4,6 x 50	3	PL1512-1300	PL1512-1301		
	2,1 x 250	8		PL1912-5801		
	2,1 x 150	8		PL1912-3801	PL1912-3802	PL1912-3803
	2,1 x 50	8		PL1912-1801	PL1912-1802	PL1912-1803
	2,1 x 250	5	PL1912-5500	PL1912-5501		
	2,1 x 150	5	PL1912-3500	PL1912-3501		
	2,1 x 50	5	PL1912-1500	PL1912-1501	PL1912-1502	PL1912-1503
	2,1 x 150	3	PL1912-3300	PL1912-3301		
	2,1 x 50	3	PL1912-1300	PL1912-1301		
	1,0 x 50	8			PL1312-1802	
	1,0 x 50	5	PL1312-1500		PL1312-1502	
	1,0 x 10	5			PL1C12-2502	
	1,0 x 150	3	PL1312-3300			
	1,0 x 50	3	PL1312-1300			
PL	Precolumnas PLRP-S para 5 x 3 mm, 2/paq.		PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801
PL	Soporte de precolumna para cartuchos de 3,0 x 5,0 mm		PL1310-0016	PL1310-0016	PL1310-0016	PL1310-0016

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Para obtener información sobre pedidos de columnas preparativas y medios, vaya a las páginas 470–471.

Para obtener información sobre pedidos de columnas Microbore, vaya a la página 463.



Columnas y consumibles para análisis de aminoácidos (AAA)

Columnas ZORBAX Eclipse para análisis de aminoácidos (AAA)

- Análisis rápido de alta resolución de 24 aminoácidos
- Contrastada para análisis de aminoácidos
- Utiliza conocidas derivaciones químicas con precolumnas OPA y FMOC
- Sencilla automatización empleando un detallado protocolo de derivación disponible en línea para uso con inyectores automáticos Agilent 1100/1200

La columna Agilent ZORBAX Eclipse AAA de alta eficiencia separa aminoácidos con rapidez siguiendo un protocolo actualizado y mejorado. El análisis total de inyección a inyección se puede completar en tan solo 8 minutos (7 min de tiempo de análisis) en una columna de 1,8 µm, en 14 minutos (9 min de tiempo de análisis) en las columnas más cortas de 75 mm de longitud y en 24 minutos (18 min de tiempo de análisis) en las columnas de 150 mm de longitud. Se consigue una excepcional sensibilidad (5-50 pmol con DAD y FLD) y fiabilidad usando ambas derivaciones químicas con OPA y FMOC en un procedimiento completamente automatizado que usa el instrumento HPLC Agilent 1100/1200.

Las columnas ZORBAX Eclipse Plus C18 son otra opción excelente para los análisis de aminoácidos. Si desea obtener más información sobre las columnas ZORBAX Eclipse Plus, consulte la página 248.

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Encontrará más información en la siguiente publicación:

High-Speed Amino Acid Analysis (AAA) on 1.8 µm Reversed-Phase (RP) Columns (n.º de publicación 5989-6297EN)

www.agilent.com/chem/library

Columnas ZORBAX Eclipse para análisis de aminoácidos (AAA)

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Referencia
	Sensibilidad de rutina analítica	4,6 x 150	5	993400-902
	Sensibilidad de rutina analítica, alta resolución con FLD	4,6 x 150	3,5	963400-902
	Sensibilidad de rutina analítica, alto rendimiento	4,6 x 75	3,5	966400-902
	Columnas Solvent Saver: alta sensibilidad y alta resolución	3,0 x 150	3,5	961400-302
ZGC	Precolumnas, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-931
ZGC	Kit de soporte de la precolumna			820999-901

Patrones de aminoácidos

Cada patrón de aminoácidos contiene los aminoácidos siguientes:

- Glicina
- L-cisteína
- L-histidina
- L-tirosina
- L-leucina
- L-metionina
- L-serina
- L-alanina
- L-fenilalanina
- Ácido L-glutámico
- L-prolina
- L-isoleucina
- L-arginina
- L-treonina
- L-valina
- L-lisina
- Ácido L-aspártico

Patrones de aminoácidos, 10 ampollas de 1 ml*

Descripción	Referencia
1 nmol/µl	5061-3330
250 pmol/µl	5061-3331
100 pmol/µl	5061-3332
25 pmol/µl	5061-3333
10 pmol/µl	5061-3334
Kit complementario de aminoácidos Incluye 1 g de cada de norvalina, sarcosina, asparagina, glutamina, triptófano y 4-hidroxiprolina	5062-2478

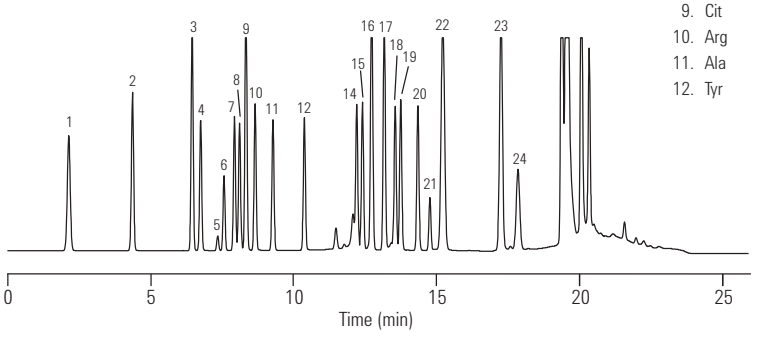
*Adquiera cantidades limitadas para evitar problemas de caducidad en almacenamiento, envíos de ref. 5062-2478 con viales de 1 g.

Reactivos para separaciones de aminoácidos

Descripción	Referencia
Reactivo OPA, 10 mg/ml de cada en tampón borato 0,4 M de o-ftalaldehído (OPA) y ácido 3-mercaptopropiónico, 6 ampollas de 1 ml	5061-3335
Reactivo FMOC, 2,5 mg/ml en acetonitrilo, 9-fluorenilmetilcloroformiato, 1 ml, 10 ampollas	5061-3337
Tampón de borato, 100 ml	5061-3339
Reactivo DTDPA (ditiodipropriónico), para análisis de cisteína, 5 g	5062-2479

Alta resolución para 24 aminoácidos mediante el protocolo ZORBAX Eclipse-AAA

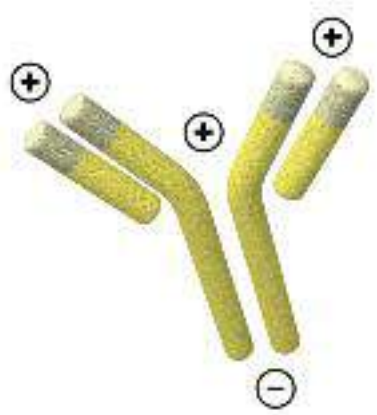
Columna:	**ZORBAX Eclipse AAA** **963400-902** **4,6 x 150 mm, 3,5 µm**
Fase móvil:	A: 40 mM Na_2HPO_4, pH 7,8 B: ACN:MeOH:Agua, 45:45:10 v/v
Velocidad de flujo:	2 ml/min
Temperatura:	40 °C
Detector:	Fluorescencia
Muestra:	24 aminoácidos



1. Asp
2. Glu
3. Asn
4. Ser
5. Gln
6. His
7. Gly
8. Thr
9. Cit
10. Arg
11. Ala
12. Tyr
13. Cys
14. Val
15. Met
16. Nva
17. Tr p
18. Phe
19. Ile
20. Leu
21. Lys
22. Hyp
23. Sar
24. Pro

Esta separación de alta resolución de 24 aminoácidos se completa en 18 minutos. Si se selecciona la versión de resolución rápida de 4,6 x 75 mm de la columna Eclipse AAA, los aminoácidos se resuelven en 9 minutos.

Cromatografía de intercambio iónico



Purificación de proteínas y otras moléculas con carga

La cromatografía de intercambio iónico (IEX) es una técnica de alta sensibilidad que permite separar iones y moléculas polares en función de su carga. Al igual que la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC), el intercambio iónico se puede usar para separar proteínas en su estado nativo.

Aplicación de IEX al análisis de variante de carga

Durante la producción y purificación, los anticuerpos pueden mostrar cambios en la heterogeneidad de la carga como resultado de sustituciones de aminoácidos, glicosilación, fosforilación y otras modificaciones químicas o posteriores a la traducción. Debido a que estos cambios pueden afectar a la estabilidad y la actividad, o provocar reacciones inmunológicamente adversas, el análisis de la heterogeneidad de la carga de las preparaciones de anticuerpos monoclonales (MAb) es crítica para los productos biofarmacéuticos.



En el análisis de proteínas, las variaciones de la carga a un pH determinado indican un cambio en la estructura molecular primaria y, como resultado, formas adicionales de la proteína en cuestión. Estas se denominan isoformas (o variantes de carga) y pueden resolverse mediante cromatografía IEX. El intercambio iónico también es útil como técnica preparativa.

En las páginas siguientes se describe la familia de intercambiadores iónicos fuertes y débiles de Agilent, tanto aniónicos como catiónicos.

- **Las columnas Agilent Bio IEX** no porosas están diseñadas para separaciones de alta resolución, alta eficacia y alta recuperación.
- **Las columnas Agilent Bio MAb** están optimizadas para la separación de isoformas de carga de anticuerpos monoclonales.
- **Las columnas Agilent IEX porosas (PL-SAX y PL-SCX)** son químicamente estables y están disponibles con dos tamaños de poro, lo que permite separar péptidos, oligonucleótidos y proteínas muy grandes.
- **Las columnas Bio-Monolith IEX** están especialmente indicadas para la separación de anticuerpos, virus y ADN.

Selección de columnas de intercambio iónico

Accesorios	Columnas Agilent	Notas
Anticuerpos monoclonales	Agilent Bio MAb	Una caracterización completa de anticuerpos monoclonales incluye la identificación y monitorización de isoformas ácidas y básicas. Las columnas para HPLC Agilent Bio MAb cuentan con una resina única diseñada especialmente para separaciones de alta resolución y en función de la carga de anticuerpos monoclonales.
Péptidos y proteínas	Agilent Bio IEX	Las columnas de intercambio iónico Agilent Bio se rellenan con partículas de intercambio iónico poliméricas y no porosas. Las columnas Bio IEX están diseñadas para obtener separaciones de alta resolución, alta recuperación y alta eficacia.
Proteínas, péptidos y oligonucleótidos sintéticos desprotegidos	PL-SAX • 1 000 Å • 4 000 Å	La funcionalidad de intercambio aniónico fuerte, enlazada covalentemente a un polímero poroso químicamente estable, amplía el rango de pH operativo. Asimismo, la capacidad de intercambio aniónico es independiente del pH. Para oligonucleótidos sintéticos, están disponibles las separaciones que utilizan condiciones desnaturalizantes de temperatura, disolventes orgánicos y pH alto. Los medios de 5 µm permiten la separación a una resolución superior, mientras que los medios de 30 µm se utilizan para la cromatografía de líquidos de presión media.
Proteínas y péptidos globulares	PL-SAX 1 000 Å	
Biomoléculas muy grandes/alta velocidad	PL-SAX 4 000 Å	
Pequeños péptidos a grandes proteínas	PL-SCX • 1 000 Å • 4 000 Å	La PL-SCX es una matriz PS/DVB macroporosa con un recubrimiento muy hidrófilo y una fuerte funcionalidad de intercambio catiónico. Se trata de un proceso controlado para proporcionar una densidad óptima para los grupos de intercambio catiónico fuerte durante el análisis, la separación y la purificación de una amplia variedad de biomoléculas. Los medios de 5 µm permiten la separación a una resolución superior con los medios de 30 µm para la cromatografía de líquidos de presión media.
Proteínas globulares	PL-SCX 1 000 Å	
Biomoléculas muy grandes/alta velocidad	PL-SCX 4 000 Å	
Anticuerpos (IgG, IgM), ADN de plásmidos, virus, fagocitos y otras macrobiomoléculas	Bio-Monolith • Bio-Monolith QA • Bio-Monolith DEAE • Bio-Monolith SO_3 • Bio-Monolith Protein A	Fases de intercambio catiónico fuerte, intercambio aniónico fuerte y débil, y proteína A. Las columnas Bio-Monolith HPLC son compatibles con sistemas de LC preparativa, incluidos los sistemas HPLC Agilent 1100 y 1200.
Virus, ADN, proteínas grandes	Bio-Monolith QA	
ADN de plásmidos, bacteriófagos	Bio-Monolith DEAE	
Proteínas, anticuerpos	Bio-Monolith SO_3	

Columnas HPLC Agilent Bio MAb



- Un empaquetamiento compuesto de perlas rígidas y esféricas no porosas de poliestireno/divinilbenzeno (PS/DVB) altamente entrecruzadas.
- Partículas injertadas con una capa polimérica hidrófila que elimina prácticamente las uniones inespecíficas de las proteínas de los anticuerpos.
- Se utiliza un proceso diferente para revestir con la fase de intercambio catiónico débil la partícula, lo que hace que tenga una mayor densidad que las partículas de la columna Agilent Bio WCX.
- Específicamente diseñado para la separación de isoformas cargadas de anticuerpos monoclonales.

Una caracterización minuciosa de anticuerpos monoclonales incluye la identificación y monitorización de isoformas ácidas y básicas. Las columnas Agilent Bio MAb HPLC cuentan con una resina única diseñada especialmente para separaciones de alta resolución y en función de la carga de anticuerpos monoclonales. Compatible con tampones de disolución acuosa, acetonitrilo/acetona/metanol y combinaciones acuosas. Tampones utilizados normalmente: tampón fosfato, tris, MES y acetato.

Las columnas Bio MAb están disponibles en tamaños de 1,7, 3, 5 y 10, y proporcionan mayor resolución con partículas más pequeñas.

Especificaciones de columna

Fase ligada	d.i.	Tamaño de partícula	Estabilidad de pH	Límite de temperatura de funcionamiento	Velocidad de flujo
Intercambio catiónico débil (carboxilato)	2,1 y 4,6 mm	1,7; 3; 5 y 10 µm	2-12	80 °C	0,1-1,0 ml/min

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

La electroforesis capilar es una técnica alternativa a la cromatografía de líquidos para la separación de mezclas de isoformas cargadas. Encontrará más información en la siguiente nota técnica:

Capillary electrophoresis focusing on the Agilent Capillary Electrophoresis system (n.º de publicación 5989-9852EN).

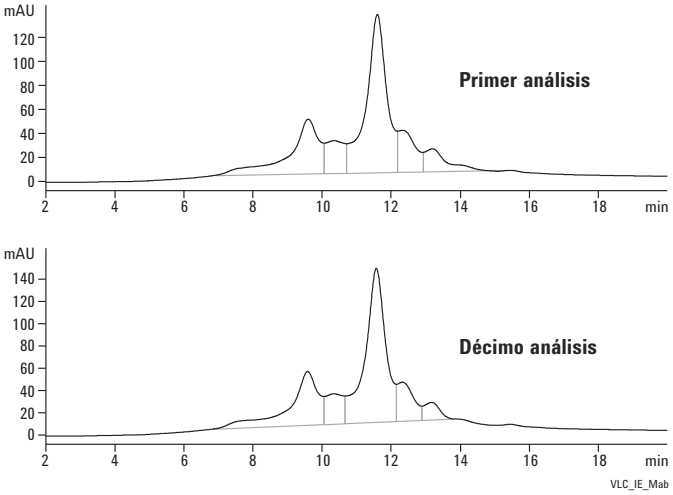
www.agilent.com/chem/library



Separación de MAb por intercambio iónico uniforme

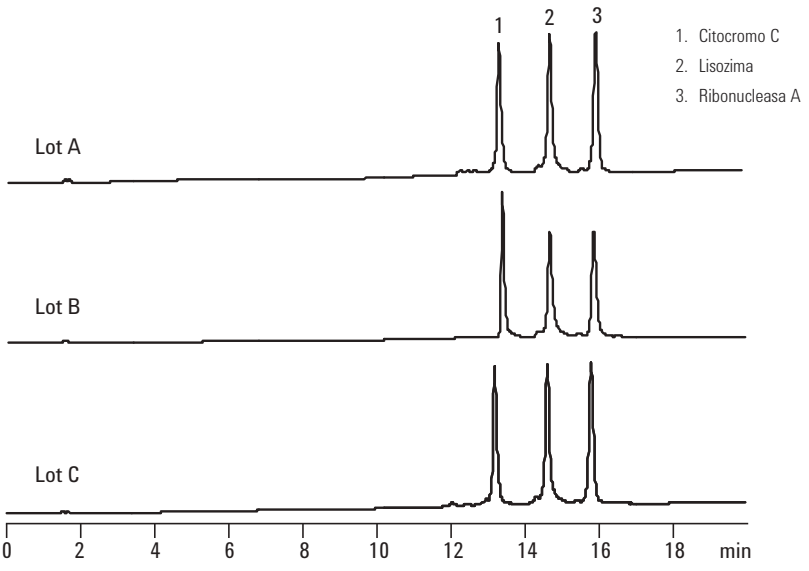
Columna:	**Bio MAb, PEEK 5190-2411 2,1 x 250 mm, 5 µm**
Tampón:	A: Tampón de fosfato sódico, 20 mM B: Tampón A + NaCl 400 mM
Gradiente:	Tampón B al 15-35% desde 0-30 min
Velocidad de flujo:	0,65 ml/min
Muestra:	Anticuerpos monoclonales humanizados anti-CHO, 1 mg/ml
Inyección:	2,5 µl
Detector:	UV, 220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

Para obtener una ruta de flujo libre de metales, hay disponibles columnas Bio MAb PEEK.



Eliminación prácticamente total de las variaciones del tiempo de retención

Columna:	**Bio MAb, acero inoxidable 5190-2413 4,6 x 250 mm, 10 µm**
Fase móvil:	A: Fosfato, 10 mM, pH 6,0 B: A + NaCl, 1,0 M
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Gradiente:	0-100% B en 42 minutos
Temperatura:	25 °C
Detector:	UV, 214 nm



La combinación de la producción de resina controlada correctamente, la composición química de la superficie de la columna y el relleno de la columna eliminan prácticamente en su totalidad las variaciones del tiempo de retención entre columnas y entre lotes.

Análisis de isoformas de carga de anticuerpos monoclonales

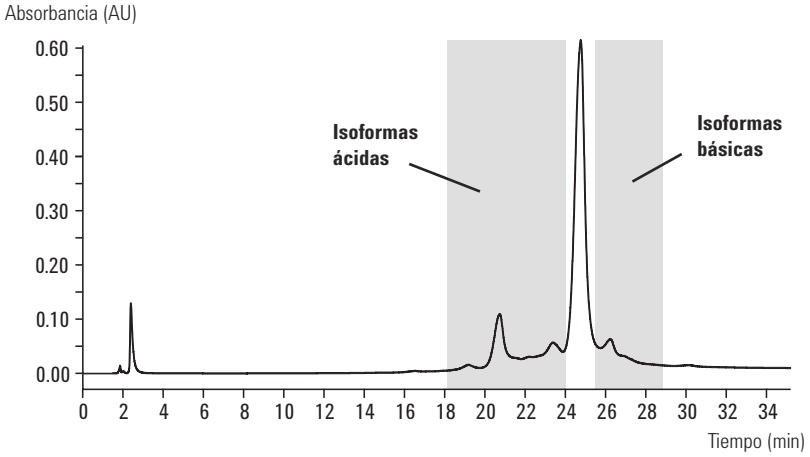
Columna: **Bio MAb, PEEK 5190-2407 4,6 x 250 mm, 5 µm**

Fase móvil: A: Fosfato de sodio 10 mM, pH 7,50
B: A + NaCl 100 mM, pH 7,50

Velocidad de flujo: 0,8 ml/min

Gradiente: 15-95% de B en 60 min

Muestra: 5 µl, 5 mg/ml, MAb



Separación de alta resolución mediante la columna Agilent Bio MAb NP5 de variantes de carga ácida y básica.

Columnas HPLC Agilent Bio MAb

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Bio MAb PEEK	Límite de presión	Bio MAb Acero inoxidable	Límite de presión
4,6 x 250	10	5190-2415	275 bares, 4000 psi	5190-2413	275 bares, 4000 psi
4,6 x 50, Precolumna	10	5190-2416	275 bares, 4000 psi		
4,6 x 250	5	5190-2407	400 bares, 5800 psi	5190-2405	400 bares, 5800 psi
4,6 x 50, Precolumna	5	5190-2408	400 bares, 5800 psi		
4,6 x 50	3			5190-2403	551 bar, 8000 psi
4,6 x 50	1,7			5190-2401	600 bar, 8700 psi
4,0 x 10, Precolumna	10			5190-2414	275 bar, 4000 psi
4,0 x 10, Precolumna	5			5190-2406	413 bar, 6000 psi
4,0 x 10, Precolumna	3			5190-2404	551 bar, 8000 psi
4,0 x 10, Precolumna	1,7			5190-2402	600 bar, 8700 psi
2,1 x 250	10	5190-2419	275 bares, 4000 psi		
2,1 x 50, Precolumna	10	5190-2420	275 bares, 4000 psi		
2,1 x 250	5	5190-2411	400 bares, 5800 psi		
2,1 x 50, Precolumna	5	5190-2412	400 bares, 5800 psi		



Columnas HPLC Agilent Bio IEX

- Partículas rígidas no porosas de poliestireno/divinilbenzeno (PS/DVB) muy entrecruzadas recubiertas con una capa polimérica hidrofílica que elimina las uniones inespecíficas.
- Grupos funcionales de intercambio iónico densamente empaquetados e uniformes unidos químicamente a la capa hidrófila (varios grupos de intercambio iónico por anclaje) para aumentar la capacidad de la column.
- Las partículas, el revestimiento y las uniones son resistentes a altas presiones y facilitan separaciones más rápidas y con mayor resolució.
- Se capturan varios grupos de intercambio iónico en un anclaje para aumentar la capacidad.

Las columnas Agilent Bio IEX HPLC están empaquetadas con partículas poliméricas de intercambio iónico, no porosas. Se han diseñado para lograr una alta resolución, gran recuperación y separaciones muy eficaces de péptidos, oligonucleótidos y proteínas.

La gama Bio IEX ofrece fases de intercambio catiónico fuerte (SCX), intercambio catiónico débil (WCX), intercambio aniónico fuerte (SAX) e intercambio aniónico débil (WAX). Todas las fases están disponibles en los siguientes tamaños de partículas no porosas: 1,7, 3, 5 y 10 µm.

Especificaciones de columna

Fase ligada	d.i.	Tamaño de partícula	Estabilidad de pH	Límite de temperatura de funcionamiento	Velocidad de flujo
SCX (intercambio catiónico fuerte), SO_3H	2,1 y 4,6 mm	1,7; 3; 5 y 10 µm	2-12	80 °C	0,1-1,0 ml/min
WCX (intercambio catiónico débil), COOH					
SAX (intercambio aniónico fuerte), $N(CH_3)_3$					
WAX (intercambio catiónico débil), $N(C_2H_5)_2$					

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Más información a solo un clic. Disponemos de manuales educativos, notas de la aplicación, guías de mantenimiento y publicaciones de Agilent gratuitos.

Para obtener más información, visite **www.agilent.com/chem/library**

Poder de separación excepcional

Columna: **Agilent Bio SCX, acero inoxidable**
5190-2423
4,6 x 50 mm, 3 µm

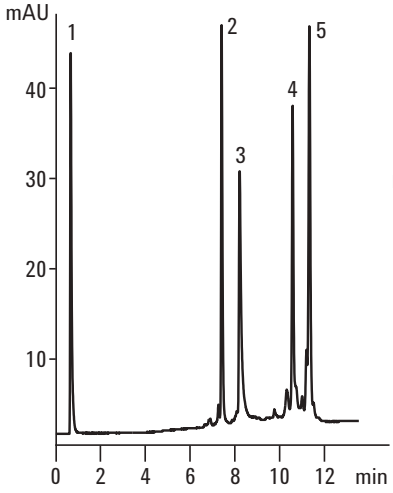
Tampón: Fosfato, 10 mM, pH 6,0

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

Gradiente: NaCl, 0-1,0 M, 15 min

Detector: 280 nm

La capa polimérica hidrófila y los grupos funcionales de intercambio iónico densamente empaquetados proporcionan formas de picos de una extraordinaria nitidez y una resolución alta para una mezcla de proteínas con un amplio intervalo de puntos isoeléctricos (pI).



1. Ovoalbúmina, 4,6 pI
2. Ribonucleasa A, 8,7 pI
3. Citocromo C, 9,6 pI
4. Aprotinina, 10,0 pI
5. Lisozima, 11,0 pI

N > 100.000/50 mm para lisozima

Separación de patrones de proteínas en columnas de intercambio iónico de 3 µm Agilent mediante cromatografía de intercambio catiónico

Columna A: **Agilent Bio SCX, NP 3, 4,6 x 50 mm, SS**

Columna B: **Agilent Bio WCX, NP 3, 4,6 x 50 mm, SS**

Columna C: **Agilent Bio MAb, NP 3, 4,6 x 50 mm, SS**

Fase móvil: A: $NaH_2PO4.2H_2O$ 10 mM, pH 5,70
B: A + NaCl 1 M

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

Gradiente: 0 min - 100% de A : 0% de B
25 min - 0% de A : 100% de B

Temperatura: Ambiente

Detector: Sistema LC cuaternario Agilent 1260 Infinity Bio-inert con detector de diodos a 220 nm

Muestra: Mezcla de citocromo C, ribonucleasa A, lisozima y proteína

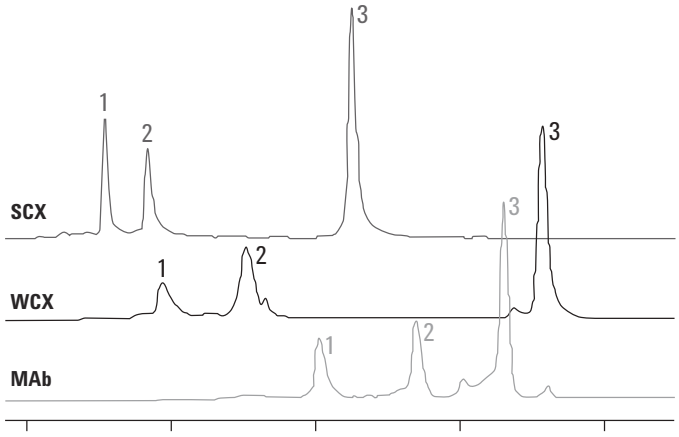


Ilustración donde se muestra cómo las columnas Bio WCX, SCX y MAb son capaces de producir separaciones de proteínas

Columna Agilent	Número pico	Nombre pico	TR [min]	Altura [mAU]	Área [mAU*s]	Placas	Ancho [min]	Resolución
Bio WCX NP, 3 µm	1	Citocromo C	7.86	124	1833	7844	0.2089	-
	2	ARNasa A	9.03	241	3358	10800	0.2044	3.32
	3	Lisozima	13.13	636	7274	44488	0.1466	13.73
Bio SCX NP, 3 µm	1	ARNasa A	7.06	396	2616	39847	0.0832	-
	2	Citocromo C	7.66	297	2778	28920	0.1060	1.08
	3	Lisozima	10.49	763	7186	44828	0.1167	1.37
Bio MAb NP, 3 µm	1	Citocromo C	10.04	203	2369	21814	0.1600	-
	2	ARNasa A	11.37	256	2690	33314	0.1467	3.11
	3	Lisozima	12.59	652	6616	56734	0.1244	5.28

Cromatografía de intercambio catiónico débil para muestras de proteína terapéutica P128 en el sistema LC cuaternario Agilent 1260 Bio-Inert con diferentes columnas de intercambio catiónico

Columna A: **Bio MAb, PEEK**
5190-2407
4,6 x 250 mm, 5 µm

Columna B: **Bio MAb, PEEK**
5190-2415
4,6 x 250 mm, 10 µm

Columna C: **Brand B WCX-10**
4,0 x 250 mm, 10 µm

Fase móvil: A: Fosfato sódico 20 mM (pH = 6,0)
B: Fosfato sódico 20 mM (pH = 6,0) con cloruro sódico 1,0 M

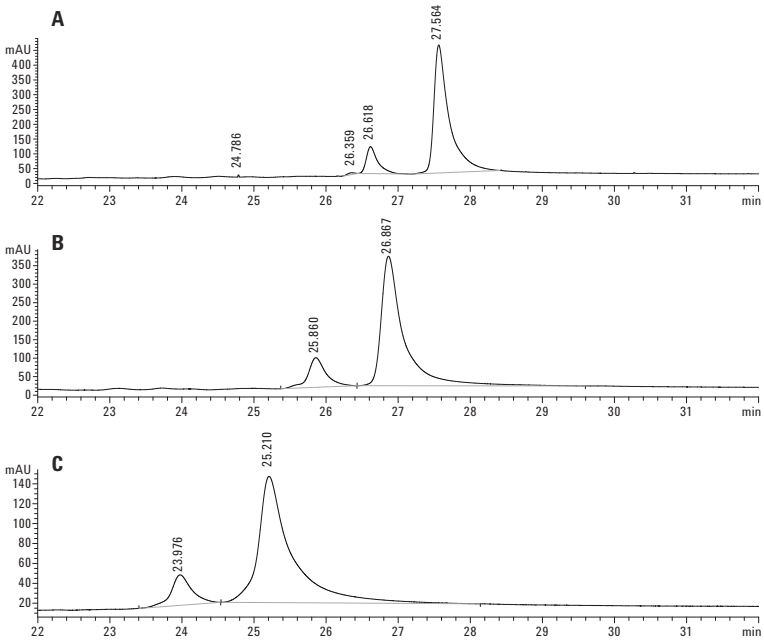
Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

Gradiente: B al 10% en 0 min, B al 35% en 35 min, B al 10% en 36 min, B al 10% en 45 min

Detector: UV, 220 nm/4 nm, Referencia: desactivada (datos adquiridos también a 220, 230, 240 y 280 nm)

Muestra: P128

La muestra se desaló mediante ultrafiltración y se extrajo en fosfato sódico 20 mM.



Columnas HPLC Agilent Bio IEX, PEEK

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Límite de presión	Bio SCX Referencia	Bio WCX Referencia	Bio SAX Referencia	Bio WAX Referencia
4,6 x 250	10	275 bares, 4000 psi	5190-2435	5190-2455	5190-2475	5190-2495
4,6 x 50, Precolumna	10	275 bares, 4000 psi	5190-2436	5190-2456	5190-2476	5190-2496
4,6 x 250	5	400 bares, 5800 psi	5190-2427	5190-2447	5190-2467	5190-2487
4,6 x 50, Precolumna	5	400 bares, 5800 psi	5190-2428	5190-2448	5190-2468	5190-2488
2,1 x 250	10	275 bares, 4000 psi	5190-2439	5190-2459	5190-2479	5190-2499
2,1 x 50, Precolumna	10	275 bares, 4000 psi	5190-2440	5190-2460	5190-2480	5190-2500
2,1 x 250	5	400 bares, 5800 psi	5190-2431	5190-2451	5190-2471	5190-2491
2,1 x 50, Precolumna	5	400 bares, 5800 psi	5190-2432	5190-2452	5190-2472	5190-2492

Columnas HPLC Agilent Bio IEX, acero inoxidable

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Límite de presión	Bio SCX Referencia	Bio WCX Referencia	Bio SAX Referencia	Bio WAX Referencia
4,6 x 250	10	275 bares, 4000 psi	5190-2433	5190-2453	5190-2473	5190-2493
4,6 x 250	5	413 bares, 6000 psi	5190-2425	5190-2445	5190-2465	5190-2485
4,6 x 50	3	551 bares, 8000 psi	5190-2423	5190-2443	5190-2463	5190-2483
4,6 x 50	1,7	600 bares, 8700 psi	5190-2421	5190-2441	5190-2461	5190-2481
4,0 x 10, Precolumna	10	275 bares, 4000 psi	5190-2434	5190-2454	5190-2474	5190-2494
4,0 x 10, Precolumna	5	413 bares, 6000 psi	5190-2426	5190-2446	5190-2466	5190-2486
4,0 x 10, Precolumna	3	551 bares, 8000 psi	5190-2424	5190-2444	5190-2464	5190-2484
4,0 x 10, Precolumna	1,7	275 bares, 4000 psi	5190-2422	5190-2442	5190-2462	5190-2482



Columnas de intercambio aniónico fuerte PL-SAX

- Las partículas pequeñas ofrecen un rendimiento cromatográfico excelente
- Amplia gama de tamaños de partícula para obtener un análisis flexible para una purificación de escala
- Estabilidad excepcional para prolongar la vida útil de las columnas

La PL-SAX -$N(CH_3)_3$+ es ideal para las separaciones HPLC de intercambio de aniónico de proteínas y oligonucleótidos sintéticos desprotegidos en condiciones de desnaturalización. La funcionalidad de intercambio aniónico fuerte, enlazada covalentemente a un polímero químicamente estable, amplía el rango de funcionamiento del pH. Asimismo, la capacidad de intercambio aniónico es independiente del pH. Para oligonucleótidos sintéticos, están disponibles las separaciones que utilizan condiciones desnaturalizantes de temperatura, disolventes orgánicos y pH alto. La PL-SAX ofrece una cromatografía mejorada para secuencias auto-complementarias o con alto contenido en G que puedan asociarse para formar agregados o estructuras en horquilla. El material de 5 µm proporciona separaciones de gran eficacia de las secuencias n y n-1. La amplia gama de tamaños de partícula y geometrías de columna posibilitan la purificación del análisis y el escalado. La fuerte funcionalidad de intercambio aniónico ofrece un material con una excepcional estabilidad química y térmica, incluso con eluyentes de hidróxido de sodio, produciendo vidas útiles de columna prolongadas.

Especificaciones de columna

Fase ligada	Diámetro interno (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Tamaño de poro	Estabilidad de pH	Límite de temperatura de funcionamiento
Intercambio aniónico fuerte	2,1; 4,6; 7,5; 25; 50 y 100	5, 8, 10 y 30	1.000 Å y 4.000 Å	1-14	80 °C

Separación de proteínas por intercambio iónico estándar

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

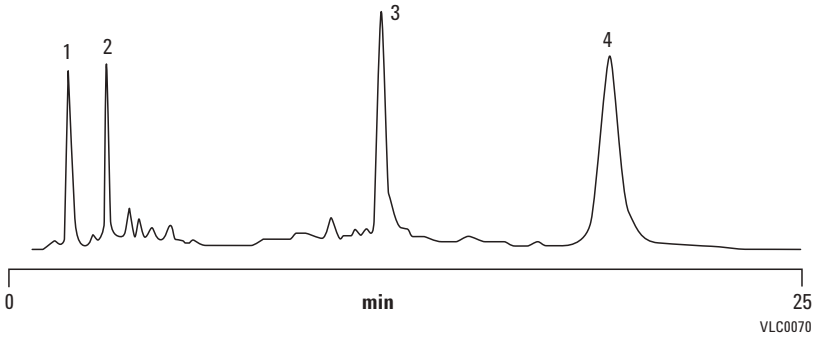
Fase móvil: A: Tris HCl, 10 mM, pH 8
B: A + NaCl, 0,35 M, pH 8

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



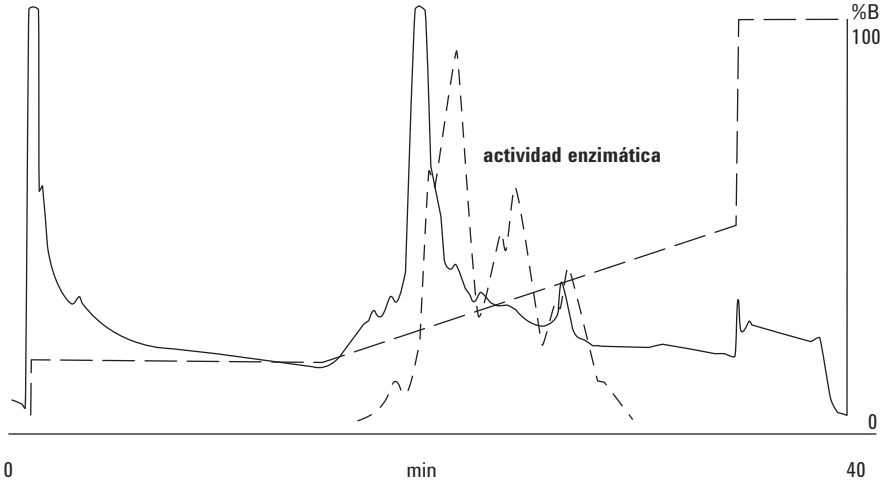
Análisis de colina-cinasa en PL-SAX de 4 000 Å

Columna: **PL-SAX**
PL1551-1803
4,6 x 50 mm, 8 µm

Fase móvil: A: Tris etilenglicol al 5% 20 mM, pH 7,5 (se necesita lo siguiente para retener la actividad enzimática)
Ácido etilenglicol tetraacético 1,0 mM
ß-mercaptoetanol 2,0 mM
Fluoruro de fenilmetilsulfonilo 0,2 mM
B: A + KCl 1 M

Velocidad de flujo: 3,0 ml/min

Detector: UV, 280 nm



Separación cortesía de T. Porter, Purdue University, EE. UU.

Análisis de proteínas de suero representativas

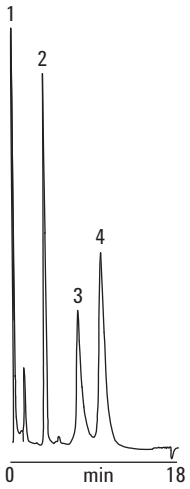
Columna: **PL-SAX 1000 Å**
PL1551-1802
4,6 x 50 mm, 8 µm

Fase móvil: A: Tris HCl 0,02 M, pH 7
B: A + CH_3COONa 0,5 M, pH 7

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Gradiente: Lineal 0-50% de B en 10 min

Detector: UV, 280 nm



1. Anhidrasa carbónica
2. α-lactoalbúmina
3. β-lactoglobulina B
4. β-lactoglobulina A

Separación de alta resolución de oligonucleótido poli-T de tamaño estándar marcado con 10 mer, 15 mer, 30 mer y 50 mer (picos principales)

Columna: **PL-SAX 1000 Å**
PL1551-1802
4,6 x 50 mm, 8 µm

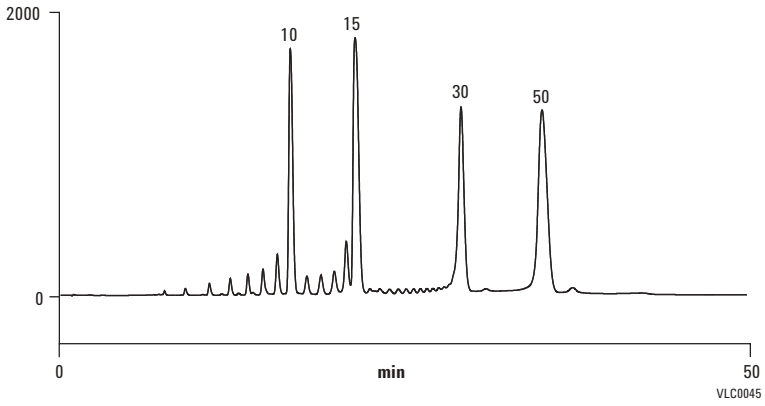
Fase móvil: A: 7:93 v/v ACN: 0,1 M TEAA, pH 8,5
B: 7:93 v/v ACN: 0,1 M TEAA, 1 M cloruro amónico, pH 8,5

Gradiente: 0 - 40% B en 10 min, seguido de 40 - 70% B en 14 min y 70 - 100% B en 25 min

Velocidad de flujo: 1,5 ml/min

Temperatura: 60 °C

Detector: UV, 220 nm

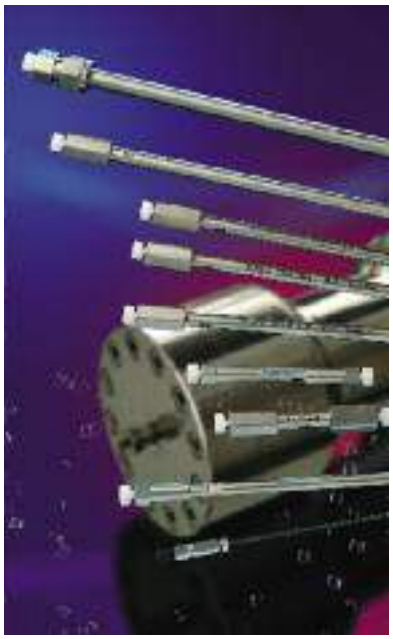


Columnas de intercambio aniónico fuerte PL-SAX

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Límite de presión	PL-SAX 1000Å	PL-SAX 4000Å
1,0 x 50	5	207 bares, 3000 psi	PL1351-1502	PL1351-1503
2,1 x 50	5	207 bares, 3000 psi	PL1951-1502	PL1951-1503
4,6 x 50	5	207 bares, 3000 psi	PL1551-1502	PL1551-1503
2,1 x 50	8	207 bares, 3000 psi	PL1951-1802	PL1951-1803
2,1 x 150	8	207 bares, 3000 psi	PL1951-3802	PL1951-3803
4,6 x 50	8	207 bares, 3000 psi	PL1551-1802	PL1551-1803
4,6 x 150	8	207 bares, 3000 psi	PL1551-3802	PL1551-3803
4,6 x 250	10	207 bares, 3000 psi	PL1551-5102	PL1551-5103
4,6 x 150	10	207 bares, 3000 psi	PL1551-3102	PL1551-3103
25 x 50	10	207 bares, 3000 psi	PL1251-1102	PL1251-1103
25 x 150	10	207 bares, 3000 psi	PL1251-3102	PL1251-3103
50 x 150	10	207 bares, 3000 psi	PL1751-3102	PL1751-3103
100 x 300	10	207 bares, 3000 psi	PL1851-2102	PL1851-2103
4,6 x 250	30	207 bares, 3000 psi	PL1551-5702	PL1551-5703
4,6 x 150	30	207 bares, 3000 psi	PL1551-3702	PL1551-3703
25 x 150	30	207 bares, 3000 psi	PL1251-3702	PL1251-3703
50 x 150	30	207 bares, 3000 psi	PL1751-3702	PL1751-3703
100 x 300	30	207 bares, 3000 psi	PL1851-3102	PL1851-3103

Medios a granel para intercambio iónico fuerte PL-SAX

Tamaño (cc)	Tamaño de partícula (µm)	PL-SAX 1000Å	PL-SAX 4000Å
100 g	10	PL1451-4102	PL1451-4103
1 kg	10	PL1451-6102	PL1451-6103
100 g	30	PL1451-4702	PL1451-4703
1 kg	30	PL1451-6702	PL1451-6703



Columnas de intercambio catiónico fuerte PL-SCX

- Diseño optimizado para la separación eficaz de biomoléculas
- Tamaños de poro adecuados para una amplia variedad de tamaños de solutos
- Estabilidad excepcional para prolongar la vida útil de las columnas

La PL-SCX -SO_3- es una matriz PS/DVB macroporosa con un recubrimiento muy hidrofílico y una fuerte funcionalidad de intercambio catiónico. Se trata de un proceso controlado para proporcionar una densidad óptima para los grupos de intercambio catiónico fuerte durante el análisis, la separación y la purificación de una amplia variedad de biomoléculas, entre las que se incluyen los péptidos de tamaño reducido y las proteínas de gran tamaño. Hay dos tamaños de poro disponibles (1000 Å y 4000 Å) para proporcionar unas características de transferencia de masa óptimas para una amplia variedad de tamaño de solutos. Los medios de 5 µm permiten la separación a una resolución superior con los medios de 30 µm para la cromatografía de líquidos de presión media.

Especificaciones de columna

Fase ligada	Diámetro interno (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Tamaño de poro	Estabilidad de pH	Límite de temperatura de funcionamiento
Intercambio catiónico fuerte	2,1; 4,6; 7,5; 25; 50 y 100	5, 8, 10 y 30	1.000 Å y 4.000 Å	1-14	80 °C

Separación proteica estándar

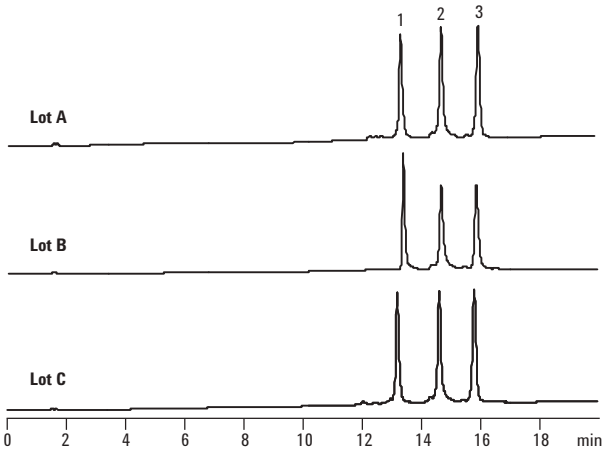
Columna: **PL-SCX 1000 Å**
PL1545-1502
4,6 x 50 mm, 5 µm

Fase móvil: A: 20 mM de KH_2PO_4, pH 6,0
B: A + 1 M NaCl

Gradiente: 0 - 100% B en 20 min.

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: UV, 280 nm



1. Mioglobina
2. Quimotripsinógeno A
3. Citocromo C
4. Lisozima

Columnas de intercambio catiónico fuerte PL-SCX

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Límite de presión	PL-SCX 1000 Å	PL-SCX 4000 Å
1,0 x 50	5	207 bares, 3000 psi	PL1345-1502	PL1345-1503
2,1 x 50	5	207 bares, 3000 psi	PL1945-1502	PL1945-1503
4,6 x 50	5	207 bares, 3000 psi	PL1545-1502	PL1545-1503
2,1 x 50	8	207 bares, 3000 psi	PL1945-1802	PL1945-1803
2,1 x 150	8	207 bares, 3000 psi	PL1945-3802	PL1945-3803
4,6 x 50	8	207 bares, 3000 psi	PL1545-1802	PL1545-1803
4,6 x 150	8	207 bares, 3000 psi	PL1545-3802	PL1545-3803
4,6 x 150	10	207 bares, 3000 psi	PL1545-3102	PL1545-3103
4,6 x 250	10	207 bares, 3000 psi	PL1545-5102	PL1545-5103
25 x 50	10	207 bares, 3000 psi	PL1245-1102	PL1245-1103
25 x 150	10	207 bares, 3000 psi	PL1245-3102	PL1245-3103
50 x 150	10	207 bares, 3000 psi	PL1745-3102	PL1745-3103
100 x 300	10	207 bares, 3000 psi	PL1845-2102	PL1845-2103
4,6 x 150	30	207 bares, 3000 psi	PL1545-3702	PL1545-3703
4,6 x 250	30	207 bares, 3000 psi	PL1545-5703	PL1545-5703
25 x 150	30	207 bares, 3000 psi	PL1245-3702	PL1245-3703
50 x 150	30	207 bares, 3000 psi	PL1745-3703	PL1745-3703
100 x 300	30	207 bares, 3000 psi	PL1845-3102	PL1845-3103

Medios a granel para intercambio catiónico fuerte PL-SCX

Tamaño (cc)	Tamaño de partícula (µm)	PL-SCX 1000 Å	PL-SCX 4000 Å
100 g	10	PL1445-4102	PL1445-4102
1 kg	10	PL1445-6102	PL1445-6103
100 g	30	PL1445-4702	PL1445-4703
1 kg	30	PL1445-6702	PL1445-6703



Columna HPLC de intercambio iónico Bio-Monolith

Columnas HPLC de intercambio iónico Agilent Bio-Monolith

- Columnas de HPLC monolíticas, basadas en polímeros, diseñadas para separaciones de macrobiomoléculas
- Separaciones independientes del flujo; la ausencia de difusión, poros y volúmenes muertos hacen muy rápido el transporte entre las fases móvil y estacionaria
- Disco monolítico de 5,2 mm x 4,95 mm (volumen de columna de 100 µl) con canales continuos, lo que elimina la transferencia de masa por difusión
- Separaciones tremendamente rápidas que agilizan el tiempo de desarrollo de métodos y reducen los costes. La fijación de los parámetros del método requiere mucho menos tiempo y tampón

Las columnas HPLC de intercambio iónico Agilent Bio-Monolith proporcionan una gran resolución y una rápida separación de anticuerpos (IgG, IgM), plásmidos de ADN, virus, bacteriófagos y otras biomoléculas. Esta gama de productos ofrece fases de intercambio catiónico fuerte, intercambio aniónico fuerte y débil y proteína A. Las columnas HPLC Bio-Monolith son compatibles con sistemas de HPLC y LC preparativa, incluidos los sistemas HPLC Agilent 1100 y 1200.

Guía de selección de columnas HPLC Agilent Bio-Monolith

Columna	Descripción	Aplicaciones clave	Referencia
Bio-Monolith QA	La fase ligada de amina cuaternaria (intercambio aniónico fuerte) está totalmente cargada en un rango de pH de funcionamiento de 2-13, y se une a las biomoléculas cargadas negativamente.	• Control de calidad y supervisión del proceso de adenovirus • Control de calidad y supervisión de la purificación de IgM • Supervisión de la eliminación de impurezas en ADN • Supervisión de la eliminación de endotoxinas • Purificación de HSA	5069-3635
Bio-Monolith DEAE	La fase ligada de dietilaminoetilo (intercambio aniónico débil) proporciona una mayor selectividad de biomoléculas con una carga negativa en un rango de pH de funcionamiento de 3-9.	• Supervisión y control de calidad del proceso de fabricación y purificación de bacteriófagos • Supervisión y control de calidad del proceso de purificación de ADN plásmido	5069-3636
Bio-Monolith SO_3	La fase ligada de sulfonil (intercambio catiónico fuerte) está totalmente cargada en un rango de pH de funcionamiento de 2-13, y une biomoléculas cargadas positivamente.	• Separaciones analíticas de resolución rápida y alta de moléculas grandes, como proteínas y anticuerpos • Análisis rápido de hemoglobina A1c	5069-3637

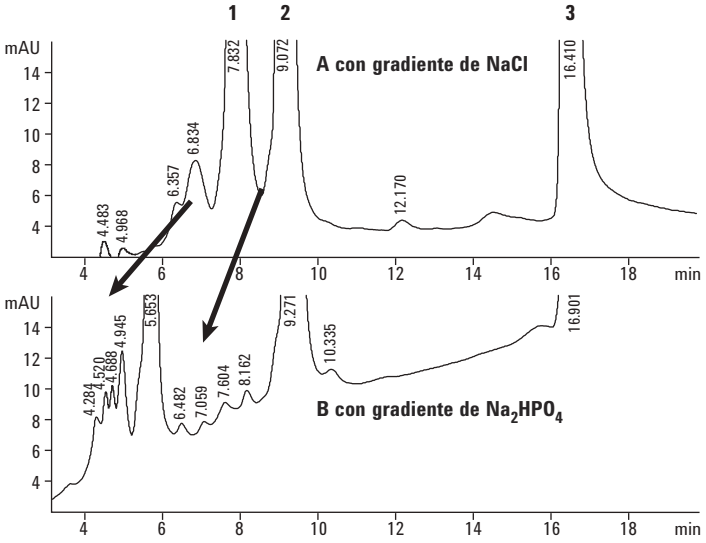
RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Agilent ofrece además una columna de Proteina A Bio-Monolith para procedimientos de cromatografía por afinidad.
Para obtener más información, consulte las páginas 434-436.

Especificaciones de columnas	
Dimensiones	5,2 mm x 4,95 mm
Volumen de columna	100 µl
Presión máxima	150 bares (15 MPa, 2.200 psi)
Valor mínimo/máximo de temperatura	Trabajo: 4-40 °C
	Almacenamiento: 4-30 °C
pH recomendado	Rango operativo: 2-13
	Limpieza in situ: 1-14
Materiales de construcción	Carcasa: acero inoxidable
	Relleno: poli(glicidil metacrilato-co-etileno dimetacrilato) monolítico muy poroso
Identificador del anillo de color	Bio-Monolith QA: azul
	Bio-Monolith DEAE: verde
	Bio-Monolith SO_3: rojo
Fecha de caducidad	SO_3, Control de calidad, DEAE: 24-36 meses

Expansión de la línea base de una separación de patrones de proteínas

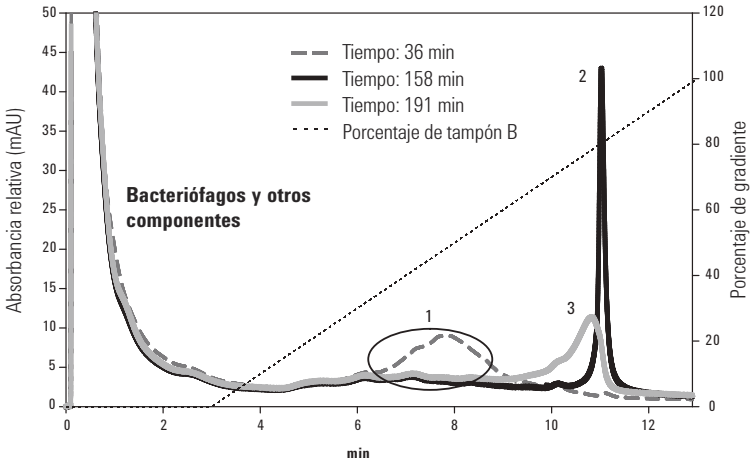
Columna:	**Agilent Bio-Monolith CM15 5,5 x 15 mm**
Fase móvil:	A: Na_2HPO_4 10 mM, pH 6,0 B: A + NaCl 0,5 M o solo Na_2HPO_4 0,5 M, pH 6,0
Velocidad de flujo:	2 ml/min
Gradiente:	Retención durante 0,5 min con fase móvil A seguida de un gradiente lineal hasta 45% de B en 15 min (tiempo transcurrido, 15,5 min); a continuación, el 60% de B a los 15,6 min continúa hasta 20 min. Lavado de columna con 100% de B durante 15 min antes del reequilibrado para el siguiente análisis. Gradiente de pH: A: Na_2HPO_4 5 mM, tamponada pH 5,5 y B: NA_2HPO_4 40 mM (no tamponada, pH 8,9). 2% de B/min a 1 ml/min durante 15 min, seguido de un lavado de columna con 90% de B durante 5 min.
Detector:	UV a 220 nm
Muestra:	Un mg por cada ml en la fase móvil A. 1. ARNasa de páncreas bovino (pI 9,6) 2. Citocromo C de corazón bovino (pI 10,37-10,8) 3. Lisozima de huevo de gallina (pI 11,35) (0,5 mg)
Instrumento:	Agilent 1200 SL con detector de diodos



B muestra una resolución mejor de los contaminantes de proteínas.

La columna Bio-Monolith DEAE monitoriza la producción de fagos durante la fermentación

Columna:	**DEAE** **5069-3636** **5,2 x 4,95 mm**
Fase móvil:	A: tampón fosfato de 125 mM, pH 7,0 B: tampón fosfato de 125 mM + 1 M NaCl, pH 7,0
Velocidad de flujo:	1 ml/min
Gradiente:	Tampón A 100% (2,5 min) Tampón B 0-100% (10 min) Tampón A 100% (2 min)
Detector:	UV a 280 nm
Instrumento:	Sistema HPLC con gradiente a alta presión, LC Agilent 1200 Infinity



A medida que avanza la proliferación de fagos, la concentración de ADN genómico (ADNg) aumenta y las células huésped se someten al proceso de lisis. Durante las últimas fases de la fermentación, el ADNg empieza a desintegrarse en fragmentos. Estos fragmentos de ADNg no se eliminan fácilmente mediante el proceso de purificación, por lo que es de vital importancia detener el ciclo de fermentación antes de que se degrade el ADN genómico. El cromatograma anterior refleja tres muestras tomadas del biorreactor en los minutos 36, 158 y 191. El pico 1 representa el fago, el soporte y las células huésped; el pico 2 representa el ADNg intacto, y el pico 3, el ADNg fragmentado.





Cromatografía de exclusión por tamaño (SEC)

Determinación precisa de la agregación, fragmentación y ligadura/modificación química de biomoléculas

La cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) es una técnica para separar proteínas, oligonucleótidos y otros biopolímeros complejos por su tamaño mediante eluyentes acuosos.

Aplicación de SEC a estudios de agregación

El tamaño, tipo y contenido de los agregados presentes en los productos biofarmacéuticos de proteínas pueden afectar tanto a la eficacia como a la formulación, o peor aún, inducir una respuesta inmunológica. La formación de agregados se produce por distintos mecanismos, incluida la formación de enlaces disulfuro e interacciones no covalentes.

Debido a que el tamaño de los agregados de proteínas, incluidos los dímeros, es suficientemente diferente del monómero de proteína, puede separar las distintas formas mediante SEC. De hecho, SEC con UV o dispersión de luz es una técnica estándar para la cuantificación de la agregación de proteínas.

Aplicación de SEC a la cuantificación y determinación del peso molecular

En el caso de proteínas y otras moléculas de peso molecular moderado se puede usar SEC para detectar y cuantificar monómeros, dímeros, agregados y fragmentos. SEC también puede separar mezclas de oligonucleótidos.

Para biopolímeros de diferentes tamaños, como almidones y otros polisacáridos, SEC puede proporcionar datos sobre la distribución del peso molecular y las ramificaciones (con los detectores apropiados).

Como fabricante líder de columnas e instrumentos de SEC durante más de 30 años, Agilent desarrolla continuamente nuevos productos de SEC que proporcionan separaciones aún más rápidas y de mayor resolución. Esta sección destaca la amplia gama de columnas SEC de Agilent para el análisis de biopolímeros de proteínas:

- **Las columnas Bio SEC-3 y Bio SEC-5** están disponibles en diferentes tamaños de poro y están indicadas para el análisis de proteínas, especialmente para determinar la presencia de dímeros y agregados en productos biológicos terapéuticos. Tenga en cuenta que las columnas Bio SEC-3 de 3 µm proporcionan una resolución mayor que nuestras columnas estándar Bio SEC-5 de 5 µm.
- **Las columnas ProSec 300S** funcionan bien con proteínas globulares en condiciones de alta salinidad.
- **Las columnas ZORBAX GF-250 y GF-450** son más adecuadas para la SEC preparativa de proteínas debido a su mayor longitud de columna y mayor velocidad de flujo.
- **Las columnas PL aquagel-OH** se pueden usar para analizar biopolímeros de diversos pesos moleculares, como PEG, oligo y polisacáridos, almidones y resinas.

Cromatografía de exclusión por tamaño (SEC)

Accesorios	Columnas Agilent	Notas
Péptidos, proteínas	Agilent Bio SEC-3	Mayor resolución y separaciones más rápidas, con partículas a partir de 3 µm y tamaños de poro de 100 Å, 150 Å y 300 Å.
Biomoléculas grandes y muestras con componentes con varios pesos moleculares	Agilent Bio SEC-5	Más opciones de tamaño de poro (100 Å, 150 Å, 300 Å, 500 Å, 1 000 Å y 2 000 Å) para cubrir un mayor rango de analitos.
Proteínas globulares, anticuerpos	ProSEC 300S	Opción de una sola columna para análisis de proteínas en condiciones de alta salinidad.
Proteínas, proteínas globulares	ZORBAX GF-250/450	Mayor capacidad de velocidad de flujo y mayor tamaño de columna para preparación y semipreparación de SEC.
Polímeros y oligómeros de bajo PM, oligosacáridos, PEG, lignosulfonatos	2 o 3 PL aquagel-OH • PL aquagel-OH; 8 µm • PL aquagel-OH 20; 5 µm • PL aquagel-OH MIXED-M; 8 µm	La serie analítica PL aquagel-OH tiene un rango de pH de 2 a 10, es compatible con disolventes orgánicos (hasta un 50% de metanol), dispone de estabilidad mecánica de hasta 140 bares (2 030 psi) y de presiones bajas de funcionamiento de columnas.
Biopolímeros polidispersos, polisacáridos, derivados de la celulosa	2 o 3 PL aquagel-OH • PL aquagel-OH MIXED-H; 8 µm • PL aquagel-OH 60/50/40; 8 µm	
Polímeros con peso molecular muy alto, ácidos hialurónicos, almidones, resinas	PL aquagel-OH 60/50/40; 15 µm; en serie	



Agilent Bio SEC-3

- Excepcional capacidad de carga, estabilidad y reproducibilidad en separaciones de biomoléculas por tamaño
- Picos más marcados, mayor resolución y mejor recuperación de proteínas
- Separaciones más rápidas que con las columnas SEC de partículas grandes
- Compatibilidad con la mayoría de los tampones acuosos
- Magnífica estabilidad en condiciones con alto o bajo contenido en sal

Las columnas HPLC Agilent Bio SEC-3 cuentan con la más moderna tecnología para la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Están empaquetadas con partículas esféricas de sílice de 3 µm con una estrecha distribución y recubiertas de una capa hidrofílica patentada. Esta fina capa polimérica se une químicamente a la sílice puro mecánicamente estable en condiciones controladas, lo que garantiza una partícula de exclusión por tamaño muy eficaz.

Las columnas HPLC Agilent Bio SEC-3 están disponibles con tamaños de poro de 100Å, 150Å y 300Å para acomodarse a la mayoría de las separaciones por exclusión de tamaños de proteínas y péptidos.

Especificaciones de columna

Tamaño de poro	Tamaño de partícula	Rango de PM	Intervalo de pH	Presión máxima	Velocidad de flujo
100 Å	3 µm	100-100 000	2-8,5	240 bares, 3 500 psi	0,1-1,25 ml/min (7,8 mm d.i.)
					0,1-0,4 ml/min (4,6 mm d.i.)
150 Å	3 µm	500-150 000	2-8,5	240 bares, 3 500 psi	0,1-1,25 ml/min (7,8 mm d.i.)
					0,1-0,4 ml/min (4,6 mm d.i.)
300 Å	3 µm	5 000-1 250 000	2-8,5	240 bares, 3 500 psi	0,1-1,25 ml/min (7,8 mm d.i.)
					0,1-0,4 ml/min (4,6 mm d.i.)

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Los viales desactivados o silanizados poseen superficies inertes que no interactuarán con metales, compuestos biológicos o proteínas, y no provocarán cambios de pH. Evite los viales de polipropileno convencionales para compuestos biológicos o sensibles a la luz.

Curvas de calibración - Bio SEC-3

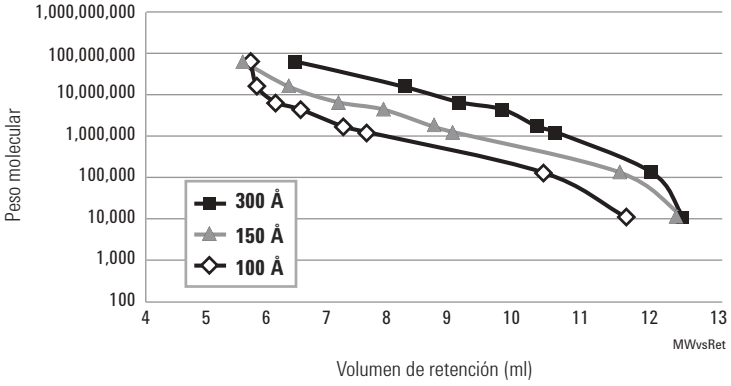
Columna: **Bio SEC-3**
7,8 x 300 mm, 3 µm

Fase móvil: Tampón de sodio, 150 mM, pH 7,0

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: UV

Proteínas	PMt	300 Å	150 Å	100 Å
Tiroglobulina	670000	6.34	5.50	5.63
Gammaglobulina	158000	8.03	6.24	5.74
Seroalbúmina bovina	67000	8.90	7.00	6.03
Ovoalbúmina	45000	9.57	7.70	6.41
Mioglobina	17000	10.12	8.50	7.10
Ribonucleasa A	12700	10.40	8.80	7.46
Vitamina B12	1350	11.90	11.40	10.20



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

Isocrática: Tampón A al 0-100% desde 0-30 min

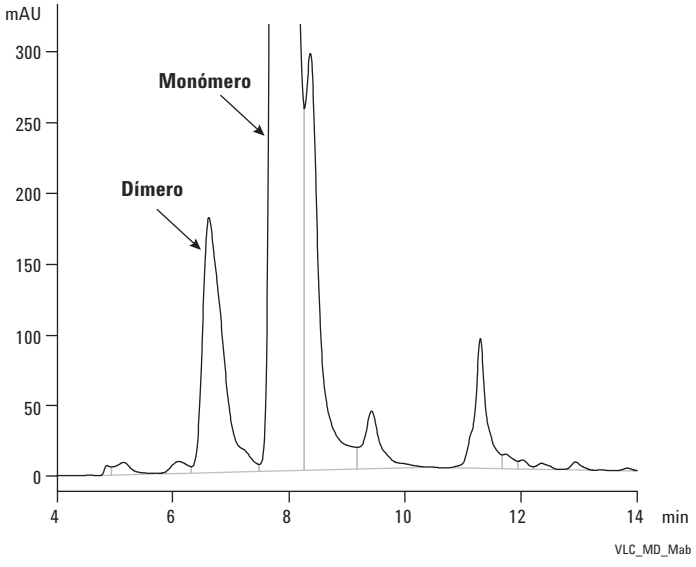
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Muestra: Anticuerpo monoclonal de CHO humanizado, 5 mg/ml, intacto

Inyección: 5 µl

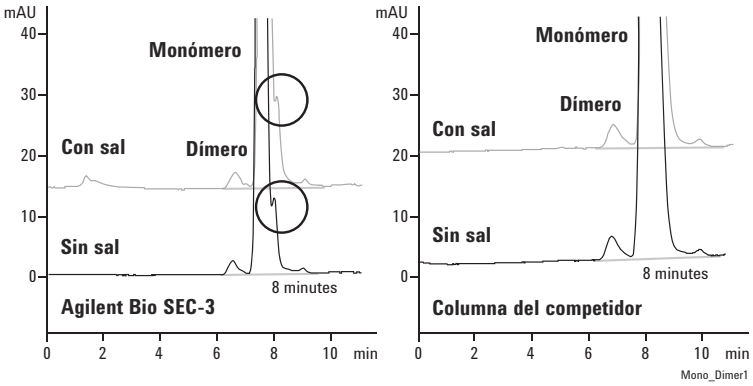
Detector: UV, 220 nm

Temperatura: Ambiente



Comparación de Agilent Bio SEC-3 con una columna de otro fabricante en el análisis de un anticuerpo monoclonal

Columna:	**Bio SEC-3, 300Å 5190-2511 7,8 x 300 mm, 3 µm**
Columna:	Competidor 7,8 x 300 mm
Fase móvil:	Fosfato sódico 150 mM + sulfato sódico 100 mM (con sal) Fosfato sódico 150 mM (sin sal)
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Detector:	220 nm
Muestra:	MAb (2 mg/ml)



Análisis de monómeros y dímeros de anticuerpos monoclonales mediante Agilent Bio SEC-3 y una columna de otros fabricantes

Eluyente	Columna	Relación resolución monómero: dímero	Eficacia monómero	Porcentaje dímero
Con sal	Agilent	2,04	7.518	0,59
Con sal	Otros fabricantes	1,88	3.967	0,59
Sin sal	Agilent	2,08	7.942	0,60
Sin sal	Otros fabricantes	1,92	4.164	0,57

Selección de tamaño de poro

La selección del tamaño de poro del medio influirá en la resolución de la SEC. Puesto que la separación se basa en las diferencias de tamaño molecular en disolución, la muestra debe ser capaz de penetrar la estructura porosa de las partículas. Si los poros son demasiado pequeños, excluirán las muestras, que se eluirán en el volumen muerto de la columna; si son demasiado grandes, todas las partículas penetrarán y se producirá muy poca separación.

Selección de tamaño de poro: proteínas

Columna A: **Bio SEC-3, 100Å**
5190-2503
4,6 x 300 mm, 3 µm

Columna B: **Bio SEC-3, 150Å**
5190-2508
4,6 x 300 mm, 3 µm

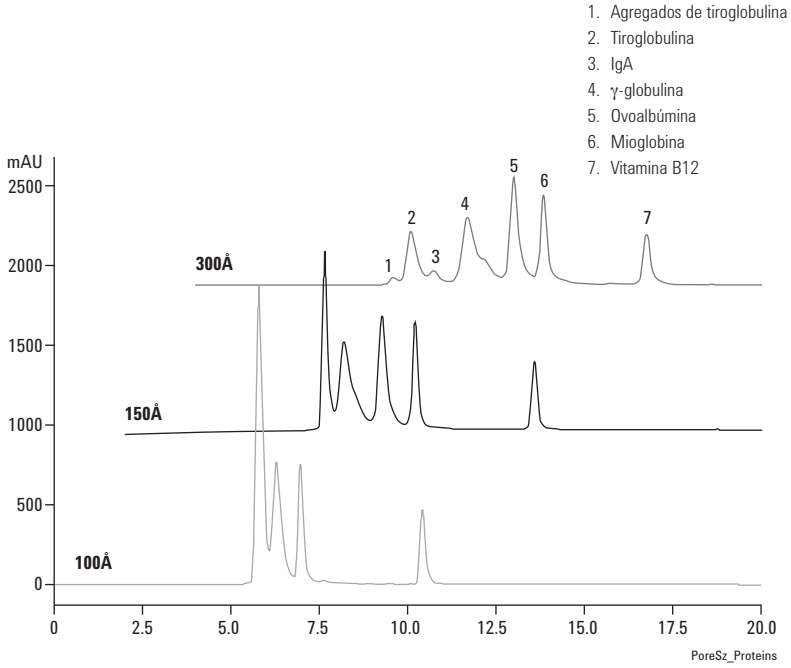
Columna C: **Bio SEC-3, 300Å**
5190-2513
4,6 x 300 mm, 3 µm

Fase móvil: Na_2HPO_4 50 mM, NaH_2PO_4 50 mM + NaCl 0,15 M, pH 6,8

Velocidad de flujo: 0,35 ml/min

Detector: UV a 220 nm

Muestra: Mezcla de patrones de filtración por gel BioRad



Selección de tamaño de poro: IgG de ratón

Columna A: **Bio SEC-3, 100Å**
5190-2503
4,6 x 300 mm, 3 µm

Columna B: **Bio SEC-3, 150Å**
5190-2508
4,6 x 300 mm, 3 µm

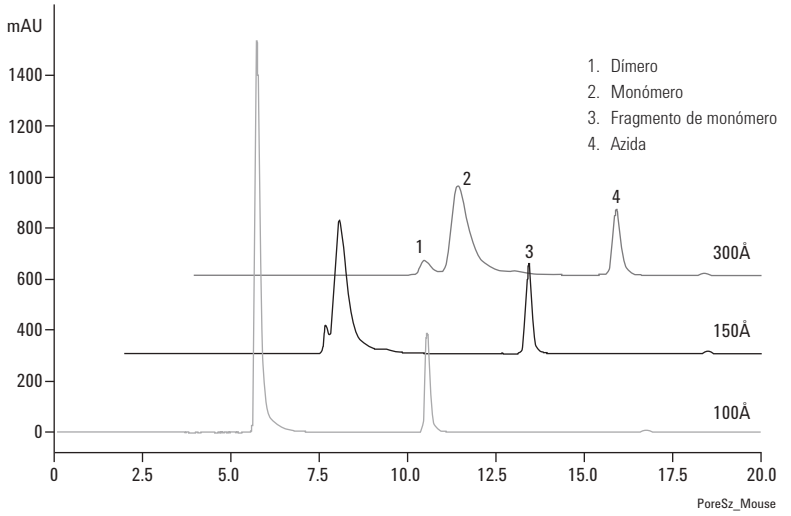
Columna C: **Bio SEC-3, 300Å**
5190-2513
4,6 x 300 mm, 3 µm

Fase móvil: Na_2HPO_4 50 mM, NaH_2PO_4 50 mM + NaCl 0,15 M, pH 6,8

Velocidad de flujo: 0,35 ml/min

Detector: UV, 220 nm

Muestra: IgG de ratón

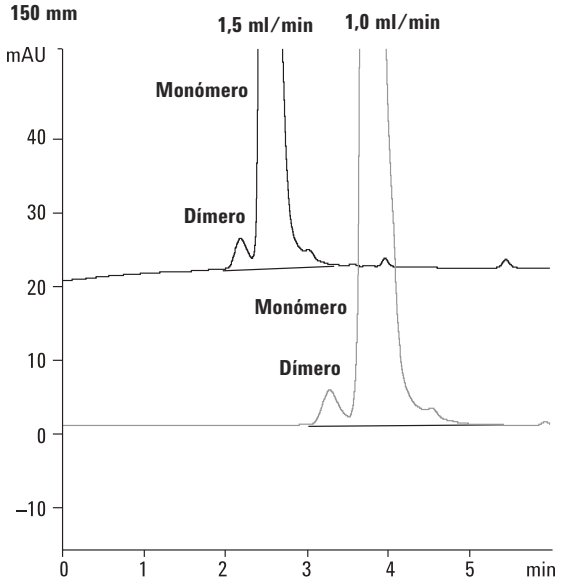


Longitud de la columna

Cuando el tiempo de separación es un parámetro crítico, se utilizan columnas más cortas rellenas con medios de 3 µm de la máxima eficacia. En las columnas más cortas se utilizan velocidades de flujo mayores para reducir el tiempo de análisis sin comprometer la calidad de los datos (cuantificación de monómeros y dímeros de anticuerpos monoclonales).

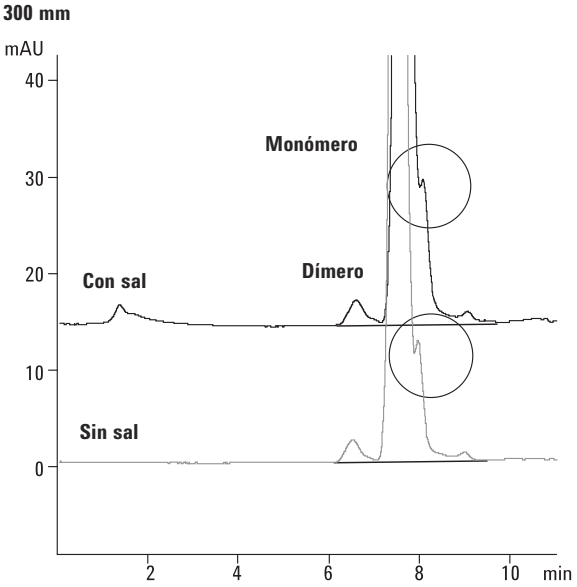
Comparación de la longitud de columna de Agilent Bio SEC-3, 150 mm

Columna:	**Bio SEC-3, 300Å 5190-2512 7,8 x 150 mm, 3 µm**
Fase móvil:	Fosfato sódico 150 mM
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min (56 bar), 1,5 ml/min (75 bar)
Detector:	220 nm
Muestra:	MAb (2 mg/ml)



Comparación de la longitud de columna Agilent Bio SEC-3, 300 mm

Columna:	**Bio SEC-3, 300Å 5190-2511 7,8 x 300 mm, 3 µm**
Fase móvil:	Fosfato sódico 150 mM + sulfato sódico 100 mM (con sal) Fosfato sódico 150 mM (sin sal)
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Detector:	UV, 220 nm
Muestra:	MAb (2 mg/ml)



Agilent Bio SEC-3

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Bio SEC-3 100 Å USP L33	Bio SEC-3 150 Å USP L33	Bio SEC-3 300Å USP L33
7,8 x 300	3	5190-2501	5190-2506	5190-2511
7,8 x 150	3	5190-2502	5190-2507	5190-2512
4,6 x 300	3	5190-2503	5190-2508	5190-2513
4,6 x 150	3	5190-2504	5190-2509	5190-2514
7,8 x 50, Precolumna	3	5190-2505	5190-2510	5190-2515



Bio SEC-5 Agilent



- Recuperación máxima en una amplia gama de separaciones de biomoléculas por tamaño
- Magnífica reproducibilidad y vida útil de la columna
- Excelente estabilidad, incluso en condiciones de pH alto, y alto y bajo contenido en sal
- Compatibilidad con la mayoría de los tampones acuosos

Las columnas HPLC Agilent Bio SEC-5 se rellenan con partículas de sílice de 5 µm recubiertas con una capa hidrófila neutra patentada para lograr la máxima eficacia y estabilidad. El relleno especialmente diseñado también suministra un gran volumen de poro, que mejora tanto la resolución y capacidad de picos.

Las columnas Bio SEC-5 están disponibles con partículas de 5 µm con unos tamaños nominales de poro de 100 Å, 150 Å, 300 Å, 500 Å, 1.000 Å y 2.000 Å.

Especificaciones de columna

Tamaño de poro	Tamaño de partícula	Rango de PM	Intervalo de pH	Presión máxima	Velocidad de flujo
100 Å	5 µm	100-100 000	2-8,5	240 bares, 3 500 psi	0,1-1,25 ml/min (7,8 mm d.i.)
					0,1-0,4 ml/min (4,6 mm d.i.)
150 Å	5 µm	500-150 000	2-8,5	240 bares, 3 500 psi	0,1-1,25 ml/min (7,8 mm d.i.)
					0,1-0,4 ml/min (4,6 mm d.i.)
300 Å	5 µm	5 000-1 250 000	2-8,5	240 bares, 3 500 psi	0,1-1,25 ml/min (7,8 mm d.i.)
					0,1-0,4 ml/min (4,6 mm d.i.)
500 Å	5 µm	15 000-5 000 000	2-8,5	240 bares, 3 500 psi	0,1-1,25 ml/min (7,8 mm d.i.)
					0,1-0,4 ml/min (4,6 mm d.i.)
1 000 Å	5 µm	50 000-7 500 000	2-8,5	240 bares, 3 500 psi	0,1-1,25 ml/min (7,8 mm d.i.)
					0,1-0,4 ml/min (4,6 mm d.i.)
2 000 Å	5 µm	>10,000,000	2-8,5	240 bares, 3 500 psi	0,1-1,25 ml/min (7,8 mm d.i.)
					0,1-0,4 ml/min (4,6 mm d.i.)

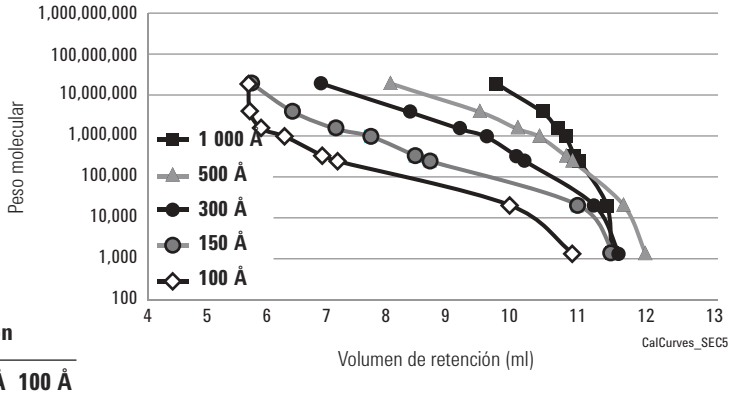
Curvas de calibración - Bio SEC-5

Columna: **Bio SEC-5**
7,8 x 300 mm, 5 µm

Fase móvil: Tampón de sodio, 150 mM, pH 7,0

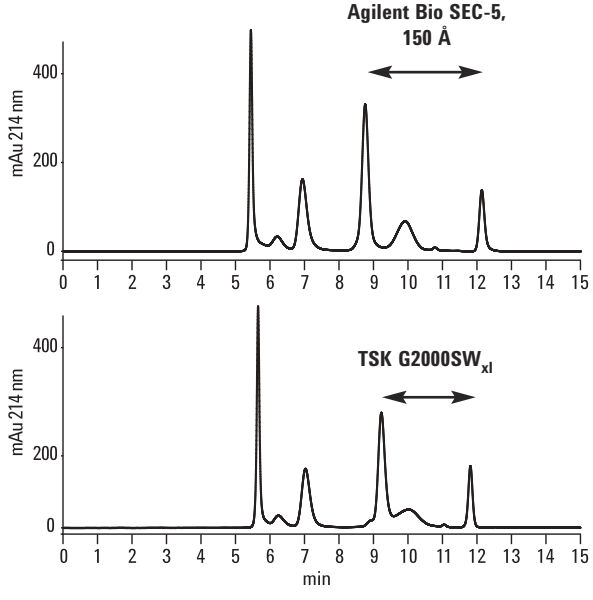
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: UV



Proteínas	Peso molecular	Volumen de retención 1 000 Å	500 Å	300 Å	150 Å	100 Å
Tiroglobulina	670000	10.07	8.23	7.03	5.82	5.77
Gammaglobulina	158000	10.88	9.80	8.57	6.55	5.79
Seroalbúmina bovina	67000	11.13	10.44	9.44	7.29	6.00
Ovoalbúmina	45000	11.28	10.83	9.89	7.90	6.40
Mioglobina	17000	11.44	11.28	10.42	8.66	7.05
Ribonucleasa A	12700	11.52	11.41	10.58	8.93	7.32
Vitamina B12	1350	12.00	12.59	11.78	11.49	10.30

Descripción comparativa



Columna: **Bio SEC-5**
5190-2521
7,8 x 300 mm, 5 µm

Fase móvil: Tampón de sodio, 150 mM, pH 7,0

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: UV

1. Tiroglobulina, 5,43 min
2. Dímero de seroalbúmina bovina, 6,19 min
3. Monómero de seroalbúmina bovina, 6,93 min
4. Ribonucleasa A, 8,74 min
5. Poli-DL-alanina (1-5 kDa), 9,90 min
6. Uracilo, 12,13 min

1. Tiroglobulina, 5,64 min
2. Dímero de seroalbúmina bovina, 6,23 min
3. Monómero de seroalbúmina bovina, 7,02 min
4. Ribonucleasa A, 9,22 min
5. Poli-DL-alanina (1-5 kDa), 10,02 min
6. Uracilo, 11,81 min

Separación de una mezcla de proteínas en una columna de HPLC Agilent Bio SEC-5 y una columna Tosoh TSK-Gel. Se puede observar una mayor nitidez y resolución en la columna de HPLC Agilent Bio SEC-5.

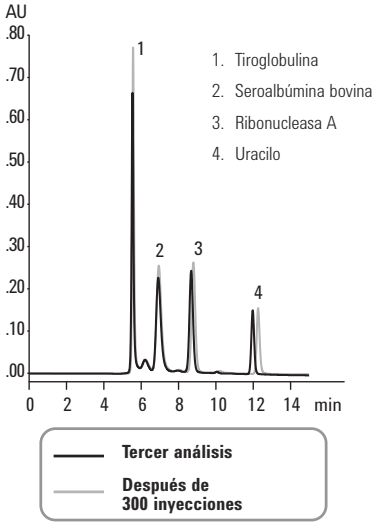
Reproducibilidad excepcional entre lotes

Columna: **Bio SEC-5, 150Å**
5190-2521
7,8 x 300 mm, 5 µm

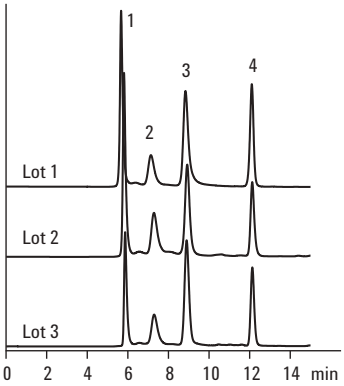
Fase móvil: Tampón de fosfato, 150 mM, pH 7,0

La mezcla de cuatro proteínas presenta una excelente reproducibilidad del tiempo de retención en 300 inyecciones y en tres columnas de distintos lotes de fabricación.

Vida útil



Reproducibilidad



Comparación entre Agilent Bio SEC-3 y Agilent Bio SEC-5

Análisis de anticuerpo monoclonal

Columna: **Bio SEC-3, 300Å**
5190-2511
7,8 x 300 mm, 3 µm

Columna: **Bio SEC-5, 300Å**
5190-2526
7,8 x 300 mm, 5 µm

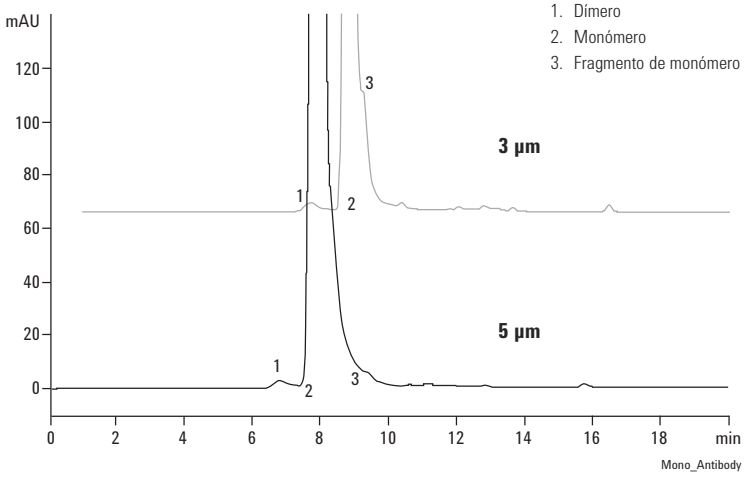
Fase móvil: Fosfato sódico 150 mM, pH 7

Velocidad de flujo: 1 ml/min

Detector: UV a 220 nm

Muestra: Anticuerpo monoclonal humanizado

La columna de 3 µm ofrece una separación mejor.



Bio SEC-5 Agilent

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Bio SEC-5 100 Å USP L33	Bio SEC-5 150 Å USP L33	Bio SEC-5 300 Å USP L33	Bio SEC-5 500 Å USP L33	Bio SEC-5 1 000 Å USP L33	Bio SEC-5 2 000 Å USP L33
7,8 x 300	5	5190-2516	5190-2521	5190-2526	5190-2531	5190-2536	5190-2541
7,8 x 150	5	5190-2517	5190-2522	5190-2527	5190-2532	5190-2537	5190-2542
4,6 x 300	5	5190-2518	5190-2523	5190-2528	5190-2533	5190-2538	5190-2543
4,6 x 150	5	5190-2519	5190-2524	5190-2529	5190-2534	5190-2539	5190-2544
7,8 x 50, Precolumna	5	5190-2520	5190-2525	5190-2530	5190-2535	5190-2540	5190-2545



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Utilice el organizador de Agilent para optimizar su sistema LC 1290 Infinity con el fin de obtener una dispersión ultrabaja y mejorar así el rendimiento de las columnas de alta eficacia. Encontrará información adicional en la nota de aplicación 5990-9502EN que podrá encontrar en **www.agilent.com/chem/library**

ProSEC 300S



- Partículas de polímero mecánicamente resistentes que no destiñen durante su uso
- Columna única con rango de resolución lineal ampliado
- Dimensiones de columna para su uso con sistemas con detectores múltiples

La columna Agilent ProSEC 300S está específicamente diseñada como solución de columna única para el análisis de proteínas globulares. La selección y optimización del tamaño del poro permite ampliar el rango de resolución lineal, por lo que esta única columna se puede usar para analizar todo el rango de proteínas globulares.

Las partículas son extremadamente resistentes y no se fragmentan durante su uso para el filtrado por arrastre de sustancias particuladas. El resultado son unas líneas base excepcionalmente estables que hacen que esta columna sea la opción ideal para usar con detectores de dispersión de luz.

Dos dimensiones de columna, d.i. de 7,5 mm y d.i. de 4,6 mm, aptos para la cromatografía de exclusión por tamaño con detectores múltiples, ofrecen opciones para el análisis de pequeñas masas.

Especificaciones de la columna ProSEC 300S

Fase ligada	Tamaño de poro	Tamaño de partícula	Rango de PM de proteínas	Intervalo de pH	Velocidad de flujo	Presión máxima
ProSEC 300S	300 Å	5 µm	1 500-800 000	2-7,5	<1,5 ml/min (7,5 mm d.i.) <0,5 ml/min (4,6 mm d.i.)	250 bares, 3 700 psi

ProSEC 300S

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Referencia
4,6 x 250	5	PL1547-5501
7,5 x 300	5	PL1147-6501
Precolumna		
4,6 x 50	5	PL1547-1501
7,5 x 50	5	PL1147-1501

Calibración de la columna ProSEC 300S con proteínas globulares

Fase móvil: KH_2PO_4-K_2HPO_4 50 mM (pH 6,8) con NaCl 0,3 M

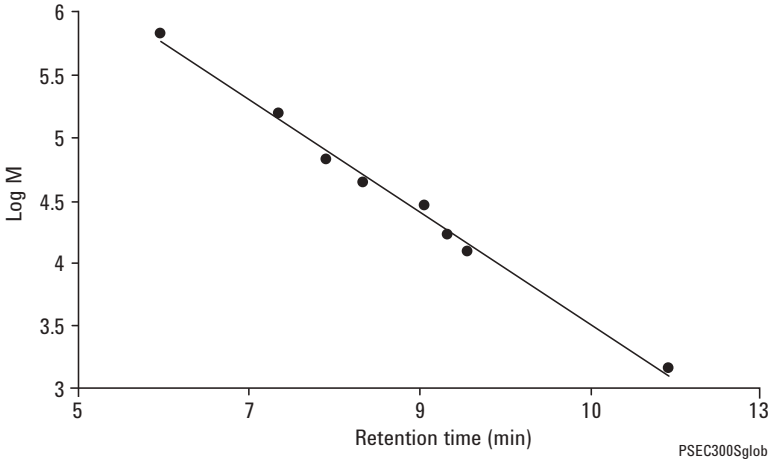
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: UV, 280 nm

Muestra: Muestras de proteínas

Pesos moleculares de las proteínas

PM/Daltons	Proteína
670.000	Tiroglobulina
155.000	γ-Globulina
66.430	Seroalbúmina bovina
44.287	Ovoalbúmina
29.000	Anhidrasa carbónica
16.700	Mioglobulina
12.384	Citocromo C
1.423	Bacitracina



Análisis de seroalbúmina bovina mediante dispersión de luz con el uso de columnas ProSEC 300S

Columna: **ProSEC 300S**
PL1147-6501
7,5 x 300 mm, 5 µm

Fase móvil: Agua + 120 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 10 mM NaH_2PO_4

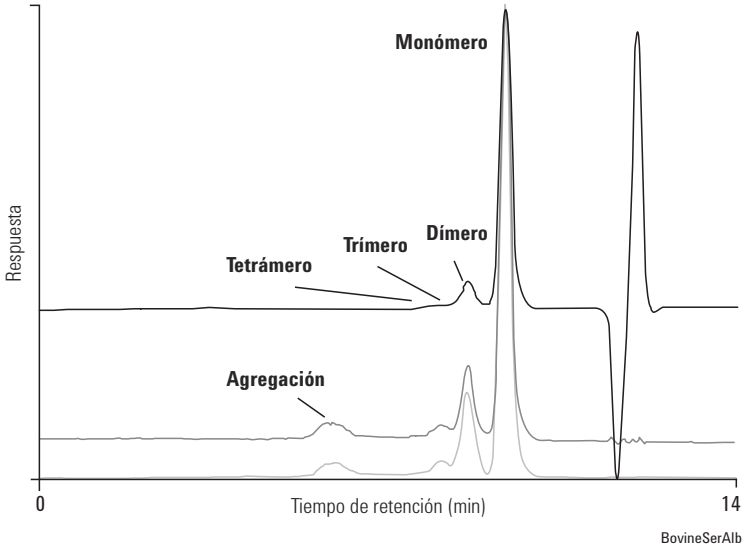
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: Índice de refracción diferencial + detector de dispersión de luz de doble ángulo PL-GPC 50

Muestra: Seroalbúmina bovina

Pesos moleculares

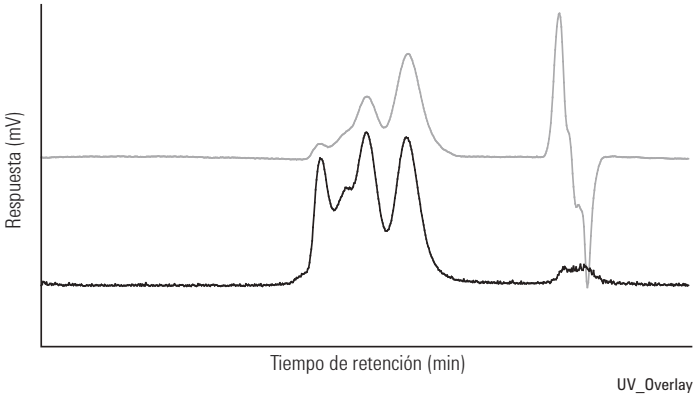
Monómero	66.900 daltons, 88,5%
Dímero	134.900 daltons (2,02 x peso molecular del monómero), 9,8%
Trímero	197.000 daltons (2,94 x peso molecular del monómero), 1,2%
Tetrámero	279.300 daltons (5,17 x peso molecular del monómero), 0,5%



Superposición de un ejemplo de índice de refracción diferencial y dispersión de luz de doble ángulo.

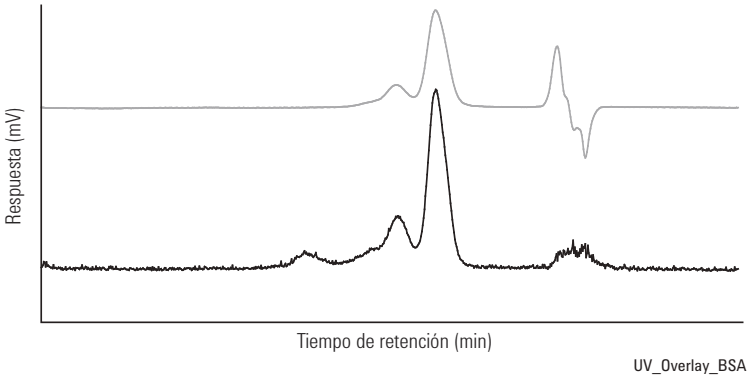
Superposición de radiación UV y dispersión de la luz de 90° para una muestra de γ-globulinas, que ilustra los picos de monómeros, dímeros y trímeros

Columna:	**ProSEC 300S** **PL1147-6501** **7,5 x 300 mm, 5 µm**
Fase móvil:	KH_2PO_4 0,1 M con NaCl 0,3 M, pH 8,0
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Temperatura:	5 °C
Detector:	UV a 310 nm + detector de dispersión de luz de doble ángulo PL-GPC 50
Muestra:	Proteínas



Superposición de radiación UV y dispersión de la luz de 90° para una muestra de BSA, que ilustra los picos de monómeros, dímeros, trímeros y agregados

Columna:	**ProSEC 300S** **PL1147-6501** **7,5 x 300 mm, 5 µm**
Fase móvil:	KH_2PO_4 0,1 M con NaCl 0,3 M, pH 8,0
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Temperatura:	5 °C
Detector:	UV a 310 nm + detector de dispersión de luz de doble ángulo PL-GPC 50
Muestra:	Proteínas



Columnas de filtración en gel ZORBAX GF-250 y GF-450



Columnas de filtración en gel GF-250

- Alta eficacia y reproducibilidad un tiempo corto de análisis.
- Dimensiones de columna preparativa o semipreparativa.
- Compatible con modificadores orgánicos y desnaturalizantes.
- Amplio rango de pH utilizable (pH de 3 a 8).

Las columnas de exclusión por tamaño (filtración en gel) Agilent ZORBAX GF-250 y GF-450 son ideales para separaciones por tamaño de proteínas y otras biomoléculas. El rango de separación es de 4.000 a 900.000 para proteínas globulares usando las columnas GF-250 y GF-450 en serie. Las columnas de exclusión por tamaño GF-250/GF-450 tienen una fase ligada diol hidrofílica para conseguir una alta recuperación de proteínas (generalmente >90%) y una exclusiva modificación con zirconio de la sílice para ampliar el rango de pH de 3 a 8. Las columnas GF-250 y GF-450 están rellenas con microesferas porosas de sílice de tamaño bien definido, con estrechas distribuciones de tamaño de poro y tamaño de partícula. El resultado es una columna de exclusión por tamaño altamente eficiente, robusta y reproducible para la separación de proteínas con flujos de hasta 3 ml/min. Estas columnas son compatibles con modificadores orgánicos (<25%) y desnaturalizantes añadidos a la fase móvil para impedir que se agreguen proteínas y así conseguir una correcta determinación de tamaños. Entre sus aplicaciones habituales están las separaciones de monómeros, dímeros y agregados proteicos, la desalinización, la estimación de pesos moleculares de proteínas y separaciones de proteínas modificadas.

Especificaciones de columnas

Fase ligada	Tamaño de poro	Tamaño de partícula	Rango de PM	Superficie específica	Rango de pH	Velocidad de flujo	Presión máxima
ZORBAX GF-250	150 Å	4 µm	4.000-400.000	140 m^2/g	3,0-8,0	<3,0 ml/min	350 bares
ZORBAX GF-450	300 Å	6 µm	10.000-900.000	50 m^2/g	3,0-8,0	<3,0 ml/min	350 bares

Las especificaciones solo representan los valores típicos.

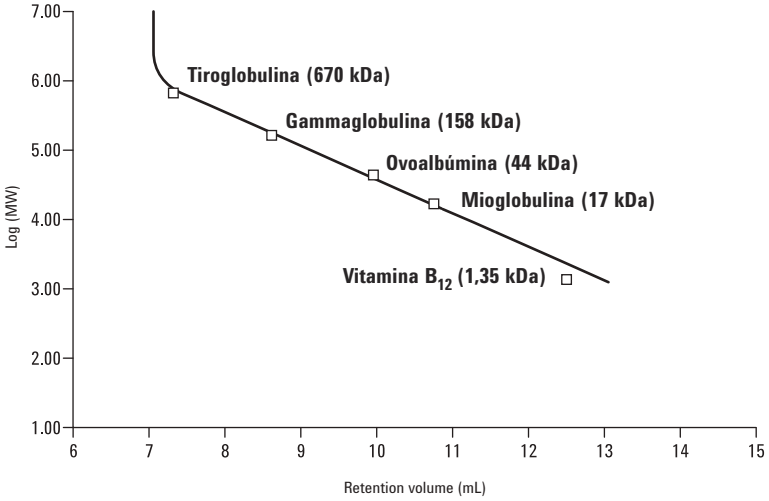
Volumen de retención frente a log (PM) para los patrones Bio-Rad separados en una columna Agilent ZORBAX GF-250

Columna: **ZORBAX GF-250**
884973-901
9,4 x 250 mm, 4 µm

Fase móvil: Fosfato sódico 200 mM, pH 7,0

Temperatura: Ambiente

Detector: UV (254 nm)



Separaciones de proteínas en columnas preparativas

Columna: **ZORBAX GF-250**
884973-901
9,4 x 250 mm, 4 µm

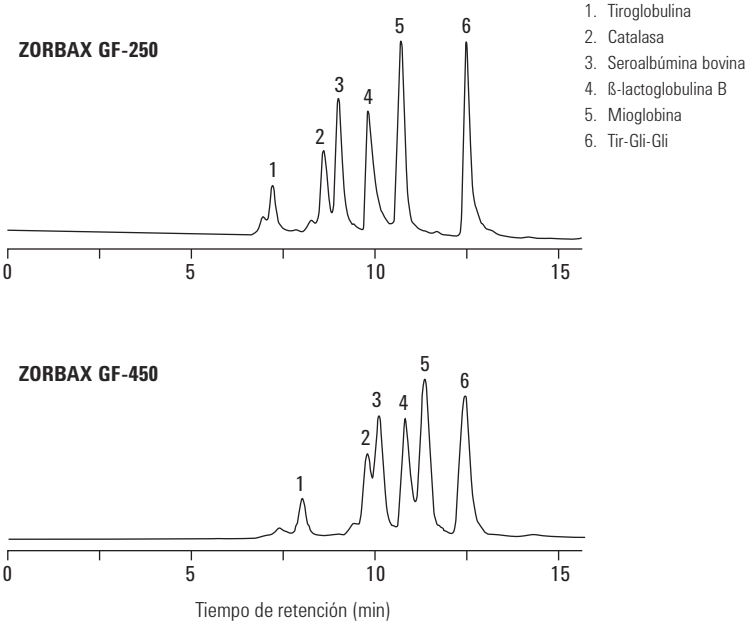
Columna: **ZORBAX GF-450**
884973-902
9,4 x 250 mm, 6 µm

Fase móvil: Na_2HPO_4 0,2 M, pH 7,0

Velocidad de flujo: 5,0 ml/min

Detector: 280 nm

Muestra: 200 µl



1. Tiroglobulina
2. Catalasa
3. Seroalbúmina bovina
4. ß-lactoglobulina B
5. Mioglobina
6. Tir-Gli-Gli

Columnas de filtración en gel ZORBAX GF-250 (USP L33) y GF-450 (USP L35)

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Referencia
	GF-250, 150 Å	9,4 x 250	4	884973-901
	GF-250, 150 Å	4,6 x 250	4	884973-701
	GF-450, 300 Å	9,4 x 250	6	884973-902
Salvacolumnas (requieren soporte)				
P	Pre-columna GF-250 Diol, 2/paq.	9,4 x 15	6	820675-111
ZGC	Pre-columna GF-250 Diol, 4/paq.	4,6 x 12,5	6	820950-911
P	Pre-columna GF-450 Diol, 2/paq.	9,4 x 15	6	820675-111
ZGC	Pre-columna GF-250 Diol, 4/paq.	4,6 x 12,5	6	820950-911
P	Kit de hardware de precolumna prep.			840140-901
ZGC	Kit de soporte de la precolumna			820999-901
Columnas PrepHT				
PL	PrepHT GF-250, 150 Å	21,2 x 250	6	877974-901
PL	PrepHT GF-450, 300 Å	21,2 x 250	6	877974-910
PL	Conexione terminales PrepHT, 2/paq.			820400-901
PL	Precolumna PrepHT GF-250, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-911
PL	Precolumna PrepHT GF-450, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-911
PL	Hardware de precolumna			820444-901



Columna Bio-Monolith proteína A, 5069-3639

Cromatografía por afinidad

La cromatografía por afinidad es una técnica eficaz que aprovecha las ventajas de las interacciones moleculares de gran especificidad, con frecuencia entre proteínas específicas (por ejemplo, antígeno-anticuerpo). Agilent ofrece varios productos especializados de afinidad, una columna de proteína A monolítica para el aislamiento y la cuantificación de IgG, y una serie de varios sistemas de eliminación por afinidad múltiple para la eliminación de proteínas de alta abundancia en muestras biológicas.

Columnas para HPLC de proteínas A Agilent Bio-Monolith

- Diseñadas para la separación analítica de todas las IgG (humanas y de ratón), excepto la IgG de clase 3.
- Separaciones independientes del flujo; la ausencia de difusión, poros y volúmenes muertos hacen que el transporte entre las fases móvil y estacionaria sea muy rápido.
- Separaciones tremendamente rápidas que agilizan el tiempo de desarrollo de métodos y reducen los costes.
- La fijación de los parámetros del método requiere mucho menos tiempo y tampón.

Las columnas para HPLC de proteínas A Agilent Bio-Monolith forman parte de la familia de columnas Agilent Bio-Monolith. Las columnas para proteínas A Bio-Monolith son compatibles con sistemas de HPLC y LC preparativa, incluidos los sistemas HPLC Agilent 1100 y 1200.

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Para obtener información sobre columnas de intercambio iónico Bio-Monolith, vaya a las páginas 412–415.

Especificaciones de columnas	
Dimensiones	5,2 mm x 4,95 mm
Volumen de columna	100 µl
Presión máxima	150 bares (15 MPa, 2.200 psi)
Valor mínimo/máximo de temperatura	Trabajo: 4-40 °C
	Almacenamiento: 4-30 °C
pH recomendado	Rango operativo: 2-13
	Limpieza in situ: 1-14
Materiales de construcción	Carcasa: acero inoxidable
	Relleno: poli(glicidil metacrilato-co-etileno dimetacrilato) monolítico muy poroso
Identificador del anillo de color	Bio-Monolith proteína A: blanco
Fecha de caducidad	Proteína A: 12 meses

Bio-Monolith proteína A

Columna	Descripción	Aplicaciones clave	Referencia
Bio-Monolith proteína A	La columna de proteína A por afinidad está diseñada para la separación analítica de todos los IgG (procedentes de humanos y de ratones), excepto IgG clase 3.	• Determinación cuantitativa de IgG (cálculo del valor cuantitativo de la fermentación)	5069-3639

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Encontrará más información en la siguiente nota de la aplicación:

Rapid Human Polyclonal IgG Quantification Using the Agilent Bio-Monolith Protein A HPLC Column (n.º de publicación 5989-9733EN)

www.agilent.com/chem/library

Cuantificación rápida de la IgG policlonal humana mediante la columna para HPLC de proteína A Agilent Bio-Monolith

Columna: **Proteína A**
5069-3639
5,2 x 4,95 mm

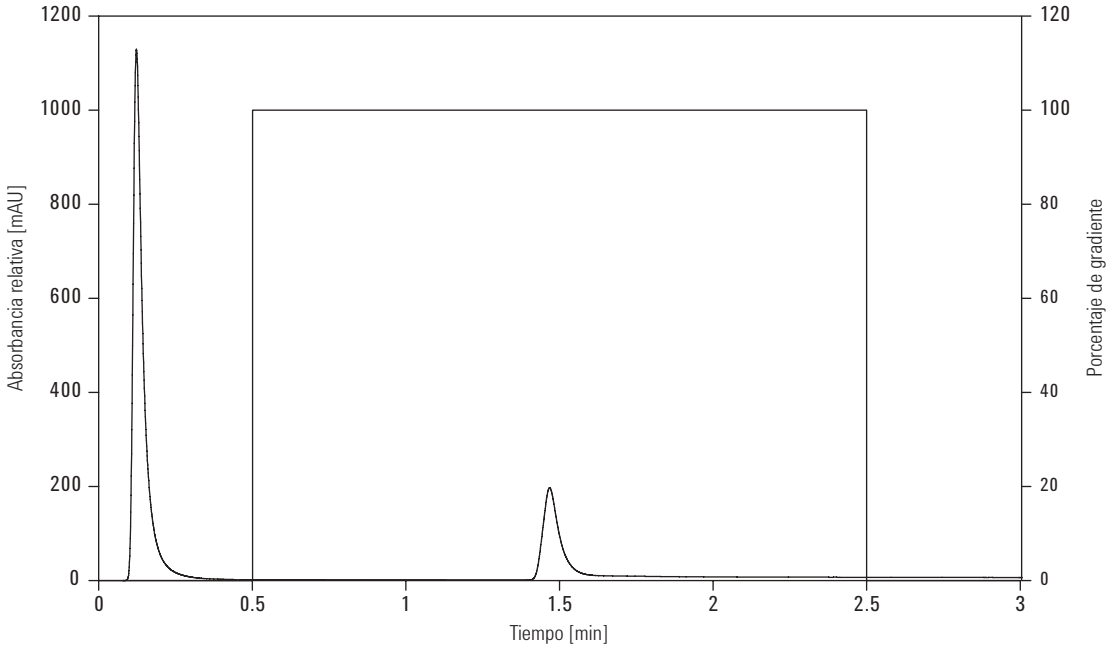
Fase móvil: Tampón PBS, pH 7,4
Ácido acético 0,5 M, pH 2,6

Velocidad de flujo: 1 ml/min

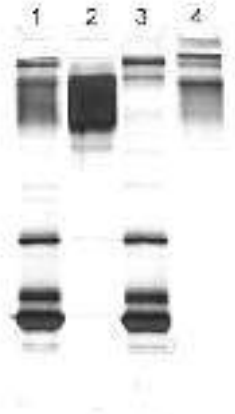
Gradiente: Gradiente en el proceso completo: 100% del tampón A-100% del tampón B-100% del tampón A (0,5 min cada paso)

Detector: Un sistema HPLC con gradiente a alta presión, Agilent 1200 - UV a 280 nm

Muestra: Plasma humano diluido con tampón de ligado (tampón PBS, pH 7,4)



Selectividad de la columna de proteína A Bio-Monolith para la IgG a partir de plasma humano. La IgG se enlaza a la proteína A, se aplica un gradiente gradual del 100% del tampón B y se eluye la IgG en 1,5 min.



Clave:

Vía 1: suero completo antes de la separación

Vía 2: IgG estándar

Vía 3: pico 1 (fracción de flujo continuo)

Vía 4: pico 2 (fracción ligada a la proteína A; es decir IgG1 e IgG2)

Análisis SDS PAGE de las fracciones resultantes de la separación.

Reactivos proteómicos y sistema de fraccionamiento de proteínas de Agilent



- Análisis mediante LC/MS de muestras biológicas
- Preparación para análisis electroforético
- Preparación de muestras para detección de biomarcadores
- Validación de instrumentos y flujos de trabajo
- Inmunodepleción económica
- Desalinización, concentración y fraccionamiento de muestras

Para poder aislar e identificar más fácilmente las proteínas de muestras biológicas, como suero, plasma y líquido cefalorraquídeo (LCR), se ha diseñado el sistema de eliminación por afinidad múltiple de Agilent para eliminar cromatográficamente las proteínas de alta abundancia interferentes de las muestras biológicas. La eliminación de estas proteínas abundantes mejora el análisis posterior de la muestra mediante LC/MS y electroforesis porque amplía significativamente el rango dinámico.

Para el fraccionamiento y desalinización de muestras se ha diseñado la columna de alta recuperación de proteínas Agilent mRP-C18, que desaliniza, concentra y fracciona simultáneamente en un sencillo paso, con una recuperación de muestras extremadamente alta en comparación con las columnas RP HPLC convencionales, y es completamente compatible con el análisis de LC/MS.

Además hay disponible una gama de reactivos validados para la preparación de muestras en la detección de biomarcadores y otras aplicaciones proteómicas, incluido un patrón complejo, tripsina de grado proteómico y una solución de extracción de proteínas embebida en parafina fijada en formalina (FFPE). Para su comodidad, estos reactivos son completamente compatibles con los métodos de LC/MS de Agilent y no requieren tratamientos previos adicionales de las muestras. Nuestras configuraciones personalizadas solucionarán sus necesidades para grandes volúmenes.

Requisitos de gran volumen o columnas con medidas especiales también se pueden abordar con nuestras configuraciones personalizadas.



Sistema de eliminación por afinidad múltiple

Sistema de eliminación por afinidad múltiple

El sistema de eliminación por afinidad múltiple Agilent permite identificar y caracterizar proteínas y biomarcadores de baja abundancia y alto valor presentes en el suero, el plasma y otros fluidos biológicos.

El sistema de eliminación por afinidad múltiple elimina, de manera reproducible y específica, 14 proteínas muy abundantes en fluidos biológicos humanos y 3 proteínas muy abundantes en fluidos biológicos de ratón.

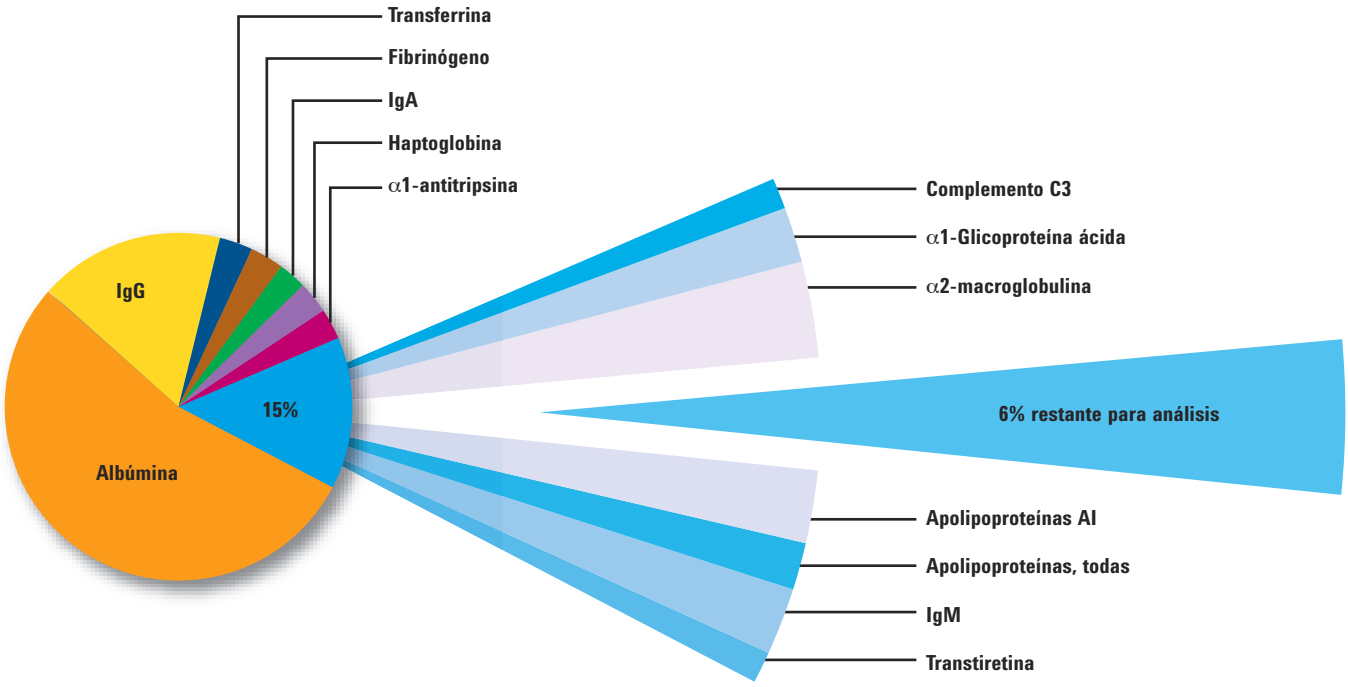
El sistema de eliminación por afinidad múltiple está disponible en diversos tamaños de columna LC y en formato de cartucho centrífugo. Al combinarse con tampones optimizados Agilent, filtros centrífugos adecuados y concentradores,el sistema de eliminación por afinidad múltiple Agilent crea una solución automatizada, reducida e íntegra compatible con la mayoría de instrumentos de LC (columnas) y centrifugadores compactos (cartuchos centrífugos).

Las muestras reducidas con el sistema de eliminación por afinidad múltiple están preparadas para realizar análisis posteriores, como electroforesis en gel 2-D, LC/MS y otras técnicas analíticas.

Guía para la selección del sistema de eliminación por afinidad múltiple

Producto	Proteínas eliminadas	Proteína total eliminada	Dimensiones	Capacidad de carga	Referencia
MARS Human-14	Albúmina, IgG, antitripsina, IgA, transferrina, haptoglobina, fibrinógeno, macroglobulina alfa2, glicoproteína ácida alfa1, IgM, apolipoproteína AI, apolipo-proteína AII, complemento C3, transtiretina	94%	Cartucho centrífugo	8 - 10 µl	5188-6560
			4,6 x 50 mm	20 µl	5188-6557
			4,6 x 100 mm	40 µl	5188-6558
			10,0 x 100 mm	250 µl	5188-6559
MARS Human-7	Albúmina, IgG, IgA, transferrina, haptoglobina, antitripsina y fibrinógeno.	88-92%	Cartucho centrífugo	12 - 14 µl	5188-6408
			4,6 x 50 mm	30 - 35 µl	5188-6409
			4,6 x 100 mm	60 - 70 µl	5188-6410
			10,0 x 100 mm	250 - 300 µl	5188-6411
MARS Human-6	Albúmina, IgG, IgA, transferrina, haptoglobina y antitripsina.	85-90%	Cartucho centrífugo	7 - 10 µl	5188-5230
			4,6 x 50 mm	15 - 20 µl	5185-5984
			4,6 x 100 mm	30 - 40 µl	5185-5985
MARS Human-6 de alta capacidad	Albúmina, IgG, IgA, transferrina, haptoglobina y antitripsina.	85-90%	Cartucho centrífugo	14 - 16 µl	5188-5341
			4,6 x 50 mm	30 - 40 µl	5188-5332
			4,6 x 100 mm	60 - 80 µl	5188-5333
			10,0 x 100 mm	hasta 340 µl	5188-5336
MARS Human-2	Albúmina, IgG	69%	Cartucho de centrífuga	50 µl	5188-8825
			4,6 x 50 mm	100 µl	5188-8826
MARS Human-1	Albúmina	50-55%	Cartucho de centrífuga	65 µl	5188-5334
			4,6 x 50 mm	130 µl	5188-6562
MARS Mouse-3	Albúmina, IgG, transferrina.	80%	Cartucho centrífugo	25 - 30 µl	5188-5289
			4,6 x 50 mm	37 - 50 µl	5188-5217
			4,6 x 100 mm	75 - 100 µl	5188-5218

Ilustración de las proteínas de alta abundancia eliminadas por las columnas y cartuchos centrífugos de eliminación por afinidad múltiple de Agilent



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Obtenga más información acerca de la cartera completa de servicios en **www.agilent.com/chem/services**

Kits de iniciación del sistema de eliminación por afinidad múltiple

Los kits de iniciación de reactivos de columna de LC y de cartucho centrífugo incluyen todos los consumibles necesarios para el sistema de eliminación por afinidad múltiple. Estos tampones proporcionan unas condiciones óptimas para la vida útil de la columna y la reproducibilidad de la muestra.

- Los kits proporcionan suficiente Tampón A y Tampón B para, aproximadamente, 200 reducciones de muestras, utilizando columnas de LC de 4,6 x 50 mm y, aproximadamente, 100 reducciones de muestras, con columnas de LC de 4,6 x 100 mm y 200 usos de cartuchos centrífugos.
- El Tampón A, tampón de carga, minimiza las interacciones de proteína a proteína, y permite que las proteínas de baja abundancia, con frecuencia enlazadas a proteínas de alta abundancia, atraviesen la columna, mientras que las proteínas de alta abundancia diana quedan unidas a sus anticuerpos asociados.
- A continuación, el Tampón B, tampón de elución, interrumpe la interacción entre anticuerpos y proteínas y eluye las proteínas de alta abundancia fuera de la columna.



Kit de iniciación de reactivos de columna de LC, 5185-5986



Adaptadores de cierre Luer 5188-5249

Kits de iniciación del sistema de eliminación por afinidad múltiple

Descripción	Referencia
Kit de iniciación de reactivos de columna de LC Incluye:	5185-5986
Tampón A, 1 l, para cargado, lavado y equilibrado,	5185-5987
Tampón B, 1 l, para elución	5185-5988
Acetato de celulosa de 0,22 µm, 25/paq,	5185-5990
Concentradores centrífugos, MWCO de 5 KDa, 4 ml, 25/paq	5185-5991
Kit de reactivos para cartuchos centrífugos de eliminación por afinidad múltiple Incluye:	5188-5254
Tampón A, 1 l, para cargado, lavado y equilibrado	5185-5987
Tampón B, 1 l, para elución	5185-5988
Filtros centrífugos, Acetato de celulosa de 0,22 µm, 25/paq, cantidad: 2	5185-5990
Concentradores centrífugos, MWCO de 5 KDa, 4 ml, 25/paq	5185-5991
Adaptadores de cierre luer, 2/paq.	5188-5249
Jeringas de plástico de 5 ml y cierre luer, 2/paq.	5188-5250
Microtubo, 1,5 ml, rosca, 100/paq, cantidad: 6	5188-5251
Tapones y cierres, 6/paq	5188-5252
Agujas de PTFE, cierre luer, 10/paq.	5188-5253
Tampón para dilución de muestras de alta concentración, 50 ml	5188-8283



Adaptadores de cierre luer 5188-5250



Adaptadores de cierre luer 5188-5253



Columna de proteínas de alta recuperación mRP-C18, 4,6 x 50 mm, 5188-5231

Columnas de proteínas de alta recuperación mRP-C18

La columna de proteínas de alta recuperación mRP (fase inversa macroporosa) C18 está diseñada para una alta recuperación, alta resolución de separación y fraccionamiento y la desalinización simultánea de muestras complejas de proteínas (como suero inmunorreducido o proteínas plasmáticas).

- Se ha observado una recuperación de muestra de proteína superior al 95-99% con suero inmunorreducido utilizando la columna LC del sistema Agilent de eliminación por afinidad múltiple.
- Puede cargar hasta 380 µg de masa proteica total sin reducir la resolución cromatográfica de las proteínas.
- Columna rellena con partículas de sílice de 5 µm ultrapura macroporosa ligada con C18 diseñadas para reducir o eliminar la fuerte adsorción de proteínas.
- Presión máxima de funcionamiento de 250 bares (4.000 psi).
- Compatible con agua y disolventes orgánicos comunes.

Columnas de proteínas de alta recuperación mRP-C18

Descripción	Capacidad de carga de proteínas	Referencia
mRP-C18, 0,5 x 100 mm	10 ng - 5 µg	5188-6510
mRP-C18, 2,1 x 75 mm	8 - 85 µg	5188-6511
mRP-C18, 4,6 x 50 mm	40 - 380 µg	5188-5231

Reactivos proteómicos para el análisis mediante LC/MS

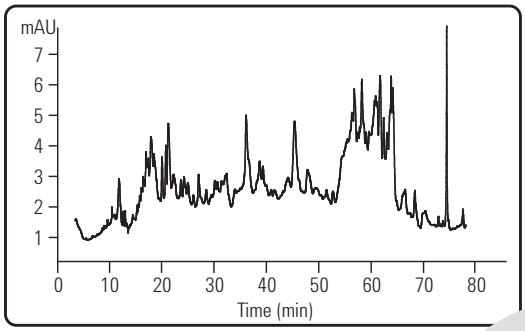
El patrón proteómico complejo de Agilent es un extracto de proteínas Pfu soluble que contiene más de 1500 proteínas. Junto con nuestra tripsina apta para proteómica, tratada con TPCK, constituye la combinación ideal para la validación del flujo de trabajo en la detección de biomarcadores mediante LC/MS y otros estudios proteómicos.

Reactivos proteómicos para el análisis mediante LC/MS

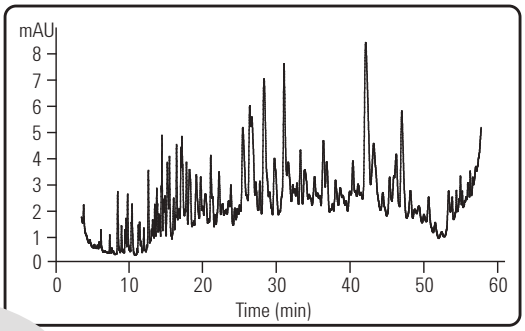
Descripción	Referencia
Patrón proteómico complejo	400510
Tripsina apta para proteómica	204310

Fraccionamiento de proteínas de muestras complejas en la columna mRP

mRP-C18, 4.6 x 50 mm

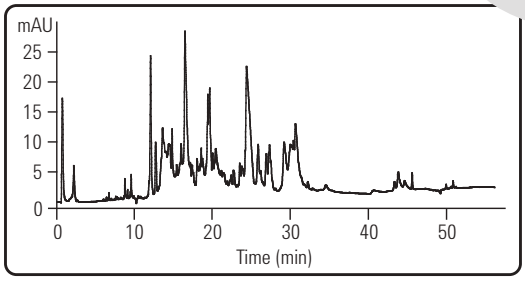


Membranas preparativas de HeLa

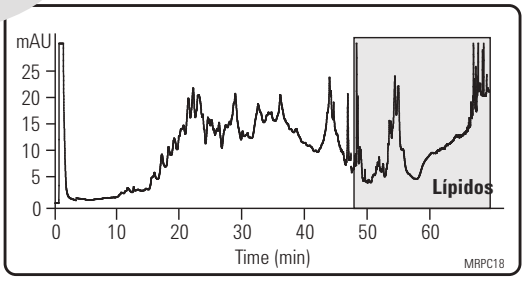


Lisado celular HeLa (352 µg)

Máxima recuperación



"Top-6" reducción de suero humano



Preparación de rafts de lípidos de membrana de cerebro humano (500 µg)



Columna de alta recuperación de proteínas mRP-C18, 0,5 x 100 mm, 5188-6510

Desarrollo de métodos

Métodos para columnas ZORBAX

Esta estrategia de selección de columnas ZORBAX para proteínas y péptidos proporciona información crítica sobre el desarrollo de métodos para proteínas o polipéptidos.

Elija la columna y las condiciones iniciales para péptidos, polipéptidos y proteínas

Péptidos, polipéptidos, proteínas PM <50 kDa

Péptidos, polipéptidos, proteínas PM >50 kDa

Fase ligada inicial

StableBond 300SB-C8

Las columnas 300SB son columnas de poro extragrande con una vida útil inigualable en fases móviles que contienen TFA. Esto las convierte en la opción ideal para separaciones de péptidos y proteínas.

- C8 es una excelente opción de fase ligada inicial por su hidrofobicidad moderada
- C18 y C8 suelen seleccionarse para péptidos y digestiones de proteínas, pero también se pueden usar para proteínas
- C3, C4 y CN suelen seleccionarse para proteínas y polipéptidos hidrófobos más grandes, pero también se pueden usar para péptidos
- PLRP-S cuando se necesita estabilidad química y térmica

Poroshell 300SB-C18

Las columnas Poroshell 300SB utilizan una tecnología de partículas innovadora para ofrecer separaciones de proteínas rápidas. Con las columnas Poroshell se obtienen tiempos de análisis cortos con picos eficaces.

- C18 es una buena opción de fase ligada inicial con Poroshell para la mayoría de péptidos, polipéptidos y proteínas gracias a su máxima retención
- C8 suele seleccionarse para proteínas de tamaño medio pero se puede usar con polipéptidos o proteínas muy grandes
- C3 suele seleccionarse para anticuerpos o proteínas grandes, pero puede usarse para péptidos y polipéptidos

Condiciones iniciales de la separación

Columna:	**StableBond 300SB-C8** **4,6 x 150 mm, 3,5 o 5 µm** **883995-906** **863973-906**
Fase móvil:	A: 95% de H_2O: ACN al 5% con TFA al 0,1% B: 5% de H_2O: ACN al 95% con TFA al 0,085%
Gradiente	B al 0-60% en 60 min
Temperatura:	35-40 °C
Velocidad de flujo:	1 ml/min

Columna:	**Poroshell 300SB-C18** **2,1 x 75 mm, 5 µm** **660750-902**
Fase móvil:	A: 95% de H_2O: ACN al 5% con TFA al 0,1% B: 5% de H_2O: ACN al 95% con TFA al 0,085%
Gradiente	B al 0-60% en 60 min
Temperatura:	35-40 °C
Velocidad de flujo:	2 ml/min

Comience con un pH bajo con gradiente acuoso/orgánico simple

Normalmente se usa un gradiente de agua/acetonitrilo con TFA al 0,1% para eluir todos los componentes de interés. Un gradiente de alta resolución típico en una columna con tamaño de poro de 300 Å requiere de 30 a 50 min. Una columna Poroshell requiere un tiempo de análisis menor y una velocidad de flujo mayor y, aún así, proporciona una resolución excepcional. Para mejorar la resolución, aumente el tiempo de gradiente, reduzca la longitud de la columna o aumente la velocidad de flujo.

Optimice la solubilidad de la muestra

Para obtener una forma de pico y una recuperación mejores con cualquier pH, es importante solubilizar la muestra por completo. Con ZORBAX 300StableBond y Poroshell 300SB se pueden usar disolventes muy ácidos o neutros, mientras que con ZORBAX 300Extend-C18 se pueden usar disolventes neutros y bases diluidas.

Opciones de disolvente para solubilizar proteínas y péptidos

Agua/tampón fosfato
Ácido diluido (TFA, ácido acético o HCl)
pH neutro, hidrocloruro de guanidina o isotiocianato 6-8 M
HOAc al 5%/urea 6 M
Ácido diluido + disolventes acuosos/orgánicos (ACE, MeOH, THF)
Base diluida (hidróxido amónico)
DMSO o 0,1-1% en DMSO
Formamida

El más débil
↓
El más fuerte

Aumente la temperatura

Las separaciones de proteínas y péptidos se ven influidas por la temperatura; una mayor temperatura de la columna puede mejorar drásticamente tanto la resolución como la recuperación de proteínas y de péptidos hidrófobos y de agregación.

StableBond 300SB, hasta 80 °C

Poroshell 300SB, hasta 80 °C

Optimice el pH de la fase móvil
Pruebe un pH medio o alto si el pH bajo no funciona

Si un método optimizado de pH bajo no proporciona una separación ideal, se puede usar una fase móvil con pH medio o alto. Con pH alto, la selectividad suele ser muy diferente porque los aminoácidos ácidos pasan a tener carga negativa y algunos aminoácidos básicos pueden perder su carga. ZORBAX 300Extend-C18 es una opción excelente para la separación a pH medio a alto.

Columna:	**ZORBAX 300Extend-C18 4,6 x 150 mm, 5 µm 773995-902**	Gradiente	B al 5-60% en 30 min
		Temperatura:	25-30 °C (<60 °C)
Fase móvil:	A: NH_4OH 20 mM en H_2O	Velocidad de flujo:	1 ml/min
	B: de NH_4OH 20 mM en ACN al 80%		

Opciones de columnas iniciales para la separación analítica de péptidos, polipéptidos y proteínas

pH bajo		pH medio y alto
PM <50 kDa **ZORBAX 300SB-C8** **4,6 x 150 mm, 3,5 µm** 863973-906	**PM <1 000 kDa** **Poroshell 300SB-C18** **2,1 x 75 mm, 5 µm** 660750-902	**PM <25 kDa** **ZORBAX 300Extend-C18** **2,1 x 150 mm, 3,5 µm** 763750-902

Métodos de LC/MS de fase reversa

La LC/MS de proteínas y péptidos se usa para proporcionar información para la caracterización de proteínas, para identificar de forma precisa las modificaciones posteriores a la traducción de las proteínas y para determinar el peso molecular de péptidos naturales y sintéticos. La LC/MS también se usa para llevar a cabo la identificación de proteínas en separaciones 2D en aplicaciones proteómicas. Por consiguiente, la LC/MS de proteínas y péptidos es un área de separación crítica que precisa algunas recomendaciones especiales en cuanto a las columnas y la fase móvil. Por lo general, para LC/MS se utilizan los tamaños de columna más pequeños y normalmente no se usa TFA en la fase móvil debido a que, con este aditivo, se reduce la sensibilidad de la MS.

Opciones de columna iniciales para la separación de LC/MS de proteínas y polipéptidos

Aplicaciones de LC/MS analíticas: las columnas con un d.i. de 2,1 mm proporcionan buena sensibilidad cuando el tamaño de la muestra no está limitado. Con las columnas Poroshell, se utilizan columnas con un d.i. menor, 1 mm.

pH bajo		pH medio y alto
PM <50 kDa **ZORBAX 300SB-C8** **2,1 x 150 mm, 3,5 µm** 863750-906	**PM <1 000 kDa** **Poroshell 300SB-C18** **1,0 x 75 mm, 5 µm** 661750-902	**PM <25 kDa 300** **ZORBAX 300Extend-C18** **2,1 x 150 mm, 3,5 µm** 763750-902

Aplicaciones de alta sensibilidad/proteómicas

Las columnas capilares se utilizan para aplicaciones con proteínas y péptidos de alta sensibilidad. Las columnas con d.i. de 0,5 mm se utilizan para separaciones de proteínas y digestiones de proteínas, mientras que las columnas con d.i. de 0,3 mm se suelen utilizar para las digestiones de proteínas. Estas se pueden analizar con pH alto con una fase móvil de hidróxido amónico. Las nanocolumnas (d.i. de 0,1 y 0,075 mm) suelen utilizarse en sistemas de LC/MS 2D para aplicaciones proteómicas y la opción inicial es C18 de fase ligada.

Métodos para columnas de intercambio iónico Bio

Anticuerpos monoclonales Bio MAb	Intercambio catiónico (SCX, WCX) Anticuerpos monoclonales, proteínas, péptidos y glicoproteínas	Intercambio aniónico (SAX, WAX) Oligonucleótidos, proteínas

Condiciones iniciales recomendadas

	Anticuerpos monoclonales Bio MAb	Intercambio catiónico (SCX, WCX) Anticuerpos monoclonales, proteínas, péptidos y glicoproteínas	Intercambio aniónico (SAX, WAX) Oligonucleótidos, proteínas
Fase móvil:	A: Fosfato sódico 20 mM, pH 5,5 B: Tampón A más NaCl 400 mM	A: Fosfato sódico 20 mM, pH 5,0 para WCX o pH 6,0 para SCX B: Tampón A más NaCl 500 mM	A: Tampón Tris 10 mM, pH 8 para WAX o pH 9,0 para SAX B: Tampón A más NaCl 400 mM
Gradiente	B al 10-35% en 50 min	B al 1-100% en 30 min para columnas de 50 mm; 60 min para columnas de 250 mm	B al 1-100% en 30 min para columnas de 50 mm, 60 min para columnas de 250 mm
Tamaño de muestra:	2 mg/ml; inyección de 5 µl	2 mg/ml; inyección de 5 µl	2 mg/ml; inyección de 5 µl
Temperatura:	Ambiente	Ambiente	Ambiente
Detección:	UV, 220 nm	UV, 220/280 nm	UV, 220/280 nm

Seleccione la velocidad de flujo en función del diámetro de la columna y el tamaño de partícula

Columnas de 2,1 mm de d.i.		Columnas de 4,6 mm de d.i.	
Tamaño de partícula, µm	**Velocidad de flujo, ml/min**	**Tamaño de partícula, µm**	**Velocidad de flujo, ml/min**
5	0,1-0,5	1,7	0,1-0,3
1,7	0,1-0,8	3	0,1-0,5
		5	0,1-0,8
		10	0,1-1,0

Optimice las condiciones

Algunas separaciones podrían requerir un tampón, una fuerza iónica, un pH o una temperatura específicos

Fuerza iónica

Se necesita una fuerza iónica determinada para mantener la función de las columnas. Normalmente se necesita una concentración mínima de sal de 10-20 mM. Sin embargo, una fuerza superior a 20 mM podría impedir la adsorción de biomoléculas en la columna. Las sales que se utilizan habitualmente son el cloruro sódico y potásico, y el acetato. Para la elución, la concentración típica de sal es de 400-500 mM.

Nota: no utilice nunca agua sola para lavar las columnas ya que provoca un aumento importante de la contrapresión.

Selección de tampones y pH

Los tampones juegan un papel clave en la optimización de las separaciones. Los tampones de fosfato suelen utilizarse para anticuerpos y numerosas biomoléculas. Se recomiendan también los siguientes tampones: MES, Tris y ACES. Utilice tampones con un pH 5,0-6,5. Normalmente el pH se puede ajustar en +/- 0,2 unidades. Para algunas proteínas específicas podrían ser necesarios tampones con un pH mayor (pH >6,5). Para ajustar el pH se puede utilizar ácido fosfórico, ácido acético, HCl y NaOH.

Para la elución también se pueden usar gradientes de pH.

Selección de tampones y pH

Para el intercambio aniónico se recomiendan tampones de acetato y fosfato de pH 8,0-9,0. Normalmente el pH se puede ajustar en +/- 0,2 unidades. Para algunas proteínas determinadas podrían ser necesarios tampones con un pH mayor o menor. Para ajustar el pH se puede utilizar ácido fosfórico, ácido acético, HCl y NaOH.

Para la elución también se pueden usar gradientes de pH.

Aditivos

Disolventes orgánicos

Se puede usar acetonitrilo, etanol, metanol y otros disolventes similares hasta el 50%.

Detergentes

Se pueden usar detergentes no iónicos, aniónicos y zwitteriónicos. No se recomiendan los detergentes catiónicos.

Aditivos

Disolventes orgánicos

Se puede usar acetonitrilo, etanol, metanol y otros disolventes similares hasta el 50%.

Detergentes

Se pueden usar detergentes no iónicos, catiónicos y zwitteriónicos. No se recomiendan los detergentes aniónicos.

Temperatura

Las columnas Agilent Bio MAb e IEX son estables hasta 80 °C. Sin embargo, muchas proteínas y biomoléculas son termolábiles. Asegúrese de establecer la estabilidad de la temperatura de la muestra antes de usar altas temperaturas para la separación.

Métodos para columnas de SEC

Elija las columnas y condiciones iniciales para la separación basada en tamaño de biomoléculas, análisis de agregación: péptidos, polipéptidos y proteínas

Péptidos, polipéptidos, proteínas
PM >0,1-1.250 kDa

Péptidos, polipéptidos, proteínas
PM >0,1-10.000 kDa

Seleccione la columna en función del rango de pesos moleculares y del tamaño de poro

Agilent Bio SEC-3 (3 µm)

Tamaño de poro	Rango de PM, kDa
100 Å	0,1-100
150 Å	0,5-150
300 Å	5-1.250

Agilent Bio SEC-5 (5 µm)

Tamaño de poro	Rango de PM, kDa
100 Å	0,1-100
150 Å	0,5-150
300 Å	5-1.250
500 Å	15-5.000
1.000 Å	50-7.500
2.000 Å	>10.000

Condiciones iniciales de separación recomendadas

Columna: Agilent Bio SEC (3 µm y 5 µm)

Fase móvil: Tampón fosfato, 150 mM, pH 7,0*

Gradiente Isocrática en rango de 30-60 min

Temperatura: Recomendado: 10-30 °C, máximo: 80 °C

Velocidad de flujo: 0,1-0,4 ml/min para columnas de 4,6 mm de d.i.

0,1-1,25 ml/min para columnas de 7,8 mm de d.i.

Tamaño de muestra: ≤ 5% del volumen total de la columna

*Se pueden usar otros tampones acuosos con alta o baja concentración de sal.

Para obtener más información, consulte la nota de aplicación: *Defining the Optimum Parameters for Efficient Size Separations of Proteins* (n.º de publicación 5990-8895EN).
www.agilent.com/chem/library

Después del cromatograma inicial, puede ser necesario realizar cambios adicionales para mejorar la separación, mantener la solubilidad de las proteínas o para reducir la interacción de la muestra con los medios cromatográficos. Se puede aumentar o disminuir la fuerza iónica de la fase móvil para obtener una separación óptima. Normalmente también se puede ajustar el pH en + 0,2 unidades. Si fuera necesaria una mayor optimización, debe ampliarse el rango hacia arriba o hacia abajo. También se puede modificar la temperatura o agregar un disolvente orgánico.

Estos son los tampones típicos para los protocolos que requieren sal adicional:

Cloruro sódico 100-150 mM en fosfato sódico 50 mM, pH 7,0.

Sulfato sódico 100-150 mM en fosfato sódico 50 mM, pH 7,0.

Urea 50-100 mM en fosfato sódico 50 mM, pH 7,0.

También se pueden utilizar otras sales similares (como KCl) e hidrocloruro de guanidina.

Intervalo de pH:

2,0-8,5

Las posibles adiciones de disolventes orgánicos incluyen:

Etanol al 5-10% (u otros disolventes similares) en fosfato sódico 50 mM, pH 7,0.

DMSO al 5% en fosfato sódico 50 mM, pH 7,0.

Temperatura:

Normalmente, las separaciones por SEC se realizan a 20-30 °C. La separación de proteínas y péptidos podría requerir temperaturas mayores para mejorar tanto la resolución como la recuperación de proteínas y péptidos hidrófobos.

La temperatura máxima de las columnas Bio SEC es de 80 °C.

Métodos para columnas capilares de alta sensibilidad

Consideraciones de la fase móvil

pH bajo	pH medio y alto
Por lo general no se utiliza TFA para separaciones mediante LC/MS de proteínas y péptidos. Normalmente, el primer paso es reemplazar el TFA con ácido fórmico al 0,1-1%. También se puede usar ácido acético, hasta el 1%, como modificador alternativo de fase móvil. Aún es posible obtener la mejor separación con un pH bajo, con TFA en la fase móvil. En algunos casos, el TFA puede desplazarse después de la columna con un ácido alternativo, por ejemplo, ácido propiónico.	La LC/MS también se puede llevar a cabo con un pH alto, con 10-20 mM de NH_4OH como aditivo de fase móvil.



Nanocolumnas

Columnas capilares y nanocolumnas

- Máxima sensibilidad para sus muestras más pequeñas
- Compatibilidad con todas las interfases LC/MS
- Diámetros internos de 0,5, 0,3, 0,1 y 0,075 mm
- Rellenos/fases para moléculas tanto pequeñas como grandes (tamaños de poro de 80 Å y 300 Å, respectivamente)
- Ideales para aplicaciones 1D y 2D (proteómicas)

Las columnas capilares (0,5 mm, 0,3 mm de d.i.) y nanocolumnas (0,1 mm, 0,075 mm de d.i.) Agilent ZORBAX están ahora disponibles en una amplia variedad de fases, tamaños de poro y dimensiones. Estas columnas son ideales para aplicaciones con severas limitaciones de muestra porque ofrecen una sensibilidad mejorada reduciendo la dilución de la muestra en la columna. Esa alta sensibilidad se puede conseguir con excepcional reproducibilidad usando columnas e instrumentos HPLC de baja dispersión de Agilent. La aplicación de mayor crecimiento para las columnas capilares y nanocolumnas es el análisis LC/MS 2D de complejas muestras proteómicas. Agilent proporciona todas las columnas necesarias para la separación 2D: las columnas SCX para la primera dimensión, la columna trampa de fase reversa y la columna de fase reversa para la segunda dimensión.

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

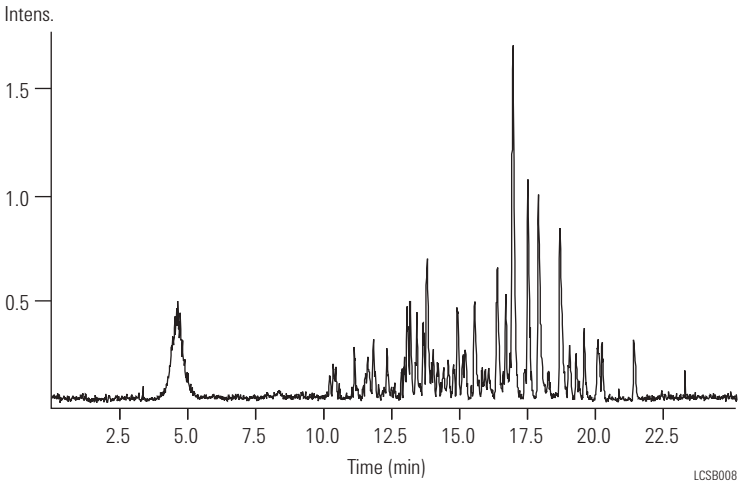
Agilent ofrece diferentes e-seminarios y formación presencial para ayudarle a convertirse en un experto eficiente en cromatografía.

Para obtener más información, visite **www.agilent.com/chem/education**



Nanocolumnas ZORBAX para el análisis de alta sensibilidad mediante LC/MS de digestos proteicos

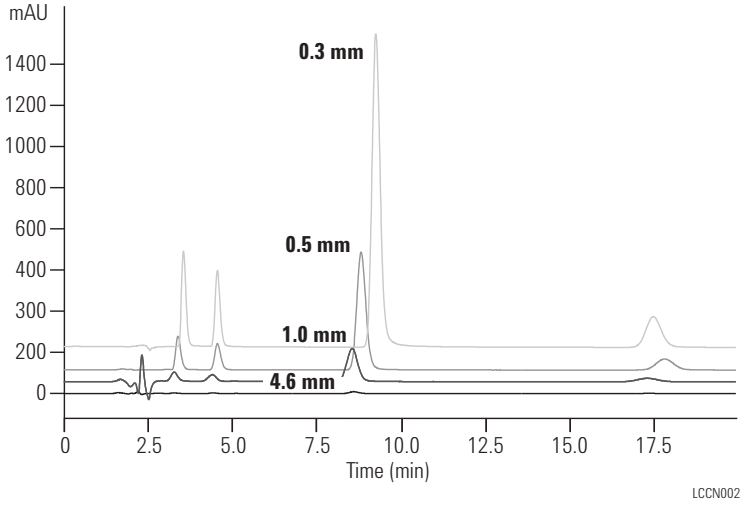
Columna:	**ZORBAX 300SB-C18** **5065-9911** **0,075 x 150 mm, 3,5 µm**
Fase móvil:	A: Agua + ácido fórmico al 0,1% B: ACN + ácido fórmico al 0,1%
Velocidad de flujo:	600 nl/min
Gradiente:	De 2% B a 52% B en 25 min
Detector:	MS con nanoelectrospray de ión positivo
Muestra:	Digestión de 8 proteínas 100 fm (1 µl)



Para el análisis de alta sensibilidad mediante LC/MS de una muestra de digestos proteicos se utiliza una nanocolumna de HPLC ZORBAX, d.i. 0,075 mm.

Alta sensibilidad con columnas capilares

Columna:	**ZORBAX SB-C18** **5064-8255** **0,3 x 150 mm, 5 µm**
Columna:	**ZORBAX SB-C18** **5064-8256** **0,5 x 150 mm, 5 µm**
Columna:	**ZORBAX SB-C18** **863600-902** **1,0 x 150 mm, 3,5 µm**
Columna:	**ZORBAX SB-C18** **883975-902** **4,6 x 150 mm, 5 µm**
Muestra:	200 ng bifenil



Las aplicaciones con limitaciones de muestra requieren dimensiones de columna capilar para minimizar la dilución de la muestra en la columna y mejorar la sensibilidad. El capilar de 0,3 mm de este ejemplo ofrece una sensibilidad 100 veces mayor que la columna estándar de 4,6 mm. Las columnas Agilent Nanobore (d.i. de 0,1 mm a 0,075 mm) pueden proporcionarle una sensibilidad hasta 2 000 veces superior para las aplicaciones de muestras más limitadas.

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

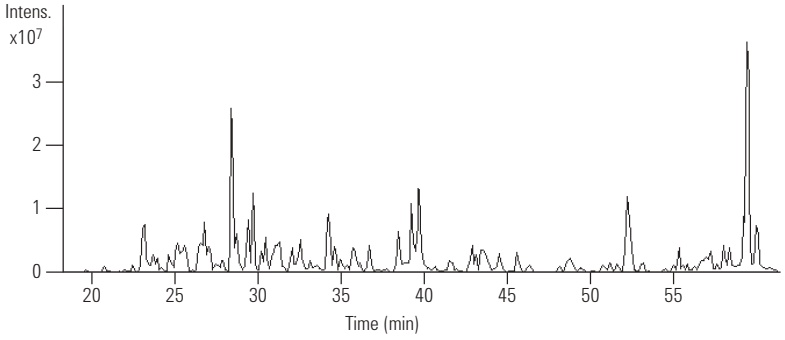
Fase móvil: A: Agua + ácido fórmico al 0,1%
B: Acetonitrilo + ácido fórmico al 0,1%

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

Cromatograma de picos base



Proteínas identificadas

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

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 100mm (P/N 5185-5985) seguida por un digesto en gel 1-D.

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

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

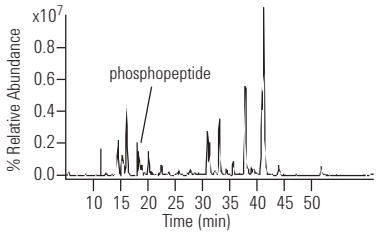
Gradiente: 5-55% B en 50 min
85% B en 55-57

Detector: UV, 206 nm

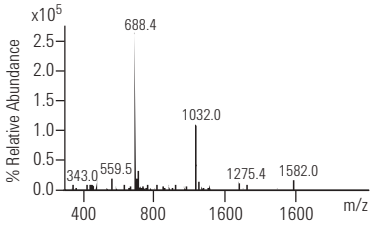
Condiciones de MS: LC/MS: iones positivos, ESI con trampa LC/MSD
Vcap: 4 000 V
Flujo de gas de secado: 7 l/min
Temperatura de gas de secado: 250 °C
Nebulizador: 15 psi
Tensión de salida de la columna capilar: 50 V máx.
Tiempo de acumulación: 300 ms
Promedios totales: 3
Anchura del aislamiento: 3 m/z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

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

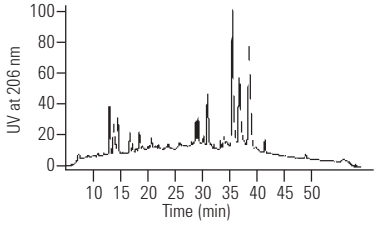
MS



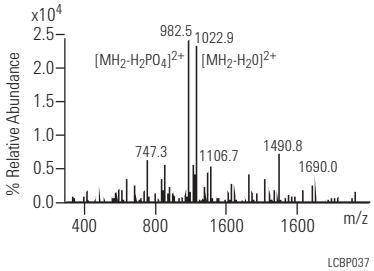
Full Scan MS



UV



MS/MS of [M+2H]$^{2+}$ at m/z 1032



Columnas capilares para análisis HPLC con detección UV y MS

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

Fase móvil: 5-55% de B en 50 min, hasta el 85% de B desde 55-57 min
A: Agua + ácido fórmico al 0,1%
B: Acetonitrilo + ácido fórmico al 0,1%

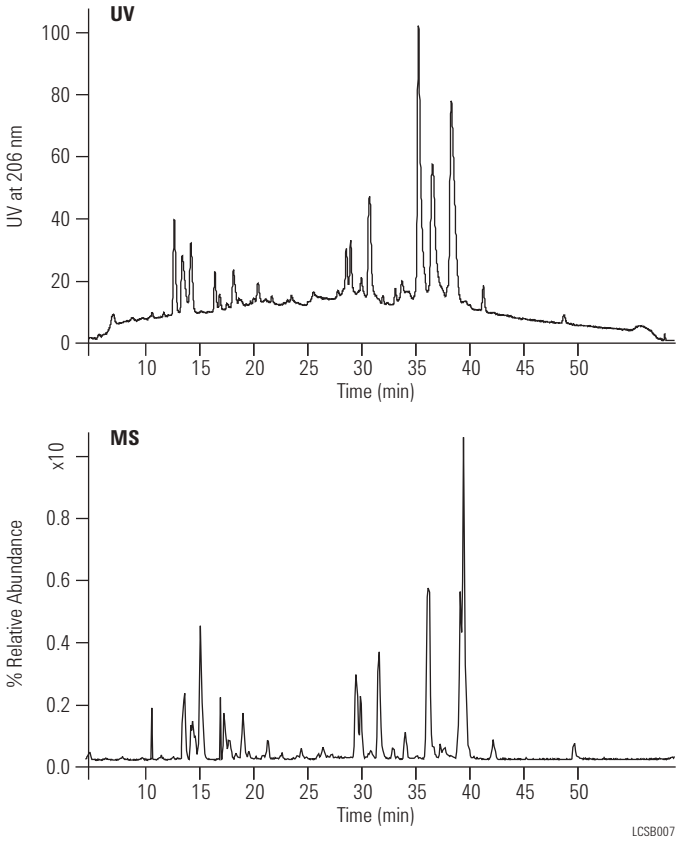
Velocidad de flujo: 5,5 µl/min

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
Tiempo de acumulación máx: 300 ms
Promedios totales: 3
Anchura del aislamiento: 3 m/z
Amplitud de fragmentación: 1,0 V

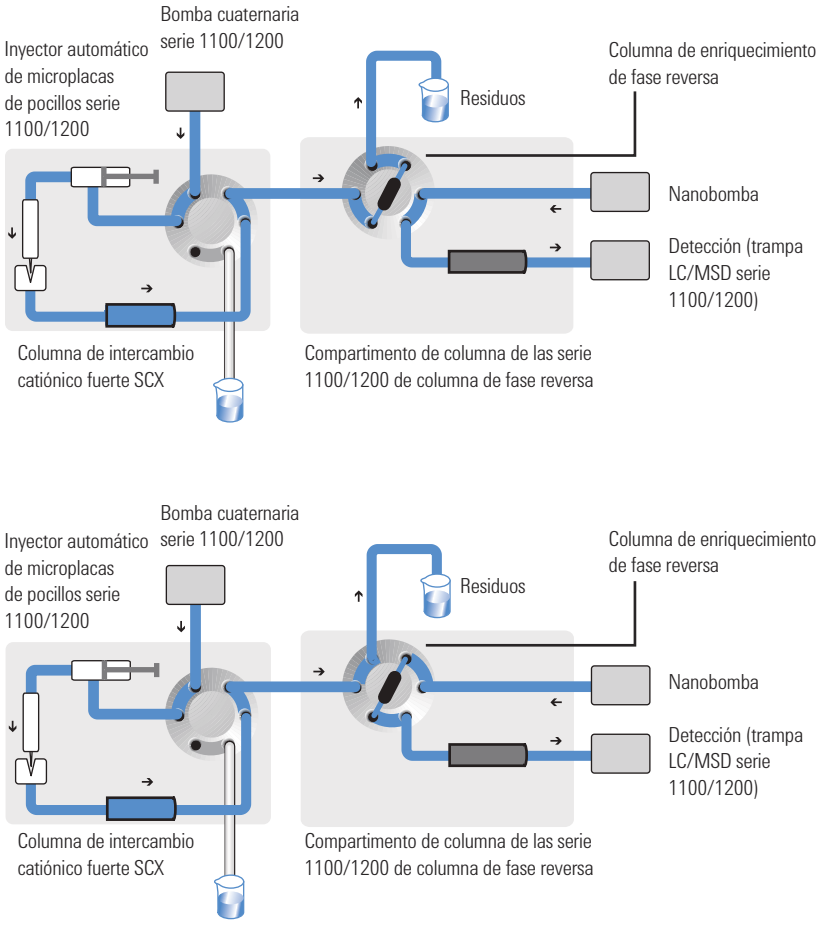
Muestra: 100 nl
Digesto de beta caseína (4 pmol)

Para la separación de la digestión de proteínas se utiliza una columna capilar ZORBAX 300SB-C18 (d.i. 0,3 mm). La detección se realiza mediante UV y MS de electrospray. La detección con MS se puede utilizar para la identificación de fragmentos de péptidos.



Análisis 2-D LC/MS con columnas capilares y nanocolumnas LC ZORBAX

Configuración típica de columna para 2-D HPLC



Ruta de flujo de un sistema Agilent personalizado para solución proteómica de nanoflujo.
1. Carga de las muestras, elución desde SCX y confinamiento en la columna de enriquecimiento.
2. Conmutación de las válvulas en el compartimento de la columna, elución desde la columna de enriquecimiento, separación en fase reversa y análisis mediante MS.

Determinación de proteínas de una muestra compleja mediante HPLC 2D con nanocolumnas para HPLC

Columna: **ZORBAX 300SB-C18**
5065-9913
0,3 x 5 mm, 5 µm

Columna: **ZORBAX 300SB-C18**
5065-9911
0,075 x 150 mm, 3,5 µm

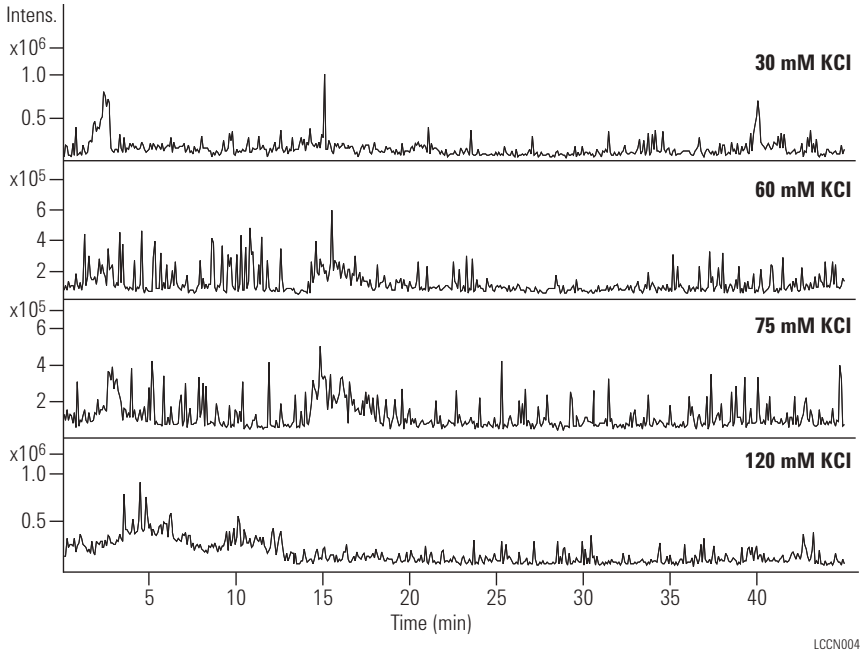
Fase móvil: Bomba cuaternaria:
acetonitrilo al 3%/ácido fórmico al 0,1%
Nanobomba: A = agua, ácido fórmico al 0,1%,
B = ACN, ácido fórmico al 0,1%

Velocidad de flujo: Bomba cuaternaria: 30 µl/min
Nanobomba: 300 nl/min

Gradiente: Bomba cuaternaria: Isocrático
Nanobomba:
6 min = 3% B, 120 min = 60% B, 125 min = 80% B,
130 min = 80% B, 131 min = 3% B, 140 min = 3% B

Condiciones de MS: Fuente: Nano ESI, flujo de gas de secado:
5 l/min, temp. de gas de secado: 225 °C
Trampa de iones: Skim: 1:35 V, desfase de salida del tapón: 115 V, octopolo 1:12 V, octopolo 2:3,5 V, unidad de trampa: 80 V. ICC: activado, promedios: 4, tiempo prec. máx.: 150 ms; objetivo 60.000, positivo modo ión, modo MS/MS.

Muestra: Digesto tríptico de seroalbúmina bobina
Volumen: 1 a 8 µl
Elución de paso de sal: 8 ml de 10 mM-100 mM KCl (incrementos de 10 mM), 125 mM, 150 mM, 200 mM, 300 mM, 500 mM, 1 M.



Digesto tríptico de seroalbúmina bobina (BSA). Los cromatogramas de picos básicos muestran una selección de fracciones de una separación 2-D HPLC. Los cromatogramas simples representan péptidos de BSA en elución a una concentración de sal determinada seguida de una cromatografía de fase reversa y enriquecimiento.



Nanocolumnas

ZORBAX Bio-SCX Serie II

ZORBAX tiene también columnas Bio-SCX Serie II, diseñadas para separaciones 2D optimizadas de péptidos y proteínas usando LC/MS. Este relleno se basa en partículas de sílice ultrapura ZORBAX de 3,5 µm ligadas con un polímero biocompatible funcionalizado con grupos de ácido sulfónico. Eso aporta una fuerte retención y buena forma de pico en el paso de intercambio iónico del análisis 2D de péptidos y proteínas.

Especificaciones de columnas

Fase ligada	Tamaño de poro	Superficie específica	Rango de pH	Funcionalidad	Presión máxima
ZORBAX Bio-SCX Serie II	300 Å	90 m^2/g	2,5-8,5	Ácido sulfónico	350 bares

ZORBAX Bio-SCX Serie II

Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Bio-SCX Serie II
Capilar	0,3 x 35	3,5	5065-9912
Capilar	0,8 x 50	3,5	5065-9942

Retención superior de péptidos de tamaño pequeño con ZORBAX Bio-SCX serie II

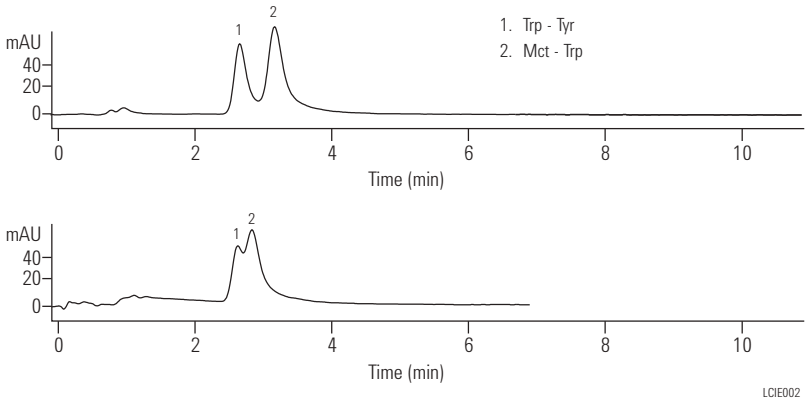
Columna: **ZORBAX Bio-SCX Serie II**
5065-9912
0,3 x 35 mm, 3,5 µm

Fase móvil: 95% de NaCL 40 mM: ACN al 5%, Ácido fórmico al 0,3%

Velocidad de flujo: 5 µl/min

Detector: 230 nm

Muestra: Dipéptidos sintéticos



LCIE002

La nueva columna ZORBAX Bio-SCX Serie II ofrece una mayor retención de péptidos de menor tamaño que otras columnas SCX. El resultado es una mayor resolución de más fragmentos de péptidos hidrófilos y una identificación más precisa en el empleo de estas columnas para análisis 2-D HPLC.

Columnas capilares de HPLC ZORBAX (acero inoxidable forrado de vidrio)

Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	300SB-C18	300SB-C8	Poroshell 300SB-C8	300Extend-C18	Bio-SCX Serie II
Capilar	0,8 x 50	3,5					5065-9942
Capilar	0,5 x 250	5	5064-8266				
Capilar	0,5 x 150	5	5064-8264				
Capilar RR	0,5 x 150	3,5	5064-8268				
Capilar	0,5 x 75	5			5065-4468		
Capilar	0,5 x 35	5	5064-8294				
Capilar RR	0,5 x 35	3,5	5065-4459				
Capilar	0,3 x 250	5	5064-8265				
Capilar	0,3 x 150	5	5064-8263				
Capilar	0,3 x 35	5	5064-8295				
Capilar	0,3 x 35	3,5					5065-9912
Capilar RR	0,3 x 150	3,5	5064-8267	5065-4460		5065-4464	
Capilar RR	0,3 x 100	3,5	5064-8259	5065-4461		5065-4465	
Capilar RR	0,3 x 75	3,5	5064-8270	5065-4462		5065-4466	
Capilar RR	0,3 x 50	3,5	5064-8300	5065-4463		5065-4467	
Pantallas de repuesto, 10/paq.			5065-4427	5065-4427	5065-4427	5065-4427	



Precolumna/trampa ZORBAX 300SB-C18, 5065-9913

Nanocolumnas de HPLC ZORBAX (PEEK)

Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7
Nano RR	0,1 x 150	3,5	5065-9910	
Nano RR	0,075 x 150	3,5	5065-9911	
Nano RR	0,075 x 50	3,5	5065-9924	5065-9923
Trampa/Precolumna, 5/paq.	0,3 x 5	5	5065-9913	5065-9914
Kit de soporte de la precolumna/trampa			5065-9915	5065-9915

Columnas MicroBore (1.0 mm d.i.)

- Alta sensibilidad para pequeños tamaños de muestra
- Compatibles con interfases LC/MS
- Amplia variedad de fases ligadas
- Partículas poliméricas y de sílice

Las columnas Agilent ZORBAX MicroBore (diámetro interno de 1,0 mm) suelen ser una buena opción si los volúmenes de muestra son limitados. Permiten aumentar los límites de detección 5 veces en las columnas con un diámetro interno de 2,1 mm si se usa la misma masa de muestra. Este aumento de la sensibilidad puede ser fundamental. Las columnas MicroBore usan velocidades de flujo bajas (normalmente, ~ 50 µl/min). Por lo tanto, estas columnas son ideales para su uso con detectores que requieren velocidades de flujo bajas, como determinados espectrómetros de masas y sistemas capilares para LC.

Las columnas MicroBore ofrecen un rendimiento óptimo con los sistemas de HPLC adquiridos o modificados para el uso de microbore. Hay disponible una amplia variedad de fases ligadas para su uso hasta 400 bares, incluidas las columnas StableBond SB-C18, SB-C8, 300SB-C18, Eclipse XDB-C18 y XDB-C8, Bonus RP, Extend C-18 y Poroshell. Además, hay disponibles precolumnas con una profundidad de tope de tubo ajustable para permitir una conexión perfecta de volumen muerto cero en cada proceso.

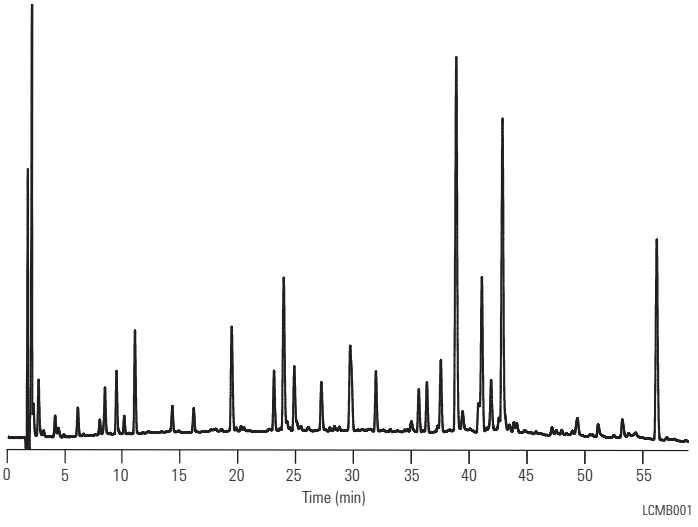


Fase ligada 300 StableBond protegida estéricamente

Separación de una digestión tríptica con ZORBAX MicroBore 300SB-C18

Columna:	**ZORBAX 300SB-C18** **863630-902** **1,0 x 150 mm, 3,5 µm**
Fase móvil:	Gradiente: 2-60% de B en 60 min A: TFA al 0,1% B: TFA al 0,075%/ACN al 80%
Velocidad de flujo:	50 µl/min
Temperatura:	50 °C
Detector:	UV, 215 nm
Muestra:	2 µl Digesto tríptico de rhGH

Este ejemplo de una digestión tríptica separada con una columna MicroBore muestra la alta sensibilidad y resolución que se pueden obtener con columnas de 1,0 mm de d.i.

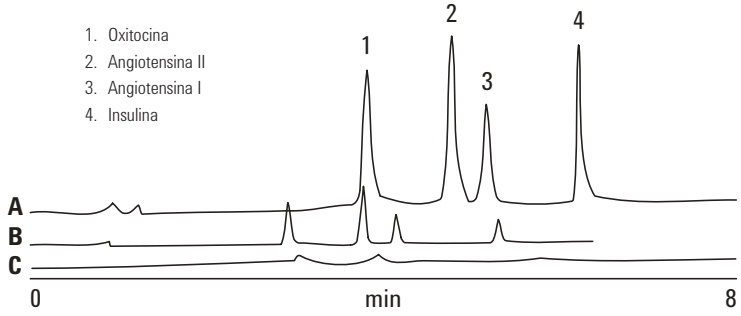


HPLC Microbore para análisis peptídicos sensibles

Columna:	**PLRP-S, 100 Å** **5 µm, 150 mm x varios diámetros internos**
Fase móvil:	A: Tris HCl 0,01 M, pH 8 B: A + NaCl 0,35 M, pH 8
Velocidad de flujo:	1 ml/min
Gradiente:	Lineal 20% de ACN, TFA al 0,1% hasta 50% de ACN, TFA al 0,1% en 15 min
Volumen de inyección:	0,5 µl
Conc. de muestra:	0,25 mg/ml
Detector:	UV, 220 nm

Separación de péptidos en columnas de 5 µm y 100 Å PLRP-S Agilent.

Identificación de picos
A. 1,0 mm d.i. (velocidad de flujo 47 µl/min)
B. 2,1 mm d.i. (velocidad de flujo 200 µl/min)
C. 4,6 mm d.i. (velocidad de flujo 1 ml/min)



Identificación de picos
◆ 1,0 mm
■ 2,1 mm
▲ 4,6 mm

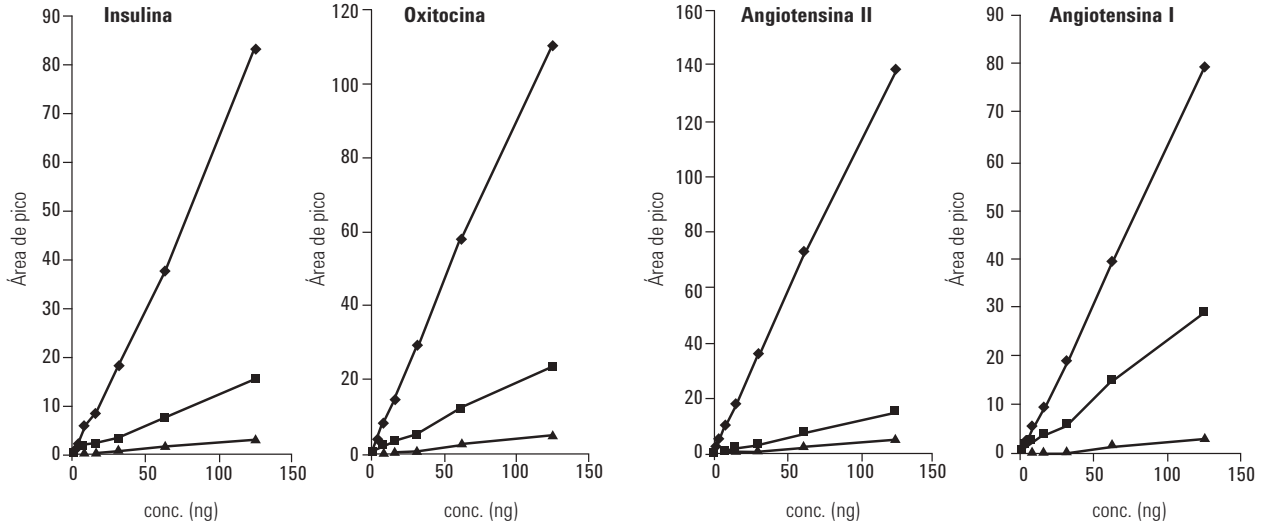


Gráfico de curva estándar en columnas Agilent PLRP-S.

MicroBore (1,0 mm d.i.)

Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7		
MicroBore	1,0 x 250	5	861630-902			
MicroBore RR	1,0 x 150	3,5	863630-902	863630-906		
MicroBore RR	1,0 x 50	3,5	865630-902	865630-906		
Precolumna MicroBore, 3/paq.	1,0 x 17	5	5185-5920	5185-5920		
Descripción	**Tamaño (mm)**	**Tamaño de partícula (µm)**	**Poroshell 300SB-C18**	**Poroshell 300SB-C8**	**Poroshell 300SB-C3**	**Poroshell 300Extend-C18**
MicroBore	1,0 x 75	5	661750-902	661750-906	661750-909	671750-902
Precolumna MicroBore, 3/paq.	1,0 x 17	5	5185-5968	5185-5968	5185-5968	
Descripción	**Tamaño (mm)**	**Tamaño de partícula (µm)**	**PLRP-S 100 Å USP L21**	**PLRP-S 300 Å USP L21**	**PLRP-S 1.000 Å USP L21**	**PLRP-S 4.000 Å USP L21**
MicroBore	1,0 x 150	3	PL1312-3300			
MicroBore	1,0 x 50	3	PL1312-1300	PL1312-1301		
MicroBore	1,0 x 50	5	PL1312-1500	PL1312-1501	PL1312-1502	PL1312-1503
MicroBore	1,0 x 50	8			PL1312-1802	PL1312-1803
Descripción	**Tamaño (mm)**	**Tamaño de partícula (µm)**	**PL-SAX 1000Å**	**PL-SAX 4000Å**	**PL-SCX 1000 Å**	**PL-SCX 4000 Å**
MicroBore	1,0 x 50	5	PL1351-1502	PL1351-1503	PL1345-1502	PL1345-1503



Columnas poliméricas HPLC preparativa

Purificación – HPLC preparativa

Agilent dispone de una completa gama de columnas y medios para HPLC de sílice y poliméricos diseñados para la purificación de biomoléculas. Son columnas preparativas para partículas pequeñas de gran eficacia para la purificación de cantidades de µg y mg de un candidato a fármaco biofarmacéutico, y medios a granel completamente porosos para rellenar las columnas de desarrollo y procesamiento para purificar cantidades de 100 g, kg y multi-kilogramos de API.

Algunas columnas están diseñadas específicamente para satisfacer las necesidades de purificación de gran eficacia, mientras que otros productos ofrecen una escalabilidad sencilla desde columnas analíticas para partículas pequeñas hasta la producción de API a gran escala. En la **Tabla 1** se muestran las opciones de columnas y medios preparativos y la cantidad de producto que se puede purificar.

Ciclo de vida biofarmacéutico		Detección	Desarrollo	Producción
		µg mg Gran eficacia	g	kg multi-kg alto rendimiento
Fase reversa	mRP-C18	→		
	Columnas Prep HT ZORBAX StableBond 300 Å	→	→	
	VariTide RPC	→	→	
	PLRP-S 100Å, 300Å, 1000Å, 4000Å	→	→	→
	PL-SAX	→	→	→
Intercambio iónico	PL-SCX	→	→	→
Exclusión por tamaño	ZORBAX GF-250/450	→	→	

Tabla 1: Columnas y medios de Agilent para la purificación de biomoléculas: tipo cromatográfico, familia de productos y escala de purificación.

Selección de columnas para purificación

Accesorios	Técnica	Notas	Columnas Agilent
Proteómica	Fase reversa	Columna especializada de gran recuperación para aplicaciones proteómicas. Está diseñada para la purificación de cantidades de µg con la máxima recuperación.	mRP-C18
Todas las biomoléculas	Fase reversa	Partículas con base de sílice de 300 Å de gran eficacia.	ZORBAX PrepHT 300SB
Péptidos sintéticos	Fase reversa	Material polimérico diseñado para la purificación de péptidos sintéticos. Es una solución muy eficaz de una sola columna para toda la gama de péptidos sintéticos (ácidos, bases, hidrófobos e hidrófilos) y cubre la gama completa de péptidos producidos mediante síntesis en solución y en fase sólida.	VariTide RPC
Todas las biomoléculas	Fase reversa	Gama de productos de fase reversa poliméricos de la mejor calidad, con una gama de tamaños de poro y tamaños de partícula que permite obtener una purificación en el laboratorio altamente eficaz usando una columna preparativa para partículas pequeñas, y ampliar el sistema para una purificación de procesamiento a gran escala con partículas más grandes. Utilice PLRP-S cuando la purificación se vaya a ampliar para producir API y necesite documentación relativa al cumplimiento de la normativa.	PLRP-S
		• 3 µm y 5 µm para una gran eficacia • Partículas de 8 µm, 10 µm, 10-15 µm, 15-20 µm, 30 µm y 50 µm para la purificación a una escala mayor y a baja presión	
Todas las biomoléculas	Intercambio iónico	Intercambiador aniónico fuerte completamente poroso	PL-SAX
		• Tamaño de partícula de 5 µm para separaciones de gran eficacia • Partículas de 8 µm, 10 µm y 30 µm para la purificación media y de baja presión a una escala mayor	
		Intercambiador catiónico fuerte completamente poroso	PL-SCX
		• Tamaño de partícula de 5 µm para separaciones de gran eficacia • Partículas de 8 µm, 10 µm y 30 µm para la purificación media y de baja presión a una escala mayor	

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Encontrará más información en la siguiente publicación:

Biomolecule Purification (n.º de publicación 5990-8335EN)

www.agilent.com/chem/library



Columnas de cartucho
Zorbax PrepHT StableBond 300Å

ZORBAX PrepHT

Las columnas Agilent Zorbax PrepHT permiten conseguir fácilmente unos niveles altos de pureza, recuperación y rendimiento. Estas columnas están disponibles con una amplia variedad de fases ligadas (StableBond 300 Å, C18, C8, C3 y CN) para optimizar la resolución y capacidad de carga en cualquier condición.

Las columnas Zorbax PrepHT se rellenan con tamaños de partícula de 5 y 7 µm para lograr una resolución muy alta. Esta alta resolución permite a su vez alta capacidad de carga, rendimiento y pureza de los compuestos. Las columnas con un diámetro mayor y las partículas ZORBAX, mecánicamente más resistentes, permiten unas velocidades de flujo de hasta 100 ml/minuto, lo que aumenta el rendimiento.

Las columnas Zorbax PrepHT están diseñadas para un escalado rápido a partir de la escala preparativa sin perder el nivel de resolución. En el caso de separaciones complejas en columnas de mayor tamaño (diámetro interno de 21,2 mm y longitud a partir de 150 mm), Agilent ha seleccionado cuidadosamente el tamaño de partícula de 7 µm para lograr el equilibrio entre el alto rendimiento y la alta capacidad de carga.

ZORBAX StableBond 300 Å

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-CN USP L10	300SB-C3 USP L56
Columnas de cartucho PrepHT (requieren kit de conexiones 820400-901)							
PL	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	897250-102	897250-106	897250-105	897250-109
PL	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	7	897150-102	897150-106		897150-109
PL	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	5	895150-902	895150-906		895150-909
PL	Cartucho PrepHT	21,2 x 100	5	895100-902	895100-906		895100-909
PL	Cartucho PrepHT	21,2 x 50	5	895050-902	895050-906		895050-909
PL	Conexione terminales PrepHT, 2/paq.			820400-901	820400-901	820400-901	820400-901
PL	Precolumna PrepHT, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-921	820212-918	820212-924	820212-924
PL	Hardware de precolumna			820444-901	820444-901	820444-901	820444-901

PLRP-S para preparación para proceso



- La fase de detección hasta la de producción de multi-kg de conformidad con cGMP reduce el tiempo de desarrollo del método.
- La estabilidad química para las separaciones, la optimización, el saneamiento y la regeneración aumentan la selectividad y la vida útil de las columnas.
- Un único lote de relleno para varias columnas reduce el tiempo de inactividad del sistema y los costes de validación.

Los medios PLRP-S (partículas rígidas de poli[estireno/divinilbenzeno]) están disponibles en una variedad de tamaños de poro para purificación de moléculas pequeñas, biomoléculas sintéticas y macromoléculas. Su estabilidad térmica y química las hace ideales para purificaciones que requieran condiciones extremas para la preparación de muestras, elución de compuestos y regeneración de columnas.

La capacidad y la resolución son dos parámetros clave para maximizar el rendimiento de una purificación. Con una gran selección de tamaños de poro y el amplio rango de condiciones operativas, PLRP-S ofrece más opciones para conseguir el mejor proceso. Los tamaños de partícula varían desde 3 µm hasta 50 µm para escalado desde la fase de detección de µg/mg hasta la producción de multi-kg de conformidad con cGMP. La excelente estabilidad química, de hasta 1 M de NaOH, permite el saneamiento y la regeneración que aumentan la vida útil de las columnas. Disponemos de lotes de medios de hasta 600 l, que permiten rellenar varias columnas con un solo lote.

Como parte de nuestro compromiso con la calidad y el suministro continuo, todo el proceso de fabricación se lleva a cabo siguiendo un proceso totalmente documentado. Disponemos de un archivo maestro de medicamentos (DMF) del tipo II y de archivos de conformidad con la normativa, ya que se realizan de forma rutinaria auditorías de los materiales del proceso y de las instalaciones.



Guía de aplicación del proceso preparativo PLRP-S

	Tamaño de poro medio PLRP-S			
Aplicación	**100Å**	**300Å**	**1000Å**	**4000Å**
Biomoléculas, péptidos y oligonucleótidos sintéticos	✓	✓		
Biomoléculas, péptidos y proteínas recombinadas	✓	✓		
Biomoléculas grandes, anticuerpos y fragmentos de ADN			✓	✓
Moléculas pequeñas, compuestos inestables incluyendo sensibilidad al metal	✓			

Especificaciones de columnas

Rango de pH	1-14
Contenido del tampón	Ilimitado
Modificador orgánico	1-100%
Límites de temperatura	200 °C
Presión máxima	5-8 µm: 3000 psi (210 bares)
	3 µm: 4000 psi (300 bares)

Purificación de un oligonucleótido sin tritilo de 25 mer y cuantificación analítica de la fracción con PLRP-S 100 Å, 4,6 x 50 mm

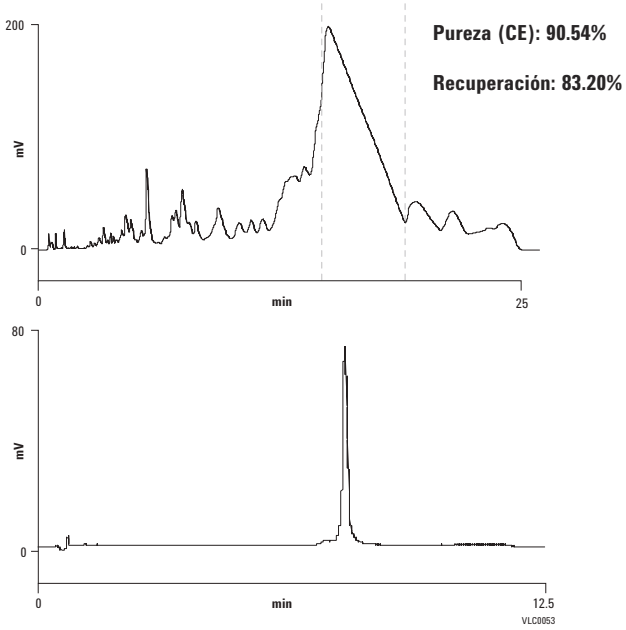
Columna: **PLRP-S 100 Å**
PL1512-1300
4,6 x 50 mm, 3 µm

Fase móvil: A: acetato de trietilamonio (TEAA) 100 mM
B: TEAA 100 mM en 25:75 de acetonitrilo:agua

Velocidad de flujo: 1 ml/min

Gradiente: B al 25% en 0 min, B al 35% en 2 min,
B al 45% en 22,5 min, B al 45% en 23 min,
B al 25% en 23,05 min, B al 25% en 26 min

Temperatura: 80 °C



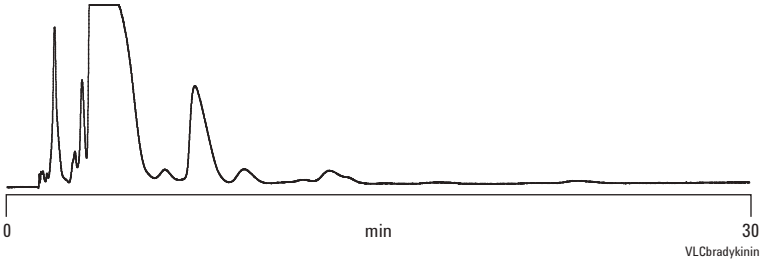
Carga prep. de bradiquinina en crudo

Columna: **PLRP-S 100 Å**
PL1512-5100
4,6 x 250 mm, 10 µm

Muestra: 30 µl con 1,5 mg de péptidos en crudo

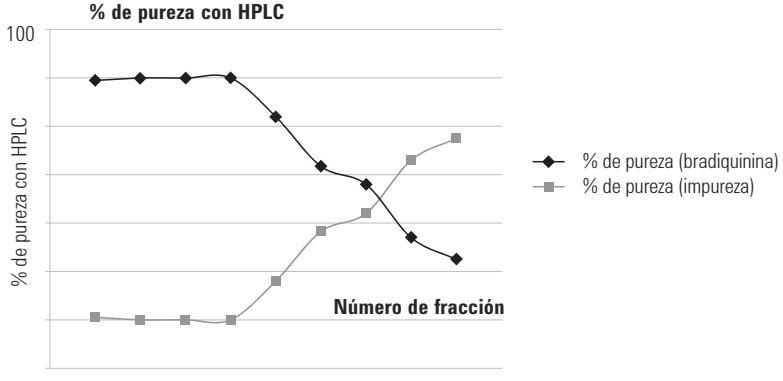
Fase móvil: TFA al 0,1% en 21% de
ACN:79% de agua

Velocidad de flujo: 1 ml/min (360 cm/h)



Análisis fraccional: purificación por sobrecarga de concentración

Los análisis mediante HPLC de las fracciones recogidas en el pico mostraron que las fracciones 1 a 4 contenían solo el péptido de interés, y que el nivel de impureza aumentaba al aumentar el número de fracción. Gracias a la columna PLRP-S de gran eficacia se pudo obtener una recuperación del 97% con una pureza del 100% a partir de crudo con un 91,7% de pureza. Para obtener más información, consulte la nota de aplicación 5990-7736EN.



Prep. para proceso PLRP-S

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	PLRP-S 100Å	PLRP-S 300Å	PLRP-S 1000Å	PLRP-S 4000Å
100 x 300	30			PL1812-3102	PL1812-3103
100 x 300	15-20	PL1812-6200	PL1812-6201		
100 x 300	10-15	PL1812-6400	PL1812-6401		
100 x 300	10	PL1812-6100	PL1812-6101		
100 x 300	8	PL1812-6800	PL1812-6801		
50 x 300	8	PL1712-6800	PL1712-6801		
50 x 150	30			PL1712-3702	PL1712-3703
50 x 150	15-20	PL1712-3200	PL1712-3201		
50 x 150	10-15	PL1712-3400	PL1712-3401		
50 x 150	10	PL1712-3100	PL1712-3101	PL1712-3102	PL1712-3103
50 x 150	8	PL1712-3800	PL1712-3801		
25 x 300	15-20	PL1212-6200	PL1212-6201		
25 x 300	10-15	PL1212-6400	PL1212-6401		
25 x 300	10	PL1212-6100	PL1212-6101		
25 x 300	8	PL1212-6800	PL1212-6801		
25 x 150	30			PL1212-3702	PL1212-3703
25 x 150	10	PL1212-3100	PL1212-3101	PL1712-3102	PL1712-3103
25 x 150	8	PL1212-3800	PL1212-3801		
25 x 50	10			PL1212-1102	PL1212-1103
Columnas para desarrollo de métodos PLRP-S					
4,6 x 250	30			PL1512-5702	PL1512-5703
4,6 x 250	15-20	PL1512-5200	PL1512-5201		
4,6 x 250	10-15	PL1512-5400	PL1512-5401		
4,6 x 250	10	PL1512-5100	PL1512-5101	PL1512-5102	PL1512-5103
4,6 x 250	8	PL1512-5800	PL1512-5801		
4,6 x 150	30			PL1512-3702	PL1512-3703
4,6 x 150	15-20	PL1512-3200	PL1512-3201		
4,6 x 150	10-15		PL1512-3401		
4,6 x 150	10	PL1512-3100	PL1512-3101	PL1512-3102	PL1512-3103
4,6 x 150	8	PL1512-3800	PL1512-3801		

Medios a granel PLRP-S

Tamaño de partícula (µm)	Unidad	PLRP-S 100Å	PLRP-S 300Å	PLRP-S 1000Å	PLRP-S 4000Å
50	1 kg	PL1412-6K00	PL1412-6K01	PL1412-6K02	
	100 g	PL1412-4K00	PL1412-4K01	PL1412-4K02	
30	1 kg			PL1412-6702	PL1412-6703
	100 g			PL1412-4702	PL1412-4703
15-20	1 kg	PL1412-6200	PL1412-6201		
	100 g	PL1412-4200	PL1412-4201		
10-15	1 kg	PL1412-6400	PL1412-6401		
	100 g	PL1412-4400	PL1412-4401		
10	1 kg	PL1412-6100	PL1412-6101	PL1412-6102	PL1412-6103
	100 g	PL1412-4100	PL1412-4101	PL1412-4102	PL1412-4103
8	1 kg	PL1412-6800	PL1412-6801		

Para pedir grandes cantidades, póngase en contacto con el personal local de ventas de Agilent.



PL-SAX y PL-SCX para la preparación del proceso

- Purificaciones de intercambio iónico con un intervalo de pH más amplio para más aplicaciones.
- Velocidades de flujo y equilibrado rápido del proceso de HPLC para reducir el tiempo del ciclo de purificación.
- Gran tamaño de poro y transferencia de masa mejorada para purificaciones con una velocidad y resolución altas.

Estos materiales rígidos de intercambio iónico fuerte son extremadamente hidrófilos y están diseñados para la purificación de biomoléculas. Los materiales PL-SAX y PL-SCX son totalmente poliméricos y ofrecen estabilidad química y térmica en todos los procesos de HPLC. La función de intercambio iónico fuerte, con un enlace covalente a un polímero químicamente estable, facilita las purificaciones de intercambio iónico en un rango de pH más amplio. Esta estabilidad se puede aprovechar para sanear y limpiar la columna. La estabilidad térmica también permite usar procesos de desnaturalización y productos estabilizantes y solubilizantes para la purificación de los compuestos de interés, como los que se encuentran en la purificación de oligonucleótidos sintéticos con secuencias autocomplementarias.

Los materiales con un gran tamaño de poro (1000 Å y 4000 Å) son mecánicamente estables y resistentes, y se pueden aplicar a un amplio intervalo de velocidades lineales además de permitir el procesamiento rápido de la carga de diluciones y ciclos de lavado. Las velocidades de flujo y el equilibrado rápido del proceso de HPLC reducen el tiempo del ciclo de purificación.

El relleno del hardware de la columna de compresión axial dinámica es sencillo y el resultado son columnas de alto rendimiento con una reproducibilidad excelente y una vida útil prolongada. El tamaño de poro de 1000 Å es apto para las purificaciones de alta capacidad y las partículas de gigaporos (4000 Å) con una transferencia de masa mejorada se destinan a las purificaciones de moléculas de gran tamaño con una velocidad y resolución altas.



Especificaciones de columna		
	PL-SAX	**PL-SCX**
Matriz	Totalmente poliméricos	Totalmente poliméricos
Tamaños de poro	1000Å, 4000Å	1000Å, 4000Å
Tamaños de partícula	10 µm, 30 µm	10 µm, 30 µm
Forma de perla	Esférica rígida	Esférica rígida
Funcionalidad	Amina cuaternaria	Ácido sulfónico
Estabilidad de presión	3000 psi	3000 psi
Estabilidad de temperatura	80 °C	80 °C
Rango de pH	1-14	1-14
Compatibilidad eluyente	Todos los tampones de intercambio aniónico	Todos los tampones de intercambio catiónico
Densidad del lecho empaquetado	0,39 g/ml	0,39 g/ml

Purificación de un oligonucleótido grande

Columna: **PL-SAX 1000Å, 8 µm**

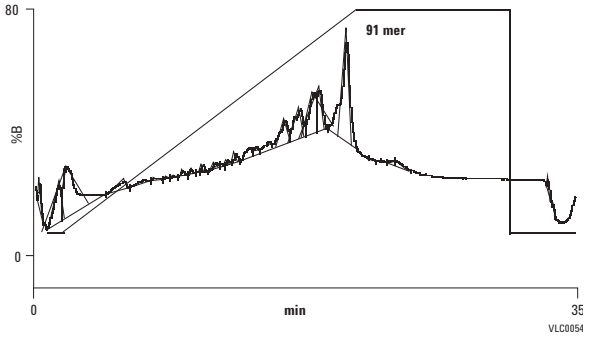
Fase móvil: A: 93% 0,1 M TEAA, pH 7:7% de ACN
B: 93% 0,1 M TEAA, 3,24 M acetato amónico, pH 7:7% de ACN

Gradiente: 0 - 100% B en 20 min.

Velocidad de flujo: 1,5 ml/min

Temperatura: 60 °C

Detector: UV, 290 nm



Fraccionamiento preparativo de un filtrado de cultivo que contiene amiloglucosidasas con la columna Agilent PL-SAX de 4 000 Å

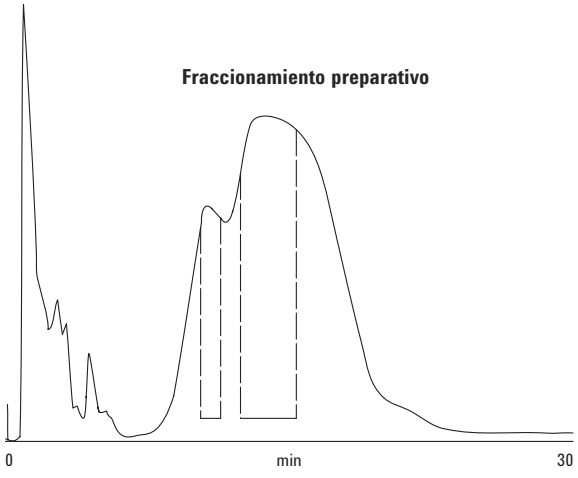
Columna: **PL-SAX**
PL1551-1803
4,6 x 50 mm, 8 µm

Fase móvil: A: Tris HCl 0,01 M, pH 8
B: A + NaCl 0,5 M, pH 8

Velocidad de flujo: 4,0 ml/min

Gradiente: Lineal 0-100% de B en 2 min

Detector: UV, 280 nm





Columnas de preparación para el proceso PL-SAX y PL-SCX, y medios a granel

PL-SAX y PL-SCX para la preparación del proceso

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	PL-SAX 1000 Å	PL-SAX 4000 Å	PL-SCX 1000 Å	PL-SCX 4000 Å
100 x 300	30	PL1851-3102	PL1851-3103	PL1845-3102	PL1845-3103
100 x 300	10	PL1851-2102	PL1851-2103	PL1845-2102	PL1845-2103
50 x 150	30	PL1751-3702	PL1751-3703	PL1745-3702	PL1745-3703
50 x 150	10	PL1751-3102	PL1751-3103	PL1745-3102	PL1745-3103
25 x 150	30	PL1251-3702	PL1251-3703	PL1245-3702	PL1245-3703
25 x 150	10	PL1251-3102	PL1251-3103	PL1245-3102	PL1245-3103
25 x 50	10	PL1251-1102	PL1251-1103	PL1245-1102	PL1245-1103
7,5 x 150	8	PL1151-3802	PL1151-3803		
7,5 x 50	8	PL1151-1802	PL1151-1803	PL1145-1802	PL1145-1803
Columnas para desarrollo de métodos PL-SAX y PL-SCX					
4,6 x 250	30	PL1551-5702	PL1551-5703	PL1545-5702	PL1545-5703
4,6 x 250	10	PL1551-5102	PL1551-5103	PL1545-5102	PL1545-5103
4,6 x 150	30	PL1551-3702	PL1551-3703	PL1545-3702	PL1545-3703
4,6 x 150	10	PL1551-3102	PL1551-3103	PL1545-3102	PL1545-3103

Medios a granel PL-SAX y PL-SCX

Tamaño de partícula (µm)	Unidad	PL-SAX 1000Å	PL-SAX 4000Å	PL-SCX 1000Å	PL-SCX 4000Å
30	1 kg	PL1451-6702	PL1451-6703	PL1445-6702	PL1445-6703
	100 g	PL1451-4702	PL1451-4703	PL1445-4702	PL1445-4703
10	1 kg	PL1451-6102	PL1451-6103	PL1445-6102	PL1445-6103
	100 g	PL1451-4102	PL1451-4103	PL1445-4102	PL1445-4103

Para pedir grandes cantidades, póngase en contacto con el personal local de ventas de Agilent.

Purificación de péptidos



Columnas VariTide RPC

VariTide es una solución rentable para la producción de péptidos sintéticos. Con esta columna podrá gestionar el coste y la eficacia de un gran volumen de producción de péptidos sintéticos, desde cantidades de µg a g. VariTide proporciona una solución para las empresas de péptidos que fabrican pequeñas cantidades de cientos o miles de péptidos en las que el tiempo de fabricación se convierte en un factor económico a tener en cuenta.

Columnas VariTide RPC para péptidos sintéticos

- Una sola columna para toda la gama de péptidos sintéticos.
- Tamaño de partícula pequeño para obtener la máxima eficacia, incluso con columnas preparativas de 1 y 2 pulgadas.
- Medios a granel para rellenar columnas preparativas de 1 y 2 pulgadas para la purificación de cantidades desde mg a g.

Las columnas y los medios VariTide RPC forman parte de la solución para péptidos VariPep. Esta opción se recomienda para una separación y purificación rentables de péptidos sintéticos mediante métodos genéricos.

Columnas VariTide RPC para péptidos sintéticos

Tamaño (mm)	Referencia
21,2 x 250	PL1E12-5A05
10,0 x 250	PL1012-5A05
4,6 x 250	PL1512-5A05

Medios a granel VariTide RPC

Descripción	Referencia
100 g	PL1412-4A05
1 kg	PL1412-6A05

Evaluación de péptidos en crudo

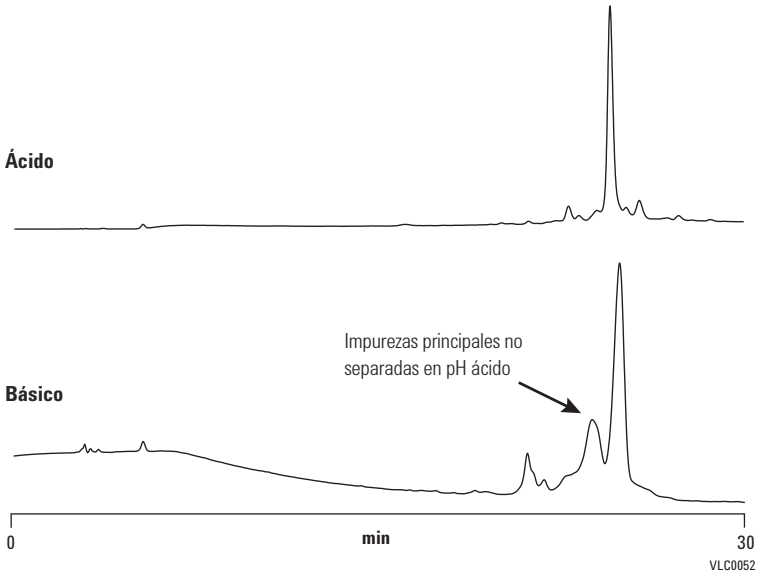
Columna: **VariTide RPC**
PL1512-5A05
4,6 x 250 mm

Fase móvil: Ácido
A: TFA al 0,1% en 95% de agua:5% de ACN
B: TFA al 0,1% en 50% de agua:50% de ACN
Básico
A: 5% de ACN, 95% 20 mm de carbonato de amonio, pH 9,5
A: 50% de ACN, 50% 20 mm de carbonato de amonio, pH 9,5

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min (360 cm/h)

Gradiente: 0 - 100% B en 30 min.

Detector: UV, 220 nm



VariPure IPE

- Preenvasada para mayor comodidad
- Retirada de agentes de pares iónicos para una mayor productividad
- Alto rendimiento y ahorro para obtener una eficacia excelente

VariPure IPE es una resina amina cuaternaria apoyada por un polímero con un contraión bicarbonado. Está diseñada para eliminar los reactivos de pares iónicos acídicos, tales como el ácido trifluoracético (TFA), el ácido fórmico o el ácido acético. VariPure IPE es un material de eliminación de ácido de alto rendimiento y muy económico proporcionado como dispositivos de tipo SPE preenvasados para ofrecer mayor comodidad. El tamaño de partícula, la capacidad y la geometría del dispositivo se corresponden para proporcionar un tiempo de permanencia suficiente y conseguir una extracción de par iónico eficaz con el flujo de gravedad. Para los péptidos lábiles al ácido, la eliminación del agente de pares iónicos previene la degradación por ácido del péptido durante el procedimiento posterior a la HPLC y aumenta el resultado de producto purificado.

VariPure IPE

Carga	Capacidad de retirada contraiónica	Unidad	Referencia
100 mg por tubo de 3 ml	Ácido trifluoroacético, ~ 5 ml, 0,1%	50/paq.	PL3540-D603VP
500 mg por tubo de 6 ml	Ácido trifluoroacético, ~ 25 ml, 0,1%	50/paq.	PL3540-C603VP
1 g por tubo de 20 ml	Ácido trifluoroacético, ~ 50 ml, 0,1%	25/paq.	PL3540-P603VP
25 g			PL3549-3603VP

Bibliografía sobre las columnas BioHPLC

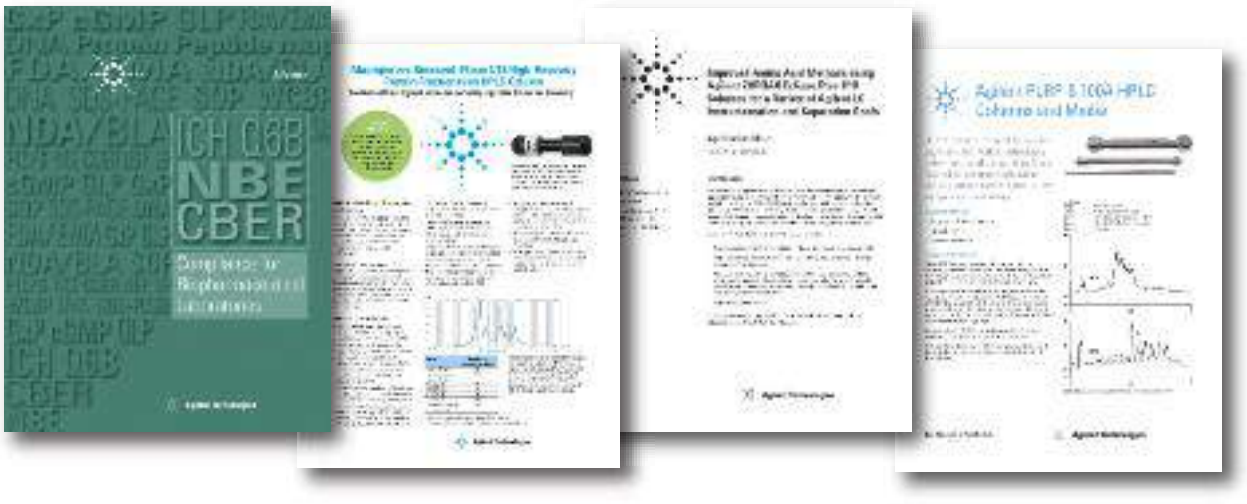
Título	Columna/Producto	Aplicación	Número de publicación	Tipo de publicación
Rapid Analysis of Adenovirus Type 5 Particles with Bio-Monolith Anion-Exchange HPLC Columns to Support the Development of a High-Titre Manufacturing Platform	Bio-Monolith QA	Adenovirus	5990-5524EN	Nota de aplicación
Separation of Two Sulfurated Amino Acids with other Seventeen Amino Acids by HPLC with Pre-Column Derivatization	Eclipse Plus-C18	Análisis de aminoácidos	5990-5977EN	Nota de aplicación
Rapid, Accurate, Sensitive, and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids	ZORBAX Eclipse AAA	Análisis de aminoácidos	5980-1193EN	Nota de aplicación
High-Speed Amino Acid Analysis (AAA) on 1.8 µm Reversed-Phase (RP) Columns	ZORBAX Eclipse Plus	Análisis de aminoácidos	5989-6297EN	Nota de aplicación
Improved Amino Acid Methods Using Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 Columns for a Variety of Agilent LC Instrumentation and Separation Goals	ZORBAX Eclipse Plus	Análisis de aminoácidos	5990-4547EN	Nota de aplicación
Rapid and Precise Determination of Cellular Amino Acid Flux Rates using HPLC with Automated Derivatization with Absorbance Detection	ZORBAX Eclipse Plus	Análisis de aminoácidos	5990-3283EN	Nota de aplicación
Agilent PL-SAX 1000Å HPLC Columns and Media	PL-SAX	Análisis/Preparación - Oligonucleótidos	5990-8200EN	Folleto
Compliance for Biopharmaceutical Laboratories	Columnas para LC	Cumplimiento de la normativa	5990-7001EN	Texto de introducción
Macroporous Reversed-Phase C18 High-Recovery Protein Fractionation HPLC Column	mRP-C18	Suero humano, biomarcadores	5989-2714EN	Folleto
Rapid Human Polyclonal IgG Quantification using the Agilent Bio-Monolith Protein A HPLC Column	Bio-Monolith	IgG	5989-9733EN	Nota de aplicación
Rapid IgM Quantification in Cell Culture Production and Purification Process Monitoring using the Agilent Bio-Monolith QA Column	Bio-Monolith QA	IgM	5989-9674EN	Nota de aplicación
Optimization of Protein Separations on Weak Cation-Exchange Columns – a Study of the Particle Size, Buffer Salts and Gradients	Bio IEX	MAb	5990-8833EN	Póster técnico

(continuación)

Bibliografía sobre las columnas BioHPLC

Título	Columna/Producto	Aplicación	Número de publicación	Tipo de publicación
pH Gradient Elution for Improved Separation of Monoclonal Antibody Charged Variants	Bio MAb	MAb	5990-9629EN	Nota de aplicación
Characterization of Monoclonal Antibodies on the Agilent 1260 Infinity Bio-inert Quaternary LC by Size Exclusion Chromatography using the Agilent Bio SEC Columns	Bio SEC	MAb	5990-6414EN	Nota de aplicación
Agilent BioHPLC Columns for the Characterization of Monoclonal Antibodies	Biocolumns	MAb	5990-7753EN	Folleto
Fast Separation of Monoclonal Antibody and Dimer by SEC with Agilent Bio SEC	Bio SEC	MAb	5990-8613EN	Nota de aplicación
Choosing a ZORBAX Poroshell Phase (C3, C8, or C18) for Fast Separation of Monoclonal Antibodies	Poroshell 300	MAb	5989-0071EN	Nota de aplicación
Determination of the Glycosylation Status of Intact Recombinant Human Antibodies using Time of Flight Mass Spectrometry	Poroshell 300	MAb	No disponible	Póster técnico
High Speed and Ultra-High Speed Peptide Mapping of Human Monoclonal IgG on Poroshell 300SB-C18, C8, and C3	Poroshell 300	MAb	5989-0590EN	Nota de aplicación
Rapid HPLC Analysis of Monoclonal Antibody IgG1 Heavy Chains using ZORBAX Poroshell 300SB-C8	Poroshell 300	MAb	5989-0070EN	Nota de aplicación
Comparison of ZORBAX StableBond 300Å LC Columns to Optimize Selectivity for Antibody Separations Using HPLC and LC/MS	ZORBAX 300SB	MAb	5989-6840EN	Nota de aplicación
Ultra High Speed and High Resolution Separations of Reduced and Intact Monoclonal Antibodies with Agilent ZORBAX RRHD Sub-2 µm 300 Diphenyl UHPLC Column	ZORBAX RRHD 300-Diphenyl	MAb	5990-9668EN	Nota de aplicación
Reversed-Phase Optimization for Ultra Fast Profiling of Intact and Reduced Monoclonal Antibodies using Agilent ZORBAX Rapid Resolution High Definition 300SB-C3 Column	ZORBAX RRHD 300SB-C3	MAb	5990-9667EN	Nota de aplicación

(continuación)



Bibliografía sobre las columnas BioHPLC

Título	Columna/Producto	Aplicación	Número de publicación	Tipo de publicación
Reversed-Phase Separation of Intact Monoclonal Antibodies (MAb) using Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C8	ZORBAX RRHD 300SB-C8	MAb	5990-9016EN	Nota de aplicación
Rapid UHPLC Analysis of Reduced Monoclonal Antibodies using an Agilent ZORBAX Rapid Resolution High Definition (RRHD) 300SB-C8 Column	ZORBAX RRHD 300SB-C8	MAb	5990-9631EN	Nota de aplicación
Increased UV-Sensitivity in Combination with Novel WCX Column Separation for Better Detectability of Charge State Variants of Biotherapeutic Proteins	Bio MAb	MAb y otras proteínas	No disponible	Póster técnico
Agilent HPLC Column Selection Guide	Columnas para HPLC	Muchas	5990-4435EN	Guía de selección
The LC Handbook: Guide to LC Columns and Method Development	Columnas para LC	Desarrollo de métodos	5990-7595EN	Texto de introducción
Agilent PLRP-S 100Å HPLC Columns and Media	PLRP-S	Oligonucleótidos	5990-8187EN	Folleto
HPLC Purification of 26-bp Serial Analysis of Gene Expression Ditags	PLRP-S	Oligonucleótidos	5990-7739EN	Nota de aplicación
Improved Column Lifetime with Thermally Stable Polymer Columns for Oligonucleotide Ion-Pair RP HPLC	PLRP-S	Oligonucleótidos	5990-7764EN	Nota de aplicación
Ion-Pair Reversed-Phase Purification of De-Protected Oligonucleotides – Choice of Pore Size	PLRP-S	Oligonucleótidos	5990-7763EN	Nota de aplicación
Use Temperature to Enhance Oligonucleotide Mass Transfer and Improve Resolution in Ion-Pair RP HPLC	PLRP-S	Oligonucleótidos	5990-7765EN	Nota de aplicación
High Resolution Separations of Oligonucleotides using PL-SAX Strong Anion-Exchange HPLC Columns	PL-SAX	Oligonucleótidos	5990-8297EN	Nota de aplicación
Fast Impurity Profiling of Synthetic Oligonucleotides with the Agilent 1290 Infinity LC System and Agilent 6530 Accurate-Mass QTOF LC/MS	ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18	Oligonucleótidos	5990-5825EN	Nota de aplicación
Agilent PLRP-S Media and Load & Lock Columns – The Future of Prep/Process Chromatography	Preparación/Proceso	Oligonucleótidos, péptidos, proteínas	5990-8201EN	Folleto
Agilent PLRP-S 50 µm HPLC Media	PLRP-S	Oligonucleótidos, péptidos, proteínas pequeñas	5990-8188EN	Folleto

(continuación)

Bibliografía sobre las columnas BioHPLC

Título	Columna/Producto	Aplicación	Número de publicación	Tipo de publicación
Analysis of Peptides on a PLRP-S 100Å 10 µm with ELS Detection and Acetonitrile-Free Eluents	PLRP-S	Péptidos	5990-7760EN	Nota de aplicación
Investigation into the Alternatives to Acetonitrile for the Analysis of Peptides	PLRP-S	Péptidos	5990-7740EN	Nota de aplicación
Investigation into the Alternatives to Acetonitrile for the Analysis of Peptides on a SepTech ST150 10-C18	SepTech	Péptidos	5990-7951EN	Nota de aplicación
Investigation into the Alternatives to Acetonitrile for the Analysis of Peptides on a VariTide RPC	VariTide RPC	Péptidos	5990-8145EN	Nota de aplicación
Fast Monitoring of Bacteriophage Production During Fermentation Using the Agilent Bio-Monolith HPLC Column	Bio-Monolith	Producción de fagocitos, monitorización del proceso	5990-3247EN	Nota de aplicación
Physicochemical Characterization of a Therapeutic Protein by Peptide Mapping, SEC and IEX using the Agilent 1260 Infinity Bio-inert Quaternary LC System	Bio MAb, Bio SEC, ZORBAX Eclipse Plus, Poroshell 120	Análisis de proteínas	5990-6192EN	Nota de aplicación
Optimization of the Agilent 1100 HPLC System for Superior Results with ZORBAX Poroshell Columns	Poroshell 300	Análisis de proteínas	5988-9998EN	Nota de aplicación
Using Poroshell 300SB-C18 for High-Sensitivity, High-Throughput Protein Analysis on the Agilent LC/MSD	Poroshell 300-C18	Análisis de proteínas	5988-7031EN	Nota de aplicación
Analysis of Albumin Proteins using ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	Análisis de proteínas	5990-7852EN	Nota de aplicación
Analysis of Complex Bacterial Cell Division Proteins by Size Exclusion Chromatography (SEC)	ProSEC 300S	Análisis de proteínas	5990-8143EN	Nota de aplicación
Analysis of Globulins using ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	Análisis de proteínas	5990-7851EN	Nota de aplicación
Analysis of Hsp47, a Collagen Chaperone, by Size Exclusion Chromatography (SEC)	ProSEC 300S	Análisis de proteínas	5990-8142EN	Nota de aplicación
Analysis of Various Globular Proteins using ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	Análisis de proteínas	5990-7850EN	Nota de aplicación
Effect of pH on Protein Size Exclusion Chromatography	ProSEC 300S	Análisis de proteínas	5990-8138EN	Nota de aplicación
Globular Proteins and the Calibration of ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	Análisis de proteínas	5990-7767EN	Nota de aplicación

(continuación)

Bibliografía sobre las columnas BioHPLC

Título	Columna/Producto	Aplicación	Número de publicación	Tipo de publicación
Reduce Tubing Volume to Optimize Column Performance	Columnas de diámetro pequeño	Optimización del rendimiento del instrumento	5990-4964EN	Nota de aplicación
Using the High-pH Stability of ZORBAX Poroshell 300Extend-C18 to Increase Signal-to-Noise in LC/MS	ZORBAX 300 Extend-C18	Optimización del rendimiento del instrumento	5989-0683EN	Nota de aplicación
Increase Sensitivity with Microbore Polymeric HPLC Columns from Agilent	PLRP-S (Microbore)	Hormonas peptídicas, proteínas pequeñas, moléculas pequeñas	5990-8666EN	Technical Overview
Decreasing Analysis Time Using Poroshell 300SB-C18 in Analysis of a Protein Digest	Poroshell 300	Mapeo de péptidos	5988-6081EN	Nota de aplicación
Rapid Peptide Mapping Method with High Resolution using a sub 2-µm Column	ZORBAX 300SB-C18	Mapeo de péptidos	5990-4712EN	Nota de aplicación
Increased Peak Capacity for Peptide Analysis with the Agilent 1290 Infinity LC System	ZORBAX Eclipse Plus	Mapeo de péptidos	5990-6313EN	Nota de aplicación
Trypsin-Digested Monoclonal Antibody and BSA using Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18	ZORBAX RRHD 300SB-C18	Mapeo de péptidos	5990-8244EN	Nota de aplicación
Preparative Scale Purification of Bradykinin by Concentration Overload	PLRP-S	Purificación de péptidos	5990-7736EN	Nota de aplicación
Preparative Scale Purification of Bradykinin by Volume Overload	PLRP-S	Purificación de péptidos	5990-7741EN	Nota de aplicación
Preparative Scale Purification of Depherelin by Concentration Overload	PLRP-S	Purificación de péptidos	5990-7742EN	Nota de aplicación
Preparative Scale Purification of Leuprolide by Concentration Overload	PLRP-S	Purificación de péptidos	5990-7735EN	Nota de aplicación
Superior Resolution of Peptides on SepTech ST150 10-C18 using Acetonitrile-Free Gradient Elution	SepTech	Purificación de péptidos	5990-7761EN	Nota de aplicación
Agilent PLRP-S Media for HPLC Analysis of Peptides	PLRP-S	Péptidos	5990-8667EN	Technical Overview

(continuación)

Bibliografía sobre las columnas BioHPLC

Título	Columna/Producto	Aplicación	Número de publicación	Tipo de publicación
Light Scattering Analysis of BSA with ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	Análisis de proteínas	5990-7766EN	Nota de aplicación
Static Light Scattering Analysis of Globular Proteins with Agilent ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	Análisis de proteínas	5990-7939EN	Nota de aplicación
LC Handbook and Compliance Guide to Recombinant Protein Characterization	No disponible	Análisis de proteínas	5990-8561EN	Texto de introducción
Agilent ZORBAX 300SB-C18 1.8µm Rapid Resolution High Definition Columns for Proteins	ZORBAX 300SB-C18	Análisis de proteínas	5990-7989EN	Technical Overview
Analysis of Oxidized Insulin Chains using Reversed-Phase Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18	ZORBAX RRHD 300SB-C18	Análisis de proteínas	5990-7988EN	Nota de aplicación
Fast Separation of Recombinant Human Erythropoietin using Reversed-Phase Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18, 1.8 µm	ZORBAX RRHD 300SB-C18	Análisis de proteínas	5990-9248EN	Nota de aplicación
ACN-free HPLC Analysis and Prep Purification of ACP Fragment	PLRP-S	Purificación de proteínas	5990-7762EN	Nota de aplicación
Isocratic Purification of Synthetic Acyl Carrier Protein Fragment 65-74	PLRP-S	Purificación de proteínas	5990-7737EN	Nota de aplicación
Agilent PL-SAX Anion-Exchange Media for Amyloglucosidase Purification and Analysis	PL-SAX	Purificación de proteínas	5990-8664EN	Technical Overview
Progressive Denaturation of Globular Proteins in Urea	ProSEC 300S	Purificación de proteínas	5990-8141EN	Nota de aplicación
Optimizing Protein Separations with Agilent Weak Cation-Exchange Columns	Bio IEX	Separación de proteínas	5990-9628EN	Nota de aplicación
Faster Separations Using Agilent Weak Cation-Exchange Columns	Bio IEX	Separación de proteínas	5990-9931EN	Nota de aplicación
Optimum Pore Size for Characterizing Biomolecules with Agilent Bio SEC Columns	Bio SEC	Separación de proteínas	5990-9894EN	Nota de aplicación
Separation of High MW Fibrous Proteins	PLRP-S	Separación de proteínas	5990-8137EN	Nota de aplicación

(continuación)

Bibliografía sobre las columnas BioHPLC

Título	Columna/Producto	Aplicación	Número de publicación	Tipo de publicación
Fast Protein Separations Using Agilent Poroshell 300	Poroshell 300	Separación de proteínas	5989-9899EN	Nota de aplicación
Fast Separation of Large and Heterogeneous Proteins using ZORBAX Poroshell C18, C8, and C3 Phases	Poroshell 300	Separación de proteínas	5989-0015EN	Nota de aplicación
Protein Identification and Impurity Profiling using Wide-Pore Reversed-Phase HPLC/UHPLC	Poroshell 300	Separación de proteínas	5991-0625EN	Folleto
Use of Temperature to Increase Resolution in the Ultrafast HPLC Separation of Proteins with ZORBAX Poroshell 300SB-C8 HPLC Columns	Poroshell 300-C8	Separación de proteínas	5989-0589EN	Nota de aplicación
The Effect of NaCl Concentration on Protein Size Exclusion Chromatography	ProSEC 300S	Separación de proteínas	5990-8139EN	Nota de aplicación
The Effect of Temperature on Protein Size Exclusion Chromatography	ProSEC 300S	Separación de proteínas	5990-8140EN	Nota de aplicación
Infinitely Better for Bio-Molecule Analysis	Sistema LC cuaternario Agilent 1260 Infinity Bio-inert	Proteínas	5990-6220EN	Folleto
Defining the Optimum Parameters for Efficient Size Separations of Proteins	Bio SEC	Proteínas	5990-8832EN	Póster técnico
Defining the Optimum Parameters for Efficient Size Separations of Proteins	Bio SEC	Proteínas	5990-8895EN	Nota de aplicación
Compliance for Biopharmaceutical Laboratories	Muchas	Proteínas	5990-7001EN	Texto de introducción
Gradient Purification of Synthetic Acyl Carrier Protein Fragment 65-74	PLRP-S	Proteínas	5990-7738EN	Nota de aplicación
Fast Agilent HPLC for Large Biomolecules	PLRP-S, PL-SAX, PL-SCX	Proteínas	5990-8663EN	Technical Overview
Agilent Anion-Exchange Media for Proteins – Loading vs Resolution – Effect of Flow Rate and Example Protein Separations	PL-SAX	Proteínas	5990-8777EN	Technical Overview
Purity Assessment Following Affinity Separation	PL-SAX	Proteínas	5990-8436EN	Technical Overview
Agilent PL-SCX Cation-Exchange Media for Large Biomolecules	PL-SCX	Proteínas	5990-8665EN	Technical Overview

(continuación)

Bibliografía sobre las columnas BioHPLC

Título	Columna/Producto	Aplicación	Número de publicación	Tipo de publicación
Poroshell 300SB-C18 for Fast, High Protein Separation	Poroshell 300	Proteínas	5988-2100ENUS	Folleto
Progressive Denaturation of Globular Proteins in Urea	ProSEC 300S	Proteínas	5990-8141EN	Nota de aplicación
ProSEC 300S Columns Protein Characterization Columns	ProSEC 300S	Proteínas	5990-7468EN	Folleto
Static Light Scattering Analysis of Globular Proteins with Agilent ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	Proteínas	5990-7939EN	Nota de aplicación
Confidently Separate and Characterize Biomolecules with Agilent BioHPLC Columns	Bio SEC, Bio IEX, Bio MAb	Proteínas	5990-5195EN	Folleto
Increase your Productivity with Agilent ZORBAX RRHD 300Å 1.8 µm Columns	ZORBAX RRHD 300SB-C18, C8	Proteínas, péptidos	5990-8124EN	Folleto
High Purity, High Recovery, High Throughput – Agilent Technologies Offers Two New Lines of Preparative HPLC Columns	Columnas Prep HT Agilent	Purificación/ Preparación	5989-2350EN	Folleto
Biomolecule Purification – Purification Columns and Media for Peptides, Oligonucleotides, and Proteins	PLRP-S, PL-SAX, PL-SCX	Purificación/ Preparación	5990-8335EN	Folleto
The Influence of Silica Pore Size on Efficiency, Resolution and Loading in Reversed-Phase HPLC	SepTech	Purificación/ Preparación	5990-8298EN	Nota de aplicación
Analysis of Protein Primary Structure when using Wide-Pore sub-2-µm Particles and UHPLC	ZORBAX RRHD 300SB-C18	Purificación/ Preparación	5990-8830EN	Póster técnico
Polyethylene Glycol/Oxide Standards and the Calibration of Agilent ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	SEC	5990-8147EN	Nota de aplicación

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Si desea obtener las últimas notas de aplicaciones e información sobre nuevos productos, visite **www.agilent.com**

Menciones

Menciones de ZORBAX 300

Portelius, E. *et al.* (2007) Characterization of Amyloid β Peptides in Cerebrospinal Fluid by an Automated Immunoprecipitation Procedure Followed by Mass Spectrometry.
Journal of Proteome Research, 6 (11): 4433-4439

Montes-Bayon, M. *et al.* (2006) Direct comparison of capillary electrophoresis and capillary liquid chromatography hyphenated to collision-cell inductively coupled plasma mass spectrometry for the investigation of Cd-, Cu- and Zn-containing metalloproteins.
Journal of Chromatography A, 1114(1): 138-144

Zahariev, S. *et al.* (2006) Synthesis of 'difficult' peptides free of aspartimide and related products, using peptoid methodology.
Tetrahedron Letters, 47(25): 4121-4124

Kohler, M. *et al.* (2009) Identification of Human Pituitary Growth Hormone Variants by Mass Spectrometry.
Journal of Proteome Research, 8(2): 1071-1076

Berg, M. *et al.* (2006) Reproducibility of LC-MS-based protein identification. *Journal of Experimental Botany,* 57(7): 1509-1514

Esteban-Fernández, D. *et al.* (2008) Atomic (HPLC-ICP-MS) and molecular mass spectrometry (ESI-Q-TOF) to study cis-platin interactions with serum proteins.
Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 23: 378-384

Everberg, H. *et al.* (2006) Aqueous Two-Phase Partitioning for Proteomic Monitoring of Cell Surface Biomarkers in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells.
Journal of Proteome Research, 5(5): 1168-1175

Portelius, E. *et al.* (2010) Identification of novel N-terminal fragments of amyloid precursor protein in cerebrospinal fluid.
Experimental Neurology, 223(2): 351-358

Ahrends, R. *et al.* (2009) Metal-Coded Affinity Tag Labeling: A Demonstration of Analytical Robustness and Suitability for Biological Applications. *Analytical Chemistry,* 81(6): 2176-2184

Bíliková, K. *et al.* (2009) Towards functional proteomics of minority component of honeybee royal jelly: The effect of post-translational modifications on the antimicrobial activity of apalbumin2.
Proteomics, 9(8): 2131-2138

Schwab, K. *et al.* (2011) Adaptation of proteomic techniques for the identification and characterization of protein species from murine heart.
Amino Acids, 41(2): 401-414

Perreault, A. *et al.* (2009) A Methyltransferase-independent Function for Rmt3 in Ribosomal Subunit Homeostasis.
The Journal of Biological Chemistry, 284: 15026-15037

Magherini, F. *et al.* (2009) Different carbon sources affect lifespan and protein redox state during Saccharomyces cerevisiae chronological ageing. *Cellular and Molecular Life Sciences,* 66(5): 933-947

Cao H. & Xu S-Y. (2008) Purification and characterization of type II collagen from chick sternal cartilage. *Food Chemistry,* 108(2): 439-445

Chen, X. *et al.* (2010) Quantitative Proteomics Analysis of Cell Cycle-regulated Golgi Disassembly and Reassembly.
The Journal of Biological Chemistry, 285: 7197-7207

Trusch, M. *et al.* (2010) Application of displacement chromatography for the analysis of a lipid raft proteome.
Journal of Chromatography B, 878(3-4): 309-314

Amoresano, A. *et al.* (2008) A Rapid and Selective Mass Spectrometric Method for the Identification of Nitrated Proteins.
Methods in Molecular Biology, 477(I): 15-29

Kodali, VP., Das, S. & Sen, R. (2009) An exopolysaccharide from a probiotic: Biosynthesis dynamics, composition and emulsifying activity.
Food Research International, 42(5-6): 695-699

Loeber, R. *et al.* (2008) Cross-Linking of the DNA Repair Protein O^6-Alkylguanine DNA Alkyltransferase to DNA in the Presence of Antitumor Nitrogen Mustards.
Chemical Research in Toxicology, 21(4): 787-795

Millette, M. *et al.* (2008) Purification and identification of the pediocin produced by Pediococcus acidilactici MM33, a new human intestinal strain. *Journal of Applied Microbiology,* 104(1): 269-275

Chen, X. *et al.* (2009) Quantitative Organellar Proteomics Analysis of Rough Endoplasmic Reticulum from Normal and Acute Pancreatitis Rat Pancreas. *Journal of Proteome Research,* 9(2): 885-896

Ameri, M., Daddona, P. & Maa, YF. (2009) Demonstrated Solid-State Stability of Parathyroid Hormone PTH(1–34) Coated on a Novel Transdermal Microprojection Delivery System.
Pharmaceutical Research, 26(11): 2454-2463

Gianazza, E. *et al.* (2010) Different expression of Fibrinopeptide A and related fragments in serum of type 1 diabetic patients with nephropathy. *Journal of Proteomics,* 73(3): 593-601

Yuan, W. *et al.* (2008) Two New Holostan-Type Triterpene Glycosides from the Sea Cucumber Bohadschia marmorata JAEGER.
Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 56(8): 1207

Menciones de Poroshell 300

Matilainen, L. *et al.* (2008) The effect of cyclodextrins on chemical and physical stability of glucagon and characterization of glucagon/γ-CD inclusion complexes. *Journal of Pharmaceutical Sciences,* 97(7): 2720-2729

Astarita, G., Ahmed, F. & Piomelli, D. (2008) Identification of biosynthetic precursors for the endocannabinoid anandamide in the rat brain. *The Journal of Lipid Research,* 49: 48-57

Matilainen, L. *et al.* (2008) The stability and dissolution properties of solid glucagon/γ-cyclodextrin powder. *European Journal of Pharmaceutical Sciences,* 36(4-5): 412-420

Wang, Y. *et al.* (2009) Comparison of Methods for Extracting Kafirin Proteins from Sorghum Distillers Dried Grains with Solubles. *Journal of Agricultural & Food Chemistry,* 57(18): 8366-8372

Guerrera, IC. *et al.* (2009) A Novel Lipidomic Strategy Reveals Plasma Phospholipid Signatures Associated with Respiratory Disease Severity in Cystic Fibrosis Patients. *PLoS ONE,* 4(11): e7735

Yung, KM. *et al.* (2011) An amyloid β_{42}-dependent deficit in anandamide mobilization is associated with cognitive dysfunction in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*

Reid, CQ. *et al.* (2010) Rapid whole monoclonal antibody analysis by mass spectrometry: An Ultra scale-down study of the effect of harvesting by centrifugation on the post-translational modification profile. *Biotechnology and Bioengineering,* 107(1): 85-95

Heinig, K. & Wirz, T. (2009) Determination of Taspoglutide in Human and Animal Plasma Using Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry with Orthogonal Column-Switching. *Analytical Chemistry,* 81(10): 3705-3713

Rossi, EA. *et al.* (2010) A Bispecific Antibody-IFNα2b Immunocytokine Targeting CD20 and HLA-DR Is Highly Toxic to Human Lymphoma and Multiple Myeloma Cells. *Cancer Research,* 70: 7600

Murphy, MP. *et al.* (2010) Changes in Cognition and Amyloid-β Processing with Long Term Cholesterol Reduction using Atorvastatin in Aged Dogs. *Journal of Alzheimer's Disease,* 22(1): 135-150

Menciones de PLRP-S Citations

Nakagawa, M., Tojo, H. & Fujii, S. (2011) A Glycan of Ψ-Factor from Dictyostelium discoideum Contains a Bisecting-GlcNAc, an Intersecting-GlcNAc, and a Core α-1,6-Fucose. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry,* 75(10):1964-1970

Della Donna, L. *et al.* (2011) Mass spectrometric measurements of the apolipoproteins of bovine (Bos taurus) HDL. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*

Vondenhoff, GHM. *et al.* (2011) Characterization of Peptide Chain Length and Constituency Requirements for YejABEF-Mediated Uptake of Microcin C Analogues. *The Journal of Bacteriology,* 193(14): 3618-3623

Šotkovský, P. *et al.* (2011) A new approach to the isolation and characterization of wheat flour allergens. *Clinical & Experimental Allergy,* 41(7): 1031-1043

Laabs, E. *et al.* (2011) Optical Imaging of CCK2/Gastrin Receptor-Positive Tumors With a Minigastrin Near-Infrared Probe. *Investigative Radiology,* 46(3): 196-201

Rickert, KW. *et al.* (2011) Structural Basis for Selective Small Molecule Kinase Inhibition of Activated c-Met. *The Journal of Biological Chemistry,* 286: 11218-11225

Stuknyte, M. *et al.* (2011) Potential immunomodulatory activity of bovine casein hydrolysates produced after digestion with proteinases of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal,* 21(10): 63-769

Nakano, E. *et al.* (2011) Riboflavin Depletion Impairs Cell Proliferation in Adult Human Duodenum: Identification of Potential Effectors. *Digestive Diseases and Sciences,* 56(4): 1007-1019

Webb, K. et al. (2011) The ribosomal L1 protuberance in yeast is methylated on a lysine residue catalyzed by a seven beta-strand methyltransferase. *The Journal of Biological Chemistry,* M110. 200410

Uehata, T. et al. (2011) Serum hepcidin-25 levels and anemia in non-dialysis chronic kidney disease patients: a cross-sectional study. *Nephrology Dialysis Transplantation,* 27(3): 1076-1083

Lohman, G, Chen, L. & Evans Jr, T. (2011) Kinetic characterization of single strand break ligation in duplex DNA by T4 DNA Ligase. *The Journal of Biological Chemistry,* 286: 44187-44196

(continuación)

Menciones de PLRP-S

Hudak, J., Yu, H. & Bertozzi, C. (2011) Protein Glycoengineering Enabled by the Versatile Synthesis of Aminooxy Glycans and the Genetically Encoded Aldehyde Tag. *Journal of the American Chemical Society,* 133(40): 16127-16135

Schneider, N. *et al.* (20111) Prevalence and stability of lysozyme in cheese. *Food Chemistry,* 128(1): 145-151

Yan, B. & Boyd, D. (2011) Breaking the Light and Heavy Chain Linkage of Human Immunoglobulin G1 (IgG1) by Radical Reactions. *The Journal of Biological Chemistry,* 286: 24674-24684

Landau, M. et al. (2011) Towards a Pharmacophore for Amyloid. *PLoS Biology,* 9(6): e1001080

Kerkaert, B. *et al.* (2011) Use of lysozyme as an indicator of protein cross-contact in fresh-cut vegetables via wash waters. *Food Research International,* 45(1): 39-44

Schneider, N., Werkmeister, K. & Pischetsrieder, M. (2011) Analysis of nisin A, nisin Z and their degradation products by LCMS/MS. *Food Chemistry,* 127(2): 847-854

Quenee, L. *et al.* (2011) Prevention of pneumonic plague in mice, rats, guinea pigs and non-human primates with clinical grade rV10, rV10-2 or F1-V vaccines. *Vaccine,* 29(38): 6572-6583

Menciones de PL-SAX

Pratto, F. *et al.* (2008) Streptococcus pyogenes pSM19035 requires dynamic assembly of ATP-bound ParA and ParB on parS DNA during plasmid segregation. *Nucleic Acids Research,* 3 (11): 3676-3689

Sendovski, M. *et al.* (2010) Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of a bacterial tyrosinase from Bacillus megaterium. *Acta Crystallographica,* 66(9): 1101-1103

Bunger, MK. *et al.* (2008) Automated Proteomics of E. coli via Top-Down Electron-Transfer Dissociation Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry,* 80(5): 1459-1467

Vantourout, P. *et al.* (2009) Specific Requirements for Vγ9Vδ2 T Cell Stimulation by a Natural Adenylated Phosphoantigen. *The Journal of Immunology,* 183(6): 3848-3857

Scaboo, AM. *et al.* (2009) Confirmation of Molecular Markers and Agronomic Traits Associated with Seed Phytate Content in Two Soybean RIL Populations. *Crop Science,* 49(2): 426-432

Menciones de PL-SCX

Zhang, W. & Czupryn, M. (2003) Analysis of isoaspartate in a recombinant monoclonal antibody and its charge isoforms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,* 30(5): 1479-1490

Collinge, J. *et al.* (2005) Differential Proteomics via Probabilistic Peptide Identification Scores. *Analytical Chemistry,* 77(2): 596-606

Schönleben, S. *et al.* (2007) Proteome analysis of Apis mellifera royal jelly. *Analytical and Bioanalytical Chemistry,* 389(4): 1087-1093

Lohaus, C. *et al.* (2007) Multidimensional Chromatography: a Powerful Tool for the Analysis of Membrane Proteins in Mouse Brain. *Journal of Proteome Research,* 6(1): 105-113

Zahedi, RP. *et al.* (2007) Phosphoproteome of Resting Human Platelets. *Journal of Proteome Research,* 7(2): 526-534

Boehm, A. *et al.* (2007) Precise protein quantification based on peptide quantification using iTRAQ™. *BMC Bioinformatics,* 8: 214

Heller, M. *et al.* (2003) Trypsin catalyzed ^{16}O-to-^{18}O exchange for comparative proteomics: tandem mass spectrometry comparison using MALDI-TOF, ESI-QTOF, and ESI-ion trap mass spectrometers. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry,* 14(7): 704-718



Columnas y patrones para GPC/SEC

- Una gama completa de productos para el análisis de polímeros naturales y sintéticos.
- Una amplia selección de patrones de polímeros que abarca todas las posibles aplicaciones en disolventes orgánicos y acuosos.
- Las series PL aquagel-OH para separaciones mediante SEC en fase acuosa y PLgel para aplicaciones en polímeros orgánicos, están disponibles con tamaños de poro individuales o mixtos en una amplia gama de tamaños de partícula para cubrir el espectro completo de pesos moleculares (PM).
- Hay disponibles columnas de escalado preparativo, además de columnas de poro estrecho y columnas diseñadas para aplicaciones específicas.

La cromatografía de permeación en gel (GPC) y la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) son los nombres que se aplican a las técnicas más populares utilizadas para medir la distribución del peso molecular (MWD) de polímeros naturales y sintéticos, propiedad que influye en muchos de los parámetros físicos de los materiales, como la fuerza, la rigidez y la resistencia química. Las GPC/SEC son técnicas cromatográficas líquidas que separan cadenas de polímeros individuales en función de su tamaño en la disolución y no en función de sus características químicas. Cromatografía de permeación en gel (GPC) es el nombre utilizado para describir el análisis de polímeros en disolventes orgánicos, como tetrahidrofurano. Cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) es el nombre usado para describir el análisis de polímeros en agua y disolventes acuosos, como soluciones tamponadas. Ambas técnicas constituyen el único método probado para obtener una completa comprensión de la distribución del peso molecular de los polímeros.

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Para obtener más información sobre las columnas SEC para proteínas, vaya a las páginas 416–417.

Tabla de contenido

Columnas y patrones GPC/SEC

Columnas GPC/SEC **490**
GPC PLgel **496**
PLgel MIXED **498**
PLgel MIXED-LS **502**
PLgel MiniMIX **504**
Tamaño de poro individual PLgel **505**
PLgel preparativa **506**
EnviroPrep **507**
PLgel Olexis **508**
PL HFIPgel **509**
PL Rapide **510**
PolarGel **512**
PlusPore **514**
PolyPore **516**
ResiPore **518**
MesoPore **520**
OligoPore **521**
SEC PL aquagel-OH **523**
SEC PL aquagel-OH analítica **525**
SEC PL aquagel-OH preparativa **528**
Accesorios de la columna GPC **529**
Patrones de polímeros para GPC/SEC **530**
EasiVial **532**
EasiCal **536**
Poliestireno **537**
Polimetilmetacrilato **539**
Polietilenglicol/óxido **541**
Polisacáridos **543**
Ácido poliacrílico **545**



Columnas GPC/SEC

La clave de las separaciones por GPC/SEC satisfactorias es la elección correcta de las columnas. La extensa gama de productos para GPC/SEC de Agilent se ha diseñado para cubrir cualquier área de aplicación de análisis de polímeros y para seleccionar la columna, disolvente y patrón de calibración correctos de forma rápida y fiable.

La serie de columnas GPC Agilent PLgel está indicada para aplicaciones con polímeros para las que se usan disolventes orgánicos. PLgel es una matriz de poliestireno/divinilbenceno porosa muy entrecruzada, considerada líder del mercado en el sector de la tecnología de columnas GPC. Los materiales de PLgel tienen un elevado volumen de poro y una gran eficacia para maximizar la resolución. Su inigualable compatibilidad con disolventes permite la transferencia entre eluyentes polares y no polares de forma sencilla, y su excepcional rigidez física proporciona una vida útil más prolongada que minimiza el tiempo de inactividad. Para obtener más información y detalles completos sobre pedidos, consulte las páginas 496-497.

La serie de columnas Agilent PL aquagel-OH proporciona una matriz física y químicamente estable para separaciones de SEC en fase acuosa fiables. Las columnas se rellenan con perlas de copolímeros macro-porosas con una función de polihidroxilo extremadamente hidrófila. La superficie "neutra" y la capacidad de funcionar en una amplia variedad de condiciones de eluyentes proporcionan análisis de alta calidad de compuestos con grupos funcionales neutros, iónicos e hidrófobos, solos o combinados. PL aquagel-OH está disponible para aplicaciones analíticas y preparativas. Para obtener más información y detalles completos sobre pedidos, consulte la página 523.



Patrones de polímeros para GPC/SEC

Agilent fabrica los patrones de polímeros de mayor calidad con una polidispersidad extremadamente reducida y la mayor gama de pesos moleculares disponible en el mercado. Estos patrones de polímeros de alta calidad se suministran junto con numerosos datos de caracterización, los cuales utilizan una gran variedad de técnicas independientes (ej. dispersión de la luz y viscometría) y GPC de alto rendimiento para verificar la polidispersidad y asignarle el peso molecular pico (Mp).

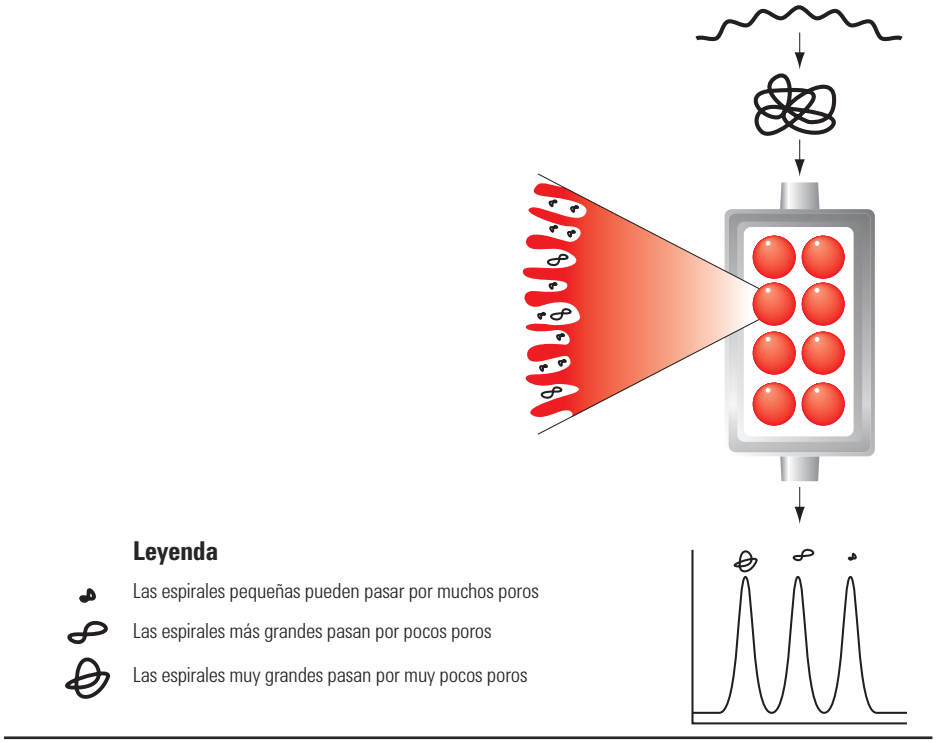
EasiVial: para calibración orgánica y acuosa. EasiVial es el método más rápido y práctico para realizar una calibración de columna precisa de 12 puntos. EasiVial elimina los tediosos procedimientos de pesado para mejorar la precisión de la calibración y reduce la dispensación de disolventes para limitar los riesgos asociados con la manipulación de estos productos.

EasiCal: para disolventes orgánicos. Los rellenos EasiCal se preparan previamente para un proceso sin complicaciones. Dos panales diferentes, cada uno con diez espátulas desmontables, admiten una mezcla de cinco patrones de polímeros. Este formato económico está diseñado para ahorrar dinero.

Patrones individuales y kits de patrones: hay disponible una amplia gama de kits de patrones de polímeros con distintas composiciones químicas, diseñados para ajustes de columnas específicos, así como patrones individuales en varios tamaños de relleno. Para obtener más información sobre los patrones de calibración Agilent GPC/SEC, consulte la página 530.

Cómo funciona la GPC/SEC:

- Las moléculas de polímeros se disuelven en soluciones para formar espirales esféricas cuyo tamaño depende de su peso molecular.
- Las espirales de polímeros se introducen en el eluyente que fluye por la columna.
- Las columnas se rellenan con perlas porosas insolubles con una estructura porosa bien definida.
- El tamaño de los poros es similar al de las espirales de polímeros.
- Las espirales de polímeros difunden fuera y dentro de los poros.
- El resultado es una elución basada en el tamaño: las espirales de mayor tamaño primero; las de menor tamaño, después.
- Separación por tamaño convertida a separación por peso molecular mediante el empleo de una curva de calibración formada por el uso de patrones de polímeros.



Mecanismos de GPC/SEC

Recomendaciones para configurar un sistema para GPC/SEC

Las siguientes preguntas le ayudarán a encontrar las columnas y patrones recomendados para cada aplicación, así como los parámetros del sistema, tales como los volúmenes de inyección.

Elección de un eluyente para GPC/SEC

Pregunta	Respuesta	Recomendación	Comentarios
1. ¿En qué medio es soluble la muestra?	Agua o tampón acuoso con hasta un 50% de metanol	Agilent PL aquagel-OH	La mejor elección para aplicaciones basadas en agua, pero no puede acomodar muestras orgánicas, excepto metanol de hasta 50%
Muchos polímeros solo son solubles en unos pocos disolventes. Esta cuestión es clave al desarrollar métodos para analizar polímeros. Los disolventes que se recogen en esta guía son eluyentes utilizados con frecuencia en GPC/SEC.	Disolventes orgánicos típicos tales como THF, cloroformo, tolueno	Agilent PLgel o Agilent PlusPore	Las columnas PLgel constituyen nuestra principal elección; las columnas PlusPore son una alternativa
	Mezclas de agua y compuestos orgánicos u orgánicos polares, tales como DMF o NMP	Agilent PolarGel	PolarGel pertenece a una gama de columnas más pequeñas que las columnas PLgel o PL aquagel-OH, sin embargo, es apta para mezclas de compuestos orgánicos y agua

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Encontrará más información sobre los instrumentos y sistemas para GPC/SEC a un clic. Agilent pone a su disposición notas de aplicación, fichas técnicas y folletos de forma gratuita.

Para obtener más información, visite **www.agilent.com/chem/gpc**



Elección de una columna para GPC/SEC

Las columnas que aparecen en negrita son la primera mejor opción

Pregunta	Respuesta	Recomendación	Comentarios
2. ¿Qué peso molecular se espera? *Puede resultar extraño plantear esta pregunta, pero en GPC/SEC la resolución de una columna está relacionada con el rango de resolución. Conocer el peso molecular esperado de una muestra ayuda a elegir la columna que proporcionará los mejores resultados.*	Alto (hasta varios millones)	Disolventes acuosos **PL aquagel-OH MIXED-H de 8 µm** o una combinación de PL aquagel-OH 40 y 60 de 15 µm	La combinación de columnas de 15 µm solo es mejor cuando la viscosidad de las muestras es muy alta. Si este no es el caso, las columnas de 8 µm ofrecen una resolución mayor.
		Disolventes orgánicos **PLgel MIXED-B de 10 µm** o PLgel MIXED-A de 20 µm	La columna PLgel MIXED-A alcanza mayor resolución que la columna PLgel MIXED-B, pero con un rendimiento menor debido al mayor tamaño de las partículas
		Mezcla de disolventes **PolarGel**	No hay disponible ninguna columna PolarGel para este rango de peso molecular. Póngase en contacto con un experto en GPC/SEC para recibir orientación al respecto.
	Intermedio (hasta cientos de miles)	Disolventes acuosos **PL aquagel-OH MIXED-M de 8 µm**	Amplia variedad de columnas que cubren la mayor parte de polímeros solubles en agua
		Disolventes orgánicos **PLgel MIXED-C de 5 µm** o PLgel MIXED-D de 5 µm, PolyPore o ResiPore	Las columnas PLgel son las columnas con mayor número de aplicaciones; las columnas PolyPore y ResiPore son alternativas.
		Mezcla de disolventes **PolarGel-M**	Cubren la mayor parte de aplicaciones
	Bajo (hasta decenas de miles)	Disolventes acuosos **Combinación de PL aquagel-OH 40 y PL aquagel-OH 30 de 8 µm**	Estas dos columnas combinadas cubren el intervalo más bajo del rango de peso molecular
		Disolventes orgánicos **PLgel MIXED-E de 3 µm** o MesoPore	La columna PLgel proporciona una alta resolución y se ha diseñado para aplicaciones de peso molecular bajo; la columna MesoPore es una alternativa
		Mezcla de disolventes **PolarGel-L**	Para aplicaciones de peso molecular bajo
	Muy bajo (unos pocos de miles)	Disolventes acuosos **PL aquagel-OH 20 de 5 µm**	Esta columna de alto rendimiento ofrece una elevada resolución a un peso molecular bajo
		Disolventes orgánicos **OligoPore** o PLgel de 3 µm, 100 Å	La columna OligoPore es menos propensa a la dispersión que la columna PLgel; sin embargo, ambas funcionan bien
		Mezcla de disolventes **PLgel**	Ninguna columna PolarGel cubre este rango, por lo que las columnas PLgel se deben utilizar como alternativas
	Desconocido	Disolventes acuosos **PL aquagel-OH MIXED-M de 8 µm**	Cubre los rangos de peso molecular de la mayor parte de muestras de polímeros
		Disolventes orgánicos **PLgel MIXED-C de 5 µm** o PolyPore	La columna PLgel es la columna que permite el mayor número de aplicaciones
		Mezcla de disolventes **PolarGel-M**	Cubre la mayor parte de aplicaciones

Configuración del sistema para GPC/SEC

Pregunta	Respuesta	Recomendación	Comentarios
3. ¿Cuántas columnas se deben utilizar? *Cuanto mayor es el tamaño de la partícula del medio en la columna (que depende del peso molecular esperado de las muestras), menor ha de ser la resolución utilizada y mayor el número de columnas empleado para preservar la calidad de los resultados. En el caso de las muestras con un peso molecular mayor, es necesario que las partículas de mayor tamaño reduzcan el riesgo de degradación por rotura durante el análisis.*	Depende del tamaño de las partículas de las columnas	Utilice 4 columnas para partículas cuyo tamaño sea de 20 µm Utilice 3 columnas para partículas cuyo tamaño sea de 13 µm Utilice 3 columnas para partículas cuyo tamaño sea de 10 µm Utilice 2 columnas para partículas cuyo tamaño sea de 8 µm Utilice 2 columnas para partículas cuyo tamaño sea de 5 µm Utilice 2 columnas para partículas cuyo tamaño sea de 3 µm	Se requiere un mayor número de columnas para tamaños grandes de partículas con el fin de compensar los bajos rendimientos

Pregunta	Respuesta	Recomendación	Comentarios
4. ¿Qué volumen de inyección es necesario? *El volumen de inyección requerido depende del tamaño de las partículas de la columna: las partículas más pequeñas necesitan volúmenes de inyección inferiores para minimizar el volumen muerto. Los volúmenes de inyección de mayor tamaño admiten la introducción de muestras con un peso molecular elevado en concentraciones bajas. De esta forma, se reduce la viscosidad y se asegura la obtención de un cromatograma de calidad.*	Depende del tamaño de las partículas de las columnas	Utilice una inyección de 200 µl para partículas cuyo tamaño sea de 20 µm Utilice una inyección de 200 µl para partículas cuyo tamaño sea de 13 µm Utilice una inyección de 200 µl para partículas cuyo tamaño sea de 10 µm Utilice una inyección de 100 a 200 µl para partículas cuyo tamaño sea de 5 µm Utilice una inyección de 20 µl para partículas cuyo tamaño sea de 3 µm	Los tamaños de partículas más pequeñas requieren loops más pequeños

¿Qué patrones debo utilizar?

Los patrones que aparecen en negrita son la mejor opción inicial

Pregunta	Respuesta	Recomendación	Comentarios
5. ¿Cuál es el eluyente? *Los patrones son polímeros, por tanto, la elección de los patrones refleja fundamentalmente su solubilidad en los eluyentes seleccionados.*	Agua o tampón acuoso con hasta un 50% de metanol	**Polietilenglicol (PEG), óxido de polietileno (PEO)** o polisacáridos (SAC)	Estos patrones obtienen buen rendimiento en todos los sistemas basados en agua, con PEG/PEO en el práctico formato Agilent EasiVial.
	Disolventes orgánicos típicos tales como THF, cloroformo, tolueno	**Poliestireno (PS) o** polimetilmetacrilato (PMMA)	El poliestireno es el patrón que con mayor frecuencia se utiliza con el práctico formato EasiVial.
	Mezclas de agua y compuestos orgánicos u orgánicos polares tales como DMF o NMP	**Polietilenglicol, óxido o** polimetilmetacrilato	Los patrones polares funcionan bien.

(continuación)

¿Qué patrones debo utilizar?

Pregunta	Respuesta	Recomendación	Comentarios
6. ¿Qué formato de patrones se recomienda?	Para los enfoques más rápidos y sencillos en los que no se requieren concentraciones precisas	La opción más sencilla: **EasiVial** o EasiCal	Fácil de usar, es preferible el empleo de EasiVial en lugar de EasiCal, debido al surtido más amplio de tipos de polímeros
Hay disponibles varios formatos diferentes de patrones en función de las preferencias del cliente.	En caso de que se requieran concentraciones precisas	Se requieren concentraciones precisas: **EasiVial** o patrones individuales	Ambos formatos admiten concentraciones precisas de las muestras; los EasiVials son más fáciles de utilizar

Pesos moleculares de polímeros típicos

Si no está seguro de cuál es el peso molecular de su muestra, la tabla que se muestra a continuación recoge el peso molecular aproximado de los polímeros más habituales. De este modo, se le facilita la selección de la columna más adecuada para su aplicación.

Tipo de polímero	Peso molecular típico del polímero	Polidispersidad[1] típica del polímero
Polímeros procedentes de la síntesis de radicales libres	Alto (hasta varios millones)	~ 2
	Intermedio (hasta cientos de miles)	
Polímeros procedentes de la síntesis de iones	Intermedio (hasta cientos de miles)	~ 1,01
	Bajo (hasta decenas de miles)	
Polímeros procedentes de síntesis aditivas	Intermedio (hasta cientos de miles)	~ 2
	Bajo (hasta decenas de miles)	
Polímeros procedentes de la polimerización controlada de radicales	Bajo (hasta decenas de miles)	~ 1,1 a 1,5
	Muy bajo (unos pocos de miles)	
Poliolefinas	Intermedio (hasta cientos de miles)	~ 2 a 200
	Alto (hasta varios millones)	
Acrilatos	Intermedio (hasta cientos de miles)	~ 2
	Alto (hasta varios millones)	
Aditivos de moléculas pequeñas	Muy bajo (unos pocos de miles)	1
Prepolímeros	Bajo (hasta decenas de miles)	~ 2 a 10
	Muy bajo (unos pocos de miles)	
Resinas	Bajo (hasta decenas de miles)	~ 2 a 10
	Muy bajo (unos pocos de miles)	
Biopolímeros naturales tales como polisacáridos	Intermedio (hasta cientos de miles)	~ 2 a 10
	Alto (hasta varios millones)	
Gomas	Intermedio (hasta cientos de miles)	~ 2 a 10
	Alto (hasta varios millones)	
Polímeros biodegradables	Intermedio (hasta cientos de miles)	~ 1,1 a 2
	Bajo (hasta decenas de miles)	

[1] La polidispersidad es una medida de la distribución de la masa molecular de un polímero. Índice de polidispersidad (PDI) = M_w/M_n.

GPC orgánica

Columnas GPC PLgel

- Sólido rendimiento en las condiciones más estrictas.
- Estabilidad de la temperatura hasta 220 °C.
- Su compatibilidad con disolventes permite una transferencia rápida y sencilla entre disolventes de diferente polaridad.

Los materiales PLgel tienen un elevado volumen de poro y una gran eficiencia para maximizar la resolución. Su inigualable compatibilidad de disolventes permite la transferencia entre eluyentes polares y no polares de forma sencilla, y su excepcional rigidez física proporciona una vida útil más prolongada que minimiza el tiempo de espera.

La clave de las separaciones GPC satisfactorias es la selección correcta de las columnas. La extensa gama de productos PLgel se ha diseñado para cubrir cualquier área de aplicación de análisis de polímeros basados en disolvente y para seleccionar la columna, el disolvente y el patrón de calibración correctos de forma rápida y fiable.

PLgel es una matriz de poliestireno/divinilbenceno porosa muy entrecruzada, considerada líder del mercado en el sector de la tecnología de columnas GPC. PLgel se fabrica según la norma ISO 9001:2000 y, gracias a exhaustivos controles de calidad, goza de una reproducibilidad plena, entre lotes y entre columnas.

Compatibilidad del disolvente

Las columnas de PLgel normalmente se entregan en etilbenceno*, pero puede realizar una sencilla y rápida transferencia entre disolventes de diferente polaridad. En la columna GPC orgánica puede producirse ocasionalmente la interacción entre la muestra y la columna; es posible modificar el eluyente para eliminar estos efectos. Las columnas PLgel son la opción ideal para estos análisis, ya que toleran sin problemas eluyentes en el rango de pH de 1-14, además de hasta el 10% de agua en un disolvente orgánico miscible.

PLgel es compatible con todos estos disolventes

Polaridad del disolvente	Disolvente
6,0	Perfluoroalcano
7,3	Hexano
8,2	Ciclohexano
8,9	Tolueno
9,1	Acetato de etilo
9,1	Tetrahidrofurano (THF)
9,3	Cloroformo
9,3	Cetona metiletílica (MEK)
9,7	Diclorometano
9,8	Dicloroetileno
9,9	Acetona
10.0	o-diclorobenceno (o-DCB)
10.0	Triclorobenceno (TCB)
10,2	m-cresol
10,2	o-clorofenol (o-CF)
10,7	Piridina
10,8	Dimetilacetamida (DMA)
11,3	N-metilpirrolidona (NMP)
12,0	Dimetilsulfóxido (DMSO)
12,1	Dimetilformamida (DMF)

*También ofrecemos un servicio de envasado personalizado con el que las columnas se pueden enviar en disolventes específicos para ofrecer una mayor comodidad a nuestros clientes.

Porosidad de la frita PLgel

Tipo de medios	Porosidad (µm)
PLgel 3 µm	2
PLgel 5 µm	2
PLgel 10 µm	5
PLgel 20 µm	10

Si desea información sobre pedidos de accesorios para columnas PLgel, consulte la página 529.

Columnas PLgel MIXED

La gama PLgel MIXED hace que sea mucho más sencillo decidirse por una columna. Con estas columnas mixtas puede eliminar ajustes de columnas no coincidentes y picos falsos para obtener resultados más fiables. Todas las columnas contienen una mezcla de materiales con tamaño de poro individual, mezclados con precisión para cubrir una amplia gama específica de pesos moleculares con una calibración lineal para conseguir eliminar el desajuste de columna. Para lograr una mayor resolución tan solo tiene que añadir otras columnas.

Especificaciones de columnas

Columna	Intervalo operativo de peso molecular lineal (g/mol)	Rendimiento garantizado de la columna	Presión típica	Velocidad de flujo máxima	Presión máxima	Temperatura máxima
PLgel MIXED-A	2.000-40.000.000	> 17 000 p/m	1 ml/min (7,5 mm de d.i.): ≈ 3 bares (44 psi) por 300 mm 0,3 ml/min (4,6 mm de d.i.): ≈ 2,4 bares (35 psi) por 250 mm (THF a 20 °C, TCB a 140 °C)	7,5 mm de d.i.: 1,5 ml/min 4,6 mm de d.i.: 0,5 ml/min	150 bares (2.175 psi)	220 °C
PLgel MIXED-B	500-10.000.000	> 35 000 p/m	1 ml/min (7,5 mm de d.i.): ≈ 10 bares (145 psi) por 300 mm 0,3 ml/min (4,6 mm de d.i.): ≈ 8 bares (116 psi) por 250 mm (THF a 20 °C, TCB a 140 °C)	7,5 mm de d.i.: 1,5 ml/min 4,6 mm de d.i.: 0,5 ml/min	150 bares (2.175 psi)	220 °C
PLgel MIXED-C	200-2.000.000	> 50 000 p/m	1 ml/min (7,5 mm de d.i.): ≈ 30 bares (435 psi) por 300 mm 0,3 ml/min (4,6 mm de d.i.): ≈ 24 bares (348 psi) por 250 mm (THF a 20 °C, TCB a 140 °C)	7,5 mm de d.i.: 1,5 ml/min 4,6 mm de d.i.: 0,5 ml/min	150 bares (2.175 psi)	150 °C
PLgel MIXED-D	200-400.000	> 50 000 p/m	1 ml/min (7,5 mm de d.i.): ≈ 30 bares (435 psi) por 300 mm 0,3 ml/min (4,6 mm de d.i.): ≈ 24 bares (348 psi) por 250 mm (THF a 20 °C, TCB a 140 °C)	7,5 mm de d.i.: 1,5 ml/min 4,6 mm de d.i.: 0,5 ml/min	150 bares (2.175 psi)	150 °C
PLgel MIXED-E	hasta 30.000	7,5 x 300 mm: > 80 000 p/m 4,6 x 250 mm: > 70 000 p/m	1 ml/min (7,5 mm de d.i.): ≈ 50 bares (725 psi) por 300 mm 0,3 ml/min (4,6 mm de d.i.): ≈ 42 bares (609 psi) por 250 mm (THF a 20 °C)	7,5 mm de d.i.: 1,5 ml/min 4,6 mm de d.i.: 0,5 ml/min	180 bares (2.611 psi)	110 °C

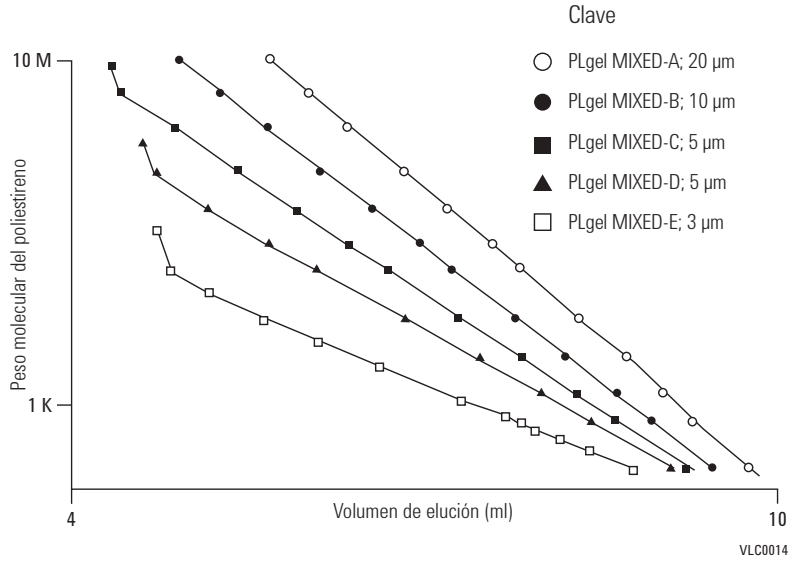
Guía de selección de columnas PLgel MIXED

Distribuciones poliméricas de peso molecular ultra alto	PLgel MIXED-A, 20 µm
Polímeros de alto peso molecular, eluyentes complejos	PLgel MIXED-B, 10 µm
Polímero de peso molecular, resolución elevada	PLgel MIXED-C, 5 µm
Resinas, polímeros de condensación	PLgel MIXED-D, 5 µm
Resinas de bajo peso molecular, prepolímeros	PLgel MIXED-E, 3 µm



Curvas de calibración de gel PLgel MIXED

Las curvas de calibración del gel MIXED se han diseñado para ser lineales en un rango de pesos moleculares específico, lo que garantiza que se consigue el mismo grado de resolución en todo el rango de trabajo de la columna. El tamaño de partículas del relleno y la porosidad de una columna de gel MIXED se adaptan cuidadosamente al rango de PM y la aplicación, por lo que se optimiza el rendimiento y se eliminan los efectos de la degradación por rotura. La resolución en GPC se controla mediante la inclinación de la curva de calibración y el tamaño de partículas del material de relleno. Agilent ha determinado científicamente el número mínimo de columnas de gel MIXED necesarias para realizar determinaciones de la distribución del peso molecular precisas basadas en una resolución específica (Rsp). Por ello, puede confiar plenamente en la exactitud y precisión de los datos calculados.



Referencia: Meehan, E. (1998) Size exclusion chromatography columns from Polymer Laboratories. In: Chi-San Wu (Ed.) Column Handbook for Size Exclusion Chromatography. Academic Press, New York, USA.

Columnas PLgel MIXED

Descripción	Tamaño (mm)	Referencia
PLgel MIXED-A	7,5 x 300	PL1110-6200
PLgel MIXED-B	7,5 x 300	PL1110-6100
PLgel MIXED-C	7,5 x 300	PL1110-6500
PLgel MIXED-D	7,5 x 300	PL1110-6504
PLgel MIXED-E	7,5 x 300	PL1110-6300

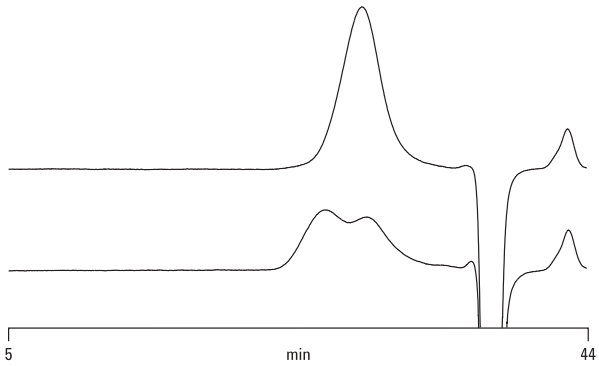
Precolumnas MIXED PLgel

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Referencia
7,5 x 50	20	PL1110-1220
7,5 x 50	10	PL1110-1120
7,5 x 50	5	PL1110-1520
7,5 x 50	3	PL1110-1320

Almidones

Columna: **4 x PLgel MIXED-A**
PL1110-6200
7,5 x 300 mm

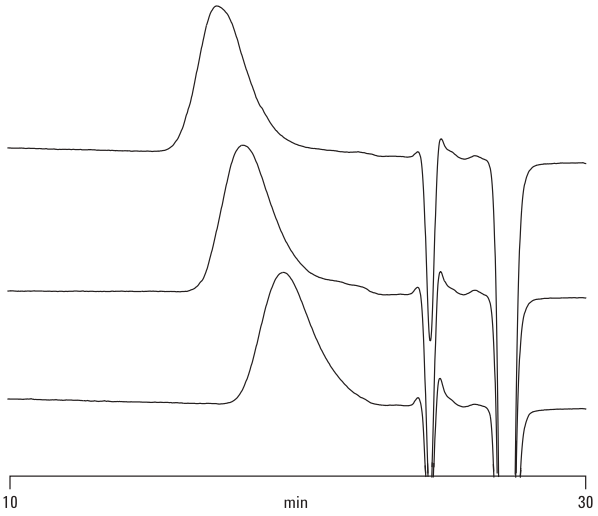
Fase móvil: DMSO + $NaNO_3$ 5 mM
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min
Temperatura: 80 °C
Detector: Índice de refracción



Sulfuros de polifenileno

Columna: **3 x PLgel MIXED-B**
PL1110-6100
7,5 x 300 mm

Fase móvil: o-Cloronaftaleno
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min
Temperatura: 210 °C
Detector: Índice de refracción



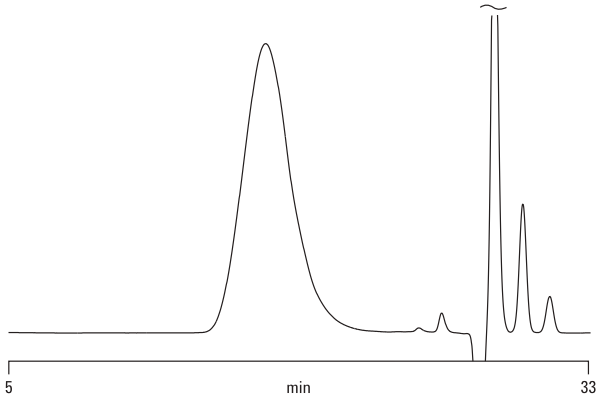
PVC plastificado

Columna: **3 x PLgel MIXED-C**
PL1110-6500
7,5 x 300 mm

Fase móvil: THF

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: Índice de refracción



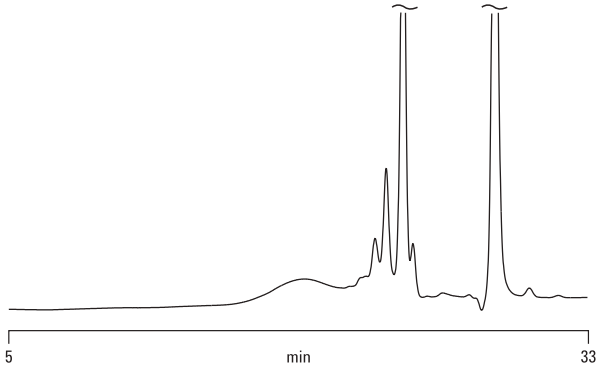
Resina epoxi

Columna: **3 x PLgel MIXED-D**
PL1110-6504
7,5 x 300 mm

Fase móvil: THF

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: Índice de refracción



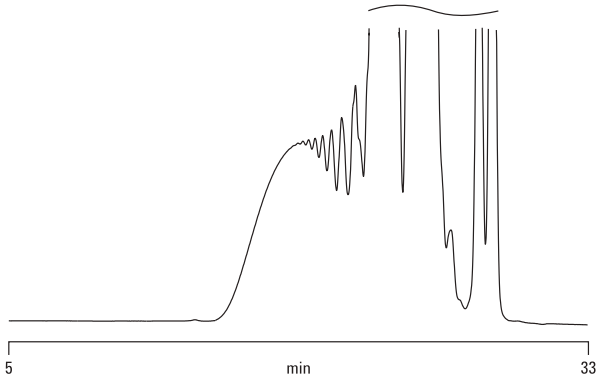
Poliol

Columna: **PLgel MIXED-E**
PL1110-6300
7,5 x 300 mm

Fase móvil: THF

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: UV; 254 nm



Columnas PLgel MIXED-LS

- Obtenga una mejora instantánea en la calidad de los datos
- Sin necesidad de acondicionamiento, se ahorra en tiempo y costes de disolventes
- Maximice el potencial de los detectores de dispersión de luz

La serie PLgel MIXED-LS es un relleno PS/DVB que utiliza una innovadora técnica propia de polimerización por suspensión para eliminar virtualmente la fuga de nanopartículas. Se consigue una asombrosa mejora de forma inmediata en la calidad de los datos de dispersión de luz obtenidos con las columnas PLgel MIXED-LS en lugar de con las columnas GPC convencionales. Los cromatogramas de dispersión de luz que aquí se muestran se obtuvieron tras lavar las columnas durante una hora en THF a 1 ml/min. Se inyectó un patrón de poliestireno (Mp 210 000) a 1 mg/ml para demostrar la significativa mejora de la relación señal/ruido con la columna PLgel MIXED-LS.

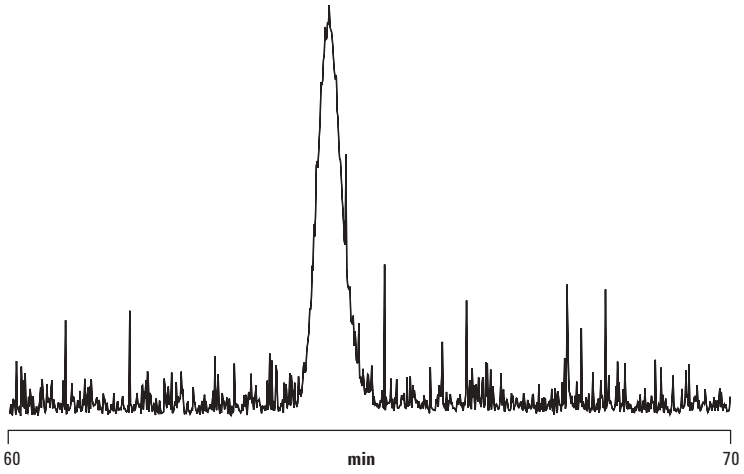
El rendimiento de las columnas PLgel MIXED-LS coincide con las columnas PLgel MIXED-A de 20 µm y PLgel MIXED-B de 10 µm en lo que a calibración, eficiencia de la columna, amplia compatibilidad de disolventes y temperatura de funcionamiento se refiere. Las MIXED-LS son ideales también para la detección de la viscosidad en línea, lo que minimiza el riesgo de obstrucción capilar, y se pueden usar con precolumnas PLgel normales empaquetadas con geles rígidos con tamaño de poro bajo sin sangrado de partículas.

Columnas PLgel MIXED-LS

Descripción	Tamaño (mm)	Peso molecular lineal Rango operativo (g/mol) (PS)	Eficacia garantizada (p/m)	Referencia
PLgel MIXED-B LS	7,5 x 300	500-10 000 000	>35 000	PL1110-6100LS
Precolumna PLgel	7,5 x 50			PL1110-1120
PLgel MIXED-A LS	7,5 x 300	2 000-40 000 000	>17 000	PL1110-6200LS
Precolumna PLgel 20 µm	7,5 x 50			PL1110-1220

Columna GPC convencional

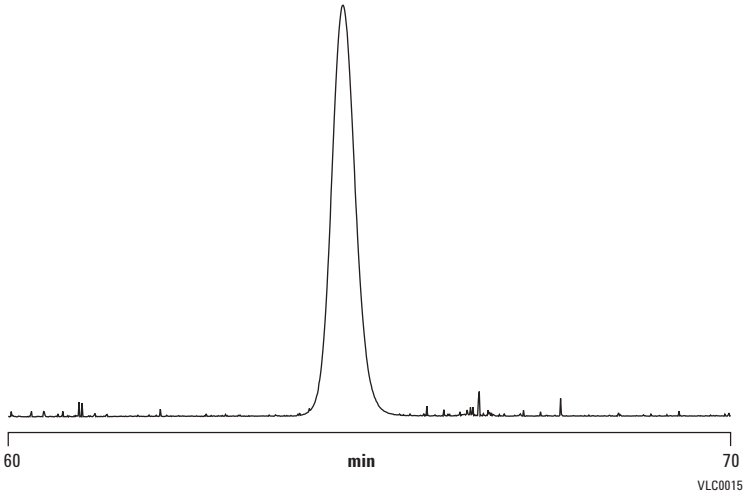
Columna:	**Columna GPC convencional**
Fase móvil:	THF
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Detector:	LS



Detección de la dispersión de la luz con una columna GPC convencional (ruido debido al sangrado de partículas).

Columna PLgel LS

Columna:	**PLgel MIXED-B LS PL1110-6100LS 7,5 x 300 mm, 10 µm**
Fase móvil:	THF
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Detector:	LS



Detección de la dispersión de la luz con una columna PLgel LS; el sangrado mínimo de partículas permite obtener una línea base mejorada.

Columnas PLgel MiniMIX

- Utilice un 70% menos de disolvente y ahorre dinero.
- Almacene menos disolvente y aumente la seguridad del usuario.
- Alto rendimiento comparable con las columnas de d.i. convencionales de Agilent.

Para un coste y consumo de disolvente reducidos, utilice las columnas de gel mixtas PLgel MiniMIX estándar en el sector en dimensiones de diámetro estrecho de 250 x 4,6 mm. Estas columnas de diámetro estrecho ofrecen un alto rendimiento, una excelente compatibilidad de disolvente y estabilidad mecánica. Las columnas PLgel MiniMIX se pueden utilizar con equipos GPC convencionales.

Para mantener la misma velocidad lineal a lo largo de la columna, la velocidad de flujo volumétrico debe reducirse a 0,3 ml/min de acuerdo con la sección transversal de la columna, lo que redunda en un consumo de disolvente mucho menor. La carga de muestras también se deberá reducir de acuerdo con el menor volumen de columna, y el volumen muerto del sistema deberá minimizarse para evitar un ensanchamiento de banda excesivo.

Columnas PLgel MiniMIX

Descripción	Tamaño (mm)	Peso molecular lineal Rango operativo (g/mol) (PS)	Eficacia garantizada (p/m)	Referencia
PLgel MiniMIX-A	4,6 x 250	2 000-40 000 000	> 17 000	PL1510-5200
Precolumna PLgel MiniMIX-A	4,6 x 50			PL1510-1200
PLgel MiniMIX-B	4,6 x 250	500-10 000 000	> 35 000	PL1510-5100
Precolumna PLgel MiniMIX-B	4,6 x 50			PL1510-1100
PLgel MiniMIX-C	4,6 x 250	200-2.000.000	> 50.000	PL1510-5500
Precolumna PLgel MiniMIX-C	4,6 x 50			PL1510-1500
PLgel MiniMIX-D	4,6 x 250	200-400.000	> 50.000	PL1510-5504
Precolumna PLgel MiniMIX-D	4,6 x 50			PL1510-1504
PLgel MiniMIX-E	4,6 x 250	hasta 30.000	> De 70.000	PL1510-5300
Precolumna PLgel MiniMIX-E	4,6 x 50			PL1510-1300

Columnas de tamaño de poro individual PLgel

- Su gran eficiencia mejora la productividad
- Elija la mejor columna para conseguir la combinación perfecta de rendimiento y aplicación
- El análisis rápido con menos columnas ahorra tiempo y dinero

Las columnas GPC de tamaño de poro individual ofrecen una alta resolución en un rango de peso molecular específico. La porción lineal de la curva de calibración, es decir, en el punto en que la pendiente es más superficial, define la región MW sobre la que se consigue la mejor resolución.

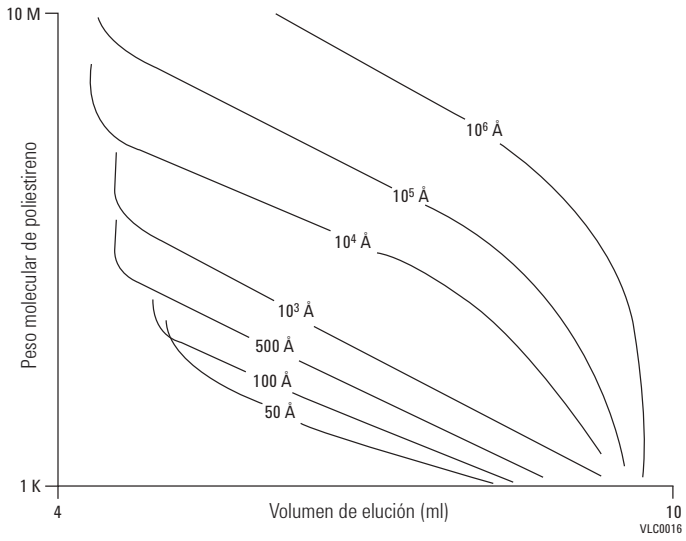
Columnas de tamaño de poro individual PLgel

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Tamaño de poro (Å)	Peso molecular lineal Rango operativo (g/mol) (PS)	Eficacia garantizada (p/m)	Referencia
7,5 x 300	3	100	hasta 4.000	> 100.000	PL1110-6320
7,5 x 300	5	50	hasta 2.000	> 60.000	PL1110-6515
7,5 x 300	5	100	hasta 4.000	> 60.000	PL1110-6520
7,5 x 300	5	500	500-30.000	> 60.000	PL1110-6525
7,5 x 300	5	10^3	500-60.000	> 50.000	PL1110-6530
7,5 x 300	5	10^4	10.000-600.000	> 50.000	PL1110-6540
7,5 x 300	5	10^5	60.000-2.000.000	> 50.000	PL1110-6550
7,5 x 300	10	50	hasta 2.000	> 35.000	PL1110-6115
7,5 x 300	10	100	hasta 4 000	> 35.000	PL1110-6120
7,5 x 300	10	500	500-30.000	> 35.000	PL1110-6125
7,5 x 300	10	10_3	500-60.000	> 35.000	PL1110-6130
7,5 x 300	10	10^4	10 000-600 000	> 35.000	PL1110-6140
7,5 x 300	10	10^5	60 000-2 000 000	> 35.000	PL1110-6150
7,5 x 300	10	10^6	600 000-10 000 000	> 35.000	PL1110-6160

Encontrará información sobre la precolumna PLgel en la página 500.

Curvas de calibración

Calibración: Poliestireno
Fase móvil: THF
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min



Columnas preparativas PLgel

- La excelente eficiencia de columna ofrece una resolución óptima
- La carga alta puede aislar cantidades de mg para un estudio posterior
- El escalado 10 veces mayor permite una cuantificación eficiente

La GPC preparativa se suele emplear para fraccionar polímeros, aislar componentes en un fórmula polimérica o simplificar mezclas de moléculas relativamente pequeñas en matrices complejas. Las mezclas de materiales se pueden separar con facilidad según sea su tamaño, preferiblemente en un disolvente orgánico de bajo punto de ebullición. A continuación, se recogen como una serie de fracciones discretas y se aíslan mediante evaporación simple del disolvente.

Las columnas preparativas PLgel se llenan con los mismos medios rígidos de alto rendimiento de las columnas analíticas. La partícula de 10 µm ofrece una alta eficiencia de columna (> 25 000 p/m) para obtener una resolución y características de carga óptimas. Las columnas preparativas PLgel de 25 mm de d.i. ofrecen un escalado diez veces mayor que las columnas analíticas de 7,5 mm. El mayor d.i. y el volumen de columna permiten una carga incluso mayor. Con los materiales de bajo peso molecular, la concentración de muestras también puede aumentar de forma significativa, permitiendo la producción de cantidades de miligramos de material muy puro. La carga real se controla por último mediante la muestra y su peso molecular.

Columnas preparativas PLgel

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Tamaño de poro (Å)	Peso molecular lineal Rango operativo (g/mol) (PS)	Referencia
25 x 300	10	50	hasta 2.000	PL1210-6115
25 x 300	10	100	hasta 4.000	PL1210-6120
25 x 300	10	500	500-30.000	PL1210-6125
25 x 300	10	10^3	500-60.000	PL1210-6130
25 x 300	10	10^4	10.000-600.000	PL1210-6140
25 x 300	10	10^5	60.000-2.000.000	PL1210-6150
25 x 300	10	10^6	600.000-10.000.000	PL1210-6160
MIXED-B 25 x 300	10		500-10.000.000	PL1210-6100
MIXED-D 25 x 300	10		200-400.000	PL1210-6104
Precolumna prep. 25 x 25				PL1210-1120

Columnas para aplicaciones GPC/SEC especiales

EnviroPrep

- Elevada carga de muestras que garantiza un análisis de trazas eficaz
- Sencillo procedimiento de limpieza que ahorra los costes de preparación de muestras
- Distribución de tamaños de partículas optimizada que proporciona mayor resolución

Las columnas EnviroPrep permiten una limpieza sencilla de una etapa como parte de una metodología para determinar los pesticidas en muchas matrices orgánicas. Las fracciones de mayor peso molecular como los lípidos, los polímeros, las resinas naturales y los componentes dispersos de elevado peso molecular se eliminan fácilmente en el análisis GPC.

Las GPC preparativas para la limpieza de extractos de suelos se describen en el método EPA 3640A con columnas de 300 x 25 mm y de 150 x 25 mm para proporcionar mayor carga de muestras y rendimientos de fracciones, lo que es particularmente útil para bajos niveles de contaminantes. Las columnas EnviroPrep con tamaño de poro bajo son ideales para este método. Las columnas tienen partículas de 10 µm con tamaños de poro 100 Å para lograr una mayor resolución, con un límite de exclusión de 4 000 g/mol. Las columnas preparativas ofrecen buena resolución y elevadas cargas mediante la optimización de distribuciones de tamaños de partículas.

EnviroPrep

Tamaño (mm)	Referencia
21,2 x 150	PL1E10-3120EPA
25 x 150	PL1210-3120EPA
21,2 x 300	PL1E10-6120EPA
25 x 300	PL1210-6120EPA

Columnas para limpieza de muestras

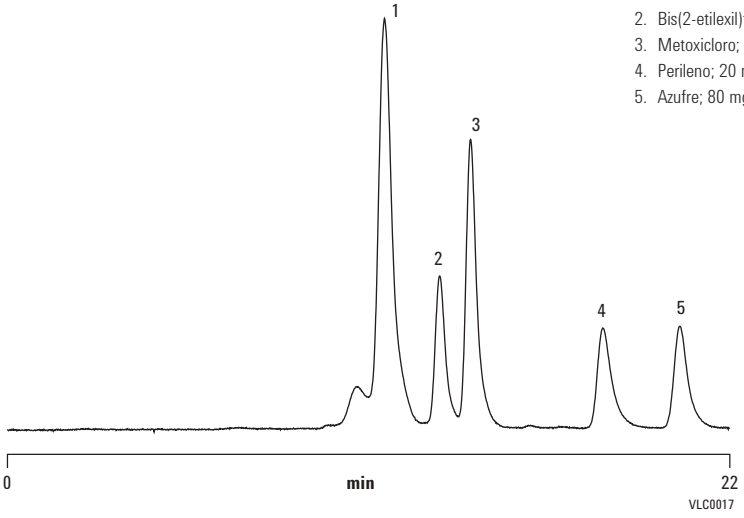
Columna: **EnviroPrep PL1210-6120EPA 25 x 300 mm**

Columna: **EnviroPrep PL1210-3120EPA 25 x 150 mm**

Fase móvil: DCM

Velocidad de flujo: 10 ml/min

Detector: UV; 254 nm



1. Aceite de maíz; 25.000 mg/l
2. Bis(2-etilexil)ftalato; 1,000 mg/l
3. Metoxicloro; 200 mg/l
4. Perileno; 20 mg/l
5. Azufre; 80 mg/l

PLgel Olexis

- Diseño optimizado para el análisis de poliolefinas
- Capacidad de funcionamiento a altas temperaturas
- Alta resolución sin daños por la rotura de la muestra, lo que proporciona claras separaciones

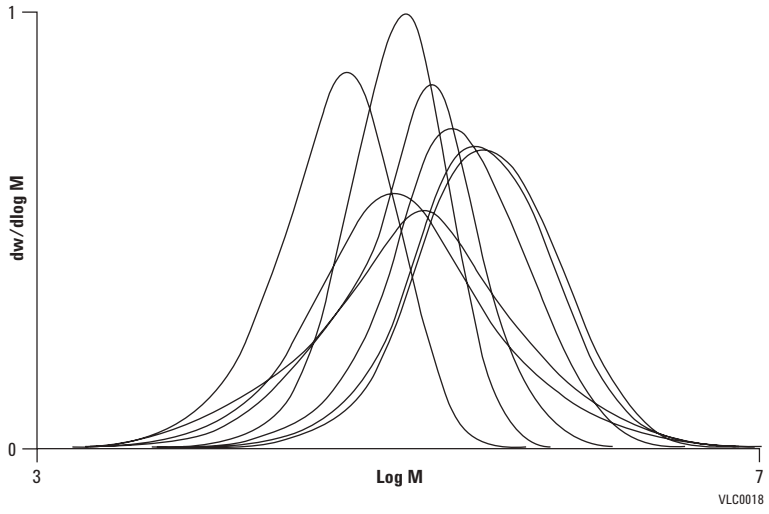
PLgel Olexis se ha diseñado para el análisis de polímeros de peso molecular muy alto, en concreto, poliolefinas. La columna resuelve hasta 100.000.000 g/mol (poliestireno en THF) y se ha empaquetado con partículas de 13 µm para optimizar la eficiencia y resolución sin el riesgo de degradación por rotura de la muestra durante el análisis. El relleno de PLgel Olexis tiene la estabilidad y resistencia mecánicas que se esperan de una columna PLgel y, por ello, es capaz de funcionar hasta a 220 °C para el análisis de materiales altamente cristalinos.

PLgel Olexis

Descripción	Tamaño (mm)	Referencia
PLgel Olexis	7,5 x 300	PL1110-6400
Precolumna PLgel Olexis	7,5 x 50	PL1110-1400

PLgel Olexis muestra verdaderas modalidades entre la gama de las poliolefinas

Columna:	**3 x PLgel Olexis PL1110-6400 7,5 x 300 mm**
Fase móvil:	Triclorobenceno + 0,0125% BHT
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Volumen de inyección:	200 µl
Temperatura:	160 °C
Detector:	PL-GPC 220 (RI)



PL HFIPgel

- Rango de separación optimizado que proporciona un alto rendimiento sin artefactos
- Relleno muy duradero que prolonga la vida útil de columna
- Baja presión de funcionamiento que reduce el desgaste del sistema y los tiempos de espera innecesarios

El hexafluoroisopropanol (HFIP) se utiliza como disolvente en GPC para el análisis de importantes polímeros industriales como los poliésteres, poliamidas y copolímeros poliláctido/glicólido. Para obtener un rendimiento mejorado en disolventes extremadamente polares como el HFIP y el trifluoroetanol, hemos desarrollado una novedosa tecnología "multiporo" para producir PL HFIPgel, un relleno PS/DVB que incluye un tamaño de partícula monodispersa, gran volumen de poro y alta resolución.

Con el uso de PL HFIPgel se evitan los problemas asociados con los rellenos convencionales y el HFIP, como la curvatura excesiva de las curvas de calibración, los desplazamientos/resaltos en los picos de muestras polidispersas y la baja resolución de la región de bajo PM.

Se garantiza la eficiencia de columna > 30 000 p/m, además, las columnas son muy duraderas, con una presión máxima de funcionamiento de 145 bares (2030 psi). Se rellenan y prueban en metanol, pero se envían preparadas para utilizar en HFIP.

Las columnas PL HFIPgel con un d.i. de 7,5 mm normalmente funcionan a 1 ml/min. Sin embargo, las columnas de 4,6 mm de d.i. trabajan a 0,3 ml/min, lo que permite una reducción del 70% en el consumo de disolvente con el consiguiente ahorro en los costes de compra y desecho de disolventes.

El rango de pesos moleculares para las columnas PL HFIPgel es de 2 000 000 g/mol (PMMA en THF).

PL HFIPgel

Descripción	Tamaño (mm)	Referencia
PL HFIPgel	4,6 x 250	PL1514-5900HFIP
PL HFIPgel	7,5 x 300	PL1114-6900HFIP
Precolumna PL HFIPgel	7,5 x 50	PL1114-1900HFIP
Precolumna PL HFIPgel	4,6 x 50	PL1514-1900HFIP

Poliamidas

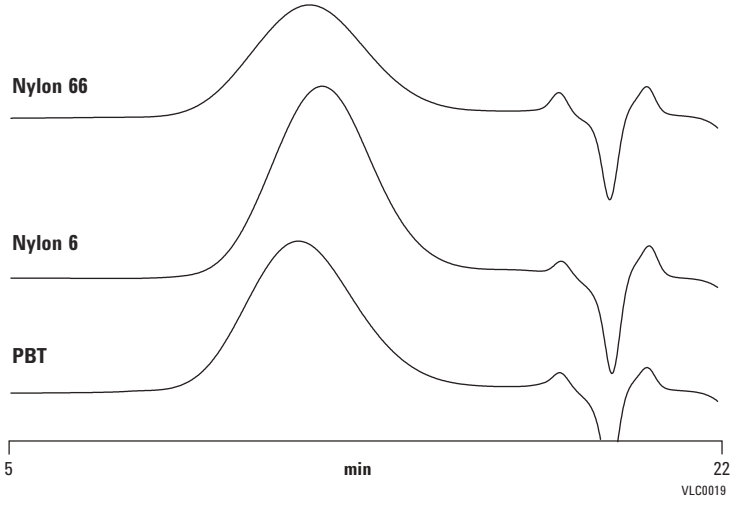
Columna: **2 x PL HFIPgel PL1114-6900HFIP 7,5 x 300**

Fase móvil: HFIP + 20 mM NaTFA

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Temperatura: 40 °C

Detector: PL-GPC 50 (RI)



PL Rapide

- El análisis, que tarda menos de diez minutos, ahorra tiempo.
- El rendimiento de muestras notablemente mejorado aumenta la eficiencia.
- Un menor consumo de disolvente y menos costes de eliminación ahorran dinero.
- Hay disponibles versiones L, M y H para pesos moleculares bajos, medios y altos; disponible en versión F para análisis de inyección de flujo.

Rapid GPC es una excelente herramienta para la monitorización del MWD de polímeros en los análisis de tendencias. Las columnas PL Rapide cortas reducen el tiempo de análisis a la vez que mantienen una compatibilidad excelente con los disolventes y la estabilidad mecánica de todas las columnas GPC de Agilent.

Las columnas PL Rapide son ideales para aplicaciones de alta velocidad como la identificación sistemática de alto rendimiento, la monitorización de procesos o el seguimiento de cambios en distribuciones de PM, donde el tiempo es el factor más crítico del análisis. Rellenas de gel de gran calidad, estas columnas cubren todo el espectro de pesos moleculares y están disponibles para el análisis de polímeros solubles en materia orgánica y agua. Entre sus principales características se incluyen materiales de relleno de gran volumen de poro y alta resolución, sin necesidad de requisitos especiales del sistema, distintas opciones de rango de pesos moleculares de resolución, amplia compatibilidad de disolventes y excelente estabilidad mecánica.

PL Rapide

Descripción	Tamaño (mm)	Intervalo de peso molecular (g/mol)	Eficiencia garantizada (p/m)	Referencia
PL Rapide H	7,5 x 150	500-10.000.000	> 35.000	PL1113-3100
	10 x 100			PL1013-2100
PL Rapide M	7,5 x 150	200-2.000.000	> 60.000	PL1113-3500
	10 x 100			PL1013-2500
PL Rapide L	7,5 x 150	200-400.000	> 80.000	PL1113-3300
	10 x 100			PL1013-2300
PL Rapide F	7,5 x 150	hasta 4.500	> 55.000	PL1113-3120
	10 x 100	Hasta 4 500	> 40.000	PL1013-2120
PL Rapide Aqua H	7,5 x 150	100-10.000.000	> 35.000	PL1149-3800
	10 x 100			PL1049-2800
PL Rapide Aqua L	7,5 x 150	100-30.000	> 35.000	PL1120-3830
	10 x 100			PL1020-2830

Análisis de resina mediante GPC rápida

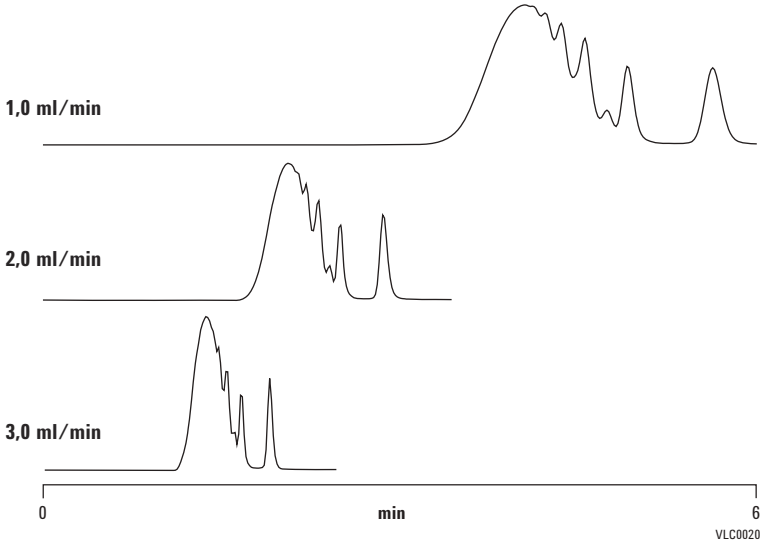
Columna: **PL Rapide L**
PL1013-2300
10 x 100 mm

Muestra: Resina epoxi

Fase móvil: THF

Velocidad de flujo: 1,0; 2,0 y 3,0 ml/min

Detector: UV; 254 nm



PolarGel

- Superficie de polaridad media y elevada estabilidad mecánica
- Funcionamiento compatible con un amplio rango de disolventes y combinaciones de disolventes
- Disponible en dos gamas resolutivas, PolarGel-L y PolarGel-M

La gama PolarGel es ideal para su utilización con disolventes polares, como la dimetilformamida (DMF) y el dimetilsulfóxido (DMSO), y para combinaciones de disolventes como el tetrahidrofurano con agua. Estos eluyentes son muy útiles en GPC/SEC para separar materiales polares, como las resinas polares, polisacáridos modificados o polímeros polares complejos que son difíciles de analizar en disolventes SEC tradicionales, como el tetrahidrofurano por sí solo. PolarGel-L se utiliza con polímeros polares de bajo peso molecular y PolarGel-M con polímeros polares de alto PM.

Con polímeros polares, los grupos extremadamente polares pueden producir interacciones inespecíficas y mecanismos de separación secundarios si se utilizan disolventes polares y columnas estireno/divinilbenceno no polares tradicionales. Normalmente, es necesario el acondicionamiento de los aditivos y/o las columnas para reducir estas interacciones. PolarGel no necesita de estas intervenciones y evita también las interacciones y efectos secundarios que producen distorsiones del cromatograma.

Estas columnas PolarGel de "lecho mixto" tienen una superficie de polaridad media y elevada estabilidad mecánica. Son capaces de funcionar con un amplio rango de disolventes y combinaciones de disolventes, lo que mejora notablemente su capacidad de análisis de polímeros polares que no tienen por qué ser solubles en agua. PolarGel está disponible en dos gamas resolutivas que cumplen con sus precisos requisitos.

PolarGel

Descripción	Tamaño (mm)	Rango de PM (g/mol) (PEG/PEO)	Referencia
PolarGel-L	7,5 x 300	Hasta 30 000	PL1117-6830
Precolumna PolarGel-L	7,5 x 50		PL1117-1830
Gel reparador PolarGel-L			PL1417-0830
PolarGel-M	7,5 x 300	Hasta 2 000 000	PL1117-6800
Precolumna PolarGel-M	7,5 x 50		PL1117-1800
Gel reparador PolarGel-M			PL1417-0800

Se analizaron dos muestras de resina de melamina con PolarGel-L

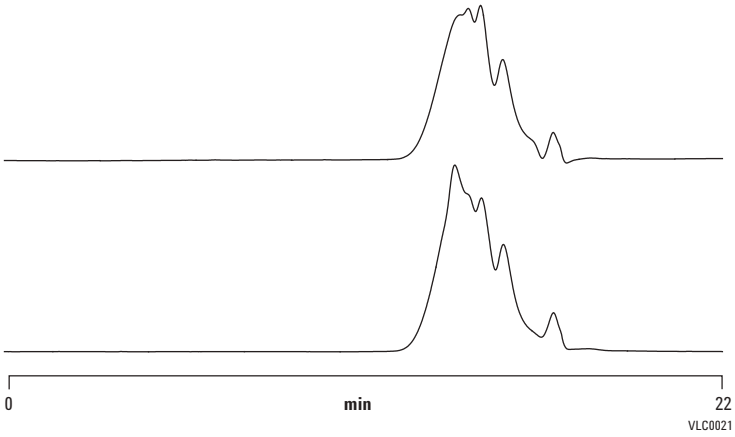
Columna: **2 x PolarGel-L 300 x 7,5 mm PL1117-6830**

Fase móvil: Dimetilacetamida + 0,1% LiBr

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Volumen de inyección: 100 µl

Detector: Agilent PL-GPC 220 (RI)



Excelente separación de dos resinas de fenol-formaldehído con PolarGel-M

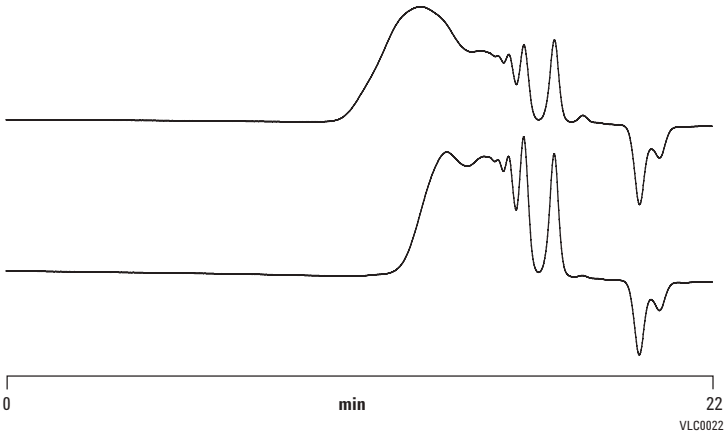
Columna: **2 x PolarGel-M 300 x 7,5 mm PL1117-6800**

Fase móvil: 0,2% (p/v) DMF y 0,1% LiBr para reducir la agregación de la muestra

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Volumen de inyección: 100 µl

Detector: Agilent PL-GPC 50 (RI)



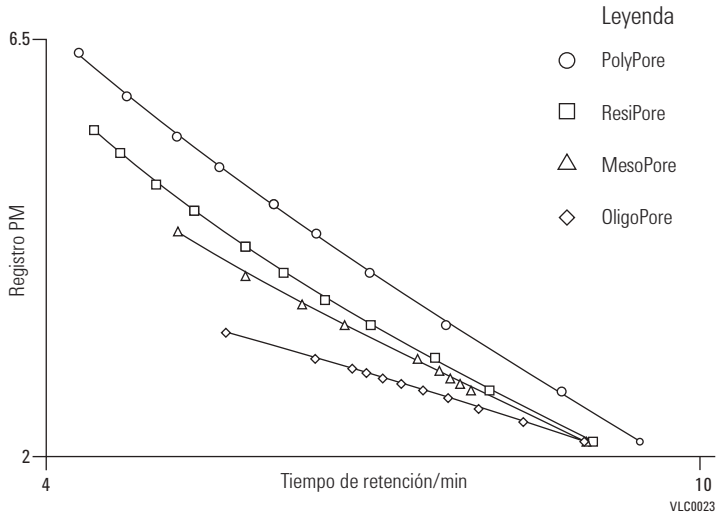
PlusPore

La gama PlusPore ha aumentado el volumen de poro, que proporciona elevada resolución en aplicaciones específicas. El medio de gran estabilidad permite el uso de un amplio rango de disolventes orgánicos con exactitud y precisión de forma que no haya distorsión de la forma de distribución del PM.

La serie de columnas PlusPore se ha diseñado especialmente para GPC de elevada resolución y representa lo último en tecnología de columnas GPC. Estos novedosos materiales de relleno se basan en el estándar del sector, poliestireno/divinilbenceno (PS/DVB) muy entrecruzado, para obtener las más amplias aplicabilidad y compatibilidad de disolventes. Se realizan con un novedoso proceso de polimerización para producir partículas que muestran una estructura de poros controlada y específica para un rendimiento óptimo del GPC. Entre las aplicaciones habituales se encuentran las resinas, los polímeros de condensación, los prepolímeros y los oligómeros.

Para análisis de polímeros de alta resolución, las columnas PolyPore, ResiPore, MesoPore y OligoPore de la serie de productos PlusPore muestran una distribución de tamaños de poro con curvas de calibración casi lineales que abarcan un amplio rango de pesos moleculares. Estas estructuras "multiporo" han aumentado el volumen de poro en comparación con los materiales de relleno de PS/DVB normales. Esto se traduce en columnas GPC diseñadas para áreas de aplicación específicas. Las partículas porosas muy entrecruzadas proporcionan estabilidad física y química y permiten sencillas transferencias entre todo el rango de disolventes orgánicos con pocos cambios en la forma de la curva de calibración o la eficiencia de las columnas. Como la tecnología de columnas multiporo no requiere la combinación de materiales de relleno con tamaños de poro individuales, se obtiene una gran exactitud y precisión sin artefactos en la forma de la distribución de pesos moleculares.

Curvas de calibración PlusPore



Guía de selección PlusPore

Columna	Rango PM (g/mol) (PS)	Tamaño de partícula nominal (µm)	Eficiencia habitual (p/m)	Compuestos de calibración recomendados	Porosidad de fritas (µm)
PolyPore	200-2.000.000	5	> 60.000	EasiCal PS-1o EasiVial PS-H	2
ResiPore	200-400.000	3	> 80.000	EasiCal PS-2 o EasiVial PS-M	2
MesoPore	hasta 25.000	3	> 80.000	S-L-10; kit poliestireno	2
OligoPore	hasta 4.500	6	> 55.000	S-L2-10; kit poliestireno	2

PolyPore

- Análisis rutinario de polímeros con resolución muy elevada
- Amplio rango de funcionamiento para simplificar la selección de columna
- Pequeño tamaño de partícula para obtener la máxima información del analito

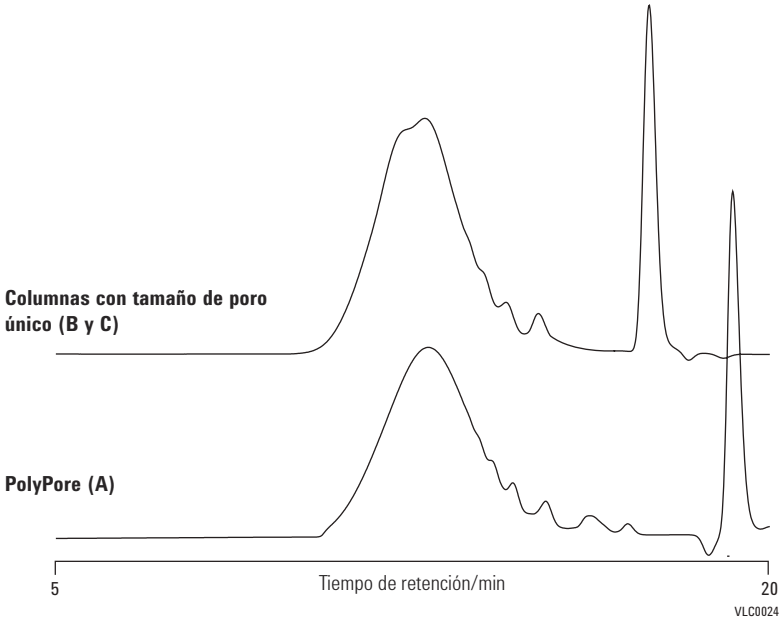
Las columnas PolyPore se han desarrollado especialmente para otorgar una resolución sin igual en el análisis de polímeros con amplias distribuciones de pesos moleculares. Con un amplio rango de funcionamiento que cubre numerosas decenas de pesos moleculares, las columnas PolyPore combinan un tamaño de partícula de 5 µm con un volumen de poro extremadamente alto para ofrecer la mayor resolución posible, lo que garantiza que del análisis se obtiene una información lo más detallada posible.

PolyPore

Descripción	Tamaño (mm)	Referencia
PolyPore	7,5 x 300	PL1113-6500
Precolumna PolyPore	7,5 x 50	PL1113-1500

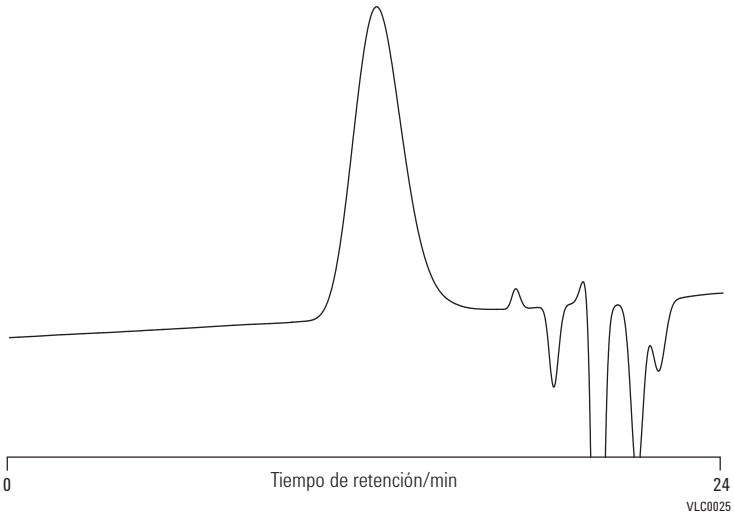
Comparación de PolyPore con columnas GPC convencionales con tamaño de poro único

Columna A:	**2 x PolyPore PL1113-6500 7,5 x 300 mm**
Columna B:	**PLgel 10^3Å 7,5 x 300 mm, 5 µm**
Columna C:	**PLgel 10^5Å 7,5 x 300 mm, 5 µm**
Muestra:	Resina de PM elevado
Fase móvil:	THF
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Volumen de inyección:	100 µl
Detector:	Agilent PL-GPC 50 (RI)



Polimetilmetacrilato en DMF

Columna:	**2 x PolyPore PL1113-6500 7,5 x 300 mm**
Muestra:	PMMA comercial
Fase móvil:	DMF + 0,1% LiBr
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Temperatura:	80 °C
Volumen de inyección:	100 µl
Detector:	Agilent PL-GPC 50 (RI)



ResiPore

- Separación eficaz de distribuciones de pesos moleculares complejas
- El contenido de oligómeros proporciona una representación real de la muestra
- El elevado volumen de poro obtiene la máxima información del analito

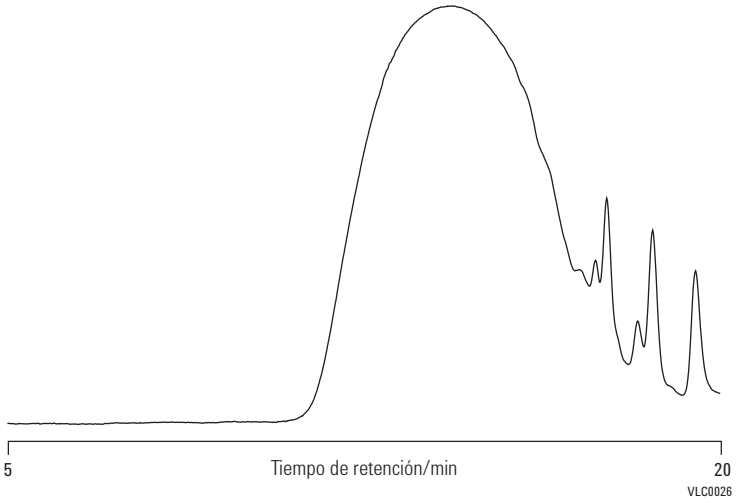
Las columnas ResiPore son una elección ideal para el análisis de resinas y polímeros de condensación con distribuciones de pesos moleculares complejas que incluyen contenidos de oligómeros. Al combinar un tamaño de partícula de 3 µm y un elevado volumen de poro, las columnas ResiPore de alta eficiencia ofrecen la máxima resolución de estos polímeros de peso molecular intermedio.

ResiPore

Descripción	Tamaño (mm)	Referencia
ResiPore	7,5 x 300	PL1113-6300
Precolumna ResiPore	7,5 x 50	PL1113-1300

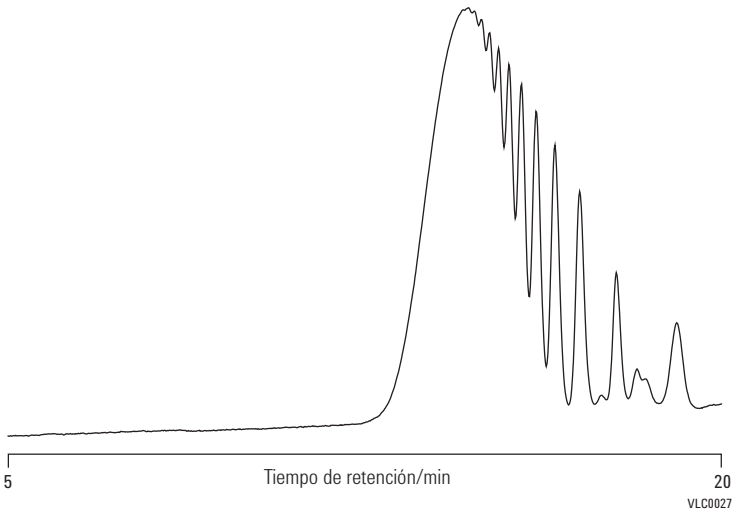
Resina alquídica

Columna:	**2 x ResiPore PL1113-6300 7,5 x 300 mm**
Fase móvil:	THF
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Volumen de inyección:	20 µl
Detector:	UV; 254 nm



Poliéster

Columna:	**2 x ResiPore PL1113-6300 7,5 x 300 mm**
Fase móvil:	THF
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Volumen de inyección:	20 µl
Detector:	UV; 254 nm



MesoPore

- Compatibilidad total de disolventes sin efectos perjudiciales en la eficiencia
- Pequeño tamaño de partícula, con lo que se obtiene la máxima información del analito
- Sin desplazamientos de la distribución del peso molecular, por lo que la distribución es una representación fidedigna de la muestra

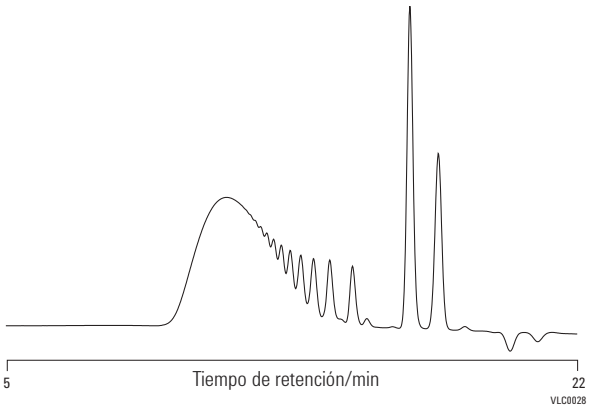
Las columnas MesoPore se han diseñado específicamente para proporcionar resultados óptimos en el análisis de prepolímeros, es decir, materiales poliméricos con un gran componente oligomérico. Al combinar un tamaño de partícula de 3 µm con un elevado volumen de poro, las columnas MesoPore proporcionan las separaciones de mayor resolución para el análisis de polímeros de bajo peso molecular, como los prepolímeros, las resinas, los polioles y los siloxanos.

MesoPore

Descripción	Tamaño (mm)	Referencia
MesoPore	7,5 x 300	PL1113-6325
Precolumna MesoPore	7,5 x 50	PL1113-1325

Poliuretanos

Columna:	**2 x MesoPore PL1113-6325 7,5 x 300 mm**
Fase móvil:	THF
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Volumen de inyección:	20 µl
Detector:	Agilent PL-GPC 50 (RI)



Poliesterimida

Columna:	**2 x MesoPore PL1113-6325 7,5 x 300 mm**
Fase móvil:	THF
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Volumen de inyección:	20 µl
Detector:	Agilent PL-GPC 50 (RI)



OligoPore

- Curva de calibración casi lineal para una mayor exactitud y precisión
- Medio muy estable que permite una amplia selección de disolventes
- Aislamiento de fracciones individuales con lo que se obtiene más información de la muestra completa

Las columnas OligoPore se han desarrollado a partir de un nuevo e innovador medio que presenta unos volúmenes de poro notablemente aumentados en comparación con las columnas GPC con tamaño de poro bajo convencionales. El resultado es de mayor resolución en la región oligomérica. La columna preparativa 300 x 25 mm ofrece alta resolución y una carga aumentada notablemente para el aislamiento eficaz de los componentes individuales. Las fracciones oligoméricas recogidas por la columna preparativa OligoPore se pueden volver a inyectar en las columnas analíticas para comprobar la pureza de las fracciones y para la comparación con toda la muestra.

OligoPore

Descripción	Tamaño (mm)	Referencia
OligoPore	25 x 300	PL1213-6520
OligoPore	7,5 x 300	PL1113-6520
Precolumna OligoPore	7,5 x 50	PL1113-1320

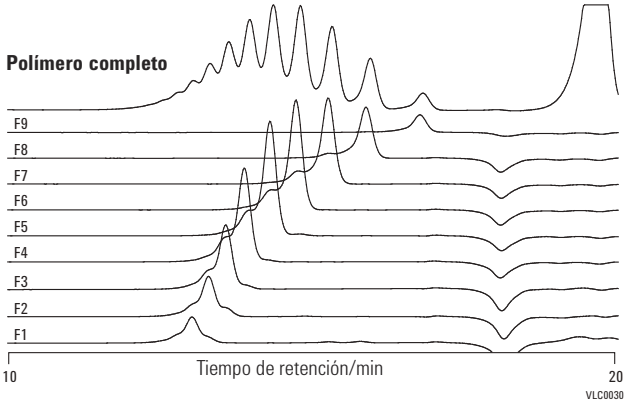
Análisis de poliestireno de bajo peso molecular y fracciones oligoméricas recogidas por las columnas preparativas OligoPore

Columna: **2 x OligoPore PL1113-6520 7,5 x 300 mm**

Fase móvil: THF

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: UV



Separación analítica de poliestireno de bajo peso molecular

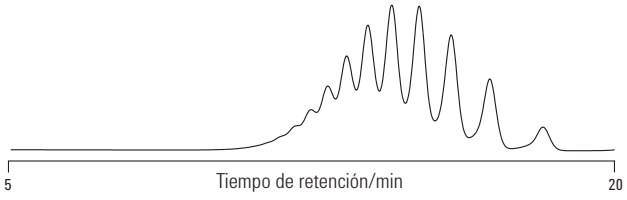
Columna: **2 x OligoPore PL1213-6520 7,5 x 300 mm**

Fase móvil: THF

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Carga: 0,2%; 100 ml

Detector: UV



Separación preparativa de poliestireno de bajo peso molecular

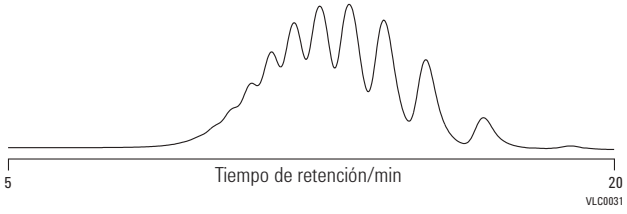
Columna: **2 x OligoPore PL1213-6520 25 x 300 mm**

Fase móvil: THF

Velocidad de flujo: 10,0 ml/min

Carga: 2,0%, 2 ml

Detector: UV



SEC en fase acuosa de polímeros

SEC PL aquagel-OH

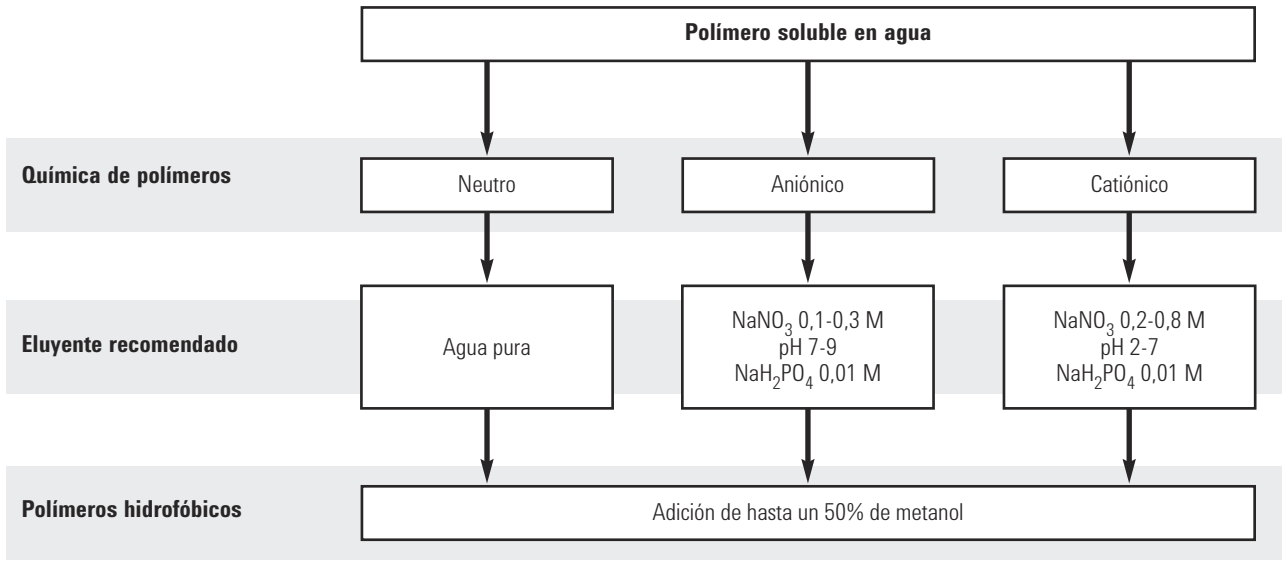
La cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) en fase acuosa se utiliza comúnmente para determinar las distribuciones de pesos moleculares de una serie de polímeros naturales y sintéticos solubles en agua y separar oligómeros y pequeñas moléculas. La necesidad de eliminar efectos iónicos e hidrofóbicos hace que la SEC en fase acuosa sea muy estricta.

La serie PL aquagel-OH proporciona una matriz física y químicamente estable para separaciones de SEC en fase acuosa fiables. Las columnas se rellenan con perlas de copolímeros macroporosas con una función de polihidróxilo extremadamente hidrofílica. La superficie "neutra" y la capacidad de funcionar en una amplia variedad de condiciones de eluyentes ofrecen análisis de alta calidad de compuestos con grupos funcionales neutros, iónicos e hidrofóbicos, solos o combinados. PL aquagel-OH está disponible para aplicaciones analíticas y preparativas.

Optimización de condiciones para SEC en fase acuosa con columnas PL aquagel-OH

Debido a la compleja naturaleza de los polímeros solubles en agua, a veces es necesario modificar el eluyente para evitar interacciones entre muestras y entre muestras y columnas que pueden derivar en separaciones de SEC en fase acuosa deficientes. La excelente estabilidad del material de relleno de PL aquagel-OH permite que se adapte el eluyente para que se ajuste al polímero, mientras que se conserva la alta eficiencia de columna. En el caso de interacciones iónicas, el eluyente se puede modificar con la adición de sal y/o el ajuste de pH. En el caso de polímeros solubles en agua con carácter hidrófobo, sólo es necesaria la adición de un disolvente orgánico débil (metanol) para inhibir interacciones hidrofóbicas.

Guía de selección de eluyente para aplicaciones PL aquagel-OH



Guía de selección de columna PL aquagel-OH

Tipo de muestra	Aplicaciones típicas	Ajustes de columnas recomendados
Polímeros y oligómeros de bajo PM	Surfactantes, oligosacáridos, PEG, lignosulfonatos, poliacrilatos	2 o 3, 30, 20 PL aquagel-OH; 8 µm o PL aquagel-OH 20; 5 µm o PL aquagel-OH MIXED-M de 8 µm
Polímeros naturales o artificiales polidispersos	Polisacáridos, PVA, derivados de celulosa, PEO, ácido poliacrílico	2 o 3 PL aquagel-OH MIXED-H; 8 µm; o PL aquagel-OH 60/50/40; 8 µm
Polímeros de PM muy alto	Poliacrilamidas, ácidos hialurónicos, CMC, almidones, resinas	PL aquagel-OH 60/50/40; 15 µm; en serie

Serie analítica PL aquagel-OH

- Matriz muy estable que garantiza separaciones fiables, incluso con eluyentes modificados
- Las columnas MIXED cubren un amplio rango de pesos moleculares, lo que simplifica la selección de columnas
- Muy versátil para muestras neutras, polares, aniónicas y catiónicas

La serie analítica PL aquagel-OH tiene un rango de pH de 2 a 10, es compatible con disolventes orgánicos (hasta un 50% de metanol), dispone de estabilidad mecánica de hasta 140 bares (2030 psi) y de presiones bajas de funcionamiento de columnas.

Serie analítica PL aquagel-OH

Descripción	Tamaño (mm)	Rango PM (g/mol) (PEG/PEO)	Eficiencia garantizada (p/m)	Referencia
PL aquagel-OH 20; 5 µm	7,5 x 300	100-10.000	> 5.000	PL1120-6520
PL aquagel-OH 20; 8 µm	7,5 x 300	100-20.000	> 35.000	PL1149-6820
PL aquagel-OH 30; 8 µm	7,5 x 300	100-30.000	> 35.000	PL1120-6830
PL aquagel-OH 40; 8 µm	7,5 x 300	10.000-200.000	> 35.000	PL1149-6840
PL aquagel-OH 40; 15 µm	7,5 x 300	10.000-200.000	> 15.000	PL1149-6240
PL aquagel-OH 50; 8 µm	7,5 x 300	50.000-1.000.000	> 35.000	PL1149-6850
PL aquagel-OH 50; 15 µm	7,5 x 300	50.000-1.000.000	> 15.000	PL1149-6250
PL aquagel-OH 60; 8 µm	7,5 x 300	200.000-> 10.000.000	> 35.000	PL1149-6860
PL aquagel-OH 60; 15 µm	7,5 x 300	200.000-> 10.000.000	> 15.000	PL1149-6260
PL aquagel-OH MIXED-H; 8 µm	7,5 x 300	100-10.000.000	> 35.000	PL1149-6800
PL aquagel-OH MIXED-M; 8 µm	7,5 x 300	> 600.000	> 35.000	PL1149-6801
Precolumna PL aquagel-OH; 10 µm	25 x 25			PL1249-1120
Precolumna PL aquagel-OH; 5 µm	7,5 x 50			PL1149-1530
Precolumna PL aquagel-OH; 8 µm	7,5 x 50			PL1149-1840

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Los tampones en una columna almacenada pueden cristalizar y provocar daños. Limpie la columna con agua que contenga una pequeña cantidad de azida de sodio para evitar el crecimiento biológico.

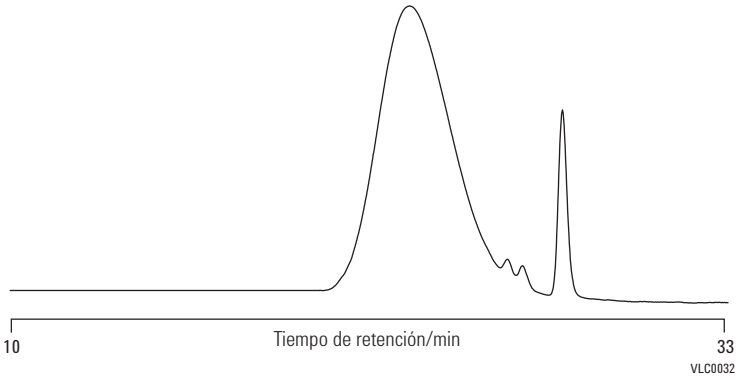
Alcohol de polivinilo

Columna: **3 x PL aquagel-OH MIXED-H 8 µm**
PL1149-6800
7,5 x 300 mm

Fase móvil: 0,2 M $NaNO_3$; 0,01 M NaH_2PO_4; pH 7

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: Agilent PL-GPC 50 (RI)



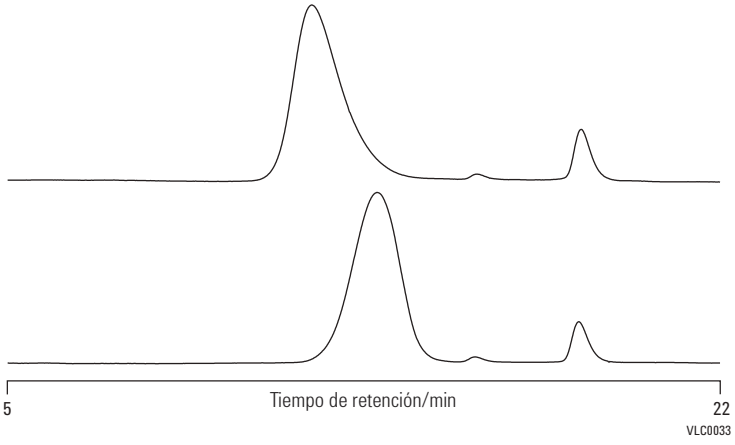
Heparina

Columna: **2 x PL aquagel-OH 30 8 µm**
PL1120-6830
7,5 x 300 mm

Fase móvil: 0,2 M $NaNO_3$; 0,01 M NaH_2PO_4; pH 7

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: Agilent PL-GPC 50 (RI)



Ácido hialurónico

Columna: **PL aquagel-OH 60; 15 µm**
PL1149-6260
7,5 x 300 mm

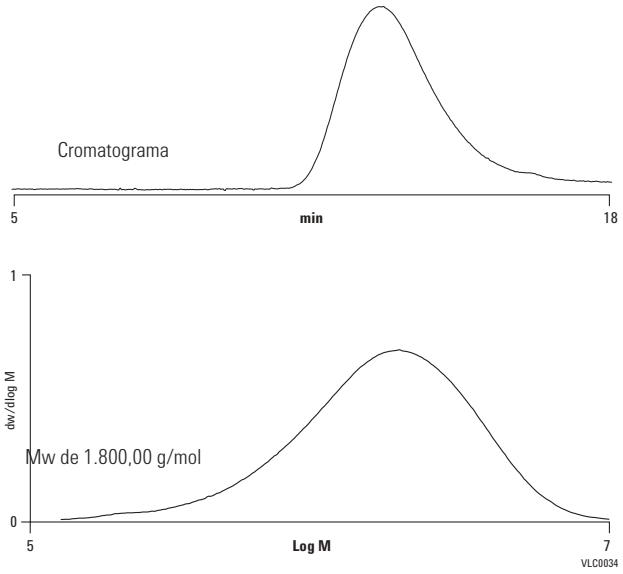
Y

PL aquagel-OH 40; 15 µm
PL1149-6240
7,5 x 300 mm

Fase móvil: 0,2 M $NaNO_3$; 0,01 M NaH_2PO_4; pH 7

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: Agilent PL-GPC 50 (RI)



Diferencias en la composición de dos Alquil naftalen sulfonatos

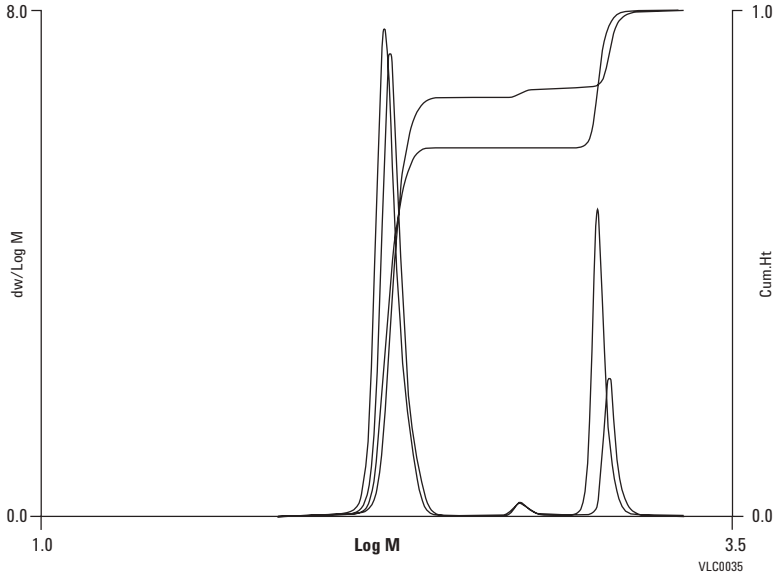
Columna: **2 x PL aquagel-OH 20 5 µm**
PL1120-6520
7,5 x 300 mm

Fase móvil: 0,25 M formiato amónico en agua

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Volumen de inyección: 20 µl

Detector: ELS (neb=30 °C, evap=30 °C, gas=1,4 SLM)



PL aquagel-OH preparativa

- Escalado hasta 10 veces superior que maximiza el rendimiento
- Elevada carga que maximiza el rendimiento de muestras
- Tamaño de partículas cuidadosamente escogido que proporciona una resolución óptima

La SEC preparativa se utiliza para el fraccionamiento de una amplia serie de muestras solubles en agua según su tamaño en la disolución. La técnica se aplica al fraccionamiento de polímeros dispersos o a compuestos aislados de formulación polimérica.

Las columnas PL aquagel-OH preparativas y sus correspondientes precolumnas permiten un rápido y práctico escalado de las separaciones analíticas. La columna preparativa de 25 mm de d.i. proporciona un escalado al menos 10 veces superior en la carga respecto a las columnas analíticas de 7,5 mm de d.i. Normalmente, con una velocidad de flujo de 10 ml/min se consigue un tiempo de separación de diez minutos con una columna de 300 mm. Las columnas se rellenan con las mismas partículas resistentes y macroporosas de la gama de columnas analíticas. El tamaño de partícula de 8 µm proporciona una resolución óptima y unas características de carga con una eficiencia de columna de > 20 000 placas/m.

PL aquagel-OH preparativa

Descripción	Tamaño (mm)	Rango PM (g/mol) (PEG/PEO)	Referencia
PL aquagel-OH 30; 8 µm	25 x 300	100-30.000	PL1220-6130
PL aquagel-OH 40; 8 µm	25 x 300	10.000-200.000	PL1249-6140
PL aquagel-OH 50; 8 µm	25 x 300	50.000-1.000.000	PL1249-6150
PL aquagel-OH MIXED; 8 µm	25 x 300	100-10.000.000	PL1249-6100
Precolumna PL aquagel-OH; 10 µm	25 x 25		PL1249-1120

Alcohol de polivinilo

Columna: **PL aquagel-OH 40; 8 µm**
PL1249-6140
25 x 300 mm

Fase móvil: 0,2 M $NaNO_3$; 0,01 M NaH_2PO_4; pH 7

Velocidad de flujo: 10,0 ml/min

Carga: 10 mg/ml; 2 ml

Detector: Agilent PL-GPC 50 (RI)



Accesorios de la columna GPC

Descripción	Unidad	Referencia
Herramienta de eliminación de fritas sólo para columnas enroscadas	1/paq.	PL1310-0001
Kit con frita de 2 µm para columnas enroscadas; 7,5 mm de d.i.	5/paq.	PL1310-0002
Kit con frita de 5 µm para columnas enroscadas; 7,5 mm de d.i.	5/paq.	PL1310-0012
Kit con frita de 10 µm para columnas enroscadas; 7,5 mm de d.i.	5/paq.	PL1310-0036
Gel reparador de columnas PLgel; 10 µm	1/paq.	PL1410-0101
Gel reparador de columnas PLgel; 5 µm	1/paq.	PL1410-0501
Tuercas de conexión de columna; tubo de 1/16 pulg.	5/paq.	PL1310-0007
Férrulas de tubos; tubo de 1/16 pulg.	5/paq.	PL1310-0008
Tubos de conexión; 10 cm de longitud; 0,01 pulg. de d.i.	10/paq.	PL1310-0048
Conector de acero inoxidable de intercolumna LDV	1/paq.	PL1310-0005
Gel reparador de columnas PLgel, 3 µm		PL1410-0301
Gel reparador de columnas PLgel Olexis		PL1410-0200

Patrones de polímeros para GPC/SEC

Los patrones de polímeros de Agilent son los materiales de referencia ideales para la generación de calibraciones de columna GPC/SEC precisas y fiables, con la garantía de la norma de calidad ISO 9001:2000. Otras aplicaciones en las que se emplean nuestros homopolímeros con características únicas son como modelo de polímeros para investigaciones y desarrollo de métodos analíticos.

Agilent fabrica los patrones de polímeros de mayor calidad con una polidispersidad extremadamente reducida y la más amplia gama de pesos moleculares disponible en el mercado. Estos patrones de polímeros de alta calidad se suministran junto con numerosos datos de caracterización, para los cuales se utiliza una gran variedad de técnicas independientes (por ejemplo, dispersión de la luz y viscometría) y una técnica de GPC de alto rendimiento para verificar la polidispersidad y asignarle todo el peso molecular pico (Mp).

Nuestra gama completa de kits de calibración tradicionales, EasiVial y EasiCal se ha diseñado especialmente para cubrir todos los rangos de pesos moleculares para aplicaciones de GPC/SEC orgánicas y acuosas. Le ofrecemos la mayor selección para que maximice sus necesidades de caracterización específicas. Asimismo, contamos con otros polímeros como pesos moleculares individuales, y polímeros de amplia distribución para validar sistemas o amplios procedimientos de calibración estándar.



Kits de calibración

Agilent ofrece una amplia gama de kits de patrones de polímeros para calibraciones de columna para GPC/SEC convencionales o para la calibración de detectores de dispersión de la luz y viscometría. Los kits se envasan en paquetes de diez patrones de polímeros diferentes que cubren un rango de pesos moleculares determinado, para su uso con disolventes orgánicos y acuosos, de polaridad media y polares. Cada polímero individual cuenta con su propio Certificado de Análisis de valores y condiciones analíticas, como el Mp necesario para la creación de gráficas de calibración. Los polímeros se seleccionan para proporcionar puntos de calibración equidistantes en una escala logarítmica de PM, ofreciendo una curva de calibración más uniforme.

Pesos moleculares de polímeros individuales

Diseñamos nuestros patrones individuales para contar con la menor distribución de peso molecular disponible en el mercado. Además, son aptos para la más amplia gama de pesos moleculares (de 162 a 15 millones de pesos moleculares). El actual peso molecular nominal de poliestireno de 15 millones de MW tiene una polidispersidad ≤ 1,10. Estos patrones suelen estar disponibles en c antidades de 1, 5 y 10 g, y cada uno cuenta con su propio certificado de análisis que detalla las condiciones de análisis y los datos más importantes.

Guía de selección de patrones GPC/SEC

Tipo de polímero	MW individual	Kits de calibración	EasiCal	EasiVial	Tipo de GPC/SEC
Poliestireno	✓	✓	✓	✓	Orgánico
Polimetilmetacrilato	✓	✓		✓	Orgánico
Polietilenglicol (PEG)	✓	✓		✓	Orgánico/acuoso
Óxido de polietileno (PEO)	✓	✓		✓	Orgánico/acuoso
Polisacárido pululano	✓	✓			Orgánico/acuoso
Ácido poliacrílico-sal Na	✓	✓			Acuoso

EasiVial

- Elimina los tediosos procedimientos de pesado para mejorar la precisión de la calibración.
- Reduce el vertido de disolvente para limitar los riesgos asociados al tratamiento de disolventes.
- Para GPC convencional y de detectores múltiples para aumentar la aplicabilidad.

Para calibrar columnas para GPC/SEC orgánicas y acuosas, este producto principal es el método más rápido y práctico para proporcionar una calibración de columna precisa de 12 puntos.

La clave para lograr la separación en línea de base a partir de mezclas de polímeros, y, por tanto, eliminar dudas y errores, reside en la elección de los polímeros de polidispersidad más reducidos exclusivamente. En este campo destacan los patrones de polímeros de Agilent, tal y como se muestra en los cromatogramas.
El kit de patrones EasiVial es un producto preparado previamente, que ahorra tiempo a la hora de realizar una calibración de columnas GPC rápida y fiable. Los kits EasiVial contienen tres viales, cada uno con una mezcla de cuatro patrones de polímeros pesados previamente y de forma precisa, ofreciendo una calibración GPC de 12 puntos en tan solo tres inyecciones. La masa de cada polímero en el vial se conoce de manera precisa, de forma que al añadir un volumen fijo de eluyente, la solución se prepara con una concentración precisa. EasiVial es ideal tanto para la calibración GPC de detectores múltiples como para la convencional. Solo tendrá que prepararlo e inyectarlo manualmente, transferir viales a inyectores automáticos, o colocarlo directamente en un inyector automático compatible.

Cada kit EasiVial contiene 30 viales (diez de cada tipo) codificados por colores para identificarlos fácilmente, y se dispone de viales de 4 o 2 ml adecuados para la mayoría de inyectores automáticos. Los kits están disponibles para poliestireno (PS), polimetilmetacrilato (PMMA), polietilenglicol/óxido (PEG/PEO) y polietilenglicol (PEG). Para obtener un valor añadido, se ofrece un Tri-Pack (90 viales) que amplía la reproducibilidad.



EasiVial PS-H

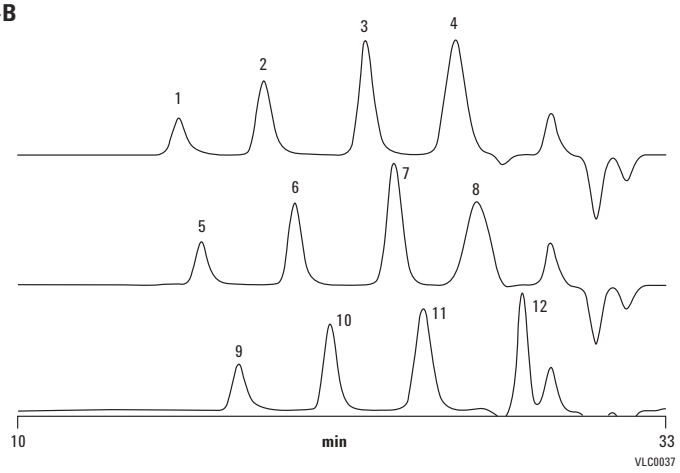
Columna: **3 x PLgel 10 µm MIXED-B**
PL1110-6100
7,5 x 300 mm

Fase móvil: THF

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

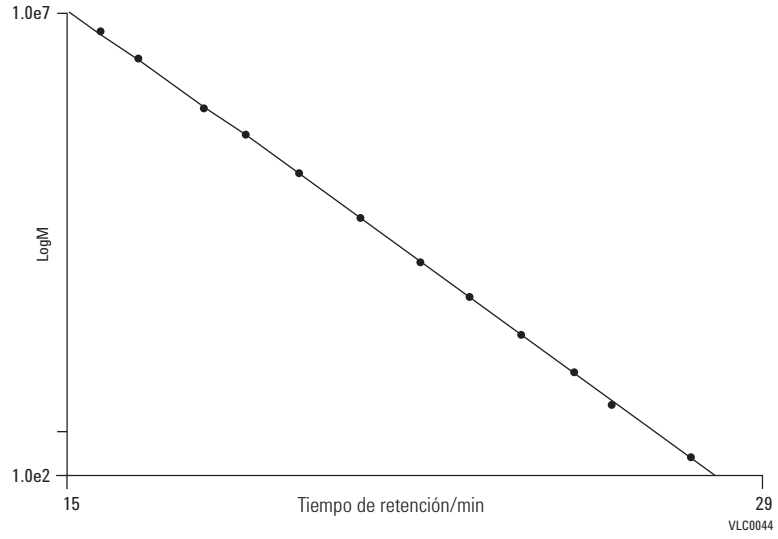
Temperatura: 40 °C

Detector: PL-GPC 220 (RI)



1. 6.035.000
2. 483.000
3. 19.720
4. 1.260
5. 3.053.000
6. 84.900
7. 8.450
8. 580
9. 915.000
10. 60.450
11. 3.370
12. 162

Calibración de poliestireno generada con EasiVials



Especificaciones						
EasiVial Color	**EasiVial PS-H**	**EasiVial PS-M**	**EasiVial PS-L**	**EasiVial PM**	**EasiVial PEG/PEO**	**EasiVial PEG**
			Mp nominal (g/mol)			
Rojo	1300	780	580	2000	600	282
	20.000	6000	3000	30.000	12.000	1000
	500.000	50.000	10.000	300.000	125.000	6000
	6.000.000	400.000	40.000	2.000.000	1.200.000	35.000
Amarillo	580	370	370	1000	200	194
	8500	2500	2000	13.000	4000	600
	185.000	25.000	6000	150.000	60.000	3750
	3.000.000	200.000	25.000	800.000	1.000.000	21.000
Verde	162	162	162	600	100	106
	3400	1500	1000	5700	1.500	420
	60.000	11.000	4000	80.000	25.000	2000
	900.000	100.000	16.000	470.000	460.000	12.000

Leyenda de la descripción

PS: Poliestireno
PM: Polimetilmetacrilato
PEG/PEO: Polietilenglicol/óxido de polietileno
H: Alto
M: Medio
L: Bajo

Kits de calibración pesada previamente EasiVial

Descripción	Rango de Mp nominal (g/mol)	Volumen de vial (ml)	Unidad	Referencia
EasiVial PEG/PEO	100-1.200.000	2	30/paq.	PL2080-0201
EasiVial PEG/PEO	100-1.200.000	4	30/paq.	PL2080-0200
EasiVial PEG	106-35.000	2	30/paq.	PL2070-0201
EasiVial PEG	106-35.000	4	30/paq.	PL2070-0200
EasiVial PM	600-2.000.000	2	30/paq.	PL2020-0201
EasiVial PM	600-2.000.000	4	30/paq.	PL2020-0200
EasiVial PS-H	162-6.000.000	2	30/paq.	PL2010-0201
EasiVial PS-H	162-6.000.000	4	30/paq.	PL2010-0200
EasiVial PS-M	162-400.000	2	30/paq.	PL2010-0301
EasiVial PS-M	162-400.000	4	30/paq.	PL2010-0300
EasiVial PS-L	162-40.000	2	30/paq.	PL2010-0401
EasiVial PS-L	162-40.000	4	30/paq.	PL2010-0400
PEG/PEO Tri-Pack		2	90/paq.	PL2080-0202
PEG/PEO Tri-Pack		4	90/paq.	PL2080-0203
PEG Tri-Pack		2	90/paq.	PL2070-0202
PEG Tri-Pack		4	90/paq.	PL2070-0203
PMMA Tri-Pack		2	90/paq.	PL2020-0202
PMMA Tri-Pack		4	90/paq.	PL2020-0203
PS-H Tri-Pack		2	90/paq.	PL2010-0202
PS-H Tri-Pack		4	90/paq.	PL2010-0203
PS-L Tri-Pack		2	90/paq.	PL2010-0402
PS-L Tri-Pack		4	90/paq.	PL2010-0403



EasiCal

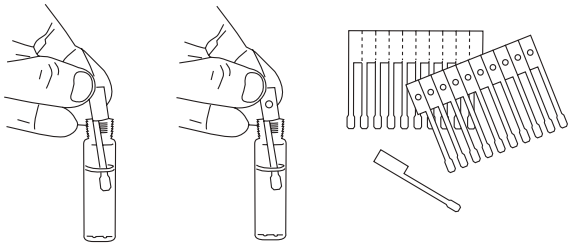
- Sencillo proceso de tres pasos sin complicaciones
- El formato rentable ahorra costes
- Sólo se necesitan dos inyecciones para obtener una mejor productividad

El sistema EasiCal para disolventes orgánicos consiste en dos panales diferentes, cada uno de ellos con espátulas desmontables que sostienen una mezcla de cinco patrones de polímeros. La capa fina de polímero (de aproximadamente 5 mg) en la punta de las espátulas de PTFE se disuelve con rapidez al sumergirla en eluyente para ofrecer dos soluciones de calibración GPC/SEC. Un único paquete contiene diez espátulas de cada tipo, con pesos moleculares seleccionados para ofrecer puntos de calibración equidistantes y así obtener una mayor precisión.

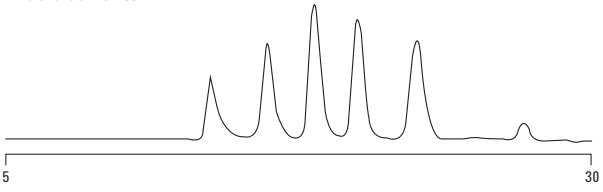
Kits de poliestireno EasiCal preparados previamente

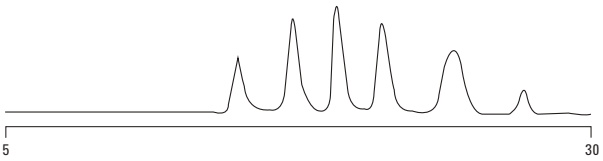
Descripción	Rango de Mp nominal (g/mol)	Unidad	Referencia
Poliestireno PS-1	580-7.500.000	1/paq.	PL2010-0501
		5/paq.	PL2010-0505
Poliestireno PS-2	580-400.000	1/paq.	PL2010-0601
		5/paq.	PL2010-0605

La calibración de columna para GPC/SEC es algo realmente sencillo

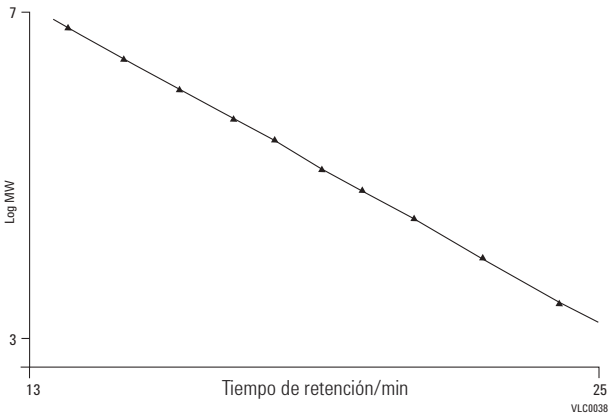


1. Coloque una espátula de cada tipo en el volumen adecuado de disolvente.





2. Realice una cromatografía de cada solución; sólo se requieren dos inyecciones.



3. Generan una calibración de 10 puntos.

Poliestireno

- Compatible con la mayoría de los disolventes orgánicos
- El Certificado de análisis cumple con todos los protocolos internacionales
- Capacidad de calibración para prácticamente todas las aplicaciones

Los patrones de poliestireno son la primera opción para muchos disolventes orgánicos, tanto para calibración de columna GPC convencional como para el calibrado de dispersión de luz y los detectores de viscosidad. Nuestros polímeros orgánicos cubren una gama desde 162 – 15 millones de PM, con PM seleccionados para ofrecer puntos de calibración equidistantes y así obtener una mayor precisión. Cada kit contiene 0,5 g de diez patrones de pesos moleculares diferentes.

Kits de calibración, (todos los kits 10 x 0,5 g)

S-H-10 Referencia PL2010-0103	S-H2-10 Referencia PL2010-0104	S-M-10 Referencia PL2010-0100	S-M2-10 Referencia PL2010-0102	S-L-10 Referencia PL2010-0101	S-L2-10 Referencia PL2010-0105
Mp nominal del polímero constituyente (g/mol)					
300.000	1000	580	580	162	162
460.000	3000	1450	1400	580	370
700.000	8600	4000	2400	900	580
1.100.000	25.000	10.000	4750	1400	800
1.700.000	73.000	27.000	9500	2200	1000
2.600.000	210.000	66.000	19.000	3400	1500
4.000.000	600.000	180.000	38.000	5100	1900
6.200.000	1.780.000	460.000	75.000	8100	2500
9.500.000	5.000.000	1.190.000	150.000	12.800	3200
15.000.000	15.000.000	3.000.000	300.000	20.000	4500

Leyenda de la descripción

H: Alto
M: Medio
L: Bajo

Pesos moleculares de polímeros individuales

Mp nominal, polímero (g/mol)	Mw/Mn nominal	Referencia 1 g	Referencia 5 g	Referencia 10 g
162	1,00	PL2012-1001	PL2012-1005	PL2012-1010
370	1,11	PL2012-0001	PL2012-0005	PL2012-0010
580	1,11	PL2012-2001	PL2012-2005	PL2012-2010
1 000	1,09	PL2012-3001	PL2012-3005	PL2012-3010
1 300	1,07	PL2012-4001	PL2012-4005	PL2012-4010
2 000	1,05	PL2012-5001	PL2012-5005	PL2012-5010
3 000	1,04	PL2012-6001	PL2012-6005	PL2012-6010
5 000	1,03	PL2012-7001	PL2012-7005	PL2012-7010
7 000	1,04	PL2012-8001	PL2012-8005	PL2012-8010
10 000	1,02	PL2012-9001	PL2012-9005	PL2012-9010
20 000	1,02	PL2013-1001	PL2013-1005	PL2013-1010
30 000	1,02	PL2013-2001	PL2013-2005	PL2013-2010
50 000	1,03	PL2013-3001	PL2013-3005	PL2013-3010
70 000	1,03	PL2013-4001	PL2013-4005	PL2013-4010
100 000	1,02	PL2013-5001	PL2013-5005	PL2013-5010
130 000	1,01	PL2013-6001	PL2013-6005	PL2013-6010
200 000	1,05	PL2013-7001	PL2013-7005	PL2013-7010
300 000	1,03	PL2013-8001	PL2013-8005	PL2013-8010
500 000	1,03	PL2013-9001	PL2013-9005	PL2013-9010
700 000	1,03	PL2014-0001	PL2014-0005	PL2014-0010
1 000 000	1,05	PL2014-1001	PL2014-1005	PL2014-1010
1 500 000	1,04	PL2014-2001	PL2014-2005	PL2014-2010
2 000 000	1,04	PL2014-3001	PL2014-3005	PL2014-3010
2 500 000	1,05	PL2014-4001	PL2014-4005	PL2014-4010
4 000 000	1,04	PL2014-6001	PL2014-6005	PL2014-6010
7 000 000	1,04	PL2014-7001	PL2014-7005	PL2014-7010
10 000 000	1,06	PL2014-8001	PL2014-8005	PL2014-8010
15 000 000	1,06	PL2014-9001	PL2014-9005	PL2014-9010

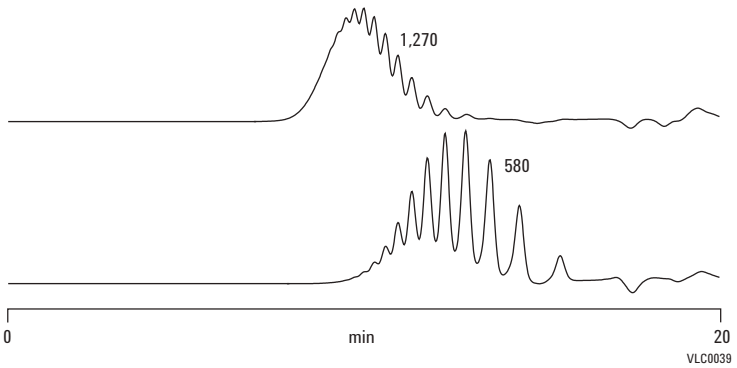
Patrones de poliestireno

Columna: **2 x OligoPore PL1113-6520 7,5 x 300 mm**

Fase móvil: THF

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: Agilent PL-GPC 50 (RI)



Polimetilmetacrilato

- El gran número de opciones de disolventes aumenta la capacidad de aplicación
- El estricto control de calidad mejora el rendimiento
- Los métodos de fabricación propios garantizan un suministro regular

Los patrones de polimetilmetacrilato (PMMA) son extremadamente versátiles, ya que se pueden utilizar para GPC orgánica con una amplia gama de eluyentes de polaridad media, tales como el tetrahidrofurano, tolueno, cetona metiletílica y acetato de etilo. También funcionan correctamente con eluyentes orgánicos más polares, por ejemplo, dimetilformamida, dimetilacetamida y hexafluoroisopropanol. Los PM se seleccionan para ofrecer puntos de calibración equidistantes y así obtener una mayor precisión, con una cobertura de 500 a 1,5 millones de PM. Cada kit contiene 0,5 g de diez patrones de pesos moleculares diferentes.

Kits de calibración, (todos los kits 10 x 0,5 g)

M-L-10 **Referencia** **PL2010-0100**	**M-M-10** **Referencia** **PL2020-0101**
Mp nominal del polímero constituyente (g/mol)	
600	1 000
840	2 200
1 400	5 000
2 350	11 200
3 900	25 500
6 400	58 000
10 800	130 000
18 000	290 000
30 000	660 000
50 000	1 500 000

Leyenda de la descripción

M: Medio
L: Bajo

Pesos moleculares de polímeros individuales

Mp nominal, polímero (g/mol)	Mw/Mn nominal	Referencia 1 g	Referencia 5 g	Referencia 10 g
500	1,19	PL2022-2001	PL2022-2005	PL2022-2010
1 000	1,26	PL2022-3001	PL2022-3005	PL2022-3010
2 000	1,08	PL2022-5001	PL2022-5005	PL2022-5010
3 000	1,08	PL2022-6001	PL2022-6005	PL2022-6010
5 000	1,09	PL2022-7001	PL2022-7005	PL2022-7010
7 000	1,08	PL2022-8001	PL2022-8005	PL2022-8010
10 000	1,03	PL2022-9001	PL2022-9005	PL2022-9010
13 000	1,03	PL2023-0001	PL2023-0005	PL2023-0010
20 000	1,03	PL2023-1001	PL2023-1005	PL2023-1010
30 000	1,02	PL2023-2001	PL2023-2005	PL2023-2010
50 000	1,02	PL2023-3001	PL2023-3005	PL2023-3010
70 000	1,02	PL2023-4001	PL2023-4005	PL2023-4010
100 000	1,02	PL2023-5001	PL2023-5005	PL2023-5010
130 000	1,05	PL2023-6001	PL2023-6005	PL2023-6010
200 000	1,02	PL2023-7001	PL2023-7005	PL2023-7010
300 000	1,02	PL2023-8001	PL2023-8005	PL2023-8010
500 000	1,06	PL2023-9001	PL2023-9005	PL2023-9010
700 000	1,03	PL2024-0001	PL2024-0005	PL2024-0010
1 000 000	1,09	PL2024-1001	PL2024-1005	PL2024-1010
1 500 000	1,09	PL2024-2001	PL2024-2005	PL2024-2010

Patrones de polimetilmetacrilato

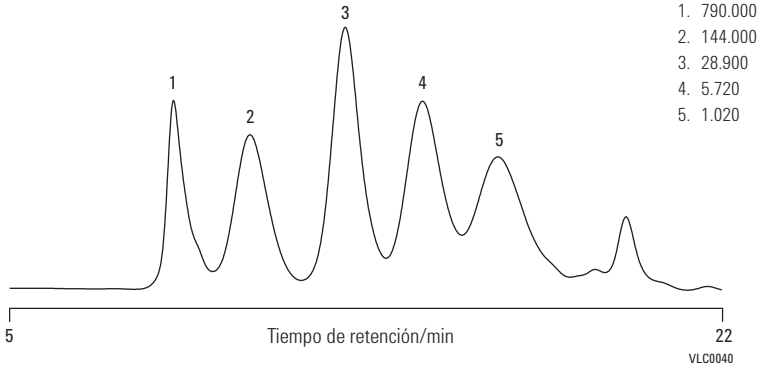
Columna: **2 x PL HFIPgel PL1114-6900HFIP 7,5 x 300 mm**

Fase móvil: HFIP + 20 mM de NaTFA

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Temperatura: 40 °C

Detector: Agilent PL-GPC 50 (RI)



Polietilenglicol/óxido

- Kit de uso sencillo
- Combina glicoles y óxidos para ampliar el rango del peso molecular y cubrir más aplicaciones
- Pesos moleculares seleccionados para ofrecer puntos de calibración equidistantes y así obtener una mayor precisión

Estos polímeros hidrofílicos son adecuados tanto para SEC acuosa como para GPC orgánica con la mayoría de disolventes polares orgánicos. Los óxidos están disponibles en pesos moleculares elevados, mientras que los glicoles cubren un rango de peso molecular más bajo. Ambos tipos son químicamente similares, por lo que pueden utilizarse conjuntamente en un rango de peso molecular más amplio, con polímeros acuosos y orgánicos, de 106 a 1 millón de PM. Cada kit contiene 0,2 g o 0,5 g de diez patrones de pesos moleculares diferentes.

Kits de calibración

PEG-10 (10 x 0,5 g) **Referencia** **PL2070-0100**	**PEO-10 (10 x 0,2 g)** **Referencia** **PL2080-0101**
Mp nominal del polímero constituyente (g/mol)	
106	20.000
194	30.000
400	50.000
600	70.000
1000	100.000
2000	200.000
4000	300.000
7000	400.000
13.000	700.000
20.000	1.000.000

Pesos moleculares de polímeros individuales

Mp nominal, polímero (g/mol)	Mw/Mn nominal	Referencia 1 g	Referencia 5 g	Referencia 10 g
Polietilenglicol				
106	1,00	PL2070-1001	PL2070-1005	PL2070-1010
194	1,00	PL2070-2001	PL2070-2005	PL2070-2010
238	1,00	PL2071-2001	PL2071-2005	PL2071-2010
282	1,00	PL2071-3001	PL2071-3005	PL2071-3010
420	1,09	PL2070-3001	PL2070-3005	PL2070-3010
600	1,06	PL2070-4001	PL2070-4005	PL2070-4010
1000	1,04	PL2070-5001	PL2070-5005	PL2070-5010
1500	1,04	PL2070-6001	PL2070-6005	PL2070-6010
4000	1,03	PL2070-7001	PL2070-7005	PL2070-7010
7000	1,04	PL2070-8001	PL2070-8005	PL2070-8010
10.000	1,05	PL2070-9001	PL2070-9005	PL2070-9010
13.000	1,07	PL2071-0001	PL2071-0005	PL2071-0010
20.000	1,07	PL2071-1001	PL2071-1005	PL2071-1010
Óxido de polietileno				
20.000	1,05	PL2083-1001	PL2083-1005	PL2083-1010
30.000	1,07	PL2083-2001	PL2083-2005	PL2083-2010
50.000	1,05	PL2083-3001	PL2083-3005	PL2083-3010
70.000	1,05	PL2083-4001	PL2083-4005	PL2083-4010
100.000	1,06	PL2083-5001	PL2083-5005	PL2083-5010
130.000	1,07	PL2083-6001	PL2083-6005	PL2083-6010
200.000	1,07	PL2083-7001	PL2083-7005	PL2083-7010
300.000	1,07	PL2083-8001	PL2083-8005	PL2083-8010
500.000	1,06	PL2083-9001	PL2083-9005	PL2083-9010
700.000	1,07	PL2084-0001	PL2084-0005	PL2084-0010
1.000.000	1,12	PL2084-1001	PL2084-1005	PL2084-1010
1.500.000	1,13	PL2084-2001	PL2084-2005	PL2084-2010

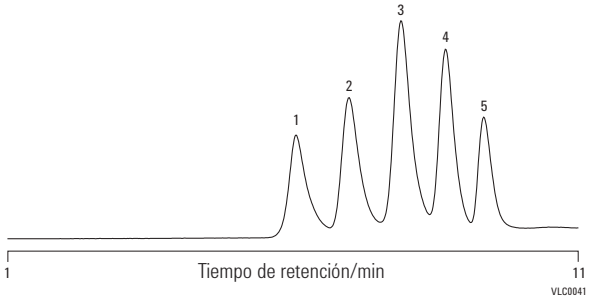
Patrones polietilenglicol/óxido

Columna: **PL aquagel-OH MIXED-H; 8 µm**
PL1149-6800
7,5 x 300 mm

Fase móvil: Agua

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: Agilent PL-GPC 50 (RI)



1. 1.702.000
2. 120.000
3. 12.600
4. 1.470
5. 106

Polisacáridos

- El formato completo ofrece un rango de pesos moleculares en un solo y práctico kit
- También está disponible como patrones individuales

El kit del polisacárido pululano consiste en distintos azúcares con macromoléculas lineales de polidispersidad relativamente reducida de unidades de maltotriosa.

Kits de calibración

SAC-10 (10 x 0,2 g) **Referencia** **PL2090-0100**
Mp nominal del polímero constituyente (g/mol)
180
738
5000
10.000
20.000
50.000
100.000
200.000
400.000
700.000

Pesos moleculares de polímeros individuales

Mp nominal, polímero (g/mol)	Unidad	Referencia
1500	0,2 g	PL2091-2000
2000	0,2 g	PL2091-3000
3000	0,2 g	PL2091-4000
5000	0,5 g	PL2090-1000
20.000	0,5 g	PL2090-3000
50.000	0,5 g	PL2090-4000
100.000	0,5 g	PL2090-5000
200.000	0,5 g	PL2090-6000
700.000	0,5 g	PL2090-8000
1.660.000	0,2 g	PL2091-1000

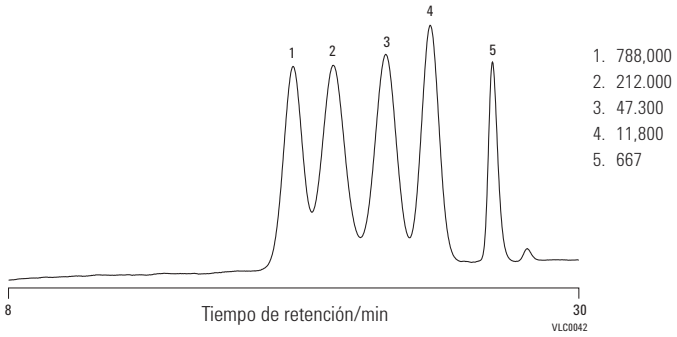
Patrones del polisacárido pululano

Columna: **3 x PL aquagel-OH MIXED-H 8 µm**
PL1149-6800
7,5 x 300 mm

Fase móvil: 0,2 M $NaNO_3$; 0,01 M NaH_2PO_4; pH 7

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: Agilent PL-GPC 50 (RI)



1. 788,000
2. 212.000
3. 47.300
4. 11,800
5. 667

Ácido poliacrílico

- Compatible with all aqueous columns for wide applicability
- Polímeros acuosos 1000 – 2 millones de peso molecular
- Los valores de Mp bien caracterizados garantizan una mayor utilidad

Kits de calibración

PAA-10 (10 x 0,2 g) **Referencia** **PL2140-0100**
Mp nominal del polímero constituyente (g/mol)
1000
3000
7000
13.000
30.000
70.000
100.000
300.000
700.000
1.000.000

Pesos moleculares de polímeros individuales

Mp nominal, polímero (g/mol)	**Referencia 0,2 g**	**Referencia 1 g**
1000	PL2142-3000	PL2142-3001
2000	PL2142-5000	
3000	PL2142-6000	PL2142-6001
5000	PL2142-7000	PL2142-7001
7000	PL2142-8000	PL2142-8001
13.000	PL2143-0000	PL2143-0101
30.000	PL2143-2000	PL2143-2001
50.000	PL2143-3000	PL2143-3001
70.000	PL2143-4000	PL2143-4001
100.000	PL2143-5000	PL2143-5001
130.000	PL2143-6000	PL2143-6001
200.000	PL2143-7000	PL2143-7001
300.000	PL2143-8000	PL2143-8001
500.000	PL2143-9000	PL2143-9001
700.000	PL2144-0000	PL2144-0101
1.000.000	PL2144-1000	PL2144-1001
1.500.000	PL2144-2000	PL2144-2001
2.000.000	PL2144-3000	PL2144-3001

Diagnóstico de problemas del LC y LC/MS

Diagnóstico de problemas del HPLC

Tipo de síntoma	Causa posible	Solución
Distorsión línea base en tiempo muerto	Positivo/negativo, diferencia en el índice de refracción del disolvente de inyección	Usar fase móvil para disolver la muestra
Fugas en el detector	Frita de entrada obstruida	Cambiar sellos/juntas
Desviación de la línea base	Dirección positiva, acumulación de contaminantes o elución	Lave la columna, limpie la muestra y use disolventes puros.
	Positivo/negativo, diferencia en el índice de refracción del disolvente de inyección	Usar fase móvil para disolver la muestra
	Dirección negativa (gradiente), absorbancia de disolvente de fase móvil "A"	Utilice un disolvente no absorbente, de grado HPLC o mejor
	Dirección positiva (gradiente), absorbancia de disolvente de fase móvil "B"	Utilice un disolvente no absorbente, de grado HPLC o mejor
	Aleatorio, cambios de temperatura	Aislar la columna y los tubos
	Aleatorio, cambios de temperatura	Termostatizar la columna y los tubos
	Ondulación, cambios de temperatura en la sala	Vigilar y controlar la temperatura de la sala
Picos fantasma	Picos de inyecciones previas	Lavar la columna para eliminar los contaminantes
	Contaminación	Limpiar la muestra o prefraccionarla
	Interferencias desconocidas en la muestra	Limpiar la muestra o prefraccionarla
	Par iónico, alteración del equilibrio	Preparar la muestra en la fase móvil para minimizar la distorsión
	Mapeo de péptidos, oxidación de ácido trifluoroacético	Preparar en el día; usar un antioxidante
	Fase reversa, agua contaminada	Compruebe la idoneidad del agua. Para ello, use distintas cantidades en la columna de fase inversa y mida la altura de los picos con elución. Use disolventes aptos para HPLC.
	Picos fantasma, burbujas en el disolvente	Desgasificar el disolvente
Retropresión elevada en la columna	Bloqueo de columna, adsorción de muestra	Purificar mejor la muestra, usar precolumna
	Viscosidad de fase móvil demasiado alta	Usar disolventes de menor viscosidad o temperatura superior
	Tamaño de partícula demasiado pequeño	Usar empaquetado de mayor d_p
	Frita de entrada obstruida	Sustituya la columna
	Frita de entrada obstruida	Invertir el flujo del disolvente
Fugas	Mínimo, polvo blanco en la conexión/conexión suelta	Apriete las conexiones, corte los tubos o cambie las férrulas.
Fugas en válvula de inyección	Grave, desgaste del rotor de la válvula	Cambiar el rotor de la válvula
Fugas en columna o conexiones	Grave, conexiones sueltas	Apriete o cambie las conexiones.
Fuga en la bomba	Grave, fallo del sello de la bomba	Cambiar el sello de la bomba

(continuación)

Diagnóstico de problemas del HPLC

Tipo de síntoma	Causa posible	Solución
Picos negativos	Detector RI, índice de refracción de soluto inferior al del disolvente	No hay problema; invertir la polaridad para hacerlo positivo
	Detector UV, absorbancia de soluto inferior a la de la fase móvil	Usar fase móvil con menor absorbancia UV; no reciclar el disolvente mucho tiempo
Línea base con ruido	Aleatorio, acumulación de contaminantes	Lave la columna, limpie la muestra y use disolvente apto para HPLC.
	Continuo, problema en la lámpara del detector	Cambie la lámpara del detector.
	Ocasional, interferencia eléctrica externa	Usar estabilizador de voltaje para LC
Picos dobles	Volumen de muestra demasiado grande	Reduzca el volumen (por ejemplo, a la mitad) y vuelva a inyectar.
	Disolvente de inyección demasiado fuerte	Usar un disolvente o fase móvil más débil
	Frita bloqueada	Cambiar y usar un filtro en línea de porosidad 0,5µm
	Vacíos en columna o canalización	Sustituya la columna; en algunos casos hay que rellenar el volumen muerto de la columna con fase estacionaria adicional
	No hay barrido del paso de flujo del inyector	Cambiar el rotor del inyector
	Vacío en la cabeza de columna	Sustituya la columna; complete la columna con relleno
	Sobrecarga de muestra en la columna	Utilizar una fase estacionaria de mayor capacidad Aumentar el diámetro de la columna Disminuir el tamaño de la muestra
	Pico único, componentes interferentes	Limpie la muestra o realice un fraccionamiento previo.
Colas de picos	Inicio de picos dobles	Consulte "picos dobles"
	No hay barrido de volúmenes muertos	Minimizar el número de conexiones Comprobar el sello del inyector Comprobar el ajuste de las conexiones
	Compuestos básicos, interacciones de silanoles	Elija una fase ligada desactivada Cambie a una fase polimérica
	Sustancias básicas, interacciones de silanoles	Usar fase móvil más fuerte o añadir una base competitiva (ej. TMA)
	Base de sílice, degradación de la columna	Use una columna especializada, una columna polimérica o una columna protegida estéricamente.

(continuación)

Diagnóstico de problemas del HPLC

Tipo de síntoma	Causa posible	Solución
Picos muy anchos	Volumen de inyección demasiado grande	Disminuir la fuerza del disolvente de inyección para focalizar el soluto
	Dispersión del pico en la válvula de inyección	Introducir burbujas de aire delante/detrás de la muestra para disminuir la dispersión
	Velocidad de muestreo demasiado lenta	Aumentar la frecuencia de muestreo
	Constante de tiempo del detector lenta	Ajustar la constante de tiempo para que coincida con la anchura de pico
	Elevada viscosidad de la fase móvil	Aumentar la temperatura de la columna
	El volumen de la celda del detector es demasiado grande	Usar el menor volumen de celda posible sin intercambiador de calor en el sistema
	Volumen de inyector demasiado grande	Disminuir el volumen de inyección
	Tiempos de retención largos	Usar la elución en gradiente o una fase móvil más fuerte
Fluctuación de la presión	Fuga en la válvula de seguridad	Cambiar la válvula de seguridad
	Fugas en el sello de la bomba	Cambiar los sellos de la bomba
	Acumulación de partículas	Filtrar la muestra, colocar un filtro en línea, filtrar la fase móvil
Incremento de la presión	Acumulación de partículas	Filtrar la muestra, colocar un filtro en línea, filtrar la fase móvil
	Sistemas con agua/compuestos orgánicos, precipitación del tampón	Pruebe las mezclas de tapón y compuestos orgánicos, y confirme la compatibilidad.
Retención superior al volumen de permeación total	Exclusión por tamaño, interacciones específicas	Añadir modificadores de fase móvil o cambiar el disolvente
Cambio de los tiempos de retención	Variación de la temperatura de la columna	Termostatizar o aislar la columna, mantener constante la temperatura
	Tiempo de equilibrado insuficiente con análisis en gradiente o cambios en la fase móvil isocrática	Asegurarse de que como mínimo 10 volúmenes de columna pasan a través de la columna tras el cambio de disolvente o finalización del gradiente
	Evaporación selectiva de componentes de la fase móvil	Purgar con helio menos vigorosamente, mantener tapados los disolventes, preparar la fase móvil en el momento
	Insuficiente capacidad del tampón	Usar una concentración de tampón >20 mM
	Inconsistencias en la mezcla de la fase móvil en línea	Asegurarse de que el sistema de gradiente proporciona una composición constante; comprobar frente a la preparación manual de la fase móvil
	Acumulación de contaminación	Lave la columna de vez en cuando con un disolvente fuerte para quitar los contaminantes
	Primeras inyecciones: adsorción en los centros activos	Acondicionar la columna con la inyección inicial de muestra concentrada

(continuación)

Diagnóstico de problemas del HPLC

Tipo de síntoma	Causa posible	Solución
Disminución de los tiempos de retención	Incremento de la velocidad de flujo	Comprobar el funcionamiento de la bomba; reiniciarla si fuera necesario
	Sobrecarga de muestra en la columna	Disminuir el tamaño de la muestra
	Pérdida de fase estacionaria ligada	Mantener el pH de la fase móvil entre 2 y 8,5
Aumento de los tiempos de retención	Disminución de la velocidad de flujo	Reparar las fugas de las líneas de líquidos, cambiar los sellos de la bomba y comprobar la cavitación de la bomba o las burbujas de aire
	Centros activos en el empaquetado de sílice	Usar modificadores de fase móvil
	Pérdida de fase estacionaria ligada	Mantener el pH de la fase móvil entre 2 y 8,5
	Cambios en la composición de la fase móvil	Asegurarse de que el contenedor de la fase móvil esté tapado
	Centros activos en el empaquetado de sílice	Añadir una base competitiva a la fase móvil
	Centros activos en el empaquetado de sílice	Usar empaquetado de mayor cobertura para la fase estacionaria
Problemas de sensibilidad	Los picos salen fuera del rango lineal del detector	Diluir/concentrar para ajustarlos a la región lineal
	Primeras inyecciones de muestra: absorción de muestra en el loop o columna	Acondicionar el loop/columna con muestra concentrada
	Obstrucción de las líneas de flujo del inyector automático	Compruebe el flujo y asegúrese de que no hay bloqueos.
	Loop de muestra de inyección semilleno	Asegurarse de que el loop esté completamente lleno de muestra
	Pérdidas relacionadas con la muestra durante la preparación	Usar un estándar interno durante la preparación de la muestra; optimizar el método de preparación
Tiempos de equilibrio de columna prolongados (emparejamiento iónico)	Tiempo de equilibrio prolongado para reactivos de par iónico de cadena larga	Use un reactivo de pares iónicos de cadena alquílica más corta

Diagnóstico de problemas del LC/MS

Tipo de síntoma	Solución
No hay picos	Pulverizar desde el nebulizador
	Asegurarse de que el voltaje del capilar establecido sea el adecuado.
	Asegurarse de la correcta sintonización del LC/MSD
	Asegurarse de que las presiones del LC/MSD estén dentro de rangos normales.
	Comprobar el flujo de gas de secado y la temperatura
	Asegurarse de que el fragmentador esté correctamente fijado
Exactitud deficiente en las masas	Recalibrar el eje de masas
	Asegurarse de que los iones utilizados para sintonizar abarquen todo el rango de masas de los iones de la muestra y presentan señales estables fuertes.
Señal baja	Compruebe la química de la solución; asegúrese de que el disolvente es adecuado para la muestra
	Asegurarse de que la muestra sea reciente y se haya almacenado correctamente
	Asegurarse de la correcta sintonización del LC/MSD
	Comprobar las condiciones del nebulizador.
	Limpiar la entrada de los capilares
	Comprobar los daños y contaminación de los capilares
Señal inestable	Asegurarse de que el flujo del gas de secado y la temperatura sean adecuados para el flujo de disolvente
	Asegurarse de que el disolvente esté bien desgasificado
	Asegurarse de que la retropresión del LC sea estable, lo que indica un flujo estable

(continuación)

Diagnóstico de problemas del LC/MS	
Tipo de síntoma	**Solución**
Elevado ruido espectral	Usar valores del filtro de masa adecuados
	Comprobar la forma del spray. El nebulizador podría estar dañado o mal ajustado.
	Asegurarse de que el flujo del gas de secado y la temperatura sean adecuados para el flujo de disolvente
	Asegurarse de que el disolvente esté bien desgasificado
	Asegurarse de que la retropresión del LC sea estable, lo que indica un flujo estable
	Si está utilizando agua como parte de la fase móvil, asegúrese de que está desionizada (> 18 MΩ cm)
Están saliendo gotas, no spray, del nebulizador	Asegurarse de que la presión del gas nebulizador sea suficientemente alta para el flujo de LC.
	Comprobar la posición de la aguja en el nebulizador
	Parar el flujo de disolvente y retirar el dispositivo del nebulizador
	Examinar el extremo del nebulizador por si estuviera dañado
No hay flujo	Asegurarse de que el LC esté encendido y de que haya suficiente disolvente en la botella.
	Comprobar los mensajes de error del LC
	Comprobar si hay alguna obstrucción
	Reparar o cambiar cualquier componente bloqueado
	Realice la prueba de fugas
	Asegurarse de que la válvula del selector de corriente del MS esté ajustada en LC a MSD
Fragmentación no deseada	(APCI frente a electrospray)
	La temperatura de APCI es demasiado alta
	El voltaje del fragmentador está ajustado demasiado alto