

---

## Construcción de un sistema de cromatografía de líquidos de alta resolución y columna para el análisis de metales

I. Villanueva-Fierro<sup>1\*</sup>, J. M. Viguera-Cortés<sup>1</sup>, I. C. López-González<sup>1</sup>, D. Purnendu K.<sup>2</sup>, Ch. Yongjing<sup>2</sup>

<sup>1</sup> CIIDIR-IPN Unidad Durango, Sigma S/N, Fracc. 20 de Noviembre II, Durango, Dgo. 34220. Tel: (618) 814-2091, Fax: (618) 814-4540.

<sup>2</sup> Universidad de Texas en Arlington.

---

*Construction of a high performance liquid chromatography system and column for metal analysis*

### Abstract

It was constructed an equipment for High Performance Liquid Chromatography with a syringe pump, an injector port for 1  $\mu$ l sample size, a column prepared in situ for cationic exchange with SO<sub>3</sub><sup>-</sup> as active group, for the separation of metals as Al, Zn, Cd, Mg and Ca, that were complexed with HQS 0.2 mM at a flowrate of 3  $\mu$ l/min, before its separation into the column and detected by a fluorescence detector, to obtain a detection limit of 0.2, 0.4, 0.6, 5 and 8 pg of Al, Zn, Cd, Mg and Ca, respectively.

*Key words:* HPLC, Metals, fluorescence.

### Resumen

Se construyó un equipo de cromatografía de líquidos de alto funcionamiento con una bomba de jeringa, un puerto de inyección para 1  $\mu$ l de muestra, una columna preparada in situ de intercambio catiónico con SO<sub>3</sub><sup>-</sup> como grupo activo, para la separación de los metales Al, Zn, Cd, Mg y Ca, que fueron complejados con HQS 0.2 mM, con un flujo de 3  $\mu$ l/min, antes de su separación en la columna y detectados mediante un detector de fluorescencia, para obtener límites de detección de 0.2, 0.4, 0.6, 5 y 8 pg de Al, Zn, Cd, Mg y Ca, respectivamente.

*Palabras clave:* HPLC, Metales, fluorescencia.

---

### Introducción

El análisis de metales a nivel trazas ha sido de interés por un gran número de investigadores en las partículas de aire, agua y suelos, en particular los metales de transición por su toxicidad. Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, y Fe<sup>2+</sup> son separados en una columna comercial CS5A de DIONEX<sup>MR</sup> de una resina bi-funcional con ácido sulfónico y grupos cuaternarios; con piridin-2,6-dicarboxylate (PDCA) como eluyente y 4-(2-piridilazo)resorcinol (PAR) como reactivo postcolumna; su límite de detección está en el orden de unos pocos ng del metal, por

otro lado, si un detector de fluorescencia se usa, el límite de detección anda en el orden de pg de metal (Dasgupta *et al.*, 1987), con ensambles de LEDs-celda-fotodetector. En estos últimos años se ha observado progreso en la construcción de LEDs ya que ahora se construyen en el rango de ultravioleta y son más brillantes. No se ha observado mejoras significativas en los dispositivos electrónicos para detectar la luz o amplificar la señal (Dasgupta *et al.* 2003).

Soroka *et al.*, 1987 preparó un gran número de complejos de metales con ácido 8-hydroxyquinolin-5-sulfónico (HQS), con excelente sensibilidad para

---

\* Autor de correspondencia

E-mail: mgfonsecam@uaemex.mx

Al, Zn and Cd y los analizó por HPLC, utilizando equipo comercial; este conocimiento ha sido aplicado en este trabajo y ha sido utilizado por otros autores como Williams y Barnett, 1992; García-Reyes *et al.*, (2006).

La tendencia analítica a nivel mundial es a minimizar los sistemas de análisis. En este trabajo se presenta una alternativa para el análisis de metales mediante un sistema de cromatografía de líquidos de alta resolución construido con una bomba de jeringa, un sistema de inyección de seis puertos para inyectar 1  $\mu\text{l}$  de muestra, una columna monolítica de 2 cm de longitud con un diámetro interno de 180  $\mu\text{m}$  y un detector de fluorescencia construido con un diodo emisor de luz (LED) a 365 nm para excitar la muestra que tiene una emisión máxima a 510 nm y un fotodetector de silicio.

Una gran cantidad de metales fluorescen al acomplejarse con el ácido 8-hydroxyquinolin-5-sulfónico (HQS) Soroka *et al.*, 1987.

Ellos obtuvieron límites de detección de Al, Cd y Mg en el orden de unos pocos pg.

Además de obtener límites de detección, en algunos casos mejores que en un espectrofotómetro de absorción atómica, en este estudio se presenta la manera de cómo construir un cromatógrafo de líquidos de alta resolución con un costo de 30,000 pesos, comparado con uno comercial que cuesta alrededor de 400,000 pesos.

## Material y método

El detector de fluorescencia se construyó con tubo Peek verde y negro, un capilar de teflón TSU 100375, un LED de 365 nm de NICHIA (NSHU550B) a 30 mA, un tubo fotomultiplicador H5784 de HAMAMATSU (PMT) como fotodetector, una ventana transparente de polyester de 1 mm de espesor, y resina epóxica transparente, armados como se muestra en la figura 1.

El control del voltaje del PMT se fijó en 0.65 V, con una ganancia en el circuito de 16.4. Se usó un generador de señal con -15 V para excitar el LED a 1 kHz; una amplitud de 20 V sin modulador. El flujo de fase móvil de HQS se fijó en 3  $\mu\text{l min}^{-1}$ , y se suministró una mezcla de 5, 5, 5, 50 y 50  $\mu\text{M}$ , respectivamente de Al, Zn, Cd, Mg y Ca. El ruido se determinó como dos veces la desviación estándar de la base y el límite de detección como el estimado de 3 veces la señal a ruido.

### Preparación de la Columna

La preparación de la columna se hizo acorde a como la preparó Svec y Fréchet en 1992. Brevemente, se polimeriza en un capilar de 180  $\mu\text{m}$  de diámetro interno una mezcla de metacrilato de glicidilo y metacrilato de dietileno con catalizador AIBN a 60°C, en una mezcla de propanol y 1.4-isopropanol. Al terminar la polimerización se remueve el solvente y se pasa sulfito de sodio a través de la columna para que se adhiera el grupo sulfito al polímero preparado con anterioridad y

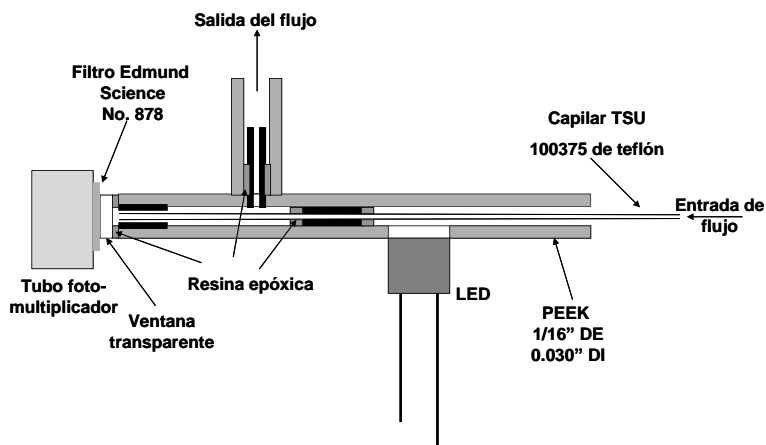


Figura 1. Parte interna del detector de fluorescencia, que se inserta en una coraza metálica.

quede disponible el grupo  $\text{SO}_2\text{O}^-$  para intercambio catiónico. Se utilizaron 2 cm de esta columna para hacer la separación de los metales

### Resultados y discusión

Se estuvo pasando a través de la columna los metales de transición  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ , y  $\text{Fe}^{2+}$ , sin embargo, el hierro, plomo y cobre salen al mismo tiempo de retención que el cobre. La figura 2 muestra la separación de los metales Al, Zn, Cd, Mg y Ca.

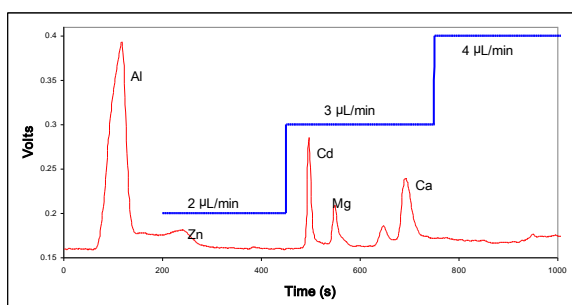


Figura 2. Separación de Al, Zn, Cd, Mg y Ca mediante HPLC a nivel micro

### Conclusiones

Los límites de detección encontrados de 0.2, 0.4, 0.6, 5 y 8 pg de Al, Zn, Cd, Mg y Ca, respectivamente son mejores que los que se puede obtener en un espectrofotómetro de absorción atómica.

### Agradecimientos

Este trabajo fue posible gracias al apoyo del IPN durante la estancia sabática en Texas, ya que mantuvo pagando las becas de COFAA, EDI, y del SNI, además de mi salario.

### Bibliografía

- Dasgupta, Purnendu K., Krystyna Soroka, and Rathnapala S. Vithanage. 1987. Metal ion chromatography with fluorescence detection. *Journal of liquid Chromatography*, 10 (5), 3287-3319.
- Dasgupta Purnendu K., In-YongEom, Kavin J. Morris, Jianzhong Li. 2003. Light emitting diode-based detectors Absorbance, fluorescence and spectroelectrochemical measurements in a planar flow-through cell. *Analytical Chimica Acta*. 500, 337-364.
- García-Reyes Juan F., Pilar Ortega-Barrales, Antonio Molina-Díaz. 2006. Sensing of trace amounts of cadmium in drinking water using a single fluorescence-based optosensor. *Microchemical Journal*. 82, 94-99.
- Soroka Krystyna, Rathnapala S. Vithanage, Denise A. Phillips, Brian Walker, and Purnendu K. Dasgupta, 1987. Fluorescence properties of metal complexes of 8-hydroxyquinoline-s-sulfonic acid and chromatographic applications. *Analytical Chemistry*. 59, 629-636.
- Svec Frantisek, and Jean M. J. Fréchet. 1992. Continuous rods of macroporous polymer as high-performance liquid chromatography separation media. *Anal. Chem.* 64, 820-822.
- Williams Tim and Neil W. Barnett. 1992. 8-Quinolinol-5-sulfonic acid as a non-selective post-column reagent for fluorimetric detection of trace metals in ion chromatography. *Analytica Chimica Acta*. 264, 297-301.