

# Bedienungsanleitung

## Shodex HILICpak VG-50 4D, 4E

(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 HILICpak VG-50 - Serie besteht aus polymerbasierten hydrophilen Chromatographiesäulen (HILIC), die mit Aminogruppen modifiziert wurden. Sie eignet sich zur Trennung und Analyse von Zuckern und Zuckeralkoholen.

### 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)
		i.D.	Länge		
F7630200	<b>HILICpak VG-50 4D</b>	4,6	150	5	≥ 5.500
F7630100	<b>HILICpak VG-50 4E</b>	4,6	250	5	≥ 7.500
F6711100	<b>HILICpak VG-50G 4A</b>	4,6	10	5	(Schutzsäule)

Basismaterial : Kugelförmige poröse Teilchen aus Polyvinylalkohol, modifiziert mit Aminogruppen

Säulengehäuse : SUS-316

Schraubentyp : Innengewinde-Typ-Nr.10-32 UNF

Versandlösungsmittel : Wasser/Acetonitril = 20/80

### 4. Gebrauchsbedingungen

Produktname	Durchfluss (ml/min)		Maximaler Druck (MPa je Säule)	pH Bereich	Temperaturbereich (°C)
	Empfohlen	Maximum			
<b>HILICpak VG-50 4D</b>	0,5 - 1,0	1,5	10	2 - 13	4 - 60
<b>HILICpak VG-50 4E</b>			15		
<b>HILICpak VG-50G 4A</b>	-	-	-		

Verwendbare Lösungsmittel sind unten aufgeführt.

- (1) Es kann eine Mischung aus Wasser und Acetonitril oder Wasser und Methanol in einem beliebigen Verhältnis verwendet werden. Es können bis zu 100 % Wasser, Acetonitril und Methanol verwendet werden. Die Verwendung anderer organischer Lösungsmittel als Acetonitril oder Methanol wird nicht garantiert.
- (2) Anstelle von Wasser können auch Puffer und wässrige Lösungen verschiedener Salze verwendet werden. Zu den verwendbaren Puffern gehören Phosphat und Acetat. Zu den verwendbaren wässrigen Salzlösungen gehören Natriumchlorid, Kaliumchlorid und Natriumsulfat. Zu den verwendbaren Säuren Phosphor- und Essigsäure. Zu den verwendbaren Basen Ammoniak und Natriumhydroxide 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.
- 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.
- Wenn Sie stark ätzende Salze wie Natriumchlorid verwenden, waschen Sie die Salze am Ende der Analyse aus. Anderenfalls können die Metallteile der Geräte und/oder die Säulen rosten.
- 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.
- Verwenden Sie keine Salzsäure, da sie rostfreien Stahl angreift.

## **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- $\mu$ m-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.  
z. B. bei Verwendung einer Mischung aus Wasser (Puffer) und über 50 % Acetonitril beim Elutionsmittel: Wenn sich die Probe nicht gut im Elutionsmittel auflöst, lösen Sie sie zunächst in Wasser (oder Puffer) auf und fügen Sie anschließend Acetonitril hinzu, um die endgültige Acetonitrilkonzentration in der Probe auf über 50 % (v/v) zu erhöhen.
- (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 der Probe beträgt weniger als 20  $\mu$ l je Säule.
- (4) Wenn eine Probe eine große Menge an Proteinen oder Lipiden enthält, entfernen Sie diese vor der Probeninjektion. Anderenfalls könnten sie am Grundmaterial adsorbieren und die Säule beschädigen.

**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.
- Sind die Konzentration oder das Injektionsvolumen der Probe größer als sie sollten, wird möglicherweise nicht die volle Säulenleistung erreicht. Dies kann zu abnormalen Peakformen, schlechten Trennungen und/oder geringer Reproduzierbarkeit führen. In solchen Fällen passen Sie bitte die Probenkonzentration und/oder das Injektionsvolumen an.

**Hinweis**

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

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

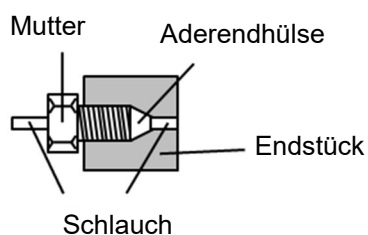
Reinigen Sie vor der Installation der Säule das gesamte LC-System, einschließlich aller Durchflussleitungen und des Probenkreislaufs, indem Sie das Ventil umschalten und anschließend die Waschlösung durch das zu verwendende Elutionsmittel ersetzen. Falls das gewünschte neue Elutionsmittel eine geringe 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 0,3 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.

**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 0,3 ml/min. Ein zu schneller Druckanstieg kann die Säule beschädigen.

- Wurde die Säule während der Analyse erhitzt, ist die Durchflussrate am Ende der Analyse auf weniger als 0,3 ml/min zu senken. Schalten Sie dann den Säulenofen aus und lassen Sie die Temperatur der Säule auf Raumtemperatur zurückgehen, bevor Sie die Pumpe abschalten. Damit soll verhindert werden, dass ein leerer Raum in der Säule entsteht, der die Säule beschädigt. Wenn die Pumpe gestoppt wird, während das Elutionsmittel in der Säule noch heiß ist, verringert sich das Volumen des Elutionsmittels und es entsteht ein Leerraum, wenn die Temperatur des Elutionsmittels sinkt.

### Hinweis

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

## 7.3 Austausch von Lösungsmitteln

Stellen Sie beim Austausch des Lösungsmittels auf starten Sie das System bei 0,3 ml/min. Die Empfehlung für das einzuleitende Lösungsmittelvolumen für jeden Schritt beträgt das 3- bis 5-fache des Säulenvolumens.

- (1) Überprüfen Sie die Mischbarkeit/Löslichkeit des gewünschten neuen Lösungsmittels gegenüber dem aktuell in der Säule befindlichen Lösungsmittel.
- (2) Wenn Sie es durch ein Lösungsmittel mit geringerer Mischbarkeit/Löslichkeit gegenüber dem aktuellen Lösungsmittel ersetzen, verwenden Sie zunächst ein Lösungsmittel, das gegenüber beiden (dem neuen und dem aktuellen) Elutionsmittel mischbar/löslich ist. Ersetzen Sie es anschließend durch das neue Lösungsmittel.

Wenn Sie z. B. eine Wasser/Acetonitril durch hochkonzentrierte Puffer ersetzen, lassen Sie zuerst Wasser einlaufen und ersetzen Sie es dann durch das Elutionsmittel.

- (3) Bei Verwendung einer Gradientenmethode können Änderungen in der Zusammensetzung des Elutionsmittels den Gegendruck der Säule erhöhen. Passen Sie die Durchflussrate und die Säulentemperatur so an, dass der Gegendruck der Säule während der gesamten Analyse unter dem verwendbaren Maximaldruck bleibt.

### Attention!

- Wenn Sie das Elutionsmittel in Form eines Gemischs aus Wasser und Acetonitril durch ein Gemisch aus Puffer und organischem Lösungsmittel ersetzen, führen Sie 10 bis 20 Säulenvolumen Puffer (d. h. ohne organisches Lösungsmittel) in die Säule ein. Beachten Sie, dass dieser Zubereitungsschritt beim Wechsel zu einem Gemisch aus Wasser und Ethanol oder zu einer einfachen Pufferlösung nicht erforderlich ist.
- Wenn Sie das Elutionsmittel aus einem einfachen Puffer oder einem Gemisch aus Puffer und organischem Lösungsmittel durch ein Gemisch aus Wasser und organischem Lösungsmittel ersetzen, reinigen Sie die Säule zunächst mit einer alkalischen Lösung (siehe Abschnitt 7.4, Reinigung der Säule Methode 1).

## 7.4 Reinigung der Säule

Probleme mit Peakformen, Änderungen der Elutionszeit oder ein erhöhter Säulendruck werden häufig durch die Ablagerung unlöslicher oder adsorbierender Komponenten aus der Probe/dem Durchfluss in der Säule verursacht. Diese Probleme können durch eine Reinigung 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. 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. 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>

- (1) 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.
- (2) Befolgen Sie die folgenden Reinigungsschritte für adsorbierende Komponenten. Für eine effiziente Reinigung kehren Sie die Flussrichtung um. Stellen Sie die Flussrate auf 0,5 ml/min ein.

## Methode 1: Allgemeine Reinigung

Waschlösung		Reinigung Zeit	
		VG-50 4D	VG-50 4E
1	H <sub>2</sub> O	6 min	10 min
2	0,1 M NaOH aq. Lösung	75 min	120 min
3	H <sub>2</sub> O	12 min	20 min
4	Elutionsmittel	40 min	60 min

## Methode 2: Adsorption von Metallionen oder falls Methode 1 nicht funktioniert hat

Waschlösung		Reinigung Zeit	
		VG-50 4D	VG-50 4E
1	H <sub>2</sub> O	6 min	10 min
2	0,1 M HNO <sub>3</sub> aq. Lösung	75 min	120 min
3	H <sub>2</sub> O	6 min	10 min
4	0,1 M NaOH aq. Lösung	75 min	120 min
5	H <sub>2</sub> O	12 min	20 min
6	Elutionsmittel	40 min	60 min

**Achtung!**

- Wenn Sie die Reinigenlösung lange Zeit in der Säule belassen, führt dies zu einer Verschlechterung der Säule. Bitte ersetzen Sie die Reinigenlösung sofort nach der Reinigung mit dem Eluenten.
- Stark alkalische Lösungsmittel wie 0,1 M 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 „Asymmetrie-Faktors“ (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)).