

# Bedienungsanleitung

## Shodex Asahipak GS-HQ 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 GS-HQ-Serie besteht aus polymerbasierten Chromatographiesäulen mit Größenausschluss. Mit der Wahl des Elutionsmittels bietet die Säule neben SEC auch Multimode-Funktionen der Umkehrphasenchromatographie, der hydrophilen Chromatographie (HILIC) und der Ionenaustauschchromatographie. Die Säulenserie eignet sich für die Abtrennung von Peptiden oder Nukleinsäuren mit ähnlichen Molekulargewichten.

### 2. Column Components

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)	Zielbereich des Molekulargewichts*	Ausschlussgrenze*
		i.D	Länge				
F7600005	<b>Asahipak GS-220 HQ</b>	7,5	300	6	≥ 19.000	300 - 3.000	7.000
F7600006	<b>Asahipak GS-320 HQ</b>	7,5	300	6	≥ 19.000	300 - 20.000	40.000
F6710019	<b>Asahipak GS-2G 7B</b>	7,5	50	9	(Schutzsäule)	-	-

\* Nur Referenzwert / gemessen mit Pullulan

Basismaterial : Kugelförmige poröse Teilchen aus Polyhydroxymethacrylat

Säulengehäuse : SUS-316

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

Versandlösungsmittel: Wasser/Methanol = 70/30

## 4. Gebrauchsbedingungen

### 4.1 System Einstellungen

Produktname	Durchfluss (ml/min)		Maximaler Druck (MPa je Säule)	pH Bereich	Temperatur-Bereich (°C)
	Empfohlen	Maximum			
<b>Ashipak GS-220 HQ</b>	0,4 - 0,6	1,0	6,0	2 - 9	4 - 60
<b>Ashipak GS-320 HQ</b>			5,0	2 - 12	
<b>Ashipak GS-2G 7B</b>	-	-	-		

### 4.2 Liste der verwendbaren Lösungsmittel

Produktname	Maximal verwendbare Lösungsmittelkonzentration (%)			
	Wasser	Methanol	Ethanol	Acetonitril
<b>Ashipak GS-220 HQ</b>	100	30	30	50
<b>Ashipak GS-320 HQ</b>	100	100	100	50

- (1) Puffer und wässrige Lösungen verschiedener Salze können separat oder gemeinsam verwendet werden. Zu den verwendbaren Puffern gehören Phosphat, Acetat, Zitrat und Tris. Zu den verwendbaren wässrigen Salzlösungen gehören Natriumchlorid, Natriumsulfat, Kaliumsulfat und Ammoniumsulfat. Bitte halten Sie die Gesamtkonzentration der Salze unter 0,5 M. Die empfohlene Konzentration beträgt 0,05–0,3 M.
- (2) Proteindenaturierungsmittel wie Harnstoff und Guanidinhydrochlorid können ebenfalls verwendet werden. Ihre erforderliche Konzentration ist in der Regel jedoch hoch, wodurch die Säule während des Lösungsmittelaustauschs beschädigt werden kann. Daher wird empfohlen, die Säule für ebendiese spezifischen Zwecke zu reservieren.
- (3) Tenside wie SDS und Brij-35 können dem Elutionsmittel ebenfalls zugesetzt werden. Da Tenside jedoch dazu neigen, auf der Säule zu verbleiben, dauert der Lösungsmittelaustausch nach ihrer Verwendung länger als bei allgemeinen Lösungsmitteln. Die Zeit, die für den Austausch benötigt wird, kann durch die Verwendung von 30 bis 50 % (v/v) Methanol verkürzt werden.

#### **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...
- 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. Es wird empfohlen, organische Lösungsmittel von garantierter Qualität zu verwenden, die problemlos für eine HPLC eingesetzt werden können. Werden organische Lösungsmittel unterschiedlicher Qualität zusammen verwendet, muss vor der Verwendung sichergestellt sein, dass sie sich allesamt für die Analyse eignen. 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.
- (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 50–100  $\mu$ 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 Referenztable.

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

**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**

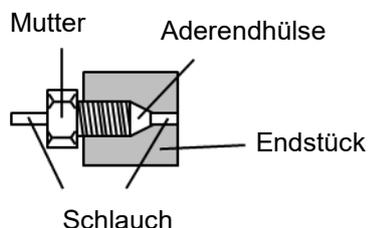
Reinigen Sie vor der Installation der Säule das gesamte LC-System, einschließlich aller Durchflussleitungen und des Probenkreislaufs, indem Sie das Ventil umschalten und anschließend die Waschlösung durch das zu verwendende Elutionsmittel ersetzen. Falls das gewünschte neue Elutionsmittel eine geringe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

- (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 weniger als 0,2 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) 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 weniger als 0,2 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 0,2 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 beim Austausch des Lösungsmittels auf starten Sie das System bei weniger als 0,2 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.  
z. B. Wenn Sie eine hochkonzentrierte Puffer- oder Salzlösung durch Wasser/Acetonitril ersetzen, lassen Sie zuerst Wasser einlaufen und ersetzen Sie es dann durch das Elutionsmittel.

(3) Wenn Sie das Lösungsmittel in GS-320 HQ in Form von Wasser durch Alkohol (Methanol oder Ethanol) ersetzen, führen Sie zuerst ein 1:1-Gemisch aus Wasser und Alkohol ein und ersetzen es anschließend durch 100 % Alkohol. Gleiches gilt, wenn Alkohol durch Wasser ersetzt wird.

z. B. Beim Ersetzen von Wasser durch Ethanol lassen Sie zuerst ein 1:1-Gemisch aus Wasser und Ethanol einlaufen und geben Sie dann 100 % Ethanol hinzu.

### **Achtung!**

- Häufiges Auswechseln der Lösungsmittel verschlechtert die Säule und wird daher nicht empfohlen.

## 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) Beachten Sie die folgenden Schritte zur Reinigung adsorbierender Komponenten. Für eine effiziente Reinigung kehren Sie die Flussrichtung um. Um das Lösungsmittel zu ersetzen, stellen Sie das System auf weniger als 0,3 ml/min ein. Das empfohlene Lösungsmittelvolumen, das bei jedem Schritt eingeführt werden sollte, beträgt das 5- bis 10-fache des Säulenvolumens.

Methode 1: Adsorption von hydrophoben Verbindungen (bei Verwendung von wässrigem Elutionsmittel)

Führen Sie das Elutionsmittel mit einem hochpolaren organischen Lösungsmittel (Acetonitril oder Methanol) ein.

Methode 2: Adsorption ionischer Verbindungen

Führen Sie ein Elutionsmittel mit höherer Salzkonzentration ein.

### **Achtung!**

- Halten Sie die organischen Lösungsmittel- und Salzkonzentrationen innerhalb der Konzentrationen, die in „4.2 Liste der anwendbaren Lösungsmittel“ angegeben sind.
- Verbleibt die Waschlösung zu lange in der Säule, wird diese beschädigt. Bitte ersetzen Sie die Waschlösung daher unmittelbar nach der Reinigung durch das Elutionsmittel.

## 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. Column Inspection

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>

### **Attention!**

· 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)).