

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

Irena KRZECZKOWSKA, Stanisław BILIŃSKI,  
Janusz KLIMEK, Diwa MISIUNA

**Badania metodyczne nad przydatnością pochodnych 2-hydrazynotiazolu do wykrywania mikrogramowych ilości jonów  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Co}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{++}$  i  $\text{Fe}^{+++}$  metodą rozdzielczej chromatografii bibułowej. II. Analiza ilościowa jonów  $\text{Cu}^{++}$  i  $\text{Co}^{++}$  sposobem bezpośredniego planimetrowania plam**

**Методические исследования пригодности производных 2-гидразинотиазола для выявления микрограммных количества ионов  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Co}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{++}$  и  $\text{Fe}^{+++}$  методом распределительной бумажной хроматографии. Часть II. Количественный анализ ионов  $\text{Cu}^{++}$  и  $\text{Co}^{++}$  способом непосредственного планиметрирования пятен**

**Methodical Investigations on the Usefulness of 2-Hydrazinotiazole Derivatives to Detect  $\gamma$ -Amounts of  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Co}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{+++}$  Ions by the Method of Paper Partition Chromatography. II. Quantitative Analysis of  $\text{Cu}^{++}$  and  $\text{Co}^{++}$  Ions by Planimetry of Direct Spots**

Przy stosowaniu 2-(acetylohydrazyno)-4-metylotiazolu do wykrywania jonów  $\text{Cu}^{++}$  i  $\text{Co}^{++}$  rozdzielonych metodą wstępującej chromatografii bibułowej (4) zauważono bardzo wyraźną zależność pomiędzy powierzchnią barwnej plamy, a stężeniem danego kationu. Zakładając prostoliniowy charakter tej zależności, postanowiono zbadać możliwość wykorzystania wyżej wspomnianej metody również do analizy ilościowej obu kationów na drodze bezpośredniego planimetrowania powierzchni barwnych plam.

#### METODA BADAŃ I MATERIAŁY

Do rozdzielania jonów  $\text{Cu}^{++}$  i  $\text{Co}^{++}$  stosowano metodę wstępującej chromatografii bibułowej wg Williamsa i Kirby, bibułę Whatman nr 1 i układ solwentu: aceton — 4 n HCl (w stosunku objętościowym 85 : 15). Jako wywoływacza używano 0,1% roztworu 2-(2-acetylohydrazyno)-4-metylotiazolu w mieszaninie metanol-aceton (1 : 1). Powierzchnię plam planimetrowano bezpośrednio przy użyciu planimetru produkcji NRD. Błąd wyznaczano drogą rachunku statystycznego (5, 6) zakładając prostoliniową zależność pomiędzy powierzchnią plamy, a logarytmem stężenia danego kationu (1, 3).

## BADANIA WŁASNE

## 1. Przygotowanie chromatogramów

W pracy używano bibuły Whatman nr 1 oczyszczonej przez przepuszczenie rozpuszczalnika: aceton — 4 n HCl (95 : 5), a następnie wysuszonej na powietrzu. 0,1% roztwory jonów  $\text{Cu}^{++}$  i  $\text{Co}^{++}$  przygotowywano z  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  i  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , obie substancje cz. d. a. Roztwory te odpowiednio rozcieńczano i poszczególne kationy наносono mikropipetką na bibułę pasmami o długości 10 mm i szerokości 3 mm, w ilości od 1 do 10  $\gamma$  na pasmo. Po naniesieniu bibułę suszono promiennikiem podczerwonym. Chromatogramy rozwijano metodą wstępującą w dobrze uszczelnionych cylindrach, stosując rozpuszczalnik: aceton — 4 n HCl (85 : 15) w temperaturze 20—22°C. Czas rozwijania 4 godziny. Po rozwinięciu chromatogramy suszono na powietrzu w ciągu 24 godzin, następnie wysycano w szczelnych komorach parami pirydyny (jedną godzinę) i spryskiwano 0,1%, metanolowo-acetonowym (1 : 1) roztworem 2-/2-acetylohydrazyno/-4-metylotiazolu. Chromatogramy z kationami  $\text{Co}^{++}$  wysycano dodatkowo parami amoniaku (1 minuta) w celu uwidocznienia plam. Tak przygotowane chromatogramy przechowywano w szczelnych kopertach i po 48 godzinach planimetrowano plamy.

## 2. Planimetrowanie plam

Chromatogram umieszczano na oświetlonym od wewnątrz pulpicie szklanym, kontury plam obrysowywano i następnie planimetrowano.

3. Rozrzut uzyskanych wyników przy ilościowym oznaczaniu jonów  $\text{Cu}^{++}$  (przykład obliczeń)

W tab. 1 zestawiono zmierzone powierzchnie plam w  $\text{mm}^2$  (Y), odpowiadające różnym wzorcowym stężeniom jonów  $\text{Cu}^{++}$  ( $C = \gamma \cdot 10^{-2}$ ). Wartości:  $X = \lg C$ ,  $X^2$  i  $X \cdot Y$  są konieczne do obliczenia stałych A i B dla równania 1 metodą najmniejszych kwadratów (5, 6).

$$\text{Tabela 1} \quad Y = A + B \cdot \lg C \quad \dots \dots \dots (1).$$

$$A = \frac{\sum X \cdot \sum XY - \sum X^2 \cdot \sum Y}{(\sum X)^2 - n \sum X^2} \quad \dots \dots \dots (2).$$

$$B = \frac{\sum X \cdot \sum Y - n \sum XY}{(\sum X)^2 - n \sum X^2} \quad \dots \dots \dots (3).$$

Gdzie: A i B — współczynniki, C — stężenie wzorcowe badanego jonu ( $\text{Cu}^{++}$ ) w  $\gamma$ ,  $X = \lg C$ , Y — powierzchnia plamy w  $\text{mm}^2$ , a n — ilość

badanych stężeń (w omawianym przykładzie  $n = 6$ ). Po obliczeniu współczynników A i B (w oparciu o równanie 2 i 3, oraz dane z tab. 1) równanie 1 przyjęło postać:

$$Y = -399,56 + 506,29 \cdot \lg C \quad . . . . . (4).$$

Tab. 1. Zestawienie wartości pomocniczych dla równania 1, 2 i 3  
A comparison of auxiliary values for equations 1, 2 and 3

Stężenie $\text{Cu}^{++}$ $C = \gamma \cdot 10^{-2}$	Y (mm <sup>2</sup> )	X = lg C	X <sup>2</sup>	X · Y	
50	460	1,69897	2,88650	781,5262	
75	540	1,87506	3,51585	1012,5324	
100	610	2,00000	4,00000	1220,0000	
200	780	2,30103	5,29474	1794,8034	
300	870	2,47712	6,13612	2155,0944	
600	990	2,77815	7,71812	2750,3685	
$\Sigma$	—	4250	13,13033	29,55133	9714,3249

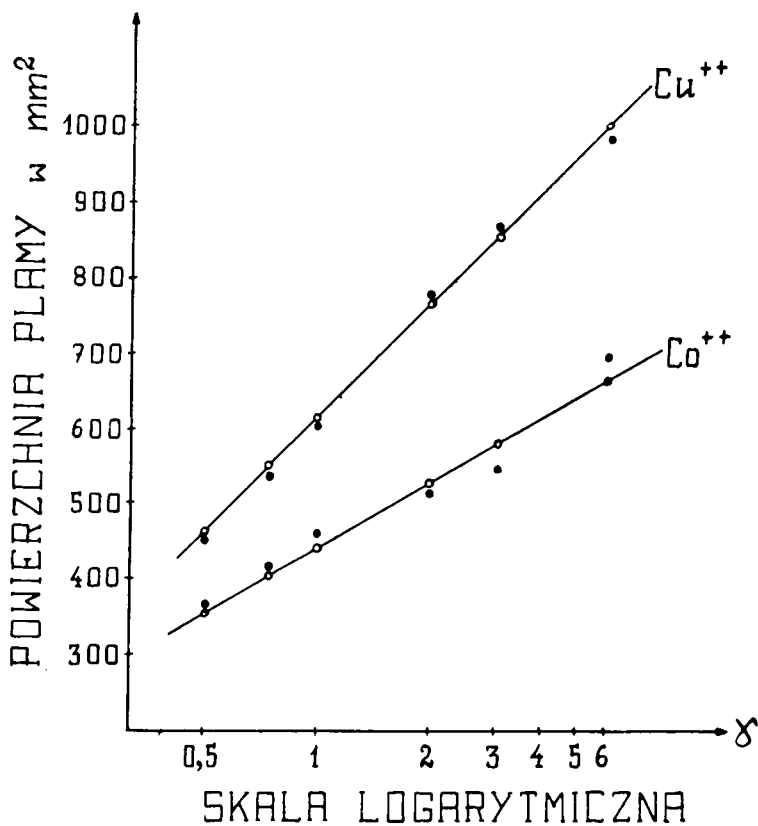
Podstawiając do równania 4 wartości odpowiadające stężeniom wzorcowym jonów  $\text{Cu}^{++}$  (po zlogarytmowaniu), obliczono powierzchnię, jaką powinna mieć każda plama, zakładając prostoliniową zależność pomiędzy stężeniem jonu  $\text{Cu}^{++}$  a powierzchnią jego plamy (1, 3).

Tab. 2. Rozrzut wyników uzyskanych przy ilościowym oznaczeniu jonów  $\text{Cu}^{++}$   
Dispersion of results obtained by quantitative determination of  $\text{Cu}^{++}$  ions

Ilość $\text{Cu}^{++}$ w $\gamma$	Powierzchnia plamy w mm <sup>2</sup>		Rozrzut	
	teoretyczna	doświadczalna	%	$\gamma$
0,50	460,6115	460	-0,14	-0,0007
0,75	549,7641	540	-1,78	-0,0133
1,00	613,0200	610	-0,49	+0,0049
2,00	765,4285	780	+3,36	+0,0672
3,00	854,5811	870	+1,80	+0,0540
6,00	1006,8786	990	-1,68	-0,1008

W tab. 2 podano kolejno: wzorcowe stężenie jonów  $\text{Cu}^{++}$ , powierzchnię plamy obliczoną teoretycznie wg równania 4 dla poszczególnych stężeń, powierzchnię plamy uzyskaną na drodze bezpośredniego planimetrowania chromatogramu oraz rozrzut w % i w  $\gamma$ .

Graficzną ilustrację wyników zebranych w tab. 2 przedstawia ryc. 1 (prosta  $\text{Cu}^{++}$ ). Punkty na prostej odpowiadają powierzchniom plam obliczonym teoretycznie, punkty wokół prostej — powierzchniom plam uzyskanym na drodze planimetrowania. Odległości tych punktów od prostej ilustrują rozrzut wyników.



Ryc. 1. Wykres zależności pomiędzy logarytmem stężenia jonów  $\text{Cu}^{++}$  i  $\text{Co}^{++}$ , a powierzchnią barwnej plamy

Diagram of relationship between the logarithm of concentration of  $\text{Cu}^{++}$  and  $\text{Co}^{++}$  ions and the surface of colour spot

#### 4. Rozrzut wyników uzyskanych przy ilościowym oznaczaniu jonów $\text{Co}^{++}$ .

Postępowano analogicznie jak w punkcie 3. Uzyskane wyniki przedstawione są w tab. 3 i na ryc. 1 (prosta  $\text{Co}^{++}$ ).

W celu potwierdzenia powtarzalności wyników i obliczenia średniego rozrzutu przygotowano dla każdego z kationów 10 chromatogramów po 6 stężeń wzorcowych każdy. Proces chromatografowania, wywoływania

i planimetrowania wykonano w tych samych, standardowych warunkach, jak w punkcie 1 i 2. Uzyskane wyniki przedstawia tab. 4.

Tab. 3. Rozrzut wyników uzyskanych przy ilościowym oznaczeniu jonów  $\text{Co}^{++}$   
Dispersion of results obtained by quantitative determination of  $\text{Co}^{++}$  ions

Ilość $\text{Co}^{++}$ w $\gamma$	Powierzchnia płamy w $\text{mm}^2$		Rozrzut	
	teoretyczna	doświadczalna	%	$\gamma$
0,50	356,903	360	+0,86	+0,0043
0,75	408,388	410	+0,39	+0,0029
1,00	444,918	460	+3,28	+0,0328
2,00	532,933	520	-2,49	-0,0498
3,00	584,418	550	-6,26	-0,1878
6,00	672,433	700	+3,94	+0,2364

Tab. 4. Średni rozrzut wyników uzyskanych przy ilościowym oznaczeniu jonów  
 $\text{Cu}^{++}$  i  $\text{Co}^{++}$  (10 powtórzeń)

Average dispersion of results obtained by quantitative determination of  $\text{Cu}^{++}$   
and  $\text{Co}^{++}$  ions (10 replicates)

Ilość $\text{Cu}^{++}$ w $\gamma$	Średni rozrzut w:		Ilość $\text{Co}^{++}$ w $\gamma$	Średni rozrzut w:	
	%	$\gamma$		%	$\gamma$
0,50	2,71	0,013	0,50	2,43	0,012
0,75	2,32	0,017	0,75	2,17	0,016
1,00	1,29	0,013	1,00	3,70	0,037
2,00	4,05	0,081	2,00	4,53	0,091
3,00	2,93	0,088	3,00	3,43	0,103
6,00	1,61	0,017	6,00	2,37	0,142

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że 2-/2-acetylohydrazyno/-4-metylotiazol może być stosowany do ilościowego oznaczania jonów  $\text{Cu}^{++}$  i  $\text{Co}^{++}$ . Prostoliniowa zależność pomiędzy powierzchnią płamy a logarytmem stężenia badanego wzorca leży w zakresie stężeń od 0,1 do 6  $\gamma$ , przy czym uzyskanie powtarzalnych wyników wymaga ściśle przestrzegania standardowych warunków. Każdy z chromatogramów stanowi jednak pewną odrębność analityczną i dlatego dla każdego z nich należało dokonać oddzielnych obliczeń.

Prace nad praktycznym wykorzystaniem wyżej opisanej metody do ilościowego oznaczania jonów  $\text{Cu}^{++}$  i  $\text{Co}^{++}$  w materiale doświadczalnym są w toku.

---

#### PIŚMIENNICTWO

1. Brimley R. C.: Nature (London), **163**, 215—216, 1949.
2. Fischer F. S., Dörfel H.: Biochem. Z. **324**, 544—566, 1953.
3. Fischer R. B., Parsons D. S.: Nature (London), **161**, 764—765, 1948.
4. Krzeczowska I., Biliński S., Misiuna D.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sec. D, **20**, 115—122, 1965.
5. Küster F.: Logarytmiczne Tablice. P.W.N. Warszawa 1952, 206—209.
6. Niewiarowicz A.: Przem. Spoż., **9**, 501—505, 1955.

Pracę otrzymano 20 II 1965.

---

#### РЕЗЮМЕ

В ходе эксперимента установлено, что 2-(2-ацетилгидразино)-4-метилтиазол можно применять для количественного обозначения микрограммных количеств  $\text{Cu}^{++}$  и  $\text{Co}^{++}$  при помощи непосредственного планиметрирования цветных пятен на бумажных хроматограммах, развитых на основе восходящего метода. Самые лучшие результаты получены для концентраций от 0,1 до 6 гамма на пятно.

Рис. 1. График зависимости между логарифмом концентрации ионов  $\text{Cu}^{++}$  и  $\text{Co}^{++}$  и поверхностью цветного пятна

Табл. 1. Сопоставление вспомогательных показателей для уравнения 1, 2 и 3.

Табл. 2. Дисперсия результатов полученных при количественном обозначении ионов  $\text{Cu}^{++}$ .

Табл. 3. Дисперсия результатов полученных при количественном обозначении ионов  $\text{Co}^{++}$ .

Табл. 4. Средняя дисперсия результатов полученных при количественном обозначении ионов  $\text{Cu}^{++}$  и  $\text{Co}^{++}$  (10 повторений).

---

#### SUMMARY

The authors report that 2-/2-acetylhydrazino/-4-methylthiazole may be used for quantitative determination of  $\gamma$ -amounts of  $\text{Cu}^{++}$  and  $\text{Co}^{++}$  ions using planimetry of colour spots on paper chromatograms developed by the ascending method. The best results were obtained for the concentrations ranging from 0.1 to 6  $\gamma$  on spot.