

Cromatografía y

Técnicas

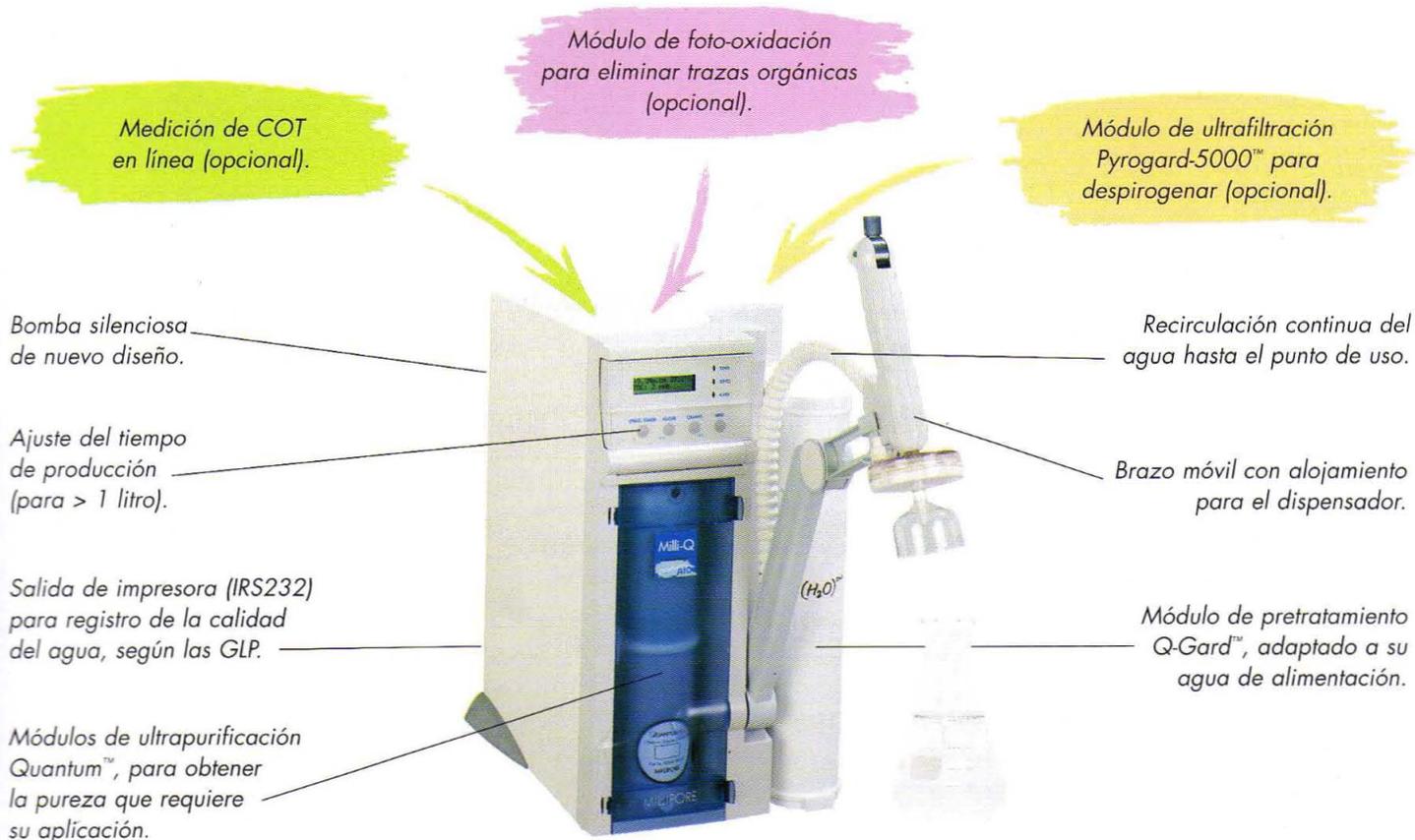
A fines



**Boletín del Grupo de Cromatografía
y Técnicas Afines de la Real Sociedad
Española de Química**

Volumen 20. Núm. 2 (1999)

A VECES, LA INNOVACIÓN TIENE SENTIDO.



SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE AGUA ULTRAPURA PARA LABORATORIO.

Nuevo
Milli-Q

Al rediseñar los equipos que establecieron el patrón de calidad en el agua ultrapura, hemos tenido muy en cuenta las sugerencias de los usuarios. La nueva gama Milli-Q® refleja esas nuevas necesidades, que dan más flexibilidad, mayor facilidad de uso y mejor control de la calidad del agua. El nuevo Milli-Q está diseñado para ser actualizable con una serie de opciones en cuanto a tecnologías de tratamiento y a módulos de ultrapurificación, más las posibilidades de medir en línea el carbono orgánico total (COT) y de registrar los niveles de calidad del agua.

Ahora, usted puede dar un importante paso adelante en su trabajo. Esta innovación sí tiene sentido.

Para más información sobre el nuevo Milli-Q:

Millipore Ibérica, S.A.

Tel.: 917 283 960 y 934 525 530

Fax: 917 292 909 y 934 516 048

Web Internet: <http://www.millipore.com>

E-mail Internet: iberica@millipore.com

MILLIPORE

CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

Madrid, diciembre de 1999 Vol. 20, núm. 2

ISSN 1132-1369

Grupo de Cromatografía y Técnicas Afines (www.iqo.csic.es/gcta/index.htm)
(Real Sociedad Española de Química)

INDICE

38 **EDITORIAL**

ARTICULOS

39 Cromatografía de inmunoafinidad, *por Angel Puerta*

NOTICIAS DEL GCTA

52 HPLC 99: un éxito del Grupo

52 Próxima Reunión

53 Nuevos Socios

INFORMACIONES

56 Constitución de la SEEM

57 Las IX Jornadas de Análisis Instrumental

59 Calendario de actividades

61 Aviso

DE NUESTRAS EMPRESAS COLABORADORAS

64 Novedades técnicas

72 Nota de la Redacción

Directora:

Isabel Martínez Castro
Instituto de Química Orgánica General (CSIC)
Juan de la Cierva, 3. 28006 Madrid. Tel.: 91 562 29 00, ext. 212
E-mail: iqomc16@iqog.csic.es

Publicidad:

José Luis Andréu
Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC)
Juan de la Cierva, 3. 28006 Madrid. Tel.: 91 562 29 00, ext. 355

Comité Editorial: J. Sanz, E. Gelpí, M. de Frutos, M.D. Cabezudo, M.L. Marina, G. Reglero y C. Gutiérrez Blanco

Depósito legal: M-1.902-1975

Diseño, preimpresión e impresión: Helios, S.A. • Avda. de Manoteras, 22 • 28050 Madrid • Tel.: 91 768 49 50

EDITORIAL

El año 1999 ha sido algo atípico para el GCTA. Hemos tenido dos reuniones, la oficial con la Asamblea anual, en el marco del 23rd International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, el HPLC'99, que se celebró en Granada a finales del mes de Mayo y las 9^{as} Jornadas de Análisis Instrumental, las JAI, que tuvo lugar en Barcelona en Noviembre. En la primera, asistieron mayoritariamente los miembros del grupo que trabajan en cromatografía de líquidos y electroforesis capilar mientras que en la segunda, lo hicieron en mayor proporción aquellos que trabajan en cromatografía de gases. El hecho de celebrar nuestra reunión en el marco de una internacional mucho mayor tiene ventajas e inconvenientes, entre las ventajas se puede destacar que permite establecer contactos con investigadores de otros países y hacerse una idea general de las líneas de trabajo más recientes y dinámicas. Por otro lado sin embargo, el contacto y dialogo entre los miembros del grupo se diluye. Los miembros del GCTA que hemos asistido a los dos congresos tenemos la sensación de haber asistido este año a dos reuniones, aunque en una hemos coincidido con algunos socios y en la otra con otros. Quisiera señalar que para mí el hecho de que el GCTA como tal haya participado en dos reuniones en un año muestra la capacidad en investigación de los miembros del grupo, lo cual es motivo de orgullo y satisfacción. Además, he constatado un cierto sentimiento de consideración y sana envidia en miembros de otros grupos que quizás son menos dinámicos, creo sinceramente que debemos aprovechar la coyuntura para extender el grupo entre investigadores de centros que hasta este momento han tenido poca vinculación con el GCTA y deberíamos pensar en alguna estrategia que partiendo de la situación actual nos permitiera esta expansión.

De entre los temas de funcionamiento interno del GCTA quisiera remarcar como ya indicaba en el último editorial, que ya tenemos actualizado el listado de socios y que el GCTA cobra las cuotas de sus miembros excepto las de los socios numerarios de la Real Sociedad de Química, falta tan solo acabar de concretar con esta entidad la forma y cuantía de nuestra pertenencia a la Real Sociedad, tarea que el tesorero Lluís Comellas y yo misma pensamos llevar a cabo próximamente. Por otro lado me gustaría pedir colaboración para la web del GCTA, os recuerdo que hay un buzón de sugerencias para mejora y actualización de la web y que de hecho, la web tiene sentido si sirve como herramienta de comunicación entre los socios. Hemos recibido muy pocas sugerencias y noticias para incluir por lo que me atrevo a animaros del modo más coactivo posible a que utilizéis el buzón y nos mandéis cuantas ideas, preguntas y cartas se os ocurran. La dirección es <http://www.iqo.csic.es/gcta/index.htm>. Además quisiera deciros que nos gustaría cambiar la portada del Boletín por una algo más llamativa y moderna. Por ello agradeceríamos que nos mandárais propuestas de nuevas portadas a fin de organizar un concurso que podríamos resolver en la próxima reunión, Animo a todos los que tienen dotes artísticas a que colaboren con nosotros en nuestra mejora de imagen.

Quisiera recordaros que la próxima reunión del GCTA, la XXIX, se celebrará en Alcalá de Henares del 12 al 14 de Julio organizada por M^a Luisa Marina a quien agradezco su disponibilidad. Supongo que todos ya habréis recibido la primera circular donde se indican los temas y aspectos relacionados con la cromatografía y las técnicas afines que se van a tratar en la reunión. Varios conferenciantes ya han aceptado asistir y no tengo ninguna duda de que los que quieran acompañarnos podrán disfrutar tanto de una buena reunión científica como de una muy agradable estancia en Alcalá de Henares. Os recuerdo que como es costumbre en las reuniones del GCTA se concederán becas de asistencia a los estudiantes de tercer ciclo. En esta reunión se celebrará la Asamblea anual del GCTA y las correspondientes elecciones de miembros de la Junta Directiva. Finalmente tan sólo me queda invitaros a todos a venir a Alcalá en Julio.

M.T.Galceran
Presidenta del GCTA

ARTICULOS

Cromatografía de inmunoafinidad

A. Puerta.

Instituto de Química Orgánica General, C.S.I.C. Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid.

INTRODUCCIÓN

La cromatografía de afinidad es un modo de cromatografía basado en la interacción específica entre una molécula o grupo de moléculas presentes en la fase móvil, y un ligando, que es una molécula inmovilizada sobre el soporte cromatográfico. Las moléculas son retenidas a través de la formación de un complejo específico con el ligando. Cuando el reconocimiento entre la molécula y el ligando es una interacción de tipo biológico, recibe el nombre de cromatografía de bioafinidad (1). El mecanismo de retención es mucho más específico y selectivo que en la cromatografía en fase normal, en fase inversa, de exclusión molecular o de intercambio iónico.

La cromatografía de afinidad es un modo de cromatografía de líquidos, ya sea de alta o baja presión, en columnas preparativas, analíticas o capilares. Como ejemplos de interacciones empleadas en el mecanismo de retención en cromatografía de afinidad, se pueden mencionar:

- Interacción metal-ligando, IMAC (Immobilized Metal ion Affinity Chromatography). Se inmoviliza un ion metálico sobre las partículas del soporte cromatográfico, siendo retenidas aquellas proteínas con grupos que formen complejos estables con dicho metal (2).
- Interacción avidina-biotina. Se inmoviliza la avidina sobre el soporte cromatográfico, y al introducir una muestra que contenga compuestos derivatizados con biotina, son separados de la disolución a través de la afinidad avidina-biotina. Los anticuerpos pueden ser derivatizados con biotina a través de sus carbohidratos (3).
- Interacción de proteína G y proteína A, con el fragmento Fc de un anticuerpo. Los anticuerpos (Ab) son una familia de proteínas llamadas inmunoglobulinas (Ig) de las que la IgG es la principal Ig en el suero. La proteína G y la proteína A reconocen un grupo de aminoácidos presentes en el fragmento Fc (figura 1) de algunas Ig, uniéndose al anticuerpo a través de dichos aminoácidos. Se puede retener la IgG presente en una muestra, a través de la interacción con la proteína A o G inmovilizada sobre el soporte cromatográfico (4).
- Interacción de lectinas con azúcares. La capacidad de las lectinas inmovilizadas de interactuar con los azúcares, permite su empleo para la purificación de glicoproteínas y polisacáridos. Destaca el empleo de

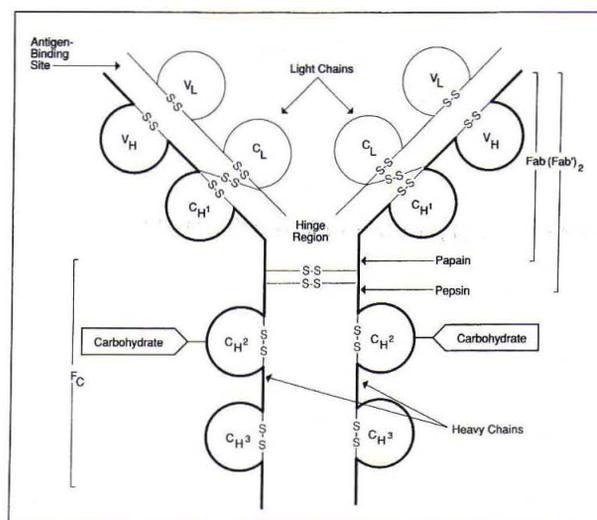


Fig. 1.- Estructura de una molécula de Ab de la clase IgG. Se muestran los distintos dominios o secuencias de aminoácidos que forman cada una de las cuatro cadenas que componen un Ab, así como los fragmentos que se originan por el ataque de distintas enzimas. (Tomada del catálogo de Pierce Chemical Company 1992, con permiso).

la concanavalina A por su gran afinidad con la α -D manosa y α -D glucosa (5).

- Interacción antígeno-anticuerpo, con formación de un inmunocomplejo. Los antígenos (Ag) se dividen en inmunógenos, si provocan la producción de Ab al ser introducidos en un organismo extraño (respuesta inmunogénica) y haptenos, que son moléculas generalmente de pequeño tamaño, inferior a 2000 daltons, que son reconocidos por el Ab pero no provocan respuesta inmunogénica, salvo cuando se unen a otra molécula mucho mayor. Esta interacción Ag-Ab es el principio de reconocimiento en el que se basa la CROMATOGRAFÍA DE INMUNOAFINIDAD o INMUNOCROMATOGRAFÍA.

La inmunocromatografía se encuadra en los sistemas de análisis en flujo que surgen como alternativa a los métodos tradicionales para el análisis de Ag, o Ab, como son los ensayos en inmunoabsorbentes con moléculas marcadoras, realizados en "placas de pocillos", en tubos o en viales. Las moléculas marcadoras proporcionan la señal medible, bien porque catalicen la conversión de un sustrato en un producto detectable, como las enzimas, bien por sus propiedades fluorescentes o radiactivas, o

bien porque catalicen una reacción química con emisión de luz. La inmunocromatografía y los ensayos clásicos son sistemas heterogéneos pues una de las especies se inmoviliza sobre un sólido, pero sólo el sistema en flujo presenta la característica de desarrollarse en continuo.

Los métodos clásicos son sensibles y pueden analizar numerosas muestras de forma simultánea, pero su intervalo de concentraciones de trabajo suele ser más pequeño que en los sistemas en flujo, son largos y tediosos de realizar y tienen una baja precisión siendo a veces sólo semi-cuantitativos. Puesto que el análisis de la muestra y de los patrones se realiza en pocillos o tubos distintos, pequeñas diferencias en el soporte contribuyen a la baja repetibilidad. Por su propio diseño, presentan dificultad en las etapas de lavado para eliminar los compuestos no retenidos o los excesos de reactivos marcados, por lo que pueden darse problemas de elevado ruido de fondo debido a las adsorciones no específicas en comparación con los sistemas en flujo.

Los sistemas en flujo permiten un preciso control sobre los tiempos de reacción y adición de reactivos, son más precisos, el intervalo de concentraciones de trabajo es amplio omitiendo etapas de dilución y manipulación de muestras, las cuales son fuente de error, y son fácilmente automatizables. Permiten además, el trabajo con volúmenes de muestra tan reducidos como $1\mu\text{l}$ o inferiores, insuficientes para los sistemas clásicos de inmutioadsorbentes.

Los principales **finos para los que se aplica la inmutio cromatografía** son los siguientes:

1. **Fines preparativos.** Para purificación o extracción de antígenos o anticuerpos de una muestra compleja. La purificación del Ab presente en un antisuero se realiza con el empleo de una inmutio columna, donde está inmovilizado el antígeno correspondiente, y la posterior elución del Ab retenido.

2. **Fines analíticos.** Para cuantificación-determinación del analito de interés, habitualmente el antígeno.

Si bien, la inmutio cromatografía se puede emplear de una forma relativamente sencilla para purificar antisueños, su aspecto más interesante es la cuantificación de los antígenos en una muestra, y hacia esta línea se orienta este artículo, por lo que salvo excepciones, cuando se haga referencia a la inmovilización de un ligando sobre el soporte cromatográfico, se trata de un anticuerpo.

ETAPAS DE UN ANÁLISIS INMUNOCROMATOGRAFICO.

El desarrollo de un análisis inmutio cromatográfico conlleva la realización de las etapas siguientes:

1. Preparación de la columna de inmutioafinidad. Soporte cromatográfico e inmovilización del ligando.

La columna de inmutioafinidad (IAC) se obtiene por inmovilización del ligando sobre el soporte cromatográfico. Salvo en la realización del inmutio ensayo no competitivo del tipo "una única unión Ag-Ab", del que se hablará posteriormente, la determinación de Ag presente en una muestra se realizará con una IAC donde se haya inmovilizado el Ab correspondiente. Esta inmovilización sobre el soporte cromatográfico se puede hacer de forma covalente o por afinidad. En este último caso se emplea la interacción avidina-biotina o la asociación de la IgG con proteína G o proteína A.

El soporte cromatográfico, se puede empaquetar en la columna antes o después de la inmovilización del ligando.

2. **Supresión de las interacciones no específicas.** Tanto el ligando en su fase de inmovilización sobre el soporte, como el analito o compuestos presentes en la muestra al introducirse en la IAC, pueden quedar retenidos por interacciones no específicas. Dichas interacciones disminuirán con el lavado de la fase estacionaria y el empleo de aditivos.

3. **Reconocimiento inmutio lógico y detección.** Se introduce la muestra que contiene el Ag específico frente al Ab presente en la IAC, reteniéndose el Ag a través de la interacción antígeno-anticuerpo y eluyéndose sin retener el resto de componentes de la muestra. Posteriormente se realiza la detección del Ag retenido, bien de forma simultánea (figura 2) o bien de forma previa a la desorción, que es la elución de los compuestos retenidos en la IAC por la ruptura de la unión Ag-Ab.

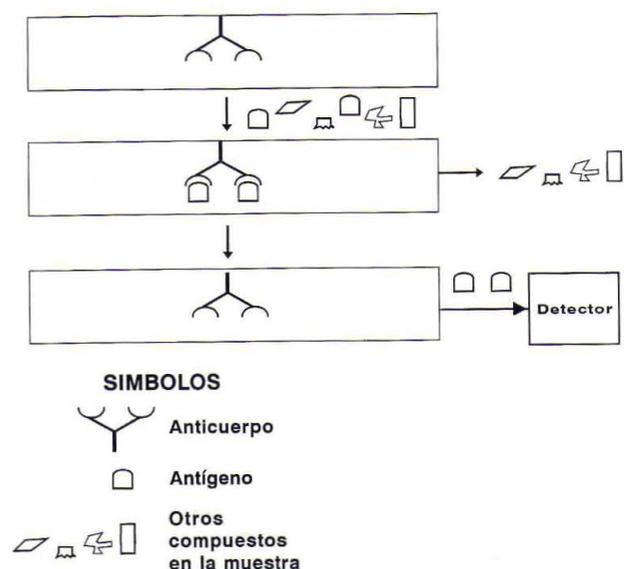


Fig. 2.- Secuencia básica de un análisis por cromatografía de inmutioafinidad. (Adaptada de 1, con permiso).

4. Recuperación del sistema cromatográfico.

Posteriormente a la cuantificación, cuando la IAC no es de un solo uso, se realiza la regeneración de la inmunocolumna para realizar el próximo ensayo. Para ello, se lleva a cabo la desorción del Ag unido al Ab, en el caso de no haberse desorbido para la detección, seguido del cambio a una fase móvil que elimine el agente de desorción de la IAC y permita que el ligando, Ab, se renaturalice para poder reconocer al Ag presente en la próxima muestra.

A continuación se detalla cada una de las etapas mencionadas.

1. Preparación de la columna de inmunoespecificidad. Soporte cromatográfico e inmovilización del ligando.

El soporte cromatográfico (6) debe tener una gran superficie para aumentar al máximo la capacidad de retención de la columna. En las primeras aplicaciones de la inmunocromatografía se usaban sistemas de baja presión y se empleaban geles hidrófilos como soporte cromatográfico, los cuales presentaban una elevada relación superficie-volumen. Las características del gel debían ser las siguientes:

- Ser un material macroporoso, para facilitar la difusión de los analitos hacia los ligandos inmovilizados sobre el gel y así facilitar su reconocimiento inmunológico.
- Tener un carácter hidrófilo o neutro, para evitar la retención de los analitos y componentes de la muestra de forma no específica, por interacciones hidrófobas.
- Contener grupos que permitan su funcionalización o derivatización de forma sencilla para la inmovilización del ligando, así como la introducción de espaciadores, los cuales disminuyen los impedimentos estéricos.
- Ser estable química y físicamente en las condiciones de trabajo.
- Estar disponible comercialmente.

Los polímeros altamente sustituidos con grupos hidroxilos como los polisacáridos, en especial la agarosa, reúnen estas características. Este polímero presenta un amplísimo uso en la inmunocromatografía de baja presión, debido a la gran cantidad de métodos descritos para su funcionalización y derivatización de forma simple, si bien no tiene una gran estabilidad física y química.

Otros geles empleados como soporte cromatográfico, son: celulosa, dextrano entrecruzado, poliacrilamida, mezcla poliacrilamida-agarosa, polímero de trishidroximetil-acrilamida y sílice. La celulosa puede ser una alternativa a la agarosa, pues es más barata y se aplican los mismos métodos de inmovilización del ligando que con la agarosa. Los geles basados en dextrano entrecruzado así como de poliacrilamida presentan la desventaja de tener unos poros más pequeños que los de la agarosa, reduciendo su tamaño al inmovilizar el ligando en ellos y

generando problemas en la accesibilidad del analito hacia el ligando.

En la inmunocromatografía de baja presión se emplean tamaños típicos de partícula de 100 micras de diámetro. Posteriormente, la inmunocromatografía evolucionó hacia el empleo de sistemas de alta presión, lo que trajo como consecuencia el uso de partículas de tamaño entre 5 y 15 micras, así como la exigencia de una mayor rigidez del gel para poder soportar presiones mucho mayores, por lo que la sílice sustituyó a la agarosa como soporte cromatográfico. La sílice se presenta como partículas irregulares o esféricas. Ambos tipos de partículas suelen ir derivatizadas con cadenas con silano con un grupo funcional en su extremo, como epoxi o amino, para facilitar la inmovilización del ligando. Además, las partículas esféricas pueden ir recubiertas con carbohidratos hidrófilos, no iónicos y derivatizables, para disminuir las interacciones entre el material biológico y la superficie de la partícula, o bien recubiertas con proteína A o proteína G (7). Las partículas de sílice comerciales tienen un tamaño de poro que oscila entre 60 y 4000 Å. En función del tamaño del ligando a inmovilizar y del analito que se pretenda separar, es necesario un mayor tamaño de poro para facilitar la inmovilización del ligando y la difusión del analito hacia el poro para interactuar con el Ab inmovilizado (8).

La sílice presenta el inconveniente de su inestabilidad a valores extremos de pH (9), por lo que se han desarrollado otros soportes para la inmunocromatografía en alta presión como partículas de agarosa de pequeño diámetro y menor porosidad que la agarosa convencional (10) y polímeros orgánicos sintéticos altamente sustituidos con grupos hidroxilos y con una porosidad y rigidez adecuadas. Los polímeros orgánicos sintéticos se emplean como fase estacionaria mucho más que las partículas de agarosa de alta presión.

Entre las partículas de polímeros orgánicos sintéticos disponibles en la actualidad se pueden mencionar:

- Soporte polimérico POROS®. Las partículas están basadas en un polímero de estirenodivinilbenceno, y se emplean en cromatografía de perfusión, en la que debido a los dos tipos de poros que presentan los rellenos, poros de difusión y poros transversales, es posible realizar las separaciones a flujos de fase móvil elevados, sin pérdida de eficacia.
- Soporte polimérico Affi Prep®. Son partículas poliméricas basadas en metacrilato, con un espaciador de 10 átomos y que en su extremo poseen un éster de N-hidroxisuccinimida (Affi Prep® 10), un grupo hidrazida (Affi Prep® Hz) o proteína A (Affi Prep® Protein A).

Ambos tipos de inmunocromatografía, de alta y baja presión, se usan abundantemente en la actualidad, si bien

los sistemas de baja presión se emplean principalmente con fines preparativos, y los sistemas de alta presión con fines analíticos.

Los métodos genéricos para inmovilizar el ligando, Ab, sobre los distintos soportes descritos, son los siguientes (6):

I. Métodos para agarosas y otras matrices de tipo polisacárido.

I.A.- Procesos de cianilación con bromuro de cianógeno, CNBr, y su derivado por unión con dimetilaminopiridina, DAP, (CNBr+DAP = CDAP). Consiste en activar el soporte con la introducción de un grupo ciano sobre un hidroxilo y luego llevar a cabo la reacción con el ligando a través de un grupo amino del mismo. La desventaja de este método es la gran toxicidad de CNBr.

I.B.- Procesos de activación del soporte con bisepoxirano, o epiclorhidrina o divinilsulfona. Sobre un grupo hidroxilo del soporte, se introduce un reactivo funcionalizado en sus extremos, y que en el caso del bisepoxirano es de longitud variable, pudiendo actuar de espaciador. Sobre el extremo libre se unirá el ligando. Este método es empleado con ligandos con grupos hidroxilo, amino o mercapto.

I.C.- Procesos de activación de los hidroxilos del soporte con cloruros de sulfonilo tales como cloruro de tosilo o tresilo, que son buenos grupos "salientes" y permiten la unión al soporte de ligandos con grupos amino o mercapto.

I.D.- Procesos de activación de los hidroxilos del soporte con N,N-disuccinimidil-carbonato (DSC) o carbonildiimidazol (CDI). Ambos reactivos, constituidos por un grupo cetona con dos buenos grupos "salientes", activan el soporte para la entrada de ligandos con grupos amino.

I.E.- Procesos de condensación basados en la activación del soporte, que posee un grupo ácido, con carbodiimidas, permitiendo la entrada del grupo amino del ligando. También se puede emplear con ligandos con grupos ácido y soportes con grupos amino. Una variante de este método es la activación del soporte con N-hidroxisuccinimida.

I.F.- Procesos de inmovilización en soportes que contengan grupos mercapto. Especialmente aptos para ligandos con grupos electrófilos como el radical vinileno o el grupo cetona.

I.G.- El método del isocianato. Basado en la condensación de cuatro grupos funcionales como son el grupo amino, ácido, cetona o aldehído, e isonitrilo. De los cuatro grupos mencionados, uno estará presente en el ligando, otro en el soporte y los dos grupos restantes necesarios para la condensación se adiciona-

rán al medio de reacción, como sustancias de bajo peso molecular.

II. Métodos para matrices o soportes de tipo poliacrilamida.

II.A.- Proceso de activación del soporte que posee un grupo amida, con adición de glutaraldehído, y posterior adición de un ligando con un grupo amino que se inmoviliza sobre el glutaraldehído ya fijado.

II.B.- Proceso de activación del soporte por adición de hidrazina, para formar una hidrazida. A continuación se puede introducir un ligando con un grupo aldehído, formando la base de Schiff, o bien tratar con ácido nitroso, obteniendo acilazida sobre la que introducir un ligando con un grupo amino.

III. Métodos para matrices de sílice.

Se basan en unir un silano funcionalizado a la sílice, irregular o esférica, que permita unir el ligando al silano a través del grupo funcional del mismo. Los silanos más empleados son γ -aminopropiltrimetoxisilano y γ -glicidoxipropiltrimetoxisilano.

IV. Métodos para matrices poliméricas.

Emplean dos tipos de soportes poliméricos ya mencionados.

– **POROS®**, se comercializa con los grupos siguientes:

1- Hidroxilo, que serán activados con CNBr, cloruro de tresilo, etc., para la inmovilización de ligandos con grupos amino o tiol. (POROS® OH)

2- Aldehído, para inmovilizar ligandos a través de una amina primaria. (POROS® AL)

3- Epóxido, para inmovilizar ligandos conteniendo una amina primaria o secundaria, o bien un grupo mercapto o hidroxilo. (POROS® EP)

4- Amina primaria, para inmovilizar proteínas o carbohidratos a través de grupos aldehído. (POROS® NH)

5- Hidrazida, para inmovilizar IgG a través de sus carbohidratos. (POROS® HY)

– **Affi Prep®**, se comercializa con los grupos siguientes:

1- N-hidroxisuccinimida, para inmovilizar ligandos que presenten aminas primarias (Affi Prep® 10).

2- Hidrazida, para inmovilizar ligandos con grupos aldehído formando una hidrazona. (Affi Prep® Hz).

La ventaja del empleo de Affi Prep® Hz o POROS® HY es que se inmoviliza el anticuerpo, a través de los carbohidratos presentes en el Ab, localizados en el dominio C_H2 en el caso de una IgG (figura 1) y repartidos a lo largo de su estructura para el resto de clases de Ig, de forma que se realiza una inmovilización con control de la orientación del anticuerpo, permitiendo que los paratopos del Ab (zona donde se realiza el reconocimiento immuno-

lógico), se orienten hacia la fase móvil y estén más disponibles frente al Ag, obteniendo mayor eficacia de acoplamiento Ab-Ag (11). El beneficio de la inmovilización con control de la orientación, se acentúa cuando el Ag reconocido por el ligando es una molécula voluminosa, como una proteína, en vez de un hapteno.

La mayoría de los métodos para inmovilizar covalentemente un ligando sobre un soporte, se basan en la unión de un "activador" bifuncional a la matriz sólida, que facilitará la unión del ligando por:

- Poseer un grupo, como un epóxido, que reaccione con un grupo, como el amino, presente en el ligando.
- Poseer un buen grupo saliente como el tosilo o el tresilo que facilite la entrada del ligando.

Si el activador del soporte posee una cadena de átomos suficientemente larga como para evitar los impedimentos estéricos entre la matriz y el ligando, puede cumplir también la misión de espaciador.

Puesto que un gran número de los métodos descritos para la inmovilización del ligando, están orientados a introducir ligandos con grupos amino, una vez se haya realizado la inmovilización, hay que proceder a bloquear o neutralizar todos los grupos activados que permanezcan libres, pues al introducir el Ag frente al anticuerpo inmovilizado, podría quedar retenido no por unión al ligando fijado, sino por unión a estos grupos activados y libres, a los que tendría acceso una molécula con grupos amino, como una proteína. Este proceso de bloqueo se realiza por la adición de moléculas pequeñas que contengan un grupo reactivo frente al soporte activado, como éster etílico de glicina para soportes activados frente a grupos amino, o etanolamina para soportes activados frente a grupos amino o hidroxilo.

Para realizar la **inmovilización por afinidad**, se emplea:

- Proteína A o G unida covalentemente al soporte, (POROS® A, POROS® G, Affi Prep® A, o bien otro tipo de soporte derivatizado), para inmovilizar una Ig, principalmente IgG, que actúe como ligando. Si una vez inmovilizado el Ab por afinidad sobre proteína A o G, se adiciona un agente entrecruzante, como carbodiimida, el Ab quedará inmovilizado por unión covalente (7).
- Avidina unida covalentemente al soporte para inmovilizar un Ab derivatizado con biotina, que actúe como ligando.

2. Eliminación de interacciones no específicas.

En la etapa de inmovilización del ligando pueden producirse adsorciones no específicas del Ab sobre la fase estacionaria, generando inmunocomplejos con el Ag presente en la muestra inyectada. En la etapa de desorción, los Ab adsorbidos no específicamente eluirían de la IAC,

a diferencia de los Ab inmovilizados covalentemente, lo que daría lugar a falta de repetibilidad en los resultados y que hace necesaria la eliminación de los Ab unidos no específicamente antes del empleo de dicha IAC. La eliminación de los ligandos adsorbidos no específicamente suele ser posible con el lavado de la fase estacionaria con una disolución de NaCl 0,5-2M.

Los diversos compuestos presentes en la muestra, pueden retenerse por reconocimiento inmunológico del ligando y por adsorción no específica, debido a los "parches" hidrófobos que presentan tanto antígeno como anticuerpo y a interacciones no específicas con el soporte cromatográfico, lo que daría lugar a medidas erróneas.

Las adsorciones no específicas disminuyen con el empleo de aditivos adicionados tanto en la fase móvil, como en la muestra a inyectar. Como aditivos se emplean detergentes, proteínas y mezclas como las siguientes:

- Detergentes como Brij 35, Brij 78, Tween 20, Triton X-100 (no muy recomendado por su alta absorción en la región UV-VIS), etc.
- Proteínas como ovoalbúmina, seroalbúmina bovina, etc.
- Mezclas complejas como leche en polvo.
- Gelatina, etilenglicol, polietilenglicol, etc.

Cada uno de estos aditivos actúa sobre un tipo de interacción, y la mezcla de dos o más no tiene porqué comportarse como la suma de sus comportamientos aislados.

3. Reconocimiento inmunológico y detección.

Se introduce la muestra que contiene el Ag, el cual se retiene debido a la interacción con el Ab inmovilizado en la IAC, no quedando retenidos el resto de compuestos de la muestra, los cuales son arrastrados fuera de la IAC por la fase móvil.

El modo de introducción del analito y las etapas posteriores del inmunoensayo, entre las que se encuentran la detección y la recuperación de la IAC, vienen condicionadas por el propio diseño del inmunoensayo y están interrelacionadas en mayor o menor medida.

Los modos de detección según el tipo de inmunoensayo diseñado (12), son los siguientes:

3.1. Detección directa del analito. Implica, una vez retenido el Ag en la IAC, la introducción de un agente de desorción o elución, y la medida directa del Ag en el seno de este agente de elución a la salida de la IAC, (ver figura 3).

La detección se puede realizar por la técnicas siguientes:

Espectrofotometría UV-VIS. (7). Por ser una técnica de detección no excesivamente sensible, implica la necesidad de que la concentración de analito en la muestra sea relativamente alta. Al realizar la *detección continua* (on

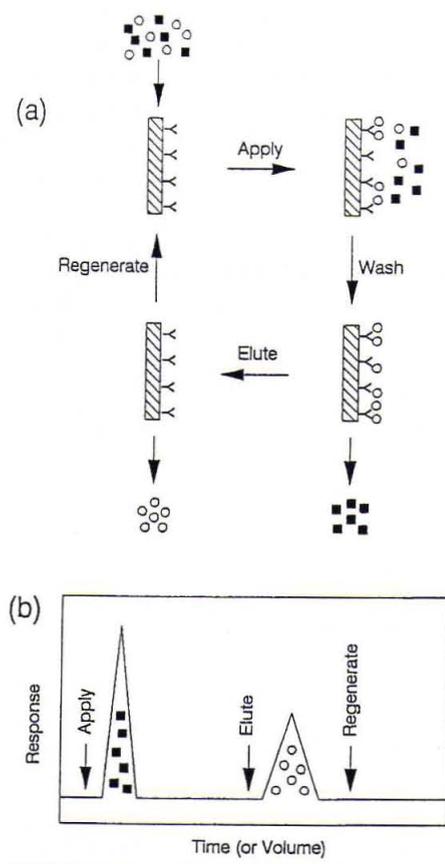


Fig. 3.- a) Esquema general de un método inmunocromatográfico con detección por medida directa del analito y b) un modelo del cromatograma resultante. Los cuadrados representan compuestos de la muestra no retenidos en la IAC, y los círculos representan el analito a medir. (Tomada de 12, con permiso).

line), se pueden presentar problemas como la interferencia del desorbente debido a un cambio en la viscosidad, y por tanto en el índice de refracción, respecto a la fase móvil. Otro problema que se puede presentar es el ensanchamiento del pico cromatográfico debido a la lenta cinética de desorción. La *detección discontinua (off line)*, colección del eluato a la salida de la IAC y detección posterior, permite hacer un cambio de tampón pero implica una posible dilución del analito colectado, que puede limitar su medida por espectrofotometría. En cualquier caso, la detección discontinua implica manipulación de la muestra y perder parte de las ventajas de la IAC, tales como la rapidez, la automatización y la sensibilidad debida a la concentración de la muestra. No obstante, hay veces en que es necesario un cambio de disolución en la que medir el Ag, pues puede que el agente de desorción no sea compatible con el sistema de detección, como puede ocurrir al emplear espectrometría de masas, MS.

Medida de la señal proporcionada por el empleo de

sondas o marcadores fluorescentes, radiactivos y quimioluminiscentes. Para ello es necesario realizar una etapa de derivatización de la muestra para la introducción de la sonda marcadora, previa a la inyección (13). Tiene como desventaja la manipulación de la muestra, pero mejora considerablemente la sensibilidad de la detección, entre 3 y 6 órdenes de magnitud, comparado con el empleo de la detección por espectrofotometría UV-VIS.

3.2. Detección indirecta del analito. Implica la detección de un compuesto o molécula que guarda una relación de proporcionalidad concreta con el analito de interés.

Detección por inmunoensayos competitivos. En una IAC donde se inmoviliza un Ab, se inyecta una muestra problema, conteniendo el Ag en concentración desconocida, y se inyecta el mismo Ag o una molécula similar pero marcado con una sonda química o enzimática. Se pueden diferenciar los siguientes tipos:

Con inyección simultánea. Se inyecta la muestra, que contiene al Ag a cuantificar, a la que se le ha adicionado el mismo antígeno marcado, Ag-L. Por medida del Ag-L no retenido en la columna (directamente proporcional al Ag problema en la muestra), o bien por medida del Ag-L retenido por la columna (inversamente proporcional al Ag problema retenido), se calcula la cantidad de antígeno presente en la muestra. El Ag-L retenido, se puede medir:

- Antes de la desorción, por tener una sonda enzimática y medir la conversión de un sustrato inyectado a producto (14).
- Durante la desorción, por tener una sonda cuya actividad no se vea afectada por el agente de desorción.

Con inyección secuencial. Tras la inyección de la muestra conteniendo el Ag problema, se inyecta el Ag-L, el cual reaccionará con el anticuerpo que haya quedado libre. Por medida del Ag-L, no retenido en la IAC o bien del retenido en la IAC, se calcula el antígeno problema.

Existe una variante en la cual, puesto que el Ag problema y el Ag-L contactan con el Ab inmovilizado en la IAC en diferentes tiempos, no es necesario el empleo de la sonda marcadora. Se inyecta la muestra problema y a continuación se inyecta el Ag de referencia no marcado, (Ag-ref), del cual una fracción queda retenida en la IAC. La fracción de Ag-ref no retenida en la IAC, la cual es directamente proporcional al Ag presente en la muestra problema, se mide a la salida de la IAC por espectrofotometría UV-VIS, permitiendo calcular la cantidad de Ag problema (15).

Otro modo de determinar el Ag problema consiste en calcular Ag-ref retenido en la IAC, inversamente proporcional al Ag problema presente en la muestra. Esto se puede realizar a través de la diferencia en la señal proporcionada por el Ag-ref inyectado en ausencia de IAC menos la señal del Ag-ref no retenido en la IAC (16).

Con detección por desplazamiento. En este método, la columna de anticuerpos es saturada en primer lugar por el antígeno marcado y acto seguido se introduce el analito problema. El desplazamiento puede transcurrir por dos mecanismos:

- El analito puede tener más afinidad por el ligando que el Ag-L que satura la IAC.
- El analito puede ser capaz de unirse a los centros de reconocimiento inmunológico del Ab que momentáneamente se encuentren libres debido al estado de equilibrio disociación/asociación en el que está el Ag-L y el Ab unido al soporte. El resultado es el desplazamiento del Ag-L de la IAC debido a la ley de acción de masas (17).

Dicho Ag-L desplazado es detectado posteriormente de forma continua o discontinua. La ventaja que presenta este método es que con una sola aplicación de antígeno marcado en la IAC, ésta se puede reutilizar varias veces antes de volver a saturar la IAC con Ag-L. No obstante, si la cantidad de analito que va quedando retenido en la IAC no es despreciable, puede influir en los análisis posteriores. Además, este método es fuertemente dependiente o de la diferencia de afinidades de Ab-L y analito por el ligando o de la velocidad de disociación del Ag-L unido al anticuerpo, y del flujo de la fase móvil, pudiéndose producir ensanchamiento del pico cromatográfico.

Este método no es de uso muy habitual en inmunocromatografía, si bien tiene mayor aplicación en otros modos de cromatografía de afinidad (5).

El inmunoensayo competitivo suele tener un intervalo de linealidad bastante estrecho y el límite de detección depende fuertemente de la constante de afinidad Ag-Ab. Un problema que puede llevar asociado el desarrollo de este método es la presencia de proteasas en la muestra problema que al mezclarse con el Ag-L, en la inyección simultánea, puede afectar a la actividad de la sonda marcadora, en especial si es una enzima (18).

Detección por inmunoensayo no competitivo.

Una única unión Ag-Ab. (“one site immunometric assay”). Se incuba el anticuerpo en exceso y marcado, con la muestra problema que contiene el Ag, y la mezcla se introduce en una columna con el Ag inmovilizado. Sólo se retendrá en la IAC el exceso de anticuerpo, no quedando retenido el complejo Ag-Ab-L. Se cuantifica el Ag problema, midiendo a la salida de la IAC el complejo marcado y no retenido, a través de una sonda fluorescente o enzimática. El empleo de una sonda enzimática lleva asociado el uso de un reactor posterior a la columna donde se adicione el sustrato para la reacción con la sonda enzimática y se genere el producto detectable por espectrofotometría UV-VIS, por fluorescencia (18) o electroquímicamente (19).

Inmunocomplejo sandwich. (“two sites immunometric assay”). En una IAC donde se haya inmovilizado un Ab₁, se inyecta de forma secuencial o simultánea el Ag y un segundo Ab₂ marcado, (Ab₂-L), formando en el interior de la IAC un inmunocomplejo Ab₁-Ag-Ab₂-L. La detección se puede realizar de las dos formas siguientes:

Sin desorción del inmunocomplejo. Generalmente implica el uso de una sonda marcadora enzimática, la inyección de un sustrato y la medida del producto generado en la IAC, con incubación o no del sustrato en la IAC. Como ejemplos de sondas enzimáticas y sistemas de detección, se pueden mencionar: glucosa oxidasa y detección amperométrica (20), fosfatasa alcalina y detección espectrofotométrica (21) o fluorescente (22) y peroxidasa de rábano picante con detección espectrofotométrica (3).

El empleo de una sonda fluorescente con medición sin desorción (23) lleva asociada la medida del Ab₂-L que no queda retenido en la IAC, cuando se inyecta el Ag y cuando no se inyecta el Ag. Esta diferencia de señal del Ab₂-L no retenido, es directamente proporcional a la cantidad de Ag que queda formando el inmunocomplejo sandwich en la IAC, (ver figura 4).

Con desorción del inmunocomplejo. Una vez formado el inmunocomplejo Ab₁-Ag-Ab₂-L en el interior de la IAC, se inyecta un desorbente y se mide el complejo a través de la sonda marcadora en el seno del agente de desorción. Se emplean sondas fluorescentes o quimioluminiscentes (24). Se puede emplear la elución por desplazamiento, si bien es poco frecuente, inyectando un Ag' que presente mayor afinidad por el Ab₁ que el Ag problema, eluyendo el complejo Ag-Ab₂-L (25).

Un caso particular sería la formación de inmunocomplejos “pseudo-sandwich” donde se combina la unión por inmunoafinidad y por otro tipo de afinidad. El Ab₁ que se inmoviliza sobre el soporte se sustituye por proteína A o proteína G, y por tanto la unión con el Ag, que es un tipo de inmunoglobulina, no será del tipo inmunológico sino de afinidad. Posteriormente se inyecta un anticuerpo Anti-inmunoglobulina marcado (Ab₂-L). La detección se puede realizar en la etapa de desorción (26) empleando una sonda fluorescente o antes de la desorción del inmunocomplejo (27) empleando una sonda enzimática. En este último caso, el empleo de una columna capilar y de volúmenes de inyección de 500 nl permite obtener un límite de detección del orden de zeptomoles.

El inmunoensayo sandwich presenta un intervalo de linealidad mayor que el inmunoensayo competitivo y un límite de detección inferior, siempre que se optimice la relación señal/ruido. Este inmunoensayo presenta como desventajas, el estar muy condicionado por la adsorción no específica del Ab₂-L, y la imposibilidad de aplicarlo a la detección de Ag de tamaño muy reducido, haptenos, tanto por la necesidad de la presencia de varios puntos de

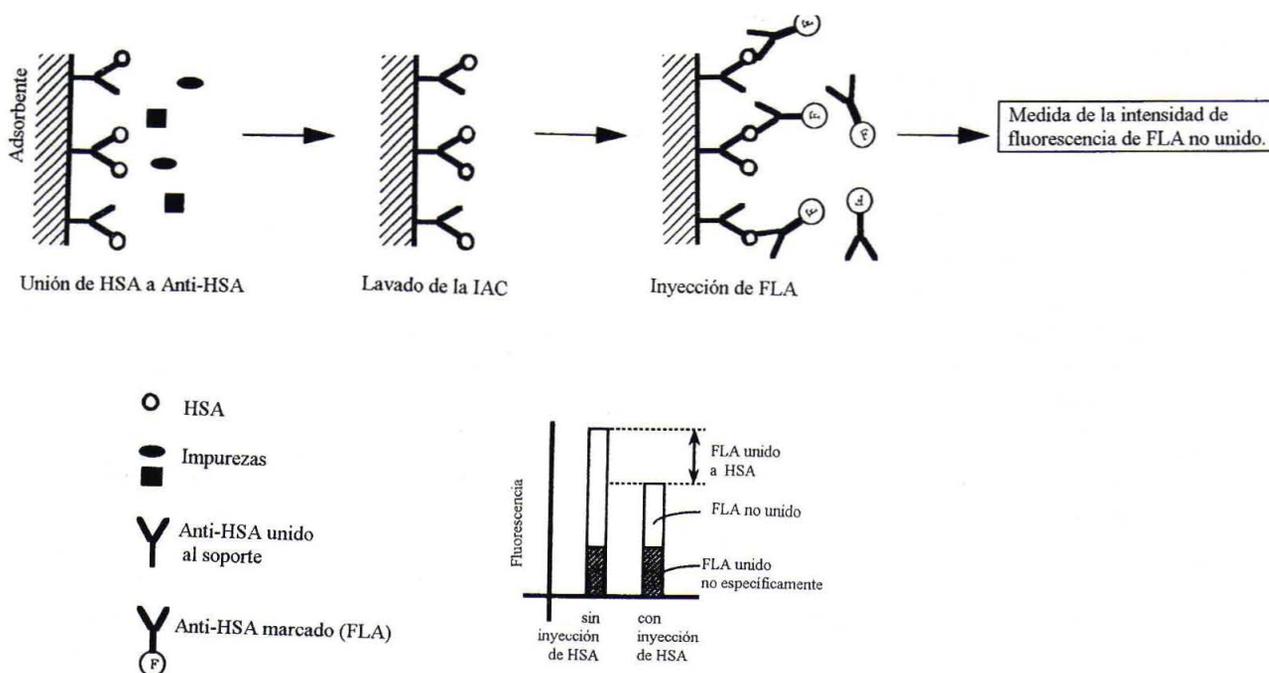


Fig. 4.- Esquema general de un inmunoensayo tipo sandwich, con medida del Ag, seroalbúmina humana, HSA, por diferencia en la señal fluorescente del Ab-L (FLA) no retenido en la IAC, en presencia y en ausencia de Ag inyectado. (23).

reconocimiento inmunológico en una molécula muy pequeña, como por el impedimento estérico entre el Ab₁ y el Ab₂-L.

3.3. Acoplamientos

Estos modos de detección, directa e indirecta, del analito se pueden desarrollar combinando la IAC con distintos sistemas de detección o **acoplado, en continuo o discontinuo, la columna inmunocromatográfica con otra técnica de separación**, que lleve un sistema de detección. Las ventajas del acoplamiento de ambas técnicas son:

- Incrementar la sensibilidad en la detección, debido a la concentración del analito desorbido de la IAC, al ser introducido posteriormente en la columna cromatográfica de separación.
- Eliminar interferencias de la matriz de la muestra, o del agente de desorción. Esta característica junto con la concentración del analito, posibilitan la detección por espectrofotometría UV-VIS por el método de medida directa del analito, sin la necesidad de emplear otros métodos con moléculas marcadoras.
- Diferenciar una mezcla de Ag retenidos en la IAC a través de la etapa de separación posterior.

Se pueden mencionar los siguientes tipos de acoplamiento:

A) Con otro modo de cromatografía de líquidos. El acoplamiento de dos columnas cromatográficas puede recibir el nombre de inmunoensayo en doble columna, "Dual-column immunoassay, DCIA", o cromatografía en columna en tandem, "Tandem column chromatography,

TCC". Es el acoplamiento más desarrollado dada su compatibilidad.

Atendiendo al orden de las etapas de separación, los acoplamientos entre ambas columnas se pueden clasificar en (28):

Separación cromatográfica previa a la columna de inmunoafinidad, LC-IAC. Este acoplamiento sólo se da con cromatografía de líquidos, pues el empleo de electroforesis capilar o cromatografía de gases como primera etapa no sería ventajoso debido al reducido volumen de inyección de ambas técnicas. Se han descrito casos de acoplamiento de cromatografía de afinidad metal-ligando con inmunocromatografía y detección por espectrofotometría UV-VIS (2) o cromatografía en fase inversa con inmunocromatografía y detección por fluorescencia a través de una sonda marcadora (29, 30). En la figura 5 se puede observar un esquema de detección no competitiva del tipo llamado "una única unión Ag-Ab" (29, 30). En este caso el Ag que eluye de la primera columna se hace reaccionar con Ab en exceso marcado fluorescentemente.



En la columna de inmunoafinidad se retiene el exceso de Ab-L, cuantificándose en el detector el complejo Ag-Ab-L no retenido.

Separación cromatográfica posterior a la columna de inmunoafinidad, IAC-LC, siendo el modo más frecuente de acoplamiento. Se puede realizar:

Sin desorción del analito de la IAC. El Ag se mide por comparación del cromatograma obtenido en ausencia de Ab en la IAC, y en presencia de Ab inmovilizados en la

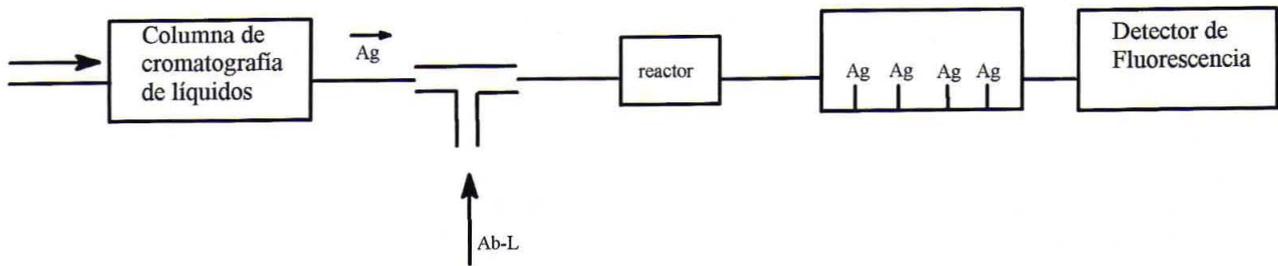


Fig. 5.- Esquema del acoplamiento en continuo LC-IAC, con medida del Ag presente en la muestra por realización de un inmunoensayo no competitivo del tipo “una única unión Ag-Ab”, detectando el complejo Ag-Ab-L no retenido en la IAC. (30).

IAC (31). Para ello es necesario que el Ag esté en una concentración relativamente elevada.

Con desorción del Ag de la IAC, para su concentración en la LC y detección. Inicialmente se aplicó al análisis de drogas, las cuales eran desorbidas con disoluciones acuosas con modificadores orgánicos (32), favoreciendo la desorción con la adición en el modificador orgánico de moléculas con elevada afinidad por el Ab inmovilizado (33).

Hay descritos acoplamientos de inmunocromatografía con cromatografía en fase inversa con detección espectrofotométrica (4), fluorescente (34), o por MS (35), acoplamiento con columna de exclusión molecular, y acoplamiento con columna de intercambio catiónico (36). Se han descrito sistemas más complejos como el acoplamiento en continuo de una etapa de diálisis previa al acoplamiento inmunocromatografía-cromatografía de líquidos (37), o alguna aplicación para el estudio de estructura primaria de proteínas, donde se acopla una IAC con una secuencia de cuatro columnas, (cambio iónico, de tripsina inmovilizada para la hidrólisis de la proteína a su paso por esta columna, de desalinización y de fase inversa) con posterior detección por espectrometría de masas (38).

B) Con cromatografía de gases. Hay descritos diversos acoplamientos en discontinuo entre inmunocromatografía y cromatografía de gases, pero el elevado volumen de elución de la IAC, así como la incompatibilidad del agente de desorción como disolvente de inyección en el cromatógrafo de gases, dificultan el acoplamiento en continuo de ambas técnicas. Ambos problemas necesitan el diseño de una interfase adecuada compuesta por una columna para cromatografía de líquidos en fase inversa (flujos de 25 $\mu\text{l}/\text{min}$) y un dispositivo de *zona sin retención de analitos* (“retention gap”) al inicio de la columna de cromatografía de gases (39). De esta forma, se puede inyectar en la IAC un volumen de 5-25 ml de muestra real, desorber el Ag sobre la columna en fase inversa y transferir 75 μl al capilar sin retención de analitos que lleva el cromatógrafo de gases.

C) Con electroforesis capilar. Dado el volumen reducido que se puede inyectar en un sistema de electro-

foresis capilar, CE, no es viable el acoplamiento en continuo con una IAC de tamaño convencional, por lo que la IAC también debe ser de dimensiones capilares. Una primera aproximación consistió en el desarrollo de un microconcentrador en un tubo capilar, donde se retienen partículas con Ab inmovilizados (40). Al pasar la muestra que contiene el Ag, éste queda retenido y posteriormente se eluye recogiendo alícuotas de 5 μl que son analizadas en discontinuo por CE y por MS.

El acoplamiento entre inmunocromatografía y electroforesis capilar se ha desarrollado generando la IAC en el interior del capilar de electroforesis o uniendo la IAC capilar al capilar de electroforesis con el empleo de conectores o una interfase adecuada entre la IAC capilar y la CE (41).

En la IAC capilar se realiza la inmunoextracción, de forma que tras la elución de los compuestos retenidos son separados entre sí electroforéticamente. Los modos de inmovilizar el Ab en el interior del capilar para acoplamientos inmunocromatografía-CE, son:

- Inmovilizados sobre la pared del capilar de forma covalente (42, 43) o por adsorción sobre la pared de un capilar, que puede estar modificado con C8 (44).
- Inmovilizados sobre partículas, covalentemente (45), o a través de proteína G (41), de forma que las partículas son retenidas en el interior del capilar bien por encapsulamiento entre dos fritados, generados “in situ” por calentamiento controlado de una sección de partículas de sílice, o bien empleando partículas magnéticas (46).
- Inmovilizados en el interior de un haz de capilares o en una varilla de vidrio con microcanales realizados por láser (47). Ambos tipos de microconcentradores se conectan al capilar a través de dos conectores en sus extremos, sellados con resina epoxi. De esta forma se incrementa mucho la superficie activa comparada con la inmovilización directa sobre la pared del capilar. La reproducibilidad del microconcentrador de vidrio con microcanales fue superior a la del haz de capilares, pues éste dio problemas de adsorciones no específicas, obstrucción y disminución del flujo electrosmótico.

El acoplamiento de la inmunocromatografía con una técnica de separación, supone un ahorro considerable de tiempo en la preparación de la muestra, así como en la manipulación de la misma, incrementando la automatización, la sensibilidad y la precisión del análisis.

4. Elución de inmunocompuestos y recuperación del sistema cromatográfico.

La etapa de desorción en un inmunoensayo, es aquella en la que se anulan las interacciones Ag-Ab de las especies retenidas en la IAC consiguiendo su elución de la columna. Durante la etapa de desorción se anulan las uniones por afinidad, por lo que si el ligando se inmovilizó por afinidad y no covalentemente, también será eluido. La desorción se puede realizar para cuantificar alguna de las especies retenidas en la IAC, a su paso por el detector, como se ha tratado en el apartado anterior, o bien para preparar la inmunocolumna para un análisis posterior.

La unión Ag-Ab se produce por una combinación de interacciones electrostáticas, hidrófobas, puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals, por tanto es de esperar que los agentes de elución que anulen dichas interacciones sean desorbentes no específicos o genéricos. La selección del agente de elución será diferente para cada par Ag-Ab, siendo necesaria su optimización (48). El agente de desorción será una solución que provoque una desnaturalización reversible de los compuestos retenidos y/o del ligando, para romper las interacciones entre ambos y que permita la renaturalización del ligando al ser eliminado dicho agente de desorción.

Los eluyentes o desorbentes empleados en la elución de los compuestos retenidos por inmutuafinidad se engloban en los grupos siguientes:

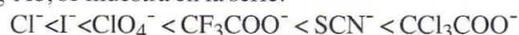
Desorbentes ácidos o básicos: La variación de pH puede ser tanto descenso de pH hasta valores de 2-4, como incremento de pH, siendo más común la elución con pH ácido, pues el pH básico provoca más frecuentemente desnaturalizaciones irreversibles en los anticuerpos. La consecución del pH de elución a través de un gradiente es deseable para prolongar la vida media del soporte de la columna, en especial la sílice, pero puede generar un ensanchamiento del pico cromatográfico y dificultar su cuantificación.

Para la elución ácida de los compuestos retenidos, se suele usar ácido cítrico, ácido fórmico, ácido acético o la mezcla glicina/ácido clorhídrico.

Eluyentes que modifican la fuerza iónica: Un incremento en la fuerza iónica del tampón, permite eluir las proteínas retenidas principalmente por interacción electrostática. Se puede realizar empleando NaCl 1-3M.

Agentes o aniones caotrópicos: Los agentes caotrópicos son capaces de romper la estructura interna del agua por lo que son muy empleados para disociar complejos unidos por interacciones hidrófobas.

Como agentes caotrópicos se emplean: KSCN, KCNO, KI, ioduro de polivinilpirrolidona, etc. La efectividad de los aniones caotrópicos en anular la interacción Ag-Ab, se muestra en la serie:



Se emplean en concentración entre 1 y 3 M.

Agentes desnaturizantes: Actúan alterando la estructura terciaria de las proteínas. Se emplea urea 8M y guanidina 6M/HCl pH 3.

Agentes que disminuyen la polaridad del medio: Actúan anulando las interacciones hidrófobas. Se emplea etilenglicol, polietilenglicol y dioxano.

Detergentes: Se emplean en la elución de las proteínas fuertemente hidrófobas como las proteínas de membrana y como aditivos de otros agentes de desorción. Se emplean detergentes como NP 40 y Tritón X-100 entre otros. Se suelen emplear en concentración ligeramente inferior a la concentración micelar crítica.

Agentes de elución específica o eluyentes por desplazamiento: Se introduce una sustancia que tenga igual (17) o superior (25) afinidad por el ligando que el compuesto retenido.

Una vez realizada la etapa de elución, para poder reutilizar la IAC, se procede a la recuperación de la inmunocolumna retornando a una fase móvil de tipo fisiológica, que permita la reestructuración o renaturalización del ligando que permanece inmovilizado en la columna.

Cuando la IAC se emplea como etapa de purificación de un antisuero, empleando una IAC donde esté inmovilizado el Ag específico frente al Ab presente en el antisuero, tras desorber el Ab retenido en la IAC y recoger dicho eluato, se procede a la recuperación o renaturalización del Ab, el cual se encuentra en un medio fuertemente desnaturizante. La renaturalización se realiza mediante:

Neutralización del eluato si la elución fue con un pH fuertemente ácido, o cambio a una solución con caracteres fisiológicos o de estabilidad del Ab, mediante:

Diálisis, centrifugación sobre membranas con tamaño de corte determinado, o cromatografía de exclusión molecular.

La vida útil de la columna cromatográfica está muy condicionada por el agente de desorción seleccionado, por lo que es muy interesante el estudio del comportamiento del Ab, que será el ligando en la IAC, frente a distintas soluciones de desorción, así como su renaturalización y mantenimiento de su actividad inmunológica al retornar a un medio fisiológico por los métodos comentados anteriormente. Previo a su empleo en la IAC, el grado de desnaturalización y renaturalización del Ab se puede estudiar por su comportamiento frente al Ag, mediante diversas técnicas como inmunoensayos ELISA (49), Western Blotting (50), cromatografía de exclusión molecular (48), inmunodotting (51), etc.



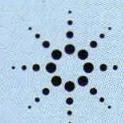
Amplíe sus horizontes de productividad LC/MS. Agilent Technologies presenta un LC/MSD más potente. Con su fuente iónica ortogonal, obtendrá un sistema de robustez excelente y la sensibilidad más elevada disponible hoy en día. Fácilmente podrá alcanzar niveles de bajos picogramos en análisis de rutina.

Para impulsar la productividad, el nuevo sistema maximiza la información obtenida en cada análisis. Puede realizar de forma cíclica cuatro modos diferentes de análisis sobre la base barrido-a-barrido, todos en la misma inyección. Lo que quiere decir que en el mismo análisis de muestra puede programar adquisición multi-señal, utilizar intercambio de polaridad, valores variables del voltaje del fragmentador y modos simultáneos de operación SIM/scan.

Y la interfase ChemStation facilita la utilización. Para rápida puesta a punto, incorpora sintonía automática y sistema dispensador de calibrante. Además, Mantenimiento Preventivo Asistido y sistemas de diagnósticos y de ayuda en línea, todo respaldado por el sólido Servicio y Soporte de Agilent, una compañía dedicada a innovar el Estilo HP.

www.agilent.com/chem

Para más información, contacte con:
Agilent Technologies,
Centro de Atención al Cliente,
Teléfono: 901 11 68 90



Agilent Technologies

Innovating the HP Way



El GC/MS se ajusta a su organización. Y mejora su línea de fondo.

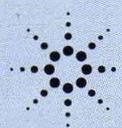
Agilent Technologies introduce el GC/MS diseñado para ajustarse a su organización, con más capacidades que antes. El Detector Selectivo de Masas Agilent 5973Network ofrece:

- *Más información.* Un nuevo panel local pone la información y el control al alcance del operador. La comunicación del instrumento basada en LAN facilita la consolidación de datos para análisis centralizados.
- *Más productividad.* Con más capacidades innovadoras de software en nuestros fiables sistemas GC/MS, aumentará el tiempo de funcionamiento. Con cuatro modos de operación, la MSD ChemStation Productivity ofrece resultados específicos al laboratorio, más rápidamente.
- *Más opciones.* Ahora dispone de más opciones GC/MS que nunca antes. Consiga sólo lo que necesite hoy en día, y actualícelo en el futuro.
- *Más valor.* Agilent ofrece todo lo que espera de un GC/MS de sobremesa. Además, obtiene control multi-instrumento, mayor rendimiento y excepcional facilidad de uso, para permitir que su operación sea más rentable.

Sobre los detalles, contacte con Agilent Technologies, compañía dedicada a innovar el estilo HP.

www.agilent.com/chem

Para más información, contacte con:
Agilent Technologies,
Centro de Atención al Cliente,
Teléfono: 901 11 68 90



Agilent Technologies

Innovating the HP Way

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO.

El uso de la inmunocromatografía para el análisis cuantitativo ha crecido rápidamente en el área de investigación y desarrollo, pues ofrece una altísima selectividad para cuantificar analitos en mezclas muy complejas, sin prácticamente tratamiento de las misma, y porque su acoplamiento con otras técnicas de separación permite hacer el pretratamiento de la muestra de una forma automática concentrando el analito y permitiendo disminuir los límites de detección del método de análisis.

El campo de aplicación de la inmunocromatografía abarca desde el análisis clínico hasta el alimentario y medioambiental, lo que unido a tiempos de análisis de 1 minuto (52) o inferiores, la pueden convertir en una herramienta muy útil para el análisis de gran número de muestras o monitorización de procesos.

Se podría predecir que el desarrollo próximo de la inmunocromatografía, continuará en estas líneas:

- Empleo de sondas no radiactivas.
- Medida simultánea de varios analitos sobre una misma muestra.
- Miniaturización del proceso con el empleo de columnas capilares y chips.
- Profundización en el acoplamiento con la detección por MS.
- Profundización en el acoplamiento entre la inmunocromatografía y la electroforesis capilar.
- Mayor automatización y rapidez de los análisis.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado dentro del proyecto ALI97-0630 financiado por la C.I.C.Y.T. El autor agradece al M.E.C. la concesión de un beca.

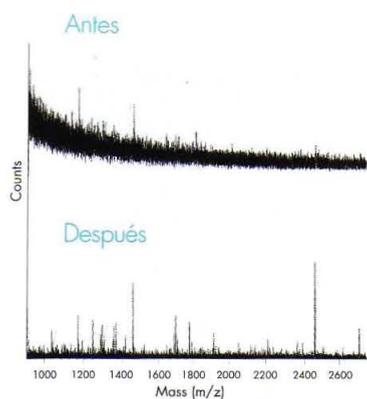
BIBLIOGRAFÍA.

- 1 - Dabrio, M.V.; Blanch G.P.; Cifuentes, A.; Diez-Masa, J.C.; de Frutos, M.; Herraiz, M.; Martinez Castro, I.; Sanz Perucha, J. Cromatografía de líquidos de alta eficacia. En *Cromatografía y electroforesis en columna*; Springer-Verlag Ibérica: Barcelona, España, **1999**; p 145.
- 2 - Müller, K.M.; Arndt, K.M.; Bauer, K.; Plückthun, A. Tandem immobilized metal-ion affinity chromatography/immunoaffinity purification of His-tagged proteins - Evaluation of two Anti-His-Tag monoclonal antibodies. *Anal. Biochem.* **1998**, *259*, 54.
- 3 - Johns, M.A.; Rosengarten, L.K.; Jackson, M.; Regnier, F.E. Enzyme-linked immunosorbent assays in a chromatographic format. *J. Chromatogr. A.* **1996**, *743*, 195.
- 4 - Janis, L.J.; Regnier, F.E. Dual-column immunoassays using protein G affinity chromatography. *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 1901.
- 5 - Zwaagstra, J.C.; Armstrong, G.D.; Leung, W.C. The use of lectin affinity columns for selection of precursor or fully glycosylated forms of glycoprotein gD1 of herpes simplex virus type 1. *J. Virol. Methods* **1988**, *20*, 21.
- 6 - Carlsson, J.; Janson, J.-C.; Sparrman, M. Affinity Chromatography. En *Protein Purification. Principles, High-Resolution Methods, and Applications*, 2nd ed.; Janson, J.-C., Rydén, L., Eds.; John Wiley & Sons, Inc.: New York, U.S.A., 1998; p 375.
- 7 - Phillips, T.M. High performance immunoaffinity chromatography. *LC MAG.* **1985**, *3*, 963.
- 8 - Larsson, P.-O. High-performance liquid affinity chromatography. *Methods Enzymol.* **1984**, *104*, 212.
- 9 - Unger, K.K.; Porous Silica. Its properties and use as support in column liquid chromatography. En *Journal of Chromatography Library*; Elsevier Scientific Publishing Company: Amsterdam, The Netherlands, 1979; vol 16.
- 10 - Li, J.-P.; Hjertén, S. High-Performance liquid chromatography of proteins on deformed nonporous agarose beads: immuno-affinity chromatography, exemplified with human growth hormone as ligand and a combination of ethylene glycol and salt for desorption of antibodies. *J. Biochem. Biophys. Methods* **1991**, *22*, 311.
- 11 - Vankova, R.; Gaudinová, A.; Süssenbeková, H.; Dobrev, P.; Strnad, M.; Holík, J.; Lenfeld, J. Comparison of oriented and random antibody immobilization in immunoaffinity chromatography of cytokinins. *J. Chromatogr. A* **1998**, *811*, 77.
- 12 - Hage, D.S.; Chromatographic approaches to immunoassays. *J. Clin. Ligand Assay* **1997**, *20*, 293.
- 13 - Phillips, T.M.; Krum, J.M. Recycling immunoaffinity chromatography for multiple analyte, analysis in biological samples. *J. Chromatogr. B* **1998**, *715*, 55.
- 14 - Alwis, U.; Wilson, G.S. Rapid heterogeneous competitive electrochemical immunoassay for IgG in the picomole range. *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 2786.
- 15 - Cassidy, S.A.; Janis, L.J.; Regnier, F.E. Kinetic chromatographic sequential addition immunoassays using protein A affinity chromatography. *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 1973.
- 16 - Hage, D.S.; Thomas, D.H.; Beck, M.S. Theory of a sequential addition competitive binding immunoassay based on high-performance immunoaffinity chromatography. *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 1622.
- 17 - Kaptein, W.A.; Zwaagstra, J.J.; Venema, K.; Ruiters, M.H.J.; Korf, J. Analysis of cortisol with a flow displacement immunoassay. *Sens. Actuators B* **1997**, *45*, 63.
- 18 - Gunaratna, P.C.; Wilson, G.S. Noncompetitive flow injection immunoassay for a hapten, α -(difluoromethyl)ornithine. *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 1152.
- 19 - Lövgren, U.; Kronkvist, K.; Bäckström, B.; Edholm, L.-E.; Johansson, G. Design of non-competitive flow injection enzyme immunoassays for determination of haptens: application to digoxigenin. *J. Immunol. Methods* **1997**, *208*, 159.
- 20 - Alwis, W.U.; Wilson, G.S. Rapid sub-picomole electrochemical enzyme immunoassay immunoglobulin G. *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 2754.
- 21 - Spillane, D.G.; O'Mullane, J. Development of an affinity-column-mediated enzyme-linked immunosorbent assay for ferritin. *Clin. Chim. Acta* **1998**, *273*, 81.
- 22 - Strong, R.A.; Cho, B.-Y.; Fisher, D.H.; Nappier, J.; Krull, I.S. Immunodetection approaches and high-performance immunoaffinity chromatography for an analogue of bovine growth hormone releasing factor at trace levels. *Biomed. Chromatogr.* **1996**, *10*, 337.

- 23 - Yoshikawa, T.; Terashima, M.; Katoh, S. Immunoassay using HPLAC and fluorescence-labeled antibodies. *J. Ferment. Bioeng.* **1995**, *80*, 200.
- 24 - Hage, D.S.; Kao, P.D. High-performance immunoaffinity chromatography and chemiluminescent detection in the automation of a parathyroid hormone sandwich immunoassay. *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 586.
- 25 - Katoh, S.; Miura, T. Sandwich-type immunoassay with an affinity column coupled to anti-peptide antibodies. *J. Chromatogr. A* **1999**, 852, 97.
- 26 - Riggan, A.; Sportsman, J.R.; Regnier, F.E. Quantification of antibodies to human growth hormone by high-performance protein G affinity chromatography with fluorescence detection. *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 468.
- 27 - de Frutos, M.; Paliwal, S.K.; Regnier, F.E. Liquid chromatography based enzyme-amplified immunological assays in fused-silica capillaries at the zeptomole level. *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 2159.
- 28 - de Frutos, M.; Regnier, F.E. Tandem chromatographic-immunological analysis. *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 17A.
- 29 - Irth, H.; Oosterkamp, A.J.; van der Welle, W.; Tjaden, U.R.; van der Greef, J. On-line immunochemical detection in liquid chromatography using fluorescein-labelled antibodies. *J. Chromatogr.* **1993**, 633, 65.
- 30 - Irth, H.; Oosterkamp, A.J.; Tjaden, U.R.; van der Greef, J. Strategies for on-line coupling of immunoassays to high-performance liquid chromatography. *Trends in Anal. Chem.* **1995**, *14*, 355.
- 31 - Riggan, A.; Sportsman, J.R.; Regnier, F.E. Immunochromatographic analysis of proteins. Identification, characterization and purity determination. *J. Chromatogr.* **1993**, *632*, 37.
- 32 - Nilsson, B. Extraction and quantitation of cortisol by use of high-performance liquid affinity chromatography. *J. Chromatogr.* **1983**, 276, 413.
- 33 - Farjam, A.; de Jong, G.J.; Frei, R.W.; Brinkman, U.A.; Haasnoot, W.; Hamers, A.R.M.; Schilt, R.; Huf, F.A. Immunoaffinity pre-column for selective on-line sample pretreatment in high-performance liquid chromatography determination of 19-nortestosterone. *J. Chromatogr.* **1988**, *452*, 419.
- 34 - Riggan, A.; Sportsman, J.R.; Regnier, F.E. Determination of antibodies to human growth hormone in serum by protein G affinity-reversed-phase tandem column chromatography with fluorescence detection. *Anal. Chim. Acta* **1991**, *249*, 185.
- 35 - Creaser, C.S.; Feely, S.J.; Houghton, E.; Seymour, M. Immunoaffinity chromatography combined on-line with high-performance liquid chromatography-mass spectrometry for determination of corticosteroids. *J. Chromatogr. A* **1998**, *794*, 37.
- 36 - Janis, L.J.; Grott, A.; Regnier, F.E.; Smith-Gill, S.J. Immunological-chromatographic analysis of Lysozyme variants. *J. Chromatogr.* **1989**, *476*, 235.
- 37 - Farjam, A.; van de Merbel, N.C.; Nieman, A.A.; Lingeman, H.; Brinkman, U.A. Determination of aflatoxin M1 using a dialysis-based immunoaffinity sample pretreatment system coupled on-line to liquid chromatography. Reusable immunoaffinity columns. *J. Chromatogr.* **1992**, *589*, 141.
- 38 - Hsieh, Y.L.F.; Wang, H.; Elicone, C.; Mark, J.; Martin S.A.; Regnier, F.E. Automated analytical system for the examination of protein primary structure. *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 455.
- 39 - Farjam, A.; Vreuls, J.J.; Cuppen, W.J.G.M.; Brinkman, U.A.T.; de Jong, G.J. Direct introduction of large-volume urine samples into an on-line immunoaffinity sample pretreatment-capillary gas chromatography system. *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 2481.
- 40 - Guzman, N.A.; Trebilcock, M.A.; Advis, J.P. The use of a concentration step to collect urinary components separated by capillary electrophoresis and further characterization of collected analytes by mass spectrometry. *J. Liq. Chromatogr.* **1991**, *14*, 997.
- 41 - Cole, L.J.; Kennedy, R.T. Selective preconcentration for capillary zone electrophoresis using protein G immunoaffinity capillary chromatography. *Electrophoresis* **1995**, *16*, 549.
- 42 - Phillips, T.M.; Chmielinska, J.J. Immunoaffinity capillary electrophoretic analysis of cyclosporin in tears. *Biomed. Chromatogr.* **1994**, *8*, 242.
- 43 - Phillips, T.M.; Kennedy, L.M.; De Fabo, E.E. Microdialysis-immunoaffinity capillary electrophoresis studies on neuropeptide-induced lymphocyte secretion. *J. Chromatogr. B* **1997**, *697*, 101.
- 44 - Ensing, K.; Paulus, A. Immobilization of antibodies as a versatile tool in hybridized capillary electrophoresis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1996**, *14*, 305.
- 45 - Dalluge, J.J.; Sander, L.C. Precolumn affinity capillary electrophoresis for the identification of clinically relevant proteins in human serum: Application to human cardiac troponin I. *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 5339.
- 46 - Rashkovetsky, L.G.; Lyubarskaya, Y.V.; Foret, F.; Hughes, D.E.; Karger, B.L. Automated microanalysis using magnetic beads with commercial capillary electrophoretic instrumentation. *J. Chromatogr. A* **1997**, *781*, 197.
- 47 - Guzman, N.A. Biomedical applications of on line pre-concentration-capillary electrophoresis using an analyte concentrator: investigation of design options. *J. Liq. Chromatogr.* **1995**, *18*, 3751.
- 48 - Narhi, L.O.; Caughey, D.J.; Horan, T.P.; Kita, Y.; Chang, D.; Arakawa, T. Fractionation and characterization of polyclonal antibodies using three progressively more chaotropic solvents. *Anal. Biochem.* **1997**, *253*, 246.
- 49 - Kummer, A.; Li-Chan, E.C.Y. Application of an ELISA-elution assay as a screening tool for dissociation of yolk antibody-antigen complexes. *J. Immunol. Methods.* **1998**, *211*, 125.
- 50 - Narhi, L.O.; Caughey, D.J.; Horan, T.; Kita, Y.; Chang, D.; Arakawa, T. Effect of three elution buffers on the recovery and structure of monoclonal antibodies. *Anal. Biochem.* **1997**, *253*, 236.
- 51 - de la Puerta, A.; Molina, E.; de Frutos, M.; Diez-Masa, J.C. Enzyme-immunochromatography for allergens determination: Design and optimization of a system for β -Lactoglobulins. En *23rd International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques HPLC '99*. Granada, España, **1999**; vol 1, p PA3/9.
- 52 - Afeyan, N.B.; Gordon, N.F.; Regnier, F.E.; Automated real-time immunoassay of biomolecules. *Nature.* **1992**, *358*, 603.

MILLIPORE

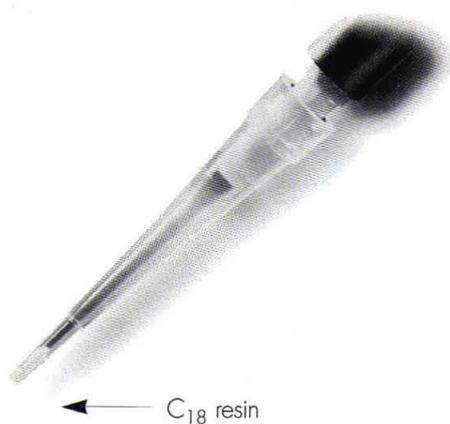
MILLIPORE



Digestion "In-gel" del "spot 223" de gel 2D antes y después de ZipTip™ C18

pure spectra

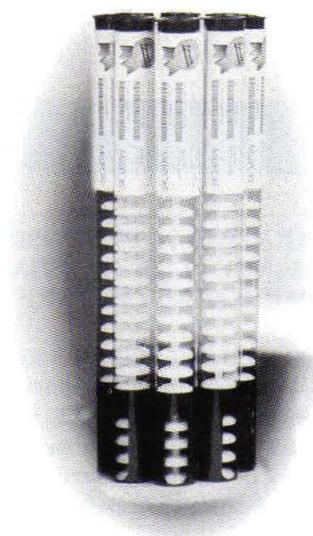
Ahora puede dializar hasta femtomoles de péptidos en menos de 60 segundos con las nuevas puntas de pipeta ZipTip C18 para preparación de muestras. Eluya su muestra en 2-4 µl de acetonitrilo/agua. Idóneo para la preparación de muestras previa a la espectrometría de masas.



Para recibir más información: teléfono: 917 283 960
e-mail: aplicaciones@millipore.com

Para realizar un pedido: teléfono: 901 109 109,
fax: 913 582 455, e-mail: pedidos@millipore.com

Para más información visítenos en:
www.millipore.com/ziptip



pure reliability

Para un funcionamiento fiable de su estación automática de trabajo, utilice filtros diseñados específicamente para su aplicación. Las unidades de filtración de Millipore, certificadas para automatización ("Automation Certified®") le garantizan un



rendimiento sin problemas en diversos equipos automáticos de procesamiento de muestras, incluyendo las estaciones BenchMate™ TPW II y Multidose® de Zymark.

El diseño curvo de la carcasa y el estricto control de las tolerancias dimensionales aseguran una perfecta colocación del filtro en su posición y un rendimiento consistente en la filtración. Estas unidades de filtración están disponibles en una gran variedad de tipos de membranas para cubrir un gran número de aplicaciones.

Para recibir más información: teléfono: 917 283 960
e-mail: aplicaciones@millipore.com

Para realizar un pedido: teléfono: 901 109 109,
fax: 913 582 455, e-mail: pedidos@millipore.com

Para más información visítenos en:
www.millipore.com/ziptip



NOTICIAS DEL GCTA

HPLC-99

3rd INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON HIGH PERFORMANCE LIQUID PHASE SEPARATIONS AND RELATED TECHNIQUES – HPLC'99

HPLC'99 se celebró del 30 de mayo al 4 de junio de 1999 en el Palacio de Exposiciones y Congresos de Granada, la ciudad monumental más visitada de España. A la vista de los resultados esta reunión ha sido quizás la más importante de esta serie de reuniones internacionales que comenzaron en 1973 en Interlaken. En la primera fecha límite del 16 de octubre de 1998 ya se recibió un número récord de 450 resúmenes. Dicho número subió a un total final de 906 resúmenes recibidos y 866 aceptados definitivamente para su incorporación al extenso programa científico. Un programa del que cabe resaltar de forma muy resumida temas destacados como el importante desarrollo de la tecnología del "molecular imprinting" de fases estacionarias, las nuevas estrategias multidimensionales para la preparación de muestras y de acoplamiento instrumentales, y las separaciones a niveles de micro- y nano-formatos.

En cuanto a estadísticas el Programa Científico incluyó 134 presentaciones orales y 732 carteles de participantes de un total de 48 países diferentes. El número más alto de delegados vino de España con 213, seguido por E.E.U.U. (152), Alemania (108) y el Reino Unido (72). Las 134 comunicaciones orales se presentaron en forma de 4 Conferencias Plenarias, 6 Keynotes programadas en una Sesión especial sobre "Separaciones en el Nuevo Milenio" y 124 ponencias orales que se distribuyeron en 17 sesiones orales. El resto de las 732 contribuciones científicas se programó en concurridas sesiones de carteles que cubrieron 18 tópicos científicos diferentes. Todo ello se ha recogido en tres volúmenes especiales del Journal of Chromatography editado por Elsevier Science en los que se incluyen un total de 154 de estas

contribuciones científicas. Se ofrecieron así mismo seis "workshops" pre-simposio y se contó con una fuerte participación comercial con un total de 48 empresas expositoras en el marco espectacular del Hall del Palacio de Congresos, considerado como el otro gran palacio de Granada. Un moderno edificio cuidadosamente diseñado para lograr una armoniosa mezcla con la tradición arquitectónica de la ciudad y para complementar su rico ambiente histórico. En diseño y estructura, el Palacio de Congresos recuerda uno de los ejemplos más notables de la arquitectura de España: el Palacio de Carlos V en la Alhambra, con su fachada externa cuadrada, parcialmente cubierta de cristal y su anfiteatro interior.

Un motivante programa social en apoyo del atractivo programa científico y técnico contribuyó a que los participantes en este Simposio pudiesen experimentar una muestra del espíritu de las encrucijadas culturales de Granada. Sé que muchos participantes se fueron con recuerdos indelebles de su estancia en un lugar histórico tan excitante y estoy seguro de que la visita a la Alhambra y la Cena de Gala del simposio en un típico cortijo andaluz no se olvidarán fácilmente.

Mi sincera gratitud a todos los que contribuyeron a hacer de esta reunión un notable éxito así como a todos los participantes y en especial a todos mis colegas españoles por haber sabido estar a la altura de tan importante certamen científico. Debo destacar también la significativa contribución del GCTA al haber complementado las ayudas de asistencia y el descuento en la cuota de inscripción otorgadas por la organización de HPLC '99 con un total de 34 becas para miembros del GCTA dotadas directamente por el Grupo.

Prof. Emilio Gelpí,
Presidente del Simposio
IIBB-CSIC, Barcelona, España
15 de noviembre de 1999

PRÓXIMA REUNIÓN

La XXIX reunión científica del Grupo de Cromatografía y Técnicas Afines tendrá lugar en ALCALÁ DE HENARES, los días 12, 13 y 14 DE JULIO del 2000

Presentación de comunicaciones

Los autores interesados en presentar comunicaciones, deberán enviar por duplicado un resumen a la

Secretaría Técnica de la Reunión antes del 30 de Abril del 2000. Este resumen se presentará de acuerdo con las instrucciones que se detallarán en la segunda circular que se enviará a primeros del mes de Marzo del 2000. Se podrá indicar la preferencia por realizar la presentación de la comunicación en forma oral o cartel, aunque la decisión final sobre la aceptación y la forma de presentación corresponderá al Comité Científico.

Publicación de los trabajos

Como en anteriores Reuniones, existe un acuerdo con la editorial Elsevier para la publicación en la revista Journal of Chromatography de los artículos presentados durante la Reunión. Los asistentes interesados deberán presentar en la Secretaría Técnica de la Reunión durante la celebración de la misma, los trabajos por triplicado de acuerdo con las normas de la revista. La aceptación definitiva quedará sujeta a las normas habituales de revisión de la revista.

Becas

El GCTA, junto con organismos y empresas colaboradoras ofrecerá becas de asistencia a la Reunión. Los requisitos para ser beneficiario de una de ellas son: ser socio del GCTA, presentar una comunicación científica y justificar que no se percibe ninguna remuneración estable mediante carta del director de investigación, quien deberá estar inscrito en la Reunión.

Comité Organizador

Está presidido por María Luisa Marina Alegre, y forman parte de él Mercedes Torre (Secretaria), Concepción García López, Angeles García González, Olga Jiménez Yepes, Xavier Guardino, Lluís Comellas, Antonio Crego, Carmen García Ruiz y Miguel Angel Cortés (vocales)

Secretaría Técnica

Fundación General de la Universidad de Alcalá.
Palacete Laredo.

Paseo de la Estación, 10. 28807 Alcalá de Henares (Madrid).

Tel.: 91-8802911- Fax: 91-8802783.

E-mail: congresos@fgua.es

http://www.fgua.es/29gcta

Programa Científico

Durante la XXIX Reunión se discutirán los avances más recientes en el campo de la Cromatografía y Técnicas Afines, incluyendo entre otros, los siguientes aspectos:

- Cromatografía de gases
- Cromatografía de líquidos de alta eficacia
- Cromatografía en plano
- Cromatografía de fluidos supercríticos
- Electroforesis capilar
- Técnicas acopladas y automatización
- Técnicas de preparación de muestra
- Separaciones quirales
- Quimiometría
- y sus aplicaciones al Análisis medioambiental, farmacéutico, alimentario, bioquímico, etc..

El programa incluirá conferencias plenarias, comunicaciones orales, exposición de carteles, sesiones de discusión por temas y mesas redondas en las que se pretende abarcar los últimos avances en instrumentación científica con especial interés en sus aplicaciones. Las conferencias y comunicaciones se podrán presentar en español e inglés. Asamblea Anual En el transcurso de la Reunión, se celebrará la Asamblea Anual del GCTA.

NUEVOS SOCIOS

Sanz Murias, M^a Luz
Tecnologías Sectoriales
Inst. Fermentaciones Ind. (CSIC)
Juan de la Cierva, 3
28006 MADRID

Del Castillo Bilbao, M^a Dolores
Tecnologías Sectoriales
Inst. Fermentaciones Ind. (CSIC)
Juan de la Cierva, 3
28006 MADRID

Jiménez Yepes, Olga
Dpto. Química Analítica
Fac. Ciencias, Univ. Alcalá
28871 ALCALÁ DE HENARES
(Madrid)

Joliz Medina, Juan N,
Centro Instrumentación Científica
Univ. de Granada
Campus Fuentenueva, Edif. Mecenas
18071 GRANADA

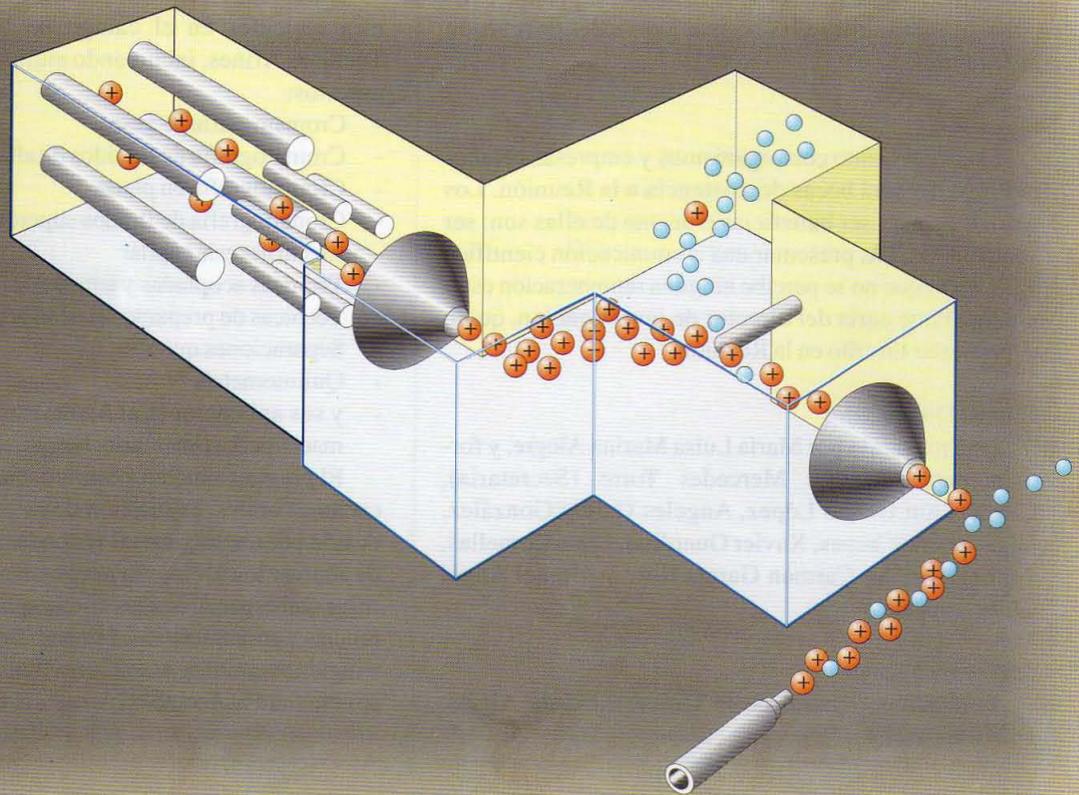
Ramos López, José Miguel
Centro Instrumentación Científica
Univ. de Granada
Campus Fuentenueva. Edif. Mecenas
18071 GRANADA

López Soto-Yarritu, Pilar
Inst. Química Orgánica (CSIC)
Juan de la Cierva, 3
28006 MADRID

Rodríguez Ponce, Sandra
Institut Quimic de Sarrià
Vía Augusta, 390
08017 BARCELONA

Soria Monzón, Ana Cristina
Inst. Química Orgánica (CSIC)
Juan de la Cierva, 3
28006 MADRID

La solución de su probl

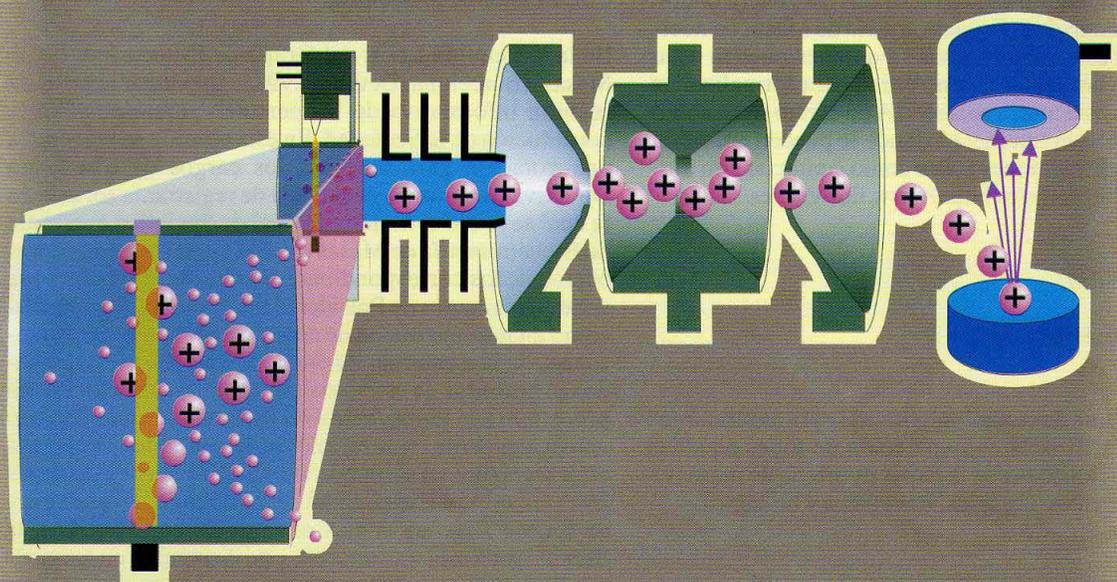


Cuadrupolo?...

En cualquier caso Therr

C/. Acero, 30-32, Pta. 2 - Mód. 3
Edificio SERTRAM
08038 BARCELONA
Tel.: 93 223 09 18 / 93 223 09 20
Fax: 93 223 09 82

ema analítico requiere...



Trampa iónica?...

ThermoQuest es la respuesta

Avda. de Valdelaparra, 27
Edificio ALCOR - Planta 2ª
28108 Alcobendas - MADRID
Tel 91 657 49 30
Fax 91 657 49 37

 **ThermoQuest**
SOCIEDAD ANONIMA

Grupo Thermo Instrument Systems 



CONSTITUCION DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ESPECTROMETRIA DE MASAS (SEEN)

Como Presidente de esta recién constituida sociedad me es grato ponerme a disposición de todos aquellos interesados por el desarrollo de esta disciplina en nuestro país, tanto en nombre propio como de la Junta Directiva a cuyos miembros deseo expresar mi agradecimiento por la dedicación prestada para hacer de este proyecto una sólida realidad. Creo que el paso que acabamos de dar responderá a las necesidades e inquietudes que ya genera el creciente dinamismo de la Espectrometría de Masas en nuestro país y en este sentido invito a quienes puedan estar interesados a contactar con nosotros para formalizar su adscripción a esta nueva sociedad. A tal efecto se ha abierto una dirección en Internet en donde se pueden encontrar más datos e instrucciones sobre como contactar con nosotros. Dicha dirección es <http://www.iibb.csic.es/seem/>

Prof. Emilio Gelpí
Presidente SEEM

UN POCO DE HISTORIA

Quiénes somos

La SEEM es una Sociedad constituida para aglutinar los intereses y facilitar la comunicación de todas aquellas personas relacionadas con la Espectrometría de masas en todas sus vertientes, orgánica, inorgánica y biológica.

Orígenes

El proyecto de iniciar una agrupación de personas relacionadas con EM refleja la creciente importancia adquirida por estas técnicas en nuestro país así como la necesidad de vehiculizar nuestra proyección internacional en el marco de la próxima 15 Conferencia Internacional de Espectrometría de Masas que se celebrará en Barcelona en Agosto del 2000. En este sentido, en la reunión anual del Grupo de Cromatografía y Técnicas Afines (GCTA) de la Real Sociedad Española de Química celebrada en Granada en octubre de 1992 se creó el Grupo local de EM de Barcelona. Este grupo celebró su primera reunión el 13 de Diciembre de 1993 en Barcelona convocada por los Dres. Damià Barceló y Emilio Gelpí y bajo el patrocinio de la Generalitat de Catalunya, Fisons Instruments, Varian y el GCTA. Esta fue la primera de cinco concurridas reuniones en las que pudimos constatar el buen nivel alcanzado por diferentes grupos de trabajo en esta técnica. En Marzo de 1997, E. Gelpí distribuyó, a través de Fisons Instruments y de Hewlett-Packard, un formulario recabando información y opiniones a los interesados por la Espectrometría de Masas. Con la información recibida se constató la posibilidad de plantear formalmente la constitución de una Sociedad Española de Espectrometría de Masas y a tal efecto se convocó una reunión en el marco de la V Reunión de Espectrometría de Masas convocada por M. Galcerán y E. Gelpí, que tuvo lugar en Barcelona el 26 de Octubre de 1998 en el Centro de Investigación y

Desarrollo del CSIC en Barcelona. Cabe destacar aquí como uno de los hitos de importancia en la historia de la SEEM la formación de una Red Temática de EM promovida por la Dra Maite Galcerán dentro de la convocatoria de ayudas para redes temáticas de la Generalitat de Catalunya.

Constitución de la Sociedad

En la V Reunión Local del Grupo de Espectrometría de Masas, (Barcelona, Octubre 1998), tuvo lugar la primera reunión informativa de las personas interesadas en la constitución de la Sociedad. En esta reunión se procedió a una votación para nombrar los cargos de una Junta Directiva constitutiva encargada de registrar la sociedad a la cual se le dio el nombre formal de Sociedad Española de Espectrometría de Masas (SEEM) y proceder a la aprobación de los correspondientes Estatutos. A tal efecto se votaron los cargos de Presidente, Secretario y Tesorero así como un mínimo inicial de cinco vocales entre las personas que se presentaron. En este momento, una vez aprobados el borrador de estatutos por la Junta Directiva se ha procedido a la legalización de la sociedad en el registro correspondiente. Así mismo en la asamblea celebrada recientemente en el marco de las Jornadas de Análisis Instrumental en Expoquímica se aprobaron los estatutos y se acordó fijar las cuotas anuales de pertenencia a la SEEM. Toda esta información esta disponible en las paginas Web de la sociedad en www.iibb.csic.es/seem Junta Directiva 1999

Presidente:

Emilio Gelpí Monteys, CSIC, Barcelona,
egmbam@iibb.csic.es

Vicepresidente:

Enrique Mendez, CSIC, Madrid
emendez@cnb.uam.es

Secretario:

Encarna Moyano, Universidad de Barcelona,
encarna@zeus.qui.ub.es

Tesorero:

Josep Rivera, CSIC, Barcelona, raeco@cid.csic.es

Vocales:

Joaquin Abian Moñux, CSIC, Barcelona
jambam@cid.csic.es

Damià Barceló Culleres, CSIC, Barcelona,
dbcqam@cid.csic.es

M^a Teresa Galcerán, Universidad de Barcelona

Juan N. Moliz, Universidad de Granada,

jnmoliz@goliat.ugr.es

Alfredo Sanz-Medel, Universidad de Oviedo

asm@sauron.quimica.uniovi.es

Joan Solé, Thermo Quest, Barcelona jsole@thermo.es



IX JORNADAS DE ANALISIS INSTRUMENTAL

Tuvieron lugar en Barcelona, en el marco de Expoquimia, del 10 al 12 de noviembre de 1999. Participaron, como es habitual, las siguientes sociedades:

- Grupo de Cromatografía y Técnicas Afines (RSEQ).
- Grupo Espectroquímico (RSEQ y RSEF).
- Comité Español de Espectroscopia (SEDO).
- Grupo de Electroquímica (RSEQ y RSQA).
- Sociedad Española de Química Analítica.
- Association of Environmental Sciences and Techniques.
- Divisao de Química Analítica (SPQA).

Se celebraron 7 conferencias plenas y se presentaron más de 400 comunicaciones, de las que 30 se expusieron en sesiones orales y el resto como carteles: 92 de alimentos, 55 sobre medio ambiente (técnicas de separación), 81 sobre bioanálisis, análisis clínicos, toxicológicos y farmacológicos, 83 sobre aplicación al medio ambiente de técnicas espectroscópicas, electroquímicas y otras, 28 sobre materiales, combustibles, polímeros y productos industriales, 48 fueron contribuciones teóricas, sobre desarrollo instrumental y calidad, y hubo sólo 6 carteles de última hora.

La cena de inauguración tuvo lugar el día 10 en el Salón Oval del Palacio de Montjuich y durante el cóctel de clausura del día 12 se entregaron los premios del certamen.

El premio "Antonio Hidalgo" a la mejor comunicación (dotado por Perkin-Elmer España), se concedió *ex-aequo* a dos trabajos: uno de ellos, "Selective trace enrichment of chlorotriazine pesticides from natural waters and sediment samples using terbutylamine molecularly imprinted polymers (MIPS)" por Imma Ferrer, F. Lanza, B. Sellergren y Damià Barceló, del Departamento de Química Ambiental del Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales "Josep Pascual Vila" de Barcelona (CSIC) y del Departamento de Química Inorgánica y Analítica de la Universidad Johannes Gutenberg de Mainz; el otro trabajo "Automatic microgravimetric determination of fats in solid samples by use of supercritical fluid extraction with on-line piezoelectric detection", por L. Manganiello, Ángel Ríos y Miguel Valcárcel, de la División de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Córdoba.

El premio "Técnicas de Separación" (dotado por Agilent Technologies, antes Hewlett-Packard) a la mejor contribución al Desarrollo y Aplicación de Metodologías de Separación presentado en las JAIs se concedió al trabajo "New strategies for enhancement of sensitivity and selectivity in the clinical and evaluation of vitamin D3

status", por J.M. Fernández Romero, F. Ortiz Boyer, M. Quesada y M.D. Luque de Castro, de la División de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Córdoba.

El premio de la Sociedad Española de Espectrometría de Masas al mejor trabajo en Espectrometría de masas orgánica, dotado por Thermo Quest, se concedió a los trabajos "A novel procedure for identification of proteins by mass fingerprinting combining two-dimensional electrophoresis with fluorescent SYPRO Red staining", por Israel Valdés, Aida Pitarch, Concha Gil, Antonio Bermúdez, Mercedes Lorente, César Nombela y Enrique Méndez, del Centro Nacional de Biotecnología (CSIC), e "Identification of phosphorylation sites in proteins by nanospray-quadrupole ion trap mass spectrometry", por Samuel Ogueta, Rosana Rogado, Anabel Marina, Francisco Moreno, Juan Miguel Redondo y Jesús Vázquez, del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-Universidad Autónoma de Madrid).

Algunos datos sobre Expoquimia

Expoquimia, junto con Equiplast y Eurosurfas, continúa su expansión de una a otra feria. Según datos de su director, Xavier Castells, en su última edición de los tres eventos hubo 1.032 expositores; el número de visitantes profesionales que acudieron rozó los 59.300, lo que supone un incremento de más del 42% respecto al certamen anterior. De ellos, casi 2.700 eran extranjeros, procedentes principalmente de Portugal, Francia, Italia y Alemania. Sus motivos de visita eran ver las novedades del sector (56%) y obtener información (50%).

**¿Necesita gases
industriales,
aplicaciones
o servicios
asociados en
cualquier lugar
del mundo?**

**¡Manos
a la obra!**

Air Liquide™, la compañía que abre horizontes en el campo de los gases industriales, le ofrece soluciones globales que contribuyen a mejorar el rendimiento de su empresa.

Ya sea usted un pequeño empresario, o un gran grupo industrial, Air Liquide le ofrece toda una gama de soluciones en gases a la medida de sus necesidades. Muy cerca de usted. En cualquiera de nuestros Centros de Servicio al Cliente que integran nuestra Red de Ventas en más de 60 países, encontrará todos los recursos de una gran compañía internacional. En el marco de una estructura local flexible, con capacidad de respuesta inmediata. Con más de 1 millón de clientes en todo el mundo, hemos adquirido y desarrollado un profundo conocimiento de muchos y diferentes sectores de la industria. Casi seguro que el suyo está entre ellos. Llámenos al Telf: 91 502 93 00 ó contacte con nosotros en Internet a través de <http://www.airliquide.com>



¡Imagine lo lejos que puede llegar!





CALENDARIO DE ACTIVIDADES

15th International Mass Spectrometry Conference

Tendrá lugar en Barcelona, del 27 de agosto al 1 de septiembre del 2000, presidido por Emilio Gelpí, Presidente de la Sociedad Española de Espectrometría de Masas y miembro del GCTA.

En este número se incluye un folleto con información detallada. También puede obtenerse en:

15th IMSC
Ana Costejà
Palau de Congressos/Dept. de Convencions
Av. Reina Cristina, s/n
08004 Barcelona
Fax: +34 934 262 845
E-mail: 15imsc@website.es
www.website.es/15imsc

* * *

Pyrolysis'2000: 14th International Symposium on Analytical and Applied Pyrolysis

Tendrá lugar del 2 al 6, de abril del 2000, en Sevilla (Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS) del (CSIC). Como en anteriores ediciones, Pyrolysis'2000 cubrirá todos los aspectos fundamentales, desarrollos instrumentales y aplicaciones de la pirolysis

Programa científico

Constará de conferencias invitadas, comunicaciones orales seleccionadas por el Comité organizador, y carteles (considerados como la forma principal de presentación) a los que se dedicará espacio y tiempo suficientes para conseguir la deseable interacción y discusión entre participantes. No habrá sesiones paralelas. Está prevista la presentación de carteles de última hora.

Los temas a tratar incluirán:

1. Pirolysis Analítica en Geociencia y Medio Ambiente
2. Aplicaciones biológicas, médicas y forenses
3. Aplicaciones en Alimentos y Agricultura
4. Análisis, caracterización y degradación de polímeros
5. Pirolysis en procesos industriales
6. Mecanismos de pirolysis. Estudios fundamentales
7. Tendencias y perspectivas en instrumentación asociada a pirolysis

Conferenciantes

G. Almendros (Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC, Madrid)

J.J. Boon Fom (Institute for Atomic and Molecular Physics, Amsterdam)

J.M. Challinor (Forensic Science Lab, Perth, Australia)

P.G. Hatcher (Dept. of Chemistry, Newman and Wolfrom Lab, Columbus, Ohio)

W. Kaminski (Institut für Techn. und Makromolekulare Chemie, Univ.Hamburgo)

A.A. Kettrup (GSF-Forschungszentrum, Neuherberg, Alemania)

R.P. Lattimer (BF Goodrich, R&B Center, Brecksville, Ohio)

G. Montaudo (Institute of Chemistry and Technology of Polymeric Materials, Catania)

C. Saiz-Jimenez (IRNAS-CSIC, Sevilla)

K.J. Voorhees (Dept. of Chemistry and Geochemistry, Colorado School of Mines, Golden, Colorado)

S. Tsuge (Department of Applied Chemistry, Nagoya University, Japan)

Los trabajos serán publicados en un volumen especial del Journal of Analytical and Applied Pyrolysis (JAAP) con el formato y revisión habituales en la revista; la fecha tope es el último día del symposium (6-4-2000).

Comité Organizador:

Presidente: F.J. González-Vila, IRNAS-CSIC,

Vicepresidente: J.C. del Río, IRNAS-CSIC,

Presidente honorario: F. Martín, IRNAS-CSIC,

Vocales: B. Hermosín, IRNAS-CSIC, A. Gutierrez, IRNAS-CSIC, C. Dorronsoro, Univ. País Vasco, L. Comellas, Instituto Químico de Sarriá, J. Conesa, Univ. Alicante,

J. Arauzo, Univ. Zaragoza, A. Guerrero, Univ. Sevilla, y A. Roselló, Univ. Sevilla

Secretaría

Dr. F.J. González-Vila & Dr. J.C. del Río

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla-CSIC

P.O. Box 1052, 41080-Seville, Spain

Phone: + 34 95 462 47 11

Fax: + 34 95 462 40 02

E-mails: fjgon@irnase.csic.es ; delrio@irnase.csic.es

<http://www.irnase.csic.es/py'200/index.html>

* * *



INFORMACIONES

3 International Symposium on Chromatography 2000

Tendrá lugar en Londres del 1 al 5 de octubre del 2000, organizado por la Chromatographic Society (UK), Association Francaise des Sciences Separatives (Fr) y Gesellschaft Deutscher Chemiker.

El programa Científico comprende conferencias, comunicaciones orales y carteles, sobre:

- Técnicas acopladas incluyendo MS y NMR.
- Separaciones con electricidad.
- Miniaturización.
- Separaciones quirales.
- Automatización.
- Purificación por separación.
- Fases estacionarias de diseño.
- Determinación cromatográfica de propiedades físicas.
- Separación de grandes moléculas.
- Preparación de muestra
- Optimización y validación.
- Aplicaciones.

Los trabajos se publicarán en un número especial de Chromatographia.

Para obtener más información:

ISC 2000.

Chromatographic Society.

Clarendon Chambers.

32, Clarendon Street.

Nottingham

NG1 5JD, Reino Unido

Fax: +44 115 950 0614

e-mail: ISC2000@chromsoc.demon.co.uk

www.chromsoc.demon.co.uk/ISC2000.htm

* * *

VIIth International Symposium on Drug Analysis "Drug Analysis 2002"

Organizado por la Belgian Society of Sciences tendrá lugar en Brujas, Bélgica, del 21 al 25 de Abril de 2002, presidido por el Prof.Dr. Willy Baeyens, de la Universidad de Gante.

Para más información, escribir a:

Orga-med Congress Office

Mr. Peter Erard, Project Manager

Essenestraat 77, B - 1740 Ternat (Bélgica)

Fax: +32-9-264 81 96

E-mail willy.baeyens@rug.ac.be

Internet: <http://www.allserv.rug.ac.be/~elsmet/conferences.html>

* * *

IXth International Symposium on Luminescence Spectrometry in Biomedical and Environmental Analysis - Spectroscopic and Imaging Detection Techniques

Tendrá lugar en Montpellier, Francia, del 15 al 17 de mayo del 2000, organizado por la Universidad de Montpellier, ENSCM

Para más información, escribir a:

Prof. Dr. Dan A.Lerner

University of Montpellier

École Normale Supérieure de Chimie

8, Rue de L'École Normale

F-34296 Montpellier cedex 5 (Francia)

Fax: 33-04 6714 4349

E-mail: lerner@enscm.fr

El X Symposium se celebrará en Granada, en junio de 2002, con el título "Xth International Symposium on Luminescence Spectrometry - Detection techniques in Flowing Streams - Quality Assurance and Applied Analysis" y estará organizado por la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada.

Para obtener más información, escribir a:

Dra. Ana M^a García-Campaña, presidenta

Departamento de Química Analítica

Facultad de Ciencias, Universidad de Granada

Av.Fuentenueva s/n

18071 Granada

Tel.: 34-958-24 85 94

Mail: amgarcia@goliat.ugr.es

* * *

VIII COLACRO: Congreso Latinoamericano de Cromatografía y Técnicas relacionadas.

Tendrá lugar en Buenos Aires del 12 al 14 de abril del 2000.

Para obtener información, escribir a:

Daniel Escati

División de Cromatografía de la Asociación Química Argentina

Sánchez de Bustamente, 1425

Buenos Aires, Argentina

Fax: 54 11 4822 4886

e-mail: cecrom@aqa.org.ar

<http://www.aqa.org.ar/colacro.html>

* * *

En el análisis medioambiental

La sensibilidad es crítica

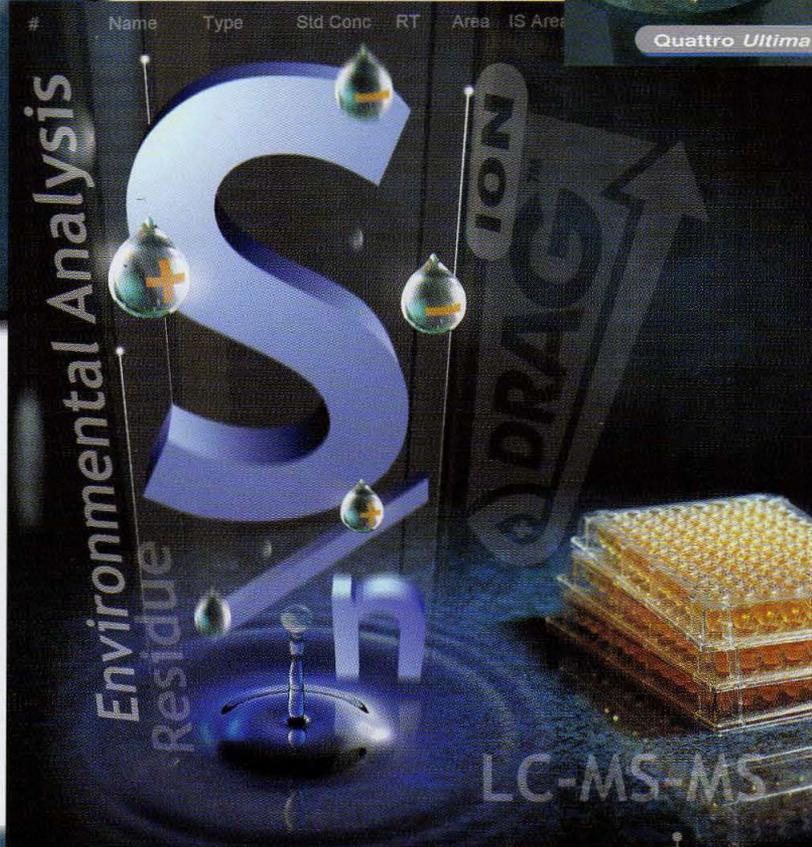
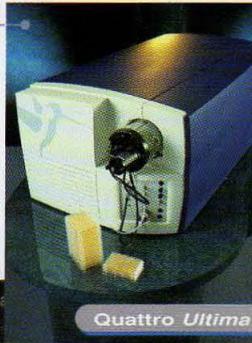
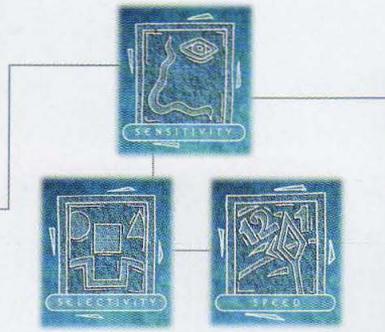
¿Cómo maximizar su sensibilidad en LC-MS-MS?

El recientemente desarrollado **Quattro Ultima™** es el instrumento de cuadrupolo tandem con las más elevadas prestaciones para el análisis medioambiental y de residuos.

Quattro Ultima™ utiliza la nueva tecnología IonDRAG™ permitiendo una extremada conductancia de los iones desde el aerosol API hasta el analizador de masas. Siendo compatible tanto con ESI como con APci... IonDRAG™ maximiza la señal en el análisis LC-MS-MS.

Adicionalmente, el ruido en el sistema de detección de iones del Quattro Ultima™ ha sido efectivamente minimizado con el nuevo detector ópticamente acoplado WHISPER™ desarrollado por Micromass.

Quattro Ultima™...proporciona los menores límites de detección!



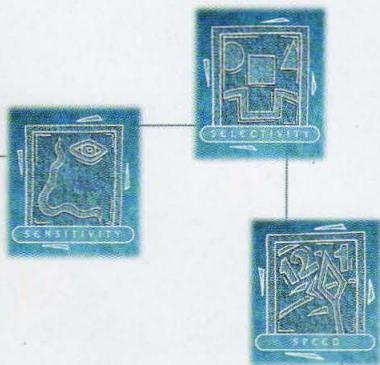
Con Micromass **Quattro Ultima™**
el único Cuadrupolo Tandem con
IonDRAG™ para conductancia
Masiva de iones



En GC-MS

Las prestaciones son críticas

¿Cómo maximizar su sensibilidad, selectividad y velocidad?



MICROMASS® IS A DIVISION OF WATERS® CORPORATION

www.micromass.co.uk

PHARMACEUTICAL

CLINICAL

ENVIRONMENTAL

ANALYTICAL

Selectivity Sensitivity
Speed GC-MS

GCT™ proporciona una sensibilidad a espectro completo con límites de detección equivalentes a aquellos que sólo se pueden obtener con monitorización múltiple de iones en un detector MS de cuadrupolo.

GCT™ proporciona una elevada resolución y la medida de masa exacta a partir de un analizador de masas TOF Ortogonal con la simplicidad que usted demandaría a un detector MS de Cuadrupolo. La medida de masa exacta le proporciona los datos de composición elemental tanto para el ion molecular como para los iones fragmento, simplificando en gran extremo la tarea de interpretación de los espectros de masas. Adicionalmente los cromatogramas de masa exacta incrementan la selectividad extraordinariamente.

El software MassLynx NT™ provee análisis automático GC-MS, visualización de datos a tiempo real, búsqueda en librería, confirmación elemental y total capacidad de generación de informes.



Con Micromass
GCT™ ...30 años de
experiencia en GC-MS
en su analizador
de sobremesa



UK / International
Tel: +44 (0) 161 946 0565

EU
Tel: +31 (0) 294-480484

Latin America Desk
Tel: +49 611 188 5731

Micromass Instruments, S.A.
C/Roger de Flor, N° 180, 7°, 2° 08013 Barcelona
Telf: 93 2466696, Fax: 93 2321452
e-mail: micromass@mad.servicom.es

WATERS Corporation Tel: +1 508 478 2000 www.waters.com



INFORMACIONES

23rd International Symposium on Capillary Chromatography

Tendrá lugar en Riva del Garda, Italia, del 5 al 10 de junio del 2000.

Para obtener información:

P. Sandra

International Organisation for the Promotion of
Microcolumn Separation (I.O.P.M.S.)
Kennedy park 20

B-8500 Kortrijk, Bélgica

Fax: +32 56 204 859

E-mail: ric.sandra@ven.be

www.richrom.com

AVISO

Bajo el V Programa Marco sobre Investigación y Desarrollo de la Comisión Europea (Crecimiento Competitivo y Sostenible), ha sido concedido el proyecto ISOTRACE

“Detección de drogas ilegales por Espectrometría de Masas de Relación Isotópica: aumento de la sensibilidad, extensión de aplicaciones y desarrollo de procedimientos y datos de referencia”, coordinado por el Institut Municipal d’Investigació Mèdica IMIM de Barcelona, con la participación de otros 7 centros públicos y privados del Reino Unido, Irlanda, Francia, Holanda y Grecia, y con una duración de 3 años a partir del 1 de Febrero de 2000.

Con el fin de incorporar personal cualificado al desarrollo y coordinación del proyecto se informa del mismo a investigadores con formación de post-doctorado o equivalente, con amplia experiencia en espectrometría de masas y con conocimientos de la determinación de sustancias en fluidos biológicos y la interpretación de resultados.

Los interesados deben enviar información detallada a la dirección siguiente:

Prof. Jordi Segura

Unitat de Recerca en Farmacologia

Institut Municipal d’Investigació Mèdica IMIM

Av. Dr. Aiguader 80

08003 Barcelona, España

Tel +34 93 221 10 09

Fax +34 93 221 32 37

E-mail jsegura@imim.es



EMPRESAS colaboradoras

PROTECTORAS

- **AGILENT TECHNOLOGIES SPAIN, S.L.**
Ctra. N-VI, km 18,200
28230 LAS ROZAS (Madrid)
- **HUCÖAERLOSS, S.A.**
Avda. Manoteras, s/n, calle 3
Edificio Esindus
28050 MADRID
- **PERKIN ELMER ESPAÑA, S.A.**
Avda. Universitat Autònoma, 3A
Parc Tecnològic del Vallés
08290 CERDANYOLA (Barcelona)
- **TERMO QUEST, S.A.**
Grupo Thermo Instruments
Valdelaparra, 27 - Edif. Alcor, 2ª planta
28108 ALCOBENDAS (Madrid)
- **WATERS CROMATOGRAFÍA, S.A.**
Entenza, 24
08015 BARCELONA

ASOCIADAS

- **AL AIR LIQUID ESPAÑA, S.A.**
Paseo de Recoletos, 18-20
28001 MADRID
- **ALFAQUIMIA, S.L.**
Covarrubias, 1
28010 MADRID
- **GIRALT, S.A.**
Capitán Haya, 58
28020 MADRID
- **GOMENSORO, S.A.**
Aguacate, 15
28044 MADRID
- **IZASA, S.A.**
Aragoneses, 13
Polígono Industrial Alcobendas
28100 ALCOBENDAS (Madrid)
- **KONTRON, S.A.**
Salvatierra, 4
28034 MADRID
- **INGENIERÍA ANALÍTICA, S.L.**
Ctra. Cerdanyola, 65-67
08190 SANT CUGAT DEL VALLÉS
(Barcelona)
- **MERCK FARMA Y QUÍMICA, S.A.**
Polígono Merck
08100 MOLLET DEL VALLÉS
(Barcelona)
- **MICROMASS INSTRUMENTS, S.A.**
Roger de Flor, 180
08013 BARCELONA
- **MILLIPORE IBÉRICA, S.A.**
Avda. Llano Castellano, 13
28034 MADRID
- **Reactivos SCHARLAU, S.L.**
La Jota, 86
08016 BARCELONA
- **SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CARBUROS METÁLICOS**
Plaza de Cronos, 5
28037 MADRID
- **SPIRAX SARCO, S.A.**
San José, 130
Polígono El Pla
08980 SAN FELIU DE LLOBREGAT
(Barcelona)
- **SUGELABOR**
Sicilia, 36
28038 MADRID
- **TEKNOKROMA**
Ctra. Cerdanyola, 71, 2º
08190 SANT CUGAT DEL VALLÉS
(Barcelona)
- **VARIAN-IBÉRICA, S.L.**
Avda. Pedro Díez, 25, 3º
28019 MADRID
- **VERTEX TECHNICS, S.L.**
Comercio, 12-14 bajos
08902 HOSPITALET DE LLOBREGAT
(Barcelona)



NOVEDADES TÉCNICAS



Agilent Technologies

Innovating the HP Way

SISTEMA LC AGILENT TECHNOLOGIES SERIE 1100: PERFECTO PARA LOS LABORATORIOS QUE SE INICIAN EN HPLC

Agilent Technologies Europa, subsidiaria de Hewlett-Packard Company, ha presentado un sistema para cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), económico y fácil de utilizar. Este excepcional sistema ofrece el hardware y el software de Agilent, líder de la industria, así como sus reconocidas robustez y fiabilidad. Aún más, este sistema proporciona un mantenimiento fácil y rápido, mínimo entrenamiento de usuario y funciones incorporadas para aumento de la productividad.



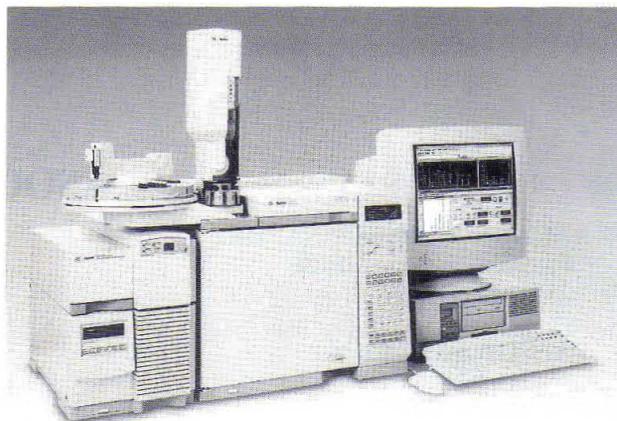
El sistema LC Agilent Serie 1100 es de pequeño tamaño y dispone de todo lo necesario para realizar análisis rápidos, fáciles y exactos.

La oferta de iniciación de bajo precio, diseñada por especialistas farmacéuticos en control de calidad y usuarios generales de HPLC, consiste en el sistema LC serie 1100 completo, más instalación y familiarización, guía práctica en-línea, manual de iniciación rápida en varios idiomas, procedimientos estándar de operación (SOPs) incorporados para comprobación del sistema completo, kit de iniciación farmacéutico, diagnósticos en-línea y soporte telefónico por técnicos expertos.

AGILENT TECHNOLOGIES PRESENTA UN NUEVO SISTEMA GC/MS DE SOBREMESA

Agilent Technologies Europa, subsidiaria de Hewlett-Packard Company, ha presentado el Detector Selectivo de

Masas (MSD) Agilent 5973Network y el software ChemStation MSD Productivity. Combinados con uno de los cromatógrafos de gases de Agilent, el MSD y el software forman un sistema cromatógrafo de gases/espectrómetro de masas (GC/MS) potente, sensible y de elevada versatilidad para el análisis químico, un sistema GC/MS que se ajusta perfectamente a las prácticas establecidas de los laboratorios. El MSD 5973Network mantiene los estándares de alto rendimiento de sus predecesores y desarrolla nuevas capacidades, con precios comparables.



El MSD Agilent 5973N es uno de los primeros espectrómetros de masas que ofrecen comunicación basada en LAN, entre el instrumento y el sistema de datos. Este tipo de comunicación simplifica el movimiento y consolidación de datos. Facilita el análisis de datos centralizado, fuera de línea, que mejor se ajusta a las prácticas de muchos laboratorios.

La comunicación basada en LAN del instrumento y el panel de control local, lo que también significa que el sistema de datos no está anclado al espectrómetro de masas. Puede estar situado en otro lugar del laboratorio o en la oficina. El resultado es mayor flexibilidad en la distribución del laboratorio.

Un sistema de datos sencillo puede, ahora, controlar dos MSD o hasta cuatro GC, o una combinación de GCs y MSDs con un total de cuatro detectores. Este control multi-instrumento es perfecto para laboratorios de alto volumen con análisis de datos de rutina, automatizado o análisis de datos fuera de línea. También puede beneficiar cualquier laboratorio donde el espacio o el coste sean consideración fundamental.

AGILENT TECHNOLOGIES PRESENTA EL SISTEMA UV-VISIBLE 8453, OFRECIENDO A LOS LABORATORIOS UNA SOLUCIÓN ESPECTROSCÓPICA ASEQUIBLE

Agilent Technologies Europa, subsidiaria de Hewlett-Packard Company, ha presentado un sistema económico, fácil de utilizar para espectroscopía UV-visible, basado en

el fiable espectrofotómetro Agilent 8453 con software dedicado basado Windows®, funcionando sobre un PC. Los componentes del sistema han sido elegidos cuidadosamente para proporcionar una configuración precio/rendimiento óptima para un lugar de trabajo con un sólo instrumento. Esto lo hace ideal para realizar tareas espectroscópicas de propósito general en laboratorios químicos, bioquímicos o medioambientales. El sistema también incluye una impresora de color para documentar los resultados de modo profesional.



El espectrofotómetro Agilent 8453 tiene un rango de longitud de onda de 190 a 1.100 nm, una anchura de rendija de 1 nm y menos del 0,03% de luz difusa. Ofrece las ventajas de la matriz de diodos del área abierta de muestra, barrido rápido, reproducibilidad, robustez y fiabilidad, y su tamaño compacto proporciona más espacio libre. Dispone de una amplia gama de accesorios, que incluye celdas, soportes de celdas, transporte multicelda, sistema succionador y muestreador automático.

La interfase gráfica de usuario del software dedicado es fácil de aprender y utilizar y proporciona control completo del instrumento y análisis de datos. Están disponibles módulos adicionales de software para tareas espectroscópicas más específicas, como desarrollo de métodos o estudios cinéticos.

División de Análisis Químico de Agilent

La División de Análisis Químico de Agilent, con central en Palo Alto, California, es un suministrador líder de soluciones para medida y tratamiento de la información de análisis químico, así como servicios y soporte, columnas y consumibles, para laboratorios tanto de la industria como de la administración pública y dedicados a la enseñanza.

Puede encontrar información sobre los productos y servicios para análisis químico de Agilent en la World Wide Web, dirección: <http://www.chem.agilent.com/cag/products/products.html>.

Agilent Technologies

Agilent Technologies es una compañía de tecnología

diversa, resultante del plan de Hewlett-Packard de realineamiento estratégico en dos compañías completamente independientes. Con 43.000 empleados al servicio de sus clientes en más de 120 países, Agilent Technologies, como subsidiaria de HP, es líder global en el diseño y la fabricación de instrumentos, sistemas y soluciones para prueba, medida y monitorización, así como componentes ópticos y semiconductores. La compañía está introducida en mercados de comunicaciones, electrónica, ciencias de la vida y cuidados de la salud. Las unidades de negocio que constituyen Agilent generaron unos ingresos netos de cerca de ocho millardos de dólares en el año fiscal 1998.

Puede encontrar información sobre Agilent Technologies en la World Wide Web, dirección <http://www.agilent.com>.

Agilent Technologies
Ctra. N-VI, Km. 18,200
28230 Las Rozas (Madrid)
Tel.: 901 11 68 90.
Fax: 91 637 65 05



NUEVA GAMA DE PRODUCTOS PARA LABORATORIOS DE CONTROL Y CENTROS DE INVESTIGACIÓN

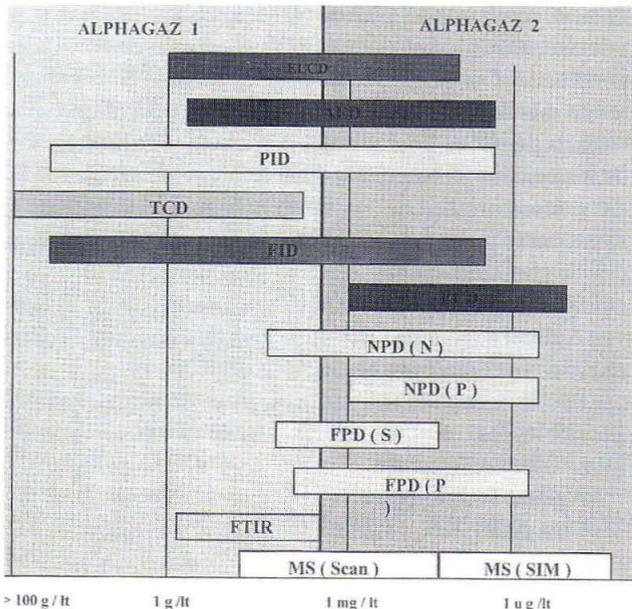
El grupo Air Liquide ha lanzado al mercado una nueva gama de productos Alphagaz basados en:

- materia prima de mejor especificación y con mayor garantía de control
- diversificación de los sistemas de suministro para una mayor facilidad del utilizador
- el paso de la antigua denominación de los gases puros como gases N (ejemplo gas N50 equivalente a un gas de pureza global 99,999%) a la definición por gamas de productos en relación con las aplicaciones.

De esta forma, el grupo Air Liquide ha definido las cuatro nuevas gamas generales de productos siguientes:

- Gases Alphagaz ① y ②
 - Mezclas Alphagaz Mix
 - Líquidos Alphagaz 1.000
 - Generadores Alphagaz Flo
- y establecido los materiales e instalaciones necesarios para cada caso.

Pasamos a describir brevemente las características fundamentales de dicha gama:



Detectores más utilizados en CG y aplicación de las gamas Alphagaz ① y ②

Alphagaz ①

Se incluyen gases puros suministrados en el sistema tradicional de botellas y que están destinadas a cubrir los análisis de % ppm con total garantía y de forma particularmente económica.

Su relación con las gamas clásicas sería de pureza hasta 99,9995% (N55) y en ella se incluyen Ar, H₂, He, N₂, Aire, O₂, CO₂, C₂H₂ y N₂O.

Alphagaz ②

Como los anteriores se suministran en botellas y están destinados a cubrir los análisis de ppm a ppb, así como las investigaciones especiales, y permiten, por ejemplo, una mejor conservación de las columnas cromatográficas.

Su relación con las gamas clásicas sería de pureza hasta 99,9999% (N60) y en ella se incluyen Ar, H₂, He, N₂, O₂ y CO₂.

Alphagaz MIX

Con esta gama el mercado dispondrá de mezclas especialmente concebidas por aplicaciones estándar (control industrial), instrumentación analítica, procesos, etc., respondiendo, con diferentes grados de tolerancia de fabricación de sus componentes e incertidumbre de análisis, a los requerimientos técnicos de los utilizadores y disponiendo para aplicaciones concretas de cadena de trazabilidad y de certificaciones independientes.

Alphagaz 1.000

Es una gama destinada a cubrir las aplicaciones de pureza de He, Ar y N₂ como productos suministrados bajo forma líquida en envases criogénicos.

En las aplicaciones gaseosas de Ar y N₂, con suministro bajo forma líquida, se incluye una garantía de pureza del tipo ALPHAGAZ "

Generadores Alphagaz FLO

Esta forma de generación "in situ" de nitrógeno, aire e hidrógeno puros se añade a los clásicos sistemas de suministro como gases y de forma líquida diversificando los sistemas de entrega a los utilizadores.

El sistema Alphagaz FLO presenta, entre otras, las siguientes ventajas.

- homogeneidad de la calidad
- Seguridad: menor volumen de gas
menor presión de almacenamiento
coste de instalación

y añadiendo el mantenimiento preventivo como servicio Alphagaz, el utilizador dispone de todo el tiempo para su trabajo sin las preocupaciones adicionales de roturas de suministro, cambio de botellas, etc.

La creación de estas nuevas gamas va acompañada de la presentación de materiales cuyo diseño se ha basado en respetar las características del gas puro de acuerdo con dos premisas básicas en las aplicaciones analíticas:

- disponer del gas de la calidad adecuada a la utilización
- disponer de los materiales e instalaciones que preserven esa calidad hasta el punto de utilización.

En el diseño de la distribución y regulación de los gases puros es imprescindible que todos los elementos que intervienen en la instalación configuren una "cadena de pureza total".

Con base a esa segunda premisa el Grupo Air Liquide ha estandarizado una nueva gama de materiales con la denominación Alphagaz ① y ② para relacionarlos con los gases de las nuevas gamas a que van destinados, basados en doble etapa de regulación de presión, eliminación de volúmenes muertos, nivel de fuga adecuado, fuelles metálicos, etc.

Finalmente, Air Liquide, como empresa orientada al utilizador, ha incorporado las expectativas de los clientes mediante la creación de nuevos productos especialmente diseñados a su servicio.

- mantenimiento preventivo de instalaciones
- centros de servicios al cliente
- generación "in situ" de gases
- formación de seguridad en el manejo de gases
- sistema de control remoto de procesos.

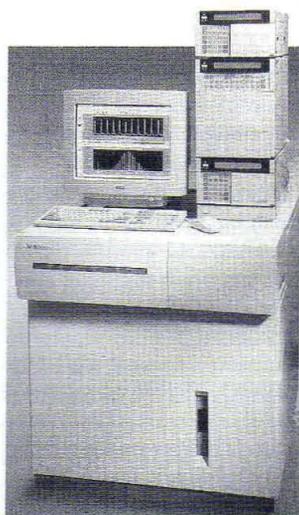
De esta forma el utilizador de productos del Grupo Air Liquide tendrá una oferta global con una cadena completa de opciones que cubre el suministro de productos, equipos, instalaciones, servicio, etc., que facilitan su trabajo y dejando la responsabilidad del suministro de la cadena de gases al fabricante.

Delegación Madrid
San Norberto, 48
Tel. 915 029 490.
Fax 917 964 001
28021 Villaverde Alto (Madrid)

MERCK

M 8000. ESPECTRÓMETRO DE MASAS MULTIDIMENSIONAL PARA LC

Merck ha introducido durante Expoquimia 99 un nuevo detector para su familia de HPLC LaChrom. Se trata de un equipo multidimensional para LC MSn basado en tecnología de trampa iónica que permite fragmentaciones hasta $n = 10$ y análisis en un rango de m/z desde 10 hasta 2000. El detector incorpora una bomba de tipo turbomolecular complementada por otra de tipo rotatorio para la generación del vacío y para garantizar un modo de operación continuo y fiable, incluso en condiciones de trabajo con fases móviles de alto contenido salino. Ambas bombas están alojadas en el interior de una mesa que sirve a la vez para la instalación de las interfases y de toda la electrónica necesaria. El resultado es una operación extremadamente silenciosa.



El M-8000 puede utilizarse con interfases de tipo APCI, ESI y la nueva interfase SSI (Sonic Spray Interface) patentada por Hitachi que permite una ionización muy suave especialmente adecuada en moléculas que no toleran la aplicación de voltajes o temperaturas elevadas, como es el caso de azúcares, carbamatos y pesticidas.

El equipo incorpora la tecnología FNF (Filter Noise Field) que permite incrementar de forma muy notable la sensibilidad para la identificación y cuantificación de compuestos en matrices extremadamente sucias mediante el procedimiento de la eliminación selectiva de iones o rangos de iones en la trampa iónica. Generación y detección de iones positiva y negativa. Software para el control del detector incluyendo todos los componentes del equipo de HPLC sobre Windows NT 4.0

Solicite más información a:

Merck .

Div. Productos para Laboratorio

Tel. 93 5655560

Fax 93 5440287



Tof - Ortogonal - Una nueva perspectiva en Espectrometría de Masas para eluyentes de GC y LC

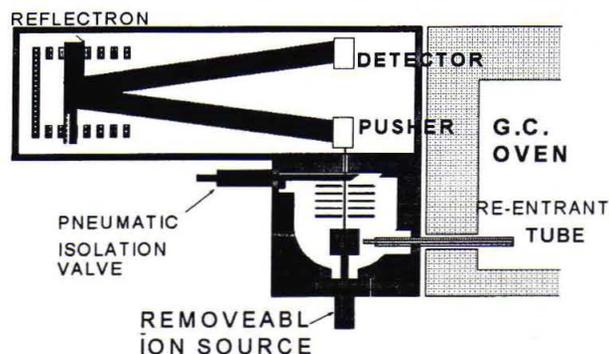
La espectrometría de masas se ha convertido en una herramienta analítica principal en las ciencias de la vida tanto en la industria como en las instituciones académicas y se prevé que el mercado de LC/MS superará en una década el billón de dólares en ventas anuales de instrumentos. Los analizadores de espectrometría de masas de cuadrupolo y de trampa iónica permiten actualmente la identificación de un amplio rango de compuestos polares. Sin embargo, en muchos casos no es posible identificar las estructuras de impurezas desconocidas mediante el uso de estos instrumentos de baja resolución de masa.

Los espectrómetros de masas de tiempo de vuelo ortogonal (oa-Tof) de sobremesa dedicados a GC y LC se han convertido actualmente en una poderosa alternativa a esas tecnologías. El diseño especial del analizador de tiempo de vuelo aporta en la actualidad considerables ventajas en cuanto a sensibilidad, selectividad y velocidad.

Principio de funcionamiento

Los instrumentos dedicados GC-Tof y LC-Tof están disponibles comercialmente y operan ambos bajo los mismos principios generales del analizador.

Los iones generados a partir de una fuente de ionización a presión atmosférica (API) para eluyentes de LC o de una fuente de impacto electrónico para eluyentes de GC son transferidos al alto vacío del analizador Tof. El analizador Tof puede compararse a un cronómetro de precisión. Cuando el haz de iones atraviesa un pulsador de alta frecuencia, paquetes discretos de iones se pulsan ortogonalmente a su trayectoria 30.000 veces/segundo. Los iones son entonces acelerados hacia el tubo del Tof y un reflector de una etapa refleja los iones hacia el detector multicanal. Los tiempos de llegada de los iones se registran utilizando un conversor tiempo-digital de 1GHz.



El tiempo de vuelo de los iones es directamente proporcional a sus masas. Por lo tanto, los iones más ligeros atraviesan el analizador en un tiempo más corto que sus vecinos más pesados. El tiempo de llegada de los iones se registra y acumula, dando lugar a un espectro de masas.

¿Cuáles son las mayores ventajas de un oa-Tof?

- **Especificidad**

Capacidad de masa exacta: Probablemente la más poderosa cualidad del instrumento es su capacidad de obtener en línea rutinariamente medidas de masa exacta de 5 ppm. Esto significa que es posible identificar la masa de una molécula, por ejemplo de masa verdadera 400 unidades de masa, con un margen de 2 milésimas de unidad de masa. Con exactitudes de masa de 5 ppm, la composición elemental de un compuesto desconocido puede ser inferida. Además, la exactitud de masa permite distinguir entre compuestos nominalmente isobáricos, algo que no es posible conseguir con la tecnología de los instrumentos de cuadrupolo o de trampa iónica

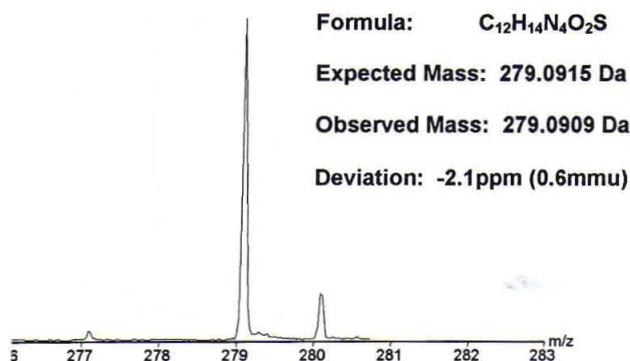


Fig. 2. Espectro típico tomado de un LC-*oa*-Tof. Se muestra el espectro expandido de la sulfametacina, permitiendo determinar la composición elemental.

Resolución: El muestreo ortogonal del haz de iones permite una estrecha dispersión de energías de los iones que van a extraer. Ello permite obtener resoluciones fijas de 5.000 FWHM. Con esta resolución los compuestos de interés pueden distinguirse de interferencias de ruido químico de similar masa nominal, ayudando en la identificación de compuestos en mezclas complejas.

- **Sensibilidad**

Se observa una mejora del orden de 10-50 veces respecto a los analizadores de barrido de cuadrupolo debida a la alta eficacia del analizador.

- **Velocidad / capacidad de barrido rápido**

La elevada velocidad de muestreo del detector permite adquirir 10 espectros por segundo. Esta capacidad es importante para picos cromatográficos de alta resolución tales como los que se observan en nano LC, electroforesis capilar o cromatografía de gases rápida.

Cómo obtener fácilmente resultados de masa exacta

Mass	Formula	Deviation (ppm)	Count
369.2300	C ₂₆ H ₂₉ N ₂	-0.1	25
369.2300	C ₁₈ H ₃₃ N ₄ O ₂ S	0.6	18
369.2300	C ₁₂ H ₃₁ N ₇ O ₆	-0.6	12
369.2300	C ₂₀ H ₃₅ N ₃ O ₃ S	-0.8	20
369.2300	C ₁₃ H ₃₅ N ₇ O ₅ S ₂	-1.5	13
369.2300	C ₁₇ H ₃₇ O ₆ S	1.8	17
369.2300	C ₁₆ H ₃₁ N ₇ O ₅ S	1.8	16
369.2300	C ₁₄ H ₃₃ N ₄ O ₇	-1.9	14
369.2300	C ₂₃ H ₃₁ N ₃ O ₃	2.6	23
369.2300	C ₁₆ H ₃₇ N ₄ O ₂ S ₂	-2.8	15
369.2300	C ₁₉ H ₃₅ N ₃ O ₅ S	-3.2	15
369.2300	C ₁₆ H ₃₉ H ₉ O ₃	-3.3	15
369.2300	C ₁₅ H ₃₅ N ₃ O ₆	-3.3	16
369.2300	C ₂₃ H ₃₉ N ₂ S	-3.4	23

Fig. 3. El análisis automático de la composición elemental de las masas exactas permite postular la composición elemental de una sustancia desconocida.

Debido a la ley de calibración lineal de un Tof, se obtienen rutinariamente exactitudes de masa de 5 ppm en el rango completo de masas usando un sólo punto de ajuste de masas. El compuesto de referencia es generalmente un compuesto cuya masa y fórmula molecular son conocidas. Introduciendo este compuesto de referencia postcolumna o bien utilizando un pico de una interferencia conocida el espectro de masas obtenido se puede ajustar con exactitudes de 5 ppm en rango completo de masas.

Una vez se ha obtenido el resultado de la masa exacta, puede procederse automáticamente a la búsqueda en la base de datos de composición elemental. La base de datos proporciona posibles permutaciones de los átomos orgánicos comunes para postular una composición elemental. El grado de facilidad en la obtención de ese resultado de calidad representa un cambio cuantitativo cuando se compara con un ejercicio similar en instrumentos de sector magnético. Ello ha comportado que muchos departamentos de servicios analíticos hayan adoptado esta tecnología para determinaciones de masa exacta.

Aplicaciones

Los instrumentos GC-Tof se han desarrollado para el análisis de compuestos no polares en el medio ambiente, industria petroquímica, análisis de residuos y estrategias de desarrollo de fármacos. Se dispone de las técnicas de impacto electrónico, ionización química, ionización de campo y sonda de inserción de muestras sólidas.

Los instrumentos LC-Tof tienen una amplia aplicación en la identificación de trazas de compuestos polares en medio ambiente y en fármacos.

Para obtener más información, por favor contactar con:

Micromass Instruments, S.A.

Roger de Flor, 180-184, 7^o, 2^a - 08013 Barcelona

Tel. 93 246 66 96. Fax 93 232 14 52

e-mail: micromass@mad.servicom.es

MILLIPORE

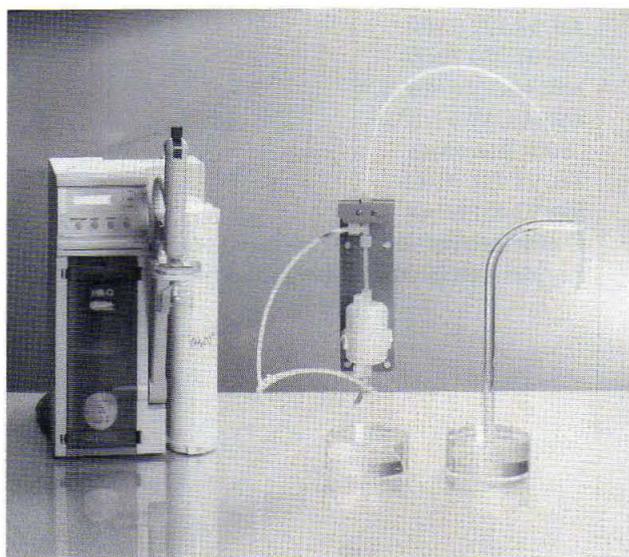
Agua ultrapura para ICP-MS y otros análisis de trazas

Los avances recientes en las tecnologías de medición y detección han elevado enormemente la sensibilidad de la instrumentación analítica moderna. Ahora, pueden medirse trazas de elementos a nivel de ppt, o incluso fracciones de ppt, con técnicas como ICP-MS (plasma acoplado por inducción y espectrometría de masas). Estos niveles de detección sólo pueden alcanzarse manteniendo un control cuidadoso del protocolo analítico.

En el análisis de trazas, cualquier contaminación de las soluciones empleadas, o incluso del ambiente, incrementará el nivel de los elementos medidos en la muestra.

El simple contacto con el material de vidrio o con otras superficies, o incluso la exposición al aire del laboratorio, pueden causar la contaminación de la muestra. Así, los límites de detección dependen de las condiciones ambientales, siendo diferentes en una sala limpia y en un laboratorio común.

Sólo pueden obtenerse límites de detección inferiores a las ppt si se controla especialmente el ambiente experimental, así como la pureza de todos los reactivos utilizados. Entre estos reactivos, tiene una importancia crítica el agua utilizada como blanco y para diluir muestras, preparar patrones o enjuagar material de vidrio.

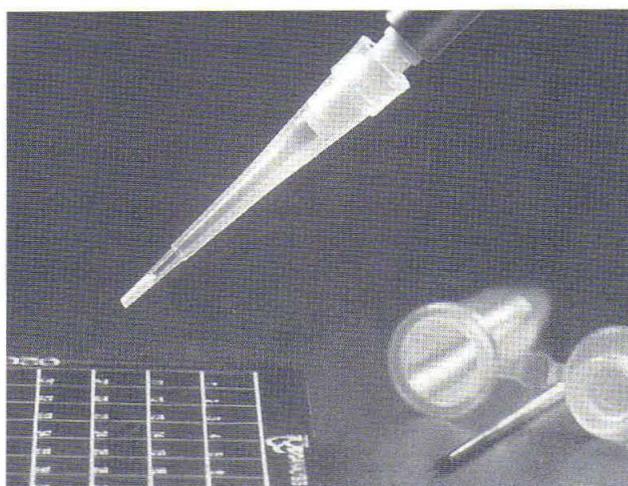


El nuevo sistema Milli-Q®, Element de Millipore ha sido diseñado por y para los científicos que utilizan ICP-MS, especialmente para la producción de agua ultrapura con un contenido iónico inferior a las ppt.

Nuevas puntas de pipeta ZipTip C18 de Millipore. Para la preparación de muestras de péptidos y proteínas previa al análisis por MS y otras técnicas analíticas.

En los análisis por Espectrometría de Masas es necesario como paso previo, la preparación de las muestras, concentrar, dializar y eliminar detergentes de péptidos y proteínas antes de realizar la espectrometría de masas.

ZipTipC18 es una punta de pipeta de 10 microlitros con 0,55 μl de resina C18 fijada al fondo para evitar volumen muerto y para usarla sólo es necesario colocar la punta de pipeta ZipTipC18 en una pipeta estándar. Para una adsorción sencilla, aspirar y dispensar a través de la resina C18 varias veces. De esta manera, los contaminantes son eliminados. La muestra concentrada y purificada es eluida con precisión en 1-4 μl de disolvente compatible y puede ser transferida directamente a un vial o placa ("target") de espectrometría de masas.



ZipTipC18 proporciona una alta recuperación reproducible, lo que significa una concentración y purificación de cantidades de péptidos en un rango entre nanogramo y picogramo para mejorar los resultados. Para el análisis simplificado, también es posible el fraccionamiento por elución de mezclas complejas de péptidos.

ZipTipC18 ahorra tiempo ya que proporciona un dispositivo rápido y listo para usar en preparación de técnicas cromatográficas en todas las aplicaciones excepto en las más críticas.

Entre sus aplicaciones, se pueden citar:

- Concentración de péptidos hasta 2 μl
- Eliminación de sales, detergentes y agentes caotrópicos previa a MS
- Elución para el análisis simplificado por espectrometría de masas
- Diálisis o eliminación de sales previa a otras técnicas analíticas

Las nuevas puntas de pipeta ZipTipC18 con resina C18 (microesferas de sílice, de 15 μm y 200Å de diámetro de

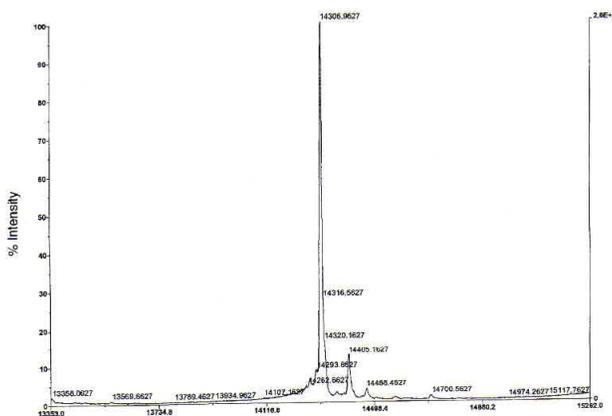
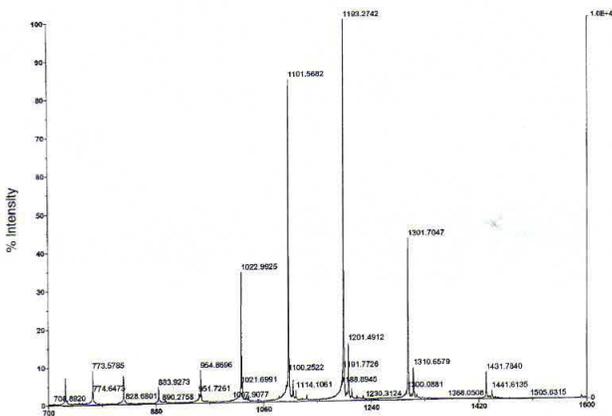


poro) permiten la preparación de muestras desde picogramas (pg) a 2 µg de péptidos en volúmenes de 2 a 50 µl.

La muestra se aspira y dispensa a través de ZipTipC18 para su adsorción, lavado y elución. Los péptidos recuperados están libres de contaminantes y concentrados en 1-2 µl para su análisis directo por MS. Existen protocolos comprobados de uso de ZipTipC18 para optimizar la adsorción de péptidos, eliminación de sales y elución de la muestra para análisis directo MALDI, para electrospray (ES), para fraccionar mezclas complejas de péptidos y otras técnicas analíticas.

Actualmente Millipore se encuentra en proceso de validación de nuevas presentaciones de ZipTip:

- ZipTipax, con resina de intercambio aniónico débil, para separación de péptidos, proteínas y oligonucleótidos de detergentes no iónicos.
- ZipTipC4, con resina C4, para la recuperación de proteínas con mayor afinidad que por C18
- ZipTipµ-C18, con un volumen de 0,2 µl de resina C18, para limpieza y elución de péptidos, proteínas y oligonucleótidos en muestras de volúmenes muy reducidos.



La purificación realizada por las puntas de pipeta ZipTipC18 permite Nanospray-ES de lisozimas conteniendo sales y guanidina.

Nanospray-ES de lisozimas dializadas con ZipTipC18. Utilizando tecnología de nanospray se muestra el tratamiento con ZipTipC18 sobre lisozima en tampón fosfato conteniendo sales y guanidina. La carga del espectro de masas (gráfico superior) está libre de sales y muestra una resolución excelente. El pico de masa desarrollado es de alta calidad y seguridad gracias a la eficacia de la eliminación de sales. El espectro se obtuvo con un sistema "PerSeptive Biosystems Mariner™ ESI-TOF Biospectrometry™ Workstation".

Literatura disponible:

Zip Tip Pipette™ Tips for Sample Preparation. Concentrate and purify 1 to 100 ul of biological sample easily, in under a minute. Lit. No. PF172, Printed USA. 1/99 98-149

Protocolos en: www.millipore.com/ziptip

- Peptide sample preparation prior to MALDI Mass Spectrometry.
- Peptide sample preparation prior to ES-MS
- Small protein sample preparation prior to Mass Spectroscopy.
- Peptide fractionation for simplified MS
- Oligonucleotide Desalting for Mass Spec

Para solicitar su ejemplar de este nuevo folleto, diríjase a:

Millipore Ibérica, S.A.

Avda. Llano Castellano, 13-3º

28034 Madrid

Tel. 91 729 03 00

Fax 91 729 29 09.

Millipore Ibérica, S.A.

Balmes, 89-91, 8º

08008 Barcelona

Tel. 93 451 70 00

Fax 93 451 60 48

E-mail internet: iberica@millipore.com

Páginas web Internet: www.millipore.com/H2O



VERTEX

Technics S.L.

NUEVO CROMATÓGRAFO IÓNICO DIONEX DX-320

Vertex Technics, distribuidor de Dionex en España, presenta el nuevo sistema de cromatografía iónica, el DX-320. Compacto, modular e ideal para trabajos de rutina, posee una bomba de doble pistón combinada con el mejor detector de conductividad jamás desarrollado. Se conforma así el equipo con mayores prestaciones en cromatografía iónica disponible en la actualidad.

Los iones inorgánicos comunes pueden determinarse en una gran variedad de matrices, en menos de 10 minutos, y con diferencias de concentración de más de cuatro órdenes de magnitud.

Las detecciones por calorimetría, conductividad sin supresión o UV / Vis, generalmente no obtienen unos límites de detección tan bajos como los alcanzados con el DX-320.

Preparado para trabajar con el generador automático de eluyentes EG 40, el nuevo sistema DX-320, extiende sus posibilidades de aplicación pudiendo trabajar en gradiente.

Con la tecnología "añada sólo agua", ya no se tienen que preparar ni el eluyente ni las soluciones regenerantes. Usando el EG 40 como una parte del sistema DX-320, y mediante una reacción de electrólisis, el eluyente se crea de manera continua, libre de contaminantes, en línea y partiendo sólo de agua.

La tecnología "añada sólo agua", aporta a la cromatografía iónica posibilidades que la hacen rápida, fácil y poderosa. De esta manera Dionex continúa mejorando y avanzando en el campo del análisis iónico.

Vertex Technics, S.L.

Comercio, 12, bajo

08902 L'Hospitalet (Barcelona)

Tel. 93 223 33 33

Lorenzo González, 4

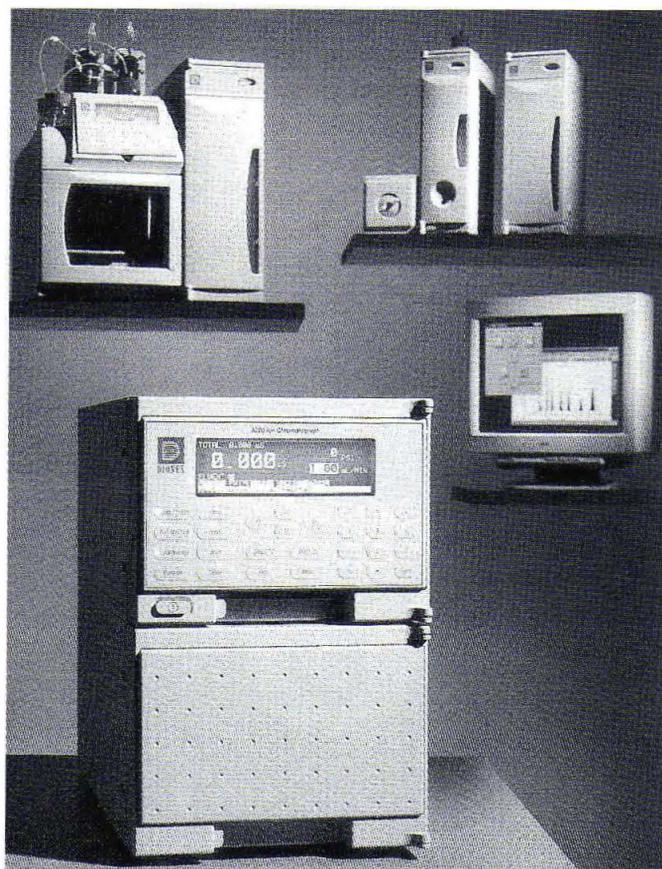
28017 Madrid

Tel. 91 367 51 51

Ramón y Cajal, 2 bis

48014 Bilbao

Tel. 94 447 19 99



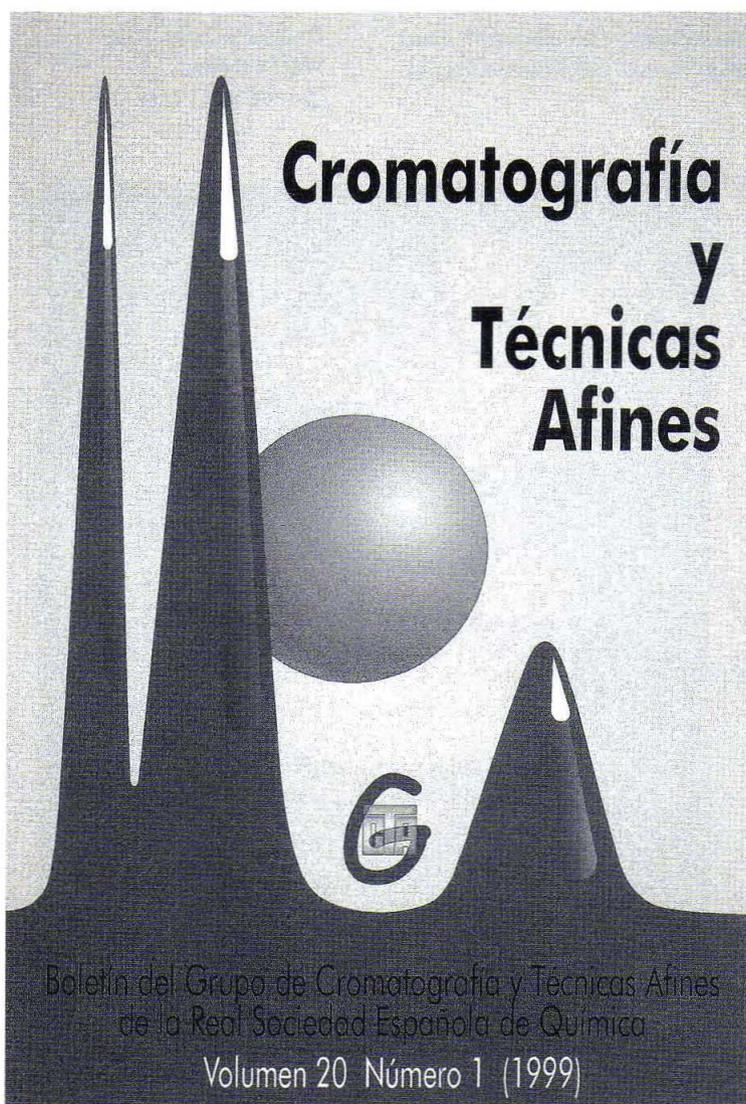
Nota de la redacción

Como podréis observar, algunas páginas del Boletín han cambiado de aspecto. Aunque lo más importante es siempre el contenido, no cabe duda de que la presentación puede hacer más agradable la lectura, e incluso más cómoda. Como otras revistas, estamos tratando de conseguir una presentación más actual y atractiva. El único problema es que los miembros de la redacción no somos muy imaginativos, y aunque llevábamos pensando en ello algún tiempo, no habíamos encontrado el modo de hacerlo.

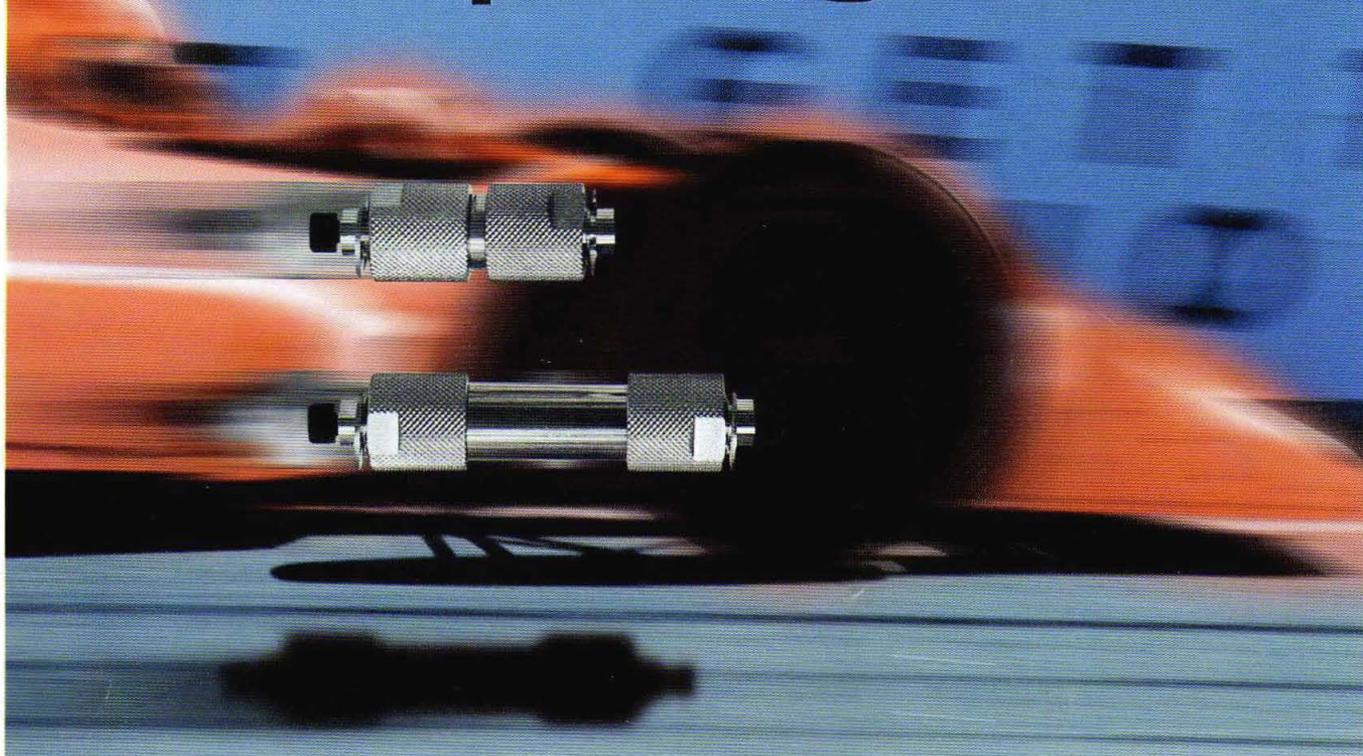
Las novedades que veis ahora son un diseño de **Helios** (nuestra imprenta habitual), que se ofreció graciosamente a hacerlo. Pensamos que la idea base es buena, y lo lanzamos a modo de ensayo. Ojalá que os guste a muchos de vosotros, y alguno nos proponga modificaciones o nuevas ideas.

La portada debe renovarse también. Tenemos ya un diseño, obra de Luis Esteban (que en su día ganó un concurso de logotipos para el grupo). Si hay alguien que quiera proponer otra, no tiene más que enviarla (un A-4 en color). Iremos dando a conocer lo que nos llegue, y esperamos recoger también vuestras opiniones sobre todo ello.

Queremos aprovechar la ocasión para recordar a los lectores que cualquier colaboración (artículos, noticias, informaciones varias, etc.), son muy bienvenidas.



High-Speed HPLC con Purospher® STAR



El problema:

¿Cómo acortar el tiempo de análisis?

La solución:

Usando cartuchos LiChroCART® de 30 y 55 mm. con Purospher® STAR RP -18e 3 µm.



Los beneficios:

1. Ahorro en tiempo y disolventes:

Acorta el tiempo de análisis hasta 8 veces y reduce el consumo de disolventes en un factor de 32.

2. Amplio campo de aplicación:

Purospher® STAR RP -18e sin apenas impurezas metálicas y con muy baja actividad de grupos silanol residuales, es la elección ideal para la separación de compuestos ácidos, básicos y formadores de quelatos.

3. Gran reproducibilidad:

Cada lote de Purospher® STAR RP-18e, es sometido a rigurosas pruebas para asegurar el cumplimiento de las especificaciones de homogeneidad en los parámetros físicos, selectividad cromatográfica y estabilidad a largo plazo.

4. Más sensibilidad:

Hasta 4 veces más sensibilidad con cartuchos de 2 mm i.d.

5. Especialmente adecuado para LC-MS.



MERCK División LAB Tel. 93 565 55 00 Fax 93 544 02 87

MERCK

¿Por qué las columnas para HPLC Symmetry son tan diferentes a las demás?



Porque son todas iguales.

Aunque usted sea muy meticuloso validando sus métodos, siempre ha habido una variable fuera de su control, la columna de HPLC.

Usted depende completamente de su suministrador de columnas. Columna a columna, año a año, durante la vida de su compuesto. Pregúntese lo siguiente: ¿Su suministrador de columnas es tan meticuloso como usted? ¿Le ofrece tanta validación como usted mismo se requiere?

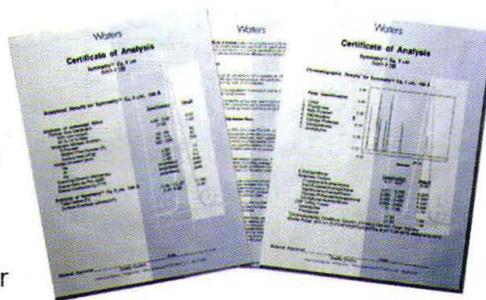
El nuevo estándar para la nueva generación de análisis por HPLC.

Waters es una de las pocas empresas en el mundo que controla completamente todo el proceso de fabricación de columnas para HPLC. Waters inventó la nueva sílice sintética que es la base de los rellenos Symmetry y empaqueta y prueba cada columna para asegurarse que el resultado

final es el esperado. El control del proceso desde el principio hasta el fin se traduce en las especificaciones más exigentes de la industria de columnas para HPLC. Cada columna Symmetry se acompaña con el certificado de análisis más completo que existe, que incluye los resultados de 18 test críticos. Esta es la prueba, escrita, de que las columnas Symmetry proporcionan el más alto estándar de consistencia y reproducibilidad. Y significa que usted puede transferir sus métodos de HPLC de I+D a producción en cualquier lugar del mundo sin preocuparse de la reproducibilidad de sus columnas.

Waters lo prueba todos los días.

Antes de iniciar su nuevo proceso de desarrollo de métodos, compare los estándares que Waters ha fijado con sus columnas Symmetry.



Waters



Waters Cromatografía, S.A. : Barcelona (93) 325 96 16

Madrid (91) 661 84 48

Sevilla (95) 568 11 51

Servicio directo de pedidos: Telef.: 901-30 10 30

Fax.: 902-30 10 30

Visitenos en Internet <http://www.waters.com>