Guía de compatibilidad de sistemas de cartucho/pre-columna*

Tipo de columna	Soporte para precolumna	D.I. (mm)	Fases
Soporte para cartuchos de precolumna	Soporte para cartuchos de precolumna	2,0	LiChrospher
5021-1845	(sistema interno)	3,0	Nucleosil
		4,0	Purospher
O E	A STATE OF THE PARTY OF THE PAR	4,6	Superspher ZORBAX
Conexión estándar	Soporte de cartucho de precolumna	2.1	ZORBAX
Constitution Contained.			201137.01
Soporte de cartucho de resolución rápida 820555-901	Sin soporte para cartuchos de precolumna	4,6	ZORBAX
Columna semipreparativa	Soporte de cartucho de precolumna	9,4	ZORBAX
	840140-901		
	Soporte para cartuchos de precolumna 5021-1845 Conexión estándar Soporte de cartucho de resolución rápida 820555-901	Soporte para cartuchos de precolumna (sistema interno) Conexión estándar Soporte de cartucho de precolumna (independiente) 820999-901 Soporte de cartucho de resolución rápida 820555-901 Soporte de cartucho de precolumna (independiente) 820999-901	Soporte para cartuchos de precolumna 5021-1845 Soporte para cartuchos de precolumna (sistema interno) 3,0 4,0 4,6 Conexión estándar Soporte de cartucho de precolumna (independiente) 820999-901 Soporte de cartuchos de precolumna 4,6 Soporte de cartuchos de precolumna (independiente) 820999-901 4,6 Columna semipreparativa Soporte de cartuchos de precolumna 4,6 Soporte de cartuchos de precolumna 4,6 Soporte de cartuchos de precolumna 4,6 Soporte de cartuchos de precolumna 4,6

(continuación)

Guía de compatibilidad de sistemas de cartucho/pre-columna*

Icono	Tipo de columna	Soporte para precolumna	D.I. (mm)	Fases
A	PrepHT	Precolumna 820444-901	21,2	ZORBAX Agilent Prep
PL	Analítica	Soporte de precolumna (PL1310-0016) y precolumnas PLRP-S, 2/paq. (PL1612-1801)	3.0	PLRP-S
MG	Precolumnas rápidas para UHPLC: precolumna de	Sin soporte para cartuchos de precolumna	1,0	Pursuit
	repuesto única		2,0 4.6	Pursuit XRs Fases de Polaris
UG	Precolumnas rápidas para UHPLC: precolumna de repuesto única	Sin soporte para cartuchos de precolumna	2,1 3,0	Poroshell 120: EC-C18
NILLE			4,6	EC-C8
NUE	EVU			SB-C18 Phenyl-Hexyl
				Sub-2 µm: Eclipse Plus C18 Eclipse XDB-C18 SB-C18

^{*}Las precolumnas independientes conectan en todas las columnas de conexión estándar y de cartucho disponibles en Agilent. Todas las columnas sin iconos son columnas de conexión estándar.

Columnas rápidas para HPLC/UHPLC de fase reversa

En la última década se ha vivido un aumento constante de la eficacia y la velocidad de la cromatografía, comenzando por las partículas de pequeño tamaño que permiten obtener una resolución más alta, y continuando con los nuevos avances tecnológicos en el diseño de partículas (partículas con superficie porosa) que permiten obtener estas mismas mejoras en la resolución con una contrapresión menor.

Diseñadas especialmente para análisis de gran productividad (LC rápida), las columnas Agilent ZORBAX y Poroshell son la mejor opción inicial para cualquier análisis, porque proporcionan:

- La productividad que necesita para mantenerse al frente de la competencia: avances tecnológicos como las columnas Poroshell 120 para partículas sub-2 μm y de superficie porosa que ofrecen resoluciones y velocidades más altas.
- Flexibilidad y escalabilidad de los métodos de un laboratorio a otro, en todo el mundo, para análisis de moléculas pequeñas y biomoléculas.
- Rendimiento cromatográfico inigualable: la sílice ZORBAX (la sílice de base que se usa para todas las columnas ZORBAX y Poroshell 120) es ultra pura, muy resistente y de gran uniformidad para obtener una fiabilidad total
- La gama más completa de configuraciones de fases y columnas para satisfacer sus necesidades de aplicación específicas.



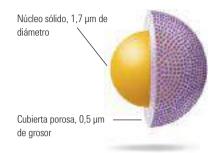
Recomendaciones para columnas o	le LC rápida	
Situación de su laboratorio	Agilent recomienda	Fundamento
Usa instrumentos tanto para UHPLC (más de 1.000 bares) como para HPLC (por ejemplo, LC Agilent 1290 Infinity y LC Agilent 1260 Infinity de 600 bares)		Poroshell 120 es una columna fácil de usar en ambos tipos de instrumentos. ZORBAX RRHD le ayudará a optimizar las capacidades del sistema LC 1290 Infinity para UHPLC.
Solo HPLC de 400-600 bares: serie Agilent 1200, serie Agilent 1100 (400 bares), así como los sistemas LC 1220 Infinity o LC 1260 Infinity (600 bares)	 Poroshell 120 ZORBAX Eclipse Plus, 3,5 μm y 5 μm 	Con Poroshell 120, puede mejorar el rendimiento de los instrumentos de 400 bares más antiguos e, incluso, obtener mejor rendimiento en los instrumentos de 600 bares para UHPLC más nuevos. Para los métodos establecidos que no pueda transferir, la columna ZORBAX Eclipse Plus proporciona una forma de pico y un rendimiento excelentes.
Una combinación de instrumentos para UHPLC (LC Agilent 1290 Infinity, otros instrumentos de más de 1.000 bares) y algunos instrumentos para HPLC (por ejemplo, LC 1200)	1. ZORBAX RRHD, 1,8 μm 2. Poroshell 120	ZORBAX RRHD puede ofrecer un rendimiento óptimo en todos estos instrumentos. Poroshell 120 se puede usar en los instrumentos de 600 bares para optimizar su rendimiento.

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Agilent CrossLab ofrece diversos capilares y tubos de PEEK. Si se usan en combinación con las conexiones adecuadas, proporcionan una superficie inerte para el análisis LC rápido de biomoléculas sensibles. Vaya a la página 130.







Poroshell 120

- Alto rendimiento y alta resolución, con hasta un 50% menos de contrapresión que las columnas sub-2 um
- Frita de 2 µm, para un rendimiento eficaz con muestras sucias
- Compatible con LC de 400 y 600 bares, así como instrumentos UHPLC
- Una familia en expansión de fases ligadas en línea con la gama ZORBAX, para una escalabilidad fiable
- Selectividad y formas de pico excelentes
- Diseñado para una reproducibilidad excepcional

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 sub-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. Los mismos principios se emplean en las columnas Poroshell 300, ideales para separaciones de biomoléculas rápidas y de alta resolución.

Especificaciones de columnas

Fase ligada	Tamaño de poro	Límites de tem- peratura	Rango de pH	Desactivación	Carga de carbono	Superficie
EC-C18	120 Å	60 °C	2,0-8,0	Doble	10%	130 m²/g
EC-C8	120 Å	60 °C	2,0-8,0	Doble	5%	130 m²/g
Phenyl-Hexyl	120 Å	60 °C	2,0-8,0	Doble	9%	130 m²/g
SB-C18	120 Å	90 °C	1,0-8,0	No	8%	130 m²/g
SB-C8	120 Å	80 °C	1,0-8,0	No	5,5%	130 m²/g
SB-Aq	120 Å	80 °C	1,0-8,0	No	Exclusivo	130 m²/g
Bonus-RP	120 Å	60 °C	2,0-9,0	Triple	9,5%	130 m²/g
EC-CN	120 Å	60 °C	2,0-8,0	Doble	3,5%	130 m²/g
HILIC	120 Å	60 °C	0,0-8,0	No	No disponible	130 m ² /g

Las especificaciones solo representan los valores típicos.

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS



El vídeo sobre la transferencia de métodos de Poroshell 120 muestra cómo transferir fácilmente los métodos existentes a Poroshell 120; lo encontrará en

www.agilent.com/chem/poroshell120video



Poroshell 120

(presión máxima: 600 bares)

Hard- ware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	EC-C18 USP L1	EC-C8 USP L7	Phenyl- Hexyl USP L11	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7	SB-Aq	Bonus-RP USP L60	EC-CN	HILIC
	Analítica	4,6 x 150	2,7	693975-902	693975-906	693975-912	683975-902	683975-906	683975-914	693968-901	693975-905	693975-901
	Analítica	4,6 x 100	2,7	695975-902	695975-906	695975-912	685975-902	685975-906	685975-914	695968-901	695975-905	695975-901
	Analítica	4,6 x 75	2,7	697975-902	697975-906		687975-902					
	Analítica	4,6 x 50	2,7	699975-902	699975-906	699975-912	689975-902	689975-906	689975-914	699968-901	699975-905	699975-901
	Analítica	4,6 x 30	2,7	691975-902	691975-906		681975-902					
UG	Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq.	4,6 x 5	2,7	820750-911	820750-913	820750-914	820750-912					
	Solvent Saver	3,0 x 150	2,7	693975-302	693975-306	693975-312	683975-302	683975-306	683975-314	693968-301	693975-305	693975-301
	Solvent Saver	3,0 x 100	2,7	695975-302	695975-306	695975-312	685975-302	685975-306	685975-314	695968-301	695975-305	695975-301
	Solvent Saver	3,0 x 75	2,7	697975-302	697975-306		687975-302					
	Solvent Saver	3,0 x 50	2,7	699975-302	699975-306	699975-312	689975-302	689975-306	689975-314	699968-301	699975-305	699975-301
	Solvent Saver	3,0 x 30	2,7	691975-302	691975-306		681975-302					
UG	Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq.	3,0 x 5	2,7	823750-911	823750-913	823750-914	823750-912					
	Diámetro estrecho	2,1 x 150	2,7	693775-902	693775-906	693775-912	683775-902	683775-906	683775-914	693768-901	693775-905	693775-901
	Diámetro estrecho	2,1 x 100	2,7	695775-902	695775-906	695775-912	685775-902	685775-906	685775-914	695768-901	695775-905	695775-901
	Diámetro estrecho	2,1 x 75	2,7	697775-902	697775-906		687775-902					
	Diámetro estrecho	2,1 x 50	2,7	699775-902	699775-906	699775-912	689775-902	689775-906	689775-914	699768-901	699775-905	699775-901
	Diámetro estrecho	2,1 x 30	2,7	691775-902	691775-906		681775-902					
UG	Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq.	2,1 x 5	2,7	821725-911	821725-913	821725-914	821725-912					



Columnas Poroshell 120

Detector:

Inyección:

SL Agilent 1200 40 °C

Sin mezclador Calentador 3 µl

10 µl

Fenoles medioambientales en Poroshell 120

Poroshell 120 EC-C18 Columna A:

695975-902

4,6 x 100 mm, 2,7 μm

Eclipse Plus C18 Columna B:

Gradiente:

959964-902

4.6 x 100 mm. 1.8 um

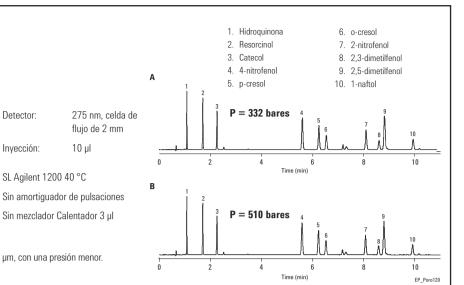
A: agua con ácido fórmico al 0,1%

B: acetonitrilo con ácido fórmico al

0.1% 2 ml/min Inicial: 8% de B

10 min: 30% de B

Poroshell 120 proporciona una eficacia similar a las sub-2 µm, con una presión menor.



Eficiencia de UHPLC a presiones HPLC

Poroshell 120 EC-C18 Columna A:

695975-302

3,0 x 100 mm, 2,7 µm

Columna B: **Eclipse Plus C18**

959964-302

3,0 x 100 mm, 1,8 µm

Fase móvil: 60% de acetonitrilo:40% de agua

Velocidad de flujo: 0,58 ml/min

Temperatura: 26 °C

Volumen de

inyección: 4 μΙ

Detector: Señal detector de diodos (DAD) = 254,4 nm

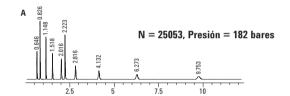
Ref. = 360.100 nm

Muestra de verificación para RRLC (n.º de referencia Muestra:

5188-6529) enriquecida con 50 µl de tioure a 2 mg/ml en

agua/acetonitrilo (65:35)

Para esta muestra de alquilfenoles neutros, la columna Poroshell 120 ofreció un >90% del rendimiento logrado por la columna de 1,8 µm. Tenga en cuenta que la presión ejercida en la columna Poroshell 120 es aproximadamente un 50% de la presión sobre la columna de 1,8 µm.



N = 27295, Presión = 386 bares



1. Hidroquinona

1. Hidroquinona

2 Resorcinol 3. Catecol

5. 4-nitrofenol

4. Fenol

2. Resorcinol

Separación HPLC de 12 fenoles en tan solo 5 minutos (a menos de 400 bares) usando una columna Poroshell 120 **EC-C18** Agilent

Poroshell 120 EC-C18 Columna:

699975-902 4.6 x 50 mm, 2,7 µm

Fase móvil: Solvente A: agua con ácido fórmico

al 0.1%

Solvente B: acetonitrilo

5% de B en 0,8 min Gradiente:

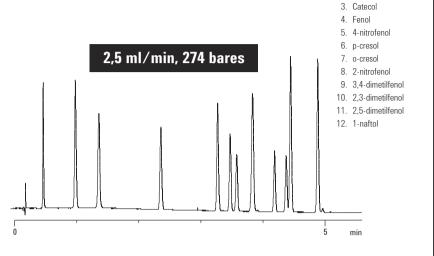
60% de B en 6,8 min

SL 1200 con control de temperatura a 25 °C, celda de flujo de 2 mm

Detector: DAD, 270 nm

Un aspecto importante es que la velocidad de flujo se mantuvo en 2,5 ml/min, reduciendo así a unos 15 ml la cantidad de fase móvil consumida por análisis.

Poroshell 120 Agilent ofrece separaciones de gran eficacia y gran resolución, de forma rápida, con presiones de HPLC.



12 fenoles analizados utilizando una columna Agilent Poroshell 120 EC-C18 de mayor longitud (4,6 x 100 mm) Columna: Poroshell 120 EC-C18 695975-902 4,6 x 100 mm, 2,7 µm Fase móvil: Solvente A: agua con ácido fórmico

al 0,1%

Solvente B: acetonitrilo

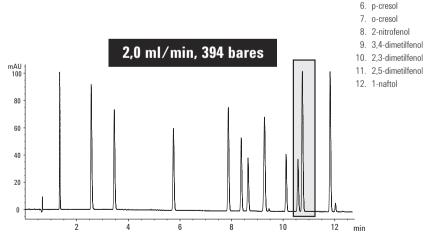
Gradiente: 5% de B en 2 min

> 60% de B en 17 min RRLC SL 1200 con control de

temperatura a 25 °C, celda de flujo de 2 mm

Detector: DAD, 270 nm

Al reducir la velocidad de flujo a 2,0 ml/min, la presión se mantuvo inferior a 400 bares lo que mejoró la separación de un par de picos de elución tardía (resaltados) con tan solo un pequeño aumento del tiempo de análisis. Esta separación se puede lograr con HPLC o, si se desea una velocidad de flujo mayor, con UHPLC.



Poroshell 120 EC-C18 para separaciones rápidas de UHPLC

Columna: Poroshell 120 EC-C18

695975-302

3,0 x 100 mm, 2,7 µm

Fase móvil: 65% de A: ácido fórmico al 0,2%

35% de B: metanol Isocrática

Velocidad de flujo: Varía Temperatura: 26 °C

Detector: Señal = 220, 4 nm, Ref = Desactivado

Este ejemplo muestra una separación rápida usando una fase móvil que genera presiones más altas. En el cromatograma superior se usó una columna de 3,0 mm de d.i., con una velocidad de flujo de 0,5 ml/min y una presión inferior a 400 bares, lo que la convierte en una separación de LC típica.

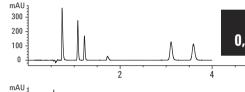
Aunque la separación superior fue rápida (un poco menos de 6 minutos), los cromatogramas medio e inferior muestran que se pueden reducir los tiempos a menos de 3 minutos aumentando la velocidad de flujo. Estos análisis más rápidos generarán una presión de 400-560 bares; consulte las opciones de actualización flexible de la serie Agilent 1200 Infinity para aprovechar todas las ventajas de la funcionalidad de UHPLC.

Se pueden utilizar disolventes más viscosos, como el metanol, con presiones de HPLC o UHPLC.



- 3. Ácido para-hidroxibenzoico
- 4. Aspartamo
- 5. Ácido dehidroacético6. Ácido benzoico





Velocidad de flujo: 0,75 ml/min, P: 433 bares

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min, P: 559 bares

100 2 4

200



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Para ver la lista completa de productos capilares para LC, vaya a las páginas 16-46.

Columna ZORBAX de resolución rápida y alta definición (RRHD) 1,8 µm

- Columnas de alta presión (1.200 bares) para obtener resultados óptimos con LC 1290 Infinity u otros instrumentos UHPLC
- Partículas de 1,8 µm que ofrecen la máxima resolución para separaciones muy bien definidas
- Disponibles en 12 fases ZORBAX, incluidas Eclipse Plus C18 para una forma de pico óptima, ZORBAX StableBond C18 para obtener estabilidad a pH bajo, Bonus-RP, Eclipse PAH, Eclipse Plus Phenyl-Hexyl y Extend-C18
- También disponibles en HILIC Plus
- Consiguen la misma selectividad que las columnas ZORBAX de 3,5 y 5 μm con la misma fase ligada para asegurar la compatibilidad con cualquier LC

Las columnas ZORBAX de resolución rápida y alta definición (RRHD) son una ampliación de la línea de columnas ZORBAX con partículas de 1,8 µm. Las nuevas columnas RRHD utilizan procesos de relleno mejorados para mantener la estabilidad hasta 1200 bares para utilizar con LC Agilent 1290 Infinity u otros instrumentos UHPLC. Las columnas RRHD de 1,8 µm están disponibles en longitudes de 50, 100 y 150 mm para ofrecer separaciones rápidas o de alta resolución (definición verdaderamente alta) de las muestras más complejas.





Columnas ZORBAX de resolución rápida y alta definición (RRHD) 1,8 µm

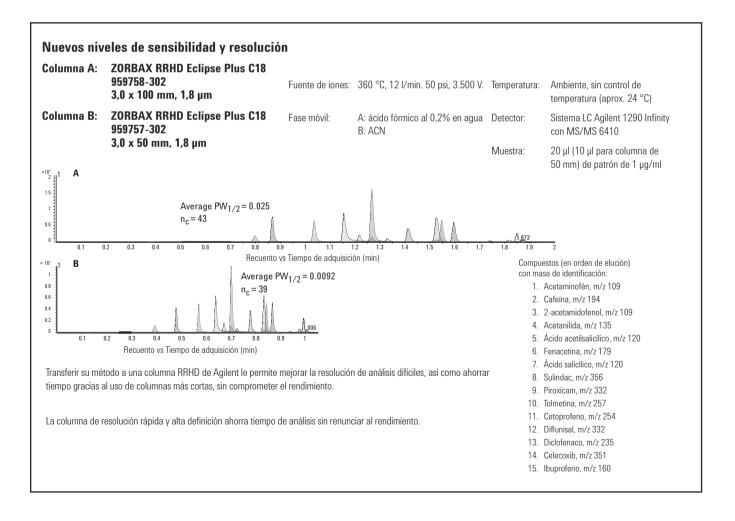
Fase ligada	Tamaño de poro	Superficie	Intervalo de pH	Desactivación	Límite de temperatura
ZORBAX Eclipse Plus C18	95 Å	160 m ² /g	2,0-9,0	Doble	60 °C
ZORBAX Eclipse Plus C8	95 Å	160 m ² /g	2,0-9,0	Doble	60 °C
ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl	95 Å	160 m ² /g	2,0-9,0	Doble	60 °C
ZORBAX Eclipse XDB-C18	80 Å	180 m ² /g	2,0-9,0	Doble	60 °C
ZORBAX Extend-C18	80 Å	180 m ² /g	2,0-11,5**	Doble	60 °C
ZORBAX Bonus RP	80 Å	180 m ² /g	2,0-9,0	Triple	60 °C
ZORBAX StableBond SB-C18	80 Å	180 m ² /g	1,0-8,0*	No	80 °C
ZORBAX StableBond SB-C8	80 Å	180 m ² /g	1,0-8,0*	No	80 °C
ZORBAX StableBond SB-Phenyl	80 Å	180 m ² /g	1,0-8,0*	No	80 °C
ZORBAX StableBond SB-CN	80 Å	180 m ² /g	1,0-8,0*	No	80 °C
ZORBAX StableBond SB-Aq	80 Å	180 m ² /g	1,0-8,0*	No	80 °C
ZORBAX Eclipse PAH	95 Å	160 m ² /g	2,0-8,0	No	60 °C
ZORBAX HILIC Plus	95 Å	160 m ² /g	0,0-8,0	No	60 °C
ZORBAX StableBond 300SB-C8	300 Å	45 m ² /g	1,0-8,0*	No	80 °C
ZORBAX StableBond 300SB-C18	300 Å	45 m ² /g	1,0-8,0*	No	80 °C
ZORBAX StableBond 300SB-C3	300 Å	45 m ² /g	1,0-8,0*	No	80 °C
ZORBAX 300-Diphenyl	300 Å	45 m ² /g	1,0-8,0*	Sí	80 °C

^{**} Las columnas StableBond están diseñadas para un uso óptimo con un pH bajo. Se obtiene la mayor estabilidad de columna para las columnas con base de sílice a un pH >6 si se trabaja a temperaturas <40 °C y se utilizan concentraciones menores de tampón, de 10 a 20 mM o tampones orgánicos. La columna 300SB-C18 se puede usar a temperaturas de hasta 90 °C. Para pH 6-8, seleccione la columna Eclipse Plus C18.

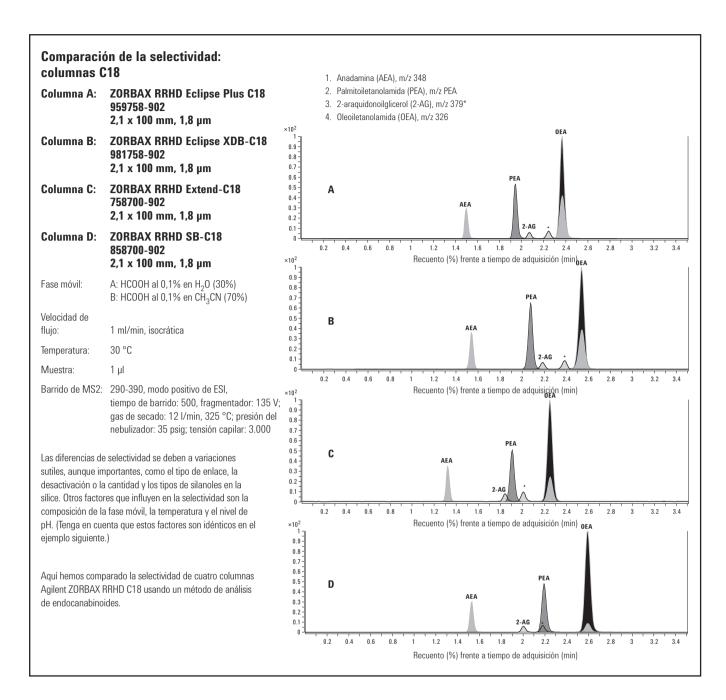
^{**} Límites de temperatura: 60 °C hasta pH 8, 40 °C de pH 8-11,5

Separación de regaliz en columnas RRHD **ZORBAX RRHD SB-C18** Columna A: 857700-902 50 mm 2,1 x 50 mm, 1,8 µm 858700-902 Columna B: 2,1 x 100 mm, 1,8 µm 859700-902 Columna C: 7 picos 2,1 x 150 mm, 1,8 μm Rs: 0 Fase móvil: 10-100% B/30 min A: ácido fórmico al 0,1% (fa) B: acetonitrilo con fa al 0,1% Velocidad de flujo: F = 0.4 ml/minGradiente: Gradiente de 30 minutos a cada longitud Temperatura: Ambiente Detector: 280 nm UV 100 mm Instrumento: LC 1290 Infinity В 8 picos Rs: 1.37 150 mm C 9 picos Rs: 2.40

Separaciones en menos de un minuto con columnas RRHD **ZORBAX RRHD SB-C18** Columna: 857700-902 2,1 x 50 mm, 1,8 µm H₂O (ácido trifluoroacético al 0,5 µl x 100 ppm cada uno Gradiente: Volumen de invección: 0.05%)/ACNal 10-40%/1 min UV, 275 nm Detector: 60 °C Temperatura: Velocidad de adquisición de datos: 160 Hz mΔII 500-Mezcla biocida de seis compuestos en 0,5 minutos 400 -F = 2.0 ml/minP = 975 bares 300 -1. 2-metil-4-isotiazolin-3-ona 2 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona 200 -0.5 min 3. Carbendazim 4. Benzoisotiazol-3(2H)-ona 100 -5. 2-fenoxietanol 6. Metilparabeno



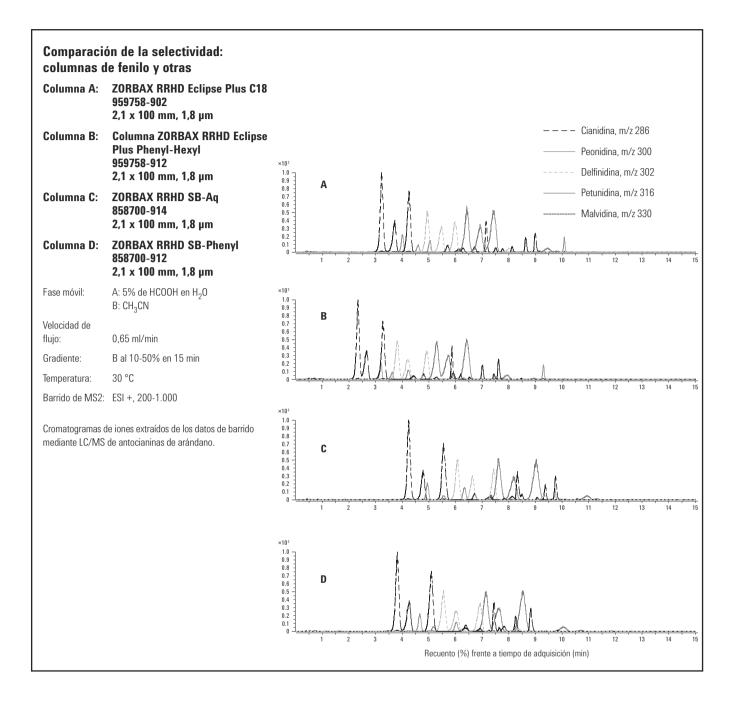
COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS





RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Si desea obtener información detallada, consulte la publicación 5990-7166EN de Agilent, www.agilent.com/chem/library



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Si desea obtener información detallada, consulte la publicación 5990-8470EN de Agilent, www.agilent.com/chem/library



Columnas de resolución rápida y alta definición (RRHD) para uso a alta presión (presión máxima: 1.200 bares)

Hardwar	e Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Eclipse Plus C18 USP L1	Eclipse Plus C8 USP L7	Eclipse Plus Phenyl-Hexyl USP L11	Eclipse PAH USP L1
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 150	1,8	959759-302	959759-306		
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 100	1,8	959758-302	959758-306	959758-312	959758-318
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 50	1,8	959757-302	959757-306	959757-312	959757-318
UG	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	3,0 x 5	1,8	823750-901			
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 150	1,8	959759-902	959759-906	959759-912	959763-918
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 100	1,8	959758-902	959758-906	959758-912	959764-918
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 50	1,8	959757-902	959757-906	959757-912	959741-918
UG	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	2,1 x 5	1,8	821725-901			

Columnas de resolución rápida y alta definición (RRHD) para uso a alta presión (presión máxima: 1.200 bares)

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7	SB-CN USP L10	SB Fenilo USP L11	SB-Aq
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 150	1,8	859700-302	859700-306			
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 100	1,8	858700-302	858700-306	858700-305	858700-905	858700-314
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 50	1,8	857700-302	857700-306	857700-305	857700-312	857700-314
UG	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	3,0 x 5	1,8	823750-902	823750-904			
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 150	1,8	859700-902	859700-906	859700-905	859700-912	859700-914
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 100	1,8	858700-902	858700-906	858700-905	858700-912	858700-914
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 50	1,8	857700-902	857700-906	857700-905	857700-912	857700-914
(JC)	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	2,1 x 5	1,8	821725-902	821725-904			

Columnas de resolución rápida y alta definición (RRHD) para uso a alta presión (presión máxima: 1.200 bares)

Hardware Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Extend-C18 USP L1	Eclipse XDB-C18 USP L1	Bonus-RP USP L60	HILIC Plus
Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 150	1,8	759700-302	981759-302		
Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 100	1,8	758700-302	981758-302		959758-301
Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 50	1,8	757700-302	981757-302		959757-301
Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	3,0 x 5	1,8		823750-903		
Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 150	1,8	759700-902	981759-902	859768-901	959759-901
Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 100	1,8	758700-902	981758-902	858768-901	959758-901
Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 50	1,8	757700-902	981757-902	857768-901	959757-901
Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	2,1 x 5	1,8		821725-903		
11000iaiiiiao para 0111 20, 1200 baroo, 0/ paq.	2,1 % 0			021720 000		

Las columnas ZORBAX RRHD también están disponibles en configuraciones de 300 Å para biomoléculas. Vaya a la página 367. ZORBAX RRHD 300-HILIC estará disponible en 2013.



ZORBAX de resolución rápida y alto rendimiento (RRHT) de 1,8 μm

- Columnas de alta presión (600 bares) para análisis ultrarrápidos o de máxima resolución con columnas de resolución rápida HT con rellenos totalmente porosos de 1,8 µm.
- Partículas diseñadas cuidadosamente para conseguir la máxima resolución con un 25% de menos presión que otros materiales sub-2 μm.
- Reducen el tiempo de análisis hasta un 95%.
- Se desarrollan los métodos HPLC más rápidamente.
- Se transfieren de forma segura métodos convencionales con más de 140 opciones de columnas RRHT.
- Se analizan muestras complejas en columnas más cortas, más rápidas y se maximiza la capacidad de picos.
- Se equipara la selectividad en partículas de 3,5; 5 y 7 µm para la completa escalabilidad de los métodos.
- Se pueden utilizar columnas cortas (de 50 mm de longitud o menos) en algunas LC convencionales.

Las columnas Agilent ZORBAX de resolución rápida HT (1,8 µm) utilizan una partícula totalmente porosa de 1,8 µm para lograr la máxima resolución en análisis rápidos, ultrarrápidos y de alta resolución. Es posible reducir el tiempo de análisis hasta un 95% con respecto a las columnas de 250 mm de longitud. Con más de 140 opciones de columnas RRHT, incluidas la ZORBAX Eclipse Plus de alto rendimiento y otras muchas opciones de columnas ZORBAX (Eclipse XDB, StableBond, Extend, Bonus-RP), es fácil desarrollar métodos rápidamente o transferirlos de forma segura a columnas con menor tamaño de partícula sin ninguna pérdida en la resolución. Su pequeño tamaño de partícula proporciona una eficacia doble comparado con una columna con partículas de 3,5 µm de la misma longitud, ofreciendo la más alta eficacia y resolución posibles. De este modo se pueden analizar las muestras complejas en columnas más cortas con la máxima resolución y capacidad de picos. Las columnas de resolución rápida HT de 1,8 µm llevan la HPLC de alta velocidad y alta resolución a un nuevo nivel.

Pueden utilizarse columnas de 600 bares con el sistema LC de Agilent 1260 hasta este límite alto de presión. Además, las columnas más cortas se pueden utilizar en muchos otros sistemas LC, incluido el sistema LC Agilent 1200 de resolución rápida.



Columnas de resolución rápida y alto rendimiento (RRHT) ZORBAX 1,8 µm

Resolución rápida y alto rendimiento (RRHT) para duplicar la eficacia de las columnas de resolución de rápida

Columna A: ZORBAX RRHT SB-C18

835975-902

4,6 x 50 mm, 3,5 µm

Columna B: ZORBAX RRHT SB-C18

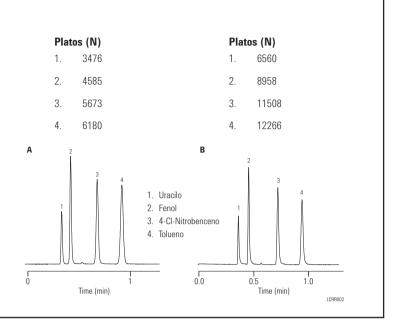
827975-902

4,6 x 50 mm, 1,8 µm

Fase móvil: 25% de agua, 75% de MeOH

Velocidad de flujo: 1,5 ml/min
Temperatura: Ambiente
Detector: UV; 254 nm

Esta figura muestra cómo las columnas HT de resolución rápida proporcionan el doble de eficiencia que una columna de la misma longitud con un tamaño de partícula de 3,5µm. Esta alta eficiencia resulta útil en análisis de alta productividad con muy alta resolución.



Aumento de la capacidad de los picos con las columnas RRHT

Columna A: Columna RRHT Eclipse XDB-C8

928700-906

2,1 x 100 mm, 1,8 µm

Columna B: Eclipse XDB-C18

961753-902

2,1 x 100 mm, 3,5 μm

Fase móvil: A: H₂0

B: ACN

Capacidad A: 461

máxima: B: 343

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

Gradiente: 0,0 min 50% B

20,0 min 100% B

Temperatura: 40 °C

Detector: UV, 254 nm

Muestra: Alquilfenonas

mAU 120 - 100 - 1 80 - 60 - 40 - 20 - 0 2 4 6 8 10 12 14 16 18

1. Uracilo

2. C₃ alquilfenona

3. C₄ alquilfenona

4. C₅ alquilfenona

5. C₆ alquilfenona

6. C₇ alquilfenona

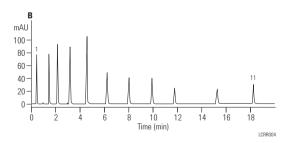
7. C₈ alquilfenona

. C_g alquilfenona

9. C₁₀ alquilfenona

10. C₁₂ alquilfenona

11. C₁₄ alquilfenona



Reducción considerable del tiempo de análisis con las columnas de resolución rápida y alto rendimiento

Columna A: Eclipse XDB-C18

990967-902

4,6 x 250 mm, 5 µm

Columna B: Eclipse XDB-C18

963967-902

4,6 x 150 mm, 3,5 µm

Columna C: Eclipse XDB-C18

966967-902

4,6 x 75 mm, 3,5 μm

Columna D: ZORBAX Eclipse XDB-C18

935967-902

4,6 x 50 mm, 3,5 µm

Columna E: Columna RRHT Eclipse XDB-C18

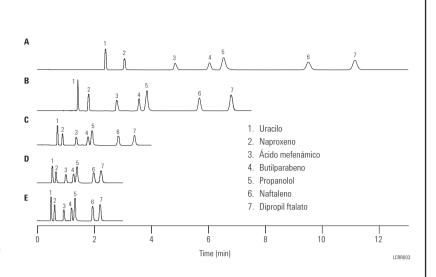
925975-902

4,6 x 50 mm, 1,8 µm

Fase móvil: 73% de MeOH:27% de tampón de fosfato

de 20 mM, pH 7,0

Velocidad de flujo: 1 ml/min
Temperatura: Ambiente
Detector: UV; 254 nm



Esta figura muestra la drástica reducción en el tiempo de análisis gracias al uso de las columnas de resolución rápida HT. El cromatograma A muestra una separación que tarda 11,5 minutos en una columna de 25 cm, 5 µm. Las columnas de resolución rápida (3,5 µm), mostradas en el cromatograma B y C, reducen el tiempo de análisis sustancialmente, pero con una pequeña disminución de la resolución. La columna de resolución rápida HT reduce el tiempo de análisis a 2,2 minutos (un 80% de reducción) y mantiene la resolución de referencia.

Vida útil prolongada de las columnas RRHT a temperaturas altas

Columna: ZORBAX RRHT SB-C18

827700-902

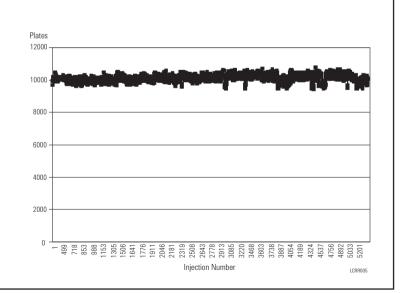
2,1 x 50 mm, 1,8 μ m

Fase móvil: A: $60\% H_2 O$

B: 40% ACN

Velocidad de flujo: 1 ml/min
Temperatura: 80 °C
Detector: UV. 254 nm

Muestra: Mezcla de test para control de calidad



Comparación de eficacias: columnas de resolución rápida y alta definición (RRHD)/RRHT (1,8 μ m) y columnas de resolución rápida (3,5 μ m)

Longitud de columna (mm)	Poroshell 120	Capacidad resolutiva N (3,5 µm)*	Capacidad resolutiva N (1,8 µm)
Elevada resolución			
150	32.000	21.000	32.500
100	21,000	14.000	24.000
75	16.000	10.500	17.000**
Ultrarrápida			
50	11.000	7.000	12.000
30	5.500	4.200	6.000
20	_	_	3.500
15	_	2.100	2.500
Resolución α N ^{1/2}			

^{*}Las columnas HPLC de 5 µm de la misma longitud tienen un 40% menos de placas (valor N); d.i. de 4,6 mm

Datos basados en columnas de 4,6 mm de d.i.



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

El bastidor para LC de Agilent permite reducir la longitud de los capilares y minimizar así el volumen fuera de la columna. También protege el instrumento y permite intercambiar los módulos según se necesite.



Estantería Agilent para sistemas LC, 5001-3726

^{**}Disponible como columna personalizada

Columnas de resolución rápida HT para utilizar a alta presión (presión máxima: 600 bares, 9000 psi)

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Eclipse Plus C18 USP L1	Eclipse Plus C8 USP L7	Eclipse Plus Phenyl-Hexyl USP L11	Eclipse PAH USP L1	Eclipse XDB-C18 USP L1	Eclipse XDB-C8 USP L7	Extend-C18 USP L1
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 150	1,8	959994-902						
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 100	1,8	959964-902	959964-906	959964-912	959964-918	928975-902		728975-902
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 75	1,8	959951-902						
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 50	1,8	959941-902	959941-906	959941-912	959941-918	927975-902	927975-906	727975-902
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 30	1,8	959931-902	959931-906	959931-912	959931-918	924975-902	924975-906	724975-902
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 20	1,8					926975-902	926975-906	726975-902
UG	Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq.	4,6 x 5	1,8	820750-901				820750-903		
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 100	1,8	959964-302	959964-306	959964-312		928975-302		728975-302
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 50	1,8	959941-302	959941-306	959941-312		927975-302	927975-306	727975-302
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 30	1,8					924975-302	924975-306	724975-302
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 20	1,8					926975-302	926975-306	726975-302
(IG	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	3,0 x 5	1,8	823750-901				823750-903		
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 150	1,8	959794-902						
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 100	1,8	959764-902	959764-906	959764-912	959764-918	928700-902	928700-906	728700-902
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 50	1,8	959741-902	959741-906	959741-912	959741-918	927700-902	927700-906	727700-902
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 30	1,8	959731-902	959731-906	959731-912		924700-902	924700-906	724700-902
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 20	1,8					926700-902	926700-906	726700-902
UG	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	2,1 x 5	1,8	821725-901				821725-903		

Columnas de resolución rápida HT para utilizar a alta presión (presión máxima: 600 bares, 9000 psi)

			Tamaño de							
Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	partícula (µm)	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7	SB Fenilo USP L11	SB-CN USP L10	SB-Aq	Rx-SIL** USP L3	Bonus-RP USP L60
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 150	1,8	829975-902	829975-906	829975-912	829975-905	829975-914		
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 100	1,8	828975-902	828975-906	828975-912	828975-905	828975-914	828975-901	828668-90
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 75	1,8		830975-906					830668-90
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 50	1,8	827975-902	827975-906	827975-912	827975-905	827975-914	827975-901	827668-90
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 30	1,8	824975-902	824975-906	824975-912	824975-905	824975-914		
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 20	1,8	826975-902	826975-906					
UG	Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq.	4,6 x 5	1,8	820750-902	820750-904					
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 150	1,8	829975-302	829975-306	829975-312	829975-305			
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 100	1,8	828975-302	828975-306	828975-312	828975-305	828975-314	828975-301	828668-30
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 50	1,8	827975-302	827975-306	827975-312	827975-305	827975-314	827975-301	827668-30
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 30	1,8	824975-302	824975-306		824975-305			
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 20	1,8	826975-302	826975-306					
UG	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	3,0 x 5	1,8	823750-902	823750-904					
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 150	1,8	820700-902	820700-906	820700-912	820700-905			
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 100	1,8	828700-902	828700-906	828700-912	828700-905	828700-914	828700-901	828768-90
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 50	1,8	827700-902	827700-906	827700-912	827700-905	827700-914	827700-901	827768-90
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 30	1,8	824700-902	824700-906	824700-912	824700-905	824700-914		
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 20	1,8	826700-902	826700-906					
UG	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	2,1 x 5	1,8	821725-902	821725-904					

Columnas y cartuchos de resolución rápida HT (presión máxima: 400 bares, 6000 psi)

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Eclipse XDB-C18 USP L1	Eclipse XDB-C8 USP L7	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7	Extend-C18 USP L1
	HT de resolución rápida, 400 bares	4,6 x 50	1,8	922975-902	922975-906	822975-902	822975-906	722975-902
	Resolución rápida HT, 3/paq., 400 bares	4,6 x 50	1,8	922975-932		822975-932		
	Diámetro estrecho RRHT, 400 bares	2,1 x 50	1,8	922700-902		822700-902		
	Diámetro estrecho RRHT, 3/paq., 400 bares	2,1 x 50	1,8	922700-932		822700-932		
Cartuchos I	HT de resolución rápida (requieren ki	t de soporte 8	20555-901)					
RR	Cartucho de resolución rápida HT	4,6 x 50	1,8	925975-902		825975-902		
RP	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq.	4,6 x 50	1,8	925975-932		825975-932		
RR	Cartucho de resolución rápida HT	2,1 x 50	1,8	925700-902		825700-902		
R B	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq.	2,1 x 50	1,8	925700-932		825700-932		
RR	Cartucho de resolución rápida HT	4,6 x 30	1,8	923975-902		823975-902		
₹B	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq.	4,6 x 30	1,8	923975-932		823975-932		
RR	Cartucho de resolución rápida HT	2,1 x 30	1,8	923700-902		823700-902		
R B	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq.	2,1 x 30	1,8	923700-932		823700-932		
RR	Cartucho de resolución rápida HT	4,6 x 15	1,8	921975-902		821975-902		
R B	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq.	4,6 x 15	1,8	921975-932		821975-932		
RR	Cartucho de resolución rápida HT	2,1 x 15	1,8	921700-902		821700-902		
RR	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq.	2,1 x 15	1,8	921700-932		821700-932		
RR	Kit de hardware para cartuchos RR y F	RHT	-	820555-901		820555-901		



Columnas ZORBAX Eclipse Plus

Precolumnas rápidas de Agilent para UHPLC

- Precolumnas de alto rendimiento para columnas de LC rápida
- Dos formatos: uno para columnas Poroshell 120, estables a 600 bares, columnas RRHD, 1,8 μm (estables a 1.200 bares) y columnas RRHT, 1,8 μm (estables a 600 bares)

Agilent ha diseñado precolumnas para UHPLC de alto rendimiento para sus gamas de columnas para LC rápida. Las precolumnas Agilent para UHPLC utilizan un hardware fácil de instalar que se acopla directamente en el extremo de la columna, sin necesidad de ningún otro hardware. Se venden en paquetes de tres.

Las precolumnas Agilent para UHPLC prolongan la vida útil de las columnas analíticas sin reducir el rendimiento.

Precolumnas rápidas para UHPLC

Columnas ZORBAX RRHD, 1,8 µm (1.200 bares) y columnas ZORBAX RRHT, 1,8 µm (600 bares)

Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Eclipse Plus C18 USP L1	Eclipse XDB-C18 USP L1	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7
Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	2,1 x 5	1,8	821725-901	821725-903	821725-902	821725-904
Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	3,0 x 5	1,8	823750-901	823750-903	823750-902	823750-904
Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq.	4,6 x 5	1,8	820750-901	820750-903	820750-902	820750-904
roshell 120, 2,7 µm (600 bares)					
	Tamaño	Tamaño de	EC-C18	EC-C8	SB-C18	Phenyl-Hexyl
	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq. Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq. Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq.	Descripción(mm)Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.2,1 x 5Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.3,0 x 5Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq.4,6 x 5roshell 120, 2,7 μm (600 bares)	Descripción(mm)partícula (μm)Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.2,1 x 51,8Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.3,0 x 51,8Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq.4,6 x 51,8Proshell 120, 2,7 μm (600 bares)	Descripción Tamaño (mm) Tamaño de partícula (μm) Plus C18 USP L1 Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq. 2,1 x 5 1,8 821725-901 Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq. 3,0 x 5 1,8 823750-901 Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq. 4,6 x 5 1,8 820750-901 roshell 120, 2,7 μm (600 bares)	Descripción Tamaño (mm) Tamaño de partícula (μm) Plus C18 USP L1 Eclipse XDB-C18 USP L1 Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq. 2,1 x 5 1,8 821725-901 821725-903 Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq. 3,0 x 5 1,8 823750-901 823750-903 Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq. 4,6 x 5 1,8 820750-901 820750-903 roshell 120, 2,7 μm (600 bares) 4,6 x 5 1,8 820750-901 820750-903	Descripción Tamaño (mm) Tamaño de partícula (μm) Plus C18 USP L1 Eclipse XDB-C18 USP L1 SB-C18 USP L1 Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq. 2,1 x 5 1,8 821725-901 821725-903 821725-902 Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq. 3,0 x 5 1,8 823750-901 823750-903 823750-902 Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq. 4,6 x 5 1,8 820750-901 820750-903 820750-902 roshell 120, 2,7 μm (600 bares)

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	EC-C18 USP L1	EC-C8 USP L7	SB-C18 USP L1	Phenyl-Hexyl USP L11
UG)	Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq.	2,1 x 5	2,7	821725-911	821725-913	821725-912	821725-914
UG	Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq.	3,0 x 5	2,7	823750-911	823750-913	823750-912	823750-914
UG	Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq.	4,6 x 5	2,7	820750-911	820750-913	820750-912	820750-914



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Obtenga información sobre las precolumnas rápidas para UHPLC, una nueva forma de ampliar la vida útil de la columna LC analítica sin reducir el rendimiento. www.agilent.com/chem/fastguardsvideo



Otras columnas para HPLC analítica de fase reversa

Obtenga una forma de pico y una resolución excelentes cada vez gracias a la selección más completa del sector de columnas de fase reversa

Tanto si usa LC rápida como si trabaja con aplicaciones de HPLC más convencionales, la gama para LC de Agilent ofrece una variedad de fases y selectividades que le ayudarán a perfeccionar su separación.

La gama de fases ZORBAX se pueden escalar fácilmente a las columnas de LC rápida de las gamas de resolución rápida y alto rendimiento (RRHT) y resolución rápida y alta definición (RRHD), y a las columnas Poroshell 120 (consulte la sección anterior, página 227).

En esta sección, ofreceremos una introducción a otras importantes columnas analíticas de Agilent:

Las configuraciones de las columnas ZORBAX de resolución rápida, de 3,5 μm, son la opción ideal para el desarrollo inicial de métodos y proporcionan mayor capacidad de procesado de muestras en comparación con las columnas de 5 μm.

Las configuraciones de columna ZORBAX Solvent Saver de 3,0 mm de d.i. proporcionan una reducción de la fase móvil del 60% frente a las columnas de 4,6 mm de d.i.

Las columnas para HPLC ZORBAX Eclipse Plus están diseñadas para producir formas de pico óptimas para compuestos básicos, y están disponibles en todas las configuraciones de columna ZORBAX.

Más de 13 fases ZORBAX adicionales, incluidas StableBond, Eclipse PAH, Eclipse XDB, ZORBAX Rx, Extend-C18, Bonus-Rx y columnas ZORBAX originales: más de 1400 configuraciones para obtener fiabilidad en la transferencia de métodos y la escalabilidad.

Los kits para el desarrollo de métodos ZORBAX contienen tres columnas por el precio de dos. Cada una como fase ligada diferente para optimizar la selectividad.

Kits de validación de métodos ZORBAX: elija todas las columnas que necesite para que su validación de métodos sea más fácil y económica.

Las columnas Pursuit, Pursuit XRs y Pursuit XRs Ultra proporcionan selectividades alternativas a la gama ZORBAX.

Las columnas Polaris proporcionan fases polarmente modificadas para aplicaciones polares rutinarias.

Otras columnas para HPLC analítica de fase reversa.

WWW.AGILENT.COM/CHEM/LC LC Y LC/MS

247



Columnas ZORBAX Eclipse Plus

ZORBAX Eclipse Plus

- La columna ideal para el desarrollo de métodos: excelentes resultados para una amplia gama de compuestos.
- Elevado nivel de rendimiento (forma de picos, eficacia, resolución y duración) con todo tipo de muestras: ácidas, básicas y neutras.
- Reproducibilidad extraordinaria con los procedimientos de control y garantía de calidad más rigurosos.
- Fabricación de sílice patentada y mejorada con control del producto de principio a fin.
- Disponible en partículas de tamaños de 1,8; 3,5 y 5 μm para análisis LC rápidos, de alta resolución y analíticos.

Las columnas Agilent ZORBAX Eclipse Plus ofrecen el máximo rendimiento para las columnas a base de sílice. La forma de pico es excelente para la mayoría de los compuestos básicos más complejos, lo que aumenta el rendimiento y la resolución con este tipo de muestras. Estos resultados se han logrado mediante una serie de mejoras de la tecnología de enlace y el proceso de fabricación de la sílice, y estos procesos han sido controlados en su totalidad por Agilent.

Dado el alto nivel de rendimiento, las columnas Eclipse son la solución perfecta para el desarrollo de métodos de todas las muestras. Si necesita un desarrollo de métodos rápido y una productividad superior, use una columna de partículas de 1,8 µm de alta resolución. En el caso de los métodos estándar, las columnas de 5 µm y de 3,5 µm de rápida resolución son la elección perfecta. La transferencia de métodos es posible con todos los tamaños de partícula.

Además, la reproducibilidad entre lotes de estas columnas se ha mejorado mediante una serie de pruebas de garantía y control de calidad, lo que permite obtener resultados fiables a largo plazo para todos los análisis.

Especificaciones de columnas											
Fase ligada	Tamaño de poro	Superficie específica	Límites de temperatura	Rango de pH*	Desactivación	Carga de carbono					
ZORBAX Eclipse Plus C18	95 Å	160 m ² /g	60 °C	2,0-9,0	Doble	9%					
ZORBAX Eclipse Plus C8	95 Å	160 m ² /g	60 °C	2,0-9,0	Doble	7%					
ZORBAX Eclipse PAH	95 Å	160 m ² /g	60 °C	2,0-8,0	No	14%					
ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl	95 Å	160 m ² /g	60 °C	2,0-8,0	Doble	9%					

Las especificaciones solo representan los valores típicos.



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

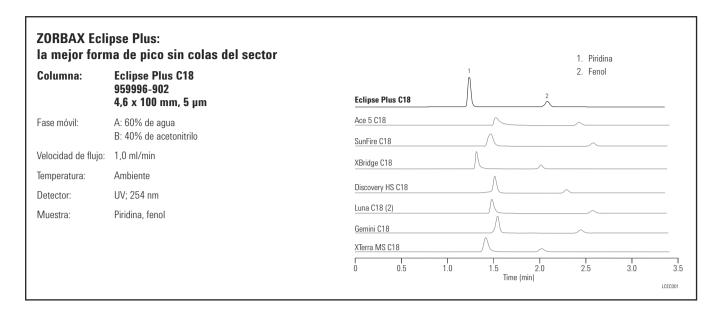
Las fases EC-C18, EC-C8 y Phenyl-Hexyl del sistema Poroshell 120 son muy similares a las fases Eclipse Plus C18, Eclipse Plus C8 y Eclipse Plus Phenyl-Hexyl.

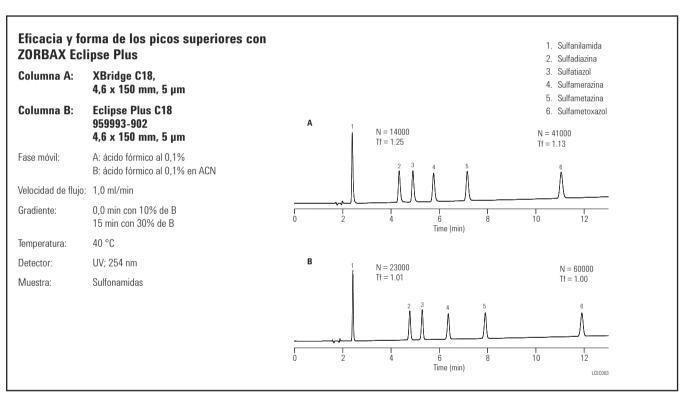
Para mas información, vaya a la página 228.





^{*}La vida útil de la columna se reducirá significativamente a un pH >7 y una temperatura de >40 °C. A un pH de 6 a 9 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, especialmente con tampones de fosfato y carbonato.





Eliminación de colas y resolución máxima con las columnas Eclipse Plus

Columna A: Eclipse Plus C18

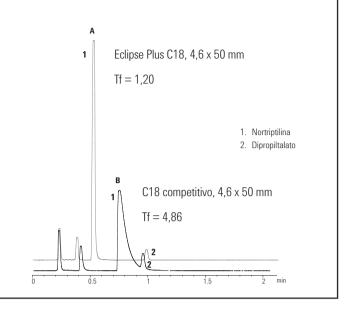
4,6 x 50 mm

Columna B: C18 competitivo

4,6 x 50 mm

Fase móvil: 65% de ACN:35% de tampón fosfato de 25 mM (pH 7,4)

La forma de pico superior y mejor selectividad con Eclipse Plus significa una mayor resolución, una cuantificación más fácil y mejores resultados en las separaciones.



Eclipse Plus C18 frente a C8

Columna A: Eclipse Plus C18

4,6 x 50 mm

Columna B: Eclipse Plus C8

4,6 x 50 mm

Fase móvil: Agua:acetonitrilo (30:70)

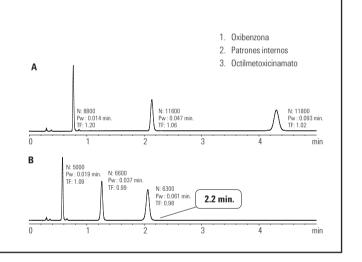
Velocidad de flujo: 2,0 ml/min Temperatura: 30 °C

Detector: UV, 230 nm

Muestra: Extracto de protector labial en ACN

(fundido a 100 °C, refrigerado y filtrado con filtro de 0,45 μ m)

Una menor retención puede suponer una importante reducción del tiempo; en este caso, la columna C8 es una buena opción.



Análisis rápido de un comprimido analgésico, diferencias de selectividad a pH 2 y pH 7

Columna: Eclipse Plus C8

959946-906 4,6 x 50 mm, 5 μm

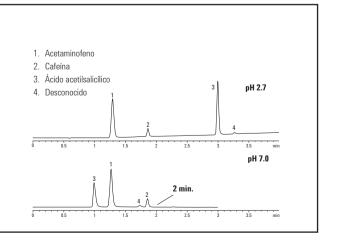
Gradiente: 10-60% de B/3 min

pH 2,7: A: ácido fórmico al 0,1% B: ácido fórmico al 0,1% en ACN

pH 7,0: A: fosfato de sodio 20 mM B: ACN

Muestra: Comprimido Excedrin genérico

Tanto Eclipse Plus C18 como C8 se pueden utilizar en un amplio rango de pH para optimizar la selectividad o el tiempo de análisis.



La capacidad de retención de Eclipse Plus C8 es menor que la de Eclipse Plus C18

Columna A: Eclipse Plus C8

959996-906

4,6 x 100 mm, 5 μm

Columna B: Eclipse Plus C18

959996-902

4,6 x 100 mm, 5 μm

Fase móvil: 80% metanol K₂HPO₄ 8 mM (total) pH 7

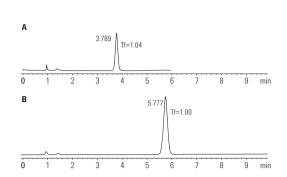
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: UV, 215 nm

Muestra: Amitriptilina 0,05 μg/μl (inyección 0,5 μl)

Una columna C8 normalmente se selecciona porque retiene menos que una columna C18, con lo que se reduce el tiempo de análisis.

La columna Eclipse Plus C8 muestra el mismo comportamiento con una forma de pico excelente en compuestos básicos difíciles.



Análisis rápido y ultrarrápido de compuestos básicos

Columna A: Eclipse Plus C18

959941-902

4,6 x 50 mm, 1,8 μm

Columna B: Eclipse Plus C18

959993-902

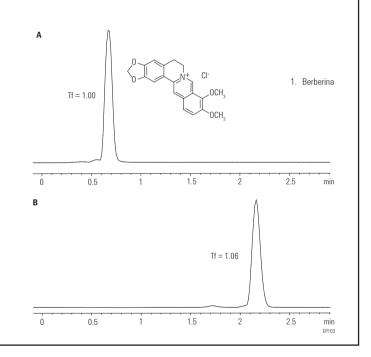
4,6 x 150 mm, 5 μm

Fase móvil: A: K_2HPO_4 8 mM al 50%, pH 7

B: ACN al 50%

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min
Temperatura: Ambiente
Detector: UV, 254 nm

Muestra: Berberina, 0,4 mg/ml, 2 µl







Columnas ZORBAX Eclipse Plus

COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS

ZORBAX Eclipse Plus

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Eclipse Plus C18 USP L1	Eclipse Plus C8 USP L7	Eclipse Plus Phenyl-Hexyl USP L11	Eclipse PAH USP L1
	Analítica	4,6 x 250	5	959990-902	959990-906	959990-912	959990-918
	Analítica	4,6 x 150	5	959993-902	959993-906	959993-912	959993-918
	Analítica	4,6 x 100	5	959996-902	959996-906	959996-912	959996-918
	Analítica	4,6 x 50	5	959946-902	959946-906		
	Resolución rápida	4,6 x 150	3,5	959963-902	959963-906	959963-912	959963-918
	Resolución rápida	4,6 x 100	3,5	959961-902	959961-906	959961-912	959961-918
	Resolución rápida	4,6 x 75	3,5	959933-902	959933-906	959933-912	
	Resolución rápida	4,6 x 50	3,5	959943-902	959943-906	959943-912	959943-918
	Resolución rápida	4,6 x 30	3,5	959936-902	959936-906	959936-912	
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 100	1,8	959964-902	959964-906	959964-912	959964-918
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 75	1,8	959951-902			
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 50	1,8	959941-902	959941-906	959941-912	959941-918
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 30	1,8	959931-902	959931-906	959931-912	959931-918
UG	Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq.	4,6 x 5	1,8	820750-901			
	Solvent Saver	3,0 x 250	5				959990-318
	Solvent Saver	3,0 x 150	5	959993-302	959993-306		
	Solvent Saver Plus	3,0 x 150	3,5	959963-302	959963-306	959963-312	
	Solvent Saver Plus	3,0 x 100	3,5	959961-302	959961-306	959961-312	
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 150	1,8	959759-302	959759-306		
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 100	1,8	959758-302	959758-306		
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 50	1,8	959757-302	959757-306		
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 100	1,8	959964-302	959964-306	959964-312	
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 50	1,8	959941-302	959941-306	959941-312	

(continuación)

Agilent HILIC Plus usa los mismos procesos de fabricación que la gama Eclipse Plus. Encontrará información sobre ZORBAX HILIC Plus en la página 324.

ZORBAX Eclipse Plus

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Eclipse Plus C18 USP L1	Eclipse Plus C8 USP L7	Eclipse Plus Phenyl-Hexyl USP L11	Eclipse PAH USP L1
(IC)	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	3,0 x 5	1,8	823750-901			
	Diámetro estrecho	2,1 x 250	5				959790-918
	Diámetro estrecho	2,1 x 150	5	959701-902	959701-906	959701-912	959701-918
	Diámetro estrecho	2,1 x 50	5	959746-902	959746-906		
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 150	3,5	959763-902	959763-906	959763-912	
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 100	3,5	959793-902	959793-906	959793-912	959793-918
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 50	3,5	959743-902	959743-906	959743-912	
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 30	3,5	959733-902	959733-906	959733-912	
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 150	1,8	959759-902	959759-906		
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 100	1,8	959758-902	959758-906		
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 50	1,8	959757-902	959757-906		
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 100	1,8	959764-902	959764-906	959764-912	959764-918
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 50	1,8	959741-902	959741-906	959741-912	959741-918
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 30	1,8	959731-902	959731-906	959731-912	
UG	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	2,1 x 5	1,8	821725-901			
മ്മ	Precolumnas, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-936	820950-937	820950-938	820950-939
600	Precolumnas, 4/paq.	2,1 x 12,5	5	821125-936	821125-937	821125-938	821125-939
2000	Kit de soporte de la precolumna			820999-901	820999-901	820999-901	820999-901



Columnas ZORBAX Eclipse PAH

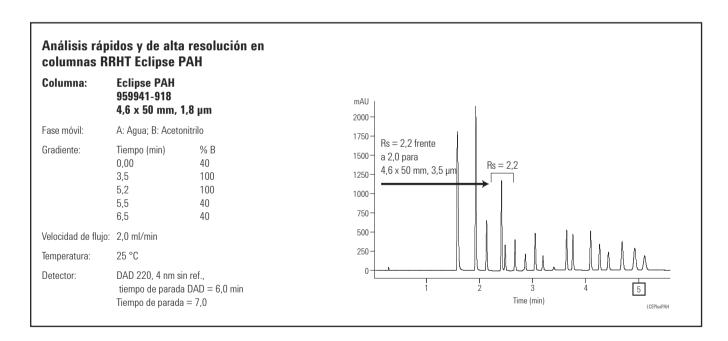
ZORBAX Eclipse PAH

- Separación de alta resolución de 16 PAH en método EPA 610.
- Una amplia variedad de tamaños de partícula (1,8; 3,5 y 5 μm) y tamaños para separaciones rápidas y de alta resolución.
- Cada lote de material está específicamente probado con PAH para garantizar la máxima reproducibilidad en las condiciones de trabajo previsibles.
- Excelente rendimiento utilizando la sílice de alta calidad mejorada de las columnas Eclipse Plus.
- Adecuadas para aplicaciones que requieran "selectividad de forma" o separación de isómeros geométricos.

Las columnas Agilent ZORBAX Eclipse PAH están recomendadas para la separación de hidrocarburos aromáticos policíclicos. Los PAH se consideran contaminantes prioritarios, y el análisis de estos compuestos potencialmente carcinógenos en el agua, el suelo y la comida es de vital importancia. Las columnas Eclipse PAH separan los 16 PAH del método EPA 610 con rapidez y alta resolución.

Especificaciones de columna	as					
Fase ligada	Tamaño de poro	Superficie específica	Límites de temperatura	Rango de pH	Desactivación	Carga de carbono
ZORBAX Eclipse PAH	95 Å	160 m ² /g	60 °C	2,0-8,0	No	14%

Las especificaciones solo representan los valores típicos.



ZORBAX Eclipse PAH

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Eclipse PAH USP L1
	Analítica	4,6 x 250	5	959990-918
	Analítica	4,6 x 150	5	959993-918
	Analítica	4,6 x 100	5	959996-918
	Resolución rápida	4,6 x 150	3,5	959963-918
	Resolución rápida	4,6 x 100	3,5	959961-918
	Resolución rápida	4,6 x 50	3,5	959943-918
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 100	1,8	959964-918
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 50	1,8	959941-918
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 30	1,8	959931-918
	Solvent Saver	3,0 x 250	5	959990-318
	Diámetro estrecho	2,1 x 250	5	959790-918
	Diámetro estrecho	2,1 x 150	5	959701-918
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 100	3,5	959793-918
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 100	1,8	959764-918
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 50	1,8	959741-918
200 9	Precolumnas, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-939
2009	Precolumnas, 4/paq.	2,1 x 12,5	5	821125-939
മ്മ	Kit de soporte de la precolumna			820999-901

Ligado extra denso y fase ligada de doble desactivación Eclipse XDB

ZORBAX Eclipse XDB

- Cuatro opciones de selectividad para la optimización del desarrollo de métodos.
- Buena forma de pico para compuestos básicos, ácidos y neutros.
- Alto rendimiento en un amplio rango de pH: pH de 2 a 9.
- Tamaños de partícula de 1,8 µm a 7 µm.
- Larga duración, con enlace extradenso y doble desactivación.

Las columnas Agilent ZORBAX Eclipse XDB (C18, C8, Phenyl y CN) proporcionan cuatro opciones de fase ligada para la optimización del desarrollo de métodos. Estas columnas proporcionan una buena forma de pico en un amplio rango de pH (de 2 a 9), para una flexibilidad adicional de desarrollo de métodos, con una misma familia de columnas. Las columnas Eclipse XDB se utilizan para el desarrollo de método a pH bajo (de 2 a 3), pudiéndose utilizar la misma columna para el desarrollo de métodos en la región de pH medio (de 6 a 8). En la región de pH medio, los silanoles residuales son más activos y es más probable que se produzcan colas por efecto de las interacciones. Para evitarlo, las columnas Eclipse XDB incorporan un ligado extradenso (eXtra Densely Bonded) y doble desactivación mediante un proceso propio para abarcar el mayor número posible de silanoles activos. El resultado: mejor forma de pico de compuestos básicos a pH de 2 a 9. Están disponibles tamaños de partículas de 1,8, 3,5, 5 y 7 µm para las columnas Eclipse XDB para separaciones de alta velocidad, alta resolución analíticas y de escala preparativas.

Especificaciones de columnas

Fase ligada	Tamaño de poro	Superficie específica	Límites de temperatura	Rango de pH*	Desactivación	Carga de carbono
ZORBAX Eclipse XDB-C18	80 Å	180 m²/g	60 °C	2,0-9,0	Doble	10%
ZORBAX Eclipse XDB-C8	80 Å	180 m²/g	60 °C	2,0-9,0	Doble	7,6%
ZORBAX Eclipse XDB-Phenyl	80 Å	180 m²/g	60 °C	2,0-9,0	Doble	7,2%
ZORBAX Eclipse XDB-CN	80 Å	180 m²/g	60 °C	2,0-8,0	Doble	4,3%

Las especificaciones solo representan los valores típicos.



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Poroshell 120 EC-CN es muy similar a ZORBAX XDB-CN. Para mas información, vaya a la página 228.

^{*}Las columnas Eclipse XDB se han diseñado para funcionar en un amplio rango de pH. A un pH de 6 a 9 se obtiene la mayor estabilidad de columna para las columnas con base de sílice si se trabaja a temperaturas <40 °C y se usan concentraciones menores de tampones en el rango de 0,01 a 0,02 M.

Forma de pico óptima en un amplio intervalo de pH con ZORBAX Eclipse XDB

Eclipse XDB-C8 Columna:

993967-906

4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: A: pH 3,0, 75% de tampón fosfato de 25 mM, 25% de ACN

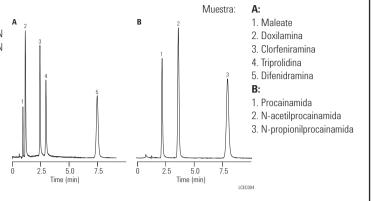
B: pH 7.0, 90% de tampón fosfato de 20 mM, 10% de ACN

Velocidad de

1.5 ml/min 40 °C Temperatura:

Las columnas ZORBAX Eclipse XDB proporcionan una buena forma de pico en un amplio rango de pH y son una excelente opción para

el desarrollo de métodos a pH de 2 a 9.



Pruebas de estabilidad de columnas a pH 3 y 60 °C

ZORBAX SB-C8 Columna:

883975-906

4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna: **Eclipse XDB-C8**

993967-906

4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: Condiciones de purga:

70% NaAc-HCI 50 mM, pH 3,0

30% ACN

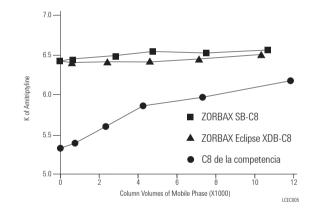
Condiciones de la prueba de retención:

65% metanol 35% agua

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Temperatura: 60 °C

Muestra: Antidepresivos tricíclicos



Las columnas Eclipse XDB son estables en un amplio rango de pH. A un pH bajo, una columna Eclipse desactivada es extremadamente baja y muestra una estabilidad equivalente a una columna no desactivada, SB-C8, a pH 3. Las columnas se purgaron con una fase móvil de pH 3 a 60 °C. A continuación, fueron sometidas a pruebas con compuestos básicos fuertes para determinar si la desactivación o la fase ligada habían sido hidrolizadas de la superficie de sílice. La columna Eclipse XDB resultó muy estable, como demuestra la uniformidad de la retención de amitriptilina en los 12.000 volúmenes de columna de la prueba. Otra columna desactivada muestra menos estabilidad en las mismas condiciones.

Pruebas de estabilidad de columnas a pH 7,0

Columna A: C8 de la competencia

Tipo SIL

Tras 1826 volúmenes de columna

Columna B: Eclipse XDB-C8

993967-906

4,6 x 150 mm, 5 μm

Tipo sol

Tras 1.843 volúmenes de columna

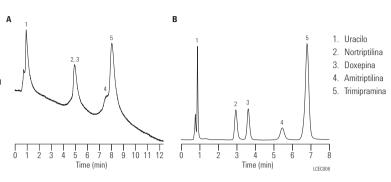
Fase móvil: 60% ACN

40% tampón fosfato 250 mM, pH 7,0

Velocidad de flujo: 1,5 ml/min

Temperatura: 60 °C

Muestra: Antidepresivos tricíclicos



La doble desactivación, el ligado denso y las duraderas partículas de Rx-Sil (tipo sol) se combinan para proporcionar una larga duración de la columna a pH 7 en comparación con las columnas tipo sil-gel de desactivación simple utilizadas aquí. Las condiciones utilizadas para esta prueba: alta temperatura (60 °C) y alta concentración salina (250 mM), aceleran la disolución de la sílice, lo que provoca un fallo prematuro de la columna de tipo sil-gel.

Cambios en la selectividad de compuestos básicos con Eclipse XDB y StableBond

Columna A: Eclipse XDB-C8

966967-906

4,6 x 75 mm, 3,5 µm

Columna B: ZORBAX Rx/SB-C8

866953-906

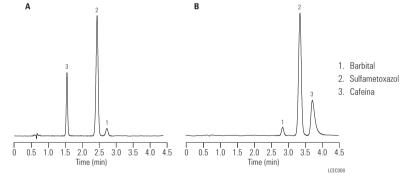
4,6 x 75 mm, 3,5 μm

Fase móvil: 70% 25 mM NaH₂PO₄, pH 3,0

30% metanol

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Temperatura: 35 °C



Las columnas Eclipse XDB y StableBond se basan en la misma sílice pero tienen un ligado y una desactivación diferentes. Eso hace que puedan tener una selectividad muy diferente para la misma muestra en las mismas condiciones, como ilustra este ejemplo.

Optimización de las separaciones con las opciones de selectividad de Eclipse XDB

Columna A: Eclipse XDB-Phenyl

963967-912

4.6 x 150 mm, 3,5 μm

Columna B: Eclipse XDB-C8

963967-906

4,6 x 150 mm, 3,5 µm

Columna C: Eclipse XDB-C18

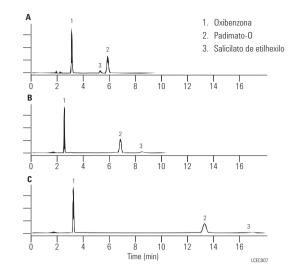
963967-902

4,6 x 150 mm, 3,5 µm

Fase móvil: 15% de H₂0:85% de MeOH

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min Temperatura: 35 °C

Muestra: Filtros solares



Esta separación de protectores solares en las tres fases ligadas Eclipse XDB (C18, C8 y Phenyl) muestra la posibilidad de utilizar diferentes fases ligadas para optimizar una separación. Si bien las tres fases ligadas proporcionan una separación adecuada, Eclipse XDB-Phenyl proporciona un orden de elución de los picos diferente y un tiempo global de análisis mucho más corto. Las tres fases ligadas ofrecen asimismo una excelente forma de pico sin necesidad de aditivos en la fase móvil.

Selectividad para pesticidas con urea

Columna A: Eclipse XDB-C18

993967-902

4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna B: Eclipse XDB-CN

993967-905

4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna C: Eclipse XDB-C18

993967-902

4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: A. 60:40 MeOH:agua

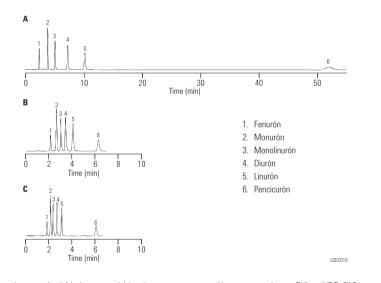
B. 60:40 MeOH:agua

C. 77:23 MeOH:agua

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Temperatura: 25 °C

Muestra: Pesticidas de urea



La columna Eclipse XDB-CN reduce el tiempo de retención y proporciona una buena selectividad para pesticidas de urea en comparación con una columna Eclipse XDB-C18.

ZORBAX Eclipse XDB

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Eclipse XDB-C18 USP L1	Eclipse XDB-C8 USP L7	Eclipse XDB-Phenyl USP L11	Eclipse XDB-CN USP L10
Columnas	estándar (no requieren hardware especial)	-					
	Semipreparativa	9,4 x 250	5	990967-202	990967-206		
	Analítica	4,6 x 250	5	990967-902	990967-906	990967-912	990967-905
	Analítica	4,6 x 150	5	993967-902	993967-906	993967-912	993967-905
	Analítica	4,6 x 50	5	946975-902	946975-906		
	Resolución rápida	4,6 x 150	3,5	963967-902	963967-906	963967-912	963967-905
	Resolución rápida	4,6 x 100	3,5	961967-902	961967-906		961967-905
	Resolución rápida	4,6 x 75	3,5	966967-902	966967-906	966967-912	966967-905
	Resolución rápida	4,6 x 50	3,5	935967-902	935967-906	935967-912	
	Resolución rápida	4,6 x 30	3,5	934967-902	934967-906		
	Resolución rápida	4,6 x 20	3,5	932967-902	932967-906		
UG	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	4,6 x 5	1,8	820750-903			
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 100	1,8	928975-902	928975-906		
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 50	1,8	927975-902	927975-906		
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 30	1,8	924975-902	924975-906		
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 20	1,8	926975-902	926975-906		
,	Solvent Saver	3,0 x 250	5	990967-302	990967-306	990967-312	990967-305
	Solvent Saver	3,0 x 150	5	993967-302	993967-306	993967-312	993967-305
	Solvent Saver Plus	3,0 x 150	3,5	963954-302	963954-306	963954-312	963954-305
	Solvent Saver Plus	3,0 x 100	3,5	961967-302	961967-306	961967-312	
	Solvent Saver Plus	3,0 x 75	3,5	966954-302			
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 150	1,8	981759-302			
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 100	1,8	981758-302			
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 50	1,8	981757-302			
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 100	1,8	928975-302	928975-306		
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 50	1,8	927975-302	927975-306		
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 30	1,8	924975-302	924975-306		
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 20	1,8	926975-302	926975-306		
UG	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	3,0 x 5	1,8	823750-903			
	Diámetro estrecho	2,1 x 150	5	993700-902	993700-906	993700-912	993700-905
	Diámetro estrecho	2,1 x 50	5	960967-902	960967-906	960967-912	960967-905
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 150	3,5	930990-902	930990-906		

El límite de presión de la columna es, a menos que se indique otra cosa, 400 bares.

(continuación)

^{*}Estas columnas se rellenan con Eclipse XDB-C18, 5 μm.

ZORBAX Eclipse XDB

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Eclipse XDB-C18 USP L1	Eclipse XDB-C8 USP L7	Eclipse XDB-Phenyl USP L11	Eclipse XDB-CN USP L10
Columnas	estándar (no requieren hardware especial)				-		
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 100	3,5	961753-902	961753-906		961753-905
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 75	3,5	966735-902			
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 50	3,5	971700-902	971700-906		
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 30	3,5	974700-902	974700-906		
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 20	3,5	972700-902	972700-906		
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 150	1,8	981759-902			
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 100	1,8	981758-902			
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 50	1,8	981757-902			
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 100	1,8	928700-902	928700-906		
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 50	1,8	927700-902	927700-906		
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 30	1,8	924700-902	924700-906		
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 20	1,8	926700-902	926700-906		
UG	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	2,1 x 5	1,8	821725-903			
	MicroBore RR	1,0 x 150	3,5	963600-902	963600-906		
	MicroBore RR	1,0 x 50	3,5	965600-902	965600-906		
	MicroBore RR	1,0 x 30	3,5	961600-902	961600-906		
	Precolumna MicroBore, 3/paq.	1,0 x 17	5	5185-5921	5185-5921		
P	Precolumna	9,4 x 15	5	820675-112*	820675-112*	820675-112*	820675-112
600	Precolumnas, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-925	820950-926	820950-927	820950-935
600	Precolumnas, 4/paq.	2,1 x 12,5	5	821125-926	821125-926	821125-926	821125-935
P	Kit de soporte de la precolumna			840140-901	840140-901	840140-901	840140-901
2009	Kit de soporte de la precolumna			820999-901	820999-901	820999-901	820999-901
Columnas	de cartucho PrepHT (requieren kit de conexio	nes 820400-90	1)				
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	977250-102	977250-106		
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	7	977150-102	977150-106		
<u> </u>	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	5	970150-902	970150-906		
lack	Cartucho PrepHT	21,2 x 100	5	970100-902	970100-906		
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 50	5	970050-902	970050-906		
<u> </u>	Pre-columna PrepHT	17,0 x 7,5	5	820212-925	820212-926		
A	Hardware de precolumna			820444-901	820444-901		
A	Conexione terminales PrepHT, 2/paq.			820400-901	820400-901		

El límite de presión de la columna es, a menos que se indique otra cosa, 400 bares.

^{*}Estas columnas se rellenan con Eclipse XDB-C18, 5 μm.

COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS

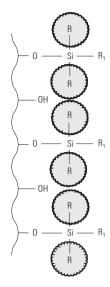
ZORBAX Eclipse XDB

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Eclipse XDB-C18 USP L1	Eclipse XDB-C8 USP L7
Columnas d	e cartucho de Agilent (requieren kit de soporte 5021-1845)				
Ą.	Analítica	4,6 x 250	5	7995118-585	7995108-585
A C	Analítica	4,6 x 150	5	7995118-595	7995108-595
AC	Resolución rápida	4,6 x 75	3,5	7995118-344	7995108-344
A C	Solvent Saver Plus	3,0 x 75	3,5	7995230-344	
A C	Precolumnas, 10/paq.	4,0 x 4	5	7995118-504	7995118-504
AC-	Soporte de cartucho			5021-1845	5021-1845
Columnas e	stándar (no requieren hardware especial)				
	HT de resolución rápida, 400 bares	4,6 x 50	1,8	922975-902	922975-906
	Resolución rápida HT, 3/paq., 400 bares	4,6 x 50	1,8	922975-932	
	Diámetro estrecho RRHT, 400 bares	2,1 x 50	1,8	922700-902	
	Diámetro estrecho RRHT, 3/paq., 400 bares	2,1 x 50	1,8	922700-932	
Cartuchos H	IT de resolución rápida (requieren kit de soporte 820555-901)				
RR	Cartucho de resolución rápida	4,6 x 30	3,5	933975-902	933975-906
RR	Cartucho de resolución rápida, 3/paq.	4,6 x 30	3,5	933975-932	933975-936
RR	Cartucho de resolución rápida	4,6 x 15	3,5	931975-902	931975-906
RB	Cartucho de resolución rápida, 3/paq.	4,6 x 15	3,5	931975-932	931975-936
RB	Cartucho de resolución rápida	2,1 x 30	3,5	973700-902	973700-906
RR	Cartucho de resolución rápida, 3/paq.	2,1 x 30	3,5	973700-932	973700-936
RIB	Cartucho de resolución rápida	2,1 x 15	3,5	975700-902	975700-906
RB	Cartucho de resolución rápida, 3/paq.	2,1 x 15	3,5	975700-932	975700-936
RR	Cartucho de resolución rápida HT, 400 bares	4,6 x 50	1,8	925975-902	
₹B	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq., 400 bares	4,6 x 50	1,8	925975-932	
RB	Cartucho HT de resolución rápida, 400 bares	4,6 x 30	1,8	923975-902	
- RB	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq., 400 bares	4,6 x 30	1,8	923975-932	

(continuación)

ZORBAX Eclipse XDB

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Eclipse XDB-C18 USP L1	Eclipse XDB-C8 USP L7
Cartuchos I	IT de resolución rápida (requieren kit de soporte 820555-901)				
RIP.	Cartucho de resolución rápida HT, 400 bares	4,6 x 15	1,8	921975-902	
RB	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq., 400 bares	4,6 x 15	1,8	921975-932	
- B	Cartucho HT de resolución rápida, 400 bares	2,1 x 50	1,8	925700-902	
RR	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq., 400 bares	2,1 x 50	1,8	925700-932	
RR	Cartucho de resolución rápida HT, 400 bares	2,1 x 30	1,8	923700-902	
RR	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq., 400 bares	2,1 x 30	1,8	923700-932	
RR	Cartucho de resolución rápida HT, 400 bares	2,1 x 15	1,8	921700-902	
RR	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq., 400 bares	2,1 x 15	1,8	921700-932	
RR	Kit de hardware para cartuchos RR y RRHT			820555-901	
Columnas c	apilares forradas de vidrio				
	Capilar	0,5 x 250	5	5064-8286	
	Capilar	0,5 x 150	5	5064-8287	
	Capilar RR	0,5 x 150	3,5	5064-8288	
	Capilar RR	0,5 x 35	3,5	5064-8298	
	Capilar	0,3 x 250	5	5064-8269	
	Capilar	0,3 x 150	5	5064-8291	
	Capilar RR	0,3 x 150	3,5	5064-8271	
	Capilar	0,5 x 35	5	5064-8296	
	Capilar	0,3 x 35	5	5064-8297	



Fase ligada StableBond protegida estéricamente

ZORBAX StableBond de 80 Å

- Máxima duración y mejor reproducibilidad en separaciones a bajo pH: hasta pH 1.
- El relleno químico de columna, estable y patentado, permite el uso a temperaturas elevadas y pH bajo sin degradación.
- Seis fases ligadas diferentes proporcionan una amplia selectividad: SB-C18, SB-C8, SB-CN, SB Fenilo, SB-C3, SB-Aq.
- Sílice de alta pureza (tipo B) para una forma de pico óptima.

Las columnas Agilent ZORBAX StableBond utilizan exclusivos silanos no funcionales patentados con voluminosas cadenas laterales de tipo diisobutilo (SB-C18) o diisopropilo (SB-C8, SB-C3, SB Fenilo, SB-CN y SB-Aq) que protegen estéricamente los enlaces siloxano clave del ataque hidrolítico a bajo pH. Los materiales de relleno StableBond no están desactivados para así ofrecer una estabilidad excepcional y maximizar la vida útil y la reproducibilidad bajo condiciones de fase móvil ácida. La sílice de alta pureza y baja acidez proporciona una forma de pico excelente con compuestos ácidos, básicos y neutros, de forma que las columnas StableBond son una opción excelente para el desarrollo de métodos de bajo pH. Las columnas ZORBAX StableBond son compatibles con todas las fases móviles habituales, incluidas las fases móviles muy acuosas.

Especificaciones de colum	Especificaciones de columnas									
Fase ligada	Tamaño de poro	Superficie específica	Límites de temperatura*	Rango de pH*	Desactivación	Carga de carbono				
ZORBAX SB-C18	80 Å	180 m²/g	90 °C	0,8-8,0	No	10%				
ZORBAX SB-C8	80 Å	180 m²/g	80 °C	1,0-8,0	No	5,5%				
ZORBAX SB-C3	80 Å	180 m²/g	80 °C	1,0-8,0	No	4%				
ZORBAX SB-Phenyl	80 Å	180 m²/g	80 °C	1,0-8,0	No	5,5%				
ZORBAX SB-CN	80 Å	180 m²/g	80 °C	1,0-8,0	No	4%				
ZORBAX SB-Aq	80 Å	180 m ² /g	80 °C	1,0-8,0	No	propia				

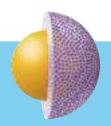
Las especificaciones solo representan los valores típicos.

*Las columnas StableBond 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 un pH de rango medio se recomienda usar Eclipse Plus, Eclipse XDB y Bonus-RP.



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Las fases ZORBAX StableBond SB-C18, SB-C8 y SB-Aq también están disponibles en el sistema Poroshell 120. Para mas información, vaya a la página 228.



StableBond SB-C18 muestra una excelente estabilidad con un nivel de pH bajo y a temperaturas altas (pH 0,8, 90 °C)

ZORBAX SB-C18 Columna:

883975-902

4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna: **ZORBAX Rx-C18**

883967-902

4,6 x 150 mm, 5 µm

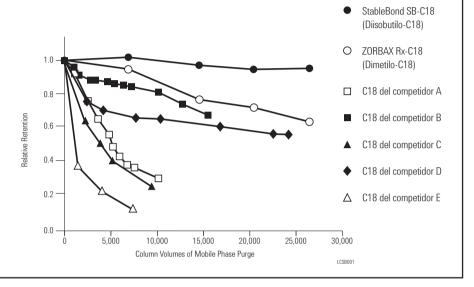
Fase móvil: 50% metanol/50% agua

con TFA al 1.0%

Soluto de prueba: Tolueno

Temperatura: 90 °C

Como indicador de la rotura de la columna, se midió el tiempo de retención del tolueno después de purgar la columna con fase móvil. Solo la columna StableBond SB-C18 permanece sin cambios después de tres meses de trabajo en estas condiciones de nivel de pH muy bajo (0,8) y temperatura alta (90 °C). ZORBAX Rx-C18 también proporciona una matriz estable y se puede usar como selectividad alternativa a StableBond SB-C18.



Estabilidad de ZORBAX SB-CN de cadena corta con un nivel de pH bajo (pH 2,0, 50 °C)

ZORBAX SB-CN Columna:

883975-905

4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: TFA al 0,1%, pH 2:ACN

Velocidad de flujo: 1 ml/min 0-100% ACN Gradiente:

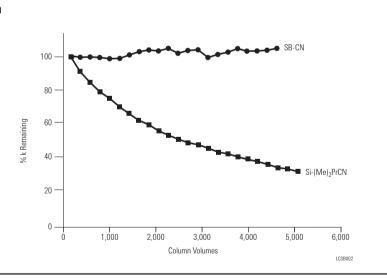
Temperatura: 50 °C

1-fenilheptano al 50% de AC/50% de agua Muestra:

con 0,1% de TFA

ZORBAX StableBond SB-CN y otras fases ligadas StableBond de cadena corta también resultan excepcionalmente estables a un pH bajo. CN dimetílico convencional y otras fases ligadas no presentan esta

estabilidad.



SB-CN para optimizar la retención y la resolución

ZORBAX SB-C18 Columna A:

866953-902

4,6 x 75 mm, 3,5 µm

ZORBAX SB-CN Columna B:

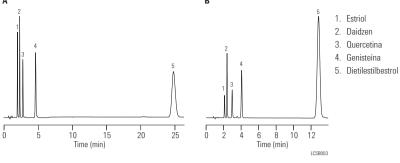
866953-905

4,6 x 75 mm, 3,5 µm

Fase móvil:

70% 25mM NaH₂PO₄, pH 2,5

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



La columna SB-CN se utiliza aquí para reducir el tiempo de análisis un 50%. La retención del analito más hidrófobo se reduce a la mitad. Al mismo tiempo, la retención de los picos más polares de elución temprana aumenta ligeramente.

Cinco fases ligadas distintas para proporcionar varias opciones de selectividad

Columna A: **ZORBAX SB-C18**

883975-902

4.6 x 150 mm, 5 um

Columna B: **ZORBAX SB-C8**

883975-906

4,6 x 150 mm, 5 µm

ZORBAX SB-C3 Columna C:

883975-909

4,6 x 150 mm, 5 µm

ZORBAX SB-Phenyl Columna D:

883975-912

4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna E: **ZORBAX SB-CN**

883975-905

4,6 x 150 mm, 5 µm

0-100% B en 18,8 min Fase móvil:

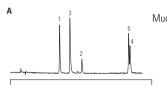
A: NaH_2PO_4 50 mM, pH 2,5 en 95% H_2O / 5% ACN

B: NaH₂PO₄ 50 mM, pH 2,5 en 47% H₂O / 53% ACN

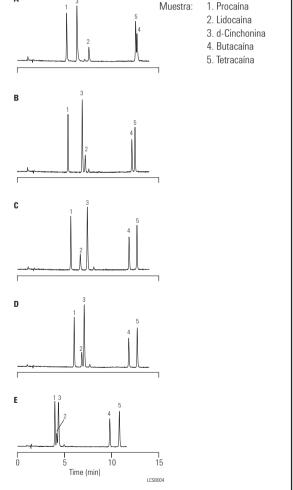
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min Temperatura: 26 °C

Detector: 254 nm

SB-C3 es tan sólo una de las cinco opciones diferentes de selectividad de StableBond. En este ejemplo, se logra una resolución óptima con SB-C3. Todas están basadas en la misma Rx-SIL de alta pureza. Las diferencias de selectividad dependen por tanto únicamente de las fases ligadas, lo que aporta mayor fiabilidad al desarrollo de métodos.



1. Procaína



ZORBAX StableBond de 80 Å

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7	SB-CN USP L10	SB-C3 USP L56	SB Fenilo USP L11	SB-Aq
Columnas e	estándar (no requieren hard	ware especial)							
	Semipreparativa	9,4 x 250	5	880975-202	880967-201	880975-205	880975-209	880975-212	
	Semipreparativa	9,4 x 150	5	883975-202					
	Semipreparativa	9,4 x 100	5	884975-202					
	Semipreparativa	9,4 x 50	5	846975-202					
	Analítica	4,6 x 250	5	880975-902	880975-906	880975-905	880975-909	880975-912	880975-914
	Analítica	4,6 x 150	5	883975-902	883975-906	883975-905	883975-909	883975-912	883975-914
	Analítica	4,6 x 50	5	846975-902	846975-906				846975-914
	Resolución rápida	4,6 x 250	3,5	884950-567					
	Resolución rápida	4,6 x 150	3,5	863953-902	863953-906	863953-905		863953-912	863953-914
	Resolución rápida	4,6 x 100	3,5	861953-902	861953-906	861953-905		861953-912	861953-914
	Resolución rápida	4,6 x 75	3,5	866953-902	866953-906	866953-905		866953-912	866953-914
	Resolución rápida	4,6 x 50	3,5	835975-902	835975-906	835975-905		835975-912	835975-914
	Resolución rápida	4,6 x 30	3,5	834975-902	834975-906				
	Resolución rápida	4,6 x 20	3,5	832975-902	832975-906				
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 150	1,8	829975-902	829975-906	829975-905		829975-912	829975-914
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 100	1,8	828975-902	828975-906	828975-905		828975-912	828975-914
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 75	1,8		830975-906				
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 50	1,8	827975-902	827975-906	827975-905		827975-912	827975-914
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 × 30	1,8	824975-902	824975-906	824975-905		824975-912	824975-914
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 20	1,8	826975-902	826975-906				
UG-	Precolumnas para UHPLC, 600 bares, 3/paq.	4,6 x 5	1,8	820750-902	820750-904				
	Solvent Saver	3,0 x 250	5	880975-302	880975-306	880975-305	880975-309	880975-312	880975-314
	Solvent Saver	3,0 x 150	5	883975-302	883975-306	883975-305	883975-309	883975-312	883975-314
	Solvent Saver Plus	3,0 x 150	3,5	863954-302	863954-306	863954-305		863954-312	863954-314
	Solvent Saver Plus	3,0 x 100	3,5	861954-302	861954-306	861954-305	861954-309	861954-312	861954-314
-	Solvent Saver Plus	3,0 x 75	3,5	866953-302					

El límite de presión de la columna es, a menos que se indique otra cosa, 400 bares.

(continuación)

COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS

ZORBAX StableBond de 80 Å

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7	SB-CN USP L10	SB-C3 USP L56	SB Fenilo USP L11	SB-Aq
Columnas	estándar (no requieren hardv	vare especial)							
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 150	1,8	859700-302	859700-306				
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 100	1,8	858700-302	858700-306	858700-305		858700-312	
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 50	1,8	857700-302	857700-306	857700-305		857700-312	
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 150	1,8	829975-302	829975-306	829975-305		829975-312	
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 100	1,8	828975-302	828975-306	828975-305	828975-309	828975-312	828975-314
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 50	1,8	827975-302	827975-306	827975-305			
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 30	1,8	824975-302	824975-306	824975-305		827975-312	827975-314
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 20	1,8	826975-302	826975-306				
UG	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	3,0 x 5	1,8	823750-902	823750-904				
	Diámetro estrecho	2,1 x 150	5	883700-922	883700-906	883700-905	883700-909	883700-912	
	Diámetro estrecho	2,1 x 50	5	860975-902	860975-906	860975-905	860975-909	860975-912	860975-914
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 150	3,5	830990-902	830990-906				830990-914
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 100	3,5	861753-902	861753-906	861753-905		861753-912	861753-914
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 75	3,5	866735-902					
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 50	3,5	871700-902	871700-906				871700-914
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 30	3,5	874700-902	874700-906				
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 20	3,5	872700-902	872700-906				
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 150	1,8	859700-902	859700-906	859700-905		859700-912	
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 100	1,8	858700-902	858700-906	858700-905		858700-912	
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 50	1,8	857700-902	857700-906	857700-905		857700-912	

El límite de presión de la columna es, a menos que se indique otra cosa, 400 bares.

(continuación)

ZORBAX StableBond de 80 Å

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7	SB-CN USP L10	SB-C3 USP L56	SB Fenilo USP L11	SB-Aq
Columnas	estándar (no requieren haro	lware especi	al)						
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 150	1,8	820700-902	820700-906	820700-905		820700-912	
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 100	1,8	828700-902	828700-906	828700-905		828700-912	828700-914
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 50	1,8	827700-902	827700-906	827700-905		827700-912	827700-914
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 30	1,8	824700-902	824700-906	824700-905		824700-912	824700-914
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 20	1,8	826700-902	826700-906				
UG	Precolumnas para UHPLC, 1200 bares, 3/paq.	2,1 x 5	1,8	821725-902	821725-904				
	MicroBore RR	1,0 x 150	3,5	863600-902	863600-906	863600-905			
	MicroBore RR	1,0 x 50	3,5	865600-902	865600-906				
	MicroBore RR	1,0 x 30	3,5	861600-902	861600-906		-		
	Precolumna MicroBore, 3/paq.	1,0 x 17	5	5185-5920	5185-5920				
P	Precolumna, 2/paq.	9,4 x 15	7	820675-115	820675-115	820675-124	820675-124	820675-115	
œ	Precolumna, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-920	820950-915	820950-916	820950-922	820950-917	820950-933
അ	Precolumna, 4/paq.	2,1 x 12,5	5	821125-915	821125-915	821125-924	821125-924	821125-915	821125-933
P	Kit de soporte de la precolumna	9,4 x 15	0	840140-901	840140-901	840140-901	840140-901	840140-901	
æ	Kit de soporte de la precolumna			820999-901	820999-901	820999-901	820999-901	820999-901	820999-901
Columnas	de cartucho PrepHT (requie	ren kit de coı	nexiones 82040	0-901)					
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	877250-102	877250-106	877250-105		877250-112	877250-114
<u>A</u> L	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	7	877150-102	877150-106				877150-114
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	5	870150-902	870150-906				870150-914
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 100	5	870100-902	870100-906				870100-914
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 50	5	870050-902	870050-906				870050-914
<u>A</u>	Precolumna PrepHT, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-920	820212-915	820212-915		820212-915	820212-933
	Hardware de precolumna			820444-901	820444-901	820444-901	820444-901	820444-901	820444-901
	Conexione terminales PrepHT, 2/paq.			820400-901	820400-901	820400-901	820400-901	820400-901	820400-901

El límite de presión de la columna es, a menos que se indique otra cosa, 400 bares.

COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS

ZORBAX StableBond de 80 Å

Hardwai	re Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7	SB Fenilo USP L11
Columna	s de cartucho de Agilent (requieren kit de soporte 5	021-1845)				
AC-	Analítica	4,6 x 250	5	7995218-585	7995208-585	
Ac-	Analítica	4,6 x 150	5	7995218-595	7995208-595	
•	Resolución rápida	4,6 x 75	3,5	7995218-344	7995208-344	
Ac-	Precolumnas, 10/paq.	4,0 × 4	5	7995118-504	7995118-504	
Ac-	Soporte de cartucho			5021-1845	5021-1845	
Columna	s estándar (no requieren hardware especial)					
	Resolución rápida HT	4,6 x 50	1,8	822975-902	822975-906	
	Resolución rápida HT, 3/paq.	4,6 x 50	1,8	822975-932		
	Diámetro estrecho RRHT	2,1 x 50	1,8	822700-902		
	Diámetro estrecho RRHT, 3/paq.	2,1 x 50	1,8	822700-932		
Cartucho	s de resolución rápida (requieren kit de soporte 820	555-901)				
RB	Cartucho de resolución rápida	4,6 x 30	3,5	833975-902	833975-906	833975-912
RB	Cartucho de resolución rápida, 3/paq.	4,6 x 30	3,5	833975-932	833975-936	
RB	Cartucho de resolución rápida	4,6 x 15	3,5	831975-902	831975-906	
(B)	Cartucho de resolución rápida, 3/paq.	4,6 x 15	3,5	831975-932	831975-936	
RP	Cartucho de resolución rápida	2,1 x 30	3,5	873700-902	873700-906	
RR	Cartucho de resolución rápida, 3/paq.	2,1 x 30	3,5	873700-932	873700-936	
RB	Cartucho de resolución rápida	2,1 x 15	3,5	875700-902	875700-906	
RP	Cartucho de resolución rápida, 3/paq.	2,1 x 15	3,5	875700-932	875700-936	
Cartucho	s HT de resolución rápida (requieren kit de soporte	820555-901)				
RB	Cartucho de resolución rápida HT	4,6 x 50	1,8	825975-902		
RP	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq.	4,6 x 50	1,8	825975-932		
RP	Cartucho de resolución rápida HT	4,6 x 30	1,8	823975-902		
RP	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq.	4,6 x 30	1,8	823975-932		
RP	Cartucho de resolución rápida HT	4,6 x 15	1,8	821975-902		
RP	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq.	4,6 x 15	1,8	821975-932		
RP	Cartucho de resolución rápida HT	2,1 x 50	1,8	825700-902		
€B	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq.	2,1 x 50	1,8	825700-932		
(IB	Cartucho de resolución rápida HT	2,1 x 30	1,8	823700-902		
Œ	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq.	2,1 x 30	1,8	823700-932		
(IP	Cartucho de resolución rápida HT	2,1 x 15	1,8	821700-902		
(IB	Cartucho de resolución rápida HT, 3/paq.	2,1 x 15	1,8	821700-932		
RIF	Kit de hardware para cartuchos RR y RRHT			820555-901		

ZORBAX StableBond de 80 Å

Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	SB-C18 USP L1
Columnas capilares forradas de vidrio			
Capilar	0,5 x 250	5	5064-8258
Capilar	0,5 x 150	5	5064-8256
Capilar	0,5 x 35	5	5064-8254
Capilar RR	0,5 x 150	3,5	5064-8262
Capilar RR	0,5 x 35	3,5	5064-8260
Capilar	0,3 x 250	5	5064-8257
Capilar	0,3 x 150	5	5064-8255
Capilar	0,3 x 35	5	5064-8253
Capilar RR	0,3 x 150	3,5	5064-8261

LC Y LC/MS

ZORBAX Rx

- Se recomienda como alternativa de selectividad a bajo pH con respecto a Eclipse Plus C18, Eclipse XDB-C18 y StableBond SB-C18; para aplicaciones a mayor temperatura, la fase recomendada es StableBond.
- Mayor carga de carbono que las columnas SB-C18 (12% frente a 10%).

80 °C

1,0-8,0

- Alta estabilidad y una buena forma de pico para aplicaciones a pH bajo (hasta pH 8).
- Se fabrica utilizando dimetiloctadecilsilano y no está desactivada.
- ZORBAX Rx-C8 es el mismo producto que SB-C8.

Especificaciones de columnas Tamaño de **Superficie** Límites de Carga de Fase ligada específica temperatura Rango de pH* Desactivación carbono poro ZORBAX Rx-C18 80 Å 180 m²/g 60 °C 2,0-8,0 No 12%

Las especificaciones solo representan los valores típicos.

ZORBAX Rx-C8

180 m²/g

Análisis de diazepam en Rx-C18

Columna: ZORBAX Rx-C18

880967-302 3,0 x 250 mm, 5 µm

35% de H₂0:65% de MeOH

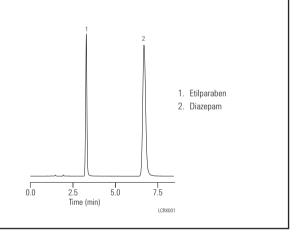
3,0 λ 230 mm, 5 μm

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

Fase móvil:

Se utiliza una columna Rx-C18 para este análisis USP de diazepam y etilparabeno de patrón interno. La columna Rx-C18 Solvent Saver de $3.0\,\mathrm{mm}$ de d.i. reduce el uso de disolventes en un 60% con respecto a la cantidad que se usaría si el análisis se hiciera en una columna de $4.6\times250\,\mathrm{mm}$.

80 Å



No

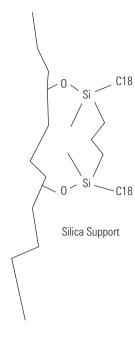
5,5%

^{*}A un pH de 6 a 9 se obtiene la mayor estabilidad de columna para todas las columnas con base de sílice si se trabaja a temperaturas <40 °C y se usan concentraciones menores de tampones en el rango de 0,01 a 0,02 M.

ZORBAX Rx

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Rx-C18 USP L1	Rx-C8 USP L7*
	Semipreparativa	9,4 x 250	5	880967-202	880967-201
	Analítica	4,6 x 250	5	880967-902	880967-901
	Analítica	4,6 x 150	5	883967-902	883967-901
	Resolución rápida	4,6 x 150	3,5	863967-902	
	Resolución rápida	4,6 x 100	3,5	861967-902	
	Resolución rápida	4,6 x 75	3,5	866967-902	
	Solvent Saver	3,0 x 250	5	880967-302	
	Solvent Saver	3,0 x 150	5	883967-302	
	Solvent Saver Plus	3,0 x 150	3,5	863967-302	
	Solvent Saver Plus	3,0 x 100	3,5	861967-302	
	Diámetro estrecho	2,1 x 150	5	883700-902	
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 100	3,5	861767-902	
P	Precolumna, 2/paq.	9,4 x 15	7	820675-115	820675-115
660	Precolumna, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-914	820950-913
200 9	Precolumna, 4/paq.	2,1 x 12,5	5	821125-915	821125-915
P	Kit de soporte de la precolumna	9,4 x 15		840140-901	840140-901
600	Kit de soporte de la precolumna			820999-901	820999-901
Columnas	de cartucho PrepHT (requieren k	it de conexion	es 820400-901)		
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	877967-102	877250-106
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	7		877150-106
<u> </u>	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	5		870150-906
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 100	5		870100-906
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 50	5		870050-906
<u>A</u>	Precolumna PrepHT, 2/paq.		5	820212-914	820212-915
A	Hardware de precolumna			820444-901	820444-901
A	Conexione terminales PrepHT, 2/p	aq.		820400-901	820400-901

^{*}Rx-C8 es el mismo producto que SB-C8. Para obtener información sobre otros tamaños y configuraciones, consulte la sección ZORBAX StableBond, en la página 264.



ZORBAX Extend-C18 de 80 Å

- Alta eficiencia y larga duración a pH alto (hasta pH 11,5).
- La unión exclusiva bidentada y doble desactivación que proporciona gran estabilidad a pH alto.
- Más eficiencia y mejor forma de pico que las columnas basadas en polímeros.
- Mejora la retención, la resolución y la forma de pico de compuestos básicos.
- Alta sensibilidad para separaciones LC/MS de péptidos.

La columna ZORBAX Extend-C18 de Agilent utiliza una novedosa tecnología de unión C18-C18 bidentada para conseguir separaciones de alta resolución a un pH alto con una columna basada en sílice. Los compuestos básicos no cargados con un pH alto no interactuarán con la sílice subyacente. El resultado es una gran eficiencia en las separaciones, con una mejor forma de pico y resolución mejorada. Las separaciones a alto pH son también la mejor elección para compuestos más estables o más solubles en soluciones con pH alto. Algunas de las opciones de tampón para la fase móvil para pH alto, incluyen trietilamina, pirrolidina, glicina, borato e hidróxido amónico. El hidróxido amónico con pH 10,5 es un modificador de la fase móvil excelente para LC/MS de péptidos y pequeñas moléculas con sensibilidad mejorada comparada con TFA, que contiene la fase móvil a un pH bajo. La columna Extend-C18 es estable desde pH 2 hasta 11,5 con una forma de pico óptima pata todos los tipos de compuestos. Las columnas Extend-C18 también disponen de opciones de selectividad adicionales a un pH bajo.

Especificaciones de columnas Superficie es-Límites de Carga de Fase ligada Tamaño de poro Rango de pH** Desactivación pecífica temperatura* carbono 80 Å ZORBAX Extend-C18 180 m²/g 60°C 2.0-11.5 Doble 12.5%

Las especificaciones solo representan los valores típicos.

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS



Utilice siempre lámparas certificadas por Agilent para obtener el mejor rendimiento de su sistema de LC

Las lámparas de detectores de Agilent están fabricadas según las especificaciones y normas de calidad más estrictas. Están diseñadas para aumentar la intensidad de la luz y reducir el ruido con el fin de mejorar los resultados cromatográficos. Agilent prueba sus lámparas rigurosamente para lograr la menor variabilidad de una lámpara a otra. Confíe en las lámparas de Agilent por su mayor solidez, mayor duración y menor coste de mantenimiento. Para obtener más información, visite

www.agilent.com/chem/lamps



^{*}Límites de temperatura: 60 °C hasta pH 8, 40 °C a partir de pH 8-11,5.

^{**}A un pH superior a 6 se obtiene la mayor estabilidad de columna para todas las columnas con base de sílice si se reduce la temperatura de funcionamiento a 40 °C o menos, y se usan concentraciones menores de tampón (0,01 a 0,02 M) o tampones orgánicos.

Antihistamínicos básicos en Extend-C18 con niveles de pH altos

Columna: ZORBAX Extend-C18

773450-902 4,6 x 150 mm, 5 μm

Fase móvil: pH 7

30% de 20 mM de Na₂HPO₄, 70% de MeOH

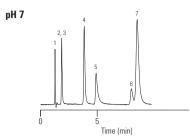
pH 11:

30% de 20 mM de TEA, 70% de MeOH

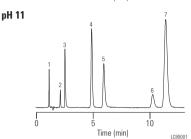
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min
Temperatura: Ambiente
Detector: 254 nm

Muestra: Antihistamínicos

La pseudoefedrina y la escopolamina son difíciles de retener a pH bajo y medio. La pseudoefedrina se analiza frecuentemente mediante métodos de intercambio iónico. La columna Extend-C18 retiene estos compuestos en una forma no cargada a pH alto y mejora la resolución.



- 1. Maleate
- 2. Escopolamina
- 3. Pseudoefedrina
- 4. Doxilamina
- Clorfeniramina
 Triprolidina
- 7. Difenidramina



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

Columna: ZORBAX Extend-C18

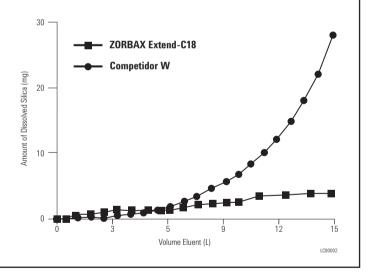
773450-902 4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: 20% de metanol

80% de tampón de carbonato 0,1 M, pH 10,0

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min Temperatura: Ambiente

A pH alto, las columnas fallarán debido a la disolución de la sílice. Este ejemplo muestra una mayor duración de la columna ZORBAX Extend-C18 a pH alto en comparación con la columna del competidor W. La duración se midió en base a la cantidad de sílice disuelta.



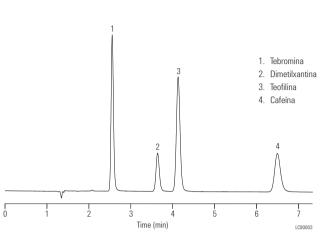
Forma de pico óptima en Extend-C18 con niveles de pH bajos Columna: **ZORBAX Extend-C18** 773450-902 4,6 x 150 mm, 5 μm 80% 25 mM NaH₂PO₄, pH 3,0 Fase móvil: 20% metanol Velocidad de flujo: 1,0 ml/min Temperatura: 35 °C

UV; 254 nm Muestra: Compuestos básicos

Estos compuestos básicos se separan en la Extend-C18 a pH bajo con una excelente forma de pico. La columna Extend-C18 puede utilizarse a pH

alto y bajo.

Detector:



ZORBAX Extend-C18 de 80 Å

Hardware	e Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Extend-C18 USP L1
Columnas	estándar (no requieren hardware espe	cial)		
	Analítica	4,6 x 250	5	770450-902
	Analítica	4,6 x 150	5	773450-902
	Analítica	4,6 x 50	5	746450-902
	Resolución rápida	4,6 x 150	3,5	763953-902
	Resolución rápida	4,6 x 100	3,5	764953-902
	Resolución rápida	4,6 x 75	3,5	766953-902
	Resolución rápida	4,6 x 50	3,5	735953-902
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 100	1,8	728975-902
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 50	1,8	727975-902
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 30	1,8	724975-902
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 20	1,8	726975-902
	Solvent Saver	3,0 x 250	5	770450-302
	Solvent Saver	3,0 x 150	5	773450-302
	Solvent Saver Plus	3,0 x 150	3,5	763954-302
	Solvent Saver Plus	3,0 x 100	3,5	764953-302
	Solvent Saver Plus	3,0 x 50	3,5	735954-302
FLV S I	27 1 1 1 1 2	. 4001		

El límite de presión de la columna es, a menos que se indique otra cosa, 400 bares.

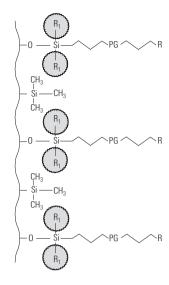
(continuación)

ZORBAX Extend-C18 de 80 Å

Hardward	e Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Extend-C18 USP L1
Columnas	estándar (no requieren hardware especia	ıl)		
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 100	1,8	758700-302
	Solvent Saver RRHD, 1200 bares	3,0 x 50	1,8	757700-302
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 100	1,8	728975-302
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 50	1,8	727975-302
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 30	1,8	724975-302
	Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 20	1,8	726975-302
	Diámetro estrecho	2,1 x 150	5	773700-902
	Diámetro estrecho	2,1 x 50	5	760450-902
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 100	3,5	761753-902
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 50	3,5	735700-902
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 150	1,8	759700-902
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 100	1,8	758700-902
	Diámetro estrecho RRHD, 1200 bares	2,1 x 50	1,8	757700-902
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 100	1,8	728700-902
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 50	1,8	727700-902
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 30	1,8	724700-902
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 20	1,8	726700-902
	MicroBore RR	1,0 x 150	3,5	763600-902
	MicroBore RR	1,0 x 50	3,5	765600-902
	MicroBore RR	1,0 x 30	3,5	761600-902
	Precolumna MicroBore, 3/paq.	1,0 x 17	5	5185-5923
æ	Precolumna, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-930
æ	Precolumna, 4/paq.	2,1 x 12,5	5	821125-930
അ	Kit de soporte de la precolumna			820999-901
Columnas	de cartucho PrepHT (requieren kit de con	exiones 820400-9	01)	
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	5	770150-902
A	PrepHT	21,2 x 100	5	770100-902
A	PrepHT	21,2 x 50	5	770050-902
A	Conexione terminales PrepHT, 2/paq.			820400-901
A	Precolumna PrepHT, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-930
	Hardware de precolumna			820444-901

El límite de presión de la columna es, a menos que se indique otra cosa, 400 bares.

COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS



Exclusiva fase ligada alquílica polar Bonus-RP

ZORBAX Bonus-RP

- Excelente forma de pico para compuestos básicos complicados a pH bajo y medio
- Selectividad de fase reversa única
- Nueva tecnología de ligado con grupo polar incluido y protección estérica
- Utilizable en fases móviles 100% acuosas

La columna ZORBAX Bonus-RP de Agilent tiene un grupo amida polar incluido dentro de una cadena alquílica larga. Este novedoso enlace reduce las interacciones entre los compuestos básicos y el soporte de sílice, con lo que se mejora la forma de pico de los compuestos básicos más difíciles. Mediante la triple desactivación se mejoran aún más la forma de pico y la vida útil de la columna. Además, los grupos laterales diisopropilo proporcionan protección estérica frente a la hidrólisis ácida para lograr una buena vida útil a pH bajo. La columna Bonus-RP proporciona una selectividad alternativa con respecto a las fases ligadas alquílicas C18 y C8.

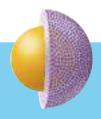
Especificaciones de colu	ımnas					
Fase ligada	Tamaño de poro	Superficie específica	Límites de temperatura*	Rango de pH	Desactivación	Carga de carbono
ZORBAX Bonus-RP	80 Å	180 m²/g	60 °C	2,0-9,0	Triple	9,5%

Las especificaciones solo representan los valores típicos.



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

ZORBAX Bonus-RP también está disponible en el sistema Poroshell 120. Para mas información, vaya a la página 228.



^{*}Límites de temperatura: 60 °C hasta pH 8, 40 °C a partir de pH 8-9.

Forma de pico mejorada de compuestos básicos con Bonus-RP

Columna: Alquilo C8

4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: 75% 25 mM NH₄OAc, pH 5,5

25% ACN

Velocidad de flujo: 1,5 ml/min

Temperatura: 40 °C

Detector: 254 nm

Columna: ZORBAX Bonus-RP

883668-901

4,6 x 150 mm, 5 µm

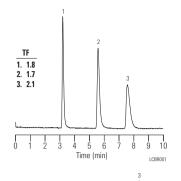
Fase móvil: 80% 25 mM NH₄OAc, pH 5,5

20% ACN

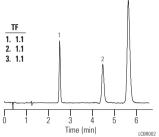
Velocidad de flujo: 1,5 ml/min

Temperatura: 40 °C

Detector: 254 nm



- 1. Doxilamina
- 2. Clorfeniramina
- 3. Triprolidina



- 1. Doxilamina
- 2. Clorfeniramina
- 3. Triprolidina

Bonus-RP elimina las colas de pico de estos compuestos básicos en comparación con una fase ligada alquílica C8 habitual. En la región de pH medio, los silanoles residuales pueden interaccionar más fuertemente con los compuestos básicos y provocar colas en los picos. El grupo polar de la fase ligada Bonus-RP elimina las colas de pico de estos compuestos básicos al reducir las interacciones con los silanoles residuales.

Estabilidad de ZORBAX Bonus-RP con niveles de pH bajos y medios

Columna: ZORBAX Bonus-RP

883668-901

4,6 x 150 mm, 5 μm

Fase móvil: 60% de

tampón fosfato de 25 mM,

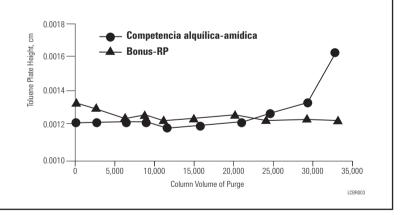
pH 7,0:40% de ACN

Velocidad de flujo: 1,5 ml/min

Temperatura: 23 °C

La triple desactivación de Bonus-RP mejora la estabilidad a pH 7. Cada 10 000 volúmenes de columna equivale a aproximadamente

un mes de trabajo.



Dimetil-C18/amida, Bonus-RP

Columna: ZORBAX Bonus-RP

883668-901

4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: Envejecimiento:

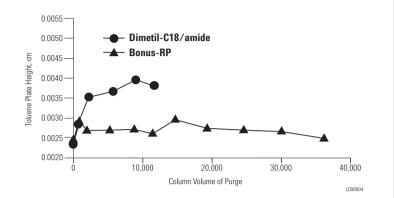
50% de MeOH 50% de TFA al 0,1%

Prueba: 80% de MeOH 20% de H₂0

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Temperatura: Envejecimiento:

60 °C Prueba: 23 °C



Los grupos laterales de protección estérica proporcionan una buena estabilidad a bajo pH y mayor duración de columna que otras fases ligadas alquílicas polares similares.

Selectividad única de ZORBAX Bonus-RP

Columna A: ZORBAX Bonus-RP

883668-901

4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna B: Eclipse XDB-C8

993967-906

4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: 75% Na citrato 25 mM, pH 6

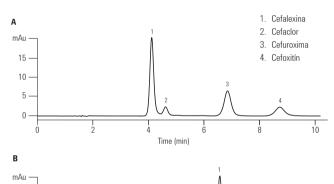
25% MeOH

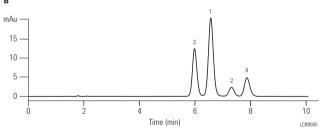
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min
Temperatura: Ambiente
Detector: 254 nm
Muestra: 3 µl

Cefalosporinas

El orden de elución de los picos puede cambiar radicalmente al usar Bonus-RP. En este ejemplo, el orden de elución de los tres primeros

picos cambia.





ZORBAX Bonus-RP

Hardware Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Bonus-RP USP L60
Columnas estándar (no requieren hardware especi	al)		
Analítica	4,6 x 250	5	880668-901
Analítica	4,6 x 150	5	883668-901
Resolución rápida	4,6 x 250	3,5	884950-577
Resolución rápida	4,6 x 150	3,5	863668-901
Resolución rápida	4,6 x 100	3,5	864668-901
Resolución rápida	4,6 x 75	3,5	866668-901
Resolución rápida	4,6 x 50	3,5	835668-901
Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 100	1,8	828668-901
Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 75	1,8	830668-901
Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 50	1,8	827668-901
Solvent Saver	3,0 x 250	5	880668-301
Solvent Saver	3,0 x 150	5	883668-301
Solvent Saver Plus	3,0 x 150	3,5	863668-301
Solvent Saver Plus	3,0 x 100	3,5	864668-301
Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 100	1,8	828668-301
Solvent Saver HT, 600 bares	3,0 x 50	1,8	827668-301
Resolución rápida HD, 1.200 bares	2,1 x 150	1,8	859768-901
Resolución rápida HD, 1.200 bares	2,1 x 100	1,8	858768-901
Resolución rápida HD, 1.200 bares	2,1 x 50	1,8	857768-901
Diámetro estrecho	2,1 x 150	5	883725-901
Diámetro estrecho	2,1 x 50	5	861971-901

El límite de presión de la columna es, a menos que se indique otra cosa, 400 bares.

(continuación)

Las fases ligadas ZORBAX Bonus-RP también están disponibles en las columnas Poroshell 120.
Para mas información, vaya a la página 228.

ZORBAX Bonus-RP

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Bonus-RP USP L60
Columnas	estándar (no requieren hardware especia	ıl)		
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 150	3,5	863700-90
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 100	3,5	861768-90
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 50	3,5	861700-90
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 100	1,8	828768-90
	Diámetro estrecho RRHT, 600 bares	2,1 x 50	1,8	827768-90
	MicroBore RR	1,0 x 150	3,5	863608-90
	MicroBore RR	1,0 x 50	3,5	865608-90
	MicroBore RR	1,0 x 30	3,5	861608-90
	Precolumna MicroBore, 3/paq.	1,0 x 17	5	5185-5922
2009	Precolumna, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-92
അ	Precolumna, 4/paq.	2,1 x 12,5	5	821125-92
അ	Kit de soporte de la precolumna			820999-90
Columnas	de cartucho PrepHT (requieren kit de con	exiones 820400-901)	
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	878250-10
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	7	878150-10
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	5	868150-90
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 100	5	868100-90
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 50	5	868050-90
A	Conexione terminales PrepHT, 2/paq.			820400-90
A	Precolumna PrepHT, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-92
A	Hardware de precolumna			820444-90

El límite de presión de la columna es, a menos que se indique otra cosa, 400 bares.



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Vea los vídeos en los que expertos en cromatografía de Agilent explican cómo solucionar problemas de LC: **www.agilent.com/chem/lctroubleshooting**



Columnas de fase reversa ZORBAX Original

Las columnas ZORBAX originales de Agilent están hechas con sílice de tipo A y resultan útiles en muchas aplicaciones de compuestos ácidos o neutros. Tienen un mayor nivel de actividad y por lo tanto son útiles para separar isómeros (por ejemplo, cis-trans, geométricos) u otros compuestos en los que la actividad silanólica mejora la selectividad. Estas columnas se utilizan en muchos métodos bien establecidos.

Especificaciones de columnas								
Fase ligada	Tamaño de poro	Superficie	Límite de temperatura	Intervalo de pH	Desactivación	Carga de carbono		
ZORBAX C18	70 Å	300 m ² /g	60 °C	2.0 - 8.0	Sí/No	20%		
ZORBAX C8	70 Å	300 m ² /g	60 °C	2.0 - 8.0	Sí	12%		
ZORBAX-Phenyl	70 Å	300 m ² /g	60 °C	2.0 - 8.0	Sí	12%		
ZORBAX CN	70 Å	300 m ² /g	60 °C	2.0 - 8.0	No disponible	7%		
ZORBAX-TMS	70 Å	300 m ² /g	60 °C	2.0 - 7.0	No disponible	4%		

Columnas de fase reversa ZORBAX Original

		Tamaño	Tamaño de partícula	ODS (C18)	C8	Fenilo	CN	TMS
Hardware	Descripción	(mm)	(µm)	USP L1	USP L7	USP L11	USP L10	USP L13
Columnas e	stándar (no requieren hardware especi	al)						
	Semipreparativa	9,4 x 250	5	880952-202	880952-206			
	Analítica (desactivada)	4,6 x 250	5	880952-702	880952-706	880952-712	884950-507	880952-710
	Analítica (sin desactivación)	4,6 x 250	5	884950-543				
	Analítica	4,6 x 150	5	883952-702	883952-706	883952-712	884950-526	883952-710
	Solvent Saver	3,0 x 250	5	880952-302				
	Solvent Saver	3,0 x 150	5	883952-302				
Salvacolum	nas (requieren soporte)							
P	Precolumna, 2/paq.	9,4 x 15	7	820675-115	820675-115	820675-115	820675-124	
6000	Precolumna, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-902	820950-906	820950-912	820950-905	820950-924
P	Kit de soporte de la precolumna			840140-901	840140-901	840140-901	840140-901	840140-901
600	Kit de soporte de la precolumna			820999-901	820999-901	820999-901	820999-901	820999-901
Columnas d	e cartucho PrepHT (requieren kit de co	nexiones 820400-90	1)					
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	877952-102	877952-106		877952-105	
A	Conexione terminales PrepHT, 2/paq.			820400-901	820400-901		820400-901	

LC Y LC/MS



Kits para el desarrollo de métodos ZORBAX

Kits para procedimiento de HPLC analíticos

Kits para el desarrollo de métodos ZORBAX

Agilent ofrece una serie de kits que permiten un rápido desarrollo de métodos a un precio atractivo. Cada kit contiene 3 columnas. Se han añadido seis kits nuevos y se recomienda su uso con el nuevo LC de desarrollo de métodos automatizado de Agilent. Varios de estos kits contienen columnas de resolución rápida HT (1,8 μ m) en distintas fases ligadas para una optimización fácil del método y varios kits contienen columnas de resolución rápida (3,5 μ m) de la misma variedad de fases ligadas. Estos kits contienen algunas de las familias de columnas Eclipse Plus para obtener una forma de pico excelente y un rendimiento óptimo con una amplia variedad de componentes.

Kits para el desarrollo de métodos ZORBAX Recomendado para utilizar con el sistema LC de desarrollo de métodos automatizado de Agilent

Descripción	Referencia
Kit para desarrollo de métodos de selectividad de resolución rápida HT (RRHT), d.i. de 2,1 mm	5190-1431
Incluye columnas de 2,1 x 50 mm, 1,8 µm y 600 bares: una de cada de Eclipse Plus C18, Eclipse Plus Phenyl-Hexyl y Bonus-RP	
Kit para desarrollo de métodos de pH de resolución rápida HT (RRHT), d.i. de 2,1 mm	5190-1432
Incluye columnas de 2,1 x 50 mm, 1,8 µm y 600 bares: una de cada de Eclipse Plus C18, SB-C18 y Extend-C18	
Kit para desarrollo de métodos de selectividad de resolución rápida HT (RRHT), d.i. de 4,6 mm	5190-1433
Incluye columnas de 4,6 x 50 mm, 1,8 µm y 600 bares: una de cada de Eclipse Plus C18, Eclipse Plus Phenyl-Hexyl y Bonus-RP	
Kit para desarrollo de métodos de pH de resolución rápida HT (RRHT), d.i. de 4,6 mm	5190-1434
Incluye columnas de 4,6 x 50 mm, 1,8 µm y 600 bares: una de cada de Eclipse Plus C18, SB-C18 y Extend-C18	
Kit para desarrollo de métodos de selectividad de resolución rápida, d.i. de 4,6 mm	5190-1435
Incluye columnas de 4,6 x 100 mm y 3,5 μm: una de cada de Eclipse Plus C18, Eclipse Plus Phenyl-Hexyl y Bonus-RP	
Kit para desarrollo de métodos de pH de resolución rápida, d.i. de 4,6 mm	5190-1436
Incluye columnas de 4,6 x 100 mm y 3,5 μm: una de cada de Eclipse Plus C18, SB-C18 y Extend-C18	

Kits para el desarrollo de métodos ZORBAX

Descripción	Referencia
Kit StableBond para el desarrollo de métodos	5183-4624
Incluye columnas de 4,6 x 150 mm y 5 μ m; una de cada: fases SB-C18, SB-CN y SB-Phenyl	
Kit StableBond para desarrollo rápido de métodos	5183-4625
Incluye columnas de 4,6 x 75 mm y 3,5 μ m; una de cada: fases SB-C18, SB-CN y SB-Phenyl	
Kit para desarrollo de métodos en Eclipse XDB	5183-4626
Incluye columnas de 4,6 x 150 mm y 5 μm; una de cada: fases XDB-C18, XDB-C8 y XDB-Phenyl	
Kit para desarrollo rápido de métodos en Eclipse XDB	5183-4627
Incluye columnas de 4,6 x 75 mm y 3,5 μ m; una de cada: fases XDB-C18, XDB-C8 y XDB-Phenyl	
Kit para el desarrollo de métodos de pH	5185-5807
Incluye columnas de 4,6 x 150 mm y 5 μm; una de cada: fases SB-C18, XDB-C18 y Extend-C18	
Kit para el desarrollo rápido de métodos de pH	5185-5808
Incluye columnas de 4,6 x 75 mm y 3,5 μ m; una de cada: fases SB-C18, XDB-C18 y Extend-C18	
Kit para el desarrollo de métodos acuosos	5185-5809
Incluye columnas de 4,6 x 150 mm y 5 μ m; una de cada: SB-Aq, Bonus RP y SB-C18	
Kit para el desarrollo rápido de métodos acuosos	5185-5810
Incluye columnas de 4.6×75 mm y $3.5 \mu m$; una de cada: SB-Aq, Bonus RP y SB-C18	

Kits de iniciación de columnas de cartuchos ZORBAX

	Descripción	Referencia
♠	Kit ZORBAX C18	5183-2021
•	Incluye una columna Eclipse XDB-C18 de 4.6×150 mm y 5μ m, una columna StableBond C18 de 4.6×150 mm y 5μ m, soporte para cartuchos, herramienta de montaje, filtro de sustitución ($2/paq$.) y llave fija	
	Kit ZORBAX C8	5183-2022
•	Incluye una columna Eclipse XDB-C8 de 4.6×150 mm y 5 µm, una columna StableBond C8 de 4.6×150 mm y 5 µm, soporte para cartuchos, herramienta de montaje, filtro de sustitución ($2/paq$.) y llave fija	

LC Y LC/MS

Kits de validación de métodos ZORBAX

Los kits de validación de métodos ZORBAX se suministran a clientes que necesitan el mismo tipo de columna HPLC (fase ligada, tamaño de partícula, configuración), pero de diferentes lotes de fabricación. Para solicitar columnas de distintos lotes, póngase en contacto con Agilent Technologies o con su distribuidor autorizado de Agilent siguiendo este procedimiento:

- Solicite los kits de validación (columnas de lotes distintos) con el número de referencia 899999-888
- Indique el N° de referencia de la columna que esté utilizando.
- Indique el N° de lote de la columna que esté utilizando.
- Indique el número de columnas adicionales que necesita de diferentes lotes (ejemplo: usted tiene una columna y necesita dos lotes adicionales).
- Envíe un fax con su pedido al número (+34) 901 90 0559 (España) o por correo electrónico a customercare_spain@agilent.com. Recibirá un presupuesto de su representante de atención al cliente en uno o dos días laborables. La entrega de su kit de validación de métodos suele tardar 3 semanas o menos a partir del momento en que se realiza el pedido en función de la disponibilidad del lote.

Pedidos de columnas personalizadas para HPLC

Se pueden pedir fácilmente las columnas no enumeradas mediante este procedimiento:

- Solicite un presupuesto de productos especiales (SPQ) utilizando el número de referencia 899999-999.
- Dimensiones de la columna (ejemplo: 4,6 x 50 mm); tipo de fase ligada (ejemplo: StableBond C3); tamaño de partícula (ejemplo: 5 μm); y tamaño del poro (ejemplo: 80 Å).
- Envíe un fax con su pedido al número (+34) 901 90 0559 (España) o por correo electrónico a
 customercare_spain@agilent.com. Recibirá un presupuesto de su representante de atención al
 cliente en uno o dos días laborables. La entrega de su columna personalizada suele tardar 3 semanas
 o menos a partir del momento en que se realiza el pedido en función de la disponibilidad del lote.

El precio de las columnas personalizadas es ligeramente más alto que el de las columnas con referencia ya existentes.

Columnas HPLC Pursuit

Creadas para el descubrimiento y el metabolismo de fármacos, las columnas Pursuit son ideales para analizar compuestos de plomo y muestras biológicas. El rendimiento de la columna se debe a la combinación exclusiva de química de enlace avanzado y sílice extremadamente puro. Estos factores se combinan para proporcionar separaciones rápidas con excelentes resoluciones iniciales y picos simétricos para compuestos polares, ya sea a un pH de 1,5 o de 10. Además, se suele eliminar la necesidad de agentes de par iónico como el TFA, por lo que se maximiza el rendimiento de los sistemas LC/MS sencillos y de múltiples canales paralelos.

Acabando con controles de calidad, Pursuit es ideal para implementar análisis fiables y sin problemas de materias primas y fármacos aprobados. El control riguroso y la validación de cada paso en el proceso de fabricación garantizan la reproducibilidad de la columna. Con Pursuit, los laboratorios pueden emplear su energía para conseguir resultados.

Las columnas especiales como Pursuit PFP (para compuestos muy polares) y Pursuit PAH (uso medioambiental) le ofrecen las selectividades adicionales necesarias para la mayoría de las aplicaciones más complejas.



Columnas HPLC Pursuit

Pursuit

Para LC/MS y aplicaciones de alta productividad, la columna Pursuit se crea sobre sílice con un mayor tamaño de poro de 200 Å. La alta densidad de enlace proporciona separaciones hasta un 40% más rápidas sin detrimento de la resolución. Esto se consigue gracias a la optimización de transferencia de masa con el tamaño de poro más grande.

Pursuit XRs

Las columnas Pursuit XRs ofrecen rendimiento en aplicaciones analíticas, preparativas, I+D y control de calidad. Mediante la combinación de una alta densidad de enlace con sílice de elevada superficie de 100 Å de tamaño de poro, las columnas Pursuit XRs están diseñadas para aumentar la productividad, puesto que ofrecen una capacidad de carga máxima, una estabilidad excelente y una sencilla escalabilidad y mantienen una resolución superior.

Pursuit XRs Ultra

Para obtener la máxima velocidad y buena resolución en cualquier instrumento, hemos diseñado la Pursuit XRs Ultra sobre una partícula optimizada de 2,8 μ m y un procedimiento de relleno avanzado. Ahora es posible reducir el tiempo de análisis y mantener la resolución. Una menor retropresión permite utilizar una velocidad de flujo alta y las partículas de 2,8 μ m de sílice ultrapura proporcionan un aumento de la eficacia en un 10 - 15% más que las columnas de 3 μ m.

COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS

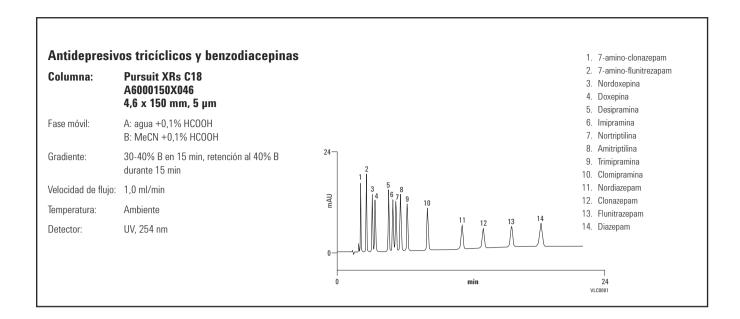
Especificaciones de columnas								
Fase ligada	Tamaño de poro	Superficie específica	Rango de pH	Desactivación	Carga de carbono	Volumen de poro	Cobertura de ligandos	
Pursuit C18	200 Å	200 m ² /g	1,5-10	Sí	12,9%	11 ml/g	$3,5 \mu mol/m^2$	
Pursuit C8	200 Å	200 m ² /g	1,5-10	Sí	7,4%	11 ml/g	3,8 µmol/m ²	
Pursuit Diphenyl	200 Å	200 m ² /g	1,5-8,0	Sí	7,3%	11 ml/g	2,8 µmol/m ²	
Pursuit PFP	200 Å	200 m ² /g	1,5-10	Sí	6,3%	11 ml/g	3,4 µmol/m ²	
Pursuit PAH	200 Å	200 m ² /g	1,5-10	Sí		11 ml/g		
Pursuit XRs C18	100 Å	440 m ² /g	1,5-10	Sí	22%	11 ml/g	2,9 µmol/m ²	
Pursuit XRs C8	100 Å	440 m ² /g	1,5-10	Sí	15%	11 ml/g	3,7 µmol/m ²	
Pursuit XRs Diphenyl	100 Å	440 m ² /g	1,5-8,0	Sí	14,6%	11 ml/g	2,6 µmol/m ²	
Pursuit XRs Si	100 Å	440 m ² /g	1,5-10	Sí		11 ml/g		
Pursuit XRs Ultra C18	100 Å	440 m ² /g	1,5-10	Sí	23,2%	11 ml/g	3,2 µmol/m ²	
Pursuit XRs Ultra C8	100 Å	440 m ² /g	1,5-10	Sí	15%	11 ml/g	3,7 µmol/m ²	
Pursuit XRs Ultra Diphenyl	100 Å	440 m ² /g	1,5-8,0	Sí	14,6%	11 ml/g	2,6 µmol/m ²	

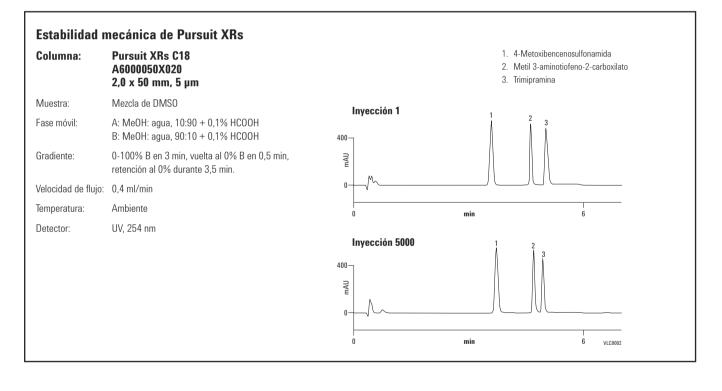
Las especificaciones solo representan los valores típicos.



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Solicite en línea columnas LC personalizadas en www.agilent.com/chem/customlccol





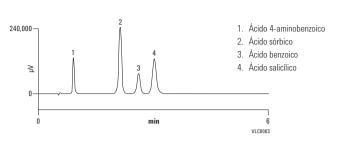
Antifúngicos

Columna: Pursuit XRs Ultra 2.8 Diphenyl

A7521050X020 2,0 x 50 mm, 2,8 µm

Agua +0,1% HCOOH: MeCN +0,1% HCOOH, 80:20 Fase móvil:

Velocidad de flujo: 0,4 ml/min Temperatura: Ambiente UV, 254 nm Detector:



Mezcla de prueba de fase de cromatografía líquida (LPTM) en Pursuit C8

Columna: **Pursuit C8**

A3031050X020 2,0 x 50 mm, 3 μm

Fase móvil:

A: 0,05% HCOOH en agua

B: 0,05% HCOOH en MeCN

Velocidad de flujo: 0,6 ml/min UV, 220 nm Detector:

min VI C0004

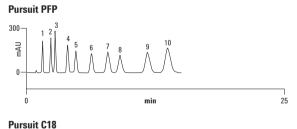
- 1. Aspartamo
- 2. Cortisona
- 3. Reserpina
- 4. Ftalato de dioctilo

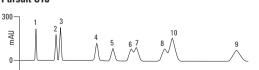
Adrenocorticosteroides en **Pursuit PFP y C18**

Fase móvil: MeCN: agua, 22,5:77,5

Velocidad de flujo: 1,5 ml/min Temperatura: Ambiente Detector:

UV, 240 nm





min

0

- 1. Triamcinolona
- 2. Prednisolona
- 3. Cortisona
- 4. Metilprednisolona
- 5. Corticosterona
- Beclometasona
- 7. Acetato de prednisolona
- 8. Acetónido de triamcinolona
- 9. Acetato de cortisona
- 10. Acetónido de fluocinolona

25

Columnas HPLC Pursuit

Escala semipreparativa							
Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (μm)	Pursuit C18 USP L1	Pursuit C8 USP L7	Pursuit Diphenyl	Pursuit PFP	Pursuit PAH USP L1	
10,0 x 250	10	A3002250X100	A3032250X100				
10,0 x 150	5	A3000150X100			A3050150X100		
10,0 x 250	5	A3000250X100	A3030250X100		A3050250X100		

Columnas HPLC Pursuit

Escala analítica						
Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Pursuit C18 USP L1	Pursuit C8 USP L7	Pursuit Diphenyl	Pursuit PFP	Pursuit PAH USP L1
4,6 x 250	10	A3002250X046	A3032250X046			
4,6 x 150	10	A3002150X046	A3032150X046			
4,6 x 100	10	A3002100X046	A3032100X046			
4,6 x 250	5	A3000250X046	A3030250X046	A3040250X046	A3050250X046	A7000250X046
4,6 x 150	5	A3000150X046	A3030150X046	A3040150X046	A3050150X046	A7000150X046
4,6 x 100	5	A3000100X046	A3030100X046	A3040100X046	A3050100X046	
4,6 x 50	5	A3000050X046	A3030150X046	A3040050X046	A3050050X046	
4,6 x 250	3	A3001250X046	A3031250X046	A3041250X046	A3051250X046	
4,6 x 150	3	A3001150X046	A3031150X046	A3041150X046	A3051150X046	
4,6 x 100	3	A3001100X046	A3031100X046	A3041100X046	A3051100X046	A7001100X046
4,6 x 50	3	A3001050X046		A3041050X046	A3051050X046	
4,6 x 30	3	A3001030X046				
4,0 x 250	5	A3000250X040				
4,0 x 125	5	A3000125X040				
3,9 x 300	10	A3002300X039				
3,9 x 300	5	A3000300X039				
3,9 x 150	5	A3000150X039				
3,0 x 250	5	A3000250X030		A3040250X030		
3,0 x 150	5	A3000150X030		A3040150X030	A3050150X030	
3,0 x 100	5	A3000100X030			A3050100X030	
3,0 x 250	3	A3001250X030				
3,0 x 150	3	A3001150X030		A3041150X030	A3051150X030	
3,0 x 100	3	A3001100X030		A3041100X030	A3051100X030	A7001100X030

(continuación)

COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS

Columnas HPLC Pursuit

Escala analítica						
Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Pursuit C18 USP L1	Pursuit C8 USP L7	Pursuit Diphenyl	Pursuit PFP	Pursuit PAH USP L1
3,0 x 50	3	A3001050X030		A3041050X030	A3051050X030	
2,0 x 250	5	A3000250X020				
2,0 x 150	5	A3000150X020	A3030150X020	A3040150X020		
2,0 x 100	5	A3000100X020	A3030100X020	A3040100X020	A3050100X020	
2,0 x 50	5	A3000050X020	A3030050X020	A3040050X020	A3050050X020	
2,0 x 30	5	A3000030X020		A3040030X020	A3050030X020	
2,0 x 20	5	A3000020X020			A3050020X020	
2,0 x 250	3	A3001250X020		A3041250X020		
2,0 x 200	3			A3041200X020		
2,0 x 150	3	A3001150X020	A3031150X020	A3041150X020	A3051150X020	
2,0 x 100	3	A3001100X020	A3031100X020	A3041100X020	A3051100X020	A7001100X020
2,0 x 50	3	A3001050X020	A3031050X020	A3041050X020	A3051050X020	
2,0 x 30	3	A3001030X020	A3031030X020	A3041030X020	A3051030X020	
2,0 x 20	3	A3001020X020		A3041020X020	A3051020X020	

Columnas HPLC Pursuit

Tamaño de partícula (µm)	Pursuit C18 USP L1	Pursuit C8 USP L7	Pursuit Diphenyl	Pursuit PFP	Pursuit PAH USP L1
10	A3002250X500	A3032250X500			
10	A3002250X212	A3032250X212			
10	A3002150X212				
5	A3000250X212			A3050250X212	
5	A3000150X212			A3050150X212	
5			A3040100X212		
	(μm) 10 10 10 5 5	(μm) USP L1 10 A3002250X500 10 A3002250X212 10 A3002150X212 5 A3000250X212 5 A3000150X212	(μm) USP L1 USP L7 10 A3002250X500 A3032250X500 10 A3002250X212 A3032250X212 10 A3002150X212 5 5 A3000250X212 43000150X212	(μm) USP L1 USP L7 Diphenyl 10 A3002250X500 A3032250X500 10 A3002250X212 A3032250X212 10 A3002150X212 5 A3000250X212 5 A3000150X212	(μm) USP L1 USP L7 Diphenyl PFP 10 A3002250X500 A3032250X500

Sistemas de cartuchos completos Pursuit ChromSep

Hardware	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (μm)	Pursuit C18 USP L1	Pursuit C8 USP L7	Pursuit PAH USP L1
G S	4,6 x 250	5	A3000250C046	A3030250C046	A7000250C046
G S	4,6 x 250	3		A3031250C046	
C S	4,6 x 150	5	A3000150C046	A3030150C046	A7000150C046
G S	4,6 x 100	5	A3000100C046	A3030100C046	
C S	4,6 x 150	3	A3001150C046	A3031150C046	A7001150C046
C S	4,6 x 100	3	A3001100C046	A3031100C046	A7001100C046
C S	4,6 x 50	3	A3001050C046		
C S	3,0 x 250	5	A3000250C030		
C S	3,0 x 150	5	A3000150C030		
C S	3,0 x 100	5	A3000100C030		A7000100C030
G S	3,0 x 150	3	A3001150C030		
C S	3,0 x 100	3	A3001100C030		
C S	2,0 x 250	5	A3000250C020		
G S	2,0 x 150	5	A3000150C020	A3030150C020	
C S	2,0 x 100	5	A3000100C020		
©	2,0 x 150	3	A3001150C020		
©	2,0 x 100	3	A3001100C020		
G S	2,0 x 50	3	A3001050C020		

Cartuchos de repuesto Pursuit ChromSep

Hardware	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (μm)	Unidad	Pursuit C18 USP L1	Pursuit C8 USP L7	Pursuit PAH USP L1
G S	4,6 x 250	5				A7000250R046
			3/paq.			A7000250T046
CS	4,6 x 150	5		A3000150R046	A3030150R046	A7000150R046
			3/paq.	A3000150T046	A3030150T046	A7000150T046
G S	4,6 x 150	3			A3031150R046	A7001150R046
			3/paq.		A3031150T046	A7001150T046
G S	4,6 x 100	3				A7001100R046
			3/paq.			A7001100T046
GS	4,6 x 50	3		A3001050R046		
			3/paq.	A3001050T046		
GS	3,0 x 150	5		A3000150R030		
			3/paq.	A3000150T030		
GS	3,0 x 100	5		A3000100R030		A7000100R030
			3/paq.	A3000100T030		A7000100T030
G S	3,0 x 150	3		A3001150R030		
			3/paq.	A3001150T030		
G S	3,0 x 100	3		A3001100R030		A7001100R030
			3/paq.	A3001100T030		A7001100T030
G S	2,0 x 50	3			A3031050R020	
			3/paq.		A3031050T020	

Columnas MetaGuard, 3/paq.

Hardware	D.I. (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Pursuit C18	Pursuit C8	Pursuit DP	Pursuit PFP
MG	4,6	10	A3002MG			
MG	2,0	10	A3002MG2			
MG	4,6	5	A3000MG	A3030MG	A3040MG	A3050MG
MG	2,0	5	A3000MG2	A3030MG2	A3040MG2	A3050MG2
MG	1,0	5	A3000MG1		A3040MG1	
MG	4,6	3	A3001MG	A3031MG	A3041MG	A3051MG
MG	2,0	3	A3001MG2	A3031MG2	A3041MG2	A3051MG2
MG	1,0	3			A3041MG1	

Columnas HPLC Pursuit XRs

Escala semipreparativa						
Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Pursuit XRs C18 USP L1	Pursuit XRs C8 USP L7	Pursuit XRs Diphenyl USP L11	Pursuit XRs Si* USP L3	
10,0 x 250	10	A6002250X100			A6004250X100	
10,0 x 250	5	A6000250X100		A6020250X100		
10,0 x 150	5	A6000150X100				
10,0 x 50	5	A6000050X100				
10,0 x 150	3			A6021150X100		

^{*}Pursuit XRs Si es una columna de fase normal.

Columnas HPLC Pursuit XRs

Escala analítica					
Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Pursuit XRs C18 USP L1	Pursuit XRs C8 USP L7	Pursuit XRs Diphenyl USP L11	Pursuit XRs Si* USP L3
4,6 x 250	10	A6002250X046			A6004250X046
4,6 x 50	10	A6002050X046S			
4,6 x 250	5	A6000250X046	A6010250X046	A6020250X046	
4,6 x 150	5	A6000150X046	A6010150X046	A6020150X046	
4,6 x 100	5	A6000100X046	A6010100X046	A6020100X046	A6006100X046
4,6 x 50	5	A6000050X046		A6020050X046	A6006050X046
4,6 x 250	3	A6001250X046		A6021250X046	
4,6 x 150	3	A6001150X046	A6010150X046	A6021150X046	
4,6 x 100	3	A6001100X046	A6011100X046	A6021100X046	A6005100X046
4,6 x 50	3	A6001050X046	A6011050X046	A6021050X046	A6005050X046
4,6 x 30	3	A6001030X046		A6021030X046	
4,0 x 250	5	A6000250X040	A6010250X040		
4,0 x 150	5	A6000150X040	A6010150X040		
3,0 x 250	5	A6000250X030	A6010250X030	A6020250X030	
3,0 x 150	5	A6000150X030	A6010150X030	A6020150X030	
3,0 x 100	5	A6000100X030	A6010100X030	A6020100X030	
3,0 x 150	3	A6001150X030	A6011150X030	A6021150X030	
3,0 x 100	3	A6001100X030	A6011100X030	A6021100X030	
3,0 x 50	3	A6001050X030	A6011050X030	A6021050X030	
3,0 x 30	3	A6001030X030			

^{*}Pursuit XRs Si es una columna de fase normal.

(continuación)

Columnas HPLC Pursuit XRs

Escala analítica					
Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Pursuit XRs C18 USP L1	Pursuit XRs C8 USP L7	Pursuit XRs Diphenyl USP L11	Pursuit XRs Si* USP L3
2,1 x 100	5				A6006100X021
2,0 x 250	5	A6000250X020		A6020250X020	
2,0 x 150	5	A6000150X020	A6010150X020	A6020150X020	
2,0 x 100	5	A6000100X020	A6010100X020		
2,0 x 50	5	A6000050X020	A6010050X020	A6020050X020	
2,0 x 30	5	A6000030X020			
2,0 x 250	3	A6001250X020		A6021250X020	
2,0 x 150	3	A6001150X020	A6011150X020	A6021150X020	
2,0 x 100	3	A6001100X020	A6011100X020	A6021100X020	
2,0 x 50	3	A6001050X020	A6011050X020	A6021050X020	A6005050X020
2,0 x 30	3			A6021030X020	
2,0 x 20	3	A6001020X020			
1,0 x 150	3	A6001150X010	-		
1,0 x 100	3	A6001100X010		A6021100X010	

^{*}Pursuit XRs Si es una columna de fase normal.

Columnas HPLC Pursuit XRs

Escala preparativa					
Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Pursuit XRs C18 USP L1	Pursuit XRs C8 USP L7	Pursuit XRs Diphenyl USP L11	Pursuit XRs Si* USP L3
50,0 x 250	10	A6002250X500		A6002250X500	A6004250X500
30,0 x 250	5	A6000250X300			A6004250X300
30,0 x 150	5	A6000150X300		A6020150X300	
30,0 x 100	5	A6000100X300			
30,0 x 50	5	A6000050X300			
21,2 x 250	10	A6002250X212	A6012250X212		A6004250X212
21,2 x 250	5	A6000250X212		A6020250X212	
21,2 x 150	5	A6000150X212			
21,2 x 100	5	A6000100X212		A6020100X212	
21,2 x 50	5	A6000050X212			
21,2 x 30	5	A6000030X212			

^{*}Pursuit XRs Si es una columna de fase normal.

Columnas MetaGuard, 3/paq.

Hardware	D.I. (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Pursuit XRs C18	Pursuit XRs Si	Pursuit XRs C8	Pursuit XRs Diphenyl	Pursuit PAH
MG	4,6	10	A6002MG	A6004MG			
MG	4,6	5	A6000MG		A6010MG	A6020MG	
MG	3,0	5					A7000MG3
MG	2,0	5	A6000MG2		A6010MG2	A6020MG2	
MG	4,6	3	A6001MG		A6011MG	A6021MG	
MG	3,0	3					A7001MG3
MG	2,0	3	A6001MG2		A6011MG2	A6021MG2	A6001MG2

Columnas HPLC Pursuit XRs Ultra

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Pursuit XRs Ultra C18	Pursuit XRs Ultra C8	Pursuit XRs Ultra Diphenyl
3,0 x 150	2,8	A7501150X030	A7511150X030	
3,0 x 100	2,8	A7501100X030		
2,0 x 150	2,8	A7501150X020		
2,0 x 100	2,8	A7501100X020	A7511100X020	A7521100X020
2,0 x 50	2,8	A7501050X020	A7511050X020	A7521050X020
2,0 x 30	2,8	A7501030X020	A7511030X020	A7521030X020



Columnas HPLC Polaris

Columnas HPLC Polaris

En áreas como el descubrimiento de fármacos en las que los compuestos diana son cada vez más polares, es esencial contar con una columna de fase reversa que dé buenos resultados en condiciones acuosas. La retención es muy importante pero no puede plantear interacciones secundarias problemáticas. Asimismo, es necesario anular el colapso de la fase y los tiempos de retención cambiantes. La solución es nuestra línea de columnas polarmente modificadas Polaris.

Las columnas Polaris se han diseñado para condiciones muy acuosas, desde la estructura de poros resistente a colapsos de nuestra sílice de base a la "humectabilidad" diseñada en las fases ligadas. La combinación del ligando de densidad de fases altas, la sílice ultrapura y los recubrimientos de silanol dan como resultado excelentes formas de pico entre las columnas polarmente modificadas.

Como familia, Polaris ofrece numerosas modificaciones polares tanto en rellenos químicos C18 como C8.

Polaris C18-A

Polaris C18-A es el mejor punto de partida para las separaciones en las que se desean las ventajas de las columnas polarmente modificadas. Las modificaciones polares de C18-A ayudan a evitar formas de pico deficientes y problemas de retención en bajas condiciones orgánicas.

Polaris C8-A

Polaris C8-A ofrece una selectividad alternativa a las fases C8 estándar y cuenta con una hidrofobicidad inferior a la de la Polaris C18-A, haciéndola ideal para las muestras polares o para tiempos de análisis globales más rápidos.

Polaris C18-Fther

Polaris C18-Ether ofrece una selectividad alternativa a la de la Polaris C18-A y las fases C18 estándar y proporciona normalmente una mayor retención de compuestos polares sin volúmenes muertos.

Polaris C8-Ether

Polaris C8-Ether ofrece una selectividad alternativa a la de la Polaris C8-A con una utilidad particular para los compuestos de enlaces de hidrógeno.

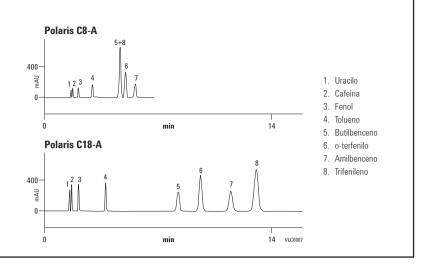
Especificaciones de columnas										
Fase ligada	Tamaño de poro	Superficie específica	Carga de carbono	Desactivación	Volumen de poro	Cobertura de enlace				
Polaris C18-A	180Å	200 m ² /g	13,8%	Sí	1,1 cm ³ /g	3,9 µmol/m ²				
Polaris C8-A	180Å	200 m ² /g	7,4%	Sí	1,1 cm ³ /g	4,8 µmol/m ²				
Polaris C18-Ether	180Å	200 m ² /g	12,1%	Sí	1,1 cm ³ /g	$3,3~\mu mol/m^2$				
Polaris C8-Ether	180Å	200 m ² /g	7,1%	Sí	1,1 cm ³ /g	4,5 μmol/m ²				
Polaris Amide C18	180Å	200 m ² /g	15%	Sí	1,1 cm ³ /g	4,4 μmol/m ²				
Polaris NH2	180Å	200 m ² /g	5.5%	Amida	1,1 cm ³ /g	3,8 µmol/m ²				
Polaris Si-A	180Å	200 m ² /g	No disponible	No disponible	1,1 cm ³ /g	No disponible				

Las especificaciones solo representan los valores típicos.



Fase móvil: MeCN: agua 70:30

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min
Temperatura: Ambiente
Detector: UV, 254 nm



Mezcla de prueba de rendimiento de LC/MS para Polaris C8-A

Columna: Polaris C8-A

A2011030X030

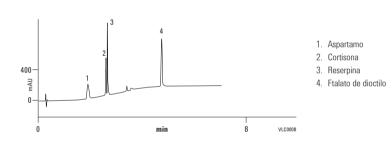
3,0 x 30 mm, 3 µm

Fase móvil: A: Agua +0,05% HCOOH

B: MeCN +0,05% HCOOH

Gradiente: 5-90% B en 3 min y retención durante 4 min.

Velocidad de flujo: 0,6 ml/min
Temperatura: Ambiente
Detector: UV, 220 nm



COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS

Columnas HPLC Polaris

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Polaris C18-A	Polaris C8-A	Polaris C18-Ether	Polaris C8-Ether	Polaris Amide C18	Polaris NH2*	Polaris Si-A*
50,0 x 250	10	A2002250X500						A2004250X500
30,0 x 100	5	A2000100X300						
30,0 x 3,0	3					A2007030X030		
21,2 x 250	10	A2002250X212				A2008250X212		A2004250X212
21,2 x 250	5	A2000250X212	A2010250X212	A2020250X212	A2030250X212	A2006250X212	A2013250X212	A2003250X212
21,2 x 150	5	A2000150X212						A2003150X046
21,2 x 100	5	A2000100X212						
21,2 x 50	5							A2003050X212
10,0 x 250	10					A2008250X100		
10,0 x 250	5	A2000250X100		A2020250X100	A2030250X100	A2006250X100	A2013250X100	
10,0 x 50	3			A2021050X100				
4,6 x 250	10	A2002250X046						A2003250X046
4,6 x 250	5	A2000250X046	A2010250X046	A2020250X046	A2030250X046	A2006250X046	A2013250X046	
4,6 x 200	5	A2000200X046						
4,6 x 150	5	A2000150X046	A2010150X046	A2020150X046	A2030150X046	A2006150X046	A2013150X046	A2003150X046
4,6 x 100	5	A2000100X046	A2010100X046			A2006100X046	A2013100X046	A2003100X046
4,6 x 50	5	A2000050X046		A2020050X046		A2006050X046	A2013050X046	A2003050X046
4,6 x 30	5	A2000030X046						
4,6 x 250	3	A2001250X046		A2021250X046	A2031250X046	A2007250X046	A2014250X046	A2005250X046
4,6 x 150	3	A2001150X046	A2011150X046			A2007150X046	A2014150X046	A2005150X046
4,6 x 100	3	A2001100X046	A2011100X046			A2007100X046	A2014100X046	A2005100X046
4,6 x 75	3	A2001075X046	A2011075X046					

^{*}Columnas de fase normal.

(continuación)

Columnas HPLC Polaris

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Polaris C18-A	Polaris C8-A	Polaris C18-Ether	Polaris C8-Ether	Polaris Amide C18	Polaris NH2*	Polaris Si-A*
4,6 x 50	3	A2001050X046		A2021050X046	A2031050X046	A2007050X046	A2014050X046	A2005050X046
4,6 x 30	3	A2001030X046						
4,0 x 250	5	A2000250X040	A2010250X040	A2020250X040	A2030250X040		A2013250X040	A2003250X040
4,0 x 150	5	A2000150X040	A2010150X040	A2020150X040	A2030150X040		A2013150X040	A2003150X040
4,0 x 125	5	A2000125X040	A2010125X040	A2020125X040	A2030125X040		A2013125X040	A2003125X040
3,0 x 250	5	A2000250X030	A2010250X030	A2020250X030	A2030250X030	A2006250X030	A2013250X030	A2005250X046
3,0 x 150	5	A2000150X030	A2010150X030	A2020150X030	A2030150X030	A2006150X030	A2013150X030	A2003150X030
3,0 x 100	5	A2000100X030	A2010100X030	A2020100X030	A2030100X030	A2006100X030	A2013100X030	A2003100X030
3,0 x 50	5	A2000050X030						A2003050X030
3,0 x 250	3	A2001250X030				A2007250X030	A2014250X030	A2003250X030
3,0 x 200	3	A2001200X030						
3,0 x 150	3	A2001150X030		A2021150X030		A2007150X030	A2014150X030	A2005150X030
3,0 x 100	3	A2001100X030				A2007100X030	A2014100X030	A2005100X030
3,0 x 50	3	A2001050X030		A2021050X030	A2031050X030	A2007050X030	A2014050X030	A2005050X030
3,0 x 30	3	A2001030X030	A2011030X030					
2,0 x 250	5	A2000250X020		A2020250X020	A2030250X020	A2006250X020	A2013250X020	A2003250X020
2,0 x 150	5	A2000150X020	A2010150X020	A2020150X020	A2030150X020	A2006150X020	A2013150X020	A2003150X020
2,0 x 100	5	A2000100X020				A2006100X020	A2013100X020	A2003100X020
2,0 x 50	5	A2000050X020	A2010050X020	A2020050X020	A2030050X020	A2006050X020	A2013050X020	A2003050X020
2,0 x 30	5	A2000030X020				A2006030X020	A2013030X020	A2003030X020
2,0 x 20	5	A2000020X020					A2013020X020	A2003020X020
2,0 x 250	3	A2001250X020	A2011250X020	A2021250X020	A2031250X020	A2007250X020	A2014250X020	A2005250X020
2,0 x 150	3	A2001150X020	A2011150X020	A2021150X020	A2031150X020	A2007150X020	A2014150X020	A2005150X020
2,0 x 100	3	A2001100X020	-	A2021100X020	A2031100X020	A2007100X020	A2014100X020	A2005100X020
2,0 x 75	3			A2021075X020				
2,0 x 50	3	A2001050X020	A2011050X020	A2021050X020	A2031050X020	A2007050X020	A2014050X020	A2005050X020
2,0 x 30	3	A2001030X020		A2021050X020		A2007030X020	A2014030X020	A2005030X020
2,0 x 20	3	A2001020X020					A2014020X020	A2005020X020

^{*}Columnas de fase normal.

Sistemas de cartuchos completos Polaris ChromSep

Hardware	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Polaris C18-A
GS	4,6 x 250	5	A2000250C046
GS	4,6 x 150	5	A2000150C046
GS	4,6 x 100	5	A2000100C046
GS	4,6 x 250	3	A2001250C046
GS	4,6 x 150	3	A2001150C046
CS	3,0 x 250	5	A2000250C030
GS	3,0 x 100	5	A2000100C030
GS	2,0 x 100	5	A2000100C020
GS	2,0 x 150	3	A2001150C020
GS	2,0 x 100	3	A2001100C020
G S	2,0 x 50	3	A2001050C020

Cartuchos de repuesto Polaris ChromSep

Hardware	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Unidad	Polaris C18-A
~	4.0050	Г		A2000250R046
CS	4,6 x 250	5	3/paq.	A2000250T046
~	4.0150	Г		A2000150R046
©	4,6 x 150	5	3/paq.	A2000150T046
~	4.6 × 100	5		A2000100R046
CS	4,6 x 100	5	3/paq.	A2000100T046
•	4.0150	2		A2001150R046
©	4,6 x 150	3	3/paq.	A2001150T046
•	4,6 x 100	3		A2001100R046
CS			3/paq.	A2001100T046
~	2.0150	5		A2000150R030
CS	3,0 x 150		3/paq.	A2000150T030
~	2.0 v 100	5		A2000100R030
CS	3,0 x 100	5	3/paq.	A2000100T030
~	2.0 v 100	3		A2001100R030
CS	3,0 x 100	3	3/paq.	A2001100T030
~	0.0150	2		A2001150R020
CS	2,0 x 150	3	3/paq.	A2001150T020
	2.050	2		A2001050R020
CS	2,0 x 50	3	3/paq.	A2001050T020

Columnas MetaGuard

Hardware	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Polaris C18-A	Polaris C8-A	Polaris C18-Ether	Polaris C8-Ether	Polaris Amide C18	Polaris NH2*	Polaris Si-A*
MG	4,6	10	A2002MG						A2004MG
MG	2,0	10					A2008MG2		A2004MG2
MG	4,6	5	A2000MG	A2010MG	A2020MG	A2030MG	A2006MG	A2013MG	A2003MG
MG	2,0	5	A2000MG2	A2010MG2	A2020MG2		A2006MG2	A2013MG2	A2003MG2
MG	4,6	3	A2001MG	A2011MG	A2021MG		A2007MG	A2014MG	A2005MG
MG	2,0	3	A2011MG2	A2011MG2	A2021MG2	A2031MG2	A2007MG2	A2014MG2	A2005MG2
MG	1,0	3	A2001MG1						

^{*}Columnas de fase normal.

Agilent TC-C18(2) y HC-C18(2)

Las columnas TC(2)/HC(2) de Agilent son una alternativa para los analistas que controlan el presupuesto, que necesitan columnas de LC tradicionales y que no necesitan los análisis individuales de las columnas ZORBAX, Pursuit o Polaris.

TC-C18(2)

Agilent TC-C18(2) es la opción ideal para muestras de extractos de productos naturales complejos, medicinas tradicionales y muestras medioambientales, así como para cualquier muestra en la que sea necesario analizar mezclas de compuestos polares y no polares, incluidos compuestos básicos fuertes.

- Carga de carbono inferior: 12%.
- Ideal para compuestos polares y separaciones en gradiente que empiecen en un % orgánico bajo o cubran una amplia gama orgánica.
- La elección perfecta para muestras disueltas en agua o mayoritariamente agua.
- Para su uso con las fases móviles más habituales, incluidos ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético (TFA) y tampones de fosfato con acetonitrilo y metanol como modificadores orgánicos.
- Rendimiento excelente a pH 2-8.

HC-C18(2)

Agilent HC-C18(2) es una C18 con más retención con una carga de carbono superior. Constituye una excelente alternativa a otras columnas con alta carga de carbono, y además, proporciona una forma de pico superior para compuestos básicos.

- Carga de carbono superior (17%): proporciona una mayor retención para compuestos moderadamente polares y no polares.
- Ideal para compuestos no polares y separaciones que empiecen en un % orgánico de nivel medio (como mínimo superior a 10% de orgánico).
- La elección perfecta para muestras industriales o muestras disueltas en disolventes orgánicos o mayoritariamente orgánicos.
- Estable en una amplísima gama de pH (pH 2-9) para conseguir una máxima flexibilidad.

Especificaciones de columnas Tamaño de Superficie Límites de Carga de Fase ligada específica temperatura Rango de pH* Desactivación carbono poro TC-C18(2) 170 Å 60 °C 12% 290 m²/g 2,0-8,0 Sí HC-C18(2) 170 Å 290 m²/g 60 °C 2,0-9,0 Sí 17%

Las especificaciones solo representan los valores típicos.

HC-C18(2) y TC-C18(2) de Agilent

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Referencia
4,6 x 250	5	588905-902
4,6 x 150	5	588915-902
4,6 x 250	5	588925-902
4,6 x 150	5	588935-902
4,6 x 12,5	5	520518-904
4,6 x 12,5	5	520518-905
		820999-901
	(mm) 4,6 x 250 4,6 x 150 4,6 x 250 4,6 x 150 4,6 x 12,5	(mm) (μm) 4,6 x 250 5 4,6 x 150 5 4,6 x 250 5 4,6 x 150 5 4,6 x 12,5 5

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

No olvide que tenemos ofertas especiales durante todo el año. Para obtener más información, visite **www.agilent.com/chem/specialoffers**



Columnas HPLC 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.

Especificaciones de columna	s
Rango de pH	1-14
Contenido del tampón	llimitado
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					
300Å	Proteínas/péptidos recombinados					
1000Å	Proteínas grandes					
4000Å	ADN/alta velocidad					

HPLC de marcador de ADN de 25 bp

Columna: PLRP-S

2,1 x 150 mm

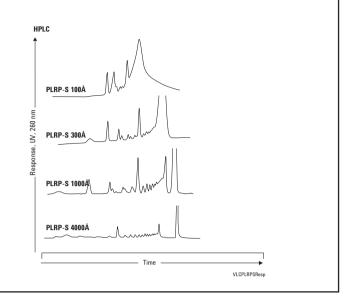
Fase móvil:

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

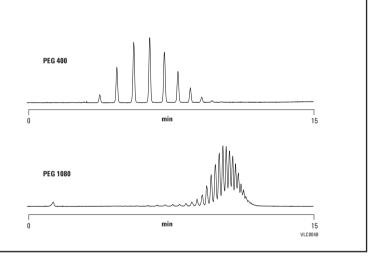
Volumen de

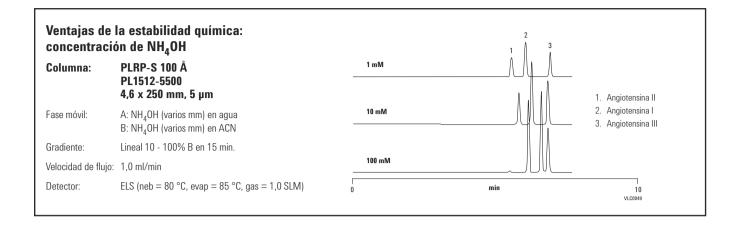
inyección: 10 μl

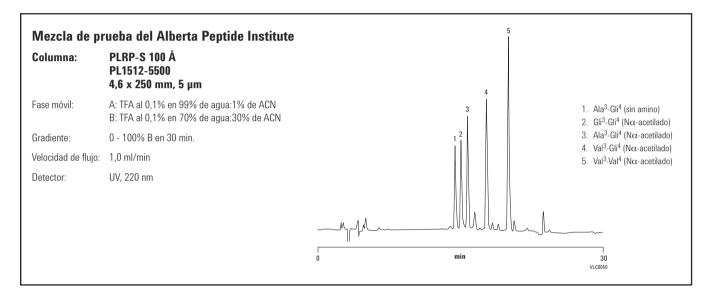
Concentración de

la muestra: 1 mg/ml

Detector: ELS (neb = $50 \, ^{\circ}$ C, evap = $70 \, ^{\circ}$ C, gas = $1.6 \, \text{SLM}$)







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

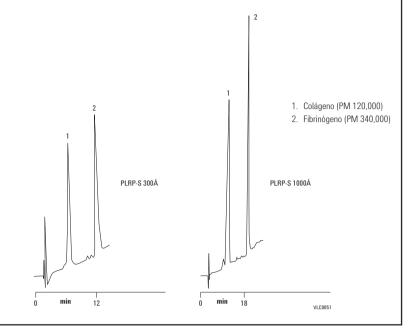
Fase móvil: A: TFA al 0,25% en agua

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



COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS

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		
PL	Precolumnas PLRP-S para 5 x 3 mm,	2/paq.	PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801
PL	Soporte de precolumna para cartuch	os de 3,0 x 5,0 mm	PL1310-0016	PL1310-0016	PL1310-0016	PL1310-0016

^{*}También hay disponibles columnas preparativas para la gama PLRP-S. Para mas información, vaya a las páginas 467–468.

Columnas HPLC preparativas

Opciones flexibles y económicas para escalado y preparación

Tanto si desea escalar un método analítico rutinario como mantener separaciones precisas en todas las fases de la producción, Agilent puede ayudarle a afrontar el reto.

- Las columnas LC Agilent preparativas son una solución preparativa económica diseñada con una alta capacidad de carga para purificar cantidades de entre miligramos y gramos de producto
- Las columnas ZORBAX PrepHT están diseñadas para un escalado rápido desde la gama de fases ZORBAX
- Las columnas preparativas escalables también están disponibles para las columnas Pursuit y Polaris
- Hay disponibles materiales a granel para todas las fases, que se pueden pedir mediante el proceso de pedido personalizado de Agilent, www.agilent.com/chem/customlc



Columnas LC Prep

Columnas LC Agilent Prep

- · Alta capacidad de carga para la máxima purificación de muestra
- Sencilla escalabilidad desde 4,6 mm a 50 mm de d.i. para un rápido desarrollo de métodos
- Cartuchos de 21,2 mm de d.i. de alta productividad para una rápida purificación
- Excepcional estabilidad de la columna y capacidad de carga hasta pH 10

Las columnas LC Agilent preparativas están diseñadas con una capacidad de carga alta para purificar cantidades de miligramos a gramos de productos. Las columnas preparativas están disponibles con diámetros internos de 21,2, 30 y 50 mm, y longitudes de 50 a 250 mm. Además, estas columnas están disponibles con tamaños de partícula de 5 y 10 µm y un nivel de eficacia muy alto en cualquier dimensión. Estas columnas son aptas para prácticamente todas las muestras preparativas.

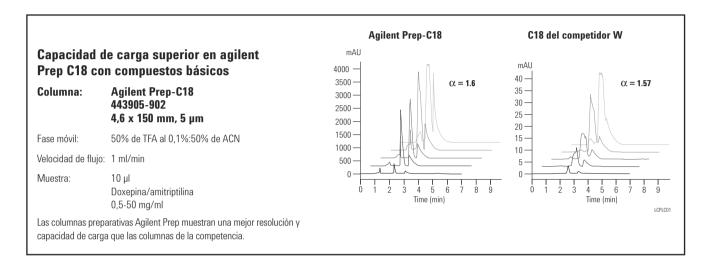
Las columnas preparativas con un diámetro interno de 21,2 mm están disponibles con el hardware de cartucho preparativo. Este hardware de cartucho fiable facilita el uso de las columnas con distintas longitudes para aumentar el nivel de carga de muestra. Las precolumnas se integran fácilmente en estas columnas para ofrecer un nivel de protección superior de la columna de análisis. Hay disponibles columnas de escalado con tamaños aptos para análisis (diámetro interno de 4,6 mm) para el desarrollo de métodos y la optimización antes del escalado a columnas de mayor tamaño. Además, hay disponible material a granel.

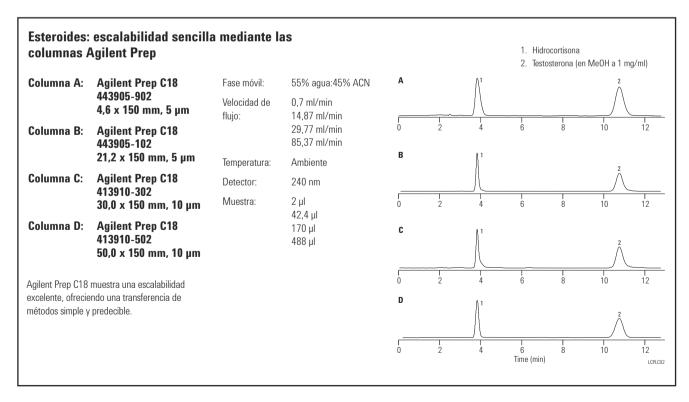
Las columnas preparativas de Agilent están disponibles con una fase ligada C18 apta para la purificación de una amplia variedad de compuestos polares y no polares. Además, hay disponibles columnas de sílice sin ligar.

Especificaciones de columnas Tamaño de Superficie Límites de Carga de Fase ligada poro específica temperatura Rango de pH Desactivación carbono C18 100 Å 60 °C* 2.0-10.0 Única 24% $400 \text{ m}^2/\text{g}$ 400 m²/g Sílice 100 Å 1,0-8,0 No disponible No disponible

Las especificaciones solo representan los valores típicos.

^{**}Los límites de temperatura de la sílice sin tratar vienen determinados por el pH de la fase móvil.





^{*}Límites de temperatura: 60 °C hasta pH 8, 40 °C a partir de pH 8-10.

Columnas LC Agilent Prep

lardwar	e Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (μm)	C18	Sílice
	s estándar (no requ				
	Escalar	4,6 x 250	10	440910-902	440910-90
	Escalar	4,6 x 150	10	443910-902	443910-90
	Escalar	4,6 x 100	10	449910-902	
	Escalar	4,6 x 250	5	440905-902	440905-90
	Escalar	4,6 x 150	5	443905-902	443905-90
	Escalar	4,6 x 100	5	449905-902	449905-90
	Escalar	4,6 x 50	5	446905-902	446905-90
columnas	s de cartucho Prep	HT (requieren kit	de conexiones 820400-901)*		
A	PrepHT	21,2 x 250	10	410910-102	410910-10
A	PrepHT	21,2 x 150	10	413910-102	413910-10
A	PrepHT	21,2 x 50	10	446910-102	
A	PrepHT	21,2 x 150	5	443905-102	443905-10
A	PrepHT	21,2 x 100	5	449905-102	449905-10
A	PrepHT	21,2 x 50	5	446905-102	446905-10
A	Conexione termin	ales PrepHT, 2/pad	Į.	820400-901	820400-90
olumnas	s estándar (no requ	iieren hardware e	especial)		
	Prep 30	30,0 x 250	10	410910-302	410910-30
	Prep 30	30,0 x 150	10	413910-302	413910-30
	Prep 30	30,0 x 100	10	419910-302	419910-30
	Prep 30	30,0 x 100	5	449905-302	449905-30
	Prep 30	30,0 x 50	5	446905-302	446905-30
	Prep 50	50,0 x 250	10	410910-502	410910-50
	Prep 50	50,0 x 150	10	413910-502	413910-50
	Prep 50	50,0 x 100	10	419910-502	419910-50
	Prep 50	50,0 x 100	5	449905-502	449905-50
alvacolu	ımnas (requieren s	oporte)			
A	Precolumnas PrepHT, 2/paq.	21,2 x 10	10	420212-902	420212-90
A	Hardware de pre	columna		820444-901	820444-90
A	Kit de hardware d	le precolumna exte	erna PrepHT	420420-901	420420-90
	Envase a granel (1 kg)	10	420910-902	420910-90

^{*}Todas las columnas de cartucho PrepHT requieren el kit de hardware, n.º de cartucho 820400-901. Si se desea utilizar una precolumna con las columnas de 21,2 mm de d.i., se requiere además el kit de hardware de precolumna PrepHT, n.º de referencia 820444-901. Si la precolumna es para una columna de 30 mm de d.i., se requiere el kit de hardware de precolumna externa, n.º de referencia 420420-901.

LC Y LC/MS



Columnas ZORBAX PrepHT

ZORBAX PrepHT

- Sencillo escalado de escala analítica a preparativa con las fases optimizadas ZORBAX
- Separaciones preparativas rápidas, hasta 2000 mg
- Partículas de 5 y 7 µm para alta eficacia y rendimiento
- Conexiones de ajuste manual sencillas de instalar y estancas hasta 5000 psi/350 bares

Las columnas Agilent ZORBAX PrepHT permiten conseguir unos niveles altos de pureza, recuperación y rendimiento. Estas columnas están disponibles con una amplia variedad de fases ligadas (Eclipse XDB, StableBond, Bonus-RP y Extend-C18) para optimizar la resolución y capacidad de carga en cualquier proceso.

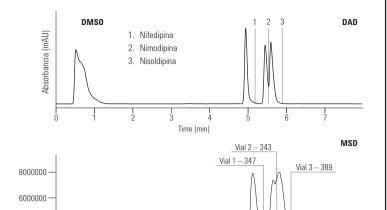
Las columnas ZORBAX PrepHT se rellenan con tamaños de partícula de 5 y 7 μ m para lograr una resolución muy alta. Esta resolución alta permite a su vez unos niveles altos de capacidad de carga, rendimiento y pureza de los compuestos. Las columnas con un diámetro mayor y las partículas ZORBAX, mecánicamente 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 las separaciones complejas en columnas de mayor tamaño (diámetro interno de 21,2 mm y longitud a partir de 150 mm), Agilent ha seleccionado el tamaño de partícula de 7 µm para lograr el equilibrio entre el alto rendimiento y la alta capacidad de carga.

Alta pureza y alta recuperación con las columnas ZORBAX PrepHT

Muestra: Fármacos contra la angina de pecho

Esta recogida de fracciones basada en la masa usando una columna ZORBAX SB-C18 muestra una alta pureza y alta recuperación de cada compuesto (nota de aplicación con referencia 5988-7113EN). La separación de tres fármacos contra la angina de pecho se realiza de forma satisfactoria en una sola serie con una alta recuperación y una pureza > 90%. Es posible realizar separaciones de hasta 2.000 mg dependiendo de la complejidad de la separación.



Time (min)

	Cantidad nifedipina [mg]	Cantidad nimodipina [mg]	Cantidad nisoldipina [mg]		
Fracción 1	18,90	0,11	0,16	Pureza nifedipina	98,6%
Fracción 2	0,29	17,66	0,77	Pureza nimodipina	94,4%
Fracción 3	0,49	1,66	18,36	Pureza nisoldipina	89,5%
Recuperación [mg]	19,68	19,43	19,29		
Recuperación [%]	101,3	10,.0	101,9		

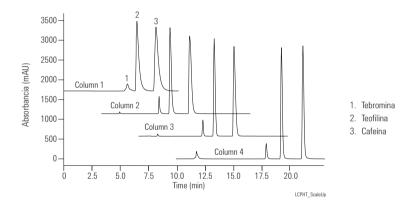
4000000 2000000 Las columnas ZORBAX PrepHT están diseñadas para un escalado rápido a partir de la escala preparativa sin perder el nivel de resolución. En el caso de las separaciones complejas en columnas de mayor tamaño (diámetro interno a partir de 21,2 mm y longitud a partir de 150 mm), Agilent ha seleccionado el tamaño de partícula de 7 µm para lograr el equilibrio entre el alto rendimiento y la alta capacidad de carga.

Escalado del nivel analítico al nivel preparativo en columnas ZORBAX SB-C18 con la misma bomba

Columna	Tamaño	Flujo (ml/min)	Inyección (μΙ)	Celda del detector	Referencia
Columna 1	50 x 150 mm	100	2200	0,3 mm, cuarzo	Columna personalizada
Columna 2	21,2 x 150 mm	18	400	0,3 mm, cuarzo	877150-102
Columna 3	9,4 x 150 mm	3,5	80	0,3 mm, cuarzo	883975-202
Columna 4	4,6 x 150 mm	0,85	2,0	3 mm SS	883975-902

Se pudo realizar un escalado de 4,6 mm a 50 mm de d.i. usando la misma bomba 1100 sin perder resolución. De esta manera se reduce el tiempo necesario para volver a desarrollar y ajustar el método, lo que aumenta la productividad.

Escalabilidad a PrepHT



ZORBAX PrepHT 80StableBond (necesita hardware 820400-901)

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	SB-C18 USP L1	SB-C8 USP L7	SB-Aq	SB-CN USP L10	SB Fenilo USP L11
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	877250-102	877250-106	877250-114	877250-105	877250-112
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	7	877150-102	877150-106	877150-114		
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	5	870150-902	870150-906	870150-914		
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 100	5	870100-902	870100-906	870100-914		
<u> </u>	Cartucho PrepHT	21,2 x 50	5	870050-902	870050-906	870050-914		
A	Precolumna PrepHT, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-920	820212-915	820212-933	820212-933	820212-915

ZORBAX PrepHT 300StableBond (necesita hardware 820400-901)

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (μm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-C3 USP L56	300SB-CN USP L10
<u> </u>	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	897250-102	897250-106	897250-109	897250-105
<u> </u>	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	7	897150-102	897150-106	897150-109	
<u> </u>	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	5	895150-902	895150-906	895150-909	
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 100	5	895100-902	895100-906	895100-909	
A .	Cartucho PrepHT	21,2 x 50	5	895050-902	895050-906	895050-909	
<u> </u>	Precolumna PrepHT, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-921	820212-918	820212-924	820212-924
	Hardware de precolumna Incluye conexión terminal de prec sellos (soporte de sellos y empuja		o y herramienta de inserción de	820444-901	820444-901	820444-901	820444-901
	Conexione terminales PrepHT, 2/	paq.		820400-901	820400-901	820400-901	820400-901

ZORBAX PrepHT Original (necesita hardware 820400-901)

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	ODS (C18) USP L1	C8 USP L7	CN USP L10	NH2 USP L8	SIL USP L3
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	877952-102	877952-106	877952-105	877952-108	877952-101
	Conexione terminales Prep	HT, 2/paq.		820400-901	820400-901	820400-901	820400-901	820400-901

WWW.AGILENT.COM/CHEM/LC

LC Y LC/MS

ZORBAX PrepHT Eclipse XDB (necesita hardware 820400-901)

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Eclipse XDB-C18 USP L1	Eclipse XDB-C8 USP L7
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	977250-102	977250-106
<u>A</u>	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	7	977150-102	977150-106
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	5	970150-902	970150-906
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 100	5	970100-902	970100-906
<u> </u>	Cartucho PrepHT	21,2 x 50	5	970050-902	970050-906
A	Pre-columna PrepHT, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-925	820212-926
	Hardware de precolumna Incluye conexión terminal de precolumna, sello po (soporte de sellos y empujador de sello)	olimérico y herramienta de inserci	ón de sellos	820444-901	820444-901
	Conexione terminales PrepHT, 2/paq.			820400-901	820400-901

ZORBAX PrepHT Bonus-RP y Extend-C18 (necesita hardware 820400-901)

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Bonus-RP USP L60	Extend-C18 USP L1
<u> </u>	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	878250-101	
<u> </u>	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	7	878150-101	
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	5	868150-901	770150-902
<u> </u>	Cartucho PrepHT	21,2 x 100	5	868100-901	770100-902
<u> </u>	Cartucho PrepHT	21,2 x 50	5	868050-901	770050-902
A	Precolumna PrepHT, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-928	820212-930
	Hardware de precolumna Incluye conexión terminal de precolumna, sello (soporte de sellos y empujador de sello)	polimérico y herramienta de inserci	ón de sellos	820444-901	820444-901
	Conexione terminales PrepHT, 2/paq.			820400-901	820400-901

ZORBAX PrepHT Rx-SIL (necesita hardware 820400-901)

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Rx-SIL** USP L3	Rx-C18 USP L1
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	877250-101	
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7		877967-102
A	Precolumna PrepHT, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-919	820212-914
	Hardware de precolumna			820444-901	820444-901
	Incluye conexión terminal de precolumna, sello (soporte de sellos y empujador de sello)	polimérico y herramienta de inserci	ón de sellos		
	Conexione terminales PrepHT, 2/paq.			820400-901	820400-901

Accesorios ZORBAX PrepHT

Hardware	Descripción	Referencia
<u> </u>	Hardware de precolumna	820444-901
<u> </u>	Conexione terminales PrepHT, 2/paq.	820400-901
A	Sellos de repuesto	820385-901

Columnas preparativas Pursuit y Pursuit XRs

- Columnas escalables a nivel preparativo para columnas Pursuit y Pursuit XRs
- Tamaños de partícula de hasta 10 µm y diámetros de columna de hasta 50 mm
- Sílice con gran superficie

Las columnas preparativas Pursuit y Pursuit XRs están diseñadas para una gran capacidad de carga con una gran superficie.

Productos naturales: capsaicina y dihidrocapsaicina en Pursuit XRs C18

Pursuit XRs C18 Columna A:

A6001150X046 4,6 x 150 mm, 3 µm

Columna B: **Pursuit XRs C18**

> A6000150X046 4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna C: **Pursuit XRs C18**

A3002150X046 4,6 x 150 mm, 10 µm

Fase móvil: CH₃CH:H₂0 - 70:30

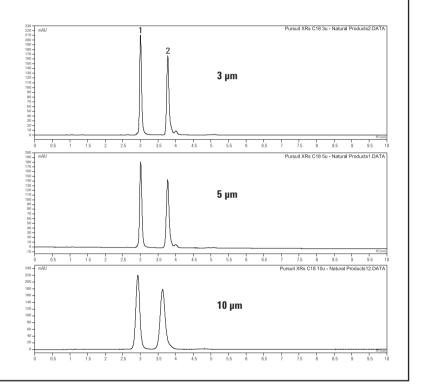
1,0 ml/min

Velocidad de flujo: Temperatura: Ambiente 220 nm Detector:

Muestra: 1. Capsaicina

2. Dihidrocapsaicina

Muestra una escalabilidad sencilla y lineal de productos naturales desde las columnas analíticas Pursuit XRs C18 de 3 µm y 5 µm a una columna preparativa de 10 µm.



COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS

Columnas preparativas Pursuit Agilent

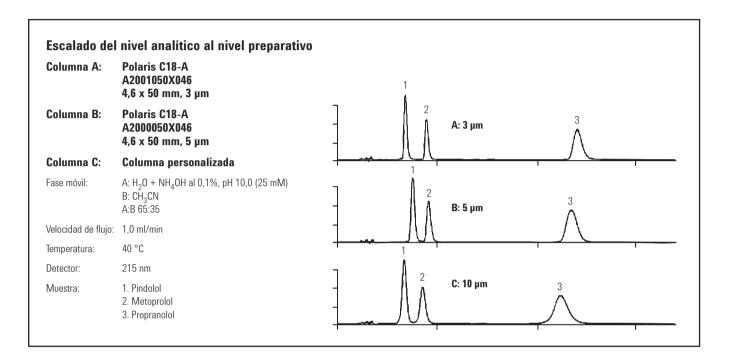
Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Pursuit C18 USP L1	Pursuit C8 USP L7	Pursuit Diphenyl	Pursuit PFP
10,0 x 250	5	A3000250X100	A3030250X100	A3040250X100	A3050250X100
10,0 x 250	10	A6002250X100	A3032250X100		
21,2 x 250	10	A6002250X212			
21,2 x 250	10	A6002250X212	A3032250X212		

Columnas preparativas Pursuit XRs Agilent

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Pursuit XRs C18 USP L1	Pursuit XRs C8 USP L7	Pursuit XRs Diphenyl USP L11	Pursuit XRs Si* USP L3
21,2 x 250	10	A6002250X212			A6004250X212
21,2 x 250	5	A6000250X212		A6020250X212	
21,2 x 150	5	A6000150X212	A6010150X212		
21,2 x 100	5	A6000100X212	A6010100X212	A6020100X212	
21,2 x 50	5	A6000050X212			
30,0 x 250	10	A6002250X300			A6004250X300
30,0 x 150	10	A6002150X300			
30,0 x 250	5	A6000250X300	A6010250X300		
30,0 x 150	5	A6000150X300			
30,0 x 100	5	A6000100X300			
50,0 x 250	10	A6002250X500		A6022250X500	A6004250X500

Columnas preparativas Polaris

- Columnas escalables a nivel preparativo para las fases Polaris
- Disponibles con d.i. de 10,0 y 21,2 mm, con partículas de hasta 10 μm



Columnas preparativas Polaris

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Polaris C18-A	Polaris C18-Ether	Polaris Amide C18	Polaris Si-A	Polaris C8-A	Polaris C8-Ether	Polaris NH2
10,0 x 250	5	A2000250X100	A2020250X100	A2006250X100		A2010250X100	A2030250X100	A2013250X100
21,2 x 250	5	A2000250X212	A2030250X212		A2003250X212	A2010250X212		A2013250X212
21,2 x 250	10	A2002250X212			A2004250X212			

Materiales a granel para preparación

Agilent dispone de materiales a granel para todas las fases. La mayoría de los materiales y cantidades se pueden pedir mediante el proceso de pedidos de columnas personalizadas y medios a granel, y se pueden producir en cantidades de varios kilos. Los presupuestos se pueden enviar en 48 horas. Consulte con su especialista en productos de Agilent cómo realizar un pedido personalizado.



Columnas Load & Lock

Sistemas de relleno de columnas preparativas de HPLC Load & Lock

Agilent ofrece una gama completa de sistemas de columna Load & Lock para laboratorio y LC preparativas de procesos. Están diseñados para permitirle un relleno sencillo y rápido de sus propias columnas preparativas de alto rendimiento. Esta es la solución adecuada para una gama de aplicaciones desde desarrollo (varios gramos) hasta aplicaciones de producción (varios kilos) de compuestos farmacéuticos, péptidos y productos naturales. Nuestras columnas Load & Lock tienen un sistema único de distribución de fluidos/muestras para maximizar la productividad. El sistema proporciona una compresión axial dinámica (DAC) y una compresión axial estática (SAC) "bloqueada", y ha sido diseñado para ofrecer un funcionamiento sencillo y mayor comodidad

Columnas de laboratorio Load & Lock

- La estación de empaguetado móvil soporta tres tamaños de columna diferentes
- Funciona con aire comprimido sin necesidad de alimentación eléctrica
- Empaquetado rápido y sencillo y desempaquetado en cuestión de minutos

Las columnas Agilent Load & Lock combinan una excelente estabilidad de lecho relleno con una distribución de flujo mejorada para ofrecer la purificación de mayor calidad con la máxima rapidez, flexibilidad y facilidad de uso. Tres tamaños de columna diferentes compatibles: 1 pulg., 2 pulg. y 3 pulg. de d.i. Debido a que la estación se alimenta con aire comprimido, esta solución es perfecta para los entornos peligrosos. La pinza de perno único de apertura rápida ofrece un relleno rápido y sencillo y un vaciado en cuestión de minutos.

Sistemas de relleno de columnas preparativas de HPLC Load & Lock

Descripción	Camisa de agua	Tamaño (mm)	Referencia
Columna Load & Lock 4001	No	25,0 x 500	PCG93LL500X25
	Sí	25,0 x 500	PCG93LL500X25WJ
	Kit de piezas de repuesto		PCG931AAKIT
Columna Load & Lock 4002	No	50,0 x 500	PCG93LL500X50
	Sí	50,0 x 500	PCG93LL500X50WJ
	Kit de piezas de repuesto		PCG932AAKIT
Columna Load & Lock 4003	No	75,0 x 500	PCG93LL500X75
	Sí	75,0 x 500	PCG93LL500X75WJ
	Kit de piezas de repuesto		PCG933AAKIT
Estación de empaquetado móvil (hidráulica mediante aire)			PCG93LLSTAND123

Columnas para otras técnicas de HPLC

Resultados reproducibles para fase normal, entre otras

La gama ampliada de columnas HPLC de Agilent admiten casi cualquier técnica y proporcionan la calidad de Agilent que necesita para todas sus aplicaciones.

- ZORBAX HILIC Plus: buena retención de analitos polares pequeños y alta sensibilidad para LC/MS en opciones de LC rápida de 1,8 µm.
- Columnas ZORBAX de fase normal: rellenos de sílice ligada y no ligada.
- Columnas ZORBAX de intercambio iónico: basadas en la resistente sílice ZORBAX, estable a pH 2-7.
- Columnas Hi-Plex para análisis de carbohidratos: columnas de intercambio de ligandos.
- Columnas Ultron ES Chiral: con dos fases estacionarias quirales basadas en proteínas complementarias, son una excelente opción para separaciones enantioméricas. Ideal para numerosas aplicaciones farmacológicas.







LC Y LC/MS



ZORBAX HILIC Plus

- Columna HILIC para la adecuada retención de pequeños analitos polares
- Basada en la sílice Eclipse Plus para obtener una excelente forma de pico
- Alta sensibilidad para aplicaciones LC/MS
- Recomendada para el método EPA 1694

Las columnas Agilent ZORBAX HILIC Plus son para aplicaciones de cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC), que se utilizan habitualmente para la retención y resolución de pequeños compuestos polares. Las columnas HILIC Plus son columnas de sílice no ligada basada en la sílice de alto rendimiento usada en columnas ZORBAX Eclipse Plus. Este tipo de sílice proporciona una excelente forma de pico, lo que es fundamental para muchos analitos básicos polares. Estas columnas se suministran preparadas para su uso en el modo de cromatografía de interacción hidrofílica (contienen la proporción exacta de acetonitrilo y agua) para reducir el amplio proceso de equilibrado requerido en las separaciones de cromatografía de interacción hidrofílica. Las columnas HILIC Plus están disponibles con un tamaño de partícula de 3,5 μ m para una resolución alta y con un diámetro interno de 2,1 y 4,6 mm para permitir la compatibilidad con espectrómetros de masas o detectores UV estándar.

Especificaciones de columnas			
Fase	Tamaño de poro	Superficie específica	Rango de pH
Sílice sin enlazar	95 Å	160 m ² /g	0-8,0

Las especificaciones solo representan los valores típicos.



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Poroshell 120 HILIC es muy similar a ZORBAX HILIC Plus. Para mas información, vaya a la página 228.

Separación de analitos del grupo 4 según el método EPA 1694 en una columna ZORBAX HILIC Plus

Columna: ZORBAX HILIC Plus

959793-901

2,1 x 100 mm, 3,5 μm

Fase móvil: 90% acetonitrilo:10% agua

Velocidad de flujo: 0,25 ml/min

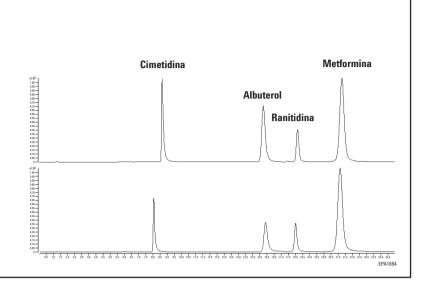
Gradiente: Gradiente lineal hasta un 55% de acetonitrilo

en 7 minutos Mantenido al 55%

Temperatura: 25 °C

Análisis duplicados para columna USCJP0004;

equilibrado de 10 min entre dos análisis.



ZORBAX HILIC Plus

Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Referencia
Analítica	4,6 x 100	3,5	959961-901
Analítica	4,6 x 50	3,5	959943-901
Diámetro estrecho	2,1 x 100	3,5	959793-901
Diámetro estrecho	2,1 x 50	3,5	959743-901

ZORBAX HILIC Plus RRHD, estable a 1200 bares

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Referencia
3,0 x 100	1,8	959758-301
3,0 x 50	1,8	959757-301
2,1 x 150	1,8	959759-901
2,1 x 100	1,8	959758-901
2,1 x 50	1,8	959757-901

Poroshell 120 HILIC Plus

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Referencia
2,1 x 50	2,7	699775-901
2,1 x 100	2,7	695775-901
2,1 x 150	2,7	693775-901
3,0 x 50	2,7	699975-301
3,0 x 150	2,7	693975-301
4,6 x 50	2,7	699975-901
4,6 x 100	2,7	695975-901
4,6 x 150	2,7	693975-901

Columnas de fase normal ZORBAX

Para cromatografía de fase normal, la línea de productos ZORBAX de Agilent ofrece opciones de empaquetado de sílice ligada y no ligada.

ZORBAX Rx-SIL

- Fabricada con microesferas de sílice porosa de gran pureza (> 99,995%)
 (el tamaño de poro es el espacio entre las micropartículas de sílice sólidas).
- Disponible en tamaños de partícula de 1,8 y 5 μm.
- Más resistente que otros tipos de sílice.
- Menos ácida que ZORBAX SIL, menor contenido de metal.
- Su baja acidez y menor contenido de metal hacen que ZORBAX Rx-SIL sea ideal para la separación de fase normal de compuestos polares que muestran una simetría de picos deficiente en sílices más ácidas.
- Útil para compuestos muy hidrofílicos con fases móviles muy orgánicas en modo HILIC.

ZORBAX Eclipse XDB-CN

- Fabricada con Rx-SIL de gran pureza.
- Excelente opción para aplicaciones de fase normal con compuestos básicos.
- Equilibra más rápidamente que ZORBAX Rx-SIL y se usa para muchas de las mismas aplicaciones de fase normal.

ZORBAX CN

- Monocapa de cianopropildimetilsilano ligada a ZORBAX SIL
- Se equilibra más rápido que ZORBAX SIL y se utiliza para muchas de las aplicaciones en fase normal
- Menos tendencia a obstruirse y menos sensible al agua que las columnas de sílice

Pursuit XRs Si

- Sílice de 100 Å para una mayor superficie y buena capacidad de carga
- Carga de carbono del 14,6%
- Disponible en 3 μm, 5 μm y 10 μm

Polaris NH2

- Sílice de 180 Á para una gran superficie y capacidad de carga
- Carga de carbono del 5,5%
- Disponible en 3 μm, 5 μm y 10 μm
- Polarmente modificada con recubrimiento de silanol
- Diseñada para condiciones muy acuosas

Polaris Si-A

- Sílice de 180 Å con la máxima superficie y capacidad de carga
- Disponible en 3 μm, 5 μm y 10 μm



Columna: **ZORBAX CN**

880952-705

4,6 x 250 mm, 5 µm

Fase móvil:

Primario: Heptano

Secundaria: 2-Metoxietanol/isopropanol (50/50)

Velocidad de flujo: 2 ml/min

Gradiente: 2-20% de secundario en 10 min, retención lineal en el 20%

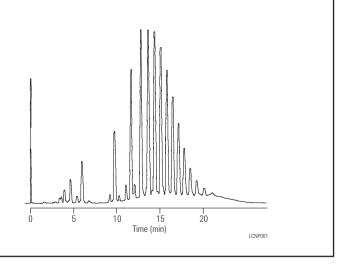
Temperatura: Detector:

50 °C 278 nm

Muestra:

Octilfenoxi (polietileno oxi)

Tensioactivo etanol (n=10)



Encontrará información sobre pedidos de Polaris en las páginas 300-303.

Encontrará información sobre pedidos de Pursuit en las páginas 291-297.

ZORBAX NH2

- Fase de amino-propil-silano ligada a ZORBAX SIL.
- Se usa para HPLC de fase normal e intercambio aniónico débil y así como de fase reversa de compuestos polares.
- Las vitaminas A y D se separan en modo de fase normal.
- Los carbohidratos y azúcares se separan en modo de fase reversa.

Especificaciones de columnas						
Fase	Tamaño de poro	Superficie específica	Rango de pH	Desactivación	Carga de carbono	
ZORBAX Rx-SIL	80 Å	180 m²/g	0-8,0	No		
ZORBAX Eclipse XDB-CN	80 Å	180 m²/g	2,0-8,0	Sí	4,3%	
ZORBAX SIL	70 Å	300 m ² /g	0-8,0	No		
ZORBAX CN	70 Å	300 m ² /g	2,0-7,0	Sí	7%	
ZORBAX NH2	70 Å	300 m ² /g	2,0-7,0	Sí	4%	



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Pursuit XRs de sílice es otra opción para la cromatografía de fase normal. Si desea más información, consulte las páginas 295-296.

Columnas de fase normal basadas en ZORBAX Rx-SIL

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (μm)	Rx-SIL** USP L3	Eclipse XDB-CN USP L10
Columnas e	estándar (no requieren hardware especial)				
	Semipreparativa	9,4 x 250	5	880975-201	
	Analítica	4,6 x 250	5	880975-901	990967-905*
	Analítica	4,6 x 150	5	883975-901	993967-905
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 100	1,8	828975-901	
	Resolución rápida HT, 600 bares	4,6 x 50	1,8	827975-902	
	Resolución rápida HT, 600 bares	3,0 x 100	1,8	828975-301	
	Resolución rápida HT, 600 bares	3,0 x 50	1,8	827975-301	
	Diámetro estrecho	2,1 x 150	5	883700-901	993700-905*
	Resolución rápida HT, 600 bares	2,1 x 100	1,8	828700-901	
	Resolución rápida HT, 600 bares	2,1 x 50	1,8	827700-901	
Salvacolum	nas (requieren soporte)				
Р	Precolumna, 2/paq.	9,4 x 15	5	820675-119	
CCC	Precolumna, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-919	820950-935
600	Precolumna, 4/paq.	2,1 x 12,5	5	821125-919	821125-935
Р	Kit de soporte de la precolumna	9,4 x 15		840140-901	
600	Kit de soporte de la precolumna			820999-901	820999-901
Columnas d	le cartucho PrepHT (requieren kit de conexiones	820400-901)			
Δ	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	877250-101	
A	Conexione terminales PrepHT, 2/paq.			820400-901	
A	Precolumna PrepHT, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-919	
A	Hardware de precolumna			820444-901	

^{*}Estas columnas se distribuyen con disolventes de fase reversa. Deben lavarse con isopropanol antes de su uso con disolventes de fase normal.

^{**}Estas columnas se pueden utilizar también en modo HILIC.

COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS

Columnas de fase normal basadas en ZORBAX Original SIL

Hardware	Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	SIL USP L3	CN USP L10	NH2 USP L8	Análisis de hidratos de carbono*
	estándar (no requieren hardware		particula (pili)		001 110	001 10	Cui Dollo
	Semipreparativa	9,4 x 250	5	880952-201	880952-205	880952-208	
	Analítica	4,6 x 250	5	880952-701	880952-705	880952-708	840300-908
	Analítica	4,6 x 150	5	883952-701	883952-705	883952-708	843300-908
	Diámetro estrecho	2,1 x 50	5			860700-708	
Salvacolun	nnas (requieren soporte)						
P	Precolumna, 2/paq.	9,4 x 15	5	820675-119	820675-111	820675-111	
ത്ത	Precolumna, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-901	820950-905	820950-908	820950-908
അ	Precolumna, 4/paq.	2,1 x 12,5	5				
P	Kit de soporte de la precolumna	9,4 x 15		840140-901	840140-901	840140-901	
660	Kit de soporte de la precolumna			820999-901	820999-901	820999-901	820999-901
Columnas o	de cartucho PrepHT (requieren ki	t de conexiones 820400	-901)				
A	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	877952-101	877952-105	877952-108	
A	Conexione terminales PrepHT, 2/p	paq.		820400-901	820400-901	820400-901	
A	Hardware de precolumna			820444-901			

^{*}Las columnas se distribuyen en acetonitrilo:agua y se prueban con una mezcla de azúcares.

Pursuit XRs Si, USP L3

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (μm)	Referencia	
Escala semipreparativa			
10,0 x 250	10	A6004250X100	
Escala analítica			
4,6 x 250	10	A6004250X046	
4,6 x 100	5	A6006100X046	
4,6 x 50	5	A6006050X046	
4,6 x 100	3	A6005100X046	
4,6 x 50	3	A6005050X046	
2,1 x 100	5	A6006100X021	
2,0 x 50	3	A6005050X020	
Escala preparativa			
50,0 x 250	10	A6004250X500	
30,0 x 250	10	A6004250X300	
21,2 x 250	10	A6004250X212	

Columnas HPLC Polaris

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Polaris NH2	Polaris Si-A
50,0 x 250	10		A2004250X500
21,2 x 250	10		A2004250X212
21,2 x 250	5	A2013250X212	A2003250X212
21,2 x 150	5		A2003150X046
21,2 x 50	5		A2003050X212
10,0 x 250	5	A2013250X100	

(continuación)

Columnas HPLC Polaris

Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Polaris NH2	Polaris Si-A
4,6 x 250	10		A2003250X046
4,6 x 250	5	A2013250X046	
4,6 x 150	5	A2013150X046	A2003150X046
4,6 x 100	5	A2013100X046	A2003100X046
4,6 x 50	5	A2013050X046	A2003050X046
4,6 x 250	3	A2014250X046	A2005250X046
4,6 x 150	3	A2014150X046	A2005150X046
4,6 x 100	3	A2014100X046	A2005100X046
4,6 x 50	3	A2014050X046	A2005050X046
4,0 x 250	5	A2013250X040	A2003250X040
4,0 x 150	5	A2013150X040	A2003150X040
4,0 x 125	5	A2013125X040	A2003125X040
3,0 x 250	5	A2013250X030	A2005250X046
3,0 x 150	5	A2013150X030	A2003150X030
3,0 x 100	5	A2013100X030	A2003100X030
3,0 x 50	5		A2003050X030
3,0 x 250	3	A2014250X030	A2003250X030
3,0 x 150	3	A2014150X030	A2005150X030
3,0 x 100	3	A2014100X030	A2005100X030
3,0 x 50	3	A2014050X030	A2005050X030
2,0 x 250	5	A2013250X020	A2003250X020
2,0 x 150	5	A2013150X020	A2003150X020
2,0 x 100	5	A2013100X020	A2003100X020
2,0 x 50	5	A2013050X020	A2003050X020
2,0 x 30	5	A2013030X020	A2003030X020
2,0 x 20	5	A2013020X020	A2003020X020
2,0 x 250	3	A2014250X020	A2005250X020
2,0 x 150	3	A2014150X020	A2005150X020
2,0 x 100	3	A2014100X020	A2005100X020
2,0 x 50	3	A2014050X020	A2005050X020
2,0 x 30	3	A2014030X020	A2005030X020
2,0 x 20	3	A2014020X020	A2005020X020

Columnas MetaGuard

Hardware	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Polaris NH2	Polaris Si-A
MG	4,6	10		A2004MG
MG	2,0	10		A2004MG2
MG	4,6	5	A2013MG	A2003MG
MG	2,0	5	A2013MG2	A2003MG2
MG	4,6	3	A2014MG	A2005MG
MG	2,0	3	A2014MG2	A2005MG2

Columnas de intercambio iónico

Columnas de intercambio iónico ZORBAX: SAX y SCX

- Las columna ZORBAX SAX y 300SCX se basan en la robusta sílice ZORBAX
- Estables a pH de 2 a 7
- Proporcionan rápidas separaciones de alta eficiencia
- Compatibles con modificadores de fases móviles orgánicas

Las columnas Agilent ZORBAX de intercambio iónico fuerte están disponibles como columnas de intercambio aniónico fuerte (SAX) e intercambio catiónico fuerte (300SCX). Cada columna se rellena con partículas esféricas de 5 µm de sílice enlazada para obtener un rendimiento óptimo.

El relleno ZORBAX SAX tiene una amina cuaternaria ligada permanentemente. Para producir este relleno, se usa un reactivo organosilánico trifuncional con el fin de maximizar la estabilidad con fases móviles acuosas. Esta columna es ideal para la separación de compuestos hidrosolubles, como los ácidos carboxílicos aromáticos y alifáticos, y los ácidos sulfónicos.

El relleno ZORBAX SCX contiene partículas de sílice con un tamaño de poro de 300 Å enlazadas químicamente a un grupo ácido sulfónico aromático. Esta columna se usa para la separación de compuestos hidrosolubles básicos y biomoléculas.

Especificaciones de columnas					
Fase ligada	Tamaño de poro	Superficie específica	Rango de pH	Funcionalidad	Presión máxima
ZORBAX SAX	70 Å	300 m ² /g	2,0-7,0	Amina cuaternaria	350 bares
ZORBAX 300SCX	300 Å	50 m²/g	2,0-7,0	Ácido sulfónico	350 bares

Las especificaciones solo representan los valores típicos

LC Y LC/MS

Análisis de medicamentos para la tos y el resfriado con ZORBAX 300SCX

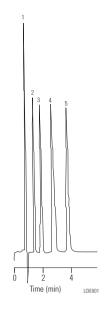
Columna: ZORBAX SCX 300 Å

880952-704 4,6 x 250 mm, 5 μm

Fase móvil: NaH₂PO₄ 100 mM (pH 6,5)

Velocidad de flujo: 3 ml/min Temperatura: 20 °C Detector: 210 nm

Muestra: Remedios para el resfriado



- 1. Pirilamina
- 2. Teofilina
- 3. Guayacolato de glicerilo
- 4. Cafeína
- 5. Fenilefrina

Columnas de intercambio iónico ZORBAX: SAX y SCX

	Tamaño	Tamaño de partícula		·
Descripción	(mm)	(µm)	SAX	300SCX
Semipreparativa	9,4 x 250	5	880952-203	880952-204
Analítica	4,6 x 250	5	880952-703	880952-704
Analítica	4,6 x 250	5		880952-714*
Analítica	4,6 x 150	5	883952-703	883952-704
Analítica	4,6 x 150	5		883952-714*
Analítica	4,6 x 50	5		846952-704
Solvent Saver	3,0 x 50	5		860700-304
Diámetro estrecho	2,1 x 150	5		883700-704
Diámetro estrecho	2,1 x 150	5		883700-714*
Diámetro estrecho	2,1 x 50	5		860700-704
Kit de soporte de la precolumna			820999-901	820999-901

^{*}Estas columnas se han modificado para proporcionar una retención menor para quien lo necesite en su aplicación.

Columnas Hi-Plex para análisis de carbohidratos

- Columna de Agilent recomendada para el análisis exacto a baja presión de carbohidratos típicos por sus innovadoras funciones para la realización de análisis cuantitativos y cualitativos con la máxima fiabilidad.
- Posibilidad de usar valores inferiores de presión de funcionamiento de columna para obtener un rendimiento repetible y prolongar la vida útil de la columna.
- Amplia variedad de configuraciones de columnas y de contraiones de ligandos para cumplir los requisitos de las aplicaciones para compuestos orgánicos complejos.
- Simplificación de los requisitos del sistema HPLC mediante las funciones de separación isocrática y
 excelente reproducibilidad entre lotes para obtener resultados de máxima confianza.
- Posibilidad de uso con agua o ácido diluido como eluyente.
- Disponible para tamaños de partículas de 8 μm y 10 μm para una amplia variedad de tipos de medios USP (L17, L19, L34 y L58).

Los métodos LC de complejidad mínima para la detección de azúcares, alditoles y ácidos orgánicos requieren columnas de intercambio de ligandos con una fase móvil sencilla. No obstante, la amplia distribución de los tamaños de las partículas de las resinas convencionales puede tener como resultados niveles altos de retropresión y una disminución de la productividad.

Las columnas Hi-Plex se han diseñado con partículas sulfonadas monodispersas, lo que permite obtener un medio de alto rendimiento ideal para los métodos USP más estrictos para el análisis de carbohidratos, alcoholes y ácidos orgánicos. A diferencia de la columna ZORBAX NH2 usada para el análisis de carbohidratos con una fase móvil de acetonitrilo: agua, las columnas Hi-Plex de intercambio de ligandos ofrecen una resolución superior para los monosacáridos y disacáridos debido a la interacción de los grupos hidroxilo con el ión metálico asociado a la función de intercambio catiónico del grupo ácido sulfónico.

Especificaciones de columnas			
Fase ligada	Rango de temperatura	Velocidad de flujo (ml/min)	Eluyente
Hi-Plex Ca	80-90 °C	0,6	Agua
Hi-Plex Ca USP L19	80-90 °C	0,3	Agua
Hi-Plex Pb	70-90 °C	0,6	Agua
Hi-Plex H para carbohidratos	60-70 °C	0,6	Agua
Hi-Plex H para ácidos orgánicos	40-60 °C	0,6	Ácido diluido
Hi-Plex Ca (Duo)	80-90 °C	0,6	Agua
Hi-Plex K	80-90 °C	0,6	Agua
Hi-Plex Na (Octo)	80-90 °C	0,6	Agua, sodio, hidróxido
Hi-Plex Na	80-90 °C	0,3	Agua



LC Y LC/MS

335

Selección de columna Hi-Plex

Los métodos USP determinan el tipo de medio HPLC y la dimensión de la columna que se debería utilizar para el análisis. La gama de productos Hi-Plex cuenta con cuatro materiales que cumplen con las definiciones USP.

Tipo de medio L17

Resina de intercambio catiónico fuerte compuesta por un copolímero de estireno-divinilbenceno entrecruzado sulfonado en forma de hidrógeno, de 7 a 11 µm de diámetro; Hi-Plex H.

Tipo de medio L19

Resina de intercambio catiónico fuerte compuesta por un copolímero de estireno-divinilbenceno entrecruzado sulfonado en forma de calcio, de 9 µm de diámetro; Hi-Plex Ca y Hi-Plex Ca (Duo).

Tipo de medio L34

Resina de intercambio catiónico fuerte compuesta por un copolímero de estireno-divinilbenceno entrecruzado sulfonado en forma de plomo, de unos 9 µm de diámetro; Hi-Plex Pb.

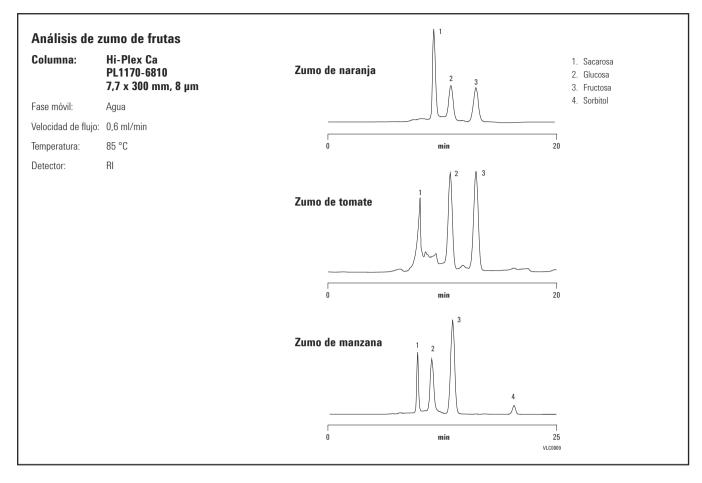
Tipo de medio L58

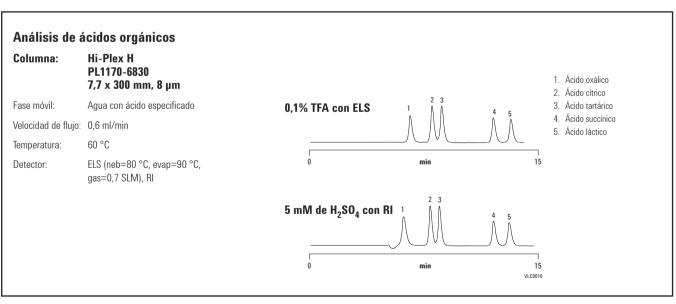
Resina de intercambio catiónico fuerte compuesta por un copolímero de estireno-divinilbenceno entrecruzado sulfonado en forma de sodio, de 6 a 30 µm de diámetro; Hi-Plex Na y Hi-Plex Na (Octo).

Además de los tamaños estándares de columna, el medio también se empaqueta en unas dimensiones específicas de columna para los diferentes métodos USP, incluidos análisis de azúcar y alcohol.

Para algunas áreas de aplicación, existen diferentes opciones de columnas y la elección de la Hi-Plex más apropiada dependerá de la matriz de muestra y la composición exacta de los carbohidratos.

Selección de columna Hi-Plex	
Área de aplicación	Columna recomendada
Métodos USP que especifican medios L17	Hi-Plex H
Métodos USP que especifican medios L19	Hi-Plex Ca y Hi-Plex Ca (Duo)
Métodos USP que especifican medios L34	Hi-Plex Pb
Métodos USP que especifican medios L58	Hi-Plex Na y Hi-Plex Na (Octo)
Monosacáridos y disacáridos	Hi-Plex Ca
	Hi-Plex Pb
	Hi-Plex H
	Hi-Plex Na (Octo)
Separaciones anoméricas	Hi-Plex Ca
Ácidos orgánicos	Hi-Plex H
Alcoholes	Hi-Plex Ca
	Hi-Plex K
	Hi-Plex H
	Hi-Plex Pb
Adulteración de alimentos y bebidas	Hi-Plex Ca y Hi-Plex Pb
Aditivos alimentarios	Hi-Plex Ca y Hi-Plex Pb
Productos lácteos	Hi-Plex Ca y Hi-Plex H
Productos lácteos azucarados	Hi-Plex Pb
Productos de confitería	Hi-Plex Ca y Hi-Plex Pb
Zumo de fruta	Hi-Plex Ca
Vino	Hi-Plex H
Hidrosilato de pulpa de madera (de celulosa/hemicelulosa)	Hi-Plex Pb
Monitorización de la fermentación	Hi-Plex H
Oligosacáridos	Hi-Plex Na
Muestras con una alta concentración de sal (melaza)	Hi-Plex Na (Octo)
Oligosacáridos < Dp5 con monosacáridos	Hi-Plex Ca (Duo)
Siropes de maíz	Hi-Plex Na





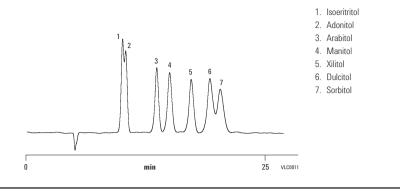
Métodos USP para alcoholes de azúcar

Columna: Hi-Plex Ca USP L19

PL1570-5810 4,0 x 250 mm, 8 μm

Fase móvil: Agua
Velocidad de flujo: 0,3 ml/min
Temperatura: 60 °C

Detector: Índice de refracción



Jarabe de maíz, Hi-Plex

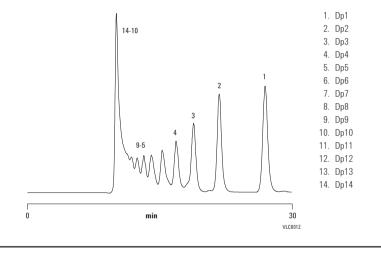
Columna: Hi-Plex Na PL1171-6140

7,7 x 300 mm, 10 µm

Fase móvil: Agua
Presión: 11 bares
Velocidad de flujo: 0,3 ml/min

Temperatura: 80 °C

Detector: Índice de refracción



COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS

Análisis de edulcorantes en columnas Hi-Plex Ca

Columna: Hi-Plex Ca

PL1170-6810 7,7 x 300 mm, 8 μm

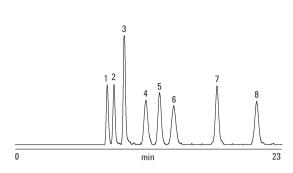
Fase móvil: Agua

Velocidad de flujo: 0,6 ml/min

Temperatura: 85 °C

Detector: ELSD

Las columnas Hi-Plex Ca son ideales para analizar la mayoría de los edulcorantes, incluidos glucosa y fructosa (monosacáridos), sacarosa (disacárido) y manitol y sorbitol (alcoholes de azúcar).



- 1. Estaquiosa
- 2. Rafinosa
- 3. Sacarosa
- 4. Glucosa
- 5. Galactosa
- 6. Fructosa
- 7. Manitol
- 8. Sorbitol

Análisis de carbohidratos en columnas Hi-Plex H

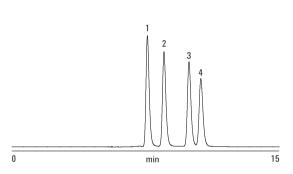
Columna: Hi-Plex H

PL1170-6830 7,7 x 300 mm, 8 μm

Fase móvil: Agua
Velocidad de flujo: 0,6 ml/min
Temperatura: 70 °C

Detector: Índice de refracción

Las columnas Hi-Plex H ofrecen picos pronunciados y reproducibles para el análisis de carbohidratos de muestras con niveles altos de ácidos orgánicos. No obstante, tenga en cuenta que algunos azúcares (como la rafinosa) pueden experimentar hidrólisis ácida aunque se use agua como eluyente.



- 2. Lactosa
- 3. Glucosa
- 4. Fructosa

Análisis de azúcares con matriz compleja de sodio

Columna: Hi-Plex Na (Octo)

PL1170-6840 7,7 x 300 mm, 8 μm

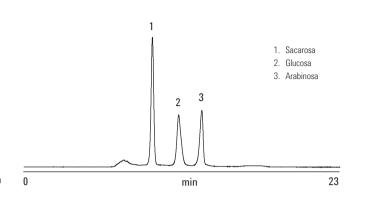
Fase móvil: NaOH 0,015 M Velocidad de flujo: 0,6 ml/min

Temperatura:

Detector: Índice de refracción

85 °C

Los productos alimentarios con altos niveles de iones de sodio se analizan mejor con columnas Hi-Plex Na (Octo). Se ahorra tiempo cuando se usa hidróxido de sodio como eluyente con PAD, porque elimina la necesidad de la adición de una columna posterior de hidróxido de sodio.



Método USP para sorbitol

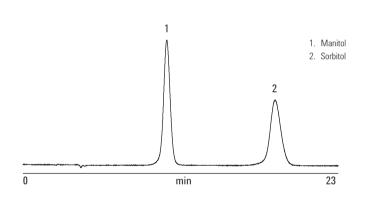
Columna: Hi-Plex Pb USP L34

PL1170-2820 7,7 x 100 mm, 8 µm

Fase móvil: Agua
Velocidad de flujo: 0,7 ml/min
Temperatura: 50 °C

Detector: Índice de refracción

Método USP para sorbitol (un alcohol de azúcar y edulcorante alternativo) usando manitol como patrón interno. Las columnas Hi-Plex Pb están recomendadas para bebidas alcohólicas que también contienen glicerol, así como productos lácteos edulcorados.



Columnas Hi-Plex para análisis de carbohidratos

Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Contenido entrecruzado (%)	Contraión	Referencia
Hi-Plex Ca USP L19	4,0 x 250	8	8	Ca ²⁺	PL1570-5810
Hi-Plex Ca (Duo)	6,5 x 300	8	8	Ca ²⁺	PL1F70-6850
Hi-Plex Ca	7,7 x 300	8	8	Ca ²⁺	PL1170-6810
Hi-Plex Pb USP L34	7,7 x 100	8	8	Pb ²⁺	PL1170-2820
Hi-Plex Pb	7,7 x 300	8	8	Pb ²⁺	PL1170-6820
Hi-Plex K	7,7 x 300	8	8	K ⁺	PL1170-6860
Hi-Plex H	6,5 x 300	8	8	H ⁺	PL1F70-6830
Hi-Plex H	7,7 x 300	8	8	H ⁺	PL1170-6830
Hi-Plex H USP L17	7,7 x 100	8	8	H ⁺	PL1170-2823
Hi-Plex Na	7,7 x 300	10	4	Na ⁺	PL1171-6140
Hi-Plex Na (Octo)	7,7 x 300	8	8	Na ⁺	PL1170-6840

Precolumnas Hi-Plex

Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Contenido entrecruzado (%)	Contraión	Referencia
Hi-Plex Ca	7,7 x 50	8	8	Ca ²⁺	PL1170-1810
Hi-Plex Ca (Duo)	7,7 x 50	8	8	Ca ²⁺	PL1170-1850
Hi-Plex Pb	7,7 x 50	8	8	Pb ²⁺	PL1170-1820
Hi-Plex K	7,7 x 50	8	8	K ⁺	PL1170-1860
Hi-Plex H	7,7 x 50	8	8	H ⁺	PL1170-1830
Hi-Plex Na	7,7 x 50	10	4	Na ⁺	PL1171-1140
Hi-Plex Na (Octo)	7,5 x 50	8	8	Na ⁺	PL1170-1840

Precolumnas Hi-Plex, 2/paq.

Descripción	Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Contenido entrecruzado (%)	Contraión	Referencia
Hi-Plex Ca	3,0 x 5,0	8	8	Ca ²⁺	PL1670-0810
Hi-Plex Ca (Duo)	3,0 x 5,0	8	8	Ca ²⁺	PL1670-0850
Hi-Plex Pb	3,0 x 5,0	8	8	Pb ²⁺	PL1670-0820
Hi-Plex K	3,0 x 5,0	8	8	K ⁺	PL1670-0860
Hi-Plex H	3,0 x 5,0	8	8	H ⁺	PL1670-0830
Hi-Plex Na	3,0 x 5,0	10	4	Na ⁺	PL1671-0140
Hi-Plex Na (Octo)	3,0 x 5,0	8	8	Na ⁺	PL1670-0840
Soporte de precolumna para cartu	uchos de 3,0 x 5,0 mm				PL1310-0016

Guía rápida de las designaciones de la USP para columnas de HPLC

La Farmacopea estadounidense (USP) es una fuente estándar para muchos métodos farmacéuticos. La USP especifica las columnas por materiales de relleno en lugar de por fabricante. La USP ha actualizado sus definiciones de L1; a continuación encontrará las definiciones más recientes y las columnas aplicables. Las columnas de resolución rápida y alto rendimiento (RRHT) se pueden seleccionar ahora en las categorías L1, L7 y L11.

Método USP	Materiales de relleno USP	Columna	Tamaño de partícula (µm)	Tamaño de poro (Å)
	Octadecil silano químicamente ligado a	Poroshell 120 EC-C18	2,7	120
	micropartículas cerámicas o de sílice porosa,	Poroshell 120 SB-C18	2,7	120
	de 1,5 a 10 μm de diámetro,	Poroshell 300SB-C18	5	300
	o una varilla monolítica	Poroshell 300 Extend-C18	5	300
		ZORBAX Eclipse Plus C18	1,8; 3,5; 5	95
		ZORBAX Eclipse XDB-C18	1,8; 3,5; 5; 7	80
		ZORBAX StableBond SB-C18	1,8; 3,5; 5; 7	80, 300
		ZORBAX Rx-C18	3,5; 5	80
		ZORBAX Extend-C18	1,8; 3,5; 5; 7	80, 300
		ZORBAX ODS	3, 5, 7	70
		ZORBAX ODS Classic	5	70
		Pursuit XRs C18	3; 5; 10	100
		Pursuit C18	3; 5; 10	200
		Pursuit C18-A	3; 5; 10	180
		Polaris C18-Ether	3; 5	200
		SepTech ST60 C18	10	60
		SepTech ST150 C18	10	150
		Agilent Prep C18	5; 10	100
L3	Partículas de sílice porosa, de 1,5 a 10 µm de	ZORBAX HILIC Plus	1,8; 3,5	95
	diámetro, o una varilla de sílice monolítica	ZORBAX SIL	5	70
		ZORBAX Rx-SIL	3,5; 5; 7	80, 300
		Pursuit XRs Si	3; 5; 10	100
		Polaris Si-A	5; 10	180
		Agilent Prep	5; 10	100
L7	Octil silano químicamente ligado a partículas de	Poroshell 120 EC-C8	2,7	120
	sílice totalmente porosa, de 1,5 a 10 μm de	Poroshell 120 SB-C8	2,7	120
	diámetro, o una varilla de sílice monolítica	Poroshell 300SB-C8	5	300
		ZORBAX Eclipse Plus C8	1,8; 3,5; 5	95
		ZORBAX Eclipse XDB-C8	1,8; 3,5; 5; 7	80
		ZORBAX SB-C8	1,8; 3,5; 5; 7	80, 300
		ZORBAX Rx-C8	1,8; 3,5; 5; 7	80
		ZORBAX C8	5	70
		Pursuit XRs C8	3; 5; 10	100
		Pursuit C8	3; 5; 10	200
		Polaris C8-A	3; 5	180
		Polaris C8-Ether	3; 5	200

(continuación)

COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS

Designac	iones de la USP			
Método USP	Materiales de relleno USP	Columna	Tamaño de partícula (µm)	Tamaño de poro (Å)
L8	Capa básicamente monomolecular de aminopropilsilano químicamente ligado a un soporte de gel de sílice completamente poroso, de 3 a 10 µm de diámetro	ZORBAX NH2 Polaris NH2	5 5	70 180
L9	Gel de sílice totalmente poroso, irregular o esférico, con recubrimiento de intercambio catiónico ácido, fuerte y químicamente ligado, de 3 a 10 µm de diámetro	ZORBAX SCX	5, esférico	300
L10	Grupos nitrilo químicamente ligado a partículas de sílice porosa, de 3 a 10 μm de diámetro	ZORBAX CN ZORBAX SB-CN ZORBAX Eclipse XDB-CN	5 3,5; 5 3,5; 5	70 80, 300 80
L11	Grupos fenilo químicamente ligados a partículas de sílice porosa, de 1,5 a 10 μm de diámetro	ZORBAX Eclipse XDB Phenyl ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl ZORBAX Phenyl Poroshell 120 Phenyl-Hexyl Pursuit XRs DiPhenyl Pursuit DiPhenyl	5 1,8; 3,5; 5 3,5 2,7 3; 5; 10 3; 5; 10	70 95 80 120 100 200
L13	Grupos trimetilsilano químicamente ligado a partículas de sílice porosa, de 3 a 10 µm de diámetro	ZORBAX TMS	5	70
L14	Gel de sílice con recubrimiento de intercambio aniónico de amonio cuaternario básico fuerte químicamente ligado, de 5 a 10 µm de diámetro	ZORBAX SAX IonoSpher A	5 5	70 120
L17	Resina de intercambio catiónico fuerte compuesta por un copolímero de estireno-divinilbenceno entrecruzado sulfonado en forma de hidrógeno, de 7 a 11 µm de diámetro	Hi-Plex H	8	No disponible
L19	Resina de intercambio catiónico fuerte compuesta por un copolímero de estireno-divinilbenceno entrecruzado sulfonado en forma de calcio, de 9 µm de diámetro	Hi-Plex Ca Hi-Plex Ca (Duo)	8	No disponible No disponible
L20	Grupos dihidroxipropano químicamente ligados a partículas de sílice porosa, de 3 a 10 μm de diámetro	LiChrospher Diol	5	No disponible

(continuación)

Método USP	Materiales de relleno USP	Columna	Tamaño de partícula (µm)	Tamaño de poro (Å)
L21	Copolímero rígido esférico con estireno-divinilbenceno, de 5 a 10 µm de diámetro	PLRP-S	3, 5, 8, 10, 10-15, 15-20, 50	100
		PLRP-S	3, 5, 8, 10, 10-15, 15-20, 50	300
		PLRP-S	5, 8, 10, 30, 50	1000
		PLRP-S	5, 8, 10, 30, 50	4000
	-	PLgel	3; 5; 10; 20	50, 100, 500, 10 ³ , 10 ⁵ , 10 ⁵ , 10 ⁶ , MIXTO
L22	Resina de intercambio catiónico de gel de poliestireno poroso con grupos de ácido sulfónico, con un tamaño de unas 10 µm	Hi-Plex H	8	No disponible
L25	Relleno con capacidad para separar compuestos con un rango de PM de 1.000 a 5.000 Da (determinado por el óxido de polietileno), aplicado a polímeros hidrosolubles neutros, aniónicos y catiónicos. Se observó que una base de resina de polimetacrilato, entrecruzada con éter polihidroxilado (la superficie contenía algunos grupos funcionales carboxilo residuales) era apropiada	PL aquagel-OH	5; 8	30
L33		ZORBAX GF-250	4	150
	tamaño molecular en el rango de 4.000 a 500.000 Da. Es esférico, con base de sílice y procesado para	Bio SEC-3	3	100, 150, 300
	proporcionar estabilidad de pH	Bio SEC-5	5	100, 150, 300, 500 1000, 2000
	-	ProSEC	5	300

(continuación)

COLUMNAS PARA SEPARACIONES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS

Método USP	Materiales de relleno USP	Columna	Tamaño de partícula (µm)	Tamaño de poro (Å)
L34	Resina de intercambio catiónico fuerte compuesta por un copolímero de estireno-divinilbenceno entrecruzado sulfonado en forma de plomo, de aproximadamente 9 µm de diámetro	Hi-Plex Pb	8	No disponible
L35	Relleno de sílice esférica estabilizada con circonio con fase ligada monocapa molecular hidrófila (tipo diol) y con un tamaño de poro de 150 Å	ZORBAX GF-250 ZORBAX GF-450	4 6	150, 300
L43	Grupos de pentafluorofenilo químicamente ligados a partículas de sílice mediante un separador de propilo, de 5 a 10 µm de diámetro	Pursuit PFP	3; 5	200
L45	Beta-ciclodextrina ligada a partículas de sílice porosa, de 5 a 10 µm de diámetro	ChiraDex quirales	5	100
L50	Resina multifunción con funciones de retención de fase reversa e intercambio aniónico fuerte. Resina de etilvinilbenceno entrecruzado con copolímero de divinilbenceno al 55%, de 3 a 15 µm de diámetro y una superficie no inferior a 350 m²/g. El sustrato está recubierto con partículas de látex funcionalizadas con amonio cuaternario, compuestas por estireno entrecruzado con divinilbenceno	ZORBAX 300SCX	5	300
L52	Resina de intercambio catiónico débil compuesta de sílice porosa con grupos sulfopropilo, de 5 a 10 µm de diámetro	IonoSpher C	5	120
L53	Resina de intercambio catiónico débil compuesta por etilvinilbenceno entrecruzado con un copolímero de divinilbenceno al 55%, de 3 a 15 µm de diámetro. La superficie del sustrato está injertada con monómeros funcionalizados con ácido carboxílico y/o ácido fosfórico. Capacidad no inferior a 400 µEq/columna	Bio SAX	3; 5; 10	300
L56	Propil silano químicamente ligado a partículas de sílice totalmente porosa, de 3 a 10 µm de diámetro	ZORBAX SB-C3	3; 5	80
L57	Proteína de reconocimiento quiral, ovomucoide, químicamente ligada a partículas de sílice, de unos 5 µm de diámetro, con un tamaño de poro de 120 Å	Ultron ES-0VM	5	120
L58	La resina de intercambio catiónico fuerte es un copolímero de estireno-divinilbenceno entrecruzado sulfonado en forma de sodio, de unos 6 a 30 µm de diámetro	Hi-Plex Na Hi-Plex Na (Octo)	10 8	No disponible No disponible
L60	Gel de sílice porosa esférica, de 10 µm de diámetro, cuya superficie se ha modificado covalentemente con grupos alquilamida y se ha desactivado	ZORBAX Bonus-RP Poroshell 120 Bonus-RP Polaris Amide-C18	1,8; 3,5; 5 2,7 3; 5	80 120 180

Soluciones oligo

Cartuchos de ADN StratoSpheres

- Mejores resultados de productos completos que los de cristal de poro controlado
- El soporte inerte evita reacciones secundarias y mejora la calidad del producto final
- El tamaño de poro de 1 000 Å permite una síntesis de secuencias de oligonucleótidos más larga, hasta 70 mer
- Se ofrece un Certificado de análisis con cada lote

Los cartuchos de síntesis de ADN StratoSpheres facilitan la obtención de oligonucleótidos de ADN sintéticos de alta calidad. El relleno de poliestireno de alto rendimiento ofrece un producto más completo que los soportes de cristal de poro controlado convencionales. Asimismo, la naturaleza hidrofóbica del poliestireno contribuye al acoplamiento y minimiza las ligaduras no específicas para maximizar la eficacia de producción. Estos cartuchos de alto rendimiento ofrecen una síntesis de oligonucleótidos muy económica, así como el alto rendimiento que se espera de los soportes de poliestireno macroporoso. Los cartuchos de síntesis de ADN StratoSpheres ofrecen una flexibilidad máxima en entornos de alto número de muestras analizadas.



Cartuchos de ADN StratoSpheres

Cartuchos de ADN StratoSpheres

Descripción	Tamaño (nmol)	Referencia
StratoSpheres DNA DMT bz dA	40	PL3554-1602dAbz
	200	PL3554-4602dAbz
StratoSpheres DNA DMT bz dC	40	PL3554-1602dCbz
	200	PL3554-4602dCbz
StratoSpheres DNA DMT ac dC	40	PL3554-1602dCac
	200	PL3554-4602dCac
StratoSpheres DNA DMT ibu dG	40	PL3554-1602dGibu
	200	PL3554-4602dGibu
StratoSpheres DNA DMT dmf dG	40	PL3554-1602dGdmf
	200	PL3554-4602dGdmf
StratoSpheres DNA DMT dT	40	PL3554-1602dT
	200	PL3554-4602dT



Cartuchos TOP, TOP-DNA y TOP-RNA

Cartuchos TOP, TOP-DNA y TOP-RNA

- Rendimiento y pureza superiores mediante resinas poliméricas exclusivas y tampones optimizados
- Rendimiento y pureza típicos superiores al 85% y al 90% respectivamente para eliminar la necesidad de cargar las muestras en varios pasos
- Cantidad de reactivo dos tercios inferior en los cartuchos TOP Agilent en comparación con los productos de otros fabricantes

Los cartuchos TOP, TOP-DNA y TOP-RNA son una solución de alto rendimiento sencilla y económica para la purificación de oligonucleótidos de ADN y ARN. La gama de productos TOP incluye una exclusiva placa de 96 pocillos con tubos desmontables, un procedimiento de flujo por gravedad o vacío simplificado y una resina polimérica exclusiva. Esta innovadora tecnología de Agilent ofrece un rendimiento y una pureza superiores para los oligonucleótidos estándar con una escala de síntesis de hasta 1 µmol y una longitud de 150 mer. La flexibilidad está garantizada mediante un procedimiento sencillo de flujo por gravedad (para facilitar el proceso y reducir el coste inicial) o vacío (para reducir el tiempo requerido para el proceso de purificación completo a menos de 15 minutos). Se permite un tiempo de secado de hasta 10 minutos entre cada paso sin que esto afecte a los resultados de la purificación (el tiempo de secado posterior al paso de acondicionamiento con acetonitrilo debe ser mínimo).

Cartuchos TOP y TOP-DNA

- Procesamiento rápido para aumentar la eficacia
- Preparación de muestras previa al procedimiento de HPLC para maximizar la utilidad
- Procedimientos de flujo por gravedad (TOP) o vacío (TOP-DNA) para garantizar la flexibilidad

TOP-DNA es una solución de alto rendimiento sencilla, rápida y económica para la purificación de oligonucleótidos con una longitud de hasta 150 mer. La gran capacidad de carga permite purificar oligonucleótidos de ADN con escalas de síntesis de 200 nmoles a 1 µmol. Además, TOP-DNA se puede usar para la preparación de muestras antes de la purificación mediante HPLC en el caso de los oligonucleótidos de máxima calidad de un análisis a gran escala. La resina polimérica exclusiva es compatible con la carga directa de soluciones de oligonucleótidos desprotegidos mediante un reactivo AMA.



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Para obtener más información sobre TOP RNA, consulte esta Nota de aplicación online: *High Performance RNA oligonucleotide purification using Agilent TOP-RNA* (n.º de publicación 5990-8974EN), **www.agilent.com/chem/library**

Cartuchos TOP-RNA

- Una solución completa para que la purificación de oligos de ARN mejore la productividad
- Alto rendimiento y de fácil automatización, ahorrando tiempo al usuario
- Menor uso de reactivos para reducir los costes operativos

Con TOP-RNA podrá purificar oligos de ARN cortos y largos, de ARNsi de hasta 21 mer y ARN largo de hasta 60-80 mer. La alta capacidad de ligando purifica los oligos de ARN hasta 1 µmol. La resina polimérica exclusiva y el protocolo validado permiten una desprotección del grupo de 2- hidróxilo sin retirar el grupo 5-tritilo.

Cartuchos TOP, TOP-DNA y TOP-RNA

Descripción	Masa de sorbente (mg)	Volumen (ml)	Unidad	Referencia
Tubos para placa de pocillos TOP-RNA, escala de 1 µmol	100	1,8	96/paq.	7573915C
Tubos para placa de pocillos TOP-RNA, escala de 1 µmol	100	1,8	20 x 96/paq.	7573915B
Tubos para placa de pocillos TOP-DNA, escala de 1 µmol	150	1,8	96/paq.	7572915C
Cartucho TOP	500	6	30 St.	12102301
Cartucho TOP	300	6	30 St.	12102300
Mega Bond Elut TOP	3 g	20	20 St.	14251921
Tubos para placa de pocillos TOP-DNA, escala de 1 µmol	150	1,8	20 x 96/paq.	7572915B
Tubos para placa de pocillos TOP, escala de 50 nmol	25	1,8	96/paq.	75719025
Tubos para placa de pocillos TOP, escala de 200 nmol	50	1,8	96/paq.	75719050
Tubos para placa de pocillos TOP, escala de 200 nmol, alta capacidad	100	1,8	96/paq.	7571901C
Almohadilla de sellado para placa de 96 pocillos			50/paq.	5133005
Bandeja de residuos desechable			25/paq.	5133001
Placa base reutilizable TOP				75400001
Placa base VersPlate			100/paq.	75700001

LC Y LC/MS

Tabla de contenido

Columnas para biomoléculas

Guía de selección de biocolumnas	351
Separaciones de biomoléculas	353
Técnicas de UHPLC/HPLC	364
HPLC de fase reversa	365
ZORBAX 300Å StableBond	367
ZORBAX Extend-C18 de 300 Å	376
Poroshell 300	380
Poroshell 120	385
PLRP-S	387
Columnas y consumibles para análisis de aminoácidos (AAA)	394
Cromatografía de intercambio iónico	397
Columnas HPLC Agilent Bio MAb	399
Columnas HPLC Agilent Bio IEX	402
Columnas de intercambio aniónico fuerte PL-SAX	406
Columnas de intercambio catiónico fuerte PL-SCX	410
Columnas HPLC de intercambio iónico Agilent Bio-Monolith	412
Cromatografía de exclusión por tamaño	416
Agilent Bio SEC-3	418
Agilent Bio SEC-5	424
ProSEC 300S	428
Columnas de filtración en gel ZORBAX GF-250 y GF-450	431
Cromatografía por afinidad	434
Columnas para HPLC de proteínas A Agilent Bio-Monolith	434
Reactivos proteómicos y sistema de fraccionamiento de proteínas de Agilent	437
Sistema de eliminación por afinidad múltiple	438
Kits de iniciación del sistema de eliminación por afinidad múltiple	441
Columnas de proteínas de alta recuperación	442

D	esarrollo de métodos	444
	Métodos para columnas ZORBAX	444
	Métodos de LC/MS de fase reversa	446
	Métodos para columnas de intercambio iónico Bio	447
	Métodos para columnas de SEC	449
	Métodos para columnas capilares de alta sensibilidad	451
C	olumnas capilares y nanocolumnas	452
	Análisis 2-D LC/MS con columnas capilares y nanocolumnas LC ZORBAX	456
	ZORBAX Bio SCX Serie II	458
C	olumnas MicroBore (1,0 mm d.i.)	461
P	urificación – HPLC preparativa	464
	ZORBAX PrepHT	466
	PLRP-S para preparación para proceso	467
	PL-SAX y PL-SCX para la preparación del proceso	472
	Columnas VariTide RPC para péptidos sintéticos	475
	VariPure IPE	476
Α	péndices	477
	Bibliografía sobre las columnas BioHPLC	477
	Citas bibliográficas sobre ZORBAX 300	485
	Citas bibliográficas sobre Poroshell 300	486
	Citas bibliográficas sobre PLRP-S	486
	Citas bibliográficas sobre PL-SAX	487
	Citas bibliográficas sobre PL-SCX	487

Desde la simplificación de la muestra hasta el análisis, las columnas y consumibles para biomoléculas de Agilent se integran fácilmente en el flujo de trabajo y ofrecen una solución completa, reproducible y de gran calidad.

En esta sección del catálogo también encontrará sugerencias y consejos sobre la elección del disolvente, la modificación en fase móvil y la optimización, así como ejemplos de separaciones que le ayudarán en la selección de la columna y el desarrollo de métodos.

Agilent dispone de soluciones completas para sus necesidades. Entre ellas se encuentra el sistema LC Agilent 1260 Infinity Bio-inert con un paso de muestra libre de metales, y el sistema de LC Agilent 1290 Infinity, diseñado para proporcionar la mayor velocidad, resolución y ultrasensibilidad para aplicaciones de UHPLC, incluidas las que utilizan columnas de poro extragrande de 300 Å Agilent ZORBAX StableBond. La estructura de las biomoléculas puede ser compleja, pero su análisis se simplifica con las columnas, los sistemas y los consumibles para HPLC de Agilent.



¿Qué es una biomolécula?

Las biomoléculas son compuestos formados por organismos vivos. Su tamaño varía desde pequeños lípidos a grandes polinucleótidos como ADN o ARN. Pueden ser aminoácidos monoméricos o carbohidratos poliméricos.

En esta sección, tratamos la separación de:

Proteínas: separación basada en el tamaño mediante cromatografía de exclusión por tamaño, carga con cromatografía de intercambio iónico e hidrofobicidad con cromatografía de fase reversa.

Péptidos: biocolumnas para el análisis y purificación de la gama completa de péptidos, incluidos péptidos hidrófobos, hidrófilos, básicos y ácidos, de todos los tamaños. Asimismo, columnas para el mapeo de péptidos mediante HPLC y UHPLC.

Oligonucleótidos de ADN/ARN: opciones de fase reversa e intercambio iónico para oligos de ADN/ARN, con tamaños de poro que abarcan el rango completo de tamaños de oligonucleótidos, desde pequeños oligos sintéticos a grandes plásmidos.

Aminoácidos: las columnas de HPLC para el análisis de aminoácidos ZORBAX Eclipse son una solución muy eficaz para el análisis rápido de 24 aminoácidos. Los tiempos de análisis típicos van desde 14 minutos con una columna de 75 mm, a 24 minutos con una columna de 150 mm.

Polímeros de amplia distribución: análisis de compuestos lípidicos, polisacáridos y de administración de fármacos mediante patrones y columnas poliméricas para determinar la composición y distribución del peso molecular. Estos compuestos tienden a mostrar amplias distribuciones del peso molecular frente a otras biomoléculas que tienen distribuciones limitadas del peso molecular o un peso molecular definido.

WWW.AGILENT.COM/CHEM/LC LC Y LC/MS

351

¿Qué es una biocolumna?

Las columnas de biocromatografía, o biocolumnas, son columnas de cromatografía de líquidos que se utilizan para la separación de compuestos biológicos como péptidos y proteínas, oligonucleótidos y polinucleótidos, y otros complejos moleculares y biomoléculas. Las biocolumnas están diseñadas específicamente para el análisis de biomoléculas con tamaños de poro grandes para acomodar los tamaños de molécula mayores. Los medios se han diseñado para reducir al mínimo el ligado no específico de analitos y así mejorar la recuperación. Los mecanismos de separación se eligen para conservar la función biológica de modo que no se pierda bioactividad durante el análisis, o bien para desnaturalizar de forma deliberada con fines de caracterización de la estructura primaria.

Normalmente, para separar biomoléculas se usaba HPLC. Ahora, técnicas avanzadas como UHPLC se están convirtiendo en una opción popular porque para la caracterización de biomoléculas son necesarios varios mecanismos de separación. Por este motivo, Agilent ofrece productos químicos avanzados desarrollados específicamente para la separación de biomoléculas mediante técnicas de exclusión por tamaño, fase reversa, intercambio iónico y afinidad, todas ellas tratadas en esta sección del catálogo.



Separaciones de proteínas

Las proteínas son moléculas complejas que requieren varias técnicas para obtener su caracterización completa. Existen como estructuras tridimensionales y es esta estructura la que les confiere su actividad biológica.

La secuencia de las cadenas de aminoácidos define la estructura primaria de la proteína. El enlace de hidrógeno entre los aminoácidos de la estructura primaria confiere una estructura secundaria, normalmente en forma de hélices alfa y láminas plegadas. Una serie posterior de interacciones (enlaces de hidrógeno, iónicas, hidrófobas y puentes disulfuro) entre las regiones de la estructura secundaria crea la estructura terciaria de la proteína, o conformación tridimensional. Si la proteína está compuesta por varias cadenas de aminoácidos, la interacción entre estas cadenas forma la estructura cuaternaria.

Si observamos los métodos de caracterización de proteínas, en la **Figura 1** se muestra claramente que se necesitarán técnicas que caractericen la proteína en su estado nativo, sin alterar las estructuras terciarias y cuaternarias. También serán necesarias técnicas para la evaluación de la secuencia de aminoácidos primaria, en un estado completamente desnaturalizado, prescindiendo de la estructura tridimensional.

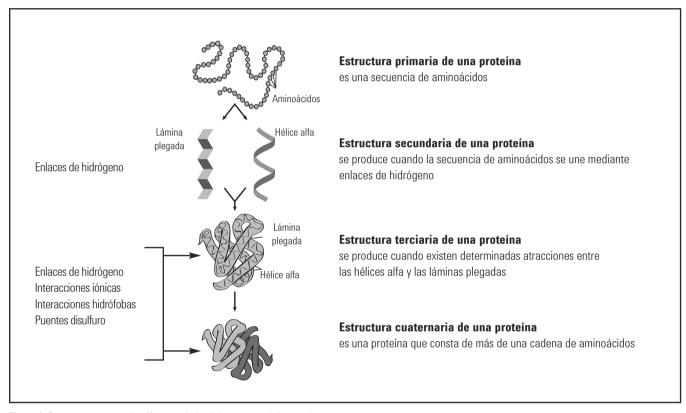


Figura 1. Esquema que muestra los diferentes niveles de la estructura de las proteínas.

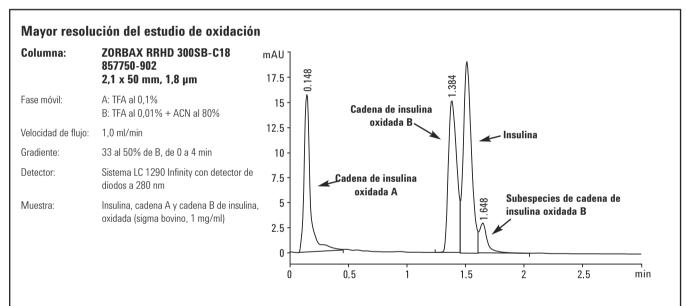
El entorno de la proteína puede influir, estabilizar o alterar la estructura de la proteína. Los factores a tener en cuenta son el pH, la temperatura, las concentraciones de sal, el contenido de disolventes acuosos u orgánicos y, en el caso de algunas proteínas, la presencia de una pequeña molécula o ión metálico. La estructura de una proteína también se puede alterar con el uso de agentes reductores de grupos sulfhidrilo para romper los enlaces -S-S-, o de agentes caotrópicos como la urea o el clorhidrato de guanidina. Debido a la complejidad de las proteínas y a las interacciones intramoleculares que determinan la estructura tridimensional, también es de esperar que se produzcan asociaciones intermoleculares entre moléculas proteícas, otras entidades moleculares y las superficies con las que entran en contacto. El resultado puede ser complejos proteicos, agregación (con posible precipitación) y sedimentación en las superficies, incluidas las del sistema y la columna de HPLC. Por consiguiente, debe tener en cuenta la manipulación y el entorno en el que se mantiene la proteína.

WWW.AGILENT.COM/CHEM/LC LC Y LC/MS

353

Guía de selección de columnas para proteínas

Aplicación	Técnica	Columnas Agilent	Notas
Análisis de estructura primaria	Separaciones por UHPLC/HPLC de fase reversa	ZORBAX 300SB Poroshell 300SB PLRP-S	Las separaciones de fase reversa requieren (o causan) la desnaturalización de la proteína para obtener información detallada sobre la secuencia de aminoácidos o las modificaciones de aminoácidos (incluidas las modificaciones postraduccionales).
Análisis de agregación	Separaciones de exclusión por tamaño	Bio SEC-3 Bio SEC-5 ProSEC 300S ZORBAX GF	En los productos biofarmacéuticos de proteínas, los agregados son de suma importancia porque pueden inducir una respuesta inmunológica y pueden afectar a la composición de la formulación final.
Análisis de variantes de carga	Separaciones por intercambio iónico	Agilent Bio IEX Agilent Bio MAb PL-SAX PL-SCX	La proporción de aminoácidos individuales determina la carga neta de la molécula de proteína. El pH en el que la carga neta es cero se denomina punto isoeléctrico (pl). Cuando el pH de la solución es menor que el pl, la proteína tiene carga positiva (ácido) y cuando el pH de la solución es mayor que el pl, la proteína tiene carga negativa (base). Para el análisis por intercambio iónico, recomendamos que el pH del eluyente tenga al menos una unidad de pH de diferencia en relación con su pl. El análisis de proteínas mediante columnas de intercambio iónico requiere una fase móvil tamponada y bien gradientes salinos o bien gradientes de pH para la elución.



Es evidente que las cadenas de insulina oxidadas se resuelven desde la insulina en menos de 2 minutos utilizando la columna Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18 2,1 x 50 mm, 1,8 μ m.

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

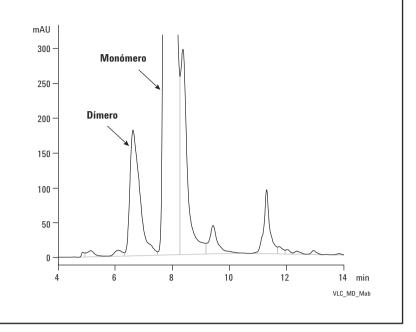
Isocrática: Tampón A al 0-100% desde 0-30 min

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Muestra: Anticuerpo monoclonal de CHO humanizado,

5 mg/ml, intacto

Inyección: $5 \mu I$ Detector: UV, 220 nm Temperatura: Ambiente



Separación de las variantes de carga de la IgG1 humana con gradiente de pH

Columna: Agilent Bio MAb

5190-2411

2,1 x 250 mm, 5 μm

Fase móvil: A: Na₂HPO₄ 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: $\mathrm{Na_2HPO_4}\ 5\ \mathrm{mM}$, tamponada pH 5,5 y B: $\mathrm{NA_2HPO_4}\ 40\ \mathrm{mM}$

(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

Anticuerpos monoclonales (MAb) IgG1 humanizados (solución en stock 5 mg/ml) derivados de células de CHO

Instrumento: Sistema Agilent 1200 SL con detector de diodos

carboxipeptidasa-B mAU 50 40 30 20 10 12 11 11.5 12.5 13 13.5 14.5 min 10 10.5

Antes de la digestión de

Después de la digestión de

carboxipeptidasa-B

Escisión del extremo C del MAb: se incubaron MAb humanizados IgG1, 1 Img/ml en tampón de Imag/ml en tampón

Separaciones de péptidos

Mapeo de péptidos

El mapeo de péptidos es necesario para la caracterización de proteínas. Se utiliza para confirmar la identidad de una proteína y para identificar y cuantificar las modificaciones postraduccionales.

En primer lugar, se digiere la proteína purificada mediante una enzima, como la tripsina, obteniendo diversos fragmentos de péptido. La especificidad de la escisión enzimática produce una huella de péptidos que es característica de esa proteína. La identificación de los fragmentos de péptidos confirma la identidad de la proteína, y los cambios en el perfil de la digestión del péptido se pueden usar para identificar las modificaciones postraduccionales que pudieran haber ocurrido en dicha proteína durante los procesos de fabricación o purificación.

La UHPLC/HPLC de fase reversa es la técnica preferida para el análisis de digestiones de péptidos mediante detección por MS o UV. La LC/MS se utiliza para la identificación de los fragmentos de péptidos y la determinación de la cobertura de la secuencia, mientras que la LC/UV se utiliza con más frecuencia para la comparación de asignaciones de péptidos en las áreas de monitorización y control de calidad. Para lograr una resolución suficiente para la cuantificación e identificación, se recomiendan longitudes de columna mayores o partículas con una eficacia mayor, como las columnas ZORBAX RRHD de menos de 2 μm , o las columnas Poroshell superficialmente porosa.

Los digestos peptídicos son mezclas complejas, y para una cobertura completa, como por ejemplo la resolución de péptidos individuales, se requiere una columna que proporcione una alta resolución y eficiencia. Los fragmentos de péptidos pueden variar en tamaño e hidrofobicidad, por lo que Agilent ofrece varias columnas para el mapeo de péptidos. Existen tres opciones: tamaño de poro, tamaño de partícula y superficialmente porosa y completamente porosa para separaciones por UHPLC.

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS



La electroforesis capilar es una técnica alternativa a la cromatografía de líquidos para la separación de mezclas de péptidos complejas. Encontrará más información en el siguiente caso de estudio:

An orthogonal view of peptide mapping – analysis of bovine serum albumin digest using capillary electrophoresis and quadrupole time-of-flight mass spectrometry (n.º de publicación 5990-7631EN).

www.agilent.com/chem/library

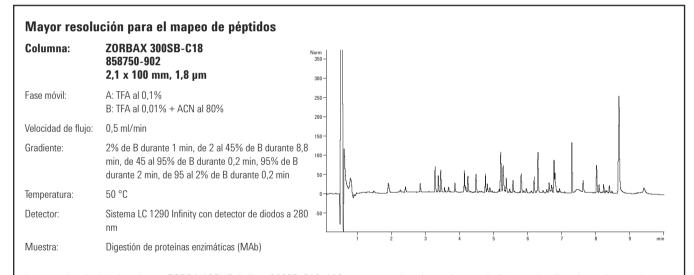


Selección de columnas para el mapeo peptídico

Opciones de columna recomendadas según la presión máxima de la columna o sistema y el tamaño y la hidrofobicidad del péptido.

Aplicación	Técnica	Columnas Agilent	Notas
Fragmentos grandes de péptidos/núcleo hidrófobo	HPLC de 400 bares	Poroshell 300 SB-C18 ZORBAX 300SB-C18, 3,5 µm	Sistema LC Agilent 1200 Infinity
de péptido	UHPLC de 600 bares	Poroshell 300 SB-C18	Sistema LC 1260 Infinity y sistema LC cuaternario Agilent 1260 Infinity Bio-Inert
	UHPLC de 1.200 bares	ZORBAX RRHD 300SB-C18, 1,8 µm Poroshell 300 SB-C18	Sistema LC Agilent 1290 Infinity
Péptidos hidrófobos pequeños	HPLC de 400 bares	Poroshell 120 EC-C18 Poroshell 120 SB-C18	Sistema LC Agilent 1200 Infinity
	UHPLC de 600 bares	Poroshell 120 EC-C18 Poroshell 120 SB-C18	Sistema LC 1260 Infinity y sistema LC cuaternario Agilent 1260 Infinity Bio-Inert
	UHPLC de 1.200 bares	Poroshell 120 EC-C18 Poroshell 120 SB-C18	Sistema LC Agilent 1290 Infinity

Si tiene un sistema LC Agilent 1290 Infinity en su laboratorio, le recomendamos comenzar con una columna ZORBAX RRHD 300SB-C18 para analizar el mapa peptídico.



La mayor longitud de la columna ZORBAX RRHD Agilent 300SB-C18, 100 mm, proporciona la máxima resolución para las digestiones de proteínas. En esta muestra, el tiempo total de análisis, incluido el lavado y el equilibrado, es inferior a quince minutos.

www.agilent.com/chem/lc LC Y LC/MS

357

Separación de péptidos naturales y sintéticos

Para el aislamiento y análisis de péptidos naturales y sintéticos se necesitan columnas y medios de purificación. La determinación de la pureza y la recuperación del péptido aislado o purificado requieren el uso de columnas de gran eficacia. La técnica que se usa principalmente para el aislamiento, la purificación y el análisis es la HPLC de fase reversa.

Se analizan la pureza de las fracciones de un flujo de trabajo de purificación o aislamiento y el producto peptídico final mediante columnas de gran eficacia. Agilent ofrece una gama de columnas para proporcionar una separación óptima de la gama completa de péptidos debido a que los péptidos variarán en tamaño, carga o hidrofobicidad, igual que las aplicaciones de mapeo de péptidos. Para péptidos pequeños, por lo general inferiores a 10 restos de aminoácidos, se utilizan los materiales de UHPLC de poro más pequeño, pero si el péptido es mayor, contiene más restos de aminoácidos o existe en forma dimérica o polimérica, las columnas con un tamaño de poro superior a 300 Å proporcionan mejores separaciones gracias a la mejora de la transferencia de la masa.



Selección de columnas para péptidos naturales y sintéticos

Columnas recomendadas para el análisis de péptidos naturales o sintéticos, determinadas por la máxima presión en la columna/sistema.

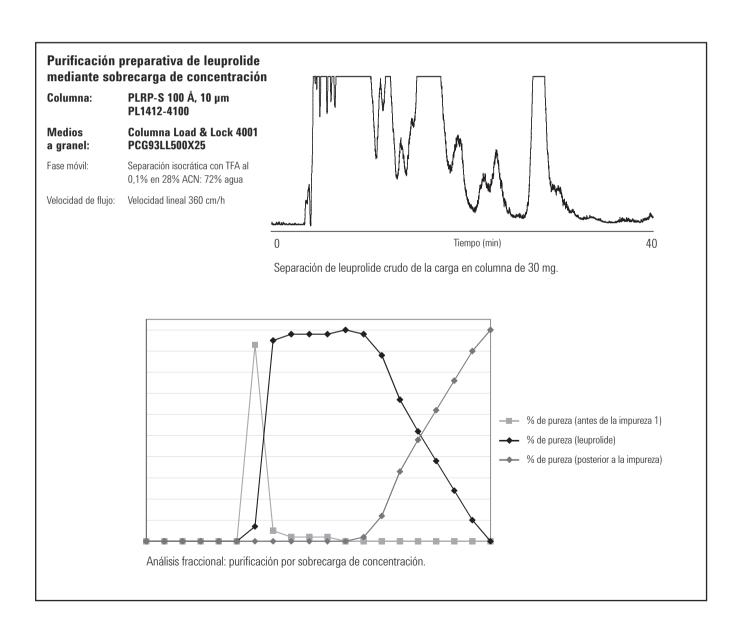
Aplicación	Técnica	Columnas Agilent	Notas
Péptidos normalmente con más de 10 restos de aminoácidos	HPLC de 400 bares	Poroshell 300 SB-C18 ZORBAX 300SB-C18, 3,5 μm PLRP-S	Sistema LC Agilent 1200 Infinity
	UHPLC de 600 bares	Poroshell 300 SB-C18	Sistema LC 1260 Infinity y sistema LC cuaternario Agilent 1260 Infinity Bio-Inert
	UHPLC de 1200 bares	ZORBAX RRHD 300SB-C18, 1,8 μm	Sistema LC Agilent 1290 Infinity
Péptiodos normalmente con menos de 10 restos de aminoáciodos	HPLC de 400 bares	Poroshell 120 EC-C18 Poroshell 120 SB-C18 PLRP-S	Sistema LC Agilent 1200 Infinity
ammoaciouos	UHPLC de 600 bares	Poroshell 120 EC-C18 Poroshell 120 SB-C18	Sistema LC 1260 Infinity y sistema LC cuaternario Agilent 1260 Infinity Bio-Inert

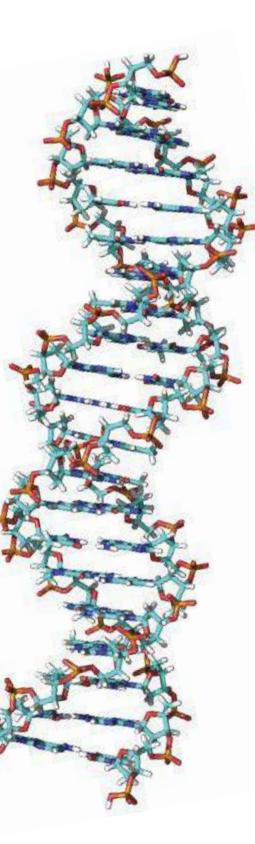
Las columnas analíticas de fase reversa son también la opción preferida para purificar grandes cantidades de péptidos diferentes o grandes cantidades de un péptido concreto. Hay disponibles columnas preparativas preenvasadas de alta eficiencia y partículas pequeñas para conseguir una purificación de alta eficiencia en pequeñas cantidades de péptidos, así como columnas de partículas mayores y medios a granel para purificaciones a gran escala, tal como se muestra en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Columnas Agilent para la purificación de péptidos de pequeña a gran escala.

	Cantidad de péptido necesaria		
Columna Agilent	mg	g	kg
Prep HT ZORBAX 300StableBond		→	
VariTide RPC		\longrightarrow	
PLRP-S			→

Después de la síntesis en fase sólida (SPS) mediante una resina de poliestireno, como uno de los productos StratoSpheres de Agilent, el péptido se escinde del soporte y la mezcla resultante se separa para obtener el péptido objetivo. Para la purificación se necesita una columna de gran eficacia porque el péptido candidato debe resolverse a partir de péptidos cuya estructura es muy similar. Consulte **www.agilent.com** para obtener más información.





Separaciones de oligonucleótidos de ADN o ARN

Existe un renovado interés en los oligonucleótidos (oligos) que cada vez se utilizan en más aplicaciones, incluidos posibles tratamientos. El flujo de trabajo de la síntesis es similar al de la producción bien establecida de péptidos sintéticos: se usa una resina de síntesis de fase sólida activada con la adición secuencial de nucleótidos específicos para crear la secuencia deseada.

El extremo hidroxilo 5' de los bloques de creación de nucleótidos se protege con un grupo dimetoxitritilo (DMT), y el oligo objetivo escindido aún tendrá unido este grupo protegido. Como el DMT es hidrófobo, es un control útil que se puede usar para el paso de la primera fase. Para aumentar la estabilidad del oligonucleótido, especialmente la degradación enzimática, puede modificarse químicamente, por ejemplo, reemplazando el oxígeno por azufre para producir fosforotioatos.

Cuando se utiliza la síntesis química para producir biomoléculas, la eficacia del acoplamiento de cada ciclo adicional nunca es del 100%. Después de la escisión del soporte de síntesis en fase sólida, la muestra contendrá secuencias de eliminación, oligos en los que falte uno o varios residuos y cierta cantidad de oligos mayores producidos por doble acoplamiento o ramificación. La mezcla de la muestra es compleja y se requieren técnicas de gran eficacia para su análisis.

Normalmente se utilizan tres técnicas de UHPLC/HPLC para la separación de oligonucleótidos:

Con tritilo: este procedimiento es relativamente sencillo de realizar y separa en toda su longitud el oligo objetivo, que aún tiene unido el grupo DMT, de las secuencias de fallo desprotegidas. La información analítica que se obtiene es limitada y normalmente se considera un método de purificación.

Separaciones por intercambio iónico de oligos desprotegidos sin tritilo: este método usa la carga negativa de la estructura del oligo para facilitar la separación. La resolución es buena para los oligos más cortos, pero se reduce cuando aumenta la longitud de la cadena. Se utilizan eluyentes acuosos pero los oligos tienen una carga alta y se necesitan altas concentraciones de sal para lograr la elución en la columna.

Separación en fase reversa con par iónico de los oligos desprotegidos sin tritilo: en esta técnica se utilizan disolventes orgánicos y agentes de par iónico volátiles, y es adecuada para LC/MS. La técnica se realiza mejor con partículas de gran eficacia. Se necesitan condiciones que desnaturalicen por completo los oligos y eviten la asociación con secuencias complementarias. Por consiguiente, la separación se realiza mejor a temperaturas elevadas.

Selección de columnas para oligonucleótidos de ADN y ARN

Aplicación	Técnica	Columnas Agilent	Notas
Oligonucleótidos con y sin tritilo	Con tritilo	Medios PLRP-S 50 μm	La separación se debe a las diferencias de hidrofobicidad. Es ideal para la separación de oligos con y sin tritilo, y se usa también para la separación
Oligonucleótidos desprotegidos	Separación en fase reversa con par iónico de oligos desprotegidos sin tritilo	PLRP-S 3 μm a 50 μm	en fase reversa con par iónico de oligos desprotegidos.
Oligonucleótidos desprotegidos	Separaciones por intercambio iónico de oligos desprotegidos sin tritilo	PL-SAX 1.000 Å	Separa los oligos desprotegidos en condiciones de pH alto desnaturalizante. La funcionalidad de la amina cuaternaria en las partículas poliméricas permite la separación por intercambio iónico a pH alto, lo que mejora la cromatografía para secuencias autocomplementarias.

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Encontrará más información en las siguientes publicaciones: Agilent PLRP-S 100Å HPLC Columns and Media (n.º de publicación 5990-8187EN) Agilent PL-SAX 1000Å HPLC Columns and Media (n.º de publicación 5990-8200EN) www.agilent.com/chem/library



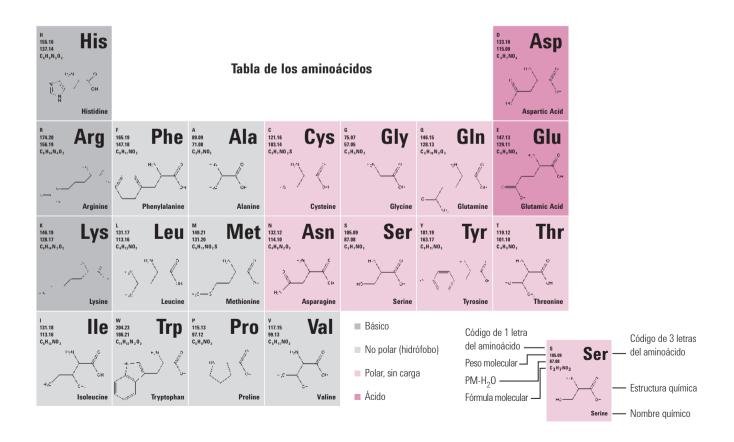


Análisis de aminoácidos

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 sólo 14 minutos (9 min de tiempo de análisis) en las columnas más cortas, de 7,5 cm de longitud, y en 24 minutos (18 min de tiempo de análisis) en las columnas de 15 cm de longitud. Se consigue una excepcional sensibilidad (de 5 a 50 pmol con detectores de diodos o de fluorescencia) y fiabilidad usando ambas derivaciones químicas con OPA y FMOC en un procedimiento completamente automatizado que usa el sistema LC Agilent 1200 Infinity.

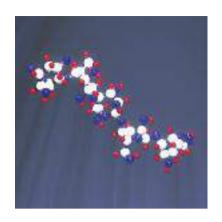
Selección de columnas ZORBAX Eclipse A	AA	
Accesorios	Diámetro x longitud (mm)	Tamaño de partícula (µm)
Sensibilidad de rutina analítica	4,6 x 150	5.0
Sensibilidad de rutina analítica, alta resolución con FLD	4,6 x 150	3.5
Sensibilidad de rutina analítica, alto rendimiento	4,6 x 75	3.5
Columnas Solvent Saver: alta sensibilidad y alta resolución	3,0 x 150	3.5

Para obtener más información sobre la columna ZORBAX Eclipse Plus C18, vaya a la página 248.



Biomoléculas de amplia distribución Carbohidratos, lípidos y PEG

La cromatografía acuosa de exclusión por tamaño que emplea columnas rellenas con medios poliméricos puede resultar extremadamente útil para la investigación de biomoléculas y sus especies derivadas con distribuciones amplias del peso molecular. Entre los ejemplos se encuentran las proteínas PEGiladas y los polisacáridos complejos, de uso en aplicaciones de biofarmacia. La distribución amplia del tamaño de poro de las columnas para SEC poliméricas, en comparación con las basadas en sílice, es excelente para muestras con polidispersiones mayores de uno.



Selección de column	as para biomoléculas de amplia d	listribución
Polímeros y oligómeros de bajo PM, oligosacáridos, PEG, lignosulfonatos	2 o 3 PL aquagel-OH	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
	• PL aquagel-OH; 8 μm	mecánica de hasta 140 bares
	• PL aquagel-OH 20; 5 μm	(2 030 psi) y de presiones bajas
	 PL aquagel-OH MIXED-M; 8 μm 	de funcionamiento de columnas.
Biopolímeros polidispersos,	2 o 3 PL aquagel-OH	
polisacáridos, derivados	• PL aquagel-OH MIXED-H; 8 μm	
de la celulosa	• 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	



Técnicas de UHPLC/HPLC

La cromatografía líquida de alto rendimiento, HPLC, es una técnica cromatográfica que puede separar una mezcla de compuestos y que se utiliza en bioquímica y química analítica para identificar, cuantificar y purificar los componentes individuales de la mezcla. Se ha producido una evolución hacia la cromatografía líquida de ultraalto rendimiento (UHPLC), ampliamente aceptada para separaciones de gran eficacia de moléculas de tamaño pequeño a medio, y que se ha utilizado para reducir el tiempo de análisis y aumentar la resolución. El uso de UHPLC se ha ampliado a las biomoléculas grandes con la introducción de medios cromatográficos de poro extragrande en columnas que soportan presiones de 600 a 1.200 bares.

En las siguientes páginas verá la amplia gama de columnas que Agilent ofrece para la separación mediante HPLC y UHPLC de proteínas y otras biomoléculas.

Técnica	UHPLC/HPLC para el análisis de biomoléculas Ventajas	Desventajas
Fase reversa	 Alta resolución Alta capacidad Relativamente sencillo Muestra concentrada en columna Partícula pequeña, 1,8 µm, para separaciones de UHPLC Medios poliméricos para una estabilidad química y térmica 	Condiciones de desnaturalización Las columnas de sílice de gran eficacia no se pueden limpiar con disolventes agresivos cuando se realizan las purificaciones
Intercambio iónico	 Buena recuperación de la actividad biológica Alta capacidad Muestra concentrada en columna 	Compatibilidad limitada con MS debido a la presencia de sales
Exclusión por tamaño	 Buena recuperación de la actividad biológica Técnica no interactiva con buena recuperación de la muestra 	Sin concentración de la muestraCapacidad limitada
Afinidad	 Alta selectividad Buena recuperación de la actividad biológica Muestra concentrada en columna Con frecuencia, aislamiento en tan solo un paso 	 Sin concentración de la muestra Capacidad limitada

HPLC de fase reversa

Lleve a cabo separaciones de alta resolución con confianza

La UHPLC/HPLC de fase reversa separa los solutos en función de sus diferencias de hidrofobicidad, siendo el pico menos hidrófobo el que eluye primero. Esta técnica de alta resolución es capaz de separar péptidos, proteínas y oligonucleótidos que difieren tan solo en un resto de aminoácido o de nucleótido.

Debido a que en la HPLC se utilizan disolventes orgánicos (como acetonitrilo, metanol, etanol y propanol), se trata también de una técnica desnaturalizante que altera la estructura tridimensional de la biomolécula. Esto permite obtener información acerca de la estructura primaria y la secuencia de una molécula, así como variaciones en la secuencia que se va a identificar.

Agilent ofrece la gama más amplia del mercado de columnas de fase reversa de poro extragrande, todas respaldadas por especialistas en soporte técnico e ingenieros químicos de aplicaciones de todo el mundo. En esta sección se describen las siguientes innovaciones de las columnas:

- Las columnas ZORBAX de sílice con poro de 300 Å, las primeras del mercado para separaciones de fase reversa de proteínas y biomoléculas, están disponibles en seis fases, además de en una amplia variedad de tamaños. Para separaciones rápidas por UHPLC, también ofrecemos una opción de tamaño de partícula de 1,8 μm que soporta presiones de hasta 1.200 bares y se puede usar con instrumentos de alta presión, como el sistema LC Agilent 1290 Infinity.
- Las columnas Agilent Poroshell incorporan la primera partícula de núcleo sólido/cubierta porosa del sector. Nuestras columnas Poroshell 300 de poro extragrande son ideales para cromatografía rápida, y están disponibles en diferentes fases.
- Las columnas PLRP-S Agilent contienen partículas de polímeros que se pueden usar para separar péptidos y proteínas de diferentes tamaños y complejos de ADN o macromoleculares. Estas columnas son únicas porque son orgánicas al 100%, soportan temperaturas de hasta 200 °C y se pueden usar en condiciones de pH 1 a pH 14.
- Elija entre la gama de tamaños de columna, tamaños de partícula (3-8 μm para separaciones analíticas) y tamaños de poro (de 100 Å a 4.000 Å). También hay disponibles columnas preparativas (10-50 μm), preempaquetadas en columnas o a granel.



LC Y LC/MS

365

COLUMNAS PARA SEPARACIÓN DE BIOMOLÉCULAS

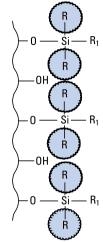
Accesorios	Columnas Agilent	Notas
Proteínas y polipéptidos	ZORBAX 300 Å, 1,8 μm	Los procesos de relleno mejorados permiten una estabilidad de hasta 1.200 bares
	 RRHD 300SB-C18 RRHD 300SB-C8 RRHD 300SB-C3 RRHD 300-Diphenyl RRHD 300-HILIC 	para su uso con el sistema LC Agilent 1290 Infinity. Las columnas RRHD de 1,8 µm están disponibles en longitudes de 50 y 100 mm para ofrecer separaciones rápidas o de alta resolución (definición verdaderamente alta) de las muestras más complejas.
	ZORBAX StableBond de 300 Å	Se necesitan columnas de poro extragrande, 300 Å, para la separación eficaz de proteínas y péptidos u otras moléculas grandes, de modo que los analitos tengan
	• 300SB-C18 • 300SB-C8 • 300SB-C3 • 300SB-CN	pleno acceso a la fase ligada. C18 y C8 son ideales para la separación de proteínas complejas y digestiones de proteínas. StableBond ofrece estabilidad mejorada a pH bajo.
	ZORBAX Extend-C18 de 300 Å	Incorpora un silano bidentado único patentado combinado con un proceso de doble desactivación que evita la disolución de la sílice a pH alto (de hasta 11,5).
Péptidos y proteínas de hasta 1.000 kDa,	Poroshell 300	Las columnas Poroshell utilizan una partícula única fabricada con una capa de sílice
anticuerpos monoclonales y proteínas intactas	• 300SB-C18 • 300SB-C8 • 300SB-C3 • 300Extend-C18	porosa sobre un núcleo sólido de sílice. De esta manera se reduce la distancia de difusión de las proteínas para lograr separaciones de péptidos y proteínas con HPLC prácticas y rápidas.
Péptidos pequeños hidrófilos en digestiones de proteínas	Poroshell 120	El tamaño de poro de 120 Å es ideal para análisis rápidos de alta resolución de pequeños péptidos hidrófilos en digestiones de proteínas.
Desde péptidos a ADN	PLRP-S	Las partículas son inherentemente hidrófobas por lo que no es necesaria una fase
	• 100 Å • 300 Å • 1.000 Å • 4.000 Å	ligada de grupo alquílico para las separaciones de fase reversa. Esto da como resultado un material altamente reproducible libre de silanoles y de iones de metales pesados.
Moléculas/péptidos/oligonucleótidos pequeños	PLRP-S 100 Å	
Proteínas/péptidos recombinantes	PLRP-S 300Å	
Proteínas grandes	PLRP-S 1.000 Å	-
Separación de ADN/alta velocidad	PLRP-S 4.000 Å	

ZORBAX StableBond 300 Å

Las columnas Agilent ZORBAX StableBond de 300 Å son una opción ideal para separaciones reproducibles de proteínas y péptidos por dos razones clave. En primer lugar, se necesitan columnas de poro ancho, 300 Å, para la separación eficaz de proteínas y péptidos u otras moléculas grandes, de modo que los analitos tengan pleno acceso a la fase ligada. En segundo lugar, las columnas 300StableBond no tienen rival en cuanto a durabilidad a bajo pH, como es el caso con las fases móviles con TFA, habitualmente utilizadas en las separaciones de proteínas y péptidos. Para separaciones de LC/MS a bajo pH, las columnas 300StableBond se pueden utilizar asimismo con ácido fórmico o ácido acético como modificadores de fase móvil. Estas columnas están disponibles en cinco fases ligadas diferentes (C18, C8, C3, CN y Diphenyl*) para optimizar la selectividad y la recuperación de proteínas y polipéptidos. Para aumentar aún más la recuperación de la muestra y mejorar la eficacia para proteínas difíciles, las columnas 300StableBond se pueden utilizar a temperaturas de hasta 80 °C. Las columnas 300SB-C18 y 300SB-C8 son una opción ideal para separaciones complejas de proteínas y digestiones de proteínas. Estas columnas están disponibles en dimensiones capilares (0,3 y 0,5 mm de d.i.) y de nanocolumna (0,075 y 0,10 mm de d.i.) para separaciones mediante LC/MS en fase reversa de las digestiones de proteínas. Las columnas capilares y las nanocolumnas se pueden utilizar para separaciones proteómicas 1D o 2D.







Fase ligada 300 StableBond protegida estéricamente

Especificaciones de columnas

Fase ligada	Tamaño de poro	Superficie específica	Límites de temperatura*	Rango de pH*	Desactivación	Carga de carbono
ZORBAX 300SB-C18	300 Å	45 m²/g	90 °C	1,0-8,0	No	2,8%
ZORBAX 300SB-C8	300 Å	45 m²/g	80 °C	1,0-8,0	No	1,5%
ZORBAX 300SB-C3	300 Å	45 m²/g	9° 08	1,0-8,0	No	1,1%
ZORBAX 300SB-CN	300 Å	45 m²/g	90 °C	1,0-8,0	No	1,2%
ZORBAX 300-Diphenyl	300 Å	45 m²/g	80 °C	1,0-8,0	Sí	1,9%

Las especificaciones solo representan los valores típicos.

RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Encontrará más información en la siguiente publicación:

Comparison of ZORBAX StableBond 300Å LC Columns to Optimize Selectivity for Antibody Separations Using HPLC and LC/MS (n.º de publicación 5989-6840EN).

www.agilent.com/chem/library





^{*}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.

Mayor resolución de los anticuerpos **Gradiente A** monoclonales intactos 0,5 ml/min mAU| Resolución optimizada **ZORBAX RRHD 300SB-C8** Columna: 250 857750-906 200 2,1 x 50 mm, 1,8 µm 150 A: $H_2O:IPA$ (98:2) + TFA al 0,1% (v/v) Fase móvil: 100 Hombro Resuelto B: IPA:ACN:H₂O (70:20:10) + TFA al 0,1% (v/v) 50 Velocidad de flujo: Entre 0,5 ml/min y 1,0 ml/min n Elución multisegmentada y lineal Gradiente: 10 mAU Temperatura: 80 °C **Gradiente B** mAU 350-1.0 ml/min 100 Detector: Sistema LC Agilent 1290 Infinity con invector Alta velocidad de análisis 80 Mayor automático (ALS), bomba binaria, horno con 250-60 termostato y detector de diodos (DAD), UV, 225 nm sensibilidad 150-50 2.0 2.2 2.4 2.6 2.8 mir 6 10 min

Mayor resolución del estudio de oxidación Columna: ZORBAX RRHD 300SB-C18 mAU 857750-902 17.5 2,1 x 50 mm, 1,8 µm Cadena de insulina oxidada B Insulina 15 A: TFA al 0,1% Fase móvil: B: TFA al 0,01% + ACN al 80% 12.5 Velocidad de flujo: 1.0 ml/min 10 Gradiente: 33 al 50% de B, de 0 a 4 min Cadena de insulina 7.5 Detector: Sistema LC 1290 Infinity con oxidada A Subespecies de cadena de insulina oxidada B detector de diodos a 280 nm 5 Muestra: Insulina, cadena A y cadena B de insulina, oxidada 2.5 (sigma bovino, 1 mg/ml) 0 0.5 1.5 2.5 min

Es evidente que las cadenas de insulina oxidadas se resuelven desde la insulina en menos de 2 minutos utilizando la columna Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18 2,1 x 50 mm, 1,8 μ m.



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Las fases móviles típicas para las separaciones de proteínas y péptidos combinan un pH muy bajo con TFA (u otros ácidos) para solubilizar las proteínas. Las columnas StableBond tienen una vida útil extremadamente prolongada en estas condiciones. Están disponibles con un tamaño de poro de 300 Å para proteínas de hasta 100-500 kDa.

Mejor reproducibilidad de anticuerpos monoclonales

Columna: ZORBAX RRHD 300SB-C8

857750-906

2,1 x 50 mm, 1,8 µm

Fase móvil: A: H₂O:IPA (98:2), TFA al 0,1%

B: IPA:ACN:H₂O (70:20:10), TFA al 0,1%

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min Temperatura: 80 °C

Detector: Sistema LC 1290 Infinity

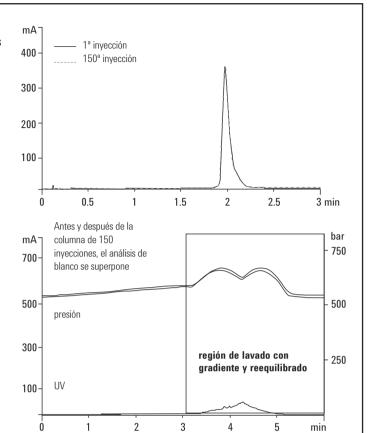
con detector de diodos a 225 nm

Muestra: MAb

Escala de tiempo del gradiente

Tiempo (min)	% de disolvente B
0.00	25
3.00	35
4.00	90
5.00	25

Excelente reproducibilidad de columna y recuperación de proteínas con Agilent ZORBAX 300SB-C8.



Mayor resolución para el mapeo de péptidos

Columna: ZORBAX 300SB-C18

858750-902

2,1 x 100 mm, 1,8 µm

Fase móvil: A: TFA al 0,1%

B: TFA al 0,01% + ACN al 80%

Velocidad de flujo: 0,5 ml/min

Gradiente: 2% de B durante 1 min, de 2 al 45% de B durante

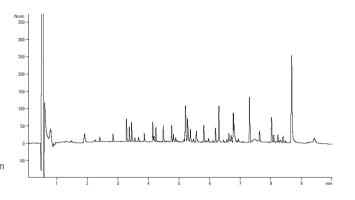
8,8 min, de 45 al 95% de B durante 0,2 min, 95% de B

durante 2 min, de 95 al 2% de B durante 0,2 min

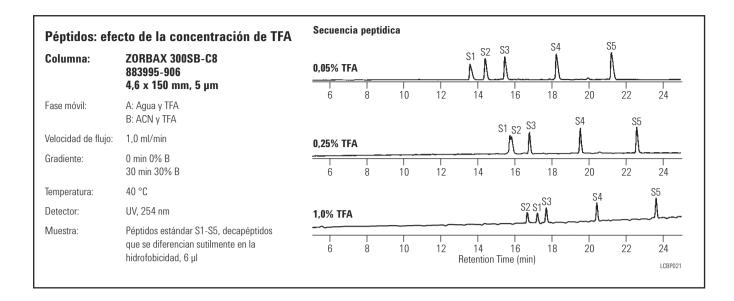
Temperatura: 50 °C

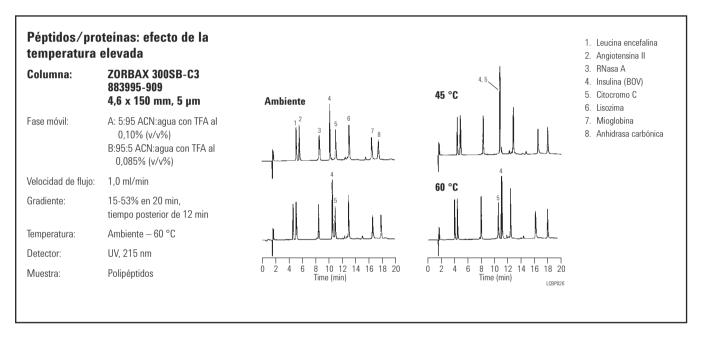
Detector: Sistema LC 1290 Infinity con detector de diodos a 280 nm

Muestra: Digestión de proteínas enzimáticas (MAb)



La mayor longitud de la columna ZORBAX RRHD Agilent 300SB-C18, 100 mm, proporciona la máxima resolución para las digestiones de proteínas. En esta muestra, el tiempo total de análisis, incluido el lavado y el equilibrado, es inferior a quince minutos.





RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS



El sistema LC Agilent 1290 Infinity proporciona resultados mucho más rápidos y datos de mayor calidad, lo que permite tomar decisiones mejor informadas en menos tiempo. Esta mayor productividad aporta ventajas frente a la competencia y permite obtener una rentabilidad mayor. Calcule usted mismo cuánto puede ahorrar con la tecnología 1290 Infinity. La calculadora de reducción de costes y la herramienta de transferencia de métodos en línea le ayudan a transferir sus métodos de HPLC y a calcular la reducción de los costes, en **www.agilent.com/chem/hplc2uhplc**

ZORBAX 300SB-C3 de cadena corta es estable a nivel de pH bajo y a altas temperaturas

Columna: ZORBAX 300SB-C3

883995-909

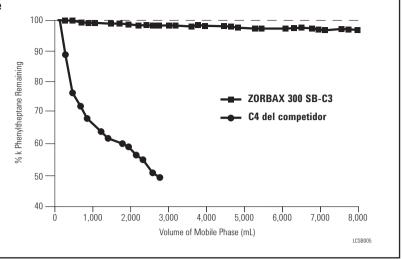
4,6 x 150 mm, 5 µm

Fase móvil: Gradiente 0-100% B en 80 min

A: TFA al 0,5% en agua B: TFA al 0,5% en acetonitrilo Condiciones de la prueba de retención isocráticas:

1-fenilheptano 50% A, 50% B

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min
Temperatura: 60 °C



Cuatro fases ligadas 300SB distintas para optimizar la separación de polipéptidos de gran tamaño

Columna A: ZORBAX RRHD 300SB-C18

883995-902

4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna B: ZORBAX 300SB-C8

883995-906

4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna C: ZORBAX 300SB-C3

883995-909

4,6 x 150 mm, 5 µm

Columna D: ZORBAX 300SB-CN

883995-905

4,6 x 150 mm, 5 μm

Fase móvil: Gradiente lineal, 25-70% B en 40 min

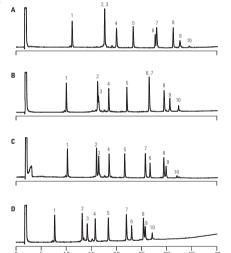
A: TFA al 0,1% en agua

B: TFA al 0,09% en 80% de acetonitrilo/20% de agua

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Temperatura: 60 °C

Muestra: 3 µg de cada proteína



- 1. RNasa
- 2. Insulina
- 3. Citocromo C
- 4. Lisozima
- 5. Parvalbúmina
- 6. CDR
- 7. Mioglobina
- 8. Anhidrasa carbónica
- 9. S-100β
- 10. S-100α

Las fases ligadas 300SB-C18, C8, C3 y CN proporcionan todas ellas separaciones diferentes de este grupo de polipéptidos. Se añade un parámetro importante para la optimización rápida de las separaciones de proteínas. La columna 300SB-CN ofrece selectividad única para polipéptidos más hidrofílicos.

COLUMNAS PARA SEPARACIÓN DE BIOMOLÉCULAS

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	300-Diphenyl USP L11
Columnas es	stándar (no requieren ha	rdware especia	al)					
	Semipreparativa	9,4 x 250	5	880995-202	880995-206	880995-205	880995-209	
	Analítica	4,6 x 250	5	880995-902	880995-906	880995-905	880995-909	
	Analítica	4,6 x 150	5	883995-902	883995-906	883995-905	883995-909	
	Analítica	4,6 x 50	5	860950-902	860950-906	860950-905	860950-909	
	Resolución rápida	4,6 x 150	3,5	863973-902	863973-906	863973-905	863973-909	
	Resolución rápida	4,6 x 100	3,5	861973-902	861973-906			
	Resolución rápida	4,6 x 50	3,5	865973-902	865973-906	865973-905	865973-909	
	Solvent Saver Plus	3,0 x 150	3,5	863974-302	863974-306		863974-309	
	Solvent Saver Plus	3,0 x 100	3,5		861973-306			
	Diámetro estrecho	2,1 x 250	5	881750-902				
	Diámetro estrecho	2,1 x 150	5	883750-902	883750-906	883750-905	883750-909	
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 150	3,5		863750-906			
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 100	3,5	861775-902	861775-906			
	Diámetro estrecho RR	2,1 x 50	3,5	865750-902	865750-906			
	RRHD de diámetro estrecho	2,1 x 100	1,8	858750-902	858750-906		858750-909	858750-944
	RRHD de diámetro estrecho	2,1 x 50	1,8	857750-902	857750-906		857750-909	857750-944
	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			
Р	Precolumna, 2/paq.	9,4 x 15	7	820675-124	820675-124	820675-124	820675-124	
200 9	Precolumna, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-921	820950-918	820950-923	820950-924	
@	Precolumna, 4/paq.	2,1 x 12,5	5	821125-918	821125-918	821125-924	821125-924	
P	Kit de soporte de la precolumna			840140-901	840140-901	840140-901	840140-901	
200 0	Kit de soporte de la precolumna			820999-901	820999-901	820999-901	820999-901	

(continuación)



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	300-Diphenyl USP L11
Columnas de	cartucho PrepHT (req	uieren kit de co	nexiones 820400-901)				-	
<u> </u>	Cartucho PrepHT	21,2 x 250	7	897250-102	897250-106	897250-105	897250-109	
	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	7	897150-102	897150-106		897150-109	
	Cartucho PrepHT	21,2 x 150	5	895150-902	895150-906		895150-909	
	Cartucho PrepHT	21,2 x 100	5	895100-902	895100-906		895100-909	
	Cartucho PrepHT	21,2 x 50	5	895050-902	895050-906		895050-909	
A	Conexione terminales PrepHT, 2/paq.			820400-901	820400-901	820400-901	820400-901	
A	Precolumna PrepHT, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-921	820212-918	820212-924	820212-924	
<u> </u>	Hardware de precolumr	na		820444-901	820444-901	820444-901	820444-901	
Columnas ca	pilares forradas de vid	rio						
	Capilar	0,5 x 250	5	5064-8266				
	Capilar	0,5 x 150	5	5064-8264				
	Capilar	0,5 x 35	5	5064-8294				
	Capilar RR	0,5 x 150	3,5	5064-8268				
	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 RR	0,3 x 150	3,5	5064-8267	5065-4460			
	Capilar RR	0,3 x 100	3,5	5064-8259	5065-4461			
	Capilar RR	0,3 x 35	3,5	5064-8270	5065-4462			
	Capilar RR	0,3 x 50	3,5	5064-8300	5065-4463			
Nanocolumn	as (sílice fundida/PEE	K)						
	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 pred	columna/trampa		5065-9915	5065-9915			

ZORBAX RRHD 300-Diphenyl

Con la misma formulación exclusiva que las columnas Pursuit de 3,5 µm y 5 µm Diphenyl, el exclusivo tamaño de poro de 300Å de la fase Diphenyl ofrece una selectividad adicional mediante interacciones secundarias pi-pi con aminoácidos aromáticos en la secuencia primaria. Las columnas Agilent ZORBAX de resolución rápida y alta definición (RRHD) de 1,8 µm y 300Å aportan un rendimiento UHPLC a la separación en fase reversa de proteínas intactas y digestiones de proteínas.

La columna de difenilo se puede utilizar para:

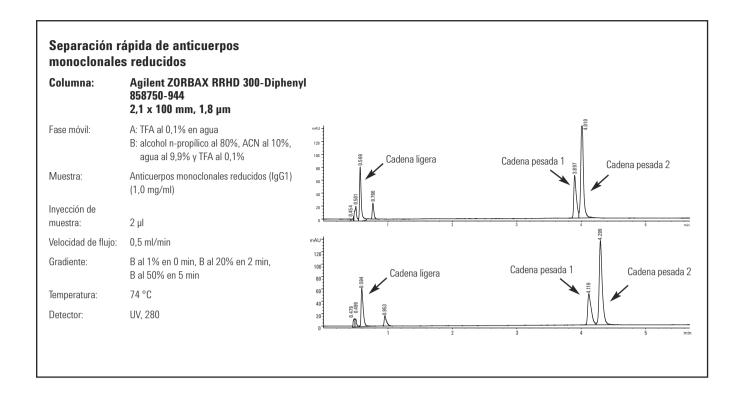
- Análisis de proteínas y polipéptidos intactos y modificados, incluido análisis estructural de proteínas
- Detección de modificaciones postraducionales
- Análisis de impurezas
- Confirmación de la identidad de las proteínas

ZORBAX RRHD 300-Diphenyl ofrece:

- Estabilidad a bajo pH, lo que permite realizar las separaciones de proteínas y péptidos hasta pH 1 utilizando ácido trifluoroacético (TFA) y eluventes de ácido fórmico con total confianza
- Estabilidad de temperatura, que permite realizar separaciones hasta a 80 °C para mejorar la eficacia y reducir la viscosidad del eluyente sin que afecte a la vida útil de la columna
- Compatible con UHPLC, lo que permite una caracterización de orden superior con menos tiempo de análisis

Especificaciones de columnas							
Fase ligada	Tamaño de poro	Superficie específica	Límites de temperatura	Rango de pH	Desactivación	Carga de carbono	
ZORBAX RRHD 300-Diphenyl	300 Å	45 m ² /g	90 °C	1,0-8,0	Sí	1,9%	

Las especificaciones solo representan los valores típicos.



Tamaño (mm)	Tamaño de partícula (µm)	Referencia
2,1 x 50	1,8	857750-944
2,1 x 100	1,8	858750-944
	2,1 x 50	(mm) (μm) 2,1 x 50 1,8

LC Y LC/MS

Nueva unión C18-C18 bidentada para fase ligada Extend-C18

ZORBAX Extend-C18 de 300 Å

- Separaciones robustas, a pH alto y bajo, de polipéptidos y péptidos en el rango de pH de 2 a 11,5
- Selectividad diferente posible a pH alto y bajo
- Alta eficiencia y buena recuperación de péptidos hidrófobos a pH alto
- Ideales para LC/MS con fases móviles modificadas con hidróxido amónico

La columna Agilent ZORBAX 300Extend C-18 es una columna HPLC de poro ancho para separaciones de alta eficiencia de péptidos a pH de 2 a 11,5. La exclusiva fase ligada bidentada proporciona una excelente duración y reproducibilidad a alto y bajo pH. A pH alto, la retención y la selectividad de los péptidos y polipéptidos puede cambiar drásticamente como resultado de los cambios en la carga de las moléculas. Se han obtenido recuperaciones excelentes de polipéptidos hidrófobos a temperatura ambiente y a pH alto. La sensibilidad de LC/MS de péptidos y polipéptidos se puede mejorar asimismo a alto pH usando una fase móvil simple que contenga hidróxido amónico.

Especificaciones de column	as					
Fase ligada	Tamaño de poro	Superficie específica	Límites de temperatura*	Rango de pH	Desactivación	Carga de carbono
ZORBAX Extend-C18 de 300 Å	300 Å	45 m ² /g	60 °C	2,0-11,5	Doble	4%

Las especificaciones solo representan los valores típicos.



RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

Seleccionar la columna adecuada es solo una parte de la solución total. No olvide otros consumibles importantes como nuestra amplia gama de lámparas de LC. Vaya a la página 90.

^{*}Límites de temperatura: 60 °C hasta pH 8, 40 °C a partir de pH 8-11,5.

Análisis LC/MS de angiotensina en Extend-C18

Columna: **ZORBAX Extend-C18**

773700-902

2,1 x 150 mm, 5 μm

Velocidad de flujo: 0,2 ml/min

15-50% B en 15 min

Gradiente:

Condiciones de Iones positivos, ESI-Vf 70 V,

MS: Vcap 4,5 kV,

Muestra:

N2, 35 psi, 12 I/min, 325 °C

2,5 µl de muestra (50 pmol de cada) Angiotensina I, II, III

Fase móvil:

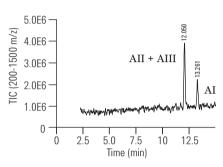
Condiciones ácidas: A: TFA al 0.1% en agua

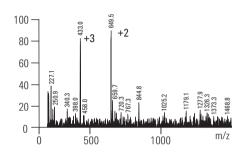
B: TFA al 0,085% en 80% acetonitrilo (ACN)

Temperatura: 35 °C

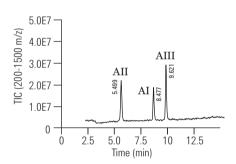
Condiciones básicas: A: NH₄OH 10 mM en agua B: NH₄OH 10 mM en 80% ACN

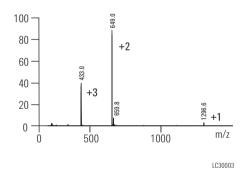
Angiotensina I Máx.: 10889 pH bajo





В Angiotensina I Máx.: 367225 pH alto





Tanto los péptidos pequeños como los grandes presentan cambios de selectividad a pH alto y bajo. A pH alto, debido al cambio en la carga, pueden resolverse las tres angiotensinas. Además, la claridad espectral de la angiotensina I mejora drásticamente a pH alto con la fase móvil de hidróxido amónico. La columna Extend-C18 puede ser también utilizada para el análisis de péptidos pequeños a pH alto.

Referencia: B.E. Boyes. Separation and Analysis of Peptides at High pH Using RP-HPLC/ESI-MS, 4th WCBP, San Francisco, CA, Enero 2000.

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 NH₄OH, pH 10,5

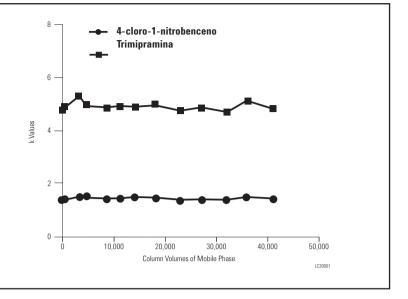
80% metanol

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 NH₄0H en agua B: 20 mM de NH₄0H en 80% de ACN

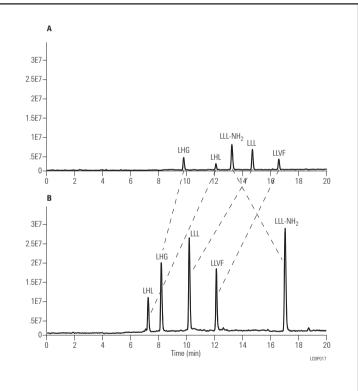
Velocidad de flujo: 0,25 ml/min Gradiente: 5-60% B in 20 min

Temperatura: 25 °C

Condiciones de MS: Iones positivos, ESI- Vf 70 V, Vcap 4,5 kV

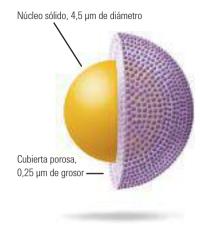
N₂, 35 psi, 12 l/min, 300 °C 4 μl (50 ng cada péptido)

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
2009	Precolumna, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-932
600	Precolumna, 4/paq.	2,1 x 12,5	5	821125-932
2009	Kit de soporte de la precolumna			820999-901
Columnas	capilares forradas de vid	Irio		
	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





Columnas Poroshell 300

Poroshell 300

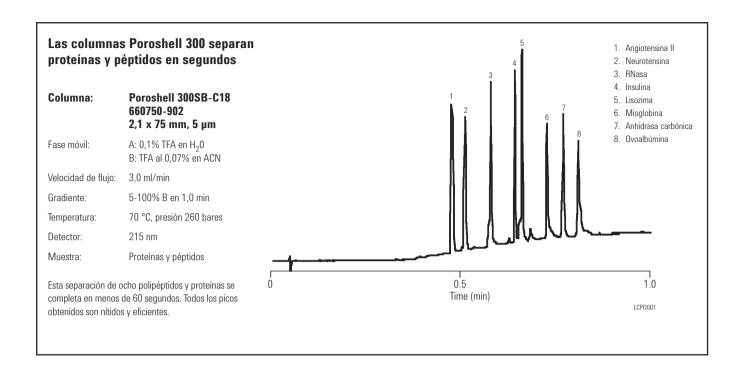
- Separaciones UHPLC de biomoléculas con partículas de superficie porosa
- El poro de 300Å proporciona una gran eficacia y recuperación de proteínas (hasta 1 000 kDa) y de anticuerpos monoclonales.
- Consigue una larga vida útil a un nivel de pH bajo con Poroshell 300SB; y a un nivel de pH alto con 300Extend-C18.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

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.



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 IgG₁ 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% $\rm H_2O$, ACN al 5%, TFA al 0,1%

B: 5% H₂O, ACN al 95%, TFA al 0,07%

Velocidad de flujo: 1 ml/min

0,208 ml/min

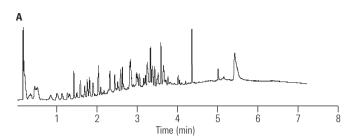
Gradiente: 0-100% B = 12 min

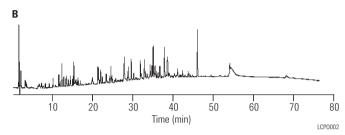
0-100% B = 120 min

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

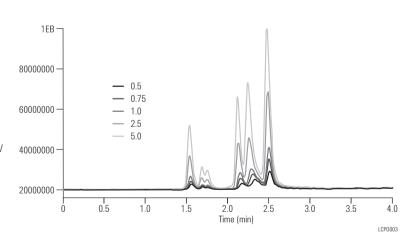
Nebulizador: 45 psi

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

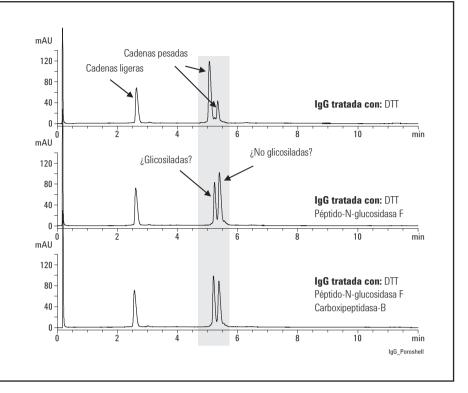
10 min 40% B 10,1 min 25% B

12 min 25% B

Temperatura: 70 °C

Muestra: IgG1 monoclonal

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



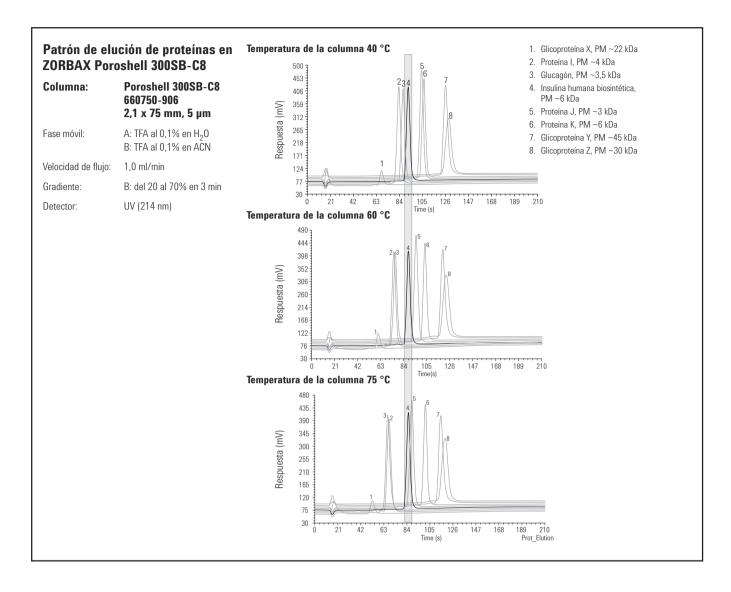


RECOMENDACIONES Y HERRAMIENTAS

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



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		
അ	Precolumna, 4/paq.	2,1 x 12,5	5	821075-920	821075-918	821075-924	
660	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 μ m con un núcleo sólido de 1,7 μ m y una capa externa porosa de 0,5 μ m. Este tamaño de partícula reducido consigue una alta eficiencia, similar a la de columnas de menos de 2 μ m, 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.



COLUMNAS PARA SEPARACIÓN DE BIOMOLÉCULAS

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

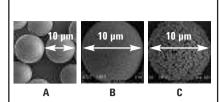
PLRP-S

- 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.

Especificaciones de columnas					
Rango de pH	1-14				
Contenido del tampón	llimitado				
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



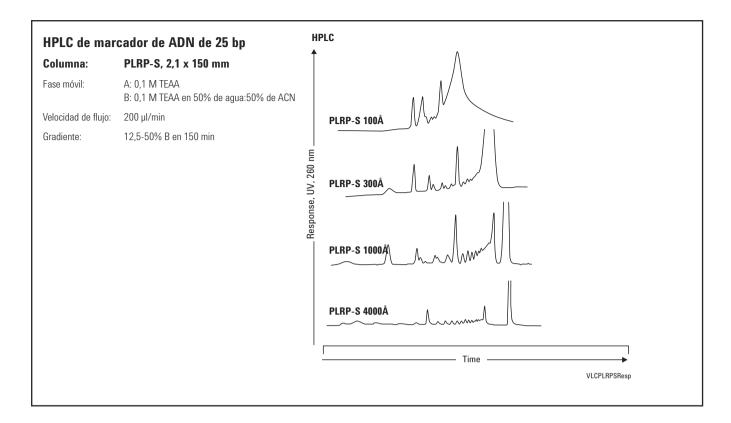
Microscopios electrónicos de barrido (SEM) de partículas PLRP-S de 10 µm.

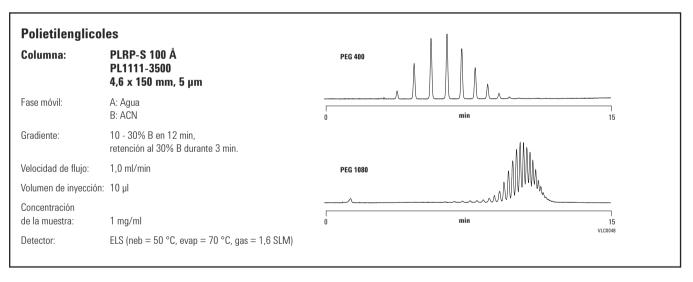
La diferencia de tamaño del poro se observa claramente.

A es el poro pequeño de 100 Å

B el es poro mayor de 300 Å

C es el gigaporo de 4000 Å





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

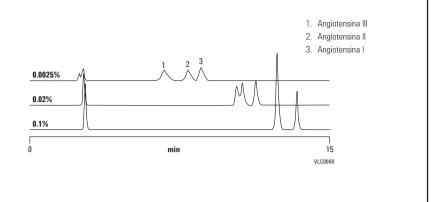
B: TFA (varios porcentajes) en ACN

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

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Detector: ELS (neb = $75 \, ^{\circ}$ C, evap = $85 \, ^{\circ}$ C,

gas = 1,0 SLM)



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

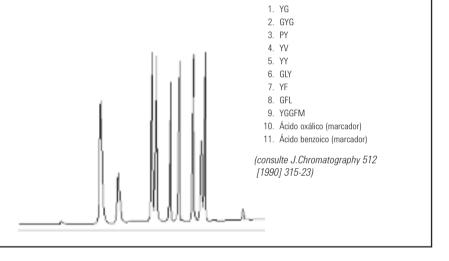
Gradiente: 95% de A (0-3 min)

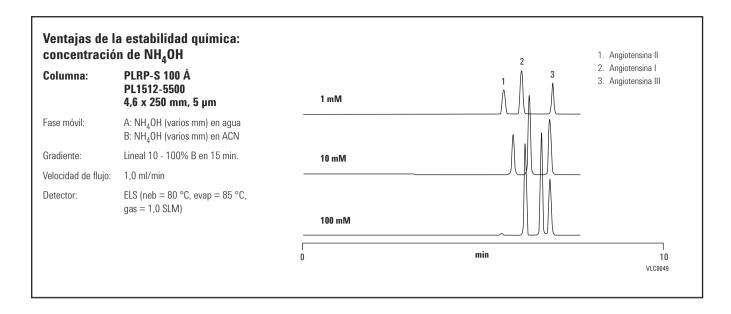
hasta 50% de A (13 min)

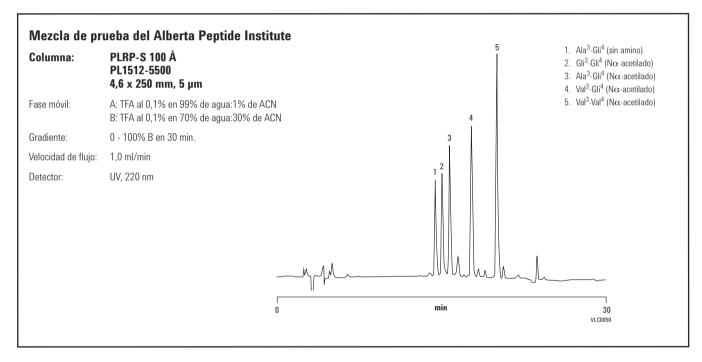
Detector: UV, 220 nm

Buena separación de patrones de péptidos

con la columna Agilent PLRP-S







Proteínas de suero en muestras de lácteos (leche)

Columna: PLRP-S 300 Å

PL1512-3801 4,6 x 150 mm, 8 µm

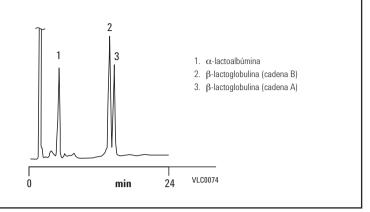
Fase móvil: A: TFA al 0,1% en 99% agua:1% ACN

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: $10 \, \mu$ l Detector: UV, 220 nm



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

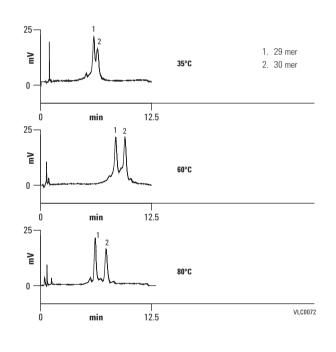
B: TEAA 100 mM en ACN al 25%

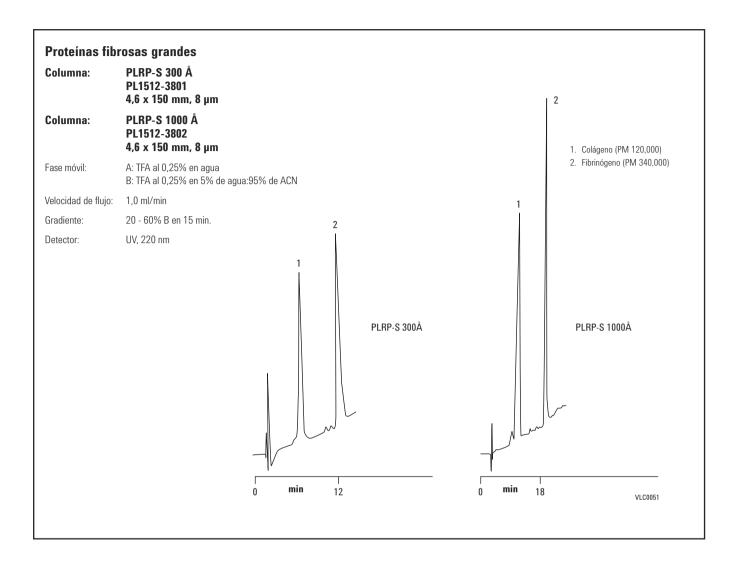
Gradiente: Cambio del 5% en tampón B en 5 minutos

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Temperatura: 35 °C, 60 °C u 80 °C

Detector: UV; 254 nm





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 PLRF	P-S para 5 x 3 mm, 2/paq.	PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801
PL	Soporte de precoli de 3,0 x 5,0 mm	umna para cartuchos	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
600	Precolumnas, 4/paq.	4,6 x 12,5	5	820950-931
660	Kit de soporte de la precolumna			820999-901

Patrones de aminoácidos

Cada patrón de aminoácidos contiene los aminoácidos siguientes:

• Glicina

• L-serina

• L-arginina

• L-cisteína

• L-alanina

• L-treonina

• L-histidina

• L-fenilalanina

• L-tirosina

• Ácido L-glutámico

• L-valina

• L-lisina

• L-leucina

• L-prolina

• Ácido L-aspártico

• L-metionina

• L-isoleucina

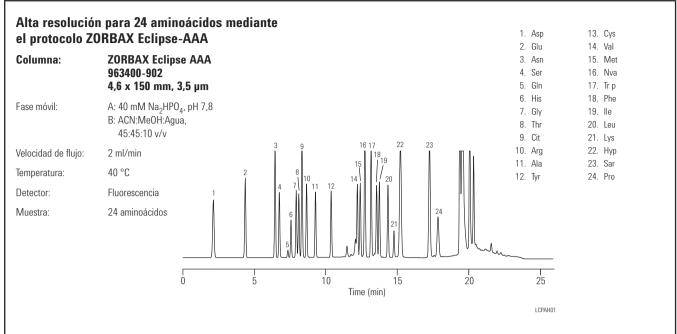
Patrones de aminoácidos, 10 ampollas de 1 ml*

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	5062-2478
Incluye 1 g de cada de norvalina, sarcosina, asparagina, glutamina, triptófano y 4-hidroxiprolina	

^{*}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				
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			



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.

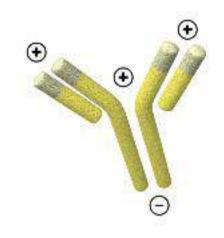
Aplicación de IEX al análisis de variante de carga

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.





WWW.AGILENT.COM/CHEM/LC LC Y LC/MS

397

COLUMNAS PARA SEPARACIÓN DE BIOMOLÉCULAS

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	PL-SAX	La funcionalidad de intercambio aniónico fuerte, enlazada covalentemente a un polímero
sintéticos desprotegidos	• 1 000 Å • 4 000 Å	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,
Proteínas y péptidos globulares	PL-SAX 1 000 Å	disolventes orgánicos y pH alto. Los medios de 5 µm permiten la separación a una
Biomoléculas muy grandes/alta velocidad	PL-SAX 4 000 Å	resolución superior, mientras que los medios de 30 μm se utilizan para la cromatografía de líquidos de presión media.
Pequeños péptidos a grandes	PL-SCX	La PL-SCX es una matriz PS/DVB macroporosa con un recubrimiento muy hidrófilo y una
proteínas	• 1 000 Å	fuerte funcionalidad de intercambio catiónico. Se trata de un proceso controlado para proporcionar una densidad óptima para los grupos de intercambio catiónico fuerte
	• 4 000 Å	durante el análisis, la separación y la purificación de una amplia variedad de biomoléculas
Proteínas globulares	PL-SCX 1 000 Å	Los medios de 5 µm permiten la separación a una resolución superior con los medios de
Biomoléculas muy grandes/alta velocidad	PL-SCX 4 000 Å	30 μm para la cromatografía de líquidos de presión media.
Anticuerpos (IgG, IgM), ADN de	Bio-Monolith	Fases de intercambio catiónico fuerte, intercambio aniónico fuerte y débil, y proteína A.
plásmidos, virus, fagocitos y otras macrobiomoléculas	 Bio-Monolith QA Bio-Monolith DEAE Bio-Monolith SO₃ Bio-Monolith Protein 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

		T#	F-4-Lilided	Límite de	V-1:4-4 4-
Fase ligada	d.i.	Tamaño de partícula	de pH	temperatura de funcionamiento	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

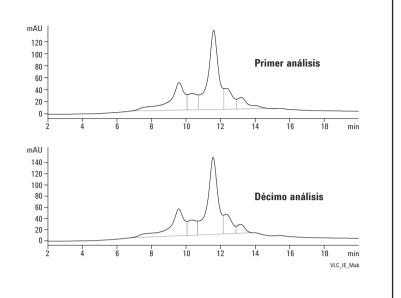
humanizados anti-CHO, 1 mg/ml

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

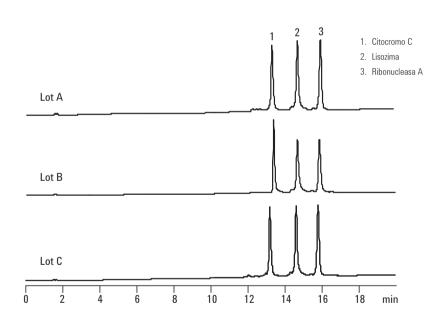
B: A + NaCl, 1,0 M

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

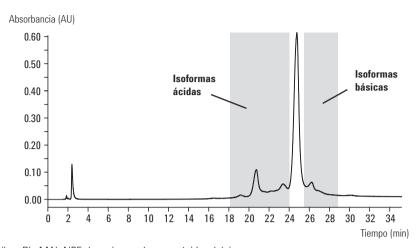
Fase móvil: A: Fosfato de sodio 10 mM, pH 7,50

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		

LC Y LC/MS



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 ₃ H	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), $\mathrm{N(C_2H_5)_2}$						



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

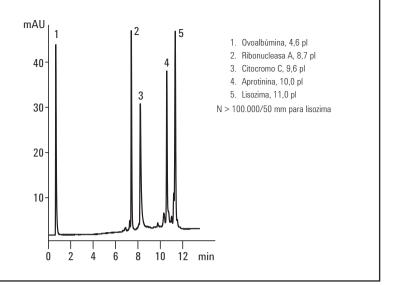
Tampón: Fosfato, 10 mM, pH 6,0

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 (pl).



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: NaH₂P04.2H₂O 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

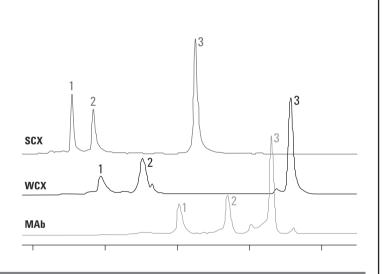


Ilustración donde se muestra cómo las columnas Bio WCX, SCX y MAb son capaces de producir separaciones de proteínas

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

Α

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.

26.618 25 26 27 В mAU : 300 250 200-150-50 22 25 C 120 100 80-60-40-20-

Columnas HPLC Agilent Bio IEX, PEEK

	Tamaño de partícula		Bio SCX	Bio WCX	Bio SAX	Bio WAX
Tamaño (mm)	(μm)	Límite de presión	Referencia	Referencia	Referencia	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 de partícula		Bio SCX	Bio WCX	Bio SAX	Bio WAX
Tamaño (mm)	(μm)	Límite de presión	Referencia	Referencia	Referencia	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

LC Y LC/MS WWW.AGILENT.COM/CHEM/LC

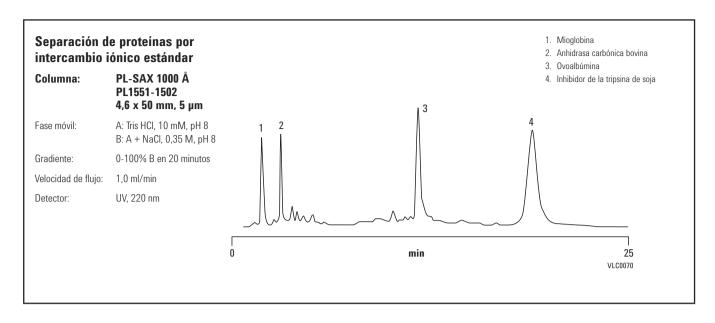


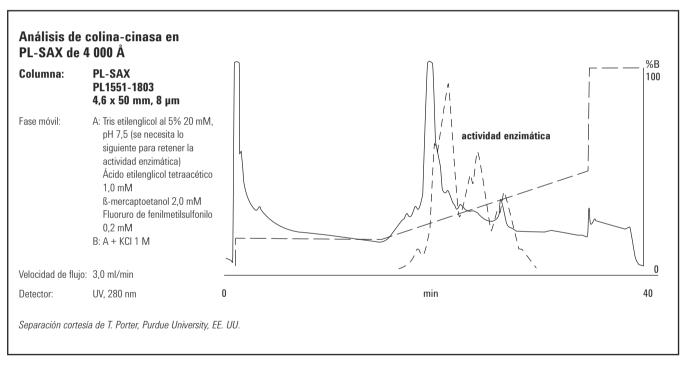
Columnas de intercambio aniónico fuerte PL-SAX

- 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(CH₃)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	90 °C





COLUMNAS PARA SEPARACIÓN DE BIOMOLÉCULAS

Análisis de proteínas de suero representativas

Columna: PL-SAX 1000 Å

PL1551-1802 4,6 x 50 mm, 8 µm

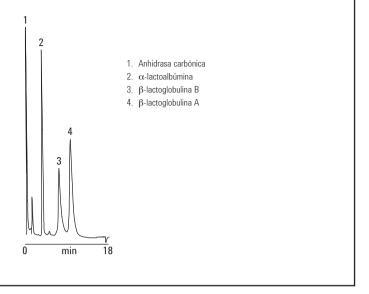
Fase móvil: A: Tris HCI 0,02 M, pH 7

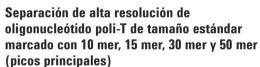
B: A + CH₃COONa 0,5 M, pH 7

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

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

Detector: UV. 280 nm





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

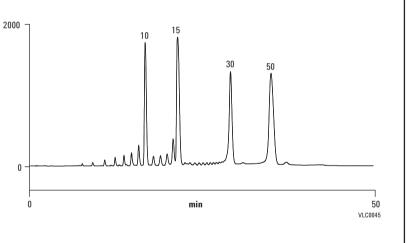
B: 7:93 v/v ACN: 0,1 M TEAA, 1 M cloruro

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

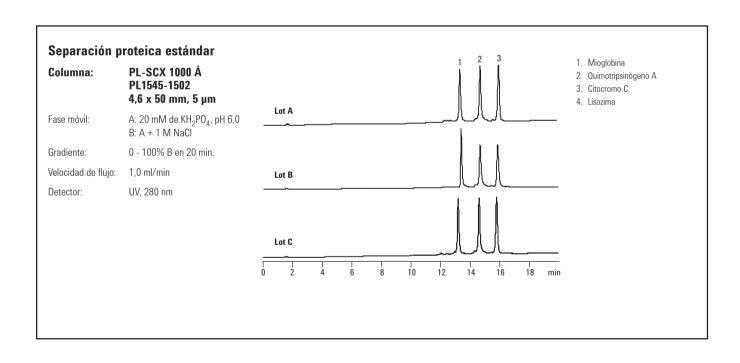


Columnas de intercambio catiónico fuerte PL-SCX

- 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 -S0 $_3$ - 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 μ m permiten la separación a una resolución superior con los medios de 30 μ m 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	2° 08



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.

COLUMNAS PARA SEPARACIÓN DE BIOMOLÉCULAS

Especificaciones de columnas	
Dimensiones	5,2 mm x 4,95 mm
Volumen de columna	100 μΙ
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
ldentificador 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

LC Y LC/MS

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: Na₂HPO₄ 10 mM, pH 6,0

B: A + NaCl 0,5 M o solo Na₂HPO₄ 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: Na₂HPO₄ 5 mM, tamponada pH 5,5 y B: NA₂HPO₄ 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

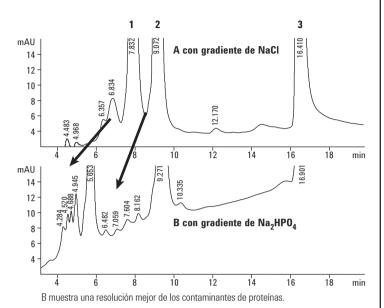
Muestra: Un mg por cada ml en la fase móvil A.

1. ARNasa de páncreas bovino (pl 9,6)

2. Citocromo C de corazón bovino (pl 10,37-10,8)

3. Lisozima de huevo de gallina (pl 11,35) (0,5 mg)

Instrumento: Agilent 1200 SL con detector de diodos



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

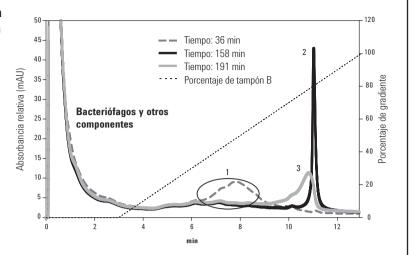
Gradiente: Tampón A 100% (2,5 min)

Tampón B 0-100% (10 min) Tampón A 100% (2 min)

Detector: UV a 280 nm

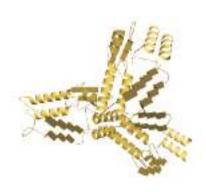
Instrumento: Sistema HPLC con gradiente a alta presión,

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.

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	2 o 3 PL aquagel-OH	La serie analítica PL aquagel-OH tiene un rango de pH de 2 a 10, es
PM, oligosacáridos, PEG, lignosulfonatos	PL aquagel-OH; 8 µmPL aquagel-OH 20; 5 µmPL aquagel-OH MIXED-M; 8 µm	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,	2 o 3 PL aquagel-OH	
polisacáridos, derivados de la celulosa	PL aquagel-OH MIXED-H; 8 μmPL aquagel-OH 60/50/40; 8 μm	
Polímeros con peso molecular muy alto, ácidos hialurónicos, almidones, resinas	PL aquagel-0H 60/50/40; 15 μm; en serie	

WWW.AGILENT.COM/CHEM/LC LC Y LC/MS

417



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

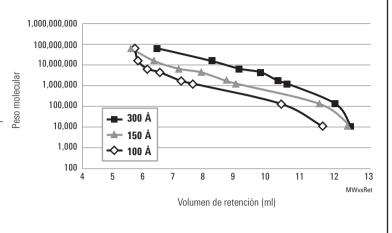
7,8 x 300 mm, 3 μm

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

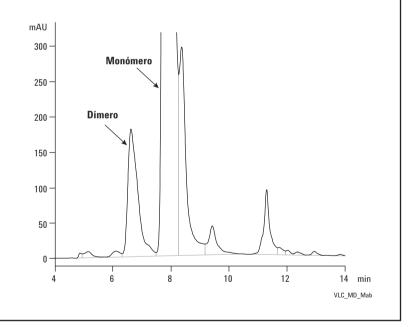
Muestra: Anticuerpo monoclonal de CHO humanizado,

5 mg/ml, intacto

Inyección: 5 µl

Detector: UV, 220 nm

Temperatura: Ambiente



COLUMNAS PARA SEPARACIÓN DE BIOMOLÉCULAS

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

Bio SEC-3, 300Å Columna:

5190-2511

7,8 x 300 mm, 3 µm

Columna:

Competidor 7,8 x 300 mm

Fase móvil:

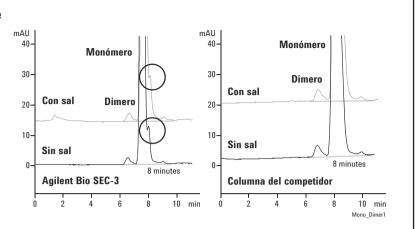
Fosfato sódico 150 mM + sulfato sódico

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

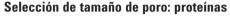
Eluyente	Columna	Relación resolución monómero: dímero	Eficacia monómero	Porcentaje dímero
Con sal	Agilent	2,04	7.518	0,59
Con sal	Otros fabricantes	1,88	3.967	0,59
Sin sal	Agilent	2,08	7.942	0,60
Sin sal	Otros fabricantes	1,92	4.164	0,57

1. Agregados de tiroglobulina

Tiroglobulina
 IgA

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.



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 +

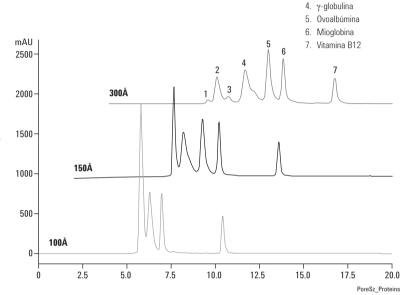
NaCl 0,15 M, pH 6,8

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

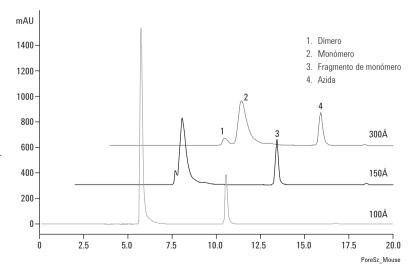
Fase móvil: Na_2HPO_4 50 mM, NaH_2PO_4 50 mM +

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

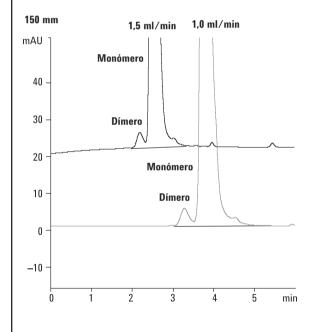
7,8 x 150 mm, 3 µm

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

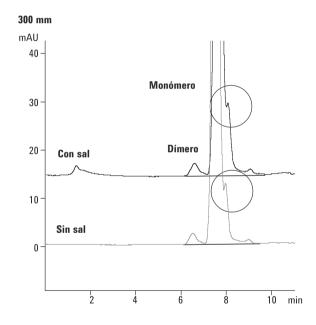
(con sal)

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 de partícula (μm)	Bio SEC-3 100 Å USP L33	Bio SEC-3 150 Å USP L33	Bio SEC-3 300Å USP L33
3	5190-2501	5190-2506	5190-2511
3	5190-2502	5190-2507	5190-2512
3	5190-2503	5190-2508	5190-2513
3	5190-2504	5190-2509	5190-2514
3	5190-2505	5190-2510	5190-2515
	(μm) 3 3 3 3 3	Tamaño de partícula (μm) 100 Å USP L33 3 5190-2501 3 5190-2502 3 5190-2503 3 5190-2503 3 5190-2504	Tamaño de partícula (μm) 100 Å USP L33 150 Å USP L33 3 5190-2501 5190-2506 3 5190-2502 5190-2507 3 5190-2503 5190-2508 3 5190-2504 5190-2509





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 μ m con unos tamaños nominales de poro de 100 Å, 150 Å, 300 Å, 500 Å, 1.000 Å y 2.000 Å.

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

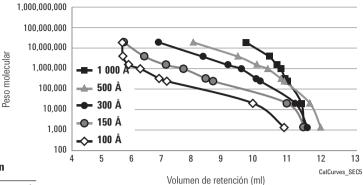
Columna: Bio SEC-5

7,8 x 300 mm, 5 µm

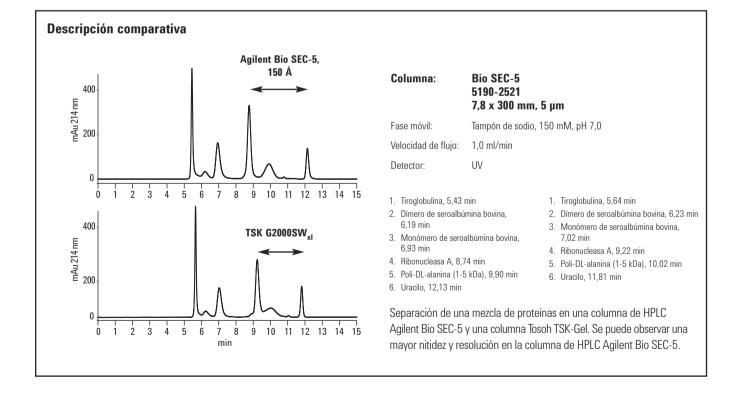
Fase móvil: Tampón de sodio, 150 mM, pH 7,0

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

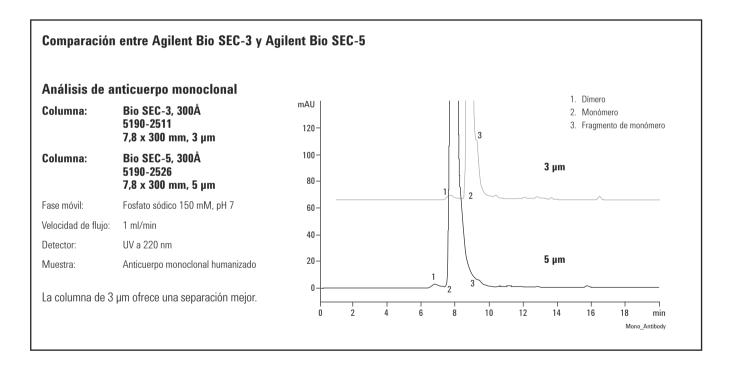
Detector: UV



	Peso	Volumen de retención					
Proteínas	molecular	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	



Reproducibilidad excepcional entre Vida útil Reproducibilidad lotes ΑU Bio SEC-5, 150Å Columna: 80 5190-2521 1. Tiroglobulina 7,8 x 300 mm, 5 µm .70 2. Seroalbúmina bovina Fase móvil: Tampón de fosfato, 150 mM, .60 3. Ribonucleasa A pH 7.0 4. Uracilo .50 .40 Lot 1 .30 Lot 2 .20 .10 Lot 3 La mezcla de cuatro proteínas presenta una excelente reproducibilidad del tiempo 12 2 12 2 4 6 8 10 14 min 6 8 10 14 min de retención en 300 inyecciones y en Tercer análisis tres columnas de distintos lotes de Después de fabricación. 300 invecciones



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

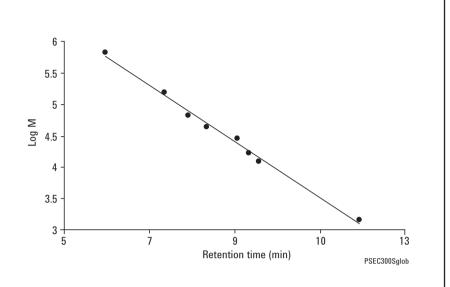
Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

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 NaH₂PO₄

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

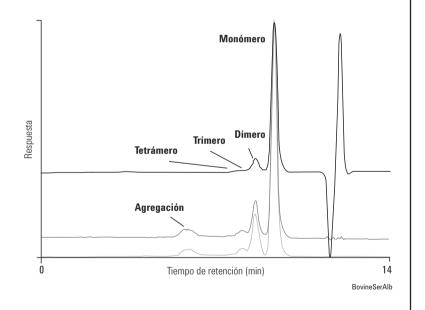
Detector: Índice de refracción diferencial + detector de

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.

COLUMNAS PARA SEPARACIÓN DE BIOMOLÉCULAS

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

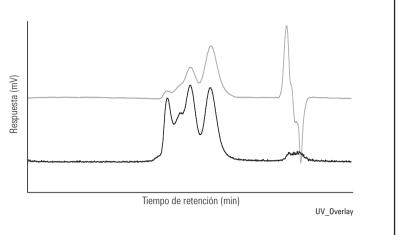
Fase móvil: KH₂PO₄ 0,1 M con NaCl 0,3 M, pH 8,0

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

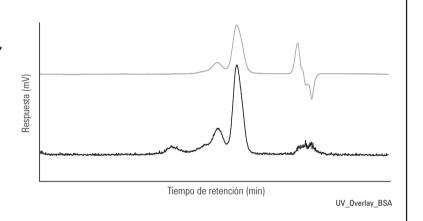
Fase móvil: KH₂PO₄ 0,1 M con NaCl 0,3 M, pH 8,0

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min Temperatura: $5 \, ^{\circ}\text{C}$

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

- 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.



Columnas de filtración en gel GF-250

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

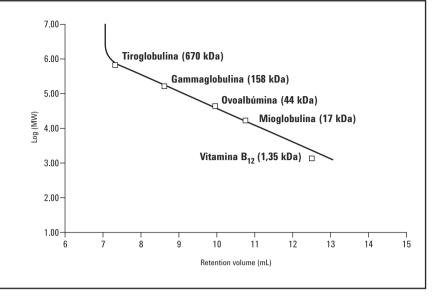
884973-901

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

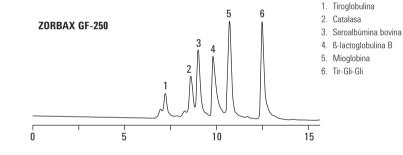
Columna: ZORBAX GF-450

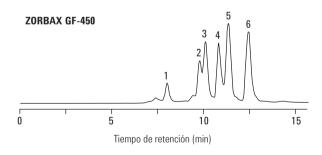
884973-902

9,4 x 250 mm, 6 µm

Fase móvil: Na₂HPO₄ 0,2 M, pH 7,0

Velocidad de flujo: 5,0 ml/min Detector: 280 nm Muestra: 200 μ l





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
Salvacolun	nnas (requieren soporte)			
P	Pre-columna GF-250 Diol, 2/paq.	9,4 x 15	6	820675-111
660	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
600	Pre-columna GF-250 Diol, 4/paq.	4,6 x 12,5	6	820950-911
P	Kit de hardware de precolumna prep.			840140-901
6600	Kit de soporte de la precolumna			820999-901
Columnas I	PrepHT			
A	PrepHT GF-250, 150 Å	21,2 x 250	6	877974-901
<u> </u>	PrepHT GF-450, 300 Å	21,2 x 250	6	877974-910
A	Conexione terminales PrepHT, 2/paq.			820400-901
<u> </u>	Precolumna PrepHT GF-250, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-911
<u>A</u>	Precolumna PrepHT GF-450, 2/paq.	17,0 x 7,5	5	820212-911
A	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 μΙ	
Presión máxima	150 bares (15 MPa, 2.200 psi)	
Valor mínimo/máximo de	Trabajo: 4-40 °C	
temperatura	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 policional 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 Detector:

Un sistema HPLC con gradiente a alta presión,

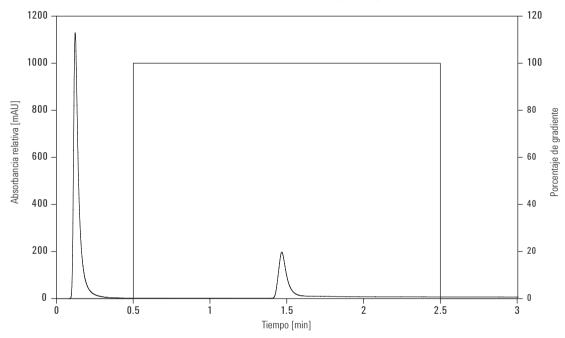
Gradiente en el proceso completo: 100% del tampón

A-100% del tampón B-100% del tampón A (0,5 min cada paso)

Agilent 1200 - UV a 280 nm

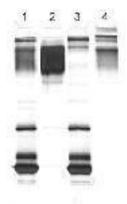
Muestra: Plasma humano diluido con tampón de ligado

(tampón PBS, pH 7,4)



Gradiente:

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 lgG1 e lgG2)

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).

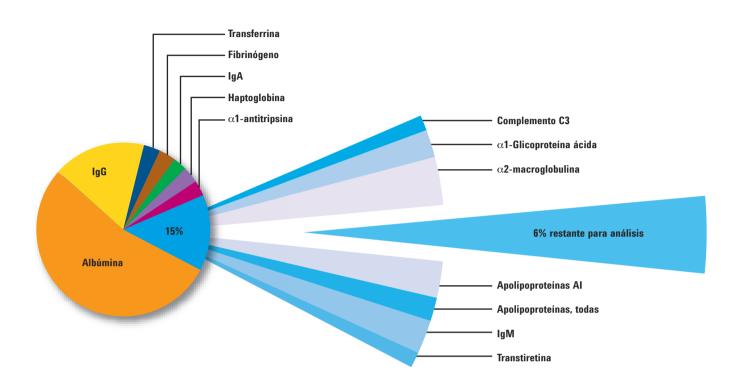
Las muestras reducidas con el sistema de eliminación por afinidad múltiple están preparadas para realizar análisis posteriores, como electroforesis en gel 2-D, LC/MS y otras técnicas analíticas.

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, apolipoproteína AII, complemento C3, transtiretina	94%	Cartucho centrífugo	8 - 10 μΙ	5188-6560	
			4,6 x 50 mm	20 μΙ	5188-6557
			4,6 x 100 mm	40 μΙ	5188-6558
	transtiretina		10,0 x 100 mm	250 μΙ	5188-6559
MARS Human-7 Albúmina, IgG, IgA, transferrina, haptoglobina, antitripsina y fibrinógeno.		88-92%	Cartucho centrífugo	12 - 14 µl	5188-6408
	haptoglobina, antitripsina y fibrinógeno.		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 μΙ	5188-5230	
	haptoglobina y antitripsina.		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	
	haptoglobina y antitripsina.		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	Albúmina, IgG	69%	Cartucho de centrífuga	50 μl	5188-8825
			4,6 x 50 mm	100 μΙ	5188-8826
MARS Human-1 Albúmina	Albúmina	50-55%	Cartucho de centrífuga	65 µl	5188-5334
			4,6 x 50 mm	130 μΙ	5188-6562
MARS Mouse-3 Albúmina	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

COLUMNAS PARA SEPARACIÓN DE BIOMOLÉCULAS

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





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





Adaptadores de cierre luer 5188-5250



Adaptadores de cierre luer 5188-5253

Kits de iniciación del sistema de eliminación por afinidad múltiple

Descripción	Referencia	
Kit de iniciación de reactivos de columna de LC	5185-5986	
Incluye:		
Tampón A, 1 I, para cargado, lavado y equilibrado,	5185-5987	
Tampón B, 1 I, 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	5188-5254	
Incluye:		
Tampón A, 1 I, para cargado, lavado y equilibrado	5185-5987	
Tampón B, 1 I, 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	



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

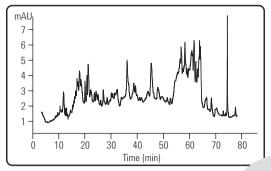
El patrón proteómico complejo de Agilent es un extracto de proteínas Pfu soluble que contiene más de 1500 proteínas. Junto con nuestra tripsina apta para proteómica, tratada con TPCK, constituye la combinación ideal para la validación del flujo de trabajo en la detección de biomarcadores mediante LC/MS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

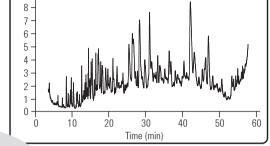
Reactivos proteómicos para el análisis mediante LC/MS

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

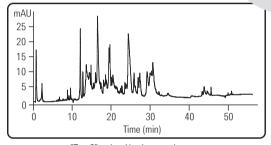




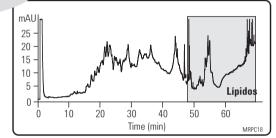
Membranas preparativas de HeLa

Máxima recuperación

Lisado celular HeLa (352 µg)



"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 H₂0: ACN al 5% con TFA al 0,1%

B: 5% de H₂0: 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 H₂0: ACN al 5% con TFA al 0,1%

B: 5% de H₂O: 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 HCI)

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)

DMS0 o 0,1-1% en DMS0

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**

Gradiente

WWW.AGILENT.COM/CHEM/LC

B al 5-60% en 30 min

4,6 x 150 mm, 5 µm 773995-902

Temperatura:

25-30 °C (<60 °C)

Fase móvil:

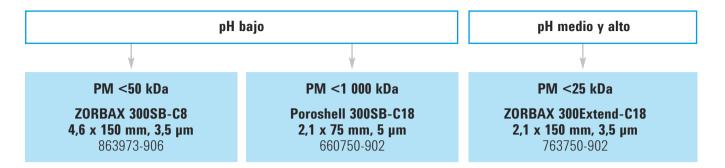
A: NH₄0H 20 mM en H₂0

Velocidad de flujo: 1 ml/min

B: de NH₄OH 20 mM en ACN al 80%

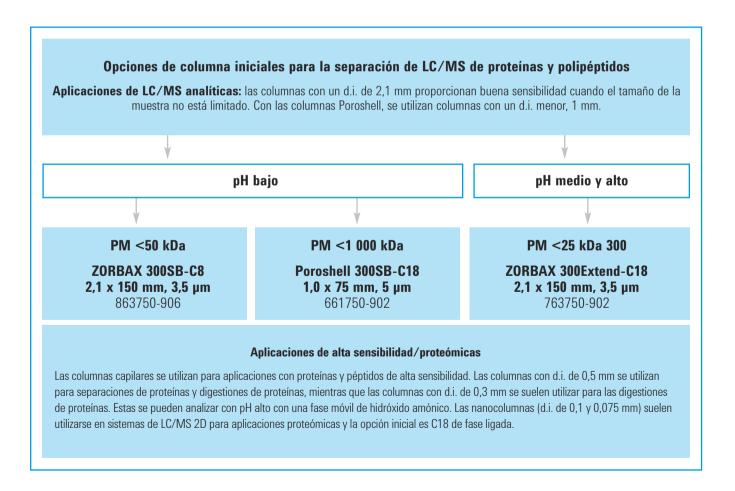
LC Y LC/MS

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

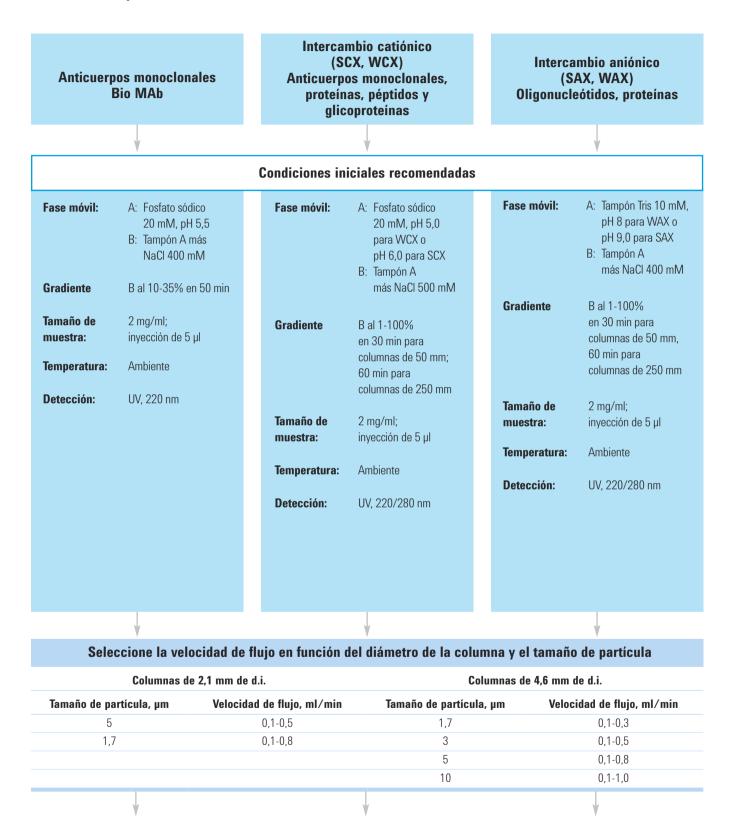


Métodos de LC/MS de fase reversa

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.



Métodos para columnas de intercambio iónico Bio



WWW.AGILENT.COM/CHEM/LC

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

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

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

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

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

COLUMNAS PARA SEPARACIÓN DE BIOMOLÉCULAS

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 KCI) 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.