

Colonnes de garde Ascentis Express® : une protection efficace et efficace pour toutes les colonnes HPLC et UHPLC

Craig Aurand
craig.aurand@sial.com

Le nouveau système de cartouche de garde Ascentis Express améliore significativement la durée de vie de toutes les colonnes HPLC, notamment les colonnes à particules classiques, les colonnes UHPLC à particules de taille inférieure à 2 µm et les nouvelles technologies de particules superficiellement poreuses, sans sacrifier la résolution ou le rendement. Cette efficacité permet de les utiliser comme colonnes analytiques, en les connectant directement à une interface de MS.

Il est important de protéger toutes les colonnes HPLC

Nous recommandons d'utiliser des colonnes de garde pour protéger vos colonnes HPLC. La colonne de garde prolonge la durée de vie de ces colonnes en fournissant une protection chimique et mécanique contre les contaminants qui entrent dans le système par le biais des échantillons, de la phase mobile et de l'usure des instruments. La conception idéale de cette colonne de garde assure cette protection sans sacrifier la performance ou le rendement.

Pourquoi les colonnes HPLC à particules inférieures à 2 µm s'encrassent facilement

Les avancées significatives récentes en HPLC ont évolué autour des nouvelles technologies de particules et des nouvelles instrumentations. Les particules inférieures à 2 µm ou les particules de UHPLC ont constitué un point de mire particulier au cours de la dernière décennie du fait des hautes efficacités de colonne et des séparations rapides obtenues grâce à elles. Bien que les avantages des particules inférieures à 2 µm aient été largement supplantés par la technologie de particule Fused-Core™ de la colonne Ascentis Express, ces types de particules sont toujours assez fréquemment rencontrés. En revanche, nombreux sont les utilisateurs qui ont trouvé qu'un inconvénient significatif des particules inférieures à 2 µm est leur tendance à s'encrasser, ce qui entraîne une augmentation de la pression et une perte de résolution. La large distribution de tailles des particules inférieures à 2 µm nécessite des frittes de 0,5 µm ; c'est pourquoi les colonnes UHPLC s'encrassent avec autant d'aisance.

Nouvelle colonne de garde HPLC Ascentis Express

Les utilisateurs de toutes les colonnes HPLC, qu'elles soient remplies de particules HPLC classiques, des particules UHPLC inférieures à 2 µm dont nous avons parlé plus haut, ou des particules Fused-Core de la colonne Ascentis Express ou d'autres particules superficiellement poreuses, peuvent parvenir à des améliorations significatives en termes de durée de vie de leurs colonnes sans sacrifier la résolution ou le rendement, s'ils utilisent les nouvelles colonnes de garde Ascentis Express. En termes de plateaux théoriques par mètre (N/m), ces colonnes donnent des valeurs comparables à celles obtenues avec les colonnes analytiques Ascentis Express, tout en ajoutant seulement quelques secondes au temps d'analyse.

Leur efficacité est évidente aussi bien pour protéger les colonnes que dans leurs performances à titre de colonne à part entière

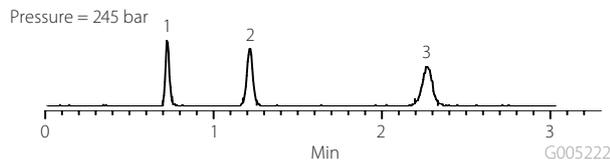
Les performances des colonnes de garde Ascentis Express sont démontrées sur la Figure 1. La méthadone et deux de ses métabolites ont été séparés sur une colonne analytique Ascentis Express de 5 cm par 2,1 mm de D.I.

Figure 1. Protection efficace et efficace des colonnes grâce aux colonnes de garde Ascentis Express

column: Ascentis Express RP-Amide, 5 cm x 2.1 mm ID,
2.7 µm particles (53911-U)
guard column: Ascentis Express RP-Amide Guard, 0.5 cm x 2.1 mm ID,
2.7 µm particles (53514-U)
mobile phase A: 10 mM ammonium formate, pH 3.6
mobile phase B: acetonitrile
mobile phase ratio: 70:30 A:B
flow rate: 0.6 mL/min
temp.: ambient
det.: MS ESI(+)-TOF, 3.0 spectra/second, 3089 transients/scan
injection: 1 µL
sample: 200 ng/mL each in mobile phase A
(EDDP is 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine;
EMDP is 2-ethyl-5-methyl-3,3-diphenylpyrrolidine)

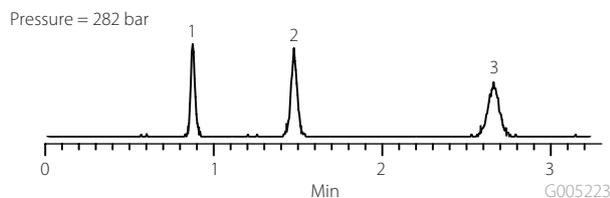
Colonne analytique seule

| Peak | Name | Ret. Time (mins.) | N (plates) |
|------|-----------|-------------------|------------|
| 1 | EDDP | 0.721 | 5,037 |
| 2 | Methadone | 1.218 | 5,580 |
| 3 | EDMP | 2.267 | 7,337 |



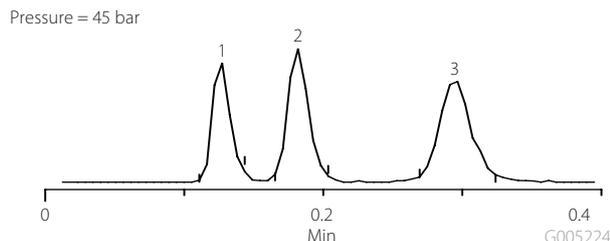
Colonne analytique + colonne de garde Ascentis Express

| Peak | Name | Ret. Time (mins.) | N (plates) |
|------|-----------|-------------------|------------|
| 1 | EDDP | 0.875 | 5,117 |
| 2 | Methadone | 1.475 | 8,187 |
| 3 | EDMP | 2.660 | 10,110 |



Colonne de garde Ascentis Express seule

| Peak | Name | Ret. time (mins.) | N (plates) |
|------|-----------|-------------------|------------|
| 1 | EDDP | 0.127 | 243 |
| 2 | Methadone | 0.182 | 497 |
| 3 | EDMP | 0.297 | 848 |



(Suite à la page 6)

avec ou sans une colonne de garde Ascentis Express de 0,5 cm par 2,1 mm de D.I. Si l'on compare les chromatogrammes du haut et du milieu, on peut voir que la colonne de garde Ascentis Express a en fait augmenté le nombre total de plateaux dans le système de près de 3000, tout en ajoutant seulement 20 secondes et 37 bars. La colonne de garde Ascentis Express avait en fait suffisamment de plateaux pour être utilisée comme colonne analytique. Le chromatogramme du bas montre la même séparation avec la colonne de garde directement insérée dans l'interface MS, comme sur la **Figure 2**. Notez l'extrême rapidité de l'analyse (<20 secondes) et la résolution à la ligne de base.

Caractéristiques et avantages des colonnes de garde Ascentis Express

Quatre caractéristiques sont responsables des avantages en matière d'efficacité des colonnes de garde Ascentis Express® :

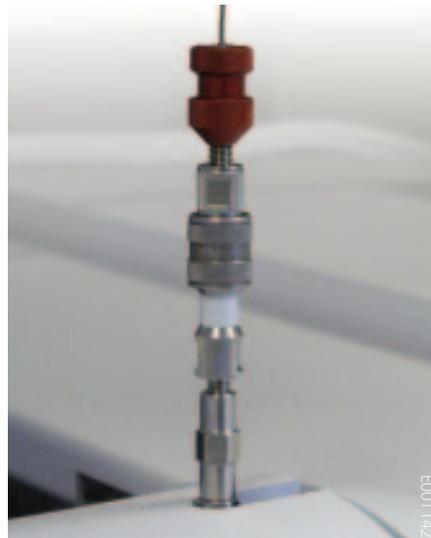
- leur conception permet de réaliser des connexions sans aucun volume mort
- le positionnement des férules est auto-ajustable (évite les espaces libres)
- faible (<1,5 µl) trajectoire de volume balayé total (excluant la cartouche)
- Remplies de particules Ascentis Express Fused-Core (2,7 µm)

Autres attributs importants :

- serrage manuel pour une installation sans outils
- pression nominale de 15 000 psi (1030 bars)
- connexion directe à toute colonne HPLC ou à toute interface filetée compatible
- cartouches jetables économiques pour une protection rentable

Les colonnes de garde Ascentis Express peuvent être utilisées pour protéger toute colonne HPLC ou UHPLC, et peuvent aussi être utilisées seules à titre de petite colonne analytique pour une analyse extrêmement rapide. La liste de produits ci-dessous contient les diverses phases actuellement disponibles en colonnes de garde Ascentis Express, ainsi que les supports pour le matériel. Les colonnes de garde sont fournies en packs de trois cartouches. Nous recommandons également d'utiliser nos raccords HPLC haute performance avec ces colonnes de garde et avec toutes les colonnes

Figure 2. Colonne de garde Ascentis Express connectée directement à une interface de MS



Remarque : la cartouche de garde illustrée est connectée à nos nouveaux raccords haute performance Supelco Interconnect.

HPLC. Merci de consulter sigmaaldrich.com/euttechhplcfittings pour une liste complète des produits.

+ Produits connexes

| Description | Qty. (mg) | Cat. No. |
|-------------|-----------|--------------|
| EDDP | 10 | E5264 |
| Methadone | 50 | M0267 |

+ Produits mentionnés

| Description | What Phases it Protects | I.D. (mm) | Qty. | Cat. No. |
|---|---|-----------|------|----------------|
| Ascentis Express Guard Cartridges (all are 2.7 µm particles, 0.5 cm length. Requires holder 53500-U) | | | | |
| Ascentis Express C18 guard cartridge | C18 | 2.1 | 3 | 53501-U |
| | C18 | 3.0 | 3 | 53504-U |
| | C18 | 4.6 | 3 | 53508-U |
| Ascentis Express C8 guard cartridge | C8 | 2.1 | 3 | 53509-U |
| | C8 | 3.0 | 3 | 53511-U |
| | C8 | 4.6 | 3 | 53512-U |
| Ascentis Express RP-Amide guard cartridge | Amide | 2.1 | 3 | 53514-U |
| | Amide | 3.0 | 3 | 53516-U |
| | Amide | 4.6 | 3 | 53519-U |
| Ascentis Express HILIC guard cartridge | HILIC silica | 2.1 | 3 | 53520-U |
| | HILIC silica | 3.0 | 3 | 53521-U |
| | HILIC silica | 4.6 | 3 | 53523-U |
| Ascentis Express Phenyl-Hexyl guard cartridge | Phenyl or Phenyl-hexyl | 2.1 | 3 | 53524-U |
| | Phenyl or Phenyl-hexyl | 3.0 | 3 | 53526-U |
| | Phenyl or Phenyl-hexyl | 4.6 | 3 | 53531-U |
| Ascentis Express Peptide ES-C18 guard cartridge | ES-C18, any C18 phase for peptides or low pH work | 2.1 | 3 | 53536-U |
| | ES-C18, any C18 phase for peptides or low pH work | 3.0 | 3 | 53537-U |
| | ES-C18, any C18 phase for peptides or low pH work | 4.6 | 3 | 53542-U |
| Holder for Ascentis Express Cartridges | | | | |
| Contains everything needed to connect guard cartridges to an analytical column or to a compatible 10/32 threaded interface. | | | | 53500-U |