

# Bedienungsanleitung

## Shodex SUGAR KS-800 Serie

(Bitte lesen Sie dieses Handbuch sorgfältig durch, um die beste und gleichbleibende Leistung der Säule über einen längeren Zeitraum sicherzustellen)

### Wichtige Hinweise zur Handhabung

#### Warnung!

- Bitte lesen Sie das Sicherheitsdatenblatt (SDB) der Reagenzien und Lösungsmittel, die mit der Säule verwendet werden, und machen Sie sich mit ihrer ordnungsgemäßen Handhabung vertraut, um mögliche Gesundheitsgefahren oder Todesfälle zu verhindern.
- Bitte tragen Sie beim Umgang mit organischen Lösungsmitteln sowie sauren und alkalischen Reagenzien eine geeignete persönliche Schutzausrüstung wie Schutzbrille und Handschuhe. Vermeiden Sie jeden direkten Körperkontakt, um Verletzungen durch Chemikalien zu verhindern.

### Vor Verwendung der Säule

- (1) Bitte überprüfen Sie die Verpackung und die Außenseite der Säule visuell auf eventuelle Schäden.
- (2) Bitte überprüfen Sie den Produktnamen und die Seriennummer (Serial no. oder S/N), die auf der Säulenverpackung und dem Klebeetikett auf dem Säulenkörper angegeben sind.
- (3) Bitte laden Sie das Analysenzertifikat (CoA) für das erworbene Produkt herunter. Dieses können Sie auf der Website von Shodex (<https://www.shodex.com/download/>) herunterladen. Dabei werden sie aufgefordert, die Seriennummer einzugeben.

### 1. Einleitung

Vielen Dank, dass Sie sich für dieses Shodex-Produkt entschieden haben. Die Shodex KS-800-Serie besteht aus hochleistungsfähiger Chromatographiesäule, die speziell für die Trennung und Analyse von Zuckern entwickelt wurde. Ein stark saurer, gelförmiger Kationenaustauscher, der aus einem starren Harz aus Styrol-Divinylbenzol-Copolymer hergestellt wurde, bietet einen gemischten Trennmodus. Kleinere Zucker, wie Mono- und Disaccharide, werden durch eine Kombination von Ligandenaustausch- und Größenausschlussverfahren getrennt. Größere Zucker wie Oligosaccharide und Polysaccharide werden hingegen durch Größenausschluss getrennt und eignen sich daher für die Molekulargewichtsanalyse. Es stehen Säulen mit unterschiedlichen Ausschlussgrenzen zur Verfügung (siehe unten). Bitte wählen Sie die Säulen aus, indem Sie die von Ihnen gewünschten Molekulargewichtsbereiche und die Ausschlussgrenzen vergleichen.

### 2. Bestandteile der Säule

Weitere Informationen finden Sie auf der Website von Shodex: <https://www.shodex.com/en/da/07.html>

### 3. Spezifikationen der Säule

Produktcode	Produktname	Größe der Säule (mm)		Partikelgröße (µm)	Theoretische Plattennummer (je Säule)	Ausschlussgrenze*
		i.D.	Länge			
F6378010	<b>SUGAR KS-801</b>	8,0	300	6	≥ 17.000	1.000
F6378020	<b>SUGAR KS-802</b>	8,0	300	6	≥ 17.000	10.000
F6378025	<b>SUGAR KS-803</b>	8,0	300	6	≥ 17.000	50.000
F6378035	<b>SUGAR KS-804</b>	8,0	300	7	≥ 17.000	400.000
F6700020	<b>SUGAR KS-G 6B</b>	6,0	50	10	(Schutzsäule)	-

\*Nur Referenzwert / gemessen mit Pullulan

Basismaterial : Kugelförmige poröse Teilchen aus Styrol-Divinylbenzol-Copolymer, modifiziert mit einer Sulfogruppe (Gegenion: Na<sup>+</sup>)  
 Säulengehäuse : SUS-316  
 Schraubentyp : Innengewinde-Typ-Nr.10-32 UNF  
 Versandlösungsmittel : Wasser

#### 4. Gebrauchsbedingungen

Produktname	Durchfluss (ml/min)		Maximaler Druck (MPa je Säule)	Temperatur (°C)	
	Empfohlen	Maximum		Empfohlen*	Maximum
<b>SUGAR KS-801</b>	0,5 - 1,0	1,5	5,0	50 - 85	85
<b>SUGAR KS-802</b>					
<b>SUGAR KS-803</b>					
<b>SUGAR KS-804</b>					
<b>SUGAR KS-G 6B</b>	-	-	-		

\* Eine erhöhte Temperatur verlangsamt die Bildung von Zuckeranomeren und verhindert so die Peakspaltung.

Verwendbare Lösungsmittel sind unten aufgeführt.

- (1) Das übliche Elutionsmittel ist Wasser.
- (2) Anstelle von Wasser können auch wässrige Lösungen von Natriumnitrat- oder Natriumsulfatsalzen verwendet werden. Halten Sie den pH-Wert der Lösung zwischen 3 und 7. Bei der Analyse von Proben, die große Mengen an Schwermetallen enthalten, verhindert die Zugabe von 10 bis 50 µg/ml Ca-EDTA eine Beeinträchtigung der Säulenleistung.
- (3) Bis zu 20 % (v/v) Acetonitril und Ethanol sind für KS-801 bis KS-803 verwendbar, während bis zu 50 % (v/v) für KS-804 verwendet werden können.

#### **Achtung!**

- Verwenden Sie die Säule innerhalb der oben angegebenen Bereiche für Durchflussrate, Druck und Temperatur. Die Verwendung der Säule außerhalb des angegebenen Bereichs kann die Säule beschädigen und ihre Leistung beeinträchtigen.
- Verwenden Sie keine anderen Salze als Natriumsalze. Durch die Verwendung anderer Salze kann das an die funktionelle Sulfogruppe gebundene Natriumion durch ein anderes Kation ersetzt und die Säule dadurch beschädigt werden.
- Bei der Verwendung eines Gemischs aus Puffer (oder wässriger Salzlösung) und organischem Lösungsmittel ist darauf zu achten, dass es nicht zu einer Ausfällung des Salzes kommt.
- Der Säulendruck wird von der Zusammensetzung des Elutionsmittels, der Durchflussrate und der Säulentemperatur beeinflusst. Wenn Sie die Zusammensetzung des Elutionsmittels ändern, passen Sie die Durchflussrate und die Säulentemperatur so an, dass der Säulendruck unter dem verwendbaren Maximaldruck bleibt.
- Der Scherabbau tritt eher bei Verbindungen mit größerem Molekulargewicht auf. Das Ergebnis des Scherabbaus kann sich in der Messung eines niedrigeren Molekulargewichts als dem tatsächlichen Wert und/oder einer geringen Reproduzierbarkeit zeigen. Wenn der Verdacht auf Scherabbau besteht, sollte eine niedrigere Durchflussrate verwendet werden.

#### 5. Vorbereitung des Elutionsmittels

- (1) Entgasen Sie das Elutionsmittel vollständig, um die Bildung von Luftblasen zu verhindern.
- (2) Das Vorhandensein kleiner Ablagerungen oder unlöslicher Substanzen kann zu einer Verschlechterung der Säule führen und/oder werden diese auf den Chromatogrammen als Störgeräusche abgebildet. Filtern Sie das Elutionsmittel mit einem 0,45-µm-Einwegfilter, um ein solches Problem zu verhindern.

#### **Achtung!**

- Wenn Wasser benötigt wird, verwenden Sie entweder hochreines Wasser, das von einer Wasseraufbereitungsanlage frisch erzeugt wurde, oder destilliertes HPLC-Wasser aus einer neu geöffneten Flasche. Verwenden Sie nach Möglichkeit organische Lösungsmittel in HPLC-Qualität. Lösungsmittel, die sich seit längerer Zeit in einer geöffneten Flasche befinden, sollten nicht verwendet werden. Der Inhalt kann sich verändert haben, Feuchtigkeit aufgenommen haben oder kontaminiert worden sein.
- Verwenden Sie stets frisch zubereitete Lösungsmittel. Über einen längeren Zeitraum gelagerte Lösungsmittel können ihre Zusammensetzung verändert haben und dadurch das Elutionsmuster beeinflussen und/oder die Säule beschädigen.

**Hinweis**

- Die Verwendung eines Online-Entgasers wird empfohlen.

**6. Vorbereitung der Probe**

- (1) Wenn möglich, verwenden Sie das Elutionsmittel für die Analyse, um Proben aufzulösen oder zu verdünnen. Sollte dies nicht möglich sein, verwenden Sie ein Lösungsmittel, dessen Zusammensetzung der des Elutionsmittels so nahe wie möglich kommt, dabei die Probe jedoch vollständig auflöst oder verdünnt. Bei einer Gradientenelution empfiehlt es sich, das ursprüngliche Elutionsmittel zur Vorbereitung der Probe zu verwenden.
- (2) Filtern Sie die Probenlösung mit einem 0,45- $\mu$ m-Einwegfilter, um zu verhindern, dass die Säule verstopft oder beschädigt wird.
- (3) Das empfohlene Injektionsvolumen für Monosaccharide bis Oligosaccharide der Probe beträgt weniger als 20  $\mu$ l und für Polysaccharide zwischen 50 und 100  $\mu$ l.
- (4) Die Viskosität einer hochmolekularen Verbindung wird weitgehend durch ihr Molekulargewicht und ihre Konzentration beeinflusst. Proben mit hoher Viskosität führen zu einer Peakverbreiterung und Elutionsverzögerung, was die Ermittlung der genauen Molekulargewichtsverteilung erschwert. Im Allgemeinen gilt: Je größer das Molekulargewicht der Verbindung ist, desto höher ist ihre Viskosität. Um den Einfluss der hohen Viskosität zu unterdrücken, empfiehlt es sich, die Probenkonzentration zu senken. Bitte verwenden Sie bei der Vorbereitung von Proben für die Analyse der Molekulargewichtsverteilung die nachstehende Referenztabelle.

Molekulargewichtsbereich	Optimale Konzentration (w/v)
$\leq 5.000$	$\leq 1,0 \%$
5.000 - 25.000	$\leq 0,5 \%$
25.000 - 200.000	$\leq 0,25 \%$
200.000 - 2.000.000	$\leq 0,1 \%$
$\geq 2.000.000$	$\leq 0,05 \%$

- (5) Achten Sie bei der Analyse einer sauren oder basischen Probe darauf, die Probe vor der Injektion zu neutralisieren.
- (6) Wenn eine Probe (die vorbehandelte Probe nach der Natriumion) andere Kationen als Bleiionen enthält, entfernen Sie sie mit einem Kationenaustauscherharz.
- (7) Wenn eine Probe Proteine oder Lipide enthält, sind diese vor der Injektion zu entfernen. Proteine können durch Ultrafiltration oder durch Zugabe von Säure oder Acetonitril entfernt werden. Bei Verwendung von Säure zur Entfernung des Proteins müssen Sie die Probe vor der Injektion neutralisieren. Bei Verwendung von Acetonitril ist sicherzustellen, dass die endgültige Acetonitrilkonzentration weniger als 20 % (v/v) beträgt.
- (8) Wenn eine Probe eine große Menge organischer Säuren enthält, verwenden Sie ein Anionenaustauscherharz in OH-Form, um diese zu entfernen.
- (9) Wenn eine Probe hydrophobe Substanzen oder Tenside enthält, verwenden Sie eine Umkehrphasen-Festphasenextraktion, um sie zu entfernen.

**Achtung!**

- Wird eine Probe in einem anderen Lösungsmittel als dem Elutionsmittel gelöst und enthält die Probenmatrix Bestandteile, die sich im Elutionsmittel nicht vollständig auflösen, können sich Ausfällungen bilden, welche die Säule verstopfen.

**Hinweis**

- Zum Schutz der Analysensäule wird die Verwendung einer Schutzsäule empfohlen.

**7. Nutzungsverfahren der Säule****7.1 Vorbereitung des HPLC-Systems**

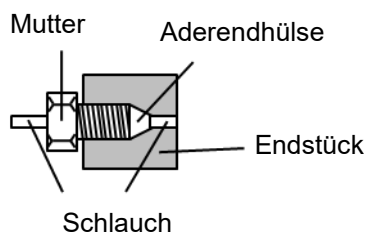
Reinigen Sie vor der Installation der Säule das gesamte LC-System, einschließlich aller Durchflussleitungen und des Probenkreislaufs, indem Sie das Ventil umschalten und anschließend die Waschlösung durch das zu verwendende Elutionsmittel ersetzen. Falls das gewünschte neue Elutionsmittel eine geringe Mischbarkeit/Löslichkeit gegenüber dem Elutionsmittel der vorherigen Analyse aufweist, verwenden Sie zunächst ein Elutionsmittel, das gegenüber beiden Elutionsmitteln mischbar/löslich ist. Ersetzen Sie es anschließend durch das gewünschte Elutionsmittel.

**Achtung!**

- Ist das im System verbliebene Elutionsmittel nicht mit der zu verwendenden Säule kompatibel, kann die Säule dadurch beschädigt werden.
- Eine drastische Veränderung der Zusammensetzung des Elutionsmittels kann dazu führen, dass im System adsorbierte Substanzen entfernt werden, wodurch sie in die Säule gelangen und diese beschädigen können.

**7.2 Installation der Säule**

- (1) Schließen Sie die Säule an das HPLC-System an, indem Sie dem „Flussrichtungspfeil“ (→) folgen, der auf dem Klebeetikett der Säule angegeben ist. Wird eine Schutzsäule verwendet, positionieren Sie diese vor (also vor dem Einlass) der Analysensäule.
- (2) Achten Sie darauf, den Schlauch bis zum Ende einzuführen und mit der Überwurfmutter zu sichern. Dabei ist wichtig, dass im Endstück zwischen Schlauch und Säule kein Zwischenraum besteht. Anderenfalls kann die Probe auslaufen und zu breiten Peaks führen.



- (3) Stellen Sie die anfängliche Durchflussrate auf 0,2–0,3 ml/min ein und starten Sie das System. Wird die Säule bei einer erhöhten Temperatur verwendet, halten Sie die Durchflussrate niedrig, bis die Temperatur der Säule die eingestellte Temperatur erreicht hat, und erhöhen Sie die Durchflussrate anschließend allmählich auf den gewünschten Wert.
- (4) Reduzieren Sie den Durchfluss am Ende der Analyse auf 0,2–0,3 ml/min und schalten Sie den Säulenofen aus. Stellen Sie sicher, dass die Temperatur des Säulenofens Raumtemperatur erreicht hat, bevor Sie die Pumpe ausschalten.
- (5) Es können mehrere Säulen in einer Reihe geschaltet werden. Wenn Sie mehrere Säulen mit unterschiedlichen Ausschlussgrenzen verbinden, setzen Sie die Säule mit der höheren Ausschlussgrenze an die obere Stream-Position.

**Warnung!**

- Stellen Sie sicher, dass kein Lösungsmittel austritt. Anderenfalls können Elektroschläge, Rost und/oder chemischen Verletzungen auftreten.

**Achtung!**

- Achten Sie bei der Installation der Säule darauf, dass keine Luftblasen hineingelangen. Luftblasen können die Säule beschädigen.
- Wenn Sie das System neu starten, nachdem Sie die Säule installiert oder den Durchfluss des Elutionsmittels gestoppt haben, tun sie dies bei 0,2–0,3 ml/min. Ein zu schneller Druckanstieg kann die Säule beschädigen.
- Wurde die Säule bei erhöhter Temperatur verwendet, stoppen Sie die Pumpe erst, nachdem die Säule erneut Raumtemperatur erreicht hat. Wird die Pumpe gestoppt, während das Elutionsmittel in der Säule noch heiß ist, nimmt während des Temperaturrückgangs auch das Volumen des Elutionsmittels ab. Dies kann dazu führen, dass ein Leerraum in der Säule entsteht, durch den die Säule beschädigt wird.

**Hinweis**

- Es wird das Einstellen des Pumpenbegrenzers empfohlen, um die Überschreitung des maximalen Drucks zu vermeiden.

**7.3 Austausch von Lösungsmitteln**

Stellen Sie die Säulentemperatur beim Austausch des Lösungsmittels auf 50 °C ein und starten Sie das System bei 0,2–0,3 ml/min. Die Empfehlung für das einzuleitende Lösungsmittelvolumen für jeden Schritt beträgt das 3- bis 5-fache des Säulenvolumens.

**Achtung!**

- Ein häufiger Austausch von Elutionsmitteln kann die Säule beschädigen und ist daher nicht empfehlenswert.

## 7.4 Reinigung der Säule (Regeneration)

Probleme mit Peakformen, Änderungen der Elutionszeit oder ein erhöhter Säulendruck usw. werden häufig durch unlösliche oder adsorbierende Komponenten aus Elutionsmittel und Reagenzien verursacht, die sich in der Säule ablagern. Diese Probleme können durch eine Reinigung und/oder Regeneration der Säule behoben werden.

Wird eine Schutzsäule zusammen mit der Analysensäule verwendet, entfernen Sie zunächst die Schutzsäule und überprüfen Sie einzig die Leistung der Analysensäule. Wurde das Problem gelöst, lag die Ursache höchstwahrscheinlich bei der Schutzsäule. Reinigen und/oder regenerieren Sie in diesem Fall die Schutzsäule.

Wurde das Problem nicht durch Entfernen der Schutzsäule gelöst, reinigen und/oder regenerieren Sie sowohl die Schutz- als auch die Analysensäulen. Achten Sie darauf, die Schutz- und die Analysensäulen separat zu reinigen und/oder zu regenerieren. Falls mehrere Analysensäulen zusammen verwendet werden, sind sie getrennt zu reinigen. Lassen Sie die Waschlösung beim Reinigen und/oder Regenerieren der Säule aus dem Säulenauslass direkt in den Abfallbehälter fließen und nicht durch den Detektor laufen.

Sollte sich die Säulenleistung nach der Reinigung nicht verbessert (erholt) haben, tauschen Sie die Säule bitte durch eine neue aus.

### <Reinigungsmethode>

Unlösliche Komponenten, die den Einlass der Säule blockieren, können durch Umkehrung der Durchflussrichtung entfernt werden, d. h. durch Einleiten des Elutionsmittels vom Säulenauslass her, wobei die Durchflussrate weniger als die Hälfte der empfohlenen Durchflussrate betragen sollte.

### <Regenerationsmethode>

Durch das Vorhandensein anderer Kationen als Natriumion in der Probe lässt sich das an die funktionelle Sulfogruppe gebundene Natriumion ersetzen. Dies kann die Trennmuster und Peakformen verändern. Nach dem Regenerationsverfahren werden die Natriumionen erneut gebunden, wodurch die Leistung der Säule wiederhergestellt werden kann.

Methode 1: Stellen Sie die Säulentemperatur zwischen 50 °C ein und leiten Sie Wasser mit einer Durchflussrate von 0,5 ml/min ein. Lassen Sie zunächst Wasser einlaufen und geben Sie dann 50 ml einer wässrigen 0,2-M-Natriumhydroxidlösung hinzu. Reinigen Sie die Säule gründlich mit Wasser.

Methode 2: Stellen Sie die Säulentemperatur zwischen 50 °C ein und leiten Sie Wasser mit einer Durchflussrate von 0,5 ml/min ein. Leiten Sie Wasser ein und injizieren Sie mehrmals 40 µl einer wässrigen 1-M-Natriumhydroxidlösung.

### **Achtung!**

- Wenn Sie die Regenerationslösung lange Zeit in der Säule belassen, führt dies zu einer Verschlechterung der Säule. Bitte ersetzen Sie die Regenerationslösung sofort nach der Reinigung mit dem Eluenten.
- Stark alkalische Lösungsmittel wie eine wässrige Natriumhydroxidlösung können die Detektorzelle beschädigen. Schließen Sie den Detektor nicht während der Regeneration der Säule an und lassen Sie das Eluat aus dem Säulenauslass direkt in den Abfallbehälter fließen.

## 8. Lagerung der Säule

Entfernen Sie die Säule aus dem System, nachdem Sie das Lösungsmittel in der Säule durch das Versandlösungsmittel ersetzt haben. Ziehen Sie die Endkappen fest an und lagern Sie die Säule an einem Ort mit stabiler Temperatur (hierbei empfiehlt sich ein kühler und dunkler Raum). In Abschnitt 7.3 „Austausch von Lösungsmitteln“ erfahren Sie, wie das Elutionsmittel ausgetauscht werden kann.

### **Achtung!**

- Lassen Sie das Innere der Säule niemals austrocknen. Anderenfalls kann die Säule beschädigt werden.

## 9. Inspektion der Säule

Bitte beachten Sie die im Analysezertifikat beschriebene Prüfmethode. Bei Shodex erfolgt die Berechnung der Plattenzahl anhand der „Halbwertsbreite“ und die Berechnung der Peak-Symmetrie mithilfe des „Asymmetriefaktors“ (Fas).

Weitere Informationen finden Sie auf der Website von Shodex: <https://www.shodex.com/en/da/07.html>

### **Achtung!**

- Die Werte für Plattenzahl und Fas unterscheiden sich je nach verwendeten Proben und/oder Analysebedingungen erheblich. Um den anfänglichen Säulenzustand zu überprüfen, verwenden Sie bitte die selbe Probe unter den im Analysezertifikat genannten Analysebedingungen.

## **10. Zusätzliche Warnhinweise**

- (1) Die Endstücke dürfen nicht entfernt werden.
- (2) Es darf keine Gewalt auf die Säule ausgeübt werden. Lassen Sie die Säule nicht fallen und schlagen Sie sie nicht gegen eine harte Oberfläche.
- (3) Bitte befolgen Sie die von den örtlichen Vorschriften vorgeschriebene Methode zur Abfallentsorgung.

Auf der Website von Shodex (<https://www.shodex.com/>) finden Sie Einzelheiten zu den Produkten und deren Anwendung.

Falls Sie weitere Unterstützung benötigen, wenden Sie sich an den Händler, von dem Sie die Säule erworben haben, oder an Ihre regionale Shodex-Supportstelle ([https://www.shodex.com/en/support\\_office/list](https://www.shodex.com/en/support_office/list)).