

Katedra i Zakład Chemii Ogólnej. Wydział Lekarski. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr Irena Krzeczowska

Irena KRZECZKOWSKA, Stanisław BILIŃSKI,
Diwa MISIUNA

Badania metodyczne nad przydatnością pochodnych 2-hydrazynotiazolu do wykrywania mikrogramowych ilości jonów Cu^{++} , Co^{++} , Fe^{++} i Fe^{+++} metodą rozdzielczej chromatografii bibułowej. I. Analiza jakościowa

Методические исследования пригодности производных 2-гидразинотиазола для выявления микрограммных количеств ионов Cu^{++} , Co^{++} , Fe^{++} и Fe^{+++} методом распределительной бумажной хроматографии. Часть I. Качественный анализ

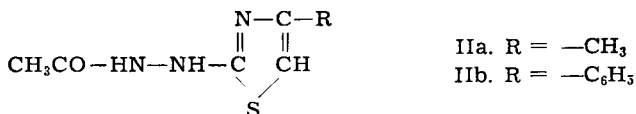
Methodical Investigations on the Usefulness of 2-Hydrazinotiazole Derivatives to Detect γ -Amounts of Cu^{++} , Co^{++} , Fe^{++} , Fe^{+++} Ions by the Method of Paper Partition Chromatography. I. Qualitative Analysis

W latach 1960—62 Toyozo Uno i wsp. (4—9) ogłosili wyniki szeregu prac poświęconych opracowaniu nowych odczynników analitycznych z grupy pochodnych tiazolu dla celów jakościowej i ilościowej analizy nieorganicznej.

Zainteresowani zagadnieniem pierwiastków śladowych (2—3) zwróciliśmy uwagę na możliwość zastosowania niektórych z wyżej wspomnianych związków do jakościowego i ilościowego oznaczania jonów Cu^{++} , Co^{++} , Fe^{++} i Fe^{+++} na drodze rozdzielczej chromatografii bibułowej. Do badań wybraliśmy pochodne u układzie 2-hydrazyno-4-R-tiazolu (I):



oraz 2-(2-acetylohydrazyno)-4-tiazolu (II):



Jak wynikało z jednego z doniesień (6) związki te dawały barwne reakcje ze stosunkowo największą ilością kationów, a jeden z nich 2-(2-acetylohydrazyno)-4-

-metylotiazol (IIa) pozwalał na równoczesne wykrywanie interesujących nas jonów Cu^{++} , Co^{++} , Fe^{++} i Fe^{+++} . Związek ten powinien być również najczulszym odczynnikiem na jony Fe^{+++} , natomiast 2-hydrazyno-4-fenylotiazol (Ib) — na jony Cu^{++} .

METODY BADAŃ I MATERIAŁY

Do rozdzielania mieszaniny jonów Cu^{++} , Co^{++} , Fe^{++} i Fe^{+++} stosowano metodę chromatografii wstępującej wg Williamsa i Kirby, chromatografii krążkowej zmodyfikowanej wg Zimmermanna G. i Nehringa K., lub chromatografii na płytkach Petriego, do których wstawiano naczynie z rozpuszczalnikiem. Chromatogram umieszczano między płytkami ze szkła, dolna posiadała otwór, przez który wyprowadzano pasek bibuły do solwentu.

Do prób używano bibuły Whatman nr 1 i 3 oraz stosowano układ solwentu: aceton — 4 n HCl (w stosunku objętościowym 85:15). Plamy kationów wywoływano używając 0,1% metanolowo-acetonowych (1:1) roztworów następujących odczynników:

- 2-hydrazyno-4-metylotiazol (Ia) i chlorowoderek (Ia.HCl),
 - 2-hydrazyno-4-fenylotiazol (Ib) i chlorowoderek (Ib.HCl),
 - 2-(2-acetylohydrazyno)-4-metylotiazol (IIa) i chlorowoderek (IIa.HCl),
 - 2-(2-acetylohydrazyno)-4-fenylotiazol (IIb) i chlorowoderek (IIb.HCl),
- Związki te otrzymano w naszej pracowni wg H. Beyera i wsp. (1).

Wywoływacze rozpylano szklanym rozpylaczem. Do przyrządzania roztworów kationów używano odczynników cz. d. a. i wody redestylowanej. Po naniesieniu roztworów kationów na bibułę suszono promiennikiem podczerwonym (foeny rozpylają żelazo ze spirali grzejnej). Po przepuszczeniu rozpuszczalnika chromatogramy suszono na powietrzu.

BADANIA WŁASNE

W pracy użyto roztworów chlorków kobaltu i miedzi, soli Mohra oraz siarczanu żelazowego, wszystkie substancje cz. d. a., o stężeniu od 0,1% do 0,0001% (w przeliczeniu na dany kation). Roztwory nanoszono na bibułę odpowiednią mikropipetką, pasemkami długości 10 mm i szerokości ok. 3 mm w ilości od 0,001 γ do 30 γ na pasmo. Roztwory z kationem Fe^{++} przygotowywano każdorazowo stabilizując je jednocześnie chlorowodorkiem hydroksylaminy. Barwy kationów Cu^{++} , Co^{++} , Fe^{++} i Fe^{+++} z odpowiednimi odczynnikami badano: 1) bez rozwijania chromatogramów, i 2) po rozwinięciu chromatogramu, nakraplając je pojedynczo, lub w mieszaninie.

I. Barwy i czułość reakcji kationów z odczynnikami Ia, Ia.HCl, Ib, Ib.HCl, IIa, IIa.HCl, IIb, IIb.HCl — bez rozwijania chromatogramów.

Badania przeprowadzono w środowisku:

a) kwaśnym (bibułę zakwaszono 0,01 n roztworem HCl) — wymienione odczynniki nie dawały zabarwienia z kationami;

b) obojętnym — barwy, czułość reakcji oraz czas ukazywania się plam podano w tab. 1. Zauważono, że szybkość ukazywania się plam

zależna jest również od stężenia substancji wywołującej, jednak roztwory wywoływaczy o stężeniu większym od 0,1% dawały na ogół silnie zabarwione tło bibuły, utrudniające obserwację plam, zaś roztwory wywoływaczy o stężeniu mniejszym od 0,05% obniżały czułość reakcji.

W środowisku alkalicznym badań nie przeprowadzano, ponieważ większość odczynników w tym środowisku jest nietrwała. Dobre wyniki uzyskiwano przez krótkotrwałe wysycanie (po wywołaniu) obojętnego chromatogramu parami amoniaku. Plamy intensywniały, a nawet zwiększała się czułość reakcji, szczególnie przy użyciu odczynników Ib i Ib.HCl, jednocześnie jednak intensywniało tło chromatogramu.

Po przeanalizowaniu wyników zebranych w tab. 1 wybrano do dalszych badań odczynnik IIa, zarówno ze względu na wielką czułość reakcji ze wszystkimi kationami, jak i na ostry obrys plam. Postanowiono również zbadać przydatność związku Ib do wykrywania jonów Cu^{++} , ze względu na kontrastowe, ostro obrysowane plamy.

II. Zastosowanie 2-(2-acetylohydrazyno)-4-metylotiazolu (IIa) do wykrywania kationów po rozwinięciu chromatogramów.

a) Metoda chromatografii wstępującej.

Do prób używano bibuły Whatman nr 1 i 3, uprzednio oczyszczonej przez przepuszczenie rozpuszczalnika: aceton — 4 n HCl (95 : 5). Po wysuszeniu bibuły na powietrzu наносzono na nią mikropipetką roztwory poszczególnych kationów pasmem 10 mm długim i około 3 mm szerokim, w ilości od 0,01 do 10 γ . Nakraplanie kroplą o $\phi = 5 - 10$ mm nie dawało zadowalających wyników. Wywołane plamy były zbyt wydłużone i rozmyte. Jako rozpuszczalnik najkorzystniejszy okazał się układ aceton — 4 n HCl (85 : 15). Uzyskiwano przy nim najbardziej zwarte plamy, a w mieszaninach największe różnice Rf. Chromatogramy rozwijano w temperaturze 16—20°C w cylindrach szklanych, dokładnie uszczelnionych. Czas rozwijania chromatogramów 4—5 godz., rozpuszczalnik przebywał w tym czasie drogę 22—25 cm. Po rozwinięciu chromatogramy suszono na powietrzu w ciągu 24—48 godz., co pozwalało na usunięcie dużej ilości chlorowodoru. W celu związania pozostałego w bibule chlorowodoru wysycano chromatogramy parami pirydyny w uszczelnionych cylindrach przez okres około 1 godz. Następnie chromatogramy spryskiwano bardzo równomiernie 0,1%, metanolowo-acetonowym (1 : 1) roztworem IIa używając rozpylacza szklanego i pobierając powietrze ze sprężarki z zastosowaniem filtrów. Chromatogramy suszono na powietrzu. Plamy Cu^{++} ukazywały się w czasie 5—20 minut, czułość reakcji wynosiła 0,02 γ , $\text{Rf}_{\text{Cu}^{++}}$ około 0,64. Układ plam o różnym stężeniu kationów Cu^{++} , widoczny jest na wycinku chromatogramu (ryc. 1).

Na chromatogramach z naniesionymi kationami Co^{++} i Fe^{++} , po wysyceniu pirydyną i wywołaniu IIa płamy nie były widoczne. Uwidacznia je dopiero krótkotrwałe wysycanie chromatogramu parami amoniaku. Czas wysycania amoniakiem nie powinien przekraczać 1 minuty, chromatogram należy natychmiast umieścić w szczelnej kopercie, aby uniknąć zaciemnienia tła. Dla jonów Co^{++} uzyskano czułość $0,02 \gamma$, $Rf_{\text{Co}^{++}}$ wynosi około $0,22$. Dla jonów Fe^{++} — czułość $0,1 \gamma$, a $Rf_{\text{Fe}^{++}}$ około $0,1$. Wycinek chromatogramu z naniesionymi roztworami Co^{++} o różnym stężeniu przedstawia ryc. 2.



Ryc. 1. Miedź wywołana odczynnikiem IIa (stężenia: 0,03, 0,06, 0,1, 0,2, 0,3, 0,6, 1, 2, 3, 6 γ)

Copper detected by the reagent IIa (concentrations: 0.03, 0.06, 0.1, 0.2, 0.3, 0.6, 1, 2, 3, 6 γ)



Ryc. 2. Kobalt wywołany odczynnikiem IIa (stężenia: 0,03, 0,06, 0,1, 0,2, 0,3, 0,6, 1, 2, 3, 6 γ)

Cobalt detected by the reagent IIa (concentrations: 0.03, 0.06, 0.1, 0.2, 0.3, 0.6, 1, 2, 3, 6 γ)

Niska czułość reakcji jonów Fe^{++} z odczynnikiem IIa, po rozwinięciu chromatogramu, spowodowana jest utlenieniem Fe^{++} do Fe^{+++} . Mimo stabilizacji roztworów Fe^{++} hydroksylaminą lub hydrochinonem oraz dodawania stabilizatorów do rozpuszczalnika rozwijającego chromatogram (na każde 100 ml rozpuszczalnika dodawano 1 ml 10% roztworu hydroksylaminy) utleniania nie dało się zahamować. Na skutek ciągłego utleniania Fe^{++} do Fe^{+++} i wypłukiwania tego ostatniego przez rozpuszczalnik (Fe^{+++} wędruje szybciej od Fe^{++}) nad każdą plamą Fe^{++} widoczny był stożek Fe^{+++} . Dużo lepsze wyniki uzyskiwano przy rozwi-

janiu chromatogramu zamkniętego między dwoma płytkami szklanymi (metoda krążkowa w płytkach Petriego). Fe^{+++} wędruje z czołem rozpuszczalnika. Obserwacja plam jest niemożliwa ze względu na to, że tak bibuła, jak i rozpuszczalnik (przede wszystkim HCl) zawierają zawsze pewne ilości żelaza, które daje po wywołaniu szeroki prążek w miejscu czoła rozpuszczalnika. Z tych przyczyn nie ustalono dla jonów Fe^{+++} czułości reakcji po rozwinięciu chromatogramu. W metodzie chromatografii wstępującej najkorzystniejszy zakres stężeń dla Cu^{++} i Co^{++} leży w przedziale od 0,06 do 1 γ , a dla roztworów Fe^{++} od 0,5 do 3 γ .



Ryc. 3. Chromatogram krążkowy mieszaniny kationów Cu^{++} , Co^{++} Fe^{++} (stężenie po 1 γ) wywołane odczynnikiem IIa
Circular chromatogram of the mixture of the cations Cu^{++} , Co^{++} and Fe^{++} (concentration 1 γ) detected by reagent IIa

b) Metoda chromatografii krążkowej.

W metodzie tej stosowano bibułę Whatman nr 3 oczyszczoną. Substancje nanoszono kroplami, uzyskując plamkę o ϕ — 10 mm i stężeniu 0,02—6 γ . (W czasie nakraplania krople suszono promiennikiem podczerwonym). Chromatogram nacinano w środku plamy, wsuwano w to nacięcie pasek bibuły o szerokości 2—2,5 mm i umieszczano między dwoma płytkami szklanymi. Przez otwór dolnej płytki wprowadzano pasek bibuły do rozpuszczalnika znajdującego się w płytce Petriego. Całość nakrywano szklanym kloszem. Gdy rozwijano chromatogramy o różnym stężeniu kationów, z płytek budowano stos. Stosowano rozpuszczalnik jak przy metodzie wstępującej. Czas rozwijania chromatogramów 4—5 godz. $Rf_{\text{Cu}^{++}} = 0,63$, $Rf_{\text{Co}^{++}} = 0,30$, $Rf_{\text{Fe}^{++}} = 0,22$.

Zauważono, że czułość reakcji jest na ogół 5-krotnie mniejsza dla jonów Cu^{++} niż w metodzie wstępującej, dla jonów Co^{++} około 2-krotnie

mniejsza, a dla jonów Fe^{++} wynosi około 0,1 γ , tj. tak, jak w metodzie wstępnej. Najkorzystniejszy układ prążków uzyskiwano dla stężeń jonów od 0,5 do 3 γ . Na ryc. 3 widoczny jest chromatogram krążkowy mieszaniny kationów Cu^{++} , Co^{++} i Fe^{++} o stężeniu 1 γ , wywołany przy pomocy odczynnika IIa, jak w metodzie wstępnej.

Czwarty prążek o największym R_f pochodzi od Fe^{+++} zawartego w rozpuszczalniku. Obecność tego silnie zabarwionego prążka, który występuje nawet na chromatogramach bez naniesionych jonów Fe^{++} , świadczy o dużej czułości reakcji IIa z jonami Fe^{+++} .

III. Wykrywanie jonów Cu^{++} przy pomocy 2-hydrazyno-4-fenylotiazolu (Ib) metodą chromatografii wstępnej.

Chromatogramy przygotowywano jak poprzednio i spryskiwano 0,1% roztworem odczynnika Ib w mieszaninie metanol-aceton (1:1). Czułość reakcji 0,6 γ . Uzyskiwano plamy bardzo zwarte o barwie różowej. Po kilku godzinach tło chromatogramu początkowo łososiowe, ciemnieje do brunatnego, co utrudnia obserwowanie plam, szczególnie o mniejszym stężeniu.

WNIOSKI

Jak wynika z pracy, najbardziej przydatnym jako odczynnik do wykrywania jonów: Cu^{++} , Co^{++} , Fe^{++} i Fe^{+++} w warunkach rozdzielczej chromatografii bibułowej okazał się 2-(2-acetylohydrazyno)-4-metylotiazol (IIa), ze względu na: a) możliwość równoczesnego wywoływania badanych kationów, b) największą czułość reakcji, c) trwałość barwnych plam, d) trwałość wywoływacza (dość czyste tło chromatogramu) i e) łatwość otrzymania odczynnika. Pozostałe odczynniki zarówno wolne zasady, jak i ich chlorowodorki w użytych przez nas warunkach okazały się mało przydatne.

PIŚMIENNICTWO

1. Beyer H., Lässig W.: Ber., 85, 1122—1129, 1952.
2. Krzeczowska I.: Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska (Lublin), Sec. D, 11, 199—232, 1956.
3. Krzeczowska I., Widomska-Czekajska T.: Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska (Lublin), Sec. D, 16, 307—321, 1961.
4. Uno T., Akihamas S.: Yakugaku Zasshi, 80, 1015—1020, 1960 wg Chem. Abstr., 54, 22577 b.
5. Uno T., Akihamas S.: Yakugaku Zasshi, 81, 579—585, 1961 wg Chem. Abstr., 55, 19903 f.

6. Uno T., Akihama S.: Yakugaku Zasshi, **81**, 585—590, 1961 wg Chem. Abstr., 55, 19904 f.
7. Uno T., Akihama S., Asakawa K.: Yakugaku Zasshi, **82**, 257—260, 1962 wg Chem. Abstr., 58, 3410 e.
8. Uno T., Akihama S.: Bunseki Kagaku, **10**, 750—955, 1961 wg Chem. Abstr., 58, 6167 f.
9. Uno T., Akihama S., Asakawa K.: Bunseki Kagaku, **10**, 755—760, 1961 wg Chem. Abstr., 58, 6167 h.

Pracę otrzymano 20 II 1965.

РЕЗЮМЕ

Исследовано возможности применения свободных оснований и хлористоводородных солей:

1) 2-гидразино-4-метилтиазола (Ia), 2) 2-гидразино-4-фенилтиазола (Ib), 3) 2-(2-ацетилгидразино)-4-метилтиазола (IIa), а также 4) 2-(2-ацетилгидразино)-4-фенилтиазола (IIb) для выявления ионов Cu^{++} , Co^{++} , Fe^{++} и Fe^{+++} (после распределения методом бумажной хроматографии). Наиболее пригодным для этой цели оказался 2-(2-ацетилгидразино)-4-метилтиазол (IIa).

Рис. 1. Медь выявленная реактивом IIa (концентрации: 0,03, 0,06, 0,1, 0,2, 0,3, 0,6, 1, 2, 3, 6 γ).

Рис. 2. Кобальт выявленный реактивом IIa (концентрации: 0,03, 0,06, 0,1, 0,2, 0,3, 0,6, 1, 2, 3, 6 γ).

Рис. 3. Круговая хроматограмма смеси катионов Cu^{++} , Co^{++} , Fe^{++} (концентрация по 1 γ) выявленные реактивом IIa.

Табл. 1. Сопоставление окрасок, чувствительности реакции и времени появления пятен исследуемых реактивов с катионами Cu^{++} , Co^{++} , Fe^{++} , Fe^{+++} .

SUMMARY

The possibility of the application of the following hydrochlorids for the detection of the ions Cu^{++} , Co^{++} , Fe^{++} , Fe^{+++} was examined: 1. 2-hydrazino-4-methylthiazole (I a); 2. 2-hydrazino-4-phenylthiazole (Ib); 3. 2-(2-acetylhydrazino)-4-methylthiazole (IIa); 4. 2-(2-acetylhydrazino)-4-phenylthiazole (II b).

The method of paper partition chromatography was used. It was stated that 2-(2-acetylhydrazino)-4-methylthiazole (II a) proved to be most useful.

Tab. 1. Zestawienie barw, czułości reakcji i czasu ukazywania się plam badanych odczynników z kationami

The comparison of the colours, reaction to sensitivity, and frequency of the spots of the examined reagents with cations

Wytwywuacz (roztwory 0,1% -acetonowe 1:1)	Cu ⁺⁺		Co ⁺⁺		Fe ⁺⁺		Fe ⁺⁺⁺	
	barwa	czu- łość w %	barwa	czu- łość w %	barwa	czu- łość w %	barwa	czu- łość w %
Ia Odczynnik nie- trwały, daje bru- natne fio bibuły.	szara widoczna po 12 godz. Po 48 godz. plamy sza- rozzielone, rozmyte.	0,01	różowobrudna po 1 godz. czułość do 0,06 %, po 12 godzinach do 0,01 %. Plamy mało kontrastowe.	0,01	lilaróż Plamy ostro obryso- wane wyraźnie, do stęż. 0,03 % widoczne po kil- ku minutach.	0,01	liliowa Widoczna po 1 godz. Po 48 godz. do stęż. 0,03 % plamy szaronie- bieskie przy niższych stężeniach brudnoro- zowe.	0,01
Ia. HCl	różowoszara widoczna po 12 godz. Po 48 godz. plamy ma- ją zielone obwódki, rozmyte.	0,01	różowobrudna po 1 godz. czułość do 0,06 %, po 12 godzinach 0,01 %. Plamy mało kontrastowe.	0,01	szaroniebieska widoczna po 2 godz. Po 12 godz. do stęż. 0,01 % odczka liliowa. Plamy b. jasne, słabo widoczne.	0,06	niebieskoszara widoczna od razu do stęż. 0,06 %. Po 24 godz. plamy szare.	0,03
Ib Odczynnik zabar- wiona, ostro obryso- wana. Po 48 godz. wną- trza plam niebieskie.	różowa Plamy mocno zabar- wione, ostro obryso- wane. Po 48 godz. wną- trza plam niebieskie.	0,01	różowoszara widoczna po 12 godz. Plamy rozlane. Po 43 godz. wnątrza plam do stęż. 0,06 % lazuruwe.	0,01	różowoszara (jasna) widoczna po 12 godz. Plamy rozmyte. Po 48 godz. zmiana barwy na zielonoszara.	0,06	zielonoszara widoczna po 12 godz. Plamy rozmyte, zle- wające się z brunat- nym tłem bibuły.	0,03
Ib. HCl Odczynnik zabar- wiona bibuła na ko- lor brunatny	różowa Po 48 godz. plamy roz- lewają się, a ich wną- trza przyjmują kolor niebieski.	0,03	różowoszara widoczna po 12 godz. Plamy mało kontra- stowe. Po 48 godzinach wnątrza plam do stęż. 0,06 % lazuruwe.	0,03	różowoszara widoczna po 12 godz. Plamy rozmyte, zle- wające się z tłem bi- buły.	0,03	zielonoszara widoczna po 12 godz. Plamy rozmyte, zle- wające się z tłem bi- buły.	0,03
Iia Odczynnik zabar- wiona, ostro obryso- wana.	różowa Plamy mocno zabar- wione, ostro obryso- wane.	0,006	fioletowa Plamy bardzo ostro obrysovane.	0,006	lilaróż Plamy bardzo wyraź- ne, ostro obrysovane.	0,006	amarantowa Plamy ostro obryso- wane. Od stęż. 0,01 % wnątrza plam jasne z różowymi obwódkami.	0,003
Iia. HCl	lilaróż Plamy dobrze widocz- ne, ale rozmyte.	0,006	fioletowa Plamy, jak przy od- czynniku Iia, ale roz- myte.	0,01	różowa Plamy dobrze widocz- ne, po 12 godz. roz- myte.	0,003	lilaróż Plamy ostro obryso- wane. Od stęż. 0,01 % wnątrza plam jasne z różowymi obwódkami.	0,006
Iib Odczynnik zabar- wiona po 12 godz. ziewająca się z tłem bibuły.	żółtoszara widoczna po 12 godz. ziewająca się z tłem bibuły.	0,3	zielonoszara widoczna po 12 godz. Bardzo słabo widocz- na. Po 43 godz. szaro- różowa.	0,03	zielonoszara ukazuje się po 12 godz. Słabo widoczna.	0,03	zielonoszara widoczna po 12 godz. Plamy od stęż. 0,3 % zlewają się z tłem bi- buły.	0,06
Iib. HCl	żółtoszara widoczna po 12 godz. Plamy mało kontra- stowe.	0,3	zielonoszara ukazuje się po 12 godz. Bardzo słabo widocz- na. Po 43 godz. szaro- różowa.	0,06	zielonoszara ukazuje się po 12 godz. Słabo widoczna.	0,06	szara ukazuje się po 12 godz. Po 48 godz. plamy zie- lonoszare.	0,1