



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

ANALISIS DE QUELATOS METALICOS POR
CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRESION

TRABAJO MONOGRAFICO MANCOMUNADO

S U S T E N T A N T E S :

MARTHA MARGARITA ANAYA DAVILA GARIBI
ALEJANDRO FLORIDO RUIZ

CARRERA: QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

México, D. F.

1985



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	Pág.
I. ANTECEDENTES	1
II. LOS QUELATOS METALICOS	
1.- Generalidades	5
2.- Número de Coordinación	7
3.- Isomería	8
4.- Nomenclatura	10
III. LA CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCION	
1.- Fundamentos	13
2.- Instrumentación	18
3.- Formas de Aplicación de la HPLC	20
IV. DETERMINACION DE QUELATOS METALICOS POR HPLC	
1.- Ditiocarbamatos	25
2.- β -dicetonatos	52
3.- β -cetonaminas	68
4.- Hidrazonas y Semicarbazonas	75
5.- Ditizonatos	80
6.- 1, 10- Fenantrolina	83
7.- EDTA, Etilendiamina y Aminoácidos	87
8.- 8- Hidroxiquinoleína	94
9.- Bpiridinas	100
10.- Otros Complejos	102
V. CONCLUSIONES	107
VI. BIBLIOGRAFIA	112

I. ANTECEDENTES

Por muchos años, los métodos cromatográficos han jugado un papel importante en la separación de compuestos inorgánicos debido a los siguientes factores:

- a) La facilidad de detección de los iones sin interferencia -- posterior a la separación.
- b) La identificación de compuestos individuales en una mezcla de compuestos inorgánicos similares o relacionados.
- c) Identificación de los diferentes estados de oxidación de -- los complejos.
- d) Las determinaciones cuantitativas de los compuestos previamente separados.

Los investigadores han utilizado dos formas de aplicación de la cromatografía a las especies inorgánicas:

- 1) La separación de los iones inorgánicos directamente, empleando cromatografía iónica y de intercambio iónico.
- 2) La formación de complejos de iones inorgánicos y separación posterior mediante cromatografía de gases o de líquidos.

El principal problema para la separación de iones -- inorgánicos directamente ha sido la dificultad para detectar -- los por medio de detectores convencionales de cromatógrafos de líquidos. (1)

La separación de metales se ha llevado a cabo tomando en cuenta la distribución de los mismos entre una fase acuosa y una fase orgánica en la presencia de un agente quelatante. -

En estos procedimientos, el pH de las soluciones acuosa, orgánica y la del quelatante se selecciona de manera que se extraiga selectivamente un solo metal o grupo de metales. La extracción se realiza de modo discontinuo, ya sea en uno o más pasos y también puede llevarse a cabo con este procedimiento, la extracción múltiple.

De igual manera se han separado quelatos metálicos mediante el uso de cromatografía de gases, donde previamente se convierten los metales a β -dicetonatos volátiles neutros que son extraídos de una solución acuosa. (2)

La cromatografía de gases tiene limitaciones para la separación de metales y de complejos metálicos ya que estos por lo general, presentan baja volatilidad y estabilidad térmica como para permitir la separación ya que no tienen una presión de vapor apropiada, lo que impide un análisis directo. (3)

Además, la cromatografía de gases necesita temperaturas de operación de la columna a las cuales, algunas de las especies pueden sufrir descomposición.

Otros de los métodos cromatográficos tales como cromatografía en columna y cromatografía en capa fina se han usado para la separación y determinación de compuestos inorgánicos pero se ha visto que no son muy adecuados o eficientes para este fin. Ambas cromatografías tienen el inconveniente de que se requieren largos tiempos de análisis y poseen poca capacidad cuantitativa. Aunque la primera ha sido ampliamente usada, la resolución es muy pobre la mayoría de las veces. (4)

La determinación de muchos metales por medio de polarografía, voltimetría y otras técnicas electroquímicas es extremadamente sensible, sin embargo muchas de las determinaciones están sujetas a interferencias. (5)

Recientemente (6) se reportó un método de detección de iones metálicos por formación colorida de complejo post-columna, pero este también tiene limitaciones, como carencia de sensibilidad a los diferentes metales o bien sensibilidad limitada y uniforme para todos ellos.

En algunos casos de cromatografía de intercambio iónico donde se utilizan ácidos como eluyentes (7), se presenta la desventaja del ataque al acero inoxidable, pero mediante el empleo de microcolumnas de HPLC puede realizarse la separación.

Para la determinación de algunos compuestos metálicos-específicos se han usado métodos como fluorescencia de rayos y absorción atómica que solo permiten determinar la concentración total del metal. (4)

La HPLC (que se traduce por Cromatografía líquida de alta presión, de alta resolución o de alta eficiencia) ha despertado el interés de muchos investigadores ya que tiene ventajas como el operar a temperatura ambiente, pocos problemas de interferencia y obtención de separaciones más exactas de metales en cantidades traza o de partes por millón. (2, 3)

La HPLC se ha aplicado a la separación de compuestos inorgánicos, orgánicos, bioquímicos y complejos metálicos. (4)

Desde 1972, año del primer reporte de esta técnica - -

aplicada a metales ha habido gran cantidad de artículos de HPLC a inorgánica. Esta es una técnica reciente que permite la separación y determinación simultánea de varios iones que se encuentran en mezclas. Muchos investigadores (3) la han empleado con éxito para complejos de acetilacetonatos, quelatos de base de Schiff, β -cetoaminas, quelatos neutros tetradentados etc, como se revisa en el presente trabajo.

II. LOS QUELATOS METALICOS

1.- Generalidades

Se emplea comúnmente la palabra unión o enlace para -- describir la ligadura que vincula uno o más átomos, dependiendo de las electronegatividades de los mismos, de si los electrones son cedidos o compartidos y de la contribución electrónica de -- los átomos que forman la unión, se tienen diferentes tipos de -- enlaces.

Si un ión o molécula puede donar densidad electrónica a otras especies químicas en una reacción, se le denomina base de Lewis, mientras que los iones o moléculas capaces de aceptar la son los ácidos de Lewis.

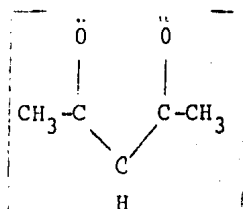
Se forma un complejo metálico cuando un átomo metálico se combina con otra especie, ya sean iones o moléculas neutras -- conocidas como ligandos. Una descripción simple de la naturaleza de este enlace considera el ligando como un donador de pares electrónicos y al metal como aceptor de los mismos, es decir, -- el ligando se comporta como base de Lewis. Ya que en este tipo de enlace el ligando es el único que proporciona los electrones se establece en ese momento un enlace del tipo covalente coordinado.

Cuando el ligando posee más de un átomo donador de -- electrones y su estructura permite la combinación de dos o más donantes al mismo ión metálico en forma simultánea, se obtiene la formación de un anillo heterocíclico llamado quelato.

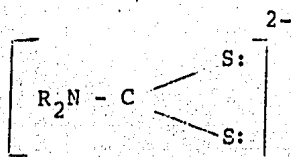
Para que pueda existir la formación de un quelato se necesita que el ligando sea polidentado, es decir, que posea -- dos o más átomos que puedan servir como donadores. Dependiendo del número de átomos donadores que tenga se le denomina: bidentado (dos), tridentado (tres), tetradentado (cuatro), pentadentado (cinco), etc.

Algunos ejemplos de ligantes polidentados que se incluyen en este trabajo se muestran en seguida.

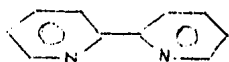
Bidentados:



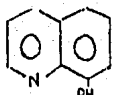
Ión acetilacetato (acac^-)



Ión N,N' -dialquilditio carbamato.



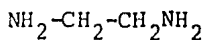
2,2'-dipiridilo



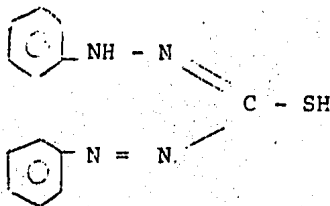
8-hidroxiquinoleína



1,10-fenantrolina



Etilendiamina



Ditizona

Entre los iones metálicos que pueden formar complejos se encuentran los elementos de transición. Existe un acuerdo casi general de definirlos como aquellos cuyos orbitales d y f están incompletos, es decir, poseen orbitales d ó f parcialmente llenos en cualquiera de sus estados de oxidación, exceptuando a los elementos del grupo del Zinc (IIB) donde el orbital d está completo, lo anterior se cumple para todos los elementos englobados en el grupo de los de transición.

Los orbitales d incompletos proporcionan a estos elementos propiedades características. La existencia de orbitales vacíos de baja energía disponibles para la formación de enlaces, confiere a los elementos de transición propiedades de buenos -- aceptores electrónicos en la formación de compuestos de coordinación.

2. Número de coordinación

Para un compuesto de coordinación tenemos que la esfera de coordinación primaria representa el ión de metal central más los ligandos ligados inmediatamente a él. Número de coordinación es el número de enlaces coordinados, número de ligandos en la esfera de coordinación primaria, o número de pares de -- electrones que el metal atrae para formar un ión complejo. Este número puede variar de un elemento a otro pero en los complejos de elementos con estados de oxidación $+2$ y $+3$, es generalmente de cuatro o de seis que son los que a continuación se describen.

Coordinación Cuatro.

Puede ser tetraédrica o cuadrada plana. La primera es bastante frecuente para complejos de iones que no son de transición, cuya estabilidad se atribuye a la covalencia de las uniones mediante el empleo de orbitales híbridos sp^3 del metal, y en parte también al hecho de que la configuración tetraédrica es la más estable desde el punto de vista electrostático. La segunda forma es especialmente característica para ciertos elementos y poco frecuente para las demás. Es la forma de coordinación que se encuentra comúnmente para Rh (I), Ir (I), Pt(II), Pd(II) y Au(III) también es frecuente para Ni(II) y Cu(II), se observa raramente o nunca en la mayor parte de los otros iones, la hibridación común para este tipo de geometría es la sp^2d .

Coordinación Seis.

Es muy frecuente, se le encuentra en una configuración geométrica regular, el octaedro, que proporciona la mayor separación entre ligantes y puede considerarse como tres configuraciones lineales L-M-L mutuamente perpendiculares, o bien como una estructura plana cuadrada con ligantes adicionales arriba y debajo del plano, es decir, bipiramidal cuadrada. Para la geometría octaédrica la hibridación común es del tipo $sp^3 d^2$, mientras que para la bipiramidal cuadrada es $d^2 sp^3$ (con dx^2-y^2).

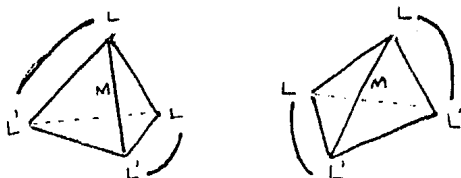
3. Isomería

La cantidad de isómeros de un tipo dado depende del número de coordinación y de la estereoquímica favorecida por el -

metal, así como de la naturaleza de los ligandos.

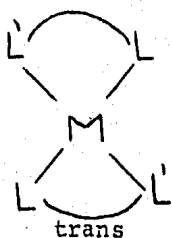
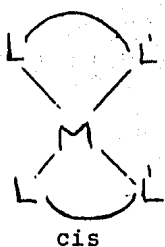
Isomería Óptica. Este tipo de isomería se encuentra en la química de coordinación siempre que una estructura molecular sea tal que puedan existir dos formas relacionadas entre sí como lo están un objeto y su imagen en el espejo.

De los varios tipos de isómeros ópticos en el caso de los complejos tetraédricos, solo se han detectado los que se producen en bis-quelatos con ligantes no simétricos, que corresponden a las figuras siguientes.

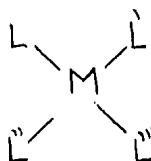


Los casos más importantes de isomería óptica se encuentran entre los complejos octaédricos. Los tipos más comunes son aquellos que contienen tres ligantes bidentados o dos ligantes bidentados y dos monodentados: Isomería geométrica. Este tipo de isomería representa distribuciones espaciales diferentes de un conjunto dado de átomos o de grupos en torno a un átomo central, siendo común entre los complejos tetraédricos, cuadrados y octaédricos.

En complejos cuadrados, se encuentra con frecuencia varios tipos de isomería geométrica; todo complejo del tipo $ML_2L'_2$ puede existir en las formas cis y trans siguientes:



En un complejo del tipo $ML_2L'L''$ también hay isomería - cis-trans. Para un complejo del tipo $ML_2L'L''$ son posibles tres isómeros;



Se conocen varias clases de isomería cis-trans en complejos octaédricos. Las más importantes son las cis-trans en los del tipo ML_4L_2' y del tipo ML_3L_3' ,

4. Nomenclatura.

Al escribir las fórmulas de los compuestos de coordinación se coloca primero el ión metálico central, entre paréntesis rectangulares, luego los ligantes neutros y por último, los que poseen carga negativa.

La nomenclatura sistemática invierte este orden, primero se nombran los ligantes negativos, en segundo lugar los neutros y por último va el ión metálico seguido de un número roma-

no entre paréntesis que indica su estado de oxidación.

A los ligantes con carga negativa se asigna el sufijo "o" y poseen nombres generalmente derivados del nombre del grupo que pertenecen, los más comunes son:

Cl^- cloro, Br^- bromo, SCN^- Tiocianato, CN^- ciano, SO_4^{2-} sulfato, OH^- hidroxilo, CO_3^{2-} carbonato, NO_2^- nitro (vía nitrógeno) NO_2^- nitrito (vía oxígeno) NO_3^- nitrato, $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ oxalato etc.

A los ligantes neutros, por lo general, se les dá su nombre molecular, los más importantes son:

H_2O acuoso, NO nitrosilo, NH_3 amino, C=O carbonilo, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ etilendiamino, etc.

Los radicales orgánicos toman sus nombres usuales como radicales, como por ejemplo CH_3^- metil, C_6H_5^- fenil. La mayoría de los otros ligantes reciben sus nombres comunes por ejemplo $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ urea, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ piridina etc.

Si el complejo es iónico, los cationes se mencionan al final, (sean o no complejos) si el complejo es anión, se agrega al nombre del átomo central el sufijo -ato, a éste sigue el número de oxidación.

El número de ligandos de un tipo en particular se designa mediante un prefijo griego, di para dos, tri para tres, tetra, penta y hexa respectivamente para cuatro, cinco y seis.

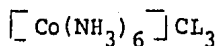
En los casos en que el nombre del ligante contenga un prefijo numérico, el que se utilice para indicar la cantidad de ligandos cambia a bis, tris, tetraquis, pentaquis, hexaquis y se le encierra entre paréntesis.

Un ligante que funciona como puente se indica con el - prefijo antes de su nombre, este símbolo debe repetirse antes - de cada grupo.

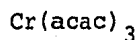
Si se desea indicar también el isómero geométrico se - utiliza el prefijo cis- o trans- seguido del nombre.

Algunos Ejemplos se citan a Continuación.

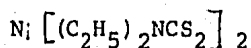
Cloruro de hexaminocobalto (III)



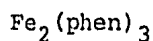
Acetilacetonatocromo (III)



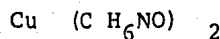
Dietilditiocarbamatoniquel (II)



1, 10-fenantrolinafierro (III)



8-hidroxiquinoleína cobre (II)



III. LA CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCION (HPLC)

1) Fundamentos

La cromatografía es una técnica de separación que consiste en un proceso de migración diferencial donde los componentes de una muestra son retenidos selectivamente por una fase estacionaria. Involucra una fase móvil líquida pasando por la superficie de la fase estacionaria (un sólido o un líquido) y la muestra, que se introduce cerca del punto donde las dos fases se encuentran en contacto, los componentes son transportados a diferentes velocidades, dependiendo de sus afinidades con las dos fases y de ese modo son separados.

Se pueden considerar dos variables fundamentales en la separación: La migración diferencial de varios solutos en la muestra original y la distribución de las moléculas de cada soluto a través de la columna. La migración diferencial antes mencionada, se refiere a la variación de la velocidad de movimiento de los diferentes compuestos a través de la columna y resulta del equilibrio de distribución de los diferentes componentes de la muestra entre las partículas de la fase estacionaria y la fase móvil.

La teoría de la migración está basada en las transferencias repetidas de las moléculas o iones del soluto hacia atrás y adelante entre una fase y otra. Cualquier molécula estará un tiempo en la fase estacionaria y un tiempo en la fase móvil al ir pasando por la columna.

Tomando en cuenta la segunda variable, que es la distribución de las moléculas a lo largo de la columna, se tiene - que al principio de la separación los componentes están juntos - en el punto de partida, pero a medida que la mezcla migra a través del sistema, los componentes se van separando gradualmente - conforme se van moviendo en la columna distribuyéndose según -- sus velocidades de migración.

El proceso de separación como se mencionó, se basa en las diversas interacciones entre la fase móvil y estacionaria - por un lado, y la naturaleza química de la molécula del problema, por otro. La naturaleza de la fase móvil y estacionaria de termina por lo tanto, los mecanismos en que se basa una separación cromatográfica. (14)

Los principales factores y variables que involucra una separación cromatográfica son: (15)

- + Selectividad, que se da por los valores de α
- + Eficiencia de la separación, caracterizada por el número de platos teóricos, y la altura de ellos.

Una característica cualitativa analítica de una sustancia es el tiempo total de retención (t_r) que caracteriza la separación de una muestra de manera reproducible bajo condiciones determinadas y estandarizadas.

Tiempo muerto (t_m) es el tiempo que necesita una sustancia inerte, la cual no entra en interacción con la fase fija, para pasar por la columna de separación. De esta forma corresponde con el tiempo que la sustancia se quede en la fase móvil.

Tiempo de retención ajustado ($t'r$) indica cuánto tiempo se queda la sustancia en la fase fija, y es la diferencia entre el tiempo total de retención (t_r) y el tiempo muerto (t_m).

$$t'r = t_r - t_m \quad (1)$$

El tiempo de retención está en función de la velocidad de flujo del medio de elución pudiéndose también referir a los volúmenes de retención para la identificación de las muestras.

Así, el volumen total de retención (V_r) es el producto del tiempo total de retención y la velocidad de flujo del eluyente (F_c).

$$V_r = T_r \cdot F_c \quad (2)$$

De modo similar se define el volumen muerto, el volumen de la fase móvil V_m en la columna de separación:

$$V_m = t_m \cdot F_c \quad (3)$$

El volumen de retención ajustado $V'r$, es igual a la diferencia del volumen total de retención y el volumen de la fase móvil:

$$V'r = V_r - V_m \quad (4)$$

Si un segundo componente es eluido, después de un tiempo t_2 , la separación entre dos componentes 1 y 2 es medido por lo que se llama factor de resolución, que es el grado de separación de dos sustancias.

$$R = \frac{(tr_2 - tr_1)}{1/2 (W_1 + W_2)} \quad (5)$$

donde W 1 y 2 es la anchura de los picos medidos en línea base. Para lograr picos totalmente aislados se necesita una resolución con valor mayor a 1.5.

Durante el paso por la columna la proporción de las cantidades de una sustancia entre la fase fija y la fase móviles constante, característica de la sustancia, y es lo que se conoce como factor de capacidad k' , es decir, es la habilidad de una columna para retener muestras, y está en relación con el coeficiente de distribución de Nerst K , a través de la proporcionalidad de volúmenes V_s/V_m .

$$k' = k \cdot \frac{V_s}{V_m} \quad (6)$$

donde: K' = factor de capacidad

k = coeficiente de distribución de Nerst

V_s = volumen de sustancia en la fase estacionaria

V_m = volumen de sustancia en la fase móvil

La teoría de la distribución multiplicativa explica la relación entre el factor de capacidad k' y los datos de retención.

$$k' = \frac{V_r - V_m}{V_m} = \frac{tr - tm}{tm} = \frac{t'r}{tm} \quad (7)$$

Factor de separación o de selectividad (α). Es la ca

pacidad de una columna de separar dos o más sustancias al pasar por ella por medio de diferencias bastante grandes en las interacciones con la fase fija, y es una relación de los factores - de capacidad:

$$\alpha = \frac{K_1'}{K_2'} = \frac{V_r - V_m}{V_r - V_m} = \frac{t_r - t_m}{t_r - t_m} = \frac{t'_r1}{t'_r2} \quad (8)$$

El factor de capacidad y el de separación definen un - proceso termodinámico, o sea la distribución de las sustancias - entre la fase móvil, y a esto se le conoce como el número de -- platos teóricos N, que representa la eficiencia de la columna.

$$N = 16 \left(\frac{V_r}{W} \right)^2 \quad (9)$$

Para una columna de longitud L y N platos teóricos, un plato teórico tiene la altura teórica H:

$$H = \frac{L}{N} \quad (10)$$

Las retenciones de los compuestos en el sistema cromatográfico generalmente son expresados en valores de k' y la eficiencia de la columna en platos teóricos (N). Su relación con la resolución es un valor práctico y está dado por:

$$R_s = \frac{1}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \sqrt{N \left(\frac{k'}{1 + k'} \right)} \quad (11)$$

Para una resolución máxima de dos picos el factor de - capacidad k' tiene un valor de 2 - 5.

2) Instrumentación

Un cromatógrafo de líquidos está constituido fundamentalmente por las siguientes partes:

a) Depósito para los disolventes

En este depósito estará contenida la fase móvil, la -- cual puede estar formada por soluciones orgánicas o bien acuo-- sas de acuerdo a los requerimientos del análisis. En términos generales la fase móvil debe: No alterar la columna y sus caracte-- rísticas, ser compatible con el detector, disolver la muestra, estar constituida por disolventes de un alto grado de pureza, y estar correctamente filtrada y degasificada.

Cuando las condiciones de trabajo no son isocráticas y la proporción de los disolventes que constituyen la fase móvil va cambiando a lo largo de la elución, se obtiene lo que se conoce como gradiente de elución cuyas ventajas son: Puede redu-- cirse el tiempo de análisis, incremento en la resolución, mejor forma de picos.

b) Sistema de bombeo

El sistema de bombeo debe ser capaz de generar una velocidad de flujo constante, ésto se logra comúnmente con dos cá-- maras de bombeo de desplazamiento positivo. También es necesaria la posibilidad de selección de diferentes velocidades de -- flujo, que van de 0.1 a 9.9 ml/min, generándose presiones entre 100 y 6000 psig (7 a 420 hrs).

Cuando se requiere de un gradiente de elución, el sistema de bombeo deberá ser programable y contar con dos bombas o bien con una y para cada una de las dos fases móviles.

c) Inyector

Para introducir la muestra al sistema cromatográfico se utiliza un sistema que consiste en: Inyectar la muestra en una pequeña cámara, desviar el flujo de la bomba hacia la cámara con muestra y dirigir este flujo con la muestra hacia la columna, los valores de inyección van de menos de 10 μ l a 100 l.

d) Columna

Es en este lugar donde se realiza la separación de los componentes de la muestra. Consiste en un tubo de acero inoxidable de 10 a 30 cm de largo y diámetro interno de alrededor de 0.5 cm que contiene en su interior empaques muy finos con un tamaño de partícula entre 3 y 10 μ m, estos empaques se clasifican de acuerdo con su estructura química en:

- Fase normal (Adsorción o reparto)
- Fase inversa (reparto)
- Fase químicamente unida (Adsorción o reparto)
- Intercambio iónico
- Exclusión por tamaño de partícula (Tamizado molecular)

e) Detector

El detector se requiere para medir la cantidad de muestra que sale de la columna, para considerar un detector en tér-

minos de su aplicación deben tomarse en cuenta las características siguientes, respuesta, sensibilidad, linealidad y estabilidad. Dependiendo del tipo de detector es el límite de detección pero por lo general este se encuentra en el orden de los nanogramos.

Existe una gran variedad de detectores empleados en HPLC por ejemplo, detectores fotométricos ultravioleta-visible, de índice de refracción, fluorométricos, de infrarrojo, electroquímicos, amperométricos, de conductividad térmica etc. La descripción detallada de cada uno de ellos se encuentra tratada en diferentes textos, algunos de los cuales se indican en la bibliografía (14, 15, 16, 17) por lo que no se hará en esta monografía.

f) Sistema de registro

Su función es representar gráficamente la señal dada por el detector, por lo general se utilizan registradores potenciométricos de 1 a 10 mv, aunque también los hay electrónicos.

3) Formas de aplicación de la HPLC. (18)

a) Cromatografía líquido-líquido

En esta cromatografía la muestra es retenida por reparto entre la fase estacionaria y la fase móvil, los compuestos más solubles en la fase estacionaria son selectivamente retenidos por ella en tanto que los menos solubles son transportados más rápidamente por la fase móvil.

En esta categoría se consideran sistemas donde sólidos granulares sirven como soportes mecánicos para la fase líquida estacionaria, mientras que un segundo líquido forma la fase móvil. Debido a la necesidad de que los dos líquidos sean inmiscibles, éstos también van a diferir marcadamente en el grado de polaridad. Cualquiera de los dos líquidos, el más o el menos polar puede ser inmovilizado, comúnmente es el disolvente polar el que se mantiene en el soporte poroso ya sea de sílice, alúmina o silicato de magnesio. El disolvente no polar puede también mantenerse en los mismos materiales de soporte después de desilanzarse, lo cual los hace hidrogóbicos.

En el caso ideal, la fase fija estacionaria es completamente inmisible en la fase móvil, situación que casi nunca sucede. Una forma de resolverlo es saturando la fase móvil con la fase estacionaria por medio de una columna que contenga un alto porcentaje de esta última. Otra forma es utilizar materiales que contengan la fase estacionaria unida a un soporte, a manera de empaque de la columna para evitar así la pérdida de la fase estacionaria y el uso de precolumnas para saturar la fase móvil.

b) Cromatografía líquido-sólido

Es una cromatografía de absorción y depende de las fuerzas relativas de adsorción de las moléculas de soluto en los sitios de grupos hidroxílicos localizados en sustratos de sílice o de alúmina sin la presencia de una fase líquida fija.

La adsorción es generalmente característica de los grupos funcionales de las sustancias orgánicas siendo muy útil en la separación de ciertos compuestos. También puede haber efectos estéricos, de modo que a veces se resuelven isómeros de posición como un par cis-trans.

En este tipo de cromatografía, los adsorbentes (gel de sílice, alúmina, vidrio poroso etc.) se empacan en una columna y los componentes de la muestra son desplazados por una fase móvil. Es posible reducir la actividad de un adsorbente agregando una pequeña cantidad de agua a la fase móvil, la adsorción de agua es reversible haciendo que la actividad del sólido se altere al cambiar el contenido de agua del disolvente.

c) Cromatografía de intercambio iónico

Aquí, la fase estacionaria está dada por una resina de intercambio de iones o partículas ácidas o básicas, en las que su superficie sólida está cubierta con resina líquida de intercambio iónico. A pesar de que las resinas son insolubles en agua los grupos activos son hidrofílicos y tienen diferentes grados de afinidad para los solutos iónicos. Existen cuatro tipos de resinas:

- I) Fuertemente ácida para intercambio de cationes
- II) Débilmente ácidas para intercambio de cationes
- III) Fuertemente básicas para intercambio de aniones
- IV) Débilmente básicas para intercambio de aniones

Para todas estas resinas los ámbitos de pH son signifi

cativos, abajo de pH 5 las resinas ácidas débiles están poco disociadas y el intercambio de cationes es despreciable, lo inverso también se aplica para resinas de tipo básicas débiles a pH superiores de 9.0.

La separación en esta modalidad, se lleva a cabo por intercambio de los iones entre las resinas y la fase móvil, de este modo, los compuestos que tienen iones con diferentes afinidades pueden separarse.

d) Cromatografía de apareamiento de iones

También se le ha llamado cromatografía de extracción y su aplicación como un método de HPLC ha sido recientemente -- utilizado debido a las limitantes de la cromatografía de intercambio iónico como por ejemplo en el caso de compuestos que son fuertemente polares, con múltiples ionización y con basicidad sumamente grande.

La fase estacionaria consiste de gel de sílice silanizada impregnada con una fase orgánica hidrofóbica, por ejemplo 1-pentanol. La fase móvil consiste en un amortiguador acuoso con la adición de un contra-ión de carga opuesta a la de la molécula de la muestra. En el caso más simple de la cromatografía de ión apareado se asume que el contra-ión y la muestra son solubles en la fase móvil acuosa y que el par iónico formado de estos iones es soluble solo en la fase estacionaria orgánica. En general esta técnica se aplica a compuestos polares tales como bases, iones y compuestos con muchos grupos ionizables. (19)

e) Cromatografía de exclusión por tamaño de partícula

Es otra de las modalidades de la cromatografía líquida. En este proceso un gel altamente poroso uniforme y no iónico - - (vidrios porosos, geles de sílice con superficie desactivada, - gel de sílice con una base desactivada) se utiliza para separar las muestras de acuerdo a su tamaño molecular. Las moléculas - más pequeñas pueden introducirse en las redes o irregularidades del polímero y retardarán su salida mientras que las moléculas de mayor tamaño no pueden quedar atrapadas entre las redes del polímero y seguirán el camino hasta salir de la columna. El -- orden de elución es entonces: Las moléculas más grandes primero, seguidas de las de regular tamaño y al final las más pequeñas.

Aunque el proceso de exclusión es el mismo, se ha dado en distinguir dos clases de términos para este tipo de cromatografía:

- I) Filtración en gel. Generalmente se aplica al uso de Se -- Phadex (un polímero de dextrano que se hincha en el agua) - como agente tamizador.
- II) Permeación en gel. Se refiere al empleo de polímeros que son sumergidos en disolventes orgánicos.

IV. DETERMINACION DE QUELATOS METALICOS POR HPLC

1) Ditiocarbamatos

Los complejos metálicos del ácido ditiocarbámico son un grupo de sustancias empleadas en la agricultura como fungicidas activos, también es conocido su uso para extracción y de terminación espectrofotométrica de muchos elementos.

Ya que presentan actividad tóxica para mamíferos y el hombre, es necesario seguir desarrollando técnicas sensibles y rápidas para su detección y determinación con el propósito de proteger el ambiente. En los últimos años se ha empleado HPLC con este fin.

Liska et al (20) estudiaron la separación e identificación de una serie de complejos bisdialquilditiocarbamatos de Ni(II) por HPLC. Prepararon los complejos a partir de dialquilaminas, disulfuro de carbono y cloruro de níquel (II). Los complejos obtenidos fueron desde bisdimetil a bisdioctil ditiocarbamatos. Prepararon soluciones de concentración 0.005M en cloroformo e inyectaron muestras en cantidades de 0.5-1 μ l la fase estacionaria empleada fue gel de sílice y como fase móvil utilizaron varios disolventes y sus combinaciones: Cloroformo, tetracloruro de carbono, diclorometano, ciclohexano, n-hexano y n-heptano.

Los mejores resultados se obtuvieron con mezclas cloroformo-ciclohexano. Se empleó un detector de ultravioleta a 325 nm y el límite de detección estuvo en el intervalo 10^{-9} y-

10^{-10} moles/l de níquel.

Se encontró también que existe influencia del sustituyente y la composición de la fase móvil en los factores de capacidad. La separación y cuantificación de los complejos de Ni (II) se complicó por la formación de nuevos complejos debido a reacciones de intercambio de ligantes. Los mismos autores (21) investigaron estas reacciones en un estudio posterior donde encontraron que se formaba un tercer compuesto por cada par de complejos con diferentes sustituyentes, al separar la mezcla por HPLC se registraban tres picos de los cuales dos eran idénticos a los complejos simétricos originales y así demostraron que el tercer compuesto era formado en solución.

Lethoay e al (22) realizaron una separación cromatográfica de varios complejos del ácido dietilditiocarbámico con diferentes metales; (Cu (II), Co(II), Zn(II), y Pb(II)). Los experimentos se llevaron a cabo en una columna de metal de 25 X 0.46 cm, empacada con gel de sílice de 10 μ m de diámetro, los disolventes orgánicos empleados fueron diclorometano, cloroformo, tetracloruro de carbono, ciclohexano, tetrahidrofurano, n-pentano y n-hexano, de los cuales, las mezclas de cloroformo y diclorometano con disolventes orgánicos menos polares fueron las más adecuadas. Nuevamente se demostró que los complejos de bisdialquilditiocarbamato de Zn (II), así como los de Pb (II) empleados para preparar la muestra producen una mezcla de quelatantes como producto de reacciones. Cosa que no ocurre en el caso de los complejos de Cu (II) o Co (II) como -

se muestra en los cromatogramas respectivos de las figuras 1 a la 3

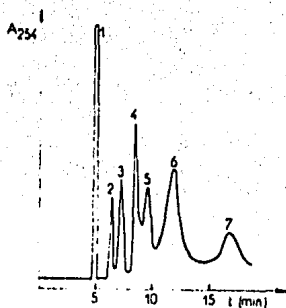


Figura 1.- Separación de complejos bisdialquilditio-carbámicos de zinc. Picos: 1) pico inerte, 2) bisdibutil DTC, 3) complejo de mezcla de ligantes, (dibutil y dipropil) 4) bisdipropil DTC, 5) dietil, dibutil - DTC, 6) dietildipropil DTC, 7) bisdietil DTC.

Condiciones experimentales: Disolvente; cloroformo en ciclohexano, velocidad del disolvente 0.08 cm/seg, columna de 25 x -- 0.45 cm empacada con Lichrosorb SI 60.

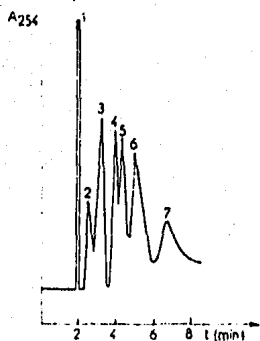


Figura 2-Separación de complejos bisdialquil-ditiocarbamatos de plomo (II).
 Picos: 1) pico inerte, 2) bisdibutil-DTC, 3) di propil, dibutil DTC, 4) bisdipropil DTC; 5) dietil DTC, 6) dietildipropil DTC, 7) bisdietil DTC.

Condiciones experimentales: Disolvente: cloroformo en ciclohexa no, velocidad del disolvente. 0.19cm/seg, columna: 25 x 0.46 cm empacada con LiChrosrb SI 60.

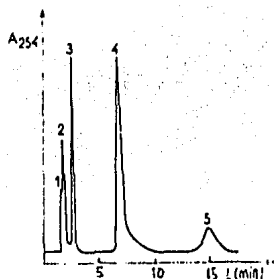


Figura 3.-Separación de complejos bisdialquil-ditiocarbamatos de Cobalto.
 Picos: 1; inerte, 2; bisdibutil-DTC, 3; pisdipropil DTC, 4; bisdietil-DTC, 5; bisdimetil-DTC.

Condiciones experimentales: Disolvente 40% diclorometano en ---

tetracloruro de carbono, velocidad 0.26 cm/seg, columna igual-
que las anteriores.

Moriyasu y Hashimoto (23) realizaron estudios de die-
til y dibutil ditiocarbamatos, notando que mezclas de complejos
similares a las reportadas anteriormente (20) se forman al reu-
nir los dos complejos ditiocarbámicos disubstituidos de Ni(II)-
ó Cu(II). La mezcla de especies ligantes se separó por HPLC --
utilizando columnas de gel de sílice cuidadosamente desactiva-
das y una mezcla hexano-acetato de etilo (83.3%; 16.7%) como --
fase móvil, leyeron las especies eluyentes a 325 nm.

En su estudio los autores encontraron que los comple-
jos de Cu son más lábiles que los de Ni.

Schwedt (24) examinó la posibilidad de una separación-
simultánea de complejos de cromo en aguas residuales empleando-
pirrolidínditiocarbamato amoniacal y fase inversa.

Las reacciones se llevaron a cabo a temperatura amien-
te para el Cr(IV) y a 60°C para el Cr(III) a pH 4.6 separando-
los productos de reacción en columnas empacadas con fase esta-
cionaria LiChrosorb RP-18 de tamaño de partícula 5µm, empleando
como fase móvil acetonitrilo-agua en las proporciones 80:20, y-
70:30. Las lecturas se hicieron a 254 nm.

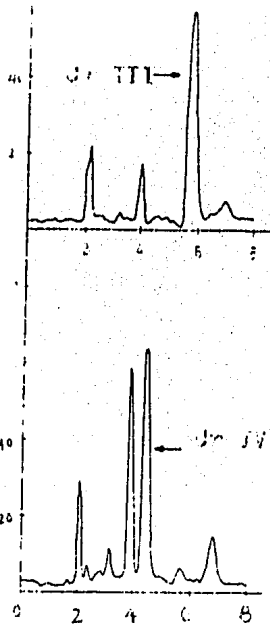


Fig 4.- Cromatogramas de la separación de los productos de reacción de Cr(III) T=60°C y Cr (IV) T=ambiente.

Condiciones experimentales: Fase inversa, detección 254nm fase-móvil acetonitrilo-agua (80:20), vel flujo 1 ml/min.

Tande et al (25) realizaron estudios con complejos DTC para la determinación simultánea de Cr(III) y Cr (IV) en aguas-residuales mediante el empleo de fase inversa utilizando meta-nol-agua (65:35) como fase móvil y detector de U.V. a 254 nm.

Efectuaron reacciones de ditiocarbamato de sodio y dicromato de potasio a pH 4.0, revelando el análisis efectuado -- por HPLC que se forman tres productos, (Fig. 5) un disulfuro -- desconocido y dos quelatos de Cr obteniéndose en el cromatograma tres picos.

Al efectuar la reacción a temperatura ambiente y pH - 5.8 se obtiene el cromatograma de la fig 6, encontrándose que el Cr (III) es quelatado preferentemente a pH 5.8 en vez de -- pH 4.0, mientras que el Cr (IV) reacciona en solución acuosa a ambos valores de pH.

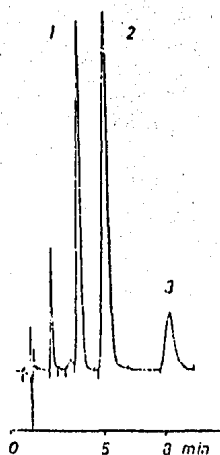


Fig 5.- Cromatograma de la mezcla de reacción de Cr(III) y Cr(IV) a pH 4.0.

1) Disulfuro desconocido, 2) $\text{Cr}(\text{S}_2\text{CN}(\text{C}_2\text{H}_5)_2)_2$,
3) $\text{Cr}(\text{S}_2\text{CN}(\text{C}_2\text{H}_5)_2)_3$.

Condiciones experimentales Fase móvil metanol-agua 65:35, velocidad de flujo 3 ml/min detector U.V. 254 nm.

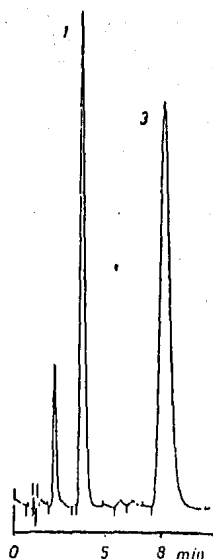


Fig 6.- Cromatograma de la mezcla:
 1) Disulfuro desconocido,
 2) $\text{Cr}(\text{S}_2\text{CN}(\text{C}_2\text{H}_5)_2)_2$, 3) $\text{Cr}(\text{S}_2\text{CN}(\text{C}_2\text{H}_5)_2)_3$

Condiciones experimentales. Columna R^{P} 8, fase móvil; metanol--
 agua (65:35), vel de flujo 3ml/min, detector U.V. 254.

Uden y Bigley (26) emplearon la modalidad de adsorción
 líquido-sólido para la separación isocrática de dietilditio-
 carbamatos de Cu(II) y Ni(II) y Co(III) sobre partículas esféricas
 de gel de sílice de $8\ \mu\text{m}$ de diámetro, con un eluyente de composi-
 ción acetonitrilo, 15% dietileter y 80% de Skelly B (hidrocarbu-
 ro ligero del petróleo) Los quelatos se prepararon por reac-
 ción de soluciones acuosas del metal y solución de dietilditio-

carbamato sódico, recristalizando los complejos en cloroforma.- La detección se llevó a cabo por medio de un detector de U.V. - a 254 nm y se suplementó el método por el uso de un detector me talo específico de argón plasma para demostrar que los picos -- obtenidos correspondían a quelatos metálicos y no a otros com-- puestos. El mismo autor (27) publicó una detallada descripción de este sistema de detección: emisión argón-plasma usado para - la detección de especies metálicas después de una separación -- por HPLC. Encontrando que esta fuente presenta sensibilidad y - límite de detección superiores a otras técnicas ya que además - son adecuadas para determinación de multielementos.

En un estudio posterior O.Liska et al (8) trabajaron - con los complejos Bisdietilditiocarbamato de Zn (II), Cu (II), - Mn(II), Ni (II), Pb (II), Co (II), Cd (II) y Fe (II). Los ex-- perimentos se llevaron a cabo en columnas de acero inoxidable - de 20 x 0.45 cm empacada con LiChrosorb SI60 de (10 μ m). Se -- prepararon mezclas de complejos metálicos de N,N dietilditiocar-- bamato con volúmenes iguales de las soluciones de cada componen-- te individual (0.01 M) y se inyectaron 10 μ l de soluciones de - 0.001 M, la fase móvil consistió en cloroformo-ciclohexano que-- fue la que brindó óptimas condiciones.

Según se observa en la figura 7 la separación de una - mezcla sintética de nueve complejos metálicos de dietiltiocar-- bámico demuestran la utilidad del método.

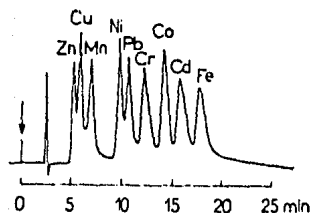


Fig 7.- Separación de una mezcla sintética de nueve complejos de N, N-dietilditiocarbamato. Zn (II), Cu(II), Mn(II), Ni(II), Pb(II), Cr(III) Co(II), Cd(II), y Fe(II).

Condiciones experimentales: Columna empacada con LiChrosorb - - SI-60 de 20X0.46 cm, tamaño de partícula 10 μ m, fase móvil --- 10% de cloroformo en ciclohexano, detector de U.V. 254 nm

Schwedt (28,19,30) reporta una separación isocrática - de complejos de Se, Cu(II), Ni(II) y Pb (II) en doce minutos -- empleando como fase móvil la mezcla acetonitrilo-agua y detec-- tor de U.V. a 254 nm. Asimismo reporta la separación de quela-- tos de Se, Cr (III), Ni (II) y Co (II) utilizando fase inversa. Adicionalmente, las posibilidades de separación de los tetrame-- tilenditiocarbamatos de Cd (II), Pb (II), Ni(II), Co(II), Zn -- (II), Cu y Hg(II) se estudiaron con columnas empacadas con - -- LiChrosorb RP-8, empleando metanol-agua en la proporción - -- (70:30) como eluyente y detector de UV a 254 nm. Los resulta-- dos se muestran en la figura 8.

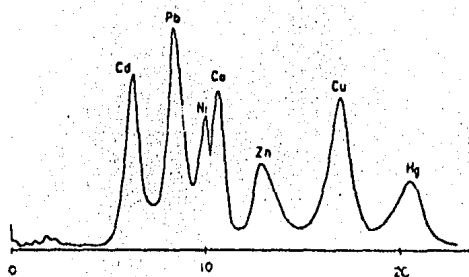


Figura 8.- Separación por fase inversa de tetrametilén ditiocarbamatos.

Condiciones experimentales: Fase móvil metanol-agua (70:30), - velocidad de flujo 1.2 ml/min, columna 250 X 0.46 cm empacada con LiChrosorb RP-8 (10 μ m) y detector de UV a 254 nm. (25).

Edward Inatimi y Dalziel (31) dan a conocer un esquema analítico de multielementos utilizando extracción con disolventes y HPLC sobre Hypersil, emplenado como fase móvil benceno -- grado reactivo y detector de UV a 280 nm. Separaron mezclas de complejos de Cu (II), Ni (II), Hg (II), Pb (II), Co (II), Mn(II) y Bi (II) en concentraciones de 0.1 a 5.5 g/ml.

Heizman y Ballschmiter (3) realizaron estudios con - - dialquilditiocarbamatos por HPLC para la separación de dietilditiocarbamatos de Cu(II), Hg(II), Ni(II), y CO(III). Utilizaron benceno como eluyente y una columna de vidrio de 15 cm y detector de UV a 330 nm. La secuencia de elución fue Cu, Hg, Ni, Co, para incrementar la separación de los quelatos de mercurio y cobre se utilizó una columna de 50 cm.

En el mismo artículos los autores también reportan - pruebas hechas con bencil, metilditiocarbamatos de Cu(II), Zn - (II), Ni(II) Cd (II) y Co (III), empleando columnas empacadas - con LiChrosorb SI 60 y mezcla de disolventes de baja fuerza, -- benceno-ciclohexano en proporción 3:1. Una vez alcanzado el -- pico máximo del quelato de Ni (II), se incrementó la velocidad- de flujo del eluyente de 8 a 20 ml/hr, obteniéndose bajo estas- condiciones el quelato de Pb (II) eluido con el de Co (III).

Por último, realizaron la separación de dietoxietildi- tiocarbamatos de Hg (II), Cu (II), Ni (II), Co (III), y As - -- (III). El análisis comenzó con un flujo de eluyente de 8 ml/hr que al ser tan bajo permitió la separación de los quelatos de - Cu (II) y Ni (II), la velocidad se incrementó posteriormente a- 20 ml/hr para lograr la separación de los quelatos de Co (III)- y As (III). Las figuras 9 y 10 muestran los resultados de dos- experimentos.

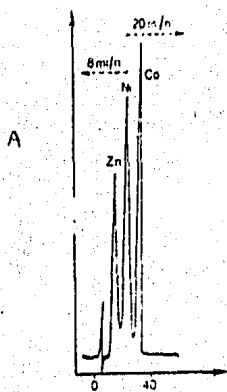


Fig 9.- Separación de bencil, metilditiocarbamatos metálicos por HPLC.

Condiciones experimentales: Eluyente benceno-ciclohexano (3:1)-
 velocidad de flujo 8 y 20 ml/h, columna de vidrio de 35 X 0.2-
 cm empacada con LiChrosorb SI 60 (40 μ m), temperatura 23°C.

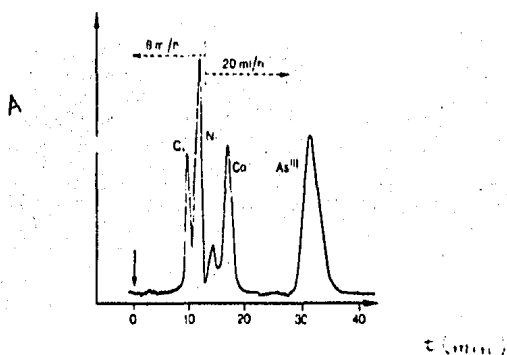


Fig.10.- Separación de dietietilditiocarbamatos por HPLC.

Condiciones experimentales: Eluyente tetracloruro de carbono -

acetonitrilo al 4%, velocidad de flujo 8 y 10 ml/h, columna de vidrio de 35 X 0.2 cm empacada con LiChrosorb SI 60 (40 μ m), - temperatura 23°C y detector de U.V a 360 nm.

Hutchins et al (32) emplearon HPLC para la separación de complejos dietilditiocarbámicos, con una columna radial de - diámetro de partícula de 5 μ m y módulo de compresión radial. - El detector de UV se operó a 254 nm y la fase móvil con un flujo de 2 ml/min.

Los estudios se ejecutaron en extractos clorofórmicos de los siguientes complejos metálicos: Cd (II), Hg (II), Co(II), Cr(III), Cr(IV), Pb(II), Mn(II), Bi(II), Ni(II), Zn(II), Fe - - (III) Te (IV) y V (V) y Se (VI).

Los complejos de Fe(III), Mn (II), y V(V) mostraron -- inestabilidad en cloroformo y no dieron picos definidos, para el complejo del ión Zn no se observó pico y para todos los demás si. El empleo de fases móviles binarias de metanol-agua o metanol-acetonitrilo dio como resultado resolución inadecuada y picos mal definidos mientras que la mezcla ternaria agua-meta-- nol-acetonitrilo brindó excelentes resultados y resolución adecuada.

Los resultados se muestran en la figura 11

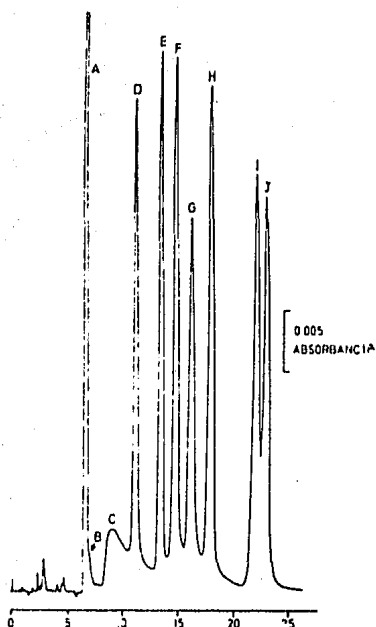


Fig 11.- Separación de una mezcla de complejos de dietilditiocarbamato; A) Disulfiram, B) Cd(II) C) Pb(II), D) Ni(II), E)Co(III), F)Cr(III), G)Se(IV), H)Cu(II), I)Hg(II) J)Te(IV).

Condiciones experimentales: Fase móvil, metanol-acetonitrilo - agua (40:35:25), velocidad de flujo 2.0 ml/min detector de UV a 254 nm volumen de inyección 10 l.

Los autores encontraron además que la adición de EDTA a la fase móvil contribuía a mejorar la elución de los picos de Cd(III) y Pb(II) ya que actuaba como un proceso de acondicionamiento de la columna permitiendo una mayor resolución de la mezcla de complejos, según se muestra en la figura 12.

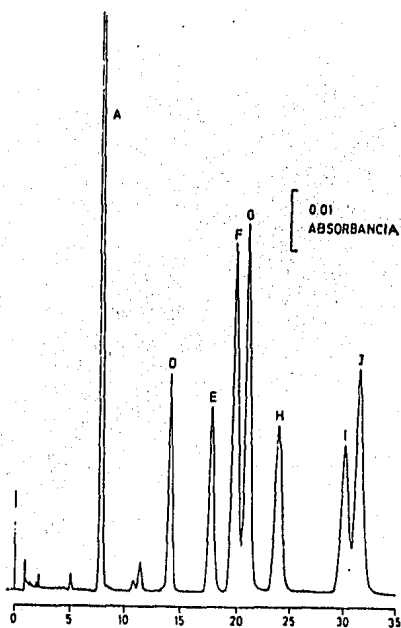


Fig 12.- Separación de una mezcla de complejos dietil ditiocarbámicos en una columna acondicionada -- con EDTA 0.005 M.

Las condiciones del experimento y los picos son los mismos que en la figura 11.

annister et al (33) reportaron la reacción de dietil-ditiocarbamato de sodio con *cis*-dicloroaminoplatino (II) en *ori*na para formar dietilditiocarbamato de platino (II), El quelato seextrae con cloroformo y se determina por HPLC empleando como-fase móvil la mezcla heptano-iso-propanol (82-18) a 254 nm en -columnas μ -Bondapak CN.

Con las condiciones antes mencionadas los autores afir

man que se puede medir platino en orina en un margen de 25 ng/ml con una precisión relativa del 2.5 al 4%.

Puede determinarse Cu (II), Ni(II), Co(II), Pb(II) y Fe (III) por HPLC fase inversa según reporte de Smith et al (34) quienes realizaron el estudio mediante inyección directa de las soluciones acuosas de estos iones sobre una columna -- Hypersil-ODS. Los complejos se forman en la columna por adición a la fase móvil de dietilditiocarbamato de sodio y una vez separados, se detectan a 350 nm.

Obtuvieron cuatro picos bien definidos de una mezcla -- compuesta de 100 ppm de Cu (II), 5 ppm Co (II), 110 ppm Pb (II) y 100 ppm Cd(II) empleando como fase móvil metanol -- agua con -- (DDTC de Na) al 0.05% (75-35), siendo el orden de elución: Cd-- (II), Pb(II), Co(III), Cu(II), el complejo de Co(II) eluyó -- igual que el de Co(III).

También encontraron en su estudio que la mezcla de complejos de Hg (I) y Hg (II) deba dos picos y que el Zn (II) daba uno, pero en ninguno de estos casos los tiempos de retención -- fueron reproducibles.

Shih y Carr (35) proponen un nuevo quelatante para el análisis multi-elemento de trazas de metales, el bis (n-butyl-2-naftilmetilditiocarbamato) de Zn(II) $(Zn(BNMDTC))_2$

En algunos casos los complejos metálicos dietilditiocarbámicos se disocian a bajas concentraciones, tienen bandas -- de absorción a diferentes longitudes de onda y en algunos casos tienden a reaccionar en la columna, el grupo naftilo del reacti

vo propuesto absorbe fuertemente a 221 nm y los grupos laterales estabilizan los complejos metálicos con este quelatante. -- Los autores usaron dos procolumnas, la primera empleada para saturar la fase móvil con gel de sílice y la segunda, una columna de gel de sílice derivatizada con diaminosilano para remover de la fase móvil, las trazas de metales.

Prepararon los complejos metálicos mediante reacción de sales metálicas con un exceso de Zn (BNMDTC)₂ y los disolvieron en la fase móvil a pH 8.25.

La columna analítica que emplearon fue Waters - - - RCM-100 C18 de tamaño de partícula 10 μm, también emplearon las columnas Supelcosil LC-8 de 5 μm y μ-Bondapak C18.

En la figura 13 se muestra uno de los cromatogramas -- obtenidos.

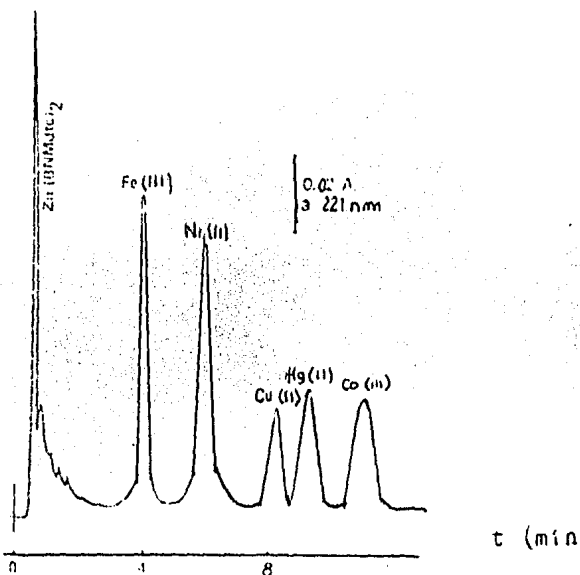


Fig 13.- Cromatograma de complejos metálicos de (BNMDTC)_n de una mezcla sintética conteniendo cada complejo en concentración 0.0001

Condiciones experimentales; Columna Waters Radial Pak C18 fase-móvil metanol-agua (95:5) pH=8.25,vel de flujo 2ml/min.

Ichinoki et al (36) desarrollaron un método para la -- determinación simultánea de seis metales en concentraciones de -- ppb en agua, por HPLC.

Como fase estacionaria, examinaron columnas de fase -- normal (de gel de sílice) y de fase inversa (ODS), y como elu-- yentes:n-hexano, ciclohexano, cloroformo, isopropanol, metanol, acetonitrilo, agua, acetato de etilo, eter dietílico, etanol y -- mezclas de ellos. Además se requirió de la adición de hexame-- tilenaminio, hexametilenditiocarbamato en concentración .001 M.

Los quelatos estudiados fueron del tipo hexametilendi-- tiocarbamatos de Cd(II), Ni(II), CO(II), Cu(II), Bi(III) y - -- Hg(II), y se separaron con éxito por medio de fase inversa en -- una columna ODS de 5 μ m utilizando como eluyente la mezcla; - -- metanol-agua-eterdietílico-buffer de cloruro de amonio (pH 7.5) y hexametilendiamonio, hexametilenditiocarbamato .001 M en las-- proporciones (82-93-3-3), se añadió además 3 μ l de cloroformo a la columna y se leyó a 260 nm.

Bajo las mismas condiciones, los autores aplicaron la-- técnica en muestras de agua de río, realizaron un proceso de -- extracción para la obtención de los quelatos e inyectaron la -- muestra obteniendo resultados comparables a los del patrón tal-- como se muestra en las figuras (4 y 15).

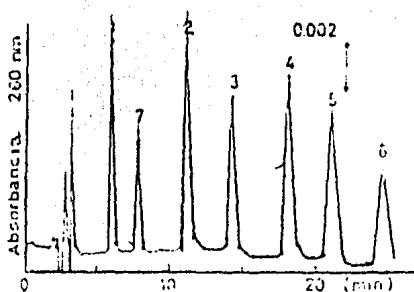


Fig 14.- Cromatograma de patrón de quelatos hexametilenditiocarbámicos. 1) Cd (2.3 ng) 2) Ni (7.5 ng), 3) Co (3.8 ng), 4) Cu (7.5 ng) 5) Bi (7.5 ng), 6) Hg (15 ng), 7) Producto de descomposición de HMA-HMDC.

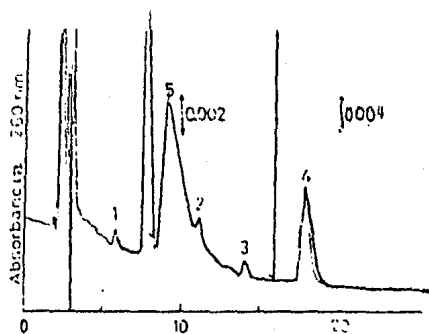


Fig 15.- Cromatograma obtenido de una muestra de agua de rfo. 1) Cd (0.7 ppb), 2) Ni (1.4 ppb) 3) Co- (1.4 ppb), 4) Cu (40 ppb), 5) Zn

Condiciones de ambos experimentos: Columna Cosmosil 5 C18 - --- 15X0.46 cm (10°C), fase móvil; metanol-agua-eter dietílico - -- HMA-HMDC 0.001M, buffer pH 7.5 (82-9-3-3-3). Vel de flujo 0.8 - ml/min, eluyente enfriado en baño de hielo.

Los límites de detección para los metales fueron: Para el Cd(II) 45 pg, para el Ni(II) 150 pg, para el Co(III) 75 pg, para el Cu (II) 150 pg, para el Bi(III) 150 pg y para el Hg(II) 300 pg.

Inatimi (37) empleó HPLC para la determinación de metales pesados en aguas residuales y de rios en forma de complejos ditizonatos y dimetilemoniodietilditiocarbamatos. Las muestras, tomadas directamente son tratadas con soluciones buffer de cloruro de amonio para mantener pH=8.5, a las que posteriormente se les añade solución clorofórmica de cualquiera de los dos que latantes para obtener los complejos.

La columna que dio mejores resultados para la separación fue la empacada con Hypersil 5 μ m, las lecturas se hicieron a 280 nm empleando como eluyente, benceno, siendo los límites de detección (dependiendo del metal) entre 5-200 ng.

La figura 16 muestra el cromatograma de la separación de una mezcla patrón de cinco complejos metálicos de ditizona. La aplicación del método a una muestra de agua contaminada proveniente de aguas residuales y extraídas con solución de ditizona se expone en la figura 17.

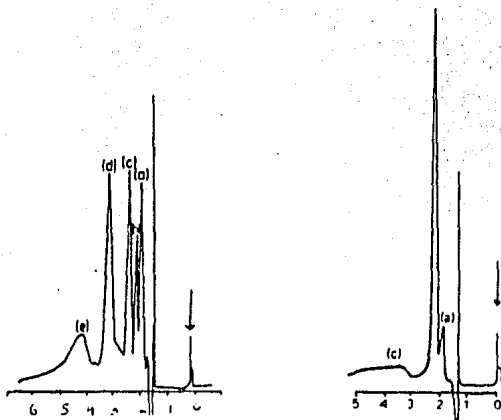


Fig 16.- Separación de una mezcla patrón de ditizonatos metálicos. a)Hg, b)Cu, c)Ni d)Co, e)Pb

Fig 17.- Cromatograma de una muestra de aguas residuales extraída con ditizona, a)Cu b)Ni, c)Pb

Condiciones de ambos experimentos.- Columna de 15. X 0.46 cm empacada con Hypersil (5 μ m), eluyente: benceno, vel de flujo - - 1.15 ml/min detector de U.V. 280 nm.

En los cromatogramas siguientes se muestran la comparación de la determinación por HPLC de una mezcla de complejos metálicos de dietilditiocarbamatos (Cu,Zn,Ni, Pb, Co,Mn) en el laboratorio con concentraciones conocidas y determinadas de cada uno de los compuestos de coordinación y muestras de diferentes regiones por las que pasa el río Támesis.

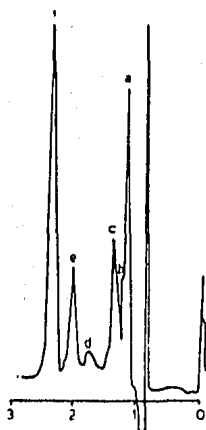


Fig 18.- Cromatograma de una mezcla patrón de complejos DDTC. Picos: a) Cu (0.2 ppm) b) Zn -- (50 ppm), c) Ni (2.5 ppm), d) Pb (50 ppm) e) Co -- (0.7 ppm), f) Mn (11 ppm).

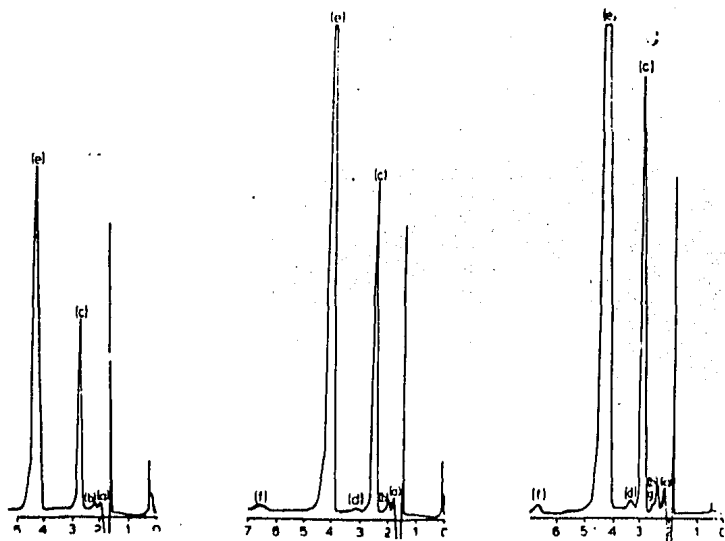


Fig 19.- Cromatogramas de trazas de metales de muestras de diferentes regiones del rio Támesis. A) Puente de Londres, B) Richmond, C) Gravesend. Picos: Dietilamonio dietiltiocarbamatos de; a) Cd, b) Cu, c) Ni, d) Pb, e) Mn f) Bi, y g) Hg.

Condiciones de todos los experimentos (figuras 18 y 19). Columnas de 15 X 0.46 cm empacada con Hypersil (5 μ m) fase móvil; -- benceno, vel de flujo 1.26 ml/min. detector de U.V. a 280 nm, - pH=8.5

Bond y Wallace (5) demostraron que por medio de detección electroquímica podían revelarse quelatos de dietilditiocarbamato de Cu (II) en concentraciones de 10^{-6} M, mediante dos procedimientos; en uno de ellos el Cu (II) es acomplejado previamente a la inyección, en el segundo, se involucra la adición de una sal ditiocarbónica a la fase móvil, causando la formación "in situ" del complejo cuando se inyecta la solución del ión metálico.

Los autores encontraron que el Cu (II) sufre los pasos de oxidación y reducción en los electrodos de oro, platino y -- carón en un medio acetonitrilo-agua, siendo el método tan sensible que se puede detectar el cobre hasta en un ng sin interferencia de otros iones en la determinación.

Emplearon también la detección electroquímica para que latos de Cd(II), Pb(II), Co(III) y Fe(III) con lo que afirman - que el método es aplicable para el análisis de multielementos.

En un estudio posterior (38) los mismos autores desarrollan un método automatizado para la determinación por HPLC - de dietilditiocarbamatos y pirrolidinditiocarbamatos de Cu (II) y Ni(II) empleando detectores electroquímico y fotométrico.

Los pasos involucrados en el proceso son: Reacción --- química, separación y detección, todos ellos controlados por --

un microprocesador (que inclusive genera las ondas electroquímicas para el detector electroquímico) que maneja desde la inyección de la muestra hasta la recolección, almacenamiento e interpretación de los datos.

A la fase móvil, constituida por acetonitrilo-buffer de acetatos pH 6 (70:30) se le añade el quelatante en concentración 0.00010 M y de ese modo se forman "in situ".

La detección se basa en la oxidación de los complejos (para evitar la interferencia del oxígeno) y se emplea electrodo de carbón. Los límites de detección electroquímica reportados con CD a +0.70 volts vs Ag/AgCl son de 0.1 y 0.2 ng para Ni(II) y Cu(II) respectivamente y son comparables a los obtenidos por detector fotométrico.

En los cromatogramas 20 y 21 se muestra la comparación de los experimentos con los dos detectores.

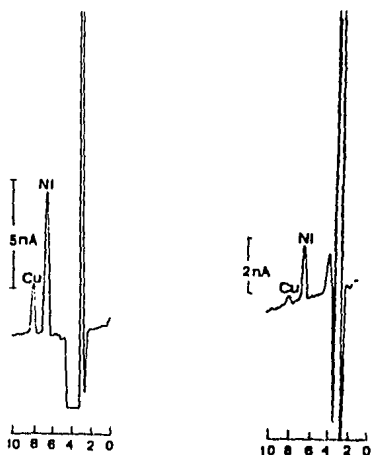


Fig 20.- Cromatogramas de ditiocarbamatos de Cu(II) y Ni(II) y Ni(II), a) Mezcla sintética b) Muestra de agua residual industrial.

Condiciones experimentales: Fase móvil; acetonitrilo-agua buffer de acetatos pH 6, NaNO_3 0.005 M y quelatante 10^{-4} M (70:30) vel de flujo 1 ml/min, detección electroquímica CD con electrodo Ag/AgCl +0.75V. Concentración de los metales; 2 ppm.



Fig 21.- Cromatograma de la determinación de Cu (II) y Ni(II) en muestra de agua residual industrial. Iguales condiciones que en el 20, detección espectrofotométrica -- 400 nm.

En el último trabajo de estos autores (39) se describe el uso de HPLC con detector electroquímico y fotométrico para la determinación automatizada de complejos de Pb, Cd, Hg, Co, Ni y Cu.

La formación se lleva a cabo por medio de la adición del quelatante a la fase móvil e inyección directa de las sales metálicas. Los autores emplean tres diferentes fases móviles: acetonitrilo-buffer de acetatos pH 5.8 con NaNO_3 0.01 M, (70:30), y las variantes metanol en lugar de acetonitrilo, y la mezcla acetonitrilo-metanol (50:20) en vez de 70% de acetonitrilo

10.

Emplean columnas de fase inversa, "Bondapak C-18, Spherisorb C-18 y Radapak C-18 de compresión radial, así como una columna de resina de intercambio iónico cuya función es remover el exceso de quelatante antes de la detección.

En general el uso de la columna "supresora" brinda buenos resultados al ser detectados electroquímicamente obteniéndose mejores señales con los pirrolidíntiocarbamatos que con los dietilditiocarbamatos, sin embargo en el caso del Cd y del Pb el empleo de esta columna reduce considerablemente la determinación.

Bond y Wallace emplearon los métodos antes mencionados (38,39) a nivel industrial, el primero durante más de un año y el segundo durante varias semanas mostrando así la potencialidad de la HPLC con nuevos detectores en el estudio de metales a nivel traza, así como el uso de sistemas controlados por microprocesadores.

2) B-dicetonatos

Saitoh y Suzuki (40 y 41) estudiaron el comportamiento de elución de varios quelatantes de B-dicetona y B-dicetonatos de Cr(III) por medio de HPLC modalidad exclusión por tamaño de partícula. Los quelatantes estudiados fueron: acetilacetona -- (HAA) trifluoroacetilacetona (HTFA), benzoilacetona (HBA), fu--roiltrifluoroacetona (HFTA), benzoiltrifluoroacetona (HBFA), --teoniltrifluoroacetona (HTTA) y dibenzoilmetano (HDBM) así como sus correspondientes quelatos de Cr(III).

En el estudio inicial (40) se seleccionó como compuesto modelo acetilacetonato y tris (acetilacetonato) cromo (III)- y se estudió su comportamiento sobre cromatografía en gel em---pleando Merckogel OR-2000. En el trabajo posterior (41) se investigaron los mismos quelatos sobre dos geles de polivilaceta--to (Merckogel OR-PVA 500 y Merckogel OR-PVA 2000) y dos de po--liestireno (Poragel 60 A y Bio-Beads S-X8) tratados previamente con n-dioxano y empacados en columnas de vidrio de 100 X 0.5 cm. El detector, de U.V. a 254 nm.

No obstante lo esperado, ni los quelatos ni las B-dice--tonas eluyeron en el orden correspondiente a sus pesos molecula--res, sino en el orden que se muestra en el cuadro siguiente.

Tipo de gel	Orden de elución
Merckogel OR-PVA 500	HDBM, HBFA, HBA, HTFA, HTTA, HETA, HAA
Merckogel OR-PVA 2000	HBFA, HDBM, HTTA, HBA, HTFA=HTFA, HAA
Bio-Beads S-X8 y Poragel 60A	HFTA, HTTA, HBFA, HTFA, HDBM, HBA, HAA
Merckogel OR-PVA 500 y Merckogel OR-PVA 2000	Cr(DBM) , Cr(BA) , Cr(BFA) , Cr(AA) Cr(TFA) , Cr(TTA) , Cr(FTA)
Bio-Beads S-X8	Cr(FTA) , Cr(TTA) , Cr(BFA)= Cr(DBM) Cr(TFA) , Cr(BA) , Cr(AA)
Poragel 60 A	Cr(FTA) , Cr(TTA) , Cr(BFA)= Cr(DBM) Cr(TFA) , Cr(BA) , Cr(AA)

Un estudio reciente de Noda et al (42) demuestra la posibilidad de separación de una mezcla de complejos de B-dicetonatos de Be(II) utilizando cromatografía de penetración en gel. Los quelatos estudiados fueron: bis (acetilacetato) y bis (teoniltrifluoroacetato). $Be(acac)_2$ y $Be(ttac)_2$.

Como disolvente para la separación de estos complejos se empleó acetilacetato conservándose el flujo del eluyente a 1 ml/min a través del experimento y se utilizó detector de U.V. a 380 nm.

El cromatograma de la mezcla de muestras dio tres picos como se muestra en la figura 22.

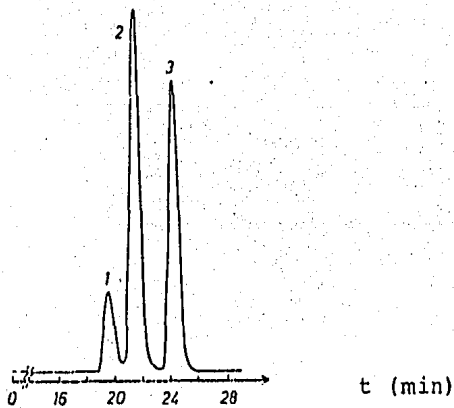


Fig. 22. Análisis de la mezcla de los complejos de Be, bis (acetilacetato) y bis (teoniltrifluoroacetato) Picos: 1) $\text{Be}(\text{ttac})_2$, 2) $\text{Be}(\text{acac})(\text{ttac})$ y 3) $\text{Be}(\text{acac})_2$

Condiciones experimentales: Columna Shodex 8C1 de 65 X.0.8 cm-
solvente etilacetato a 1 ml/min, detector de U.V. a 38 Onm.

Uden et al (43) realizaron un estudio con pares de isómeros de quelatos de Cr y Co empleando HPLC "normal".

Los quelatos fueron:

benzoliacetonatos de Co(III), $(\text{Co}(\text{BAA})_3)$

tris-(2,2-dimetilhexano-3,5dionato de Co(III), $(\text{Co}(\text{PAM})_3)$

Trifluoroacetilacetatonatos de Cr(III) (TFA) y hexafluoroacetil--
acetatonatos de Cr(III) (HFA), preparados en n-hexano.

Los experimentos se realizaron isocráticamente y por -
gradiente de elución, para el primer caso el detector fue de --
U.V. fijo a 245 nm y para el segundo un selector de longitud de
onda variable y programador de eluyente. Las columnas, empa-
das con gel de sílice Partisil (30 X 0.4 cm) e Hypersil (16 X -
0.4 cm), para la determinación posterior se empleó un detector-
argón-plasma.

Los autores encontraron que la absorción por HPLC con-
fase móvil de polaridad media permite la resolución de pares de
isómeros de $\text{Co}(\text{BAA})_3$ y $\text{Co}(\text{PAM})_3$. Asimismo les fue posible obte-
ner buena resolución de mezclas de complejos de Cr con hexaflu-
oroacetilacetona y trifluoroacetilacetona utilizando elución iso-
crática con fase móvil relativamente no polar. Lo que indica -
que la separación se puede llevar a cabo tanto por gradiente de
elución como por elución isocrática.

La figura 23 muestra los resultados obtenidos por -
los autores antes citados.

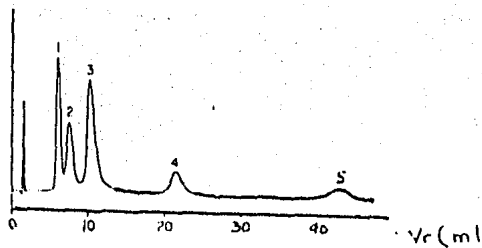


Fig. 23.- Separación por HPLC de la mezcla de los quelatantes de Cr (III) hexafluoroacetilacetato y trifluoroacetilacetato.

Picos: 1) Cr (HFA), 2) Cr (HFA)₂, 3) Cr(HFA) - (TFA)₂, 4) Cr (TFA)₃mer y 5) Cr(TFA)₃ fac.

En todos los casos los autores encontraron que el isómero MER eluía primero que el isómero FAC.

Hausley y Taylor (44) separaron acetilacetato de - - Co (II) y (III) así como de Cu (II) utilizando HPLC en su modalidad de exclusión por tamaño de partículas con posterior detección empleando emisión atómica acoplada inductivamente con plasma.

Huber et al (2) demostraron que HPLC en su modalidad de participación líquido-líquido con un sistema ternario de dos fases consistente en: agua-2, 3, 4 - trimetilpentano-etanol podía usarse para la separación isocrática de varios acetilacetatos metálicos.

La fase acuosa servía como líquido estacionario y se adhirió a partículas de gel de sílice de 5-10 y de 10-20 μm , -- la fase del hidrocarburo sirvió como eluyente.

Emplearon columnas de borosilicato de 10-25 X 0.27 cm-- siendo los complejos determinados acetilacetatos (AA) y trifluoroacetatos (TFA) de los diferentes metales que a continuación se listan.

1) Be(TFA)_2 , Al(TFA)_3 , Cr(TFA)_3 , Fe(TFA)_3 , Co(TFA)_3 , Cu(TFA)_2 , Ru(TFA)_3

2) Be(AA)_2 , Al(AA)_3 , Cr(AA)_3 , Fe(AA)_3 , Co(AA)_3 , Cu(AA)_2 , Ru(AA)_2

Ni(AA)_2 y Zn(AA)_2 .

Emplearon detector de U.V. a 310 nm y separaron los -- quelatos de Be(II) , Cu(II) , Al(III) , Cr(III) , Ru(III) y Co(III) en 25 minutos.

Los complejos de Ni(III) , Fe(III) y Al(III) produjeron picos asimétricos debido a reacciones hidrolíticas con la fase-estacionaria acuosa. El acetilacetato de Al(III) también sufrió hidrólisis produciendo varios derivados hidroxiscetilacetatos de Al(III) que también pudieron separarse por HPLC.

Las figuras 24 y 25 muestran resultados de los experimentos antes citados.



Fig. 24.- Separación de $\text{Be}(\text{AA})_2$, $\text{Fe}(\text{AA})_3$, $\text{Cr}(\text{AA})_3$ y $\text{Co}(\text{AA})_3$

Condiciones experimentales.- Columna de 50 x 0.27 cm, tamaño de partícula del empaque 10-20 m, velocidad de flujo 2.6 mm-seg.

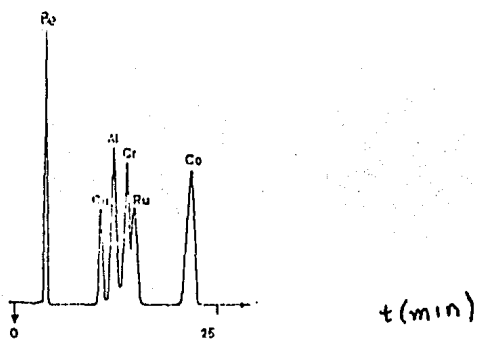


Fig. 25.- Separación de 6 acetil-acetonatos metálicos.

Condiciones experimentales: Columna de 50 x 0.27 cm, tamaño de partícula del empaque 5-10 m, velocidad de flujo 0.18 cm-seg.

Yamamoto et al (45) estudiaron la elución de acetil- - acetatos metálicos por cromatografía de exclusión por tamaño- de partícula, utilizando un copolímero de estireno-divinilbance no de 10 Å de porosidad, con una variedad de disolventes orgáni- cos (tetracloruro de carbono, cloroformo, benceno, tolueno y -- p-xileno) como fase móvil isocrática. La detección se llevó a- cabo con un refractómetro diferencial.

Los autores encontraron que con el empleo adecuado de eluyente, las columnas de gel de poliestireno pueden separar -- quelatos de tamaño similar tales como los acetilacetatos de - Cr(III) y Co(III).

Suzuki y Saitho (46) estudiaron el comportamiento cro- matográfico de los acetilacetatos de Al(III), Cr(III), - - Fe(III), Co(III) y Be(II) por exclusión por tamaño de partícu-- la en columnas de Merckogel OR-2000. Como fase móvil emplearon THF y prepararon las muestras disolviendo la mezcla de comple-- jos metálicos y poliestireno en THF inyectando 40 µl de la so-- lución.

La elución de los componentes de la muestra fue en el orden siguiente: poliestireno, n-hexadecano, n-heptano, Al(AA)₃, Cr(AA)₃, Co(AA)₃, Fe(AA)₃, n-pentano, Ni(AA)₂, Cu(AA)₂, y - - Be(AA)₂.

En un trabajo posterior (47) los mismos autores dna -- a conocer las características de elución y los coeficientes de distribución de acetilacetatos de Co(III), Al(III), Be(II) -- Cr(III) y Fe(III) en el mismo gel con una variedad de disolven-

tes orgánicos (cloroformo, benceno, tolueno, 1-4 dioxano, acetato de etilo, acetato de butilo, acetona, etil metilcetona y metanol).

Los autores encontraron que para todos los quelatos, - menos para el de Fe, las curvas de elución obtenidas eran bastante aceptables en todos los disolventes estudiados. Con metanol el complejo de Al(III) y Fe(III) dan picos de elución demediado oblicuos, de modo que los resultados no son reproducibles.

Tollinche y Risby (1) realizaron un estudio extensivo del comportamiento de elución de una serie de β -dicetonatos sobre fases "enlazadas" de alúmina-gel de sílice y columnas de poliuretano de poro abierto. Los complejos estudiados fueron

- 1) Acetilacetonatos (acac) de; Cu(II), Co(II), Cr(III), Al(III), Be(II), Ru(III), Rh(IIII) y Co(III).
- 2) 2,2',7,7'-tetrametil, 3,5-heptanodionatos (thd) de Co(III), Cr(III), Fe(III) y Cu(II).
- 3) 1,1,1-trifluoro, 2,4-pentanodionatos (tfa) de Al(III), Cr(III), Co(III), Ru(IIII), Rh(III).
- 4) 1,1',1',2,2',3,3'-heptafluoruro- 4,6-octanodionatos (fod) de; Co(III) y Cr(III).

Los autores estudiaron diferentes empaques para columnas, entre ellos, alúmina, poliuretano, gel de sílice, siendo éste último con el que lograron mejores separaciones.

Encontraron que las columnas Micropart de 5 y 10 μm , de gel de sílice eluyen los β -dicetonatos de metales trivalentes cuando se emplean como fases móviles; metanol, 2-propanol o mezclas cloroformo-metanol, mientras que la mayoría de los complejos divalentes mostraron señales de adsorción irreversibles bajo estas mismas condiciones.

Llevaron a cabo separaciones de 2,4-pentanodionatos de metales trivalentes (Ru, Rh, Cr, Al y Co) y acetilacetonato de Be(II) en columnas de gel de sílice de tres diferentes tamaños de partícula. Lograron cierta separación de algunos de los complejos tal como se muestra en la figura 26, aunque no hubo elución entre Rh y Cr. Por otra parte el acetilacetonato de Al sufrió quimosorción en las columnas de Partisil de 10 y de 5 μm y no se logró eluir con ninguna de las fases móviles investigadas.



Fig. 26.- Separación de una mezcla de acetilacetonatos. Picos: 1) Be(II), 2) Ru(III), - - 3) Rh(III), 4) Cr(III), 5) Al(III) y 6) Co(III).

Condiciones experimentales: Columna Partisil 5 μm , de 25 cm de longitud, eluyente; diclorometano-acetonitrilo (92:8) velocidad de Flujo 1) 1.03, 2) 1.01. ml/min.

Con base en la resolución obtenida previamente, los autores experimentaron usando columnas μ -Partisil de 5 μm con los mismos quelatos metálicos (acac de Be(II), Ru(III), rh(III), Cr(III), Al(III) y Co(III) para observar el comportamiento de elución al cambiar la fase móvil, logrando una mayor separación entre los complejos, especialmente entre el de Cr(III) y el de Al(III) que no se había logrado en el experimento anterior. El cromatograma 27 muestra la separación de la mezcla.

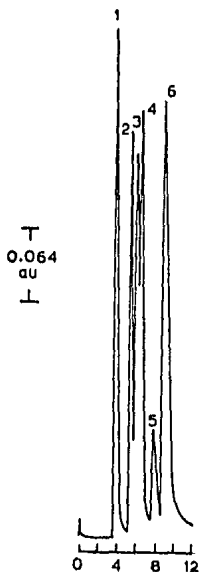


Fig. 27.- Separación de acetilacetatonatos metálicos. Picos: 1) Be(II), 2) Ru(III), 3) Rh(III), 4) Cr(III), 5) Al(III), 6) Co(III).

Condiciones experimentales: Columna Partisil 5 μ m de 25 cm eluyente 1,2-dicloroetano-metanol (98.6-1.4), vel de flujo 1.02 ml /min. detector U.V a 280 nm.

Realizaron otro estudio más, con columnas Partisil -- 5 μ m y los siguientes quelatos; Cr(thd)₃, Co(thd)₃, Fe(thd)₃, - Ni(thd)₂ y Cu(thd)₂, encontrando que el uso de benceno como fase móvil lograba la resolución de los mismos.

Finalmente investigaron con isómeros cis-trans de los complejos Cr(tfa)₃, Co(tfa)₃, Ru(tfa)₃ y Rh(tfa)₃, Co(fod)₃ y Cr(fod)₃ empleando varias fases móviles como n-heptano-isopropanol, n-hexano-benceno, tolueno, n-heptano-diclorometano, - n-hexano y n-pentano en columnas IEFF micropart de 5 μ m y Partisil de 5 y 10 μ m, leyendo en detector U.V. a 280 nm.

En todos los casos, el isómero trans eluye primero que el cis debido a la poca interacción con la fase estacionaria. - La figura 28 muestra una de las separaciones.

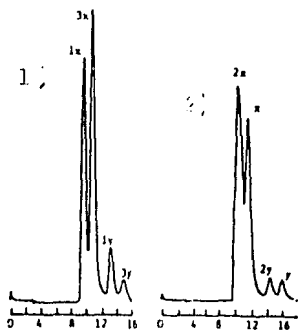


Fig. 28.- Separación de isómeros trans (x) y cis (y) de: 1) Cr(tfa)₃, 2) Co(tfa)₃, 3) Rh(tfa)₃ x, y Mezclas de isómeros trans cis.

Condiciones experimentales.- Columna Partisil de 10 μ m de 25 -
cm, eluyente; n-heptano-diclorometano (70:30) vel de flujo - -
1) 1.05, 2) 0.99 ml/min. detector U.V 280 nm.

Gurira y Carr (48) realizaron una investigación acerca del comportamiento cromatológico de acetilacetatos de Ni(II)- y Cu(II) utilizando HPLC modalidad fase inversa. Las soluciones de los quelatos metálicos se disolvieron en metanol o acetonitrilo y se diluyeron con agua hasta alcanzar la misma composición que la fase móvil, emplearon columnas del tipo C 18 con empaque de tamaño de partícula de 10-5 μ m. Detector U.V. 254-nm.

Los resultados a los que llegaron muestran que los quelatos dan picos poco definidos de baja resolución y retención - aparentemente por descomposición de las moléculas en la columna.

Suzuki et al (49) estudiaron varios complejos metálicos de tioteoniltrifluoroacetona (STTA) sobre esferas de poliestireno por HPLC. Prepararon quelatos metálicos por adición de solución etanólica de STTA a una solución acuosa de nitratos o cloruros de los siguientes metales; Ni(II), Co(II), Cu(II), - Zn(II) y Cd(II). Los disolventes usados fueron; ciclohexano, - benceno, acetato de etilo, acetona, etanol y metanol.

Con el objeto de investigar el efecto de los disolventes en el tiempo de elución de los complejos, éstos fueron medidos con diferentes disolventes.

Los investigadores hallaron que el uso de un disolvente modernadamente polar como fase móvil daba como resultado va-

lores del volumen de retención bastante similares, mientras que si se empleaba una fase móvil fuertemente polar los cinco compuestos daban diferentes valores del volumen de retención V_r , siendo el orden de elución de los compuestos con metanol como fase móvil: STTA $\text{Cd}(\text{STTA})_2$ $\text{Ni}(\text{STTA})_2$ $\text{Zn}(\text{STTA})_2$ $\text{Cu}(\text{STTA})_2$ y $\text{Co}(\text{STTA})_2$ como se muestra en la figura 29.

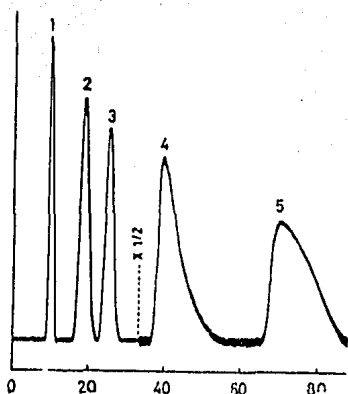


Fig. 29.- Separación de complejos de STTA.
Picos: 1) Ni, 2) $\text{4n}(\text{II})$, 3) $\text{Cu}(\text{II})$, 4) $\text{Co}(\text{II})$.

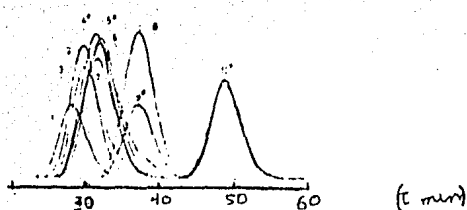
Condiciones experimentales: Columna Shodex Polymernak 805241 de 50 X 0.5 cm, fase móvil: STTA en metanol 5×10^{-5} M, flujo de 1.85 ml-min. detector de U.V. 364 nm.

Saitoh y Suzuki (50) estudiaron por medio de cromatografía en gel, el comportamiento de teoniltrifluoroacetona (TTA) y

sus quelatos metálicos (II,III).

El experimento se llevó a cabo en columnas empacadas con gel de polivinilacetato con p-dioxano como eluyente. Se investigaron los siguientes quelatos: $\text{Be}(\text{TTA})_2$, $\text{Al}(\text{TTA})_3$, $\text{Cr}(\text{TTA})_3$, $\text{Fe}(\text{TTA})_3$, $\text{Co}(\text{TTA})_3$, $\text{Ni}(\text{TTA})_2$, $\text{Cu}(\text{TTA})_2$, $\text{Zn}(\text{TTA})_2$ y $\text{Pd}(\text{TTA})_2$ y se leyó en detector de U.V. de onda variable.

A excepción del quelato de Zn, la mayoría de los quelatos dieron como resultado picos simétricos como se muestra en la figura número 30.



t elución (min)

Fig. 30.- Curvas de elución de TTA y sus quelatos metálicos. 1) Ni, 2) Cu, 3) Zn, 4) Co, 5) Al, 6) Fe, 7) Cr, 8) Be, 9) Pd, 10) TTA.

Condiciones experimentales.- Columna de 2 X 73 X 0.5 cm temperatura 35°C, fase móvil: dioxano de 6.89×10^{-5} M y flujo de - - .

.343 ml/min.

Willet y Knight (51) realizaron determinaciones de cromo en hojas de hortalizas mediante HPLC basándose en la detección fotométrica del acetilacetato de Cr(III).

Los autores reportan que el complejo metálico estudiado se ligó irreversiblemente a los grupos silanol activos de la columna μ -Porasil. Por otro lado, al utilizar columnas μ -Bondapak C-18 se obtuvieron resultados reproducibles, la fase móvil empleada fue agua-acetonitrilo (66:36) y se verificó que el complejo fuera el estudiado mediante espectrometría de masas.

Otros diferentes picos bien definidos fueron registrados y aunque no se identificaron, los autores los atribuyen a otros acetilacetatos metálicos.

3) β -Cetoaminas

Uden et al (52) aplicaron exitosamente la modalidad de fase inversa para la separación de los quelatos tetradentados neutros de Co(III), Ni(II) y Pd(II) con una variedad de quelatantes de B-cetoaminas y salicildiamida, fluorados y no fluorados, los cuales se listan a continuación:

N,N'-etilenbis (acetilacetonaímina)	(bae)
N,N'-propilenbis (acetilacetonaímina)	(bap)
N,N'-butilenbis (acetilacetonaímina)	(bab)
N,N'-etilenbis (salicildehídoímina)	(salen)
N,N'-etielnbis (trifluoroacetilacetonaímina)	(btfae)

Emplearon un octadecil enlazado como empaque de la columna Bondakak C-18 de 10 μ m y la elución le llevaron a cabo isocráticamente utilizando mezclas metanol-agu-acetonitrilo empleando como detector U.V. a 245 nm.

Los complejos de Ni(II), (bae), (bap) y (bab) se resuelven satisfactoriamente con la mezcla metanol-agua (55:45) en el orden citado, y muestran sustitución de los grupos metilo en el puente etileno, lo que provoca mayor partición en el empaque y por consiguiente, mayores tiempos de retención.

Los complejos análogos de Cu(II) se eluyen en el mismo orden pero presentan mayores tiempos de retención.

Los complejos de Pd(II) no presentan un patrón constante de elución sino que varfa según la composición de la fa--

se móvil. Para el caso de los quelatos (salen) se logra elu-
 ción con la mezcla acetonitrilo-agua (20:80) en el orden:
 Cu(II), Ni(II) y Pd(II).

Uden y Walters (53) emplearon fase "normal" para la
 separación isocrática de los quelatos neutros de Cu(II) y
 Ni(II) N,N'-etilenbis (acetilacetona^uimina) y N,N'-etilenbis
 (salicildiimina) utilizando columnas Partisil (gel de sílice
 de 10 m) como fase móvil la mezcla dicloruro de metileno-aceto-
 nitrilo (80:20) y detector de U.V. a 254 nm. Se confirmó la
 naturaleza de las especies separadas mediante espectroscopía ul-
 travioleta y espectrometría de masas.

Los dos pares de complejos eluyen dando picos más bien
 anchos y en el caso del N,N'-etilenbis (salicildiimina) de
 Cu(II) el pico se colea. Como se muestra en la figura 31 el or-
 den de elución en los dos casos es: Ni(II) Cu(II).

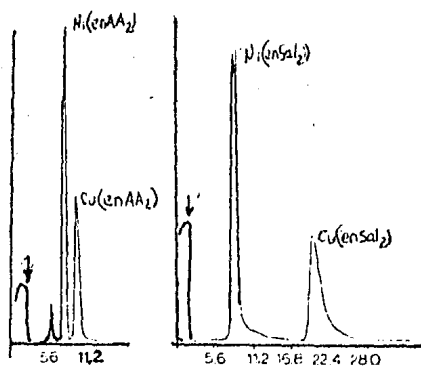


Fig. 31.- Separación de complejos de Ni y Cu.

Condiciones experimentales: Columna de 30 X 0.4 empacada con Partisil de 10 μ m, fase móvil; dicloruro de metileno-acetonitrilo (80:20), vel de flujo 2.8 ml/min.

Tollinche y Risby (1) estudiaron también la separación de β -cetoaminas de metales divalentes por HPIC mediante columnas de gel de sílice (HIEFF Micropart de 5 y 10 μ m).

Los quelatos N,N'-etilénbis (trifluoroacetilacetona imida) (btfae) y N,N'-propilénbis (trifluoroacetilacetona imida) (btfap) de Ni (II) y Cu(II) fueron separados con tres diferentes fases móviles; 1) diclorometano-n-heptano (80:20), 2) Diclorometano-acetonitrilo (99:1) y 3) diclorometano-n-heptano (90:10) siendo ésta última con la que se logró la mejor separación. En todos los casos el orden de elución es Ni(II), Cu(II) ya que los quelatos de Cu(II) interaccionan con el adsorbente dando mayores tiempos de retención. El cromatograma número 32 muestra los resultados de la separación empleando la fase móvil 3.

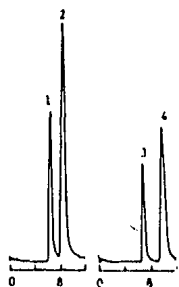


Fig. 32.- Separaciones de: 1) Ni(btfae₂)
2) Cu(btfae₂), 3) Ni(btfae₂) y 4) Cu(btfae₂)

Condiciones experimentales: Columna Partisil de 10 μ m de 25 cm, fase móvil; diclorometano-n-heptano (90:10), vel de flujo: - a) 1.02, b) 0.00 ml/min. Detector U.V. 280 nm.

Gaetani et al (54) reportan la separación de varias B--acetoaminas por HPLC modalidad partición líquido-líquido con columnas C-18 (Micropak CH de 10 μ m y "enlazada" 3-aminopropil--trietoxisilano (10 μ m-NH₂). Incluyen quelatos de: Co(II), - - Ni(II), Cu(II) de N,N'-etilenbis (acetilacetonaimina) (bae), - - N,N'-trimetilenbis (acetilacetonaimina) (bap) y N,N'-etilenbis (benzoilacetonaimina) (bpa).

Empleando fase inversa lograron una rápida separación de los complejos (bae) (figura 33) como fase móvil metanol-bu-ffer fosfatos pH 7.8 (65:35), y columna C-18.

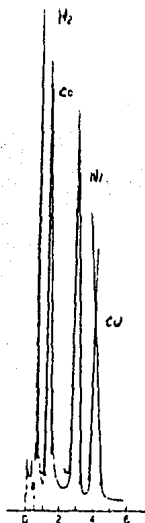


Fig. 33.- Separación de quelatos N,N' etilenbis (acetilacetonaimina)

Columna MicroPack CH(25 X 0.2 cm), metanol-fosfatos (65-35) -
vel de flujo 1 ml/min.

En la figura anterior se observa que el experimento da como resultado el mismo orden de elución Ni(II), Cu(II) encontrado por Uden et al (53). No se logra separación del quelato de Pd(II) por sobreposición con el pico de Ni(II) a las diferentes proporciones de buffer de fosfatos-metanol de la fase móvil.

Los quelatos (bpae) de Ni(II) se sobreponen al tratar de separarlos en columna C-18, sin embargo se logra cierta separación en la columna NH₂ con fase móvil metanol-agua (40:60) -- eluyendo en el orden; Cu(II), Ni(II).

Empleando columna -NH₂, los complejos de Ni, Cu y Pd - (bap) y (bae) no se separan con ninguna de las fases móviles empleadas.

Finalmente, los autores logran la resolución de complejos de Cu(II), (bae), (bap) y (bpae) en solución de THF con fase móvil de metanol-agua pH=7.8 (50:50) y leyendo a 254 nm. El orden de elución es el mencionado y se observa un tiempo de retención mucho mayor para el complejo (bpae) con respecto a los otros dos. El cromatograma se muestra en la figura 34.

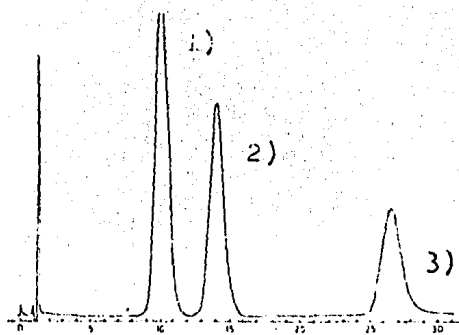


Fig. 34.- Separación de quelatos de Cu
 Picos: 1) N,N'-etilenbis(acetilacetona-
 imina), 2) N,N'-trimetilbis(acetilacetona-
 imina), 3) N,N'-etilenbis(benzoilacetona-
 imina).

Condiciones experimentales.- Columna MicroPak CH, fase móvil; -
 metanol-buffer de fosfatos pH 7.8 (50:50), vel de flujo 1 ml/--
 min, detector U.V. 254 nm.

Clakr et al (55) estudiaron la separación cromatogra-
 fica de los quelatos de cobre, níquel y paladio usando deriva-
 dos fluorados, semifluorados y no fluorados de sus complejos --
 con B-cetoiminas teniendo como grupos de enlace en el ligando, -
 etilendiamina, propilendiamina o butilendiamina.

La investigación se llevó a cabo utilizando columna --
 Partisil de 10 μ m y un detector de U.V. a 254 nm, el sistema de

disolventes fue cloruro de metileno al que se le adicionó acet--
tonitrilo como modificador en proporciones de 0, 2.5 y 5%. El-
efecto de esta adición produce mayor decremento en la retención
con lo que se permite la elución de los quelatos no fluorados.

Los autores encontraron el efecto que produce la fluo-
ración en el comportamiento de retención de los complejos, que-
es mucho más fuerte en los no fluorados que en sus análogos se-
mifluorados o fluorados para el caso de los tres metales. Tal-
es la retención que los compuestos fluorados eluyen cerca del -
volumen muerto de la columna. Todos los complejos fluorados --
son mínimamente retenidos en contraste con su comportamiento en
una columna ODS con metanol-agua (1:1) como fase móvil, donde -
sí son retenidos fuertemente.

Las diferencias de selectividad provocadas por la - -
fluoración son más pronunciadas cuando se reduce la polaridad -
de la fase móvil. Otra tendencia general es el significativo -
decremento visto en el volumen de retención de los quelatos de-
Cu(II) cuando el puente diamino se cambia sucesivamente de eti-
lén a propilén y butilén, siendo el efecto en sus análogos de -
Ni(II) y Pd(II) menos pronunciado.

4) Hidrazonas y semicarbazonas

Gasparini et al (56) separaron varios complejos de hidrazonas sustituidas de Pd(II), los complejos separados fueron de tipo: $\text{trans-}[\text{PdL}_2\text{Cl}_2]$ donde L es el ligante hidrazona sustituido, por ejemplo N-metil-N-pentilhidrazonas de metil, isopropilcetona, acetona, acetaldehído, así como de N,N-dimetilhidrazona de acetona. También estudiaron mezclas de complejos del tipo $\text{trans-}[\text{PdLL}'\text{Cl}_2]$.

Los estudios los realizaron en una columna LiChrosorb-DIOL con mezclas de n-hexano-diclorometano. Los autores encontraron que las columnas de gel de sílice no son efectivas y que los complejos son inestables y se adsorben fuertemente, en cambio, encontraron que la columna LiChrosorb DIOL era la adecuada ya que además permitía el uso de la fase móviles no polares, en las cuales los complejos son bastante solubles. Reportaron separaciones de seis componentes bajo condiciones isocráticas - - (fig 35), y mediante gradiente de elución fue posible la separación de todos los complejos de la mezcla en una sola corrida. - (fig. 36).

Complejos estudiados: I) N-metil-N-fenilhidrazona de metil, isopropilcetona. II) N-metil-N-fenilhidrazona de dietil, cetona. III) N-metil-N-fenilhidrazona de metil, n-propilcetona, IV) N,N-dimetilhidrazona de acetona, V: N-metil-N-fenilhidrazona de acetona, VI) N-metil-N-fenilhidrazona de acetaldehído. -- Todos del tipo $\text{trans-}[\text{PdL}_2\text{Cl}]$ donde L_2 es cada uno de los quelantes antes mencionados.

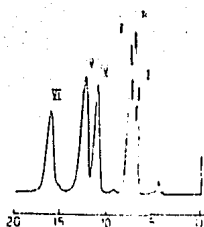


Fig. 35.- Separación de una mezcla de complejos Trans-[PdL₂Cl₂] bajo condiciones isocráticas. -- Fase móvil n-hexano-diclorometano (80-20).

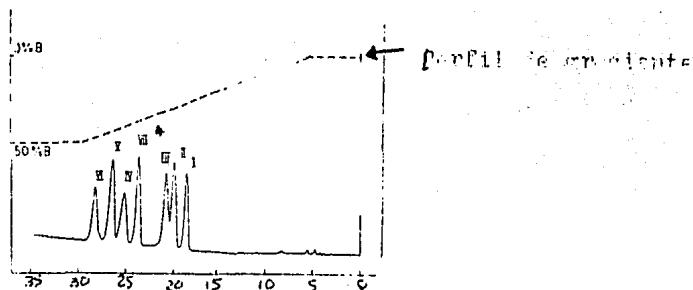


Fig. 36.- Separación de una mezcla de complejos Trans-[PdL₂Cl₂] empleando gradiente de elución. Fase móvil : n-hexano-diclorometano.

Condiciones de ambos experimentos: 2 columnas de 25 X 0.42 cm - empaque LiChrosorb DIOL (10 m) Vel flujo 1.5 ml/min.

T=25°C.

* VII: Trans [PdL^{2,5}L'Cl₂].

Heizman y Ballschmiter (3) reportaron en 1973 por primera vez la separación de quelatos de Hg(II), Cu(II), Pb(II) -- y Zn(II) de acetilbisbenzoilhidrazona, empleando como empaque - de la columna Mercksorb SI 60, Perisorb A y alúmina.

La detección para Hg(II) y Cu(II) fue del orden de - - nanogramos. Posteriormente, demostraron las posibilidades de - separación de quelatos; 1,2-dicetobistiosemicarbazona y 1,2-di- cetobisbenzhdrazona de Cd(II), Hg(II), Cu('II) Ni(II) y - - Co(III), por elución isocrática utilizando gel de sílice como - adsorbente.

Las fases móviles estudiadas consistieron en mezclas - binarias de benceno, n-hexano, cloroformo, acetonitrilo, ciclo- hexano y n-heptano, la detección la realizaron por U.V. a 360 - nm.

Se demostró que las características de elución de los- quelatos dependían de la variedad de sustituyentes en la molécu la del quelatante, los quelatos metálicos se detectaron en con- centraciones del orden nanogramos.

En las figuras 37 y 38 se muestran algunos de los re-- sultados de los experimentos.

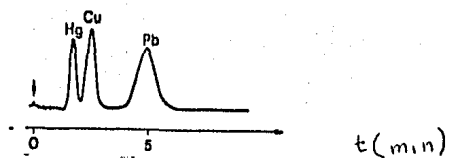


Fig. 37. Separación de diacetilbistiobenz-
hidrazonas metálicas (elución isocrática)

Condiciones experimentales: Columna de vidrio de 50 X 0.2 cm. -
empacada con LiChrosorb SI 60 (30 m), disolvente n-heptano-ben-
ceno (3:7), velocidad de flujo 2 ml/min. T 23°C.

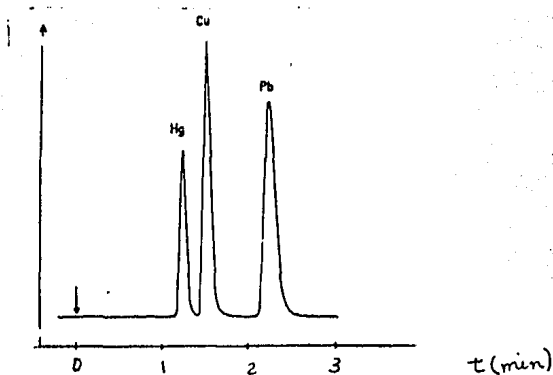


Fig. 38.- Separación de diacetilbistiobenz-
hidrazonas matálicas (elución isocrática)

Condiciones experimentales: Columna y empaque igual que en el -
experimento anterior, disolvente n-heptano benceno (1:1), velo-
cidad de flujo 1.5 ml/min.

Los mismos autores (57) realizaron la separación de - diacetilbis (tiobenzohidrazona) de Hg(II) y Cu(II) sobre una columna empacada con Mercksorb SI 60 de 20 μ m, empleando como fase móvil benceno, logrando determinaciones del orden de manograramos, mediante detección fotométrica.

Asimismo separaron una mezcla de quelatos de diacetilbis (tiobanzohidrazona) de Hg(II), Cu(II), Pb(II) y Zn(II) mediante gradiente de elución, añadiendo con una segunda bomba un componente polar.

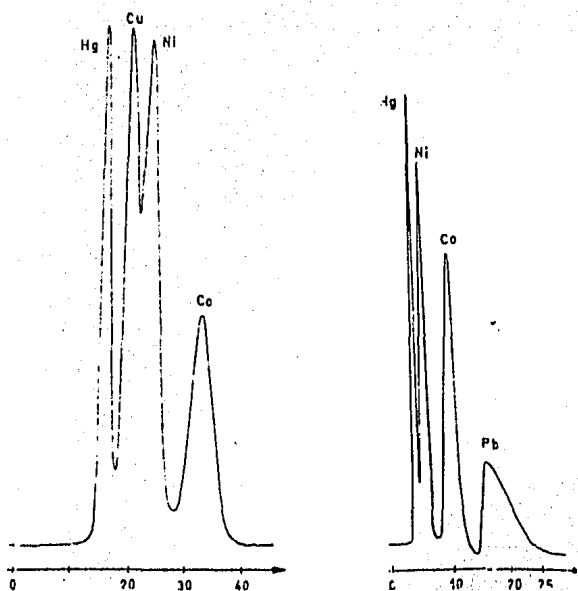
5) Ditizonatos

Lohmüller et al (58) reportan la separación de ditizonatos de Pb(II), Zn(II), Cd(II), Hg(II), Cu(II), Ni(II), y Co(III) por cromatografía de adsorción, con columnas LiChrosorb - SI 60 y benceno como fase móvil. Los quelatos de Cu(II) y Zn(II) no se resuelven bajo estas condiciones pero pueden eluirse individualmente o mediante la utilización de una columna -- más larga. El quelato de Cd(II) se adsorbe fuertemente a la -- columna y su elución solo puede lograrse sobre Perisorb A, pero aún así el pico no se obtiene bien definido. En el caso del -- quelato de Pb(II) el pico muestra desviación significativa.

Es posible lograr separaciones de mezclas de los -- otros quelatos como se muestra en las figuras 39 y 40. Las lecturas se hicieron a 525 nm.

O'Laughlin y O'Brien (50) obtuvieron resultados similares a los de los anteriores autores sobre columnas Corasil y -- μ -Porasil utilizando tolueno como fase móvil y leyendo a 270 - nm.

El complejo de Co(III) eluye después del de Pb(II) que aparentemente sufre descomposición. También se obtiene poca -- resolución para Cu(II) y Hg(II).



Figuras 39 y 40.- separación de ditizonatos metálicos.

Condiciones de ambos experimentos.- Columna de vidrio de 60 y - 50 cm empacada con LiChrosorb SI 60 (30 m), fase móvil; benceno, vel de flujo 20 ml/min.

Henderson et al (60) trabajaron en la separación de -- ditizonatos metálicos utilizando solvente alifáticos como fase-móvil. Mediante la adición de ácido acético a la mezcla hexano

(10%), butilamina (0.1%) dicloruro de metilo, el complejo de Pb(II) se eluye en un pico simétrico (fig. 41) comparable al resultado obtenido con tolueno o benceno.

Aunque los autores afirman haber eluido los complejos de Ni(II), Zn(II), Cd(II) y Cu(II) los picos no están bien separados, salvo en el caso del Co(III). Inclusive reportan la descomposición del ditizonato de Hg(II).

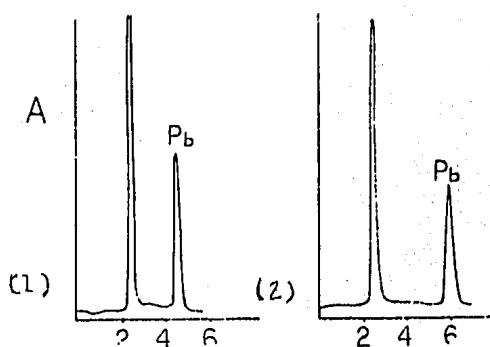


Fig. 41.- Elución de ditizonato de Pb(II) en solventes no aromáticos.

Condiciones experimentales: Columna 25 X 0.46 cm, empaque: gel de sílice Spherisorb GP, vel de flujo 1 ml/min.

Solvente: 0.2% ac acético-0.1% butilamina-dicloruro de metilo--

(1) 10% hexano, (2) 30% hexano.

6) 1, 10-fenantrolina

O'Laughlin y Hanson (61) reportan la separación de los complejos tris (1,10-fenantrolina) de Fe (II) y Ru(II) por HPLC variedad ión apareado, sobre una columna μ -Bondapak CN, tamaño de partícula $10\ \mu\text{m}$ con fase móvil metanol-agua o acetonitrilo--agua conteniendo 0.5% de ácido acético ó ac. metanosulfónico - 0.015 M. Como se muestra en la figura 42 la composición de la fase móvil metanol-agua (20-80) permite la separación de ambos complejos en un corto tiempo.

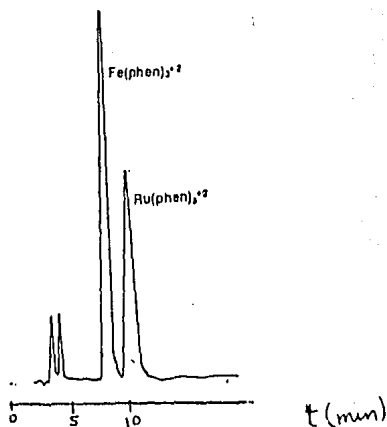


Fig. 42. Elución de complejos de 1,10-fenantrolina.

Condiciones experimentales. Columna μ -Bondapak CN, fase móvil 20% de metanol-80% sol acuosa de 0.5% ac acético ac. metanosulfónico 0.015 M vel flujo 1 ml/min, 265 nm.

Utilizando un detector fotométrico de onda variable a 448 y 512 nm (que corresponde a la longitud de onda de la máxima absorción para $\text{Ru}(\text{phen})_3^{2+}$ y $\text{Fe}(\text{phen})_3^{2+}$) los autores monitorearon la elución de 1,10-fenantrolina de Fe y Ru así como a 265 nm donde ambas especies también absorben fuertemente. Encontraron asimismo que la 1,10-fenantrolina de Ni eluye al mismo volumen de retención que para el caso del complejo de Ru(III). Sobre una columna μ -Bondapak C-18 con fase móvil metanol-agua (50:50) y como ión apareador; metanosulfonato, se logró cierta separación para los complejos de Fe(III) Ni(II) y Ru(III) pero los picos no resolvieron satisfactoriamente.

En un estudio posterior, O'Laughlin (62) logra la separación de 1,10-fenantrolina de Ni(II), Fe(III) y Ru(III) sobre una columna μ -Partisil-SCX con acetonitrilo-agua con ácido perclórico 0.06 M (80:20) como fase móvil leyendo a 265 nm. Los tres picos se resolvieron y separaron satisfactoriamente como se muestra en la figura 43.

El autor encontró que la retención de las especies $\text{Fe}(\text{phen})_3^{2+}$ y $\text{Ni}(\text{phen})_3^{2+}$ se incrementaba con el contenido acuoso de la fase móvil y que los volúmenes de retención disminuían de modo inverso al contenido de ácido perclórico.

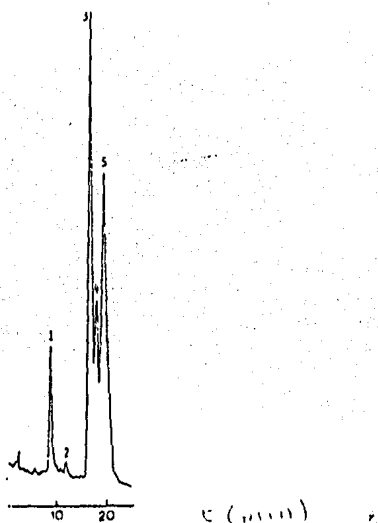


Fig. 43. Separación de complejos 1,10-fenantrolina, 1) Fenantrolina, 2) $\text{Ru}(\text{phen})_3^{2+}$, 3) $\text{Ni}(\text{phen})_3^{2+}$, 4) $\text{Ru}(\text{phen})_3^{2+}$, 5) $\text{Fe}(\text{phen})_3^{2+}$

Condiciones experimentales: Columna μ -Partisil-SCX
 fase móvil: acetonitrilo-agua (perclórico 0.06M) -
 T = 20 °C vel de flujo 1 ml/min. Detección 265 nm.

Yoneda et al (63) empleó cromatografía de intercambio iónico para separar dos pares de quelatos de fenantrolina y - - etilendiamina: $\text{Co}(\text{en})_3^{3+}$, $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$, $\text{Ni}(\text{en})_3^{2+}$ y - - $\text{Fe}(\text{phen})_3^{2+}$. La separación se llevó a cabo en una columna - Sp-Sephadex de intercambio catiónico empleando como eluyentes - - soluciones acuosas de diversas concentraciones de bromuro de - - potasio y sulfato de potasio, leyendo en el visible.

Los autores notaron una inversión en el orden de elu- ción para las especies de fenantrolina cuando se incrementa la-

concentración de bromuro de potasio en la fase móvil. A bajas concentraciones de bromuro de potasio el complejo de Co es retenido más fuertemente que el de Fe pero a concentraciones más altas del bromuro se invierte el orden de elución.

Para el caso de los complejos de etilendiamina no se observó inversión, en el orden de elución cuando se emplea el bromuro, pero al usar sulfato de potasio hay inversión para el par de complejos.

7) EDTA, etilendiaminas y aminoácidos

Jones y Manahan (64) demostraron que mediante HPLC se podían separar quelatos de Cu(II) tales como EDTA (etilendiamino tetraacético) NTA (ácido nitrilacético) EGTA (etilénbis oxietilennitrilotetra-acético) y CDTA (1,2-ciclohexilendinitrilo)-tetraacético.

Lograron la separación con una columna empacada con resina de intercambio iónico débil de 5 cm y como fase móvil una solución de sulfato de amonio 0.05 M. La elución de los quelatos se detectó por absorción atómica y eluyeron de la columna en el orden siguiente; Cu₂(EGTA), Cu(NTA), Cu(EDTA)²⁻, Cu(CDTA)²⁻. Este análisis lo desarrollaron para determinar agentes quelatantes como posibles contaminantes de aguas naturales y residuales. La figura 44 muestra el resultado del experimento.

Posteriormente los autores (65) realizaron la separación de los quelatos de Cu(II), EDTA (etilendinitrilotetraacético) y NTA por medio de detector de absorción atómica y de emisión de flama, estudiando con esto los límites de detección de estos detectores con respecto al convencional de U.V.

La separación se llevó a cabo por HPLC de intercambio iónico, con columna de 5 x 0.21 cm empacada con resina Aminex A-14 de 20, la fase móvil fue exactamente la misma que para el experimento anterior. El orden de elución encontrado fue NTA, EDTA, siendo los límites de detección superiores a los encontrados por U.V. (0.01 mg/1 para el Cu por absorción atómica).

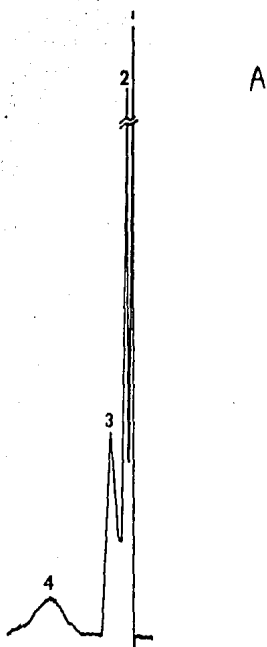


Fig. 44. Separación de quelatos de cobre:
 (1) Cu (EGTA)⁻, (2) Cu (NTA)⁻, (3) Cu (EDTA)²⁻
 (4) Cu (CDTA)²⁻.

Condiciones experimentales: Columna de 5 cm. empacada con - - Aminex A-14, fase móvil; solución de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.05 molar velocidad de flujo 2.0 ml/min. y detector de absorción atómica.

Warner y Leggs (67) demostraron que por medio de HPLC- se pueden lograr separaciones de diastereoisómeros geométricos- de complejos en-aminoácido-Co(III) utilizando columnas de gel - de sílice de 10-20 m con un sistema amortiguador de isopropa- - nol-bicarbonato de trietilamonio (70:30) pH= 9 registrando la-

absorbancia a 510 nm. Los complejos estudiados fueron: Co(en)_2 tirosina²⁺, Co(en)_2 aspargina y $\text{Co}(\text{ácido estilendiamindiacético}) (\text{en})^+$.

Aunque no fue posible lograr una resolución completa - en el caso de los complejos de aminoácidos se separaron rápidamente de otros compuestos en la mezcla. Los isómeros *sym-cis* y *unsym-cis* del complejo del ácido diamindiacético se resolvieron y separaron por completo, mediante el uso de éste método.

Buckingham et al (68) emplearon fase inversa para la rápida separación de complejos de bis(etilendiamino) aminoácido Co(III) utilizando fases móviles que contenían hexanosulfonato y p-toluensulfonato. Los complejos estudiados fueron del tipo $\text{Co(en)}_2 \text{ aa } X_2$; donde aa representa un aminoácido (gly, pro, val, leu o phe).

El orden de elución para los complejos de cobalto fue el mismo tanto para el p-toluensulfonato como para el hexanosulfonato, lográndose la separación de los cinco en menos de quince minutos detectándolos a 480 nm. (fig. 45).



Fig. 45. Separación de complejos de Co(III) utilizando p-toluensulfonato 5mM. Orden de elución: 1) gly 5.6 min, 2) pro 6.8 min, -- 3) val 8.8 min, 4) leu 10.8 min, 5) phe 13.8 min.

Condiciones experimentales: Columnas Bondanak C₁₈, velocidad de flujo 2.5 ml/min, gradiente de elución de C-100% metanol con p-toluensulfonato 5 mM, pH 3.5

Recientemente Lam-Tanh et al (69) reportan la separación de complejos dipeptídicos L-metionina de Pd(II) utilizando cromatografía de ión apareado, fase inversa.

El experimento se llevó a cabo bajo condiciones iso-cráticas; 40% de metanol en agua y sales cuaternarias de amonio como contraiones en concentración de 2 a 25 milimoles, ajustando el pH a 3, la detección fue a 380 nm.

Los complejos empleados fueron L-metionina Pd(II), --

L-metionil-L-alamina Pd(II) y L-alanil-metionina-Pd(II) y los -
contraiones usados; bromuro de cetiltrimetilamonio y cloruro de
tioctilmetilamonio (CTAB Y TMAC). La separación óptima se rea-
lizó con el sistema de metanol 40% en presencia de CTAP en con-
centración de 2 milimoles.

En 1981, se separaron quelatos metálicos por HPLC con-
derivación de fluorescencia post-columna con fluorescamina. (6)

Los quelatos se prepararon con sales de Pb, Zn y Cd --
empleando como quelatante ácido 4-aminofeniletildiaminotetra-
acético-4-NH Ph (EDTA).

Se empleó un detector de U.V. a 245 nm y para la detec-
ción de fluorescencia un fluoromonitor, lográndose determinacio-
nes para tres quelatos del orden de picogramos.

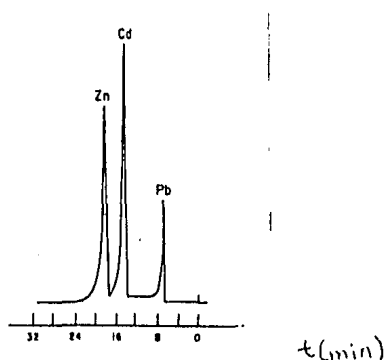


Fig. 46. Separación de quelatos de
4-NH₂Ph(EDTA) detectados por deriva-
ción de fluorescencia p-columna.

Condiciones experimentales: Columna de intercambio iónico Par-
tasil SAX 25 XO.46 cm, fase móvil: acetato de sodio 0.2 M OH --
6.5), Velocidad de flujo 1.5 ml/min.

Beckett y Nelson (70) separaron potencialmente quelatos metálicos fluorescentes del ácido 4-aminofeniletildiaminotetraacético en una columna Partisil-SAX de 10 μm y posteriormente detectaron la elución de los complejos por detección fluorométrica mediante reacción con fluorescamina. Los derivados exhiben una respuesta lineal en el detector de fluorescencia, del orden de 5×10^{-7} g. del ion metálico.

Straza y Polcaro (71) muestran las ventajas de una rápida separación de isómeros cis-trans de especies de Co(III) mediante el uso de HPLC.

Emplearon columna Micropak-SI de 10 μm y como fase móvil la mezcla; etanol al 95%, 2-propanol, acetato de amonio acuoso al 25%, ácido acético 1N en metanol, siendo las proporciones; (140: 60: 2.5: 5: 0.15) leyeron a 580 nm y la elución fue isocrática.

Realizaron la reacción $\text{Cis-}[\text{Co}(\text{en})_2(\text{OCOC}_6\text{H}_5)_2] \text{NO}_3$ con NH_4Cl para la formación de $\text{trans-}[\text{Co}(\text{en})_2(\text{OCOC}_6\text{H}_5)\text{Cl}]^+$. Fueron inyectadas después del calentamiento a 130°C durante 10 minutos, resultando en el cromatograma tres picos.

También llevaron a cabo la elución de las especies trans- $[\text{Co}(\text{en})_2\text{CO}_3]^+$, así como sus intermediarios (fig. 47) en la misma columna y con la fase móvil anterior, variando el segundo componente, metanol en lugar de 2-propanol, en las proporciones (60: 140: 2.5: 0.15). La detección fue a 340 nm y el tratamiento: Mezcla de NH_4Cl y $\text{Co}(\text{en})_2\text{CO}_3 \text{Cl}$ a 165°C durante 90 minutos.

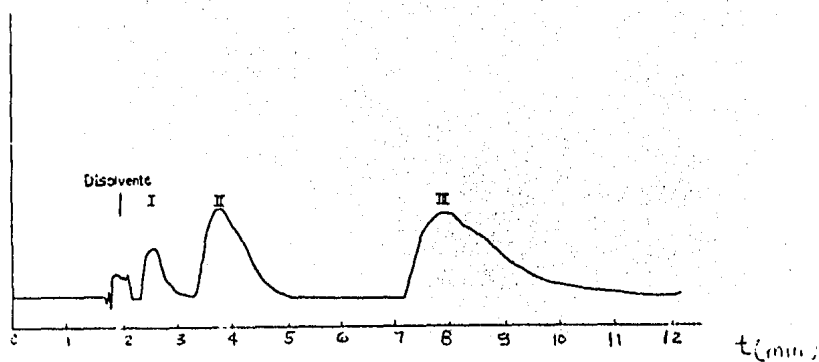


Fig. 47. Cromatograma de una mezcla de complejos de Co(III). 1) $\text{Trans-Co(en)}_2\text{Cl}_2$ + II) In^- intermediario, III) $\text{Co(en)}_2\text{CO}_3^+$.

Condiciones experimentales: Columna Micropak-SI de 50 x 0.2 cm de 10 μm . Fase móvil; etanol 95%, metanol, 25% acetato de amonio acuoso, ácido acético 1 N en metanol (60-140-2.5-0.15), Vel de flujo 1 ml/min, detector U.V. a 340 nm.

Yoshikawa et al (66) reportan el uso de HPLC de intercambio iónico para la separación de quelatantes aniónicos y catiónicos de Co(III) con amino, nitro, en, dien, trien, carbonato y oxalato de EDTA así como de ácido diiminoacético.

Las separaciones las llevaron a cabo en resinas fuertemente ácidas o fuertemente básicas utilizando cloruro de sodio acuoso y detector de U.V. a 254 nm. Este método también se aplicó para la separación de isómeros.

8) 8- Hidroxiquinoleína.

La 8-hidroquinoleína (oxina) podría considerarse como un quelatante ideal debido a la gran cantidad de iones metálicos que forman quelatos estables del tipo neutro, además, la mayoría de éstos poseen naturaleza fluorescente de modo que podrían detectarse más fácilmente. Estas características la hacen una molécula apropiada para las separaciones de mezclas -- multi-elementos por HPLC. No obstante, son relativamente pocos los trabajos que se han publicado acerca de este quelatante.

El primer reporte acerca de la separación de 8-hidroxiquinolatos lo realizaron Bethod et al (72) empleando HPLC fase inversa utilizando una columna RP-8 para los complejos de Cu(II), Co(II), Ni(II), Hg(II), y Fe(II).

Mediante la adición de 8-hidroxiquinoleína a la fase móvil, es posible la inyección directa de soluciones acuosas de los metales sin previa derivatización de los mismos, dependiendo los tiempos de retención de las condiciones experimentales, la composición de la fase móvil y la elección del quelatante.

La fase móvil usada fue metanol-solución de 8-hidroxiquinoleína 0.005 M en proporciones 55:45 para la detección de los picos eluidos emplearon; absorción al U.V 385 nm, absorción atómica y detector electroquímico. Los siguientes cromatogramas

togramas muestran los resultados obtenidos por dos de los métodos de detección.

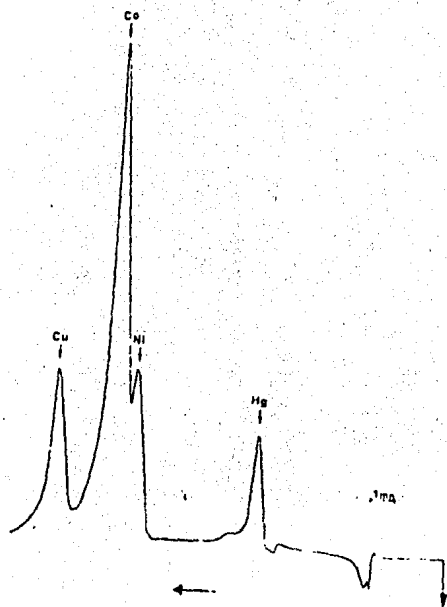


Fig. 48.- Cromatograma de 8-hidroxiquinoleatos.

Condiciones: Columna Lichrosorb RP-8 (5 μ m) de 15 cm, fase móvil metanol-agua (55:45) pH 8.5 hidroxiquinoleína - - - 0.095 M, vel de flujo 0.7 ml/min detector U.V. 385 nm.

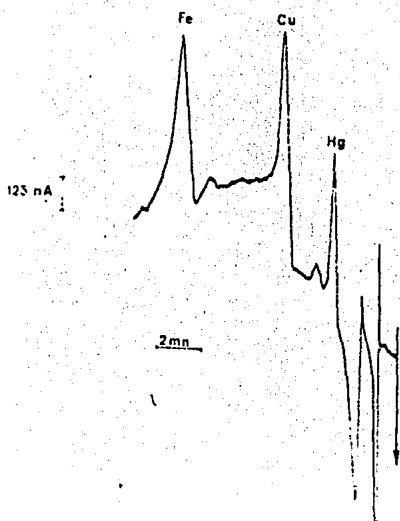


Fig. 49.- Separación de complejos metálicos de 8-hidroxiquinoleína por detección electroquímica.

Columna Lichrosorb Rp-8 5 μm de 5 cm, fase móvil; metanol-agua pH 8.5 con oxina 0.005 M (51:49) vel de flujo 0.9 ml/min.

Hambali y Hadd (73) reportan la separación de los quelatos de 8-hidroxiquinoleína con Al(III) y Co(III) mediante una columna Lichrosorb SI 60 de 10 μm con metanol cloroformo (5:95) como fase móvil. La elución se registró a 254 nm, los límites de detección para los complejos fueron de 0.9 y 17 ng para -- Co(III) y Al(III) respectivamente.

Bajo las condiciones citadas, los autores aseguran una total reproducibilidad de los resultados con desviación estándar relativa del 3%. En la figura 50 se muestran los cromatogramas de los complejos, por separado y en mezcla.

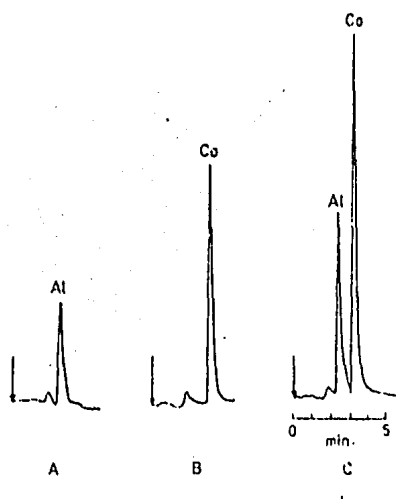


Fig. 50.- Cromatogramas de los quelatos de 8-hidroxiquinoleína de Co(III) y Al(III) separados (A y B) y en mezcla (C).

Condiciones experimentales.- Columna Lichrosorb SI 60 de 10 m, fase móvil metanol-cloroformo (5:95), vel de flujo 1.6 ml/min. detector de U.V. a 254 nm.

Los investigadores no lograron separar el complejo de Co(II) debido a su oxidación a la forma Co(III).

Wenclawiak (74) lleva a cabo la separación de los quelatos de V, Mo, W, Co y Cr en una columna de gel de sílice SI-60 empleando de fase móvil; la mezcla tetrahydrofurano cloro

formo (60:40), los complejos se forman fuera del aparato antes de la inyección y son leídos a 254 nm eluyéndose en el orden V, Mo, W, Co y Cr estando los límites de detección entre 0.5 y - - 1.5 ng.

En un estudio posterior, Hoffman y Schwedt (75) comparan el método de derivatización pre-columna (72) y el propuesto por Bethod (74) en columna, para la separación de complejos metálicos en aguas naturales por HPLC.

Encontraron que los complejos de Co(II), Mo(VI), Mn(II) y Mn(III) no se podían separar por el método de derivatización pre-columna ya que no daba resultados reproducibles. Sin embargo, la derivación en columna fue exitosa y se obtuvieron picos de los siguientes complejos con sus respectivos tiempos de retención (en minutos); Cr(IV) 2.45, Co(II) (4.01 y 4.09) Mn(II)-4.6, Zn(II) 4.88, Cu(II) 12.29, Al(III) 19.26 y Mn(III) 25.77.

Los mejores resultados los obtuvieron en columnas RP-8 y RP-18 de 5 m con fase móvil metanol-agua (o ina 0.005 M) - - 60:40.

Los investigadores notaron que durante el paso de la derivación algunos de los metales cambian su estado de oxidación por contacto con el aire, lo que trae como consecuencia -- que aparezcan dos picos en el cromatograma. En el caso del complejo de Co(II) se obtiene un solo pico si se deja reposar durante algunas horas antes de ser inyectado.

Finalmente concluyen que sí es posible determinar y separar complejos de Mn(II) y Mn(III) de aguas de río y de tie---

rras de cultivo, aunque parece ser que la presencia de Al(III)-interfiere un poco en la determinación.

Watanabe et al (76) afirman que trazas de elementos -- contenidos en agua de mar pueden concentrarse mediante la formación de sus respectivos complejos con 8-hidroxiquinoleína y -- posteriormente separarlos en columna C-18 Bondapak Porasil B -- con metanol como fase móvil.

9) Bipiridinas

Valenty y Behnken (77) reportaron el empleo de HPLC -- fase inversa-par iónico para separar complejos metálicos ióni--cos. Investigaron la elución de tris (2,2'bipiridil) rutenio II y sus derivados, diéster, monoéstermonocarboxilato, compuestos--que resultan de interés ya que se emplean como reactivos foto--sintéticos y fotosensibles para transferencia de electrones y --además pueden distinguirse con base en su solubilidad y su car--ga.

Emplearon una columna C-18 de fase inversa, gradiente--de elución lineal con tetrahidrofurano acuoso que contenía a --pareadores iónicos, la elución de los componentes se registró a 254 y 280 nm. Los apareadores se añadieron a la fase móvil y --consistieron en ácido metanosulfónico 0.015M, para la separa--ción de los quelatos de Ru(I,III, y IV) y ácido heptanosulfóni--co 0.005 M para la separación de los complejos (II,III y V). La separación de este último grupo se llevó a cabo en once minutos con una gradiente programada de tetrahidrofurano en agua (10: -40).

El orden de aparición (fig 51) es: III,V, y II con --tiempos de retención 4.5, 7.7 y 10.4 minutos respectivamente.

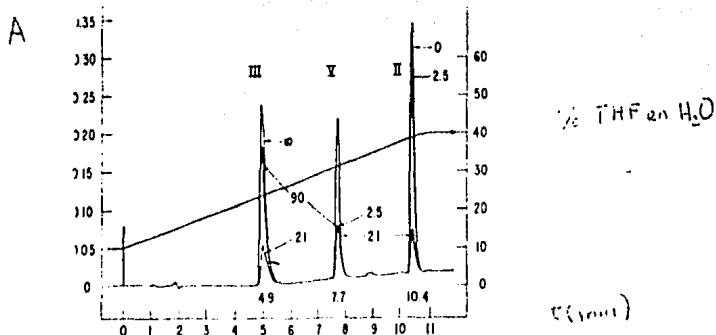


Fig 51.- Cromatogramas de la reacción de hidrólisis del complejo II en sol buffer 0.01 M y elución de los otros complejos.

Condiciones experimentales: Columna C-18, vel de flujo; 2 ml/ - min, Ph 3.5, la línea diagonal en el cromatograma muestra la -- composición de la fase móvil, n-heptano-ac sulfónico 0.005 M.

Mang a et al (78) estudiaron la separación de los complejos de Ni(II) y Fe(II) con tris (2,2'-bipiridina) por medio de HPLC modalidad ion apareado. Mediante una columna Bondapak-CN de 10 m lograron tres picos bien formados en el cromatograma, que eluyeron en el orden: 1) el quelatante 2,2'-bipirideno, 2) quelato de Ni(II) y 3) quelato de Fe(II).

El ion aparente que utilizaron fue $KSCN$ y se añadió a la fase móvil en solución 0.02 M, con metanol en proporción - - 40:60. Encontraron que el volumen de retención para el complejo de NI(II) disminuía exponencialmente con el aumento en la -- concentración del ión aparente.

10) Otros complejos

Cardwell et al (79) investigaron el comportamiento cromatográfico de los quelatos Tris(distiofosfatos) de Cr(III) y Co(III) $(M [S_2P(OR)_2]_3)$ donde M = Co ó Cr, y R=n-butil, n-propil, sec-butil, isopropil, isobutil y etil).

Debido a que estos quelatos presentan gran solubilidad en disolventes no polares, se empleó fase normal (columna - - - Spherisorb de gel de sílice (S5W) de 5 μ m) para la separación. La mayoría de los experimentos se corrieron con fase móvil hexano o pentano y la adición de un alcohol de bajo peso molecular en cantidad de 0.01-0.1%.

El detector de U.V. se utilizó a 310 nm cuando la solución contenía mezcla de quelatos de ambos metales y a 280 y 335 para Cr(III) y Co(III) respectivamente.

Observaron que los quelatos de Cr(III) son más estables que los de Co(II) ya que estos sufren reacciones aún a temperatura ambiente después de algunas horas. Si se inyecta la misma muestra después de un tiempo se obtiene en el cromatograma un número mayor de picos por los derivados que se han formado. En los cromatogramas 52 y 53 se muestran la separación, recién inyectados y después de varias horas.

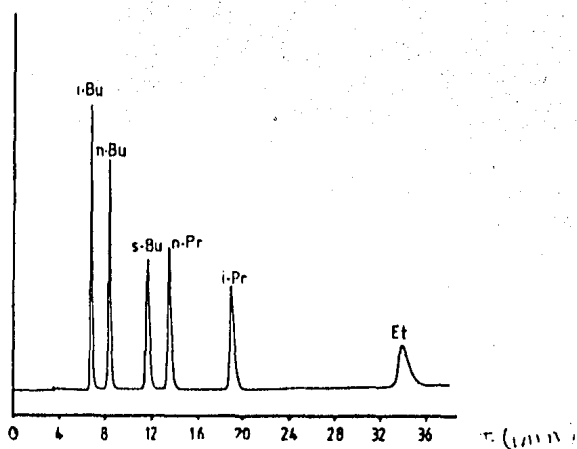


Fig 52.- Elución de seis diferentes dialquilditiofosfatos de Cr(III).

Condiciones: Columna Spherisorb de gel de sílice(S5W) 5 μ m de 25 X 0.46 mm. Fase móvil; hexano con 0.06% isobutanol conc ce cada complejo 0.0004M vel de flujo 1ml/min detección U.V. a 280 nm.

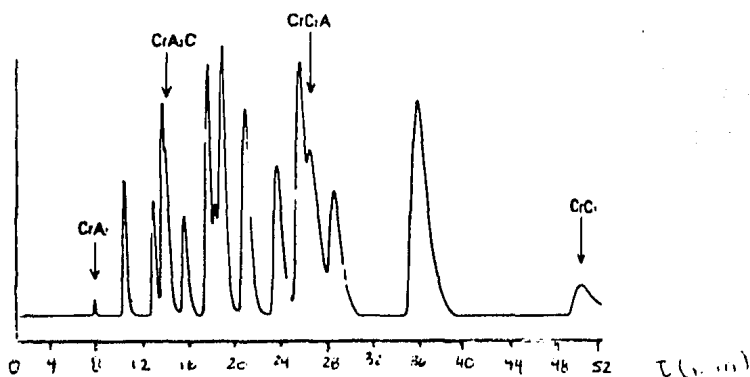


Fig 53.- Separación de los componentes de la mezcla de reacción de quelatos de Cr (III).

Condiciones iguales que en el experimento anterior exento por la fase móvil; pentano con 0.02% isobutanol.

Rocklin (80) logró la separación de complejos clorados de Au(III), Pd(II), Pt(IV), Fe(III) y Pb(II) mediante columnas de intercambio iónico, por inyección directa y por preconcentración, empleando U.V. y detección amperométrica para la determinación de las especies.

Los complejos se obtienen de tratar el metal con la mezcla HCl/HNO₃ (3:1). La resina empleada para el experimento consistió en perlas de latex de intercambio aniónico enlazada a una resina de intercambio catiónico.

Mediante la inyección directa se logra la separación de cuatro de los metales como se muestra en la figura empleando como eluyente la mezcla Na₂SO₄ 0.3 M y HCl 0.05 M y leyendo al U.V. a 215 nm.

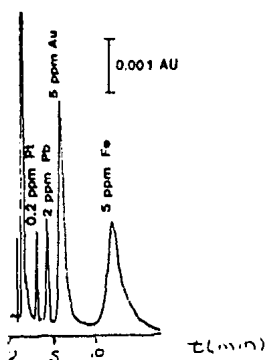


Fig 54.- Detección de complejos clorados metálicos por inyección directa.

Por otra parte, el método de preconcentración consiste en la retención selectiva de las especies por analizar en una columna concentradora de intercambio iónico y la posterior separación en una columna más grande, también de intercambio iónico. Con esta técnica se logran resultados de detección del orden de 1 ppb.

T Tsuda (7) lograron la separación de clorocomplejos de Fe(III), Ni(II), Cu(II), Sn(IV), Hg(II), Pb(II), Bi(III) y Sb(III) utilizando para ello microcolumna PTFE (7-15 cm de largo por 0.5 mm de D.I.). Prepararon su propio sistema de intercambio iónico recubriendo el empaque de la columna de gel de sílice LiChrosorb de 10 μ m con Capriquant y cloruro de metiln-octilaminio. Por otra parte, trataron también una columna LiChrosorb con HCl 6N a 80°C, posteriormente le adicionaron una mezcla de 1% de Capriquant en acetonitrilo.

Los complejos los prepararon por reacción del cloruro de cada metal con HCl 8N y la detección la realizaron con lámpara de visible y de ultravioleta.

Los autores reportan la separación múltiple de Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), Pb(II), Bi(III) y Sb(III) empleando como eluyente HCl en forma isocrática o mediante gradiente de elución, sin embargo, este eluyente hace que se retengan demasiado los complejos de Sn(IV), Sb(III) y Hg(II). Para evitar este efecto se añade a la fase móvil ácido perclórico.

Cassidy y Elchuck (81,82,83) describen un sistema de -
reacción post-columna para la determinación de metales poste- -
rior a su separación en una columna de intercambio catiónico.

Aplicaron esta técnica para la determinación de lanta-
nidos y metales de transición entre los que se encuentran Mn --
(II) Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II), Pb(II), --
Bi(III) y Mg(II). Emplearon columnas con empaques de intercamb-
io iónico fuertemente ácidas; Nucleosil fase enlazada de 5 m-
y Aminex A-5 de 13 m.

El reactivo post-columna es una molécula cromógena - -
4-(2-piridolazo) resorcinol de sodio y se añade al eluyente con
una bomba de flujo continuo, los complejos metálicos formados -
son entonces leídos de 530 a 540 nm. Con este método los auto-
res lograron determinaciones de los diferentes metales en el --
orden de pg/ml.

V. CONCLUSIONES

La determinación de metales es importante ya que la mayoría se encuentran como contaminantes y causan toxicidad, además de que son acumulables y varios organismos son capaces de concentrarlos así como sus compuestos, lo que asegura su ciclo en el medio ambiente. Para su detección se emplean agentes quelatantes que reaccionan para formar complejos y son determinados posteriormente por HPLC.

En la presente monografía se reúnen técnicas cromatográficas para la detección de los siguientes metales y elementos:

V(V), Cr(III), Cr(IV), Mn(III), Mn(IV), Fe(II), Fe(III), Co(II), Co(III), Ni(II), Cu(II), Zn(II), As(III), Mo(V), Ru(III), Rh(III), Ps(II), Cd(II), Sn(IV), Sb(III), Te(), Pt(IV), Bi(III), Au(III), Hg(II), Hg(I), Pb(II) y Be(II).

Los ligantes que se incluyen son: Ditiocarbamatos, β -dicetonatos, β -cetoaminas, Hidrazomas, semicarbazonas, 1,10-fenantrolina, 8-hidroxiquinolefina, EDTA, Bpiridinas etc.

En la siguiente tabla se presenta de forma más general y esquemática la relación de los metales con sus correspondientes ligantes así como las modalidades cromatográficas y métodos de detección empleados.

' ELEMENTO '	LIGANTES	'MODALIDAD'	DETECTOR	' REFERENCIA '
Ni,Cu,Hg,Co' Zn,Mn,Pb,Bi	Dimetil, dietil y di- butilditiocarbamatos	fase normal	'U.V.a 254,' 280,325	3,23,31 y 33.
Ni,Cu,Co,Pb' Zn,Mn,Cd,Fe'	Bisdimetil a Bisdioc- tilditiocarbamatos	fase normal	U.V.a 254'	8,20,21 y 22
Cu,Zn,Ni,Cd' Co,Pb	Bencilmetilditiocar- bamatos	fase normal	U.V-Visible	3
Hg,Cu,Ni,Co As	Dietoxidietilditio- carbamatos	fase normal	U.V-Visible a 360 nm	3
Cd,Hg,Co,Cr Mn,Bi,Ni,Zn Fe,Te,V,Se Pb,Cu	Dietilditiocarbama- matos	fase inversa	U.V-Visible' a 254 y 350	25,32 y 34
Cd,Ni,Co Cu,Bi,Hg Pb,Se,Cr	Tetrametilen y he- xametilenditiocar- bamatos	fase inversa	U.V a 254 y 269	28,29,30 y 36
Cr (III) y Cr (IV)	Pirrolidinditiocar- bamato amoniacaal	fase inversa	U.V.a 254nm	24
Zn,Fe,Ni,Cu Hg,Co	Bis(n-butyl-2-naf- til,metil)ditiocar- bamato	fase inversa	U.V.a 221nm	35
Cu,Ni,Co	Dietilditiocarbama- tos	Fase normal	emisión argón-plas- ma	26 y 27
Cu,Cd,Pb,Co Fe,Ni,Hg	Dietil y pirroli- dinditiocarbamatos	fase inversa	electroquí- mico y foto- métrico	5,38 y 39
Cr,Be,Co,Cu Al,Fe,Ni,Zn Pd	Acetilacetatos, Benzoilacetatos Trifluoroaceta- tos,benzoiltrifluo- ro acetatos	permeación en gel	U.V. a 254 y 280	40,41,42 46,47,50
Cr,Co,Cu,Al Be,Ru,Rh,Ni Zn,Cd	Benzoilacetatos, Acetilacetatos, Trifluoropentadio- natos, tertametilhep- tanodionatos	fase normal	U.V. a 280 y 245	1,43 y 49

Co,Cu	Acetilacetatos	permeación en gel	emisión atómica c/plasma	44
Co,Cr	Acetilacetatos	permeación en gel	refracto metro di ferencial	45
Be,Cu,Al,Cr Ru,Co,Ni,Zn	Acetilacetatos Trifluoroaceta cetatos	líquido- líquido	U.V. a 310 nm	2
Ni,Cu	Acetilacetatos	fase inversa	U.V. a 254 nm	48
Cr	Acetilacetato	fase inversa	detección fotométrica	51
Cu,Ni,Pd	N,N' etilenbisace tilacetona imina salicilacetato	fase normal	U.V. a 254 y 280	1,53 y 55
Ni,Pd,Co,Cu	N,N'-etilen a N,N' butilenbis (acetil acetona imina, N,N'- etilenbis (salicil diimina, N,N'-etilen bis (benzoil acetona imina).	fase inversa	U.V. 254 nm	52 y 54
Pd,Hg,Cu,Pb	Hidrazonas y semi carbazonas	fase normal	U.V-Visible a 360 nm	3,56 y 57
Pb,Zn,Cd,Hg Cu,Ni y Co	Ditizonatos	fase normal	U.V-Visible 270,525 nm	58-60
Fe,Ru,Ni	Tris (1,10-fenantro lina	apareamien to iónico	U.V a 265nm	61-63
Cu	EDTA, nitriloacetato etilenbis (oxietilén nitrilotetracético) 1,2-ciclohexilendi nitrilotetracético, etiléndinitrilote - tracético	intercambio iónico	absorción atómica	64,65
Co	Bis (etilendiamino) aminoácido	apareamien to iónico	visible 480 nm	68

Pd	Dipéptido L-metioni- na	apareamiento iónico	Visible 380 nm	69
Co	Amino,nitro,en,dien tien, carbonato y oxalato de EDTA	intercambio iónico	U.V. a 254 nm	66
Cu,Co,Ni,Hg Fe	8-hidroxiquinolefna	fase inversa	Visible 380 nm, a.a y det electroquim	72,76
Al,Co,Mn,Cr V,Mo,W	8-hidroxiquinolefna	fase normal	U.V. 254 nm	73-75
Ru,Ni,Fe	tris(2,2'-bipiridina)	intercambio iónico	U.V. a 254	77,78
Cr,Co	Tris(ditiofosfatos)	fase normal	U.V. a 310 280 y 335nm	79
Au,Pd,Pt,Fe Pb	Complejos clorados	intercambio iónico	U.V. a 215 y detección- amperométrica	90
Sn,Sb,Hg,Bi Pb,Fe,Cu,Ni	Clorocomplejos	intercambio iónico	U.V.	7
Mn,Fe,Co,Ni Cu,Zn,Cd,Pb Bi,Mg	4(2-piridolazo)re- sorcinol	intercambio iónico	Visible 530-540 nm	81,82 y 83

En el cuadro anterior se muestra que la mayoría de los autores emplean la fase inversa y el detector de ultravioleta para sus determinaciones.

De la gran variedad de quelatantes que existen, los -- que más se utilizan para la formación de complejos son los derivados del ácido ditiocarbámico, así como los dialquilditiocarbamatos ya que presentan la ventaja de reaccionar con la mayoría de los metales, formación de complejos estables con alta -- absorptividad molar, gran variedad de sustituyentes alquílicos, -- facilidad de extracción en soluciones acuosas con disolventes -- orgánicos y utilidad en la separación de mezclas de varios metales.

Mediante el uso de HPLC se han logrado determinaciones simultáneas de metales en diferentes estados de oxidación - --- (20,650 así como diferentes quelatos del mismo metal (46).

Con HPLC se logran separaciones de mezclas de especies quelatantes, así como de sus isómeros, seguir estudios de cinética de reacción y determinaciones de complejos no solo de soluciones de laboratorio sino de muestras reales de diversa índole (33 y 34).

Aunque en la última década se ha progresado mucho - --- acerca de las investigaciones de quelatos metálicos por HPLC, -- aún existen problemas que no se han solucionado como son; disociación que pueden sufrir durante el experimento, separaciones-cromatográficas poco satisfactorias, obtención de picos no definidos o bien, la reacción de algunos metales con los componentes de la columna. No obstante, consideramos que esta técnica -- es aplicable con alta confiabilidad a la determinación de quelatos metálicos, permitiendo su alta sensibilidad de detecciones en el ámbito de trazas o ppm.

VI. BIBLIOGRAFIA

- 1.- C.A Tollinche and T.N. Risby. *J. Chromatogr. Sci.* 16 (1978) 448.
- 2.- J.F. Huber, J.C. Kraak and H. Veening. *Anal Chem.*, 44 (1972) 1544.
- 3.- P. Heizman and K. Ballschmiter. *J. Chromatogr.*, 137 (1977) 153.
- 4.- B. Willeford and H. Veening, *J. Chromatogr* 251 (1982) 61.
- 5.- A. M. Bond and G.C. Wallace, *Anal Chem.* 53 (1981) 1209.
- 6.- *Anal Chem.*, 53 (1981) 1909.
- 7.- T.Tsuda et al, *J. Chromatogr.*, 242 (1982) 331.
- 8.- O. Liska et al, *J. Chromatogr.*, 172 (1979) 384.
- 9.- F. Basolo and R. Johnson. *Química de los compuestos de coordinación*. Ed. Reverté, Barcelona España, 1978.
- 10.- J. F. Huheey. *Inorganic Chemistry*. Harper Internacional -- Editor Sec. Edition, New York, 1979.
- 11.- A. Cotton & G. Wilkinson. *Química Inorgánica Avanzada*. Ed. Limusa México, D.F. 1976.
- 12.- G. Demitras. *Química Inorgánica*, Ed. Prentice Hall Int, Madrid España, 1977.

- 13.- C.F. Bell. Quelación de metales ; Principios y aplicaciones Ed. el Manual Moderno S.A. México, D.F. 1980.
- 14.- Snyder & Kirkland. Introduction to moder HPLC. John Wiley & Sons Inc. Sec Edition, New York, 1979.
- 15.- H. J. Knox, J. Chromatogr. Sci., 15 (1977) 252.
- 16.- Manual del cromatógrafo de líquidos marca Watters 440, Watters Associates, Willford Wass. 1984.
- 17.- G. W. Ewing. Métodos Instrumentales de Análisis Químicos- Ed McGraw Hill, México, D.F., 1979.
- 18.- McNair y Esquivel, Cromatografía Líquida de Alta Presión- Monografía No. 10. Serie de Química. Programa Regional - de Desarrollo Científico y Tecnológico, Sría Gral, O.E.A. Washington D.C. 1973.
- 19.- B. A. Bidlingmeyer. J. Chromatogra. Sci. 18 (1980) 525.
- 20.- O. Liska et al J. Chrometorg., 171 (1979) 145.
- 21.- O.Liska et al J. Chraomatogr, 171 (1979) 153.
- 22.- J. Lehotay et al, J. Chromatog. 172 (1979) 379
- 23.- M. Moriyasu and Y. Hashimoto, Rull, Chem. Soc, Jap. 53 -- (1980) 3590.
- 24.- G. Schwedt, Z. Anal. Chem., 295 (1979) 382.
- 25.- T. Tande eta al. Chromatographia., 13 (1980) 607

- 26.- P. C. Uden and I.E. Bigley, *Anal, Chim. Acta*, 94 (1977) - 29.
- 27.- P. C. Uden et al *Anal. Chim. Acta*, 101 (1978) 99.
- 28.- B. Schwedt, *Z. Anal. Chem.*, 288 (1977) 50
- 29.- B. Schwedt, *Chromatographia*, 11 (1979) 145.
- 30.- G. Schwedt, *Chromatographia*, 12 (1979) 289.
- 31.- B. E. Inatimi and A.W. Dalziel., *Anal Proc.*, 17 (1980) 40
- 32.- S.R. Hutchins and P.R. Haddad, *J. Chromatogr.*, 252 (1982)- 185.
- 33.- S. J. Benniester et al, *J. Chromatogr.*, 173 (1979) 333
- 34.- R. M. Smith et al, *Analyst.*, 107 (1982) 744.
- 35.- Y. Shin and P.W. Carr, *Anal. Chim. Acta.*, 142 (1982) 55
- 36.- S. Ichinoki et al, *J. Liquid Chromatogr.*, 6 (1983) 2079.
- 37.- B. Edward-Inatimi, *J. Chromatofr.*, 256 (1983) 253.
- 38.- A. Bond and G. Wallece, *Anal, Chem.* 55 (1983) 718.
- 39.- A. Bond and G. Wallace, *Anal. Chem.*, 56 (1984) 2085.
- 40.- K. Saitoh et al *J. chromatogr.*, 92 (1974) 291.
- 41.- N. Suzuki et al, *J. Chromatogr.*, 138 (1977) 79.
- 42.- H. Noda et al, *Chromatographia*, 14 (1981) 189.

- 43.- P. C. Uden et al, Anal, Chim. Acta., 100 (1978) 555.
- 44.- D.W. Hausler and L.T. Taylor, Anal, Chem., 53 (1981) 1223
- 45.- Y. Yamamoto et al, Anal. Lett., 6 (1973) 451
- 46.- K. Saiton and N. Suzuki, J. Chromatogr., 109 (1975) 333
- 47.- N. Suzuki and K. Saitoh. Bull. Chem. Soc. Jap., 50 (1977) 2907.
- 48.- R. C. Gurira and P. W. Carr, J. Chromatogr. Sci., 20 - -- (1982) 461.
- 49.- N. Suzuki et al, j. Chromatgr., 177 (1979) 166.
- 50.- K. Saitoh and N. Suzuki, Anal, Chem. 52 (1980) 30
- 51.- J. D. Willett and M. Knight, J. Chromatogr., 237 (1982)99
- 52.- P. C. Uden et al, Anal. Lett., 8 (1975) 795.
- 53.- P. C. Uden et al, Anal. Chim. Acta., 79 (1975) 175.
- 54.- E. Gaetani et al, Anal, Chem., 48 (1976) 1725.
- 55.- P. Clark et al, Polyhedron., 1 (1982) 785.
- 56.- F. Gasparrini et al, J. Chromatogr., 161 (1978) 356
- 57.- P. Heizman and K. Ballschmiter. Z. Anal. Chem., 266 -- -- (1973) 206.
- 58.- Lohmüller et al , J. Chromatofr., 137 (1977) 165.

- 59.- W.O'Laughlin and T. P. O'Brien, *Anal. Lett.*, 11 (1978) --
829.
- 60.- D. E. Henderson et al, *J. Chromatogr., Sci.*, 19 (1981) 79
- 61.- W. O'Laughlin and Henson, *Anal, Chem.* 52 (1980) 2263.
- 62.- W. O'Laughlin, *Anal Chem.*, 54 (1982) 178.
- 63.- H. Yoneda et al, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 53 (1980) 2403.
- 64.- D.R. Jones and S.E. Manahan, *Anal. Chem.* 48 (1976) 502.
- 65.- D.R. Jones and S.E. Manahan, *Anal. Chem.* 48 (1976) 1897.
- 66.- Y. Yoshikawa et al, *Chem. Lett.* , (1974) 1163.
- 67.- B.D. Wernwr and J.I. legg, *Inorg. Chem.*, 20 (1981) 1625
- 68.- D. A. Buckingham et al, *J. Liquid. Chromatogr.*, 4 (1981)
689.
- 69.- H. Lam-Tanh et al, *J. Liquid. Chromatogr.*, 4 (1981) 681.
- 70.- J.R. Beckett and D. A. Nelson, *Anal, Chem.*, 53 (1981) 911
- 71.- G.G. Strazza and C.M. Polcaro, *J. Chromatogr.*, 147 (1978)
516.
- 72.- A. Berthod et al, *Analisis.*, 7 (1979) 395.
- 73.- C.S. Hambali and P.R. Haddad, *Chromatographis.*, 13 (1980)
633.
- 74.- B. Wenclawiack, A. *Anal. Chem.*, 308 (1981) 120.

- 75.- W. Hoffman and G. Schewedt, Journ. HRC&CC., 5 (1982) 439.
- 76.- Watanabe et al, Anal, Chem. 53 (1981) 738.
- 77.- S.J. Valenty and P.E. Behnek, Anal. Chem., 50 (1978) 834.
- 78.- A. Mangia et al, J. Liquid. Chromatogr., 7 (1984) suplem-
1-2, 127.
- 79.- T.J. Cardwell and D. Caridi, J. Chromatogr., 288 (1984) -
357.
- 80.- R.D. Rocklin, Anal, Chem. 56 (1984) 1959.
- 81.- R.M. Cassidy and S. Elchuck, J. Chromatogr. Sci., 18 ----
(1980) 217.
- 82.- R.M. Cassidy and S. Elchuck, J. Chromatogr. Sic., 19 - --
(1981) 503.
- 83.- R.M. Cassidy and S. Elchuck, Anal. Chem., 54 (1982) 727.