

Guía rápida para la selección de
columnas y patrones para
cromatografía de permeación en gel (GPC) y **cromatografía de exclusión por tamaño (SEC)**

GUÍA DE SELECCIÓN



Introducción

La cromatografía de permeación en gel (GPC) y la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) son técnicas utilizadas para medir la distribución del peso molecular de los polímeros naturales y sintéticos. Esta característica influye en muchos de los parámetros físicos de los materiales tales como la fuerza, la rigidez y la resistencia química. La GPC y SEC son técnicas cromatográficas que separan cadenas de polímeros individuales en función de su tamaño en la disolución y no en función de sus características químicas.

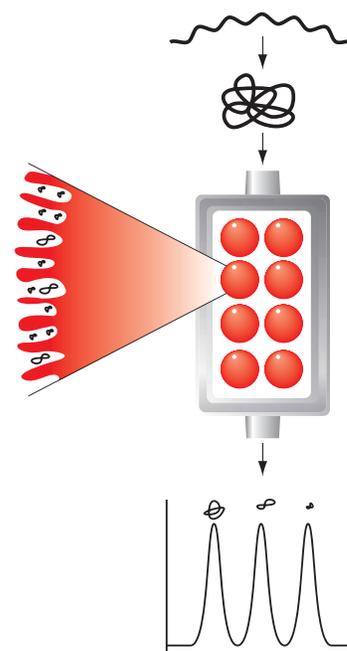
La GPC se utiliza para describir el análisis de polímeros en disolventes orgánicos, tales como el tetrahidrofurano. Por su parte, la SEC se emplea para describir el análisis de polímeros en agua y disolventes basados en agua, tales como disoluciones tampón. Ambas técnicas constituyen el único método probado para obtener una completa comprensión de la distribución del peso molecular de los polímeros.

Cómo utilizar esta guía de selección

Hay muchas columnas disponibles para el análisis de polímeros mediante GPC/SEC. El propósito de esta guía es ayudarle a encontrar un conjunto de columnas y condiciones para analizar los tipos de polímeros más frecuentes. Una serie de preguntas le facilita la búsqueda y la elección del conjunto más adecuado. Algunas aplicaciones no son tan fáciles de definir. Además, es probable que desconozca la información solicitada. En estos casos, consulte con su experto local en GPC/SEC para recibir orientación.

Mecanismos de GPC/SEC

- Las moléculas de polímeros se disuelven en soluciones para formar espirales cuyo tamaño depende de su peso molecular
- Espirales de polímeros introducidas al flujo de elución a través de una columna
- Columna rellena con perlas porosas insolubles con una estructura porosa bien definida
- Tamaño de los poros similar al de las espirales de polímeros
- Las espirales de polímeros se difunden dentro y fuera de los poros
- El resultado es una elución basada en el tamaño: las espirales de mayor tamaño primero; las de menor tamaño, después
- Separación por tamaño convertida a separación por peso molecular mediante el empleo de una curva de calibración formada por el uso de patrones de polímeros



Clave

- Las espirales pequeñas pueden pasar por muchos poros
- Las espirales más grandes pasan por pocos poros
- Las espirales muy grandes pasan por muy pocos poros

Figura 1. Mecanismos de GPC/SEC

Polymer Laboratories se fundó en 1976 para ofrecer columnas, patrones, instrumentos y software para GPC/SEC de alta calidad. Durante 30 años, la compañía desarrolló productos líderes en el mercado tales como las columnas PLgel, PL aquagel-OH, PlusPore, PLgel Olexis, PolarGel y los patrones EasiVial. Fabricados con una avanzada tecnología propia, los productos de PL cuentan con un reconocido prestigio gracias a su calidad y rendimiento y el respaldo de procedimientos técnicos y aplicaciones de primera categoría.

Con la incorporación de Polymer Laboratories, Agilent ofrece una gama incluso más amplia de soluciones de GPC/SEC para todos los tipos de caracterizaciones de polímeros biomoleculares y sintéticos, con opciones para GPC convencional hasta determinaciones complejas mediante métodos multicolumna y de detectores múltiples.

Recomendaciones para configurar un sistema GPC/SEC

Las siguientes preguntas le ayudarán a encontrar las columnas y patrones recomendados para cada aplicación, así como los parámetros del sistema, tales como los volúmenes de inyección.

Elección de un eluyente para GPC/SEC

Pregunta	Respuesta	Recomendación	Comentarios
1. ¿En qué medio es soluble la muestra? <i>Muchos polímeros sólo son solubles en unos pocos disolventes. Esta cuestión es clave al desarrollar métodos para analizar polímeros. Los disolventes que se recogen en esta guía son eluyentes utilizados con frecuencia en GPC/SEC.</i>	Agua o tampón acuoso con hasta un 50% de metanol	Agilent PL aquagel-OH	La mejor elección para aplicaciones basadas en agua, pero no puede acomodar muestras orgánicas, excepto metanol de hasta 50%
	Disolventes orgánicos típicos tales como THF, cloroformo, tolueno	Agilent PLgel o Agilent PlusPore	Las columnas PLgel son las principales; las columnas PlusPore son una alternativa
	Mezclas de agua y compuestos orgánicos u orgánicos polares, tales como DMF o NMP	Agilent PolarGel	PolarGel pertenece a una gama de columnas más pequeñas que las columnas PLgel o PL aquagel-OH, sin embargo, es apta para mezclas de compuestos orgánicos y agua

Elección de una columna para GPC/SEC

Las columnas que aparecen en negrita son la primera mejor opción

Pregunta	Respuesta	Recomendación	Comentarios
2. ¿Qué peso molecular se espera? <i>Puede resultar extraño plantear esta pregunta, pero en GPC/SEC la resolución de una columna está relacionada con el rango de resolución. Conocer el peso molecular esperado de una muestra ayuda a elegir la columna que proporcionará los mejores resultados.</i>	Alto (hasta varios millones)	<i>Disolventes acuosos</i> PL aquagel-OH MIXED-H 8 µm o combinación de PL aquagel-OH 40 y 60 15 µm	La combinación de columnas de 15 µm sólo es mejor cuando la viscosidad de las muestras es muy alta. Si éste no es el caso, las columnas de 8 µm ofrecen una resolución mayor
		<i>Disolventes orgánicos</i> PLgel 10 µm MIXED-B o PLgel 20 µm MIXED-A	La columna PLgel MIXED-A alcanza mayor resolución que la columna PLgel MIXED-B, pero con un rendimiento menor debido al mayor tamaño de partícula
		<i>Disolventes mezclados</i> PolarGel	No hay disponible ninguna columna PolarGel para este rango de peso molecular. Póngase en contacto con un experto en GPC/SEC para recibir orientación al respecto
	Intermedio (hasta cientos de miles)	<i>Disolventes acuosos</i> PL aquagel-OH MIXED-M 8 µm	Amplia variedad de columnas que cubren la mayor parte de polímeros solubles en agua
		<i>Disolventes orgánicos</i> PLgel 5 µm MIXED-C o PLgel 5 µm MIXED-D, PolyPore o ResiPore	Las columnas PLgel son las columnas con mayor número de aplicaciones; las columnas PolyPore y ResiPore son alternativas
		<i>Disolventes mezclados</i> PolarGel-M	Cubren la mayor parte de aplicaciones
	Bajo (hasta decenas de miles)	<i>Disolventes acuosos</i> Combinación de PL aquagel-OH 40 y PL aquagel-OH 30 8 µm	Estas dos columnas combinadas cubren el intervalo más bajo del rango de peso molecular
		<i>Disolventes orgánicos</i> PLgel 3 µm MIXED-E o MesoPore	La columna PLgel proporciona una alta resolución y se ha diseñado para aplicaciones de peso molecular bajo; la columna MesoPore es una alternativa
		<i>Disolventes mezclados</i> PolarGel-L	Para aplicaciones de peso molecular bajo
	Muy bajo (unos pocos de miles)	<i>Disolventes acuosos</i> PL aquagel-OH 20 5 µm	Esta columna de alto rendimiento ofrece una elevada resolución a un peso molecular bajo
		<i>Disolventes orgánicos</i> OligoPore o PLgel 3 µm 100 Å	La columna OligoPore es menos propensa a la dispersión que la columna PLgel; sin embargo, ambas funcionan bien
		<i>Disolventes mezclados</i> PLgel	Ninguna columna PolarGel cubre este rango, por lo que las columnas PLgel se deben utilizar como alternativas
Desconocido	<i>Disolventes acuosos</i> PL aquagel-OH MIXED-M 8 µm	Cubre los rangos de peso molecular de la mayor parte de muestras de polímeros	
	<i>Disolventes orgánicos</i> PLgel 5 µm MIXED-C o PolyPore	La columna PLgel es la columna que permite el mayor número de aplicaciones	
	<i>Disolventes mezclados</i> PolarGel-M	Cubre la mayor parte de aplicaciones	

Configuración del sistema GPC/SEC

Pregunta	Respuesta	Recomendación	Comentarios
3. ¿Cuántas columnas se deben utilizar? <i>Cuanto mayor es el tamaño de la partícula del medio en la columna (que depende del peso molecular esperado de las muestras), menor ha de ser la resolución utilizada y mayor el número de columnas empleado para preservar la calidad de los resultados. En el caso de las muestras con un peso molecular mayor, es necesario que las partículas de mayor tamaño reduzcan el riesgo de degradación por rotura durante el análisis.</i>	Depende del tamaño de partícula de las columnas	<p>Utilice 4 columnas para partículas cuyo tamaño sea de 20 µm</p> <p>Utilice 3 columnas para partículas cuyo tamaño sea de 13 µm</p> <p>Utilice 3 columnas para partículas cuyo tamaño sea de 10 µm</p> <p>Utilice 2 columnas para partículas cuyo tamaño sea de 8 µm</p> <p>Utilice 2 columnas para partículas cuyo tamaño sea de 5 µm</p> <p>Utilice 2 columnas para partículas cuyo tamaño sea de 3 µm</p>	Se requiere un mayor número de columnas para tamaños grandes de partícula con el fin de compensar los bajos rendimientos

Pregunta	Respuesta	Recomendación	Comentarios
4. ¿Qué volumen de inyección es necesario? <i>El volumen de inyección requerido depende del tamaño de partícula de la columna: las partículas más pequeñas necesitan volúmenes de inyección inferiores para minimizar el volumen muerto. Los volúmenes de inyección de mayor tamaño admiten la introducción de muestras con un peso molecular elevado en concentraciones bajas. De esta forma, se reduce la viscosidad y se asegura la obtención de un cromatograma de calidad.</i>	Depende del tamaño de partícula de las columnas	<p>Utilice una inyección de 200 µl para partículas cuyo tamaño sea de 20 µm</p> <p>Utilice una inyección de 200 µl para partículas cuyo tamaño sea de 13 µm</p> <p>Utilice una inyección de 200 µl para partículas cuyo tamaño sea de 10 µm</p> <p>Utilice una inyección de 100 a 200 µl para partículas cuyo tamaño sea de 5 µm</p> <p>Utilice una inyección de 20 µl para partículas cuyo tamaño sea de 3 µm</p>	Los tamaños de partícula más pequeños requieren loops más pequeños

¿Qué patrones debo utilizar?

Los patrones que aparecen en **negrita** son la mejor opción inicial

Pregunta	Respuesta	Recomendación	Comentarios
5. ¿Cuál es el eluyente? <i>Los patrones son polímeros, por tanto, la elección de los patrones refleja fundamentalmente su solubilidad en los eluyentes seleccionados.</i>	<p>Agua o tampón acuoso con hasta un 50% de metanol</p> <p>Disolventes orgánicos típicos tales como THF, cloroformo, tolueno</p> <p>Mezclas de agua y compuestos orgánicos u orgánicos polares tales como DMF o NMP</p>	<p>Polietilenglicol (PEG), óxido de polietileno (PEO) o polisacáridos (SAC)</p> <p>Poliestireno (PS) o polimetilmetacrilato (PMMA)</p> <p>Polietilenglicol, óxido o polimetilmetacrilato</p>	<p>Estos patrones se utilizan en todos los sistemas basados en agua con el práctico formato Agilent EasiVial.</p> <p>El poliestireno es el patrón que con mayor frecuencia se utiliza con el práctico formato EasiVial.</p> <p>Los patrones polares funcionan bien.</p>
6. ¿Qué formato de patrones se recomienda? <i>Hay disponibles varios formatos diferentes de patrones en función de las preferencias del cliente.</i>	<p>Para los enfoques más rápidos y sencillos en los que no se requieren concentraciones precisas</p> <p>En caso de que se requieran concentraciones precisas</p>	<p>La opción más sencilla: EasiVial o Agilent EasiCal</p> <p>Se requieren concentraciones precisas: EasiVial o patrones individuales</p>	<p>Fácil de usar, es preferible el empleo de EasiVial en lugar de EasiCal, debido al surtido más amplio de tipos de polímeros</p> <p>Ambos formatos admiten concentraciones precisas de las muestras; los EasiVials son más fáciles de utilizar</p>

Pesos moleculares de polímeros típicos

Si no está seguro de cuál es el peso molecular de su muestra, la tabla que se muestra a continuación recoge el peso molecular aproximado de los polímeros más habituales. De este modo, se le facilita la selección de la columna más adecuada para su aplicación.

Tipo de polímero	Peso molecular típico del polímero	Polidispersidad ¹ típica del polímero
Polímeros procedentes de la síntesis de radicales libres	Alto (hasta varios millones)	~ 2
	Intermedio (hasta cientos de miles)	
Polímeros procedentes de la síntesis de iones	Intermedio (hasta cientos de miles)	~ 1,01
	Bajo (hasta decenas de miles)	
Polímeros procedentes de síntesis aditivas	Intermedio (hasta cientos de miles)	~ 2
	Bajo (hasta decenas de miles)	
Polímeros procedentes de la polimerización controlada de radicales	Bajo (hasta decenas de miles)	~ 1,1 a 1,5
	Muy bajo (unos pocos de miles)	
Poliolefinas	Intermedio (hasta cientos de miles)	~ 2 a 200
	Alto (hasta varios millones)	
Acrilatos	Intermedio (hasta cientos de miles)	~ 2
	Alto (hasta varios millones)	
Aditivos de moléculas pequeñas	Muy bajo (unos pocos de miles)	1
Prepolímeros	Bajo (hasta decenas de miles)	~ 2 a 10
	Muy bajo (unos pocos de miles)	
Resinas	Bajo (hasta decenas de miles)	~ 2 a 10
	Muy bajo (unos pocos de miles)	
Biopolímeros naturales tales como polisacáridos	Intermedio (hasta cientos de miles)	~ 2 a 10
	Alto (hasta varios millones)	
Gomas	Intermedio (hasta cientos de miles)	~ 2 a 10
	Alto (hasta varios millones)	
Polímeros biodegradables	Intermedio (hasta cientos de miles)	~ 1,1 a 2
	Bajo (hasta decenas de miles)	

¹ La polidispersidad es una medida de la distribución de la masa molecular de un polímero



Información de pedidos



Tabla 1. Información sobre pedidos de columnas para disolventes orgánicos

Columnas GPC orgánicas		
Descripción	Rango PM (g/mol)	Referencia
PLgel 20 µm MIXED-A; 300 x 7,5 mm	2.000 a 40.000.000	PL1110-6200
PLgel 20 µm MIXED-A LS; 300 x 7,5 mm	2.000 a 40.000.000	PL1110-6200LS*
PLgel 10 µm MIXED-B; 300 x 7,5 mm	500 a 10.000.000	PL1110-6100
PLgel 10 µm MIXED-B LS; 300 x 7,5 mm	500 a 10.000.000	PL1110-6100LS*
PLgel 5 µm MIXED-C; 300 x 7,5 mm	200 a 2.000.000	PL1110-6500
PLgel 5 µm MIXED-D; 300 x 7,5 mm	200 a 400.000	PL1110-6504
PLgel 3 µm MIXED-E; 300 x 7,5 mm	hasta 30.000	PL1110-6300
PLgel 3 µm 100 Å, 300 x 7,5 mm	hasta 4.000	PL1110-6320
PolyPore, 300 x 7,5 mm	200 a 2.000.000	PL1113-6500
ResiPore, 300 x 7,5 mm	200 a 400.000	PL1113-6300
MesoPore, 300 x 7,5 mm	hasta 25.000	PL1113-6325
OligoPore, 300 x 7,5 mm	hasta 4.500	PL1113-6520

* Bajo sangrado para aplicaciones de dispersión de luz

Tabla 2. Información sobre pedidos para disolventes mezclados

Columnas GPC para disolventes mezclados		
Descripción	Rango PM (g/mol)	Referencia
PolarGel-M, 300 x 7,5 mm	hasta 700.000	PL1117-6800
PolarGel-L, 300 x 7,5 mm	hasta 30.000	PL1117-6830
PLgel: consulte la tabla 1		



Tabla 3. Información sobre pedidos de columnas para disolventes acuosos

Columnas GPC/SEC acuosas		
Descripción	Rango PM (g/mol)	Referencia
PL aquagel-OH 15 µm 60, 300 x 7,5 mm	200.000 a 10.000.000	PL1149-6260
PL aquagel-OH 15 µm 40, 300 x 7,5 mm	10.000 a 200.000	PL1149-6240
PL aquagel-OH 8 µm MIXED-H, 300 x 7,5 mm	100 a 10.000.000	PL1149-6800
PL aquagel-OH 8 µm MIXED-M, 300 x 7,5 mm	100 a 400.000	PL1149-6801
PL aquagel-OH 8 µm 60, 300 x 7,5 mm	200.000 a 10.000.000	PL1149-6860
PL aquagel-OH 8 µm 50, 300 x 7,5 mm	50.000 a 1.000.000	PL1149-6850
PL aquagel-OH 8 µm 40, 300 x 7,5 mm	10.000 a 200.000	PL1149-6840
PL aquagel-OH 8 µm 30, 300 x 7,5 mm	100 a 30.000	PL1120-6830
PL aquagel-OH 5 µm 20, 300 x 7,5 mm	100 a 10.000	PL1120-6520

Para consultar la lista completa de columnas de GPC/SEC, visite www.agilent.com/chem/gpcsec

Tabla 4. Información sobre pedidos de patrones de calibración

Patrones de calibración		
Descripción	Rango PM (g/mol)	Referencia
Agilent EasiVial PEG/PEO 2 ml, kit de calibración pesado previamente	106 a 1.200.000	PL2080-0201
Agilent EasiVial PEG 2 ml, kit de calibración pesado previamente	106 a 35.000	PL2070-0201
Agilent PEG-10, kit de calibración de polietilenglicol	106 a 22.000	PL2070-0100
Agilent PEO-10, kit de calibración de óxido de polietileno	20.000 a 1.000.000	PL2080-0101
Agilent SAC-10, kit de calibración de polisacárido pululano	180 a 850.000	PL2090-0100
Agilent PAA-10, kit de calibración de ácido poliacrílico-sal Na	1.000 a 1.000.000	PL2140-0100
Agilent PS-H EasiVial 2 ml, kit de calibración de poliestireno previamente pesado	162 a 6.000.000	PL2010-0201
Agilent PS-M EasiVial 2 ml, kit de calibración de poliestireno previamente pesado	162 a 400.000	PL2010-0301
Agilent PS-L EasiVial 2 ml, kit de calibración de poliestireno previamente pesado	162 a 40.000	PL2010-0401
Agilent EasiCal PS-1, kit de poliestireno previamente preparado	580 a 7.500.000	PL2010-0501
Agilent EasiCal PS-2, kit de poliestireno previamente preparado	580 a 400.000	PL2010-0601
Agilent S H-10, kit de calibración de poliestireno	300.000 a 15.000.000	PL2010-0103
Agilent S-H2-10, kit de calibración de poliestireno	1.000 a 15.000.000	PL2010-0104
Agilent S-M-10, kit de calibración de poliestireno	580 a 3.000.000	PL2010-0100
Agilent S-M2-10, kit de calibración de poliestireno	580 a 300.000	PL2010-0102
Agilent S-L-10, kit de calibración de poliestireno	162 a 20.000	PL2010-0101
Agilent S-L2-10, kit de calibración de poliestireno	162 a 4.500	PL2010-0105
Agilent M-M-10, kit de calibración de polimetilmetacrilato	1.000 a 1.500.000	PL2020-0101
Agilent M-L-10, kit de calibración de polimetilmetacrilato	600 a 50.000	PL2020-0100

Todos los tipos de polímeros que se indican anteriormente también están disponibles como pesos moleculares nominales.

Para consultar la lista completa de patrones de calibración, visite www.agilent.com/chem/gpcsec





Sistema de análisis
GPC/SEC Agilent 1260 Infinity

Sistemas de análisis Agilent GPC/SEC

Para obtener una caracterización de polímeros sencilla y fiable, consulte el Sistema de análisis GPC/SEC Agilent 1260 Infinity. El sistema de suministro de disolvente isocrático permite una velocidad de flujo estable y constante, la cual es de vital importancia para mantener el alto nivel de resolución de la columna GPC/SEC. Y gracias a su alto nivel de precisión y excelente estabilidad de temperatura, puede estar seguro de que las determinaciones del peso molecular cuentan con la precisión y exactitud más elevadas.

El sistema de GPC/SEC integrado Agilent PL-GPC 50 es un instrumento independiente que contiene todos los componentes necesarios para analizar una amplia variedad de polímeros. Con la bomba, la válvula de inyección, el horno de la columna y el desgasificador opcional, así como con cualquier combinación de detectores de índice de refracción, dispersión de luz y viscosidad, el sistema PL-GPC 50 es idóneo para iniciarse en la GPC o para contar con la comodidad de una solución única.



Sistema de GPC/SEC integrado
Agilent PL-GPC 50

Columnas Agilent BioHPLC

Agilent también desarrolla una amplia gama de columnas Bio SEC para la separación analítica de proteínas, péptidos y oligonucleótidos. Los materiales Bio SEC utilizan partículas de sílice con un recubrimiento hidrofílico patentado para proporcionar separaciones reproducibles y fiables basadas en el tamaño. El rango de tamaños de poros facilita la obtención de separaciones de alto rendimiento de péptidos pequeños y oligonucleótidos, y grandes proteínas y agregados. Para obtener información, visite www.agilent.com/chem/BioHPLC



Para obtener más información:

Para consultar la lista completa de columnas GPC/SEC, visite www.agilent.com/chem/gpcsec

Para obtener más información sobre las columnas Agilent BioHPLC, visite nuestra página web en www.agilent.com/chem/BioHPLC

O contacte con el **representante local de Agilent, el distribuidor autorizado de Agilent** o visite nuestra página web www.agilent.com/chem/contactus

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2010
Impreso en EE.UU., el 15 de diciembre de 2010
5990-6868ES



Agilent Technologies