

# Prenez de l'avance en CLHP



Colonne Agilent  
Poroshell 120 pour  
CLHP et UHPLC





*"Nous voulons utiliser les toutes dernières technologies pour améliorer l'efficacité et la résolution mais nous n'avons pas de budget pour investir dans de nouveaux instruments. Quelles sont les alternatives dont nous disposons ?"*



*"Nous avons besoin d'un système d'un bon rapport coût/efficacité pour accélérer les analyses et l'identification des peptides, tous deux sont fondamentaux pour la recherche de nouveaux médicaments."*



*"Comment pouvons-nous réduire la durée d'analyse sans compromettre la reproductibilité, pour tous les instruments de notre laboratoire ?"*

## Les colonnes **Agilent Poroshell 120** peuvent tirer un meilleur parti de chacun des CPL et CPL/SM de votre laboratoire

Les colonnes Poroshell 120 sont exceptionnellement efficaces pour la CLHP standard et augmentent notablement les performances que l'on peut obtenir d'instruments CLUHP à 600 et 1200 bars.

Cette colonne de nouvelle génération reprend en la perfectionnant la technologie introduite avec nos Poroshell 300 : les cadences et la résolution sont plus élevées pour un plus grand nombre de petites molécules et de peptides. Leurs caractéristiques de pointe sont :

- **extraordinaire reproductibilité d'un lot à l'autre** : les colonnes Poroshell 120 sont fabriquées grâce à un processus NOUVEAU d'enrobage des particules qui réduit considérablement les petites différences entre colonnes et entre lots ;
- **la vitesse et la résolution des colonnes de granulométrie inférieure à 2 µm** avec une contre-pression jusqu'à 50 % inférieure élèvent les performances en CPL et CLUHP à un niveau de souplesse et d'efficacité jamais atteint ;
- **la forme de pics supérieure**, en particulier à pH 6 à 7 donne des résultats plus rapides et plus précis ;
- **des séparations de haute qualité et une plus grande longévité de colonne** : les colonnes Poroshell 120 utilisent un fritté standard de 2 µm et (sont réfractaires au colmatage par les échantillons pollués.) présentes un colmatage moindre pour des échantillons chargés.

### Une nouvelle technologie de particules conçues pour des performances de pointe

Pour être sûrs que les colonnes Poroshell 120 columns soient les meilleures colonnes pour la séparation des petites molécules, nous avons réinventé le procédé de fabrication de nos particules poreuses. Contrairement au procédé classique multicouche, les particules Poroshell 120 columns sont fabriquées en une seule étape par un processus de coacervation qui produit des particules aux caractéristiques uniformes et, par conséquent, des résultats chromatographiques plus fiables.



## Sujets abordés dans la brochure :

4

### **Pourquoi les colonnes Poroshell 120 sont-elles différentes ?**

Le processus de fabrication de nos particules superficiellement poreuses explique les excellents résultats que vous obtiendrez

9

### **Faites mieux travailler votre instrument de CLHP**

*Oui*, il est possible d'obtenir l'efficacité de colonnes de granulométrie inférieure à 2 µm aux pressions standard de la CLHP

13

### **Augmentez la souplesse de vos méthodes CLUHP**

Vous pouvez maintenant effectuer des séparations ultrarapides à haute efficacité dans les conditions les plus variées

16

### **Transférez vos méthodes facilement**

Économisez du temps et de l'argent en transférant les méthodes des colonnes 5 µm aux colonnes Poroshell 120

19

### **Résolvez le dilemme cadence - résolution, (sans coup férir) à coup sur**

Les colonnes Poroshell 120 vous aident à faire face aux défis analytiques quotidiens

22

### **De nouvelles options pour les protéines et les peptides**

Réalisez plus rapidement des cartes peptidiques et des séparations de protéines avec les colonnes Poroshell 120

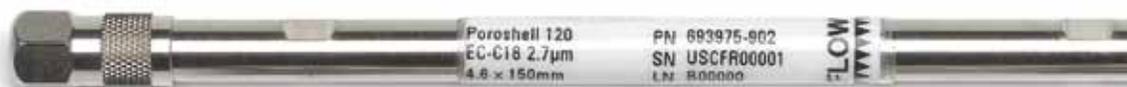
24

### **Une chromatographie liquide infiniment meilleure**

Présentation de la nouvelle série de systèmes de chromatographie en phase liquide Agilent 1200 Infinity

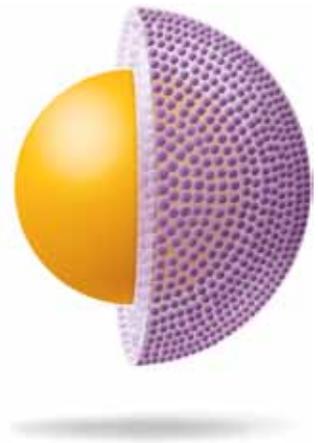
26

### **Guide de commande**

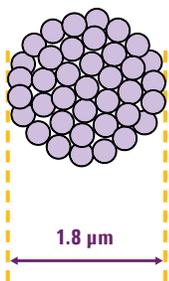


Pour en savoir plus sur les colonnes Poroshell 120, rendez-vous sur [www.agilent.com/chem/poroshell120](http://www.agilent.com/chem/poroshell120)

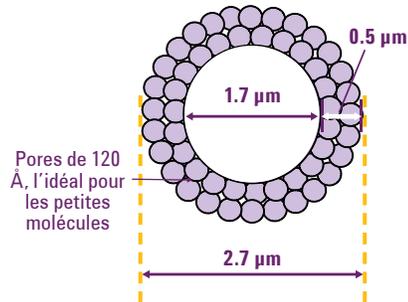
# Haute efficacité à plus faible pression Uniformité entre colonnes démontrée C'est toute la différence Poroshell 120



1.8  $\mu\text{m}$  totalement poreux



Agilent Poroshell 120 2.7  $\mu\text{m}$



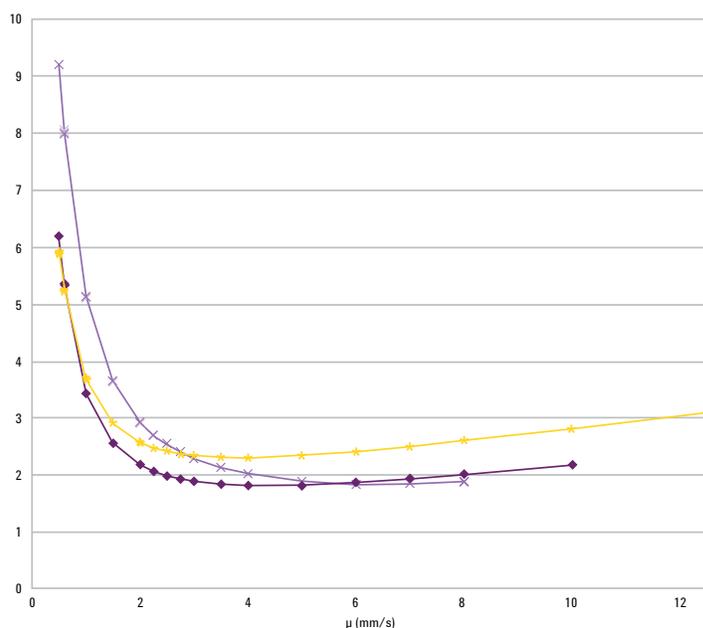
Une caractéristique majeure des colonnes Poroshell 120 est leurs microparticules poreuses seulement en surface.

Les particules Poroshell 120 se composent d'un noyau plein de 1,7  $\mu\text{m}$  et d'une couche externe poreuse de 0,5  $\mu\text{m}$ . Cette structure exclusive permet de conserver tous les avantages des particules d'une granulométrie inférieure à 2  $\mu\text{m}$  avec une contre-pression du même ordre que les particules de moins de 3  $\mu\text{m}$ .

## Les particules superficiellement poreuses donnent des performances similaires aux particules de moins de 2 $\mu\text{m}$

Cette courbe de Van Deemter montre que la Poroshell 120, une colonne à base de particules superficiellement poreuses de 2,7  $\mu\text{m}$ , possède une hauteur de plateau équivalente comparable à celle de colonnes à base de particules de 1,8  $\mu\text{m}$ .

- ◆ Agilent Poroshell 120 EC-C18, 3,0 x 100 mm, 2,7  $\mu\text{m}$  (USCFX01009) Réf. 695975-302
- ✕ Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 3,0 x 100 mm, 1,8  $\mu\text{m}$  (USUYB01455) Réf. 959964-302
- ★ Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 3,0 x 100 mm, 3,5  $\mu\text{m}$  (USUXV01435) Réf. 959961-302



# Constitution d'une particule Poroshell 120S

Afin de créer la meilleure colonne pour la séparation de petites molécules, nous avons complètement réinventé la technologie des particules poreuses en surface. En particulier, nous avons réduit le nombre d'étapes de fabrication pour assurer une uniformité maximale des particules et par conséquent la reproductibilité des analyses.

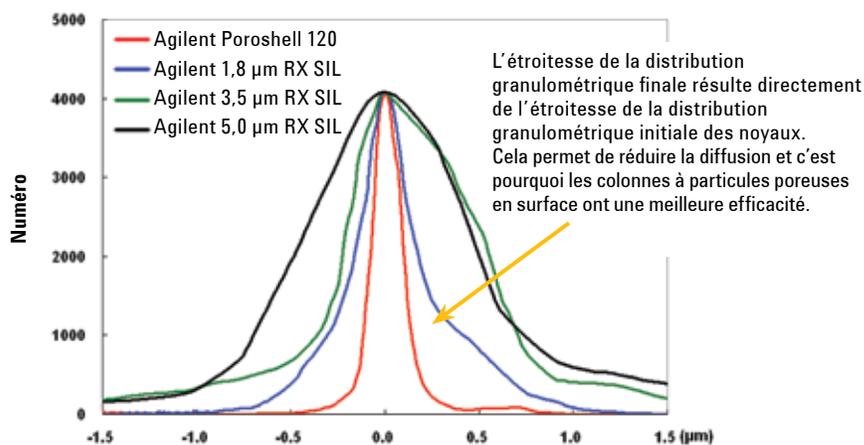
## ÉTAPE 1 Fabrication du noyau plein

Les noyaux des particules de la colonne Poroshell 120 ont une surface extrêmement lisse et une granulométrie uniforme de 1,7 µm. Cela contribue à resserrer la distribution de la granulométrie. En conséquence, la colonne bénéficie d'un remplissage plus serré et d'une plus grande efficacité que les colonnes à particules totalement poreuses.



## Comparaison de la distribution granulométrique entre colonnes à particules totalement poreuses et Poroshell 120

Ce graphique démontre que les colonnes Agilent Poroshell 120 ont la distribution granulométrique finale la plus étroite. C'est directement lié à l'étalement de la distribution granulométrique des noyaux.



## La mesure normalisée de la distribution granulométrique devrait présenter un rapport 90/10 inférieur à 1,5

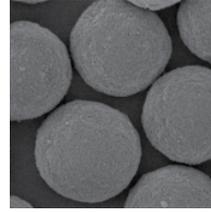
Comme on peut le voir sur le graphe ci-dessus, les particules ZORBAX totalement poreuses (1,8 µm, 3,5 µm et 5 µm) ont toutes une distribution granulométrique acceptable.

Cependant, la particule Poroshell 120 bénéficie d'un **resserrement de 25 % de la distribution granulométrique** ce qui améliore substantiellement l'efficacité de la colonne.

	Agilent Poroshell 120 (2,7 µm) LN B10006	Agilent ZORBAX 1,8 µm	Agilent ZORBAX 3,5 µm	Agilent ZORBAX 5,0 µm
10%	2,40 µm	1,67 µm	3,07 µm	4,59 µm
90%	2,85 µm	2,45 µm	4,44 µm	6,21 µm
Ratio 90 % / 10 %	1,16	1,47	1,45	1,35

## ÉTAPE 2 Application de la couche poreuse

Certains fabricants créent la coquille poreuse en appliquant des couches successives de particules. Agilent cependant **fabrique, la coquille externe en une seule étape** avec une technique similaire à la coacervation utilisée pour faire les colonnes ZORBAX classiques. Ce processus en une seule étape conduit à un meilleur rendement et à une meilleure reproductibilité d'une colonne à l'autre.

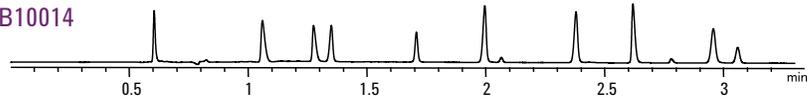


**Plus le processus de fabrication est simple, plus les caractéristiques des colonnes sont uniformes**

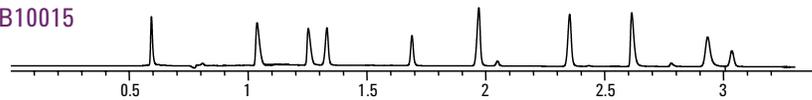
La coquille en une étape permet d'obtenir une colonne hautement reproductible comme le montre cette comparaison entre lots.

Agilent Poroshell 120 EC-C18, 4,6 x 100 mm, 2,7  $\mu\text{m}$   
Réf. 695975-902 – provenant de 4 lots différents

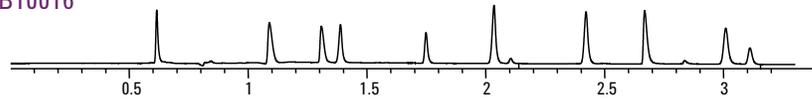
B10014



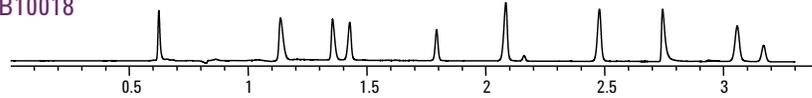
B10015



B10016



B10018



## ÉTAPE 3 Application de la phase greffée

Trois phases greffées sont disponibles :

- **Poroshell 120 EC-C18**, postsilanisée (endcapped) pour la meilleure forme de pics : cette phase greffée devrait être votre premier choix pour la plupart des séparations y compris les cartes peptidiques avec les phases mobiles compatibles avec la LC/MS.
- **Poroshell 120 SB-C18**, non postsilanisée pour plus de sélectivité : choisissez cette phase greffée pour ses meilleures performances et sa plus grande longévité à faible pH (pH 1 à 2).
- **Poroshell 120 EC-C8**, postsilanisée (endcapped) : comme notre phase greffée EC-C18, cette phase également greffée fournit une excellente forme de pics. Elle fait toutefois preuve d'une rétention plus faible pour les composés non polaires. (*disponible le 1<sup>er</sup> août 2010*)

### La différence de sélectivité des phases Agilent Poroshell 120 EC-C18 et Poroshell 120 SB-C18 permet d'optimiser les séparations

Phase mobile : 35 % H<sub>2</sub>O :65 % CH<sub>3</sub>CN

Débit : 1 ml/min

Temp. : 30 °C

Acquisition MS : Dynamic MRM

Composé	Précurseur Ion	Fragmenteur Voltage
Anandamide	(AEA) 348	135
Palmitoléthanolamide	(PEA) 300	135
2-arachidonoylglycérol	(2-AG) 379	135
Oléylethanolamide	(OEA) 326	135

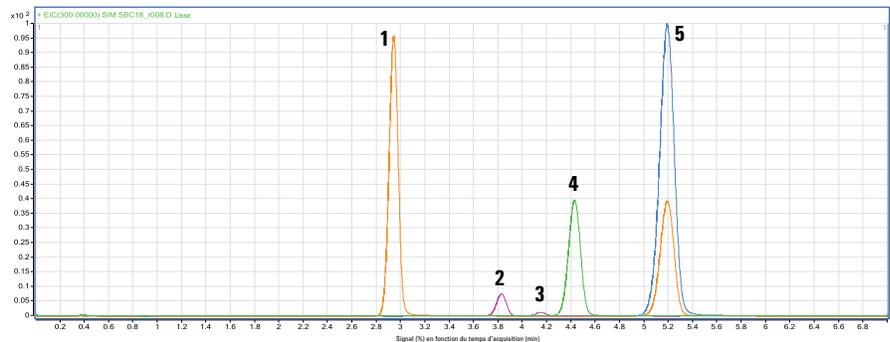
Source MS :

Température du gaz = 350 °C,  
Débit gazeux = 12 L/min,  
Nébuliseur = 40 psi,  
Capillaire = 4000 V

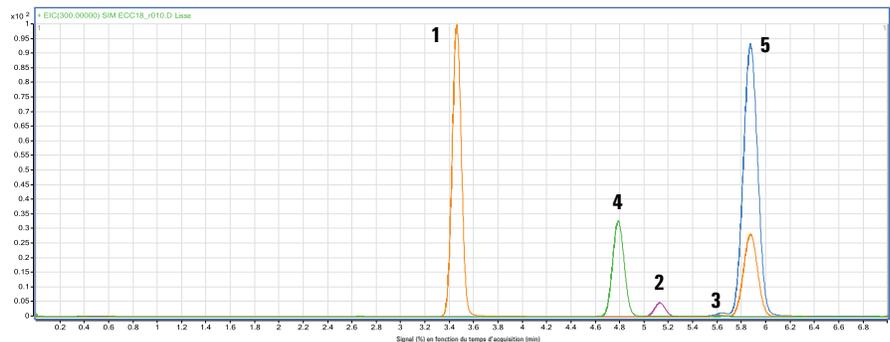
Analytes :

1. Anandamide (AEA)
2. 2-arachidonoylglycérol
3. Impureté
4. Palmitoléthanolamide (PEA)
5. Oléylethanolamide (OEA)

Agilent Poroshell 120 SB-C18 3,0 x 100 mm, 2,7 µm  
Réf. 685975-302



Agilent Poroshell 120 EC-C18 3,0 x 100 mm, 2,7 µm  
Réf. 695975-302



**La Poroshell 120 EC-C8 retient moins les composés non polaires ce qui accélère leur analyse**

Phase mobile : 60% CH<sub>3</sub>CN, 40% H<sub>2</sub>O

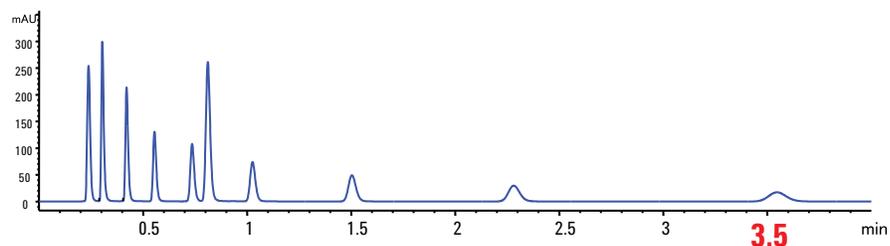
Débit : 0,85 ml/min

Température : 26 °C,

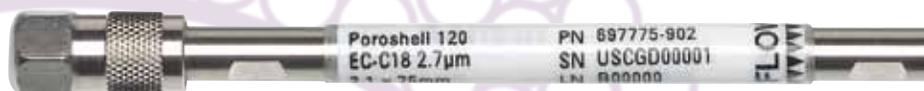
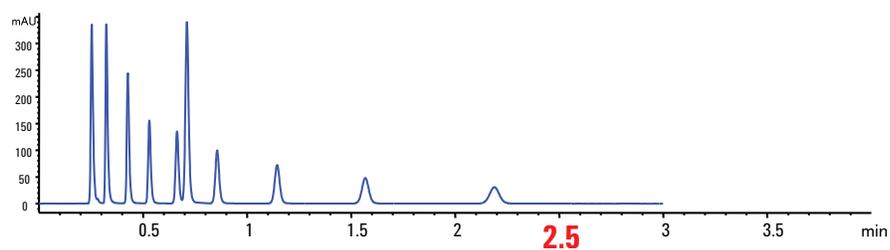
Détection : 254 nm

Échantillon : 2 µl d'échantillon de vérification RRLC (PN 5188-6529), alkyphénones

Poroshell 120 EC-C18, 3 x 50 mm, 2,7 µm  
Réf. 699975-302



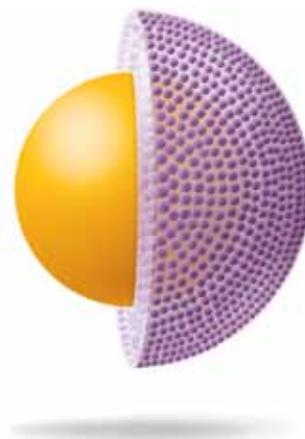
Poroshell 120 EC-C8, 3 x 50 mm, 2,7 µm  
Réf. 699975-306



Pour en savoir plus sur les colonnes Poroshell 120, rendez-vous sur [www.agilent.com/chem/poroshell120](http://www.agilent.com/chem/poroshell120)

Des performances du niveau de l'CLUHP  
en CLHP standard ?

**Avec la phase Poroshell 120,  
c'est accessible**



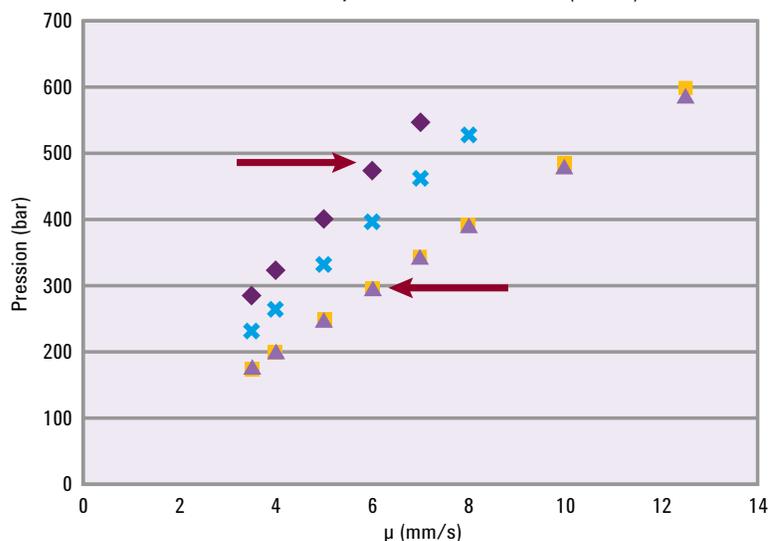
Avec les colonnes Poroshell 120, non seulement il est possible d'obtenir 80 à 90 % (ou plus) de l'efficacité que l'on peut attendre d'une colonne CLUHP de 2 µm de granulométrie, mais ce résultat peut être atteint à une pression classique de CLUHP (moins de 400 bars).

Cette capacité à effectuer des séparations rapides à faible pression peut augmenter notablement votre productivité en vous permettant d'analyser plus d'échantillons en moins de temps : vous utilisez les systèmes de CLHP existant de votre laboratoire comme l'exemple suivant le montre. En outre, la faculté de transférer votre méthode, de manière transparente sur un instrument Agilent 600 bars vous procurera un surcroît de productivité.

### Comparaison des particules superficiellement poreuses et des particules de moins de 2 µm

Que les particules soient superficiellement ou totalement poreuses, plus elles sont petites plus la contre-pression est élevée. Dans cette comparaison, la différence de pression entre les colonnes à particules de 1,8 µm et les colonnes à particules de 2,7 µm poreuses en surface est d'environ 40 % (voir les flèches rouges).

Pression avec phase acétonitrile/eau (60/40)



◆ Agilent Eclipse Plus C18,  
3,0 x 100 mm, 1,8 µm  
(USUYB01453)  
Réf. 959964-302

■ Agilent Poroshell 120 EC-C18,  
3,0 x 100 mm, 2,7 µm  
(USCFX01009)  
Réf. 695975-302

▲ Ascentis Express C18,  
3,0 x 100 mm, 2,7 µm  
(USKJ001754)

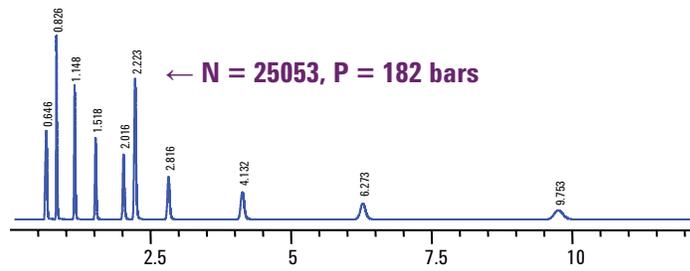
✕ Phenomenex Kinetex C18,  
4,6 x 100 mm, 2,6 µm  
(501268-43)

## Efficacité UHPLC à pression CLHP

Pour cet échantillon d'alkylphénones neutres, la colonne Poroshell 120 a fourni une efficacité supérieure à 90 % de l'efficacité obtenue avec la colonne 1,8 µm. Il est également à remarquer que la pression sur la colonne Poroshell 120 est la moitié environ de la pression sur la colonne 1,8 µm.

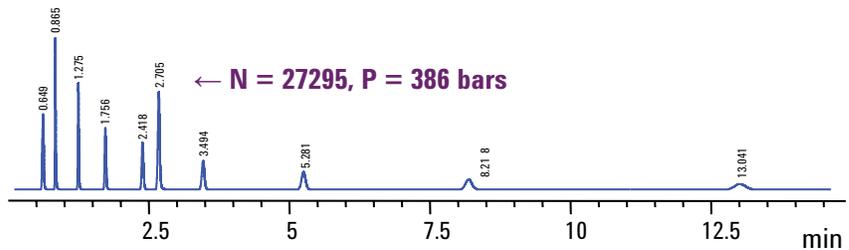
**Débit :** 0.58 ml/min  
**Phase mobile :** 60 % d'acétonitrile : 40% d'eau  
**Volume d'injection :** 4 µl  
**TCC:** 26 °C  
**Détection :** signal DAD : 254,4 nm  
 Réf : 360,100 nm  
**Échantillon :** Échantillon de vérification RRLC (réf. 5188-6529) chargé de 50 µl 2 de Thiourea à mg/ml dans un mélange eau/acétonitrile (65/35)

Agilent Poroshell 120 EC-C18, 3,0 x 100 mm, 2,7 µm  
 Réf. 695975-302



> 90 % de l'efficacité 1,8 µm

Agilent Eclipse Plus C18, 3,0 x 100 mm, 1,8 µm  
 Réf. 959964-302



## Choisissez les colonnes Agilent Poroshell 120 pour votre HPLC à haut rendement

Dans cette analyse des constituants de boissons sucrées, la colonne Poroshell 120 a permis d'obtenir :

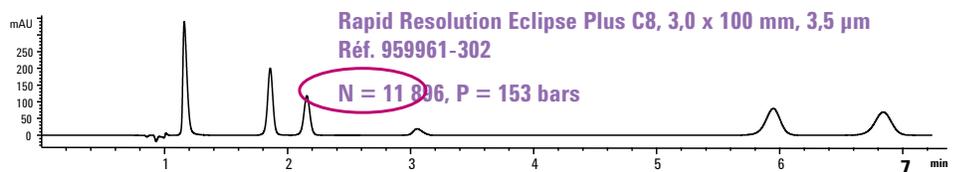
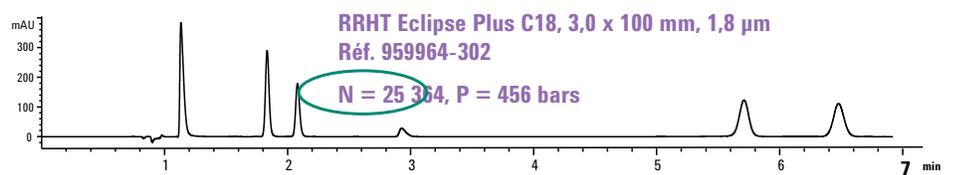
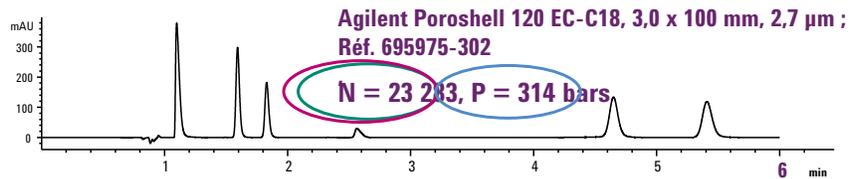
- plus de 90 % de l'efficacité et d'une colonne de granulométrie inférieure à 2 µm ou
- 2 fois l'efficacité d'une colonne de 3,5 µm.

La pression sur la colonne Poroshell 120 est inférieure à 400 bars tandis que la pression sur la colonne 1,8 µm est au-dessus de 400 bars. La faible contre-pression obtenue avec le méthanol comme phase mobile est particulièrement intéressante car le méthanol entraîne des pressions nettement supérieures à celles de l'acétonitrile.

**Colonnes :** 3,0 x 100 mm  
**Phase mobile :** 65 % A : 0,2 % d'acide formique  
 35 % B : Méthanol isocratique,  
 Débit 0,5 ml/min  
 Injection de 1 µl  
 26 °C, sig. = 220, 4 nm,  
 Réf. = Non

**Échantillon :**  
 1. Saccharine  
 2. Caféine  
 3. Acide p-hydroxybenzoïque  
 4. Aspartame  
 5. acide déhydroacétique  
 6. Acide benzoïque

> 90 % de l'efficacité des < 2 µm  
 2 fois l'efficacité des 3,5 µm  
 Pression CLHP (< 400 bar)



**Cette séparation CLHP de 12 phénols a été effectuée en à peine 5 minutes, à moins de 400 bar, sur une colonne Agilent Poroshell 120 EC-C18**

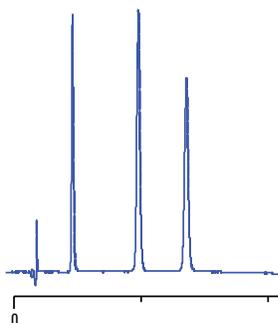
Observation importante : le débit est resté au-dessous de 2,5 ml/min. Chaque analyse a donc nécessité seulement 15 ml.

Columns: Agilent Poroshell 120 EC-C18, 4,6 x 50 mm, 2,7 µm  
PN 699975-902

Mobile Phase: Solvent A: Water with 0,1% Formic Acid  
Solvent B: Acetonitrile

Gradient: Time %B  
0,8 5%  
6,8 60%  
1200 SL controlled temperature at 25 °C 2 mm flow cell

**274 bar 2.5 ml/min**



Aux pressions de la CLHP, la phase Agilent Poroshell 120 fournit des séparations rapides à haute efficacité et haute résolution.

**Ici les mêmes 12 phénols ont été analysés avec une colonne Agilent Poroshell 120 EC-C18 plus longue (4,6 x 100 mm)**

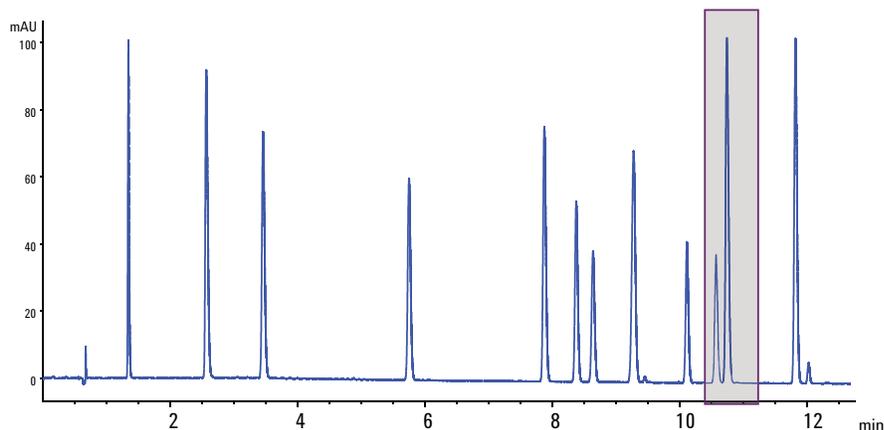
En réduisant le débit à 2,0 ml/min, nous avons pu conserver la pression à moins de 400 bars et améliorer la séparation d'un couple de pics élué tardivement (encadré) moyennant une faible augmentation de la durée d'analyse. Cette séparation a pu être obtenue en CLHP ou, au besoin avec un débit plus élevé en CLUHP.

Colonnes : Agilent Poroshell 120 EC-C18, 4,6 x 50 mm, 2,7 µm  
Réf. 699975-902

Phase mobile : solvant A : eau + acide formique à 0,1 %  
Solvant B : acétonitrile

Gradient: Temps %B  
2,0 5%  
17 60%  
1200 SL, régulation de température à 25 °C, cuve 2 mm

**274 bar à 2,5 ml/min**

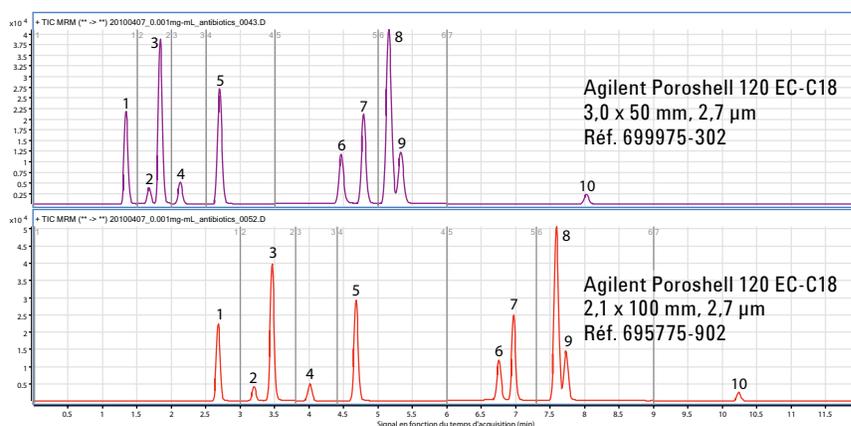


Échantillon :

- |                  |                        |
|------------------|------------------------|
| 1. Hydroquinone  | 7. o-crésol            |
| 2. Résorcinol    | 8. 2-nitrophénol       |
| 3. Catéchol      | 9. 3,4-diméthylphénol  |
| 4. Phénol        | 10. 2,3-diméthylphénol |
| 5. 4-nitrophénol | 11. 2,5-diméthylphénol |
| 6. p-crésol      | 12. 1-naptho           |

**Tirez un meilleur parti de vos systèmes CPL et CPL/SM : séparation d'antibiotiques sur colonne Agilent Poroshell 120 avec détection sur SM**

Grâce à la résolution élevée qu'elles permettent d'obtenir, les particules superficiellement poreuses des colonnes Agilent Poroshell 120 conviennent pour l'analyse d'échantillons complexes comme les mélanges d'antibiotiques.



Pour améliorer vos séparations en CPL/SM, nous proposons toute une gamme de dimensions pour les colonnes Poroshell 120.

Phase mobile : A : eau + formiate d'ammonium 10 mM, pH 3,8 (ajusté au moyen d'acide formique concentré)  
B : acétonitrile

Gradient : 10 % B à t<sub>0</sub>, montée à 40 % B en 12 min ;  
fin d'analyse à 12 min ;  
temps post analyse 4 min

Débit : 0,85 pour 3 x 50  
0,42 ml/min pour 2,1 x 100  
5 µl pour 3 x 5,0  
2,5 µl pour 2,1 x 100

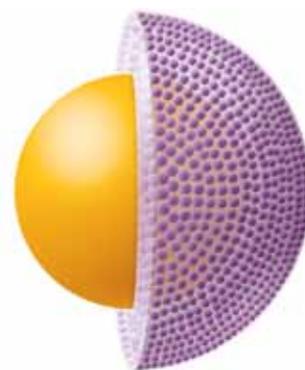
Échantillon : 1 mg/ml de chaque antibiotique  
TCC : 26 °C  
Détection : DAD sig = 270, 8 nm ;  
réf = non

Échantillon :

1. Sulfamérazine
2. Thiamphénicol
3. Sulfadimidine
4. Furazolidone
5. sulfamonométhoxine
6. Pyriméthamine
7. Acide oxolinique
8. Sulfadiméthoxine
9. Sulfaquinoxaline
10. Difurazone

Pour en savoir plus sur les colonnes Agilent Poroshell 120, rendez-vous sur [www.agilent.com/chem/poroshell120](http://www.agilent.com/chem/poroshell120)

## Les avantages des colonnes Poroshell 120 ne s'arrêtent pas aux seuls instruments de CLHP

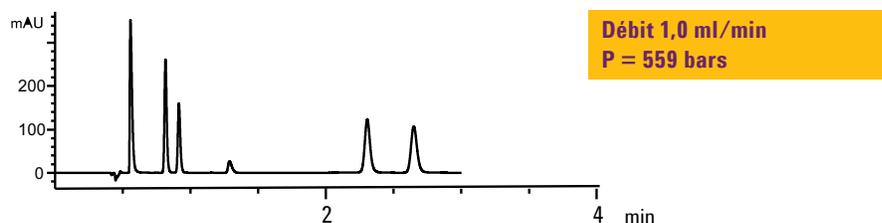
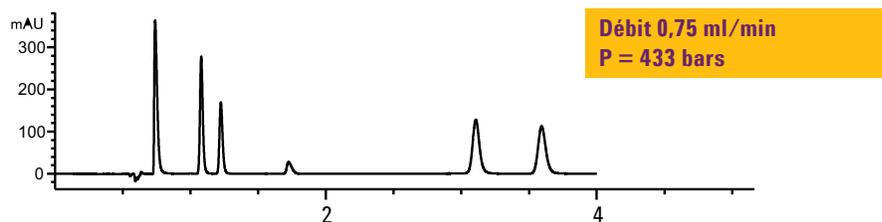
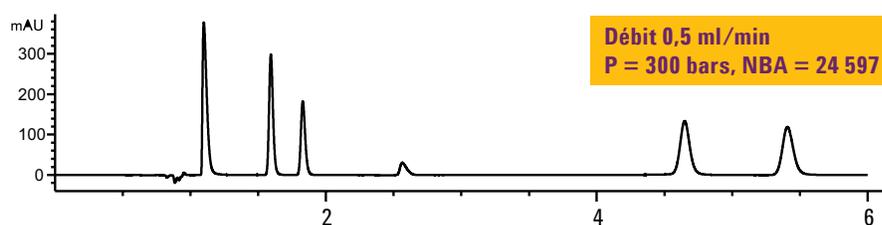


Étant donné que les colonnes Agilent Poroshell 120 ont une limite de pression de 600 bars, elles donneront de bons résultats avec vos méthodes CLUP, même avec de très longues colonnes, un débit élevé et des solvants à viscosité élevée.

### Agilent Poroshell 120 EC-C18

Cet exemple montre une séparation rapide à l'aide d'une phase mobile qui engendre une pression élevée. Pour le chromatogramme du haut, une colonne de 3,0 mm de d.i. a été utilisée à un débit de 0,5 ml/min et une pression inférieure à 400 bars. c'est une séparation type en CPL.

Bien que la séparation du haut soit rapide (à peine 6 minutes), les chromatogrammes du milieu et du bas montrent qu'il est possible de réduire le temps d'analyse à moins 3 minutes en augmentant le débit. Ces analyses plus rapides font monter la pression de 400 à 560 bars ; recherchez dans les mises à niveau flexibles de la série 1200 Infinity d'Agilent les options vous permettant de tirer parti des capacités CLUP.



Colonne : Agilent Poroshell 120 EC-C18,  
3,0 x 100 mm, 2,7 µm  
Réf. 695975-302

Phase mobile : 65 % A : 0,2 % d'acide formique  
35 % B : Méthanol  
Isocratique

Débit : Variable

Volume d'injection : 1 µl

TCC : 26 °C

Détection : sig = 220, 4 nm, réf = non

Échantillon :

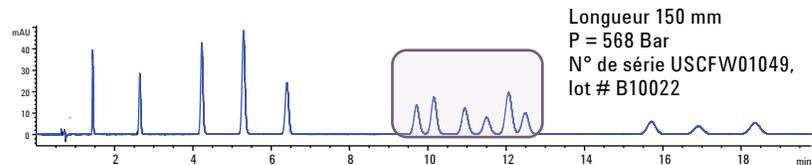
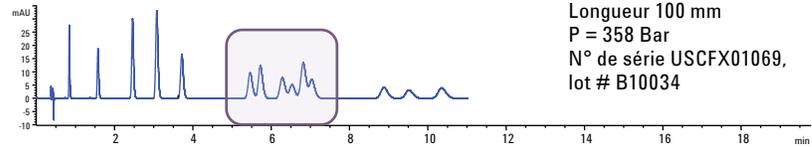
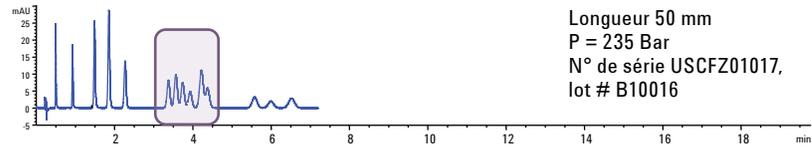
1. Saccharine
2. Caféine
3. Acide p-hydroxybenzoïque
4. Aspartame
5. acide déhydroacétique
6. Acide benzoïque

Des solvants plus visqueux, comme le méthanol, peuvent être utilisés aux pressions CLUP et CLUP.

## Comparaison de la séparation du mélange EPA 8330 sur Agilent Poroshell 120 pour CLHP et LUHP avec des colonnes courtes et longues.

Avec les Poroshell 120 vous avez la souplesse de choisir des colonnes plus longues pour augmenter la résolution. On peut voir ici que plus la colonne est longue, plus la résolution augmente de même que la pression (jusqu'à une pression LUHP pour la colonne la plus longue).

On notera que la résolution dépend de la longueur de la colonne, et non pas du lot de matériau utilisé pour la fabriquer : cela démontre que les colonnes ont des performances uniformes.



Quelle que soit la séparation, il est important de trouver le bon équilibre entre longueur de colonne, résolution et durée d'analyse.

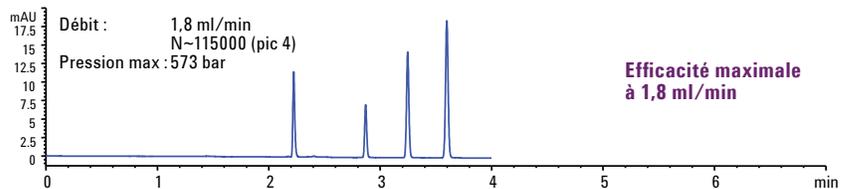
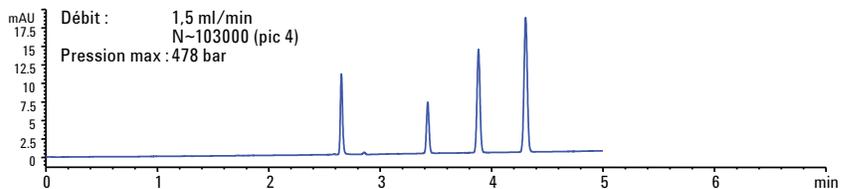
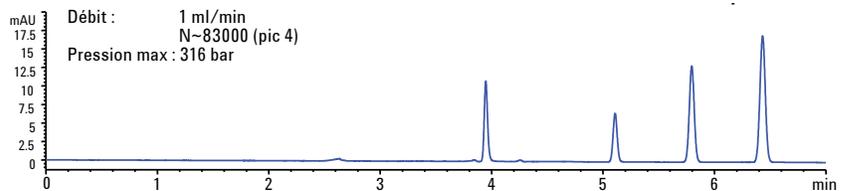
Colonnes : Poroshell 120 EC-C18, 2,7  $\mu$ m  
Phase mobile : 25 % de méthanol : 75 % d'eau  
Débit : 1 ml/min  
Température : 44 °C

## Montées en série, les colonnes Agilent Poroshell 120 sont d'une efficacité extrême aux pressions CLHP et LUHP

La faible contre-pression des colonnes Poroshell 120 est un avantage que l'on peut exploiter en couplant plusieurs colonnes en série pour obtenir un pouvoir de séparation par unité de temps extrêmement élevé. Cela permet d'effectuer de meilleure séparation pour les échantillons les plus complexes.

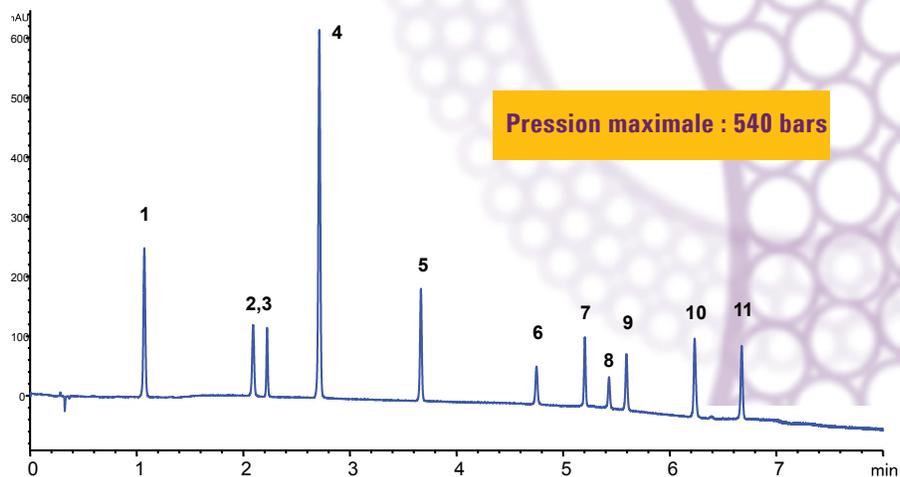
N° de pic	Composé	Plateaux	k'
2	Acétophénone	114120	0,29
3	Benzène	109931	0,46
4	Toluène	114800	0,65

3 colonnes Agilent Poroshell 120 EC-C18 en série pour une très haute efficacité : 4,6 x 150 mm, 2,7  $\mu$ m Réf. 693975-902



## Analyse rapide de 11 composés courants rencontrés dans les analgésiques sur colonne Poroshell 120 EC-C18

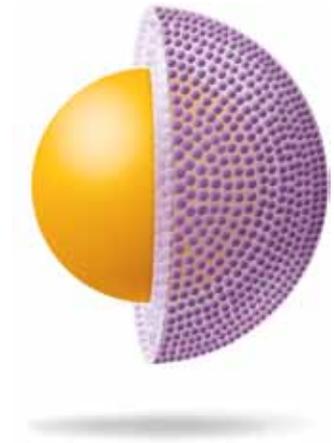
Ici nous avons utilisé un débit élevé pour accélérer la séparation de 11 composés analgésiques sur une colonne Poroshell 120.



Colonne :	Poroshell 120 EC-C18 4,6 x 100 mm, 2,7 µm Réf. 695975-902	1. Acétaminophène 2. Caféine 3. 2-acétamidophénol 4. Acétamide 5. Phénacétine 6. Sulindac 7. Piroxicam 8. Tolmétine 9. Cétoprofène 10. Diflusalnol 11. Diclofénac
Phase mobile :	A : eau + acide formique à 0,1 % B : AcN	
Débit :	0,85 ml/min	
Température :	40 °C	
Détection :	DAD 254 nm	
Vol. injecté :	5 µl	
Échantillon :		

Pour en savoir plus sur les colonnes Agilent Poroshell 120, rendez-vous sur [www.agilent.com/chem/poroshell120](http://www.agilent.com/chem/poroshell120)

## Transfert de méthodes complexes : **simplifié**



De nombreuses méthodes développées sur des colonnes C18 de 250 mm, 5  $\mu\text{m}$  peuvent être transposées à des colonnes Poroshell 120 plus courtes rapidement et facilement.

Sur les pages suivantes, nous vous montrons comment trois séparations, dont des méthodes USP, peuvent être reproduites sur des colonnes Poroshell 120. Elles sont en outre réalisées 3 à 5 fois plus vite que les mêmes séparations sur colonnes 5  $\mu\text{m}$ .



Exigences de la méthode :  $N > 4000$ ,  $R_s$  supérieur à 11,5

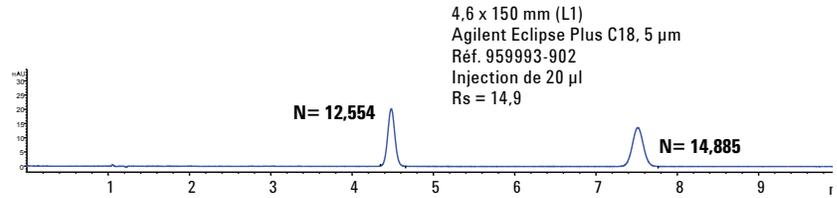
## Méthode USP pour les cachets de naproxène : analyse 4,5 fois plus rapide sur Agilent Poroshell 120 à pression CLHP

Cette séparation du naproxène démontre combien il est facile de convertir une méthode pour les colonnes Poroshell 120 sans changer le débit ni la phase mobile.

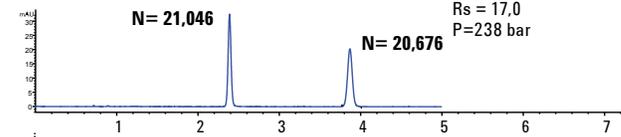
Le chromatogramme du haut montre une analyse USP sur une colonne Eclipse Plus C18 qui fournit des pics fins, trois fois l'efficacité nécessaire et une résolution de 15.

Sur le chromatogramme du milieu, la colonne Poroshell 120 EC-C18 (100 mm de long) fournit une efficacité et une résolution supérieure à une vitesse double de la méthode d'origine. La pression étant seulement de 238 bars, cette méthode isocratique est une très bonne option de CLHP.

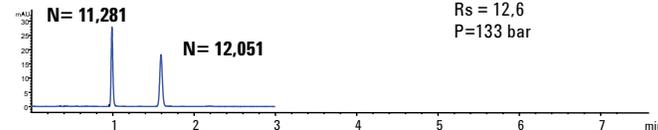
Sur le chromatogramme du bas, la colonne Poroshell 120 EC-C18 (50 mm de long) reste conforme aux exigences d'efficacité et de résolution, mais s'avère 4,5 fois plus rapide que la colonne 5  $\mu\text{m}$ . En outre, la pression de 133 Bars convient parfaitement en CLHP.



**2 fois plus rapide**



**4,5 fois plus rapide**



La phase Agilent Poroshell 120 est un excellent choix pour accélérer les méthodes aux pressions CLHP.

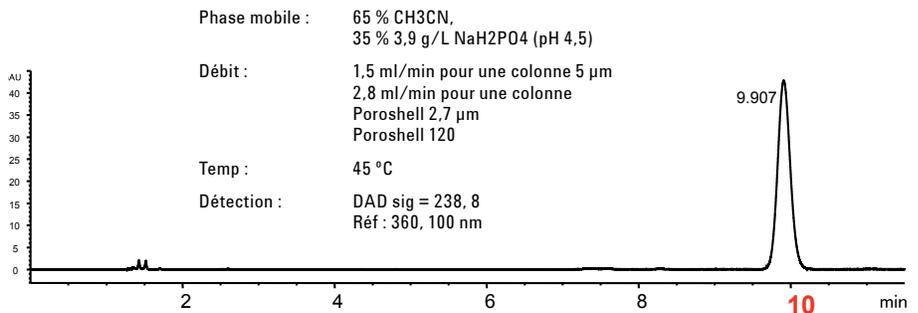
Conditions communes

Phase mobile : 50:49:1 MeCN:H2O Acide acétique      Échantillon : 1. Naproxène  
2. Butyrophénone  
Débit : 0,85 ml/min

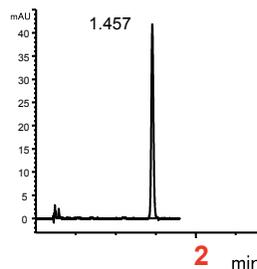
## Transférez les méthodes sur Poroshell 120 Columns pour des analyses plus rapides selon la méthode USP pour les cachets de simvastatine

Ici, une méthode USP de 10 minutes pour les cachets de simvastatine a été transférée facilement sur colonne Poroshell 120, avec un résultat 5 fois plus rapide. Remarquez qu'en employant une colonne Poroshell 120 EC-C18 de 75 mm de long à la place d'une colonne de 250 mm, nous avons la longueur de la colonne réduit de 70 %. Nous pouvons cependant considérer qu'il ne s'agit de d'un ajustement de méthode. La phase Poroshell 120 EC-C18 est très similaire aux autres phases USP L1, c'est pourquoi les résultats sont similaires mais plus rapides.

4,6 x 250 mm, 5  $\mu\text{m}$  Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 Réf. 959990-902



4,6 x 75 mm, 2,7  $\mu\text{m}$  Agilent Poroshell 120 EC-C18 réf. 697975-902



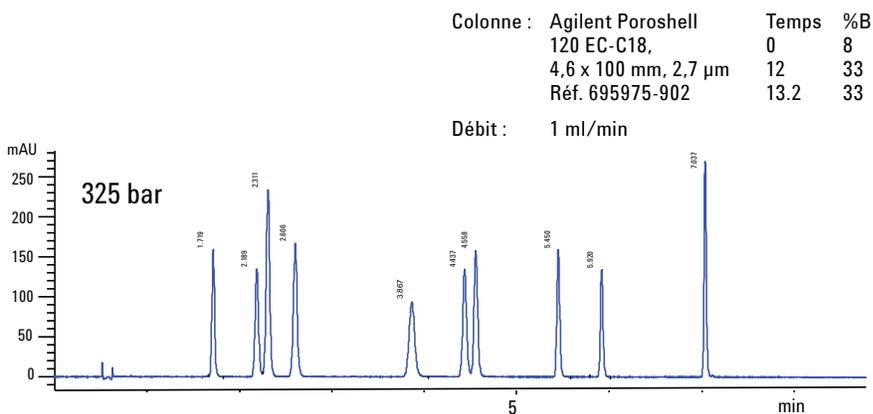
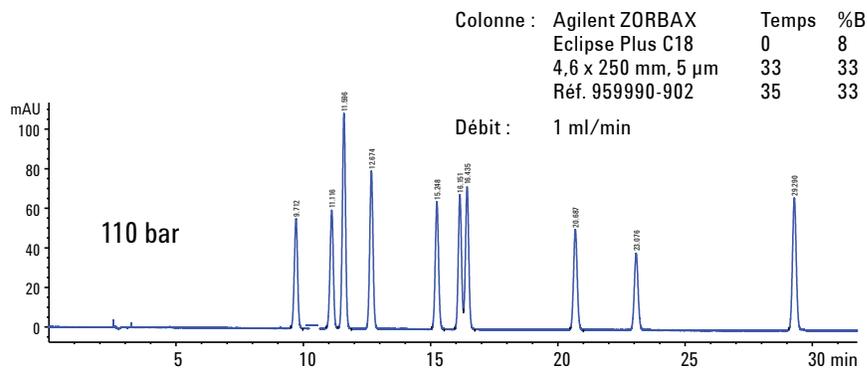
	Exigence USP	5 $\mu\text{m}$ (1,5 ml/min)	2,7 $\mu\text{m}$ (2,8 ml/min)
$T_R$	n/a	9,907	1,457
$k'$	> 3,0	5,962	5,122
N	> 4500	16939	14439
$T_f$	< 2,0	1,09	1,10

## Comparison des colonnes Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 4,6 x 250 mm, 5 µm et Agilent Poroshell 120 EC-C18 4,6 x 100 mm, 2,7 µm

Dans cet exemple, une méthode complexe a été transférée d'une colonne de 250 mm de long 5 µm à une colonne Poroshell 120 EC-C18 de 100 mm. Toutes les conditions sont par ailleurs identiques, sauf la durée du gradient : il est réduit pour la colonne plus courte.

Comme on peut le voir, les deux séparations sont identiques ; toutefois, le chromatogramme du bas a été produit en à peine sept minutes au lieu de 30 pour celui du haut. Une amélioration de productivité incroyable !

Il faut bien remarquer que les deux séparations ont été effectuées sur un instrument Agilent ancien, de la série 1100, ce qui prouve que même des méthodes en gradient peuvent être transférées tout en conservant une pression inférieure à 400 bars.



- |                   |                            |
|-------------------|----------------------------|
| 1. Sulfadiazine   | 6. Sulfaméthazole          |
| 2. Sulfathiazole  | 7. Sulfaméthoxyypyridazine |
| 3. Sulfapyridine  | 8. Sulfachloropyridazine   |
| 4. Sulfamérazine  | 9. Sulfaméthoxazole        |
| 5. Sulfaméthazine | 10. Sulfadiméthoxine       |

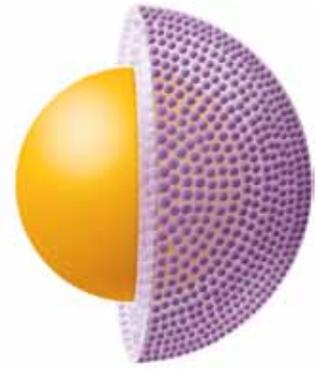
Phase mobile :  
A : eau à 0,1 % d'acide formique  
B : AcN à 0,1 % d'acide formique

Pour obtenir les meilleurs résultats, regardez notre démonstration vidéo pour apprendre à transférer une méthode Naproxène sur une colonne Poroshell 120 et à optimiser votre système LC.

Rendez-vous sur : [www.agilent.com/chem/poroshell120video](http://www.agilent.com/chem/poroshell120video)



## Poroshell 120 : un puissant moyen de résoudre les problèmes quotidiens



### Un fritté de 2 µm qui résiste aux échantillons les moins propres

Les particules de moins de 2 µm possèdent des avantages importants en termes de vitesse et de résolution. Elles sont toutefois sujettes au colmatage avec les échantillons non purifiés car un fritté de 0,5 µm doit être utilisé à l'entrée de la colonne. Les colonnes Poroshell 120 permettent de résoudre ce problème avec un fritté standard de 2 µm qui résiste au colmatage même avec les échantillons « sales », par exemple un plasma non filtré.

### La charge en composés basiques de l'échantillon sur les colonnes Poroshell 120 est comparable à celle des colonnes de moins de 2 µm

Les petites particules non poreuses ont une faible surface susceptible d'interagir avec l'échantillon. Elles sont limitées dans leur capacité de charge en échantillon. Les colonnes Poroshell 120 disposent toutefois par conception d'une plus grande surface et, par conséquent, d'une plus grande capacité de charge. En fait, la capacité de charge des colonnes Poroshell 120 est comparable à celle des colonnes 1,8 µm, même pour les composés basiques les plus difficiles.

### La forme de pics dont vous avez besoin pour obtenir les résultats les plus justes

Par comparaison aux autres colonnes superficiellement poreuses, les colonnes Poroshell 120 fournissent une forme de pics exceptionnelle, en particulier à pH 6 à 7.

### Les systèmes CPL Agilent séries 1100 et 1200 peuvent facilement être optimisés pour les colonnes Poroshell 120

Les propriétés intrinsèques des colonnes Poroshell 120 en font des colonnes idéales pour la plupart des instruments de CPL et CLUHP, dont les nouveaux CPL série 1200 Infinity. Pour obtenir des résultats supérieurs à plus faible pression et avec une meilleure efficacité sur les systèmes CPL des séries 1100 et 1200, seules des modifications mineures de configuration(s) sont nécessaires (débit, longueur et diamètre des capillaires de liaison, volume de la cuve et réglage de largeur de pic du détecteur).



## Avec un fritté de 2 µm, la phase Agilent Poroshell 120 est réfractaire au colmatage

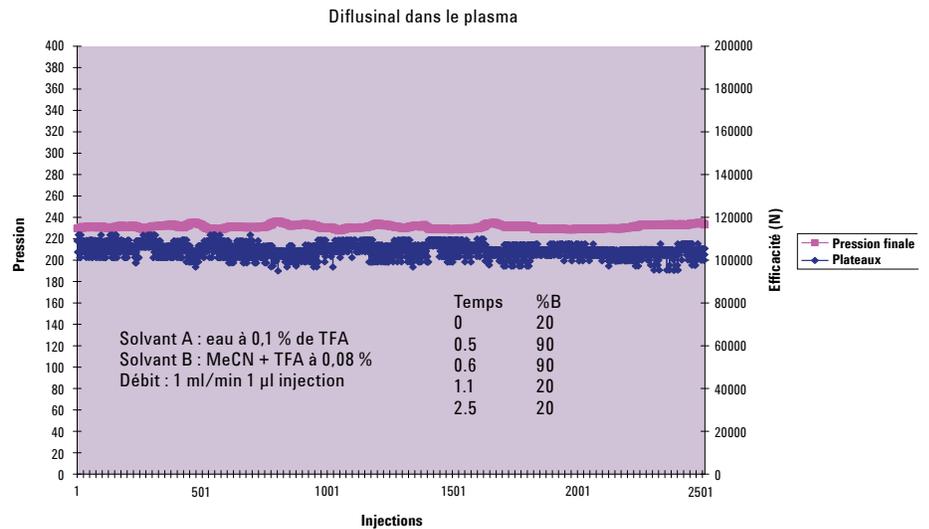
Même les échantillons dits « sales » comme les plasmas non filtrés, les colonnes Poroshell 120 font preuve d'une grande résistance au colmatage. Ici, nous avons précipité des protéines sans centrifuger ni filtrer l'échantillon. Même dans ces conditions, la pression n'a pas augmenté malgré 2500 injections.

Colonne : Agilent Poroshell 120 EC-C18,  
3,0 x 50 mm, 2,7 µm  
Réf. 699975-302

Instrument : Agilent 1200 RRLC (SL)

Échantillon : Plasma précipité :  
2 parties 7 parties  
20/80 eau-MeCN à 0,1 %  
Acide formique avec 1 partie de  
diflusinal dans un mélange 50/50  
d'eau-MeCN à 10 µg/ml  
(concentration finale du diflusinal :  
1 µg/ml)  
Non centrifugé / non filtré

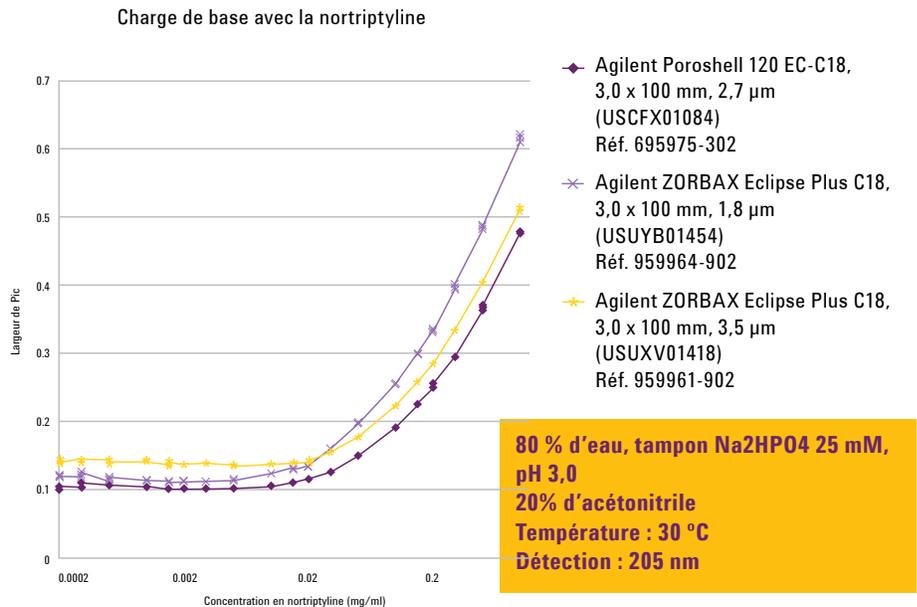
Volume  
d'injection : 1 µl



## Travaillez avec une charge d'échantillon comparable à celle des particules totalement poreuses

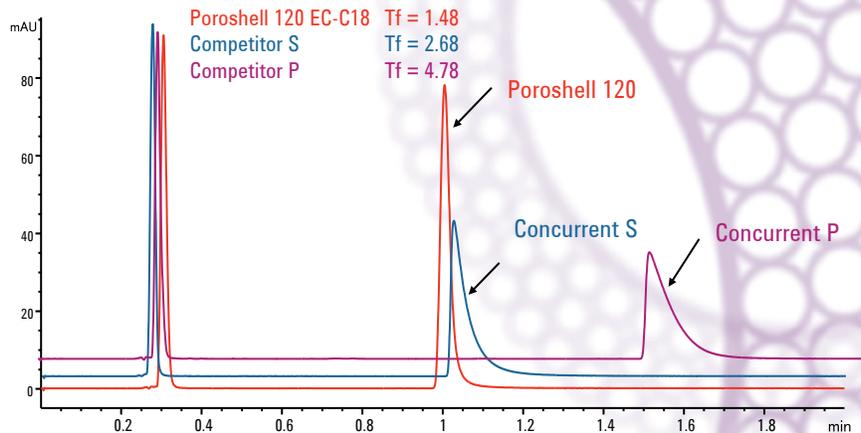
Dans cet exemple, nous avons chargé de la nortriptyline (un composé basique) sur différentes colonnes d'Agilent et d'autres fabricants. On remarque que la colonne Poroshell 120 2,7 µm a la même capacité de charge qu'une colonne d'1,8 µm et que la colonne de 3,5 µm possède au départ une largeur de pics supérieure ce qui peut compromettre la résolution.

Pour ces colonnes, nous avons utilisé des charges typiques afin de prouver que les Poroshell 120 peuvent être utilisées en toute confiance pour la séparation de composés basiques.



## Les colonnes Poroshell 120 fournissent une forme de pics supérieure pour de meilleurs résultats d'analyses des composés basiques

Voici une autre séparation de composés basiques prouvant à quel point les colonnes Poroshell 120 surpassent leurs concurrentes sur des analyses difficiles.



Colonnes : 4,6 x 50 mm  
Réf. 699975-902

Phase mobile : 40 % d'eau, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 20 mM,  
pH 7,00  
60% d'acétonitrile

Débit : 1,5 ml/min

Échantillon : injection de 2 µl d'amitriptyline  
à 250 µg/ml / uracil à 50 µg/ml  
dans H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN (9:1)

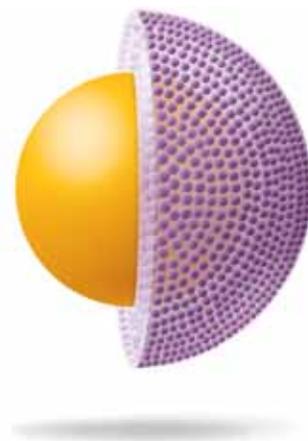
Temp : 24 °C

Détecteur : DAD 254 nm, cuve 2 µl



Pour en savoir plus sur les colonnes Poroshell 120, rendez-vous sur [www.agilent.com/chem/poroshell120](http://www.agilent.com/chem/poroshell120)

## Séparations rapides et sûres des protéines et des peptides

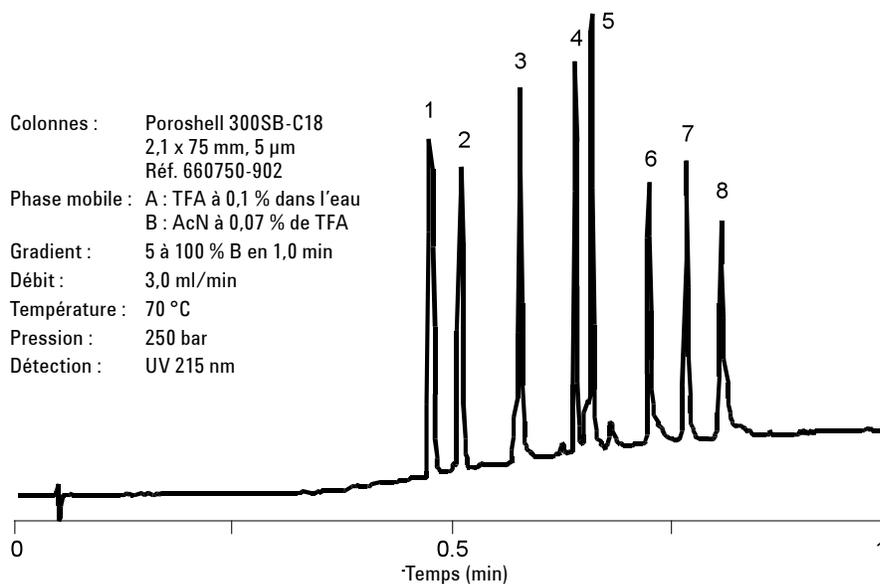


Les colonnes Poroshell sont le choix idéal pour séparer et caractériser les biomolécules complexes dont les protéines intactes et digérées. Les colonnes Poroshell 300 sont le meilleur choix pour l'analyse rapide de protéines intactes. Les colonnes Poroshell 120 sont bien adaptées pour établir les cartes peptidiques, car elles fournissent une haute résolution avec des durées d'analyse beaucoup plus courtes que les colonnes standard de 5 µm.

### Débits élevés avec les Poroshell de 2,1 mm de d.i. pour des séparations rapides et à haute résolution

Avec leurs ports de plus grande taille, les colonnes Poroshell 300 constituent un choix fiable pour la séparation rapide de protéines intactes. La séparation illustrée ici a duré moins d'une minute.

Avec le transfert de masse rapide des particules poreuses en surface, les colonnes Poroshell 300 sont les meilleures colonnes pour la séparation extrêmement rapide et à haute efficacité des protéines et des peptides.



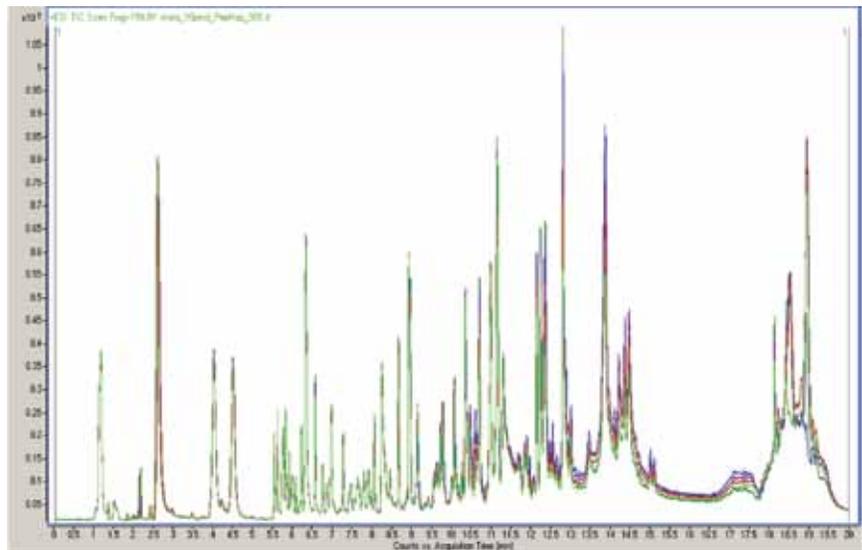
Échantillon :

1. Angiotensine II
2. Neurotensine
3. Rnase
4. Insuline

5. Lysozyme
6. Myoglobine
7. Anhydrase carbonique
8. Ovalbumine

## Analyse de 5 réplicats de carte peptidique de tryptique mAb sur colonne Poroshell 120

Dans cet exemple, la carte peptidique d'un anticorps monoclonal a été produite en utilisant une colonne Poroshell 120. On remarquera la haute résolution et la haute reproductibilité des résultats obtenus.

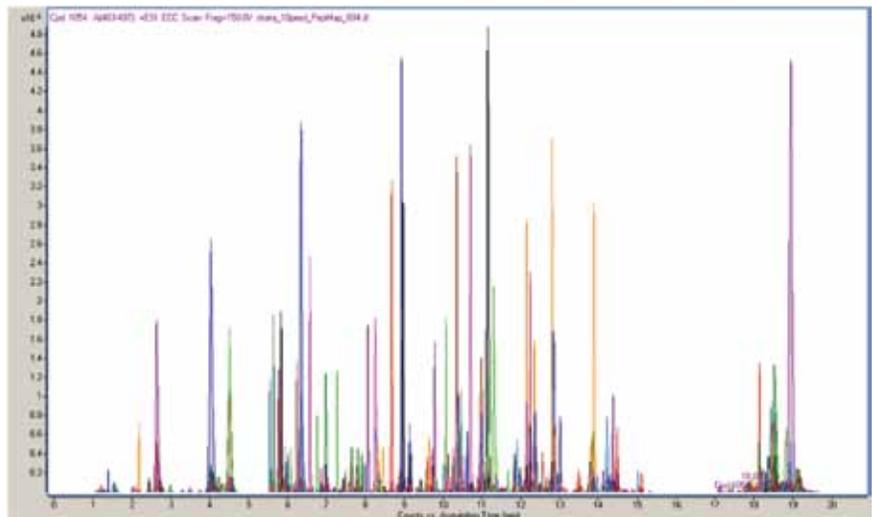


## Carte peptidique de Trypsin mAb obtenues avec l'extracteur de motifs moléculaires Bioconfirm de Stratagene

En utilisant le BioConfirm Molecular Feature Extractor, nous pouvons démontrer une couverture de séquence de 100 %, à la fois *sur les chaînes légères et lourdes* de l'anticorps monoclonal.

### QTOF Instrument Parameters

Source – ESI positive  
 Température de gaz : 325 °C  
 Gaz de dessiccation : 10 l/min  
 Nébuliseur : 40 psi (2,8 bar)  
 Vcap : 4 000V  
 Fragmenteur : 150V  
 Cône d'échantillonnage (skimmer) : 65V  
 Octopôle 1 RF : 750V  
 MS : 4 Hz  
 Gamme de masse : 200 à 3200 m/z  
 Masse de référence : 922.009798  
 Mode d'acquisition : gamme dynamique étendue (2 GHz)



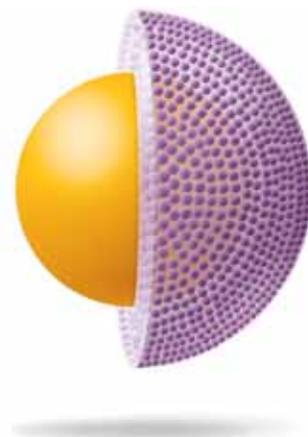
Paramètres CLHP de la colonne Poroshell 120 SB-C18  
 3,0 x 150 mm, 2,7 µm

Colonne :	Poroshell 120 SB-C18	Temps	%B	Temps	%B
	3,0 x 150 mm, 2,7 µm	0	2	15,1	90
	Réf. 683975-302	3	2	17	90
Débit :	0,85 ml/min	13	45	18	2
Température de colonne :	40 °C	15	65		
Phase mobile :	A : eau + acide formique à 0,1 %				
Phase mobile :	B : AcN + acide formique à 0,1 %				
Gradient :	indiqué par le tableau				
Détection :	QTOF, ESI positive				

Pour en savoir plus sur les colonnes Agilent Poroshell 120, rendez-vous sur [www.agilent.com/chem/poroshell120](http://www.agilent.com/chem/poroshell120)

# Poussez les performances de votre CLUHP à l'infini

et exploitez vos méthodes  
classiques en toute confiance



Que vous ayez besoin d'un instrument de CPL de routine ou du système CPL/SM à haute résolution le plus sophistiqué, la série Agilent 1200 Infinity propose ce que vous recherchez.

Associés aux colonnes Poroshell 120, nos systèmes CPL série 1200 Infinity fournissent une résolution et une sensibilité extrêmes tout en vous aidant à décupler votre capacité horaire de séparation. Ils assurent également la transférabilité des méthodes entre systèmes, sans redéveloppement ni revalidation.



**1220**  
Infinity LC



**1260**  
Infinity LC



**1290**  
Infinity LC



### CPL Agilent 1290 Infinity : infiniment plus puissant

Avec le CPL Agilent 1290 Infinity, plus rien ne limite votre choix de dimensions de colonnes, de types de particules, de phases mobiles et stationnaires, de débits et de pressions. C'est parce que le CPL 1290 Infinity est le premier système qui fournit les bases du transfert de méthodes d'un système (CLHP ou CLUHP, d'Agilent ou d'un autre fournisseur) à un autre et vice versa. Vous obtenez en même temps la sûreté associée à :

- **les performances les plus élevées *quel que soit le type de mesure*** avec grâce à des caractéristiques comme l'amortissement actif, le mélange microfluidique et la technologie de détection à guide d'onde optofluidique ;
- **la plus grande souplesse** pour la CLHP, la RRLC, et l'CLUHP ;
- **la productivité de l'CLUHP** au coût d'entretien de la CLHP.



### CPL Agilent 1260 Infinity : infiniment plus de confiance

Enfin le système CPL qui répond à votre besoin en termes de performances chromatographiques tout en s'accordant à vos contraintes budgétaires. Vous avez toutes les raisons de faire confiance au CPL Agilent 1260 Infinity :

- **il élève la norme en CLHP analytique** avec une pression de 600 bars, un détecteur très rapide à 80 Hz, et une sensibilité augmentée d'un facteur pouvant atteindre 10 ;
- **il est 100 % compatible** avec la CLHP et la RRLC ;
- **il offre les performances RRLC** au prix de la CLHP ;
- **il est livré avec une colonne Poroshell 120.**



### CPL Agilent 1220 Infinity : infiniment plus abordable

Une solution abordable de haute qualité, avec une disponibilité maximale et une maintenance minimale. Elle est capable d'engendrer le retour sur investissement le plus élevé. Ses caractéristiques sont les suivantes :

- **qualité Agilent**, prix très abordable ;
- **compatibilité CLHP et RRLC** ; 600 bar et détecteur très rapide à 80 Hz ;
- **conception intégrée** : robuste et facile à utiliser.

Pour comprendre pourquoi Agilent's 1200 Infinity Series est infiniment mieux, voir : [www.agilent.com/chem/infinity](http://www.agilent.com/chem/infinity)

Ce tableau est conçu pour vous aider à déterminer quelle colonne correspond le mieux à vos besoins en fonction des paramètres les plus importants pour votre application.

	Analyse rapide	Haute Rs (N)	Capacité CPL 400 bars (1100, 1200, 1200 RRLC, 1120 Compact, 1220 Infinity LC, 1260 Infinity LC)	Capacité CPL 600 bars (1200 RRLC, 1220 Infinity LC, 1260 Infinity LC)	Capacité CPL 1000+ bars (1290 Infinity LC)	Transposabilité de granulométrie 1,8, 3,5 µm etc.	D.I. de 4,6, 3,0 & 2,1 mm	Échantillons « sales »
Agilent Poroshell 120, 600 bars	✓	✓	✓	✓	✓	✗ seulement 2,7 µm	✓	✓
Agilent RRHT, 600 bars	✓	✓	✓ < 50 mm	✓	✓	✓	✓	✓
Agilent RRHD, 1200 bars	✓	✓	✗	✓	✓	✓	✗ 3,0 & 2,1 mm	✓

### Caractéristiques des phases greffées Agilent Poroshell 120

Phase greffée	Dia. de pore	Temp. limite	Gamme de pH	Post-silanisation	Taux de carbone
SB-C18	120Å	90 °C	1,0-8,0	No	7,5%
EC-C18	120Å	60 °C	2,0-8,0	Simple	8%
EC-C8	120Å	60 °C	2,0-8,0	Simple	5%

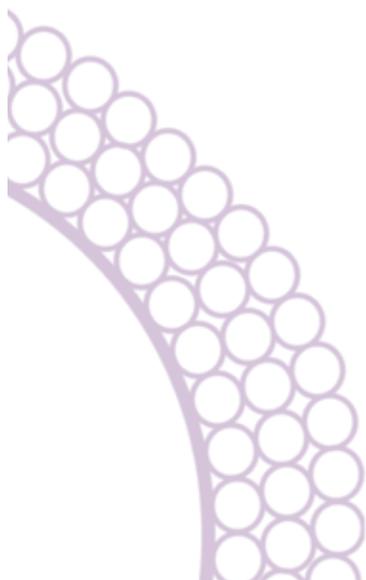
Disponible le 1<sup>er</sup> août 2010

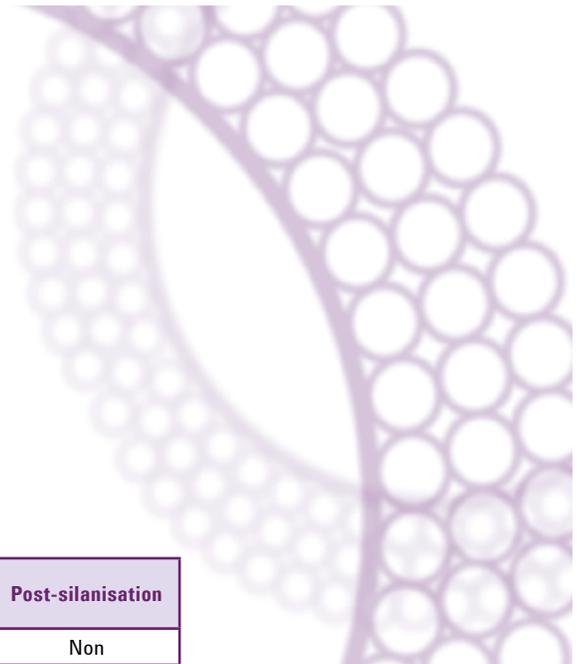
Les spécifications ne représentent que des valeurs types.

### Références des colonnes Agilent Poroshell 120

Dimensions	Granulométrie	SB-C18	EC-C18	EC-C8
4,6 x 150 mm	2,7 µm	683975-902	693975-902	693975-906
4,6 x 100 mm	2,7 µm	685975-902	695975-902	695975-906
4,6 x 75 mm	2,7 µm	687975-902	697975-902	697975-906
4,6 x 50 mm	2,7 µm	689975-902	699975-902	699975-906
4,6 x 30 mm	2,7 µm	681975-902	691975-902	691975-906
3,0 x 150 mm	2,7 µm	683975-302	693975-302	693975-306
3,0 x 100 mm	2,7 µm	685975-302	695975-302	695975-306
3,0 x 75 mm	2,7 µm	687975-302	697975-302	697975-306
3,0 x 50 mm	2,7 µm	689975-302	699975-302	699975-306
3,0 x 30 mm	2,7 µm	681975-302	691975-302	691975-306
2,1 x 150 mm	2,7 µm	683775-902	693775-902	693775-906
2,1 x 100 mm	2,7 µm	685775-902	695775-902	695775-906
2,1 x 75 mm	2,7 µm	687775-902	697775-902	697775-906
2,1 x 50 mm	2,7 µm	689775-902	699775-902	699775-906
2,1 x 30 mm	2,7 µm	681775-902	691775-902	691775-906

Remarque : Les colonnes Poroshell 120 ont une pression limite de 600 bar (9000 psi).





## Caractéristiques des phases greffées Agilent Poroshell 300

Phase greffée	Dia. de pore	Temp. limite	Gamme de pH	Post-silanisation
Poroshell 300SB-C18, C8, C3	300Å	90 °C	1,0-8,0	Non
Poroshell 300Extend	300Å	40 °C au-dessus de pH 8 60 °C au-dessus de pH 8	2,0-11,0	Oui

Les spécifications ne représentent que des valeurs types.

## Références des colonnes Agilent Poroshell 300

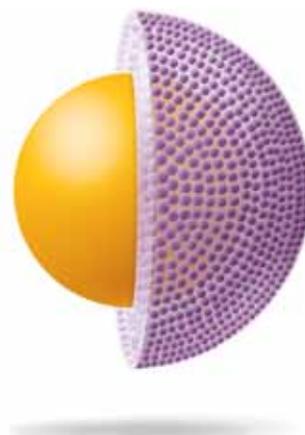
Caractéristiques	Dim. (mm)	Granulométrie (µm)	Agilent Poroshell 300SB-C18	Agilent Poroshell 300SB-C8	Agilent Poroshell 300SB-C3	Agilent Poroshell 300Extend-C18
Petit diamètre	2,1 x 75	5	660750-902	660750-906	660750-909	970750-902
Microcolonne	1,0 x 75	5	661750-902	661750-906	661750-909	971750-902
Capillaire	0,5 x 75	5		5065-4468		
Cartouche de garde, 4/pqt	2,1 x 12,5	5	821075-920	821075-918	821075-924	
Kit de montage pour cartouche de garde			820888-901	820888-901	820888-901	
Cartouche de garde pour microcolonne, 3/pqt	1,0 x 17	5	5185-5968	5185-5968	5185-5968	5185-5968

Remarque : Les colonnes Poroshell 300 ont une pression limite de 400 bar (6000 psi).





## Colonnes Poroshell 120 : elles perpétuent la tradition de performance, d'expertise et de valeur ajoutée



En tant que membre de la famille des colonnes Agilent pour la CLHP, les Poroshell 120 vous offrent plus que de la simple fiabilité. Vous obtenez également plus de 40 ans d'expertise en chromatographie et une garantie de 90 jours à partir de la date d'expédition

En outre, Agilent est le seul fournisseur de chromatographie qui vous donne un double choix de phases inverses pour la séparation de vos biomolécules : les colonnes Poroshell 120 et Poroshell 300.

**Avec l'acquisition en 2010 de Varian Inc.**, Agilent propose maintenant une gamme encore plus large d'instrumentation et le catalogue de colonnes et de consommables le plus vaste du marché. Agilent s'engage à fournir la technologie dont vous avez besoin pour réussir et entend rester l'étalon de votre confiance.

Pour plus d'informations

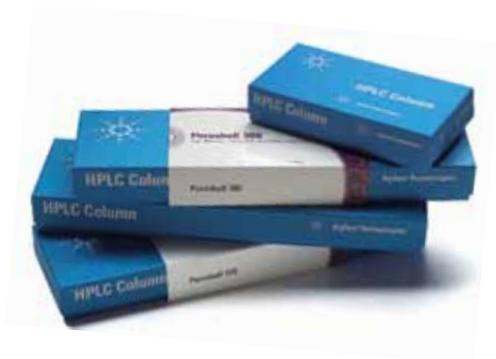
Pour en savoir plus sur les colonnes Poroshell 120, rendez-vous sur  
[www.agilent.com/chem/poroshell120](http://www.agilent.com/chem/poroshell120)

Aux États-Unis et au Canada, appelez le numéro vert : **1-800-227-9770**,  
option 3, puis de nouveau option 3

Dans les autres pays, prenez contact avec notre filiale de vente Agilent Technologies  
locale ou un agent agréé Agilent Technologies :

[www.agilent.com/chem/contactus](http://www.agilent.com/chem/contactus)

Vous trouverez des notes d'application sur  
[www.agilent.com/chem/poroshell120appnotes](http://www.agilent.com/chem/poroshell120appnotes)



Les informations, descriptions, et caractéristiques figurant dans cette publication peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2010  
Imprimé aux États-Unis le 16 juillet 2010  
5990-5951FR

The Measure of Confidence



**Agilent Technologies**