

Spektrofotometrijska metoda za određivanje kobalta na bazi njegove reakcije sa 4-(2-pirimidilazo)-rezorcinolom

Azo boja 4-(2-pirimidilazo)-rezorcinol (PMAR) sintetisana je diazotizacijom 2-aminopirimidina i kuplovanjem sa rezorcinolom. Ispitano je građenje kompleksa ove boje sa jonima metala treće periode. Pomoću UV/VIS spektroskopije pokazano je da PMAR gradi komplekse sa kobaltom, niklom i bakrom. U apsorpcionim spektrima ova tri kompleksa uočeni su različiti apsorpcioni maksimumi, što je omogućilo razvijanje spektrofotometrijske metode za određivanje kobalta sa PMAR-om kao reagensom. Za optimalnu odabranu je talasna dužina od 480 nm, dok je optimalna pH vrednost 6.00. Kalibraciona kriva za kobalt pokazuje linearnost u opsegu od 1.5 do 20.0 $\mu\text{mol/L}$. Ispitivanje selektivnosti metode pokazalo je da je glavni interferent bakar, a u manjoj meri nikal. Metoda je proverena na dva realna uzorka: novčiću i preparatu za pčele Forsirmat, pri čemu je pokazala dobro slaganje dobijene koncentracije sa deklarisanom vrednošću za preparat za pčele Forsirmat ($c(\text{Co}) = 6-8 \text{ g/L}$), u kojem je izmerena koncentracija kobalta 6.38 g/L , dok je kod analize novčića došlo do velikih odstupanja usled velike koncentracije ometajućih supstanci. Na osnovu rezultata je zaključeno da PMAR može biti korišćen za određivanje kobalta u uzorcima koji ne sadrže značajne količine bakra i nikla.

Uvod

Spektrofotometrijsko određivanje jona metala može biti zasnovano na njihovoj osobini da grade obojene komplekse sa organskim molekulima (Savvin 1985). Prilikom građenja kompleksa dolazi do promene apsorpcionog spektra organskog molekula. Jednu grupu spektrofotometrijskih reagenasa, koji grade stabilne komplekse sa većinom prelaznih metala, predstavljaju heterociklične azo boje. Apsorpcioni spektar ovih boja potiče od aromatičnih prstenova povezanih azo grupom (Wang *et al.* 2013). Azo grupa zajedno sa heteroatomima predstavlja elektron-donore. Njihovi kompleksi najčešće imaju stehiometrijski odnos metala i boje 1 : 2. Uprkos velikoj osetljivosti, azo boje često pokazuju malu selektivnost prema različitim metalima. Na selektivnost se može uticati promenom reakcionih uslova, kao što su pH vrednost sredine, rastvarač. Prednost upotrebe organskih molekula je u tome što je moguća njihova modifikacija, čime takođe može da se utiče na građenje kompleksa i na njegove osobine (Takamoto *et al.* 1965).

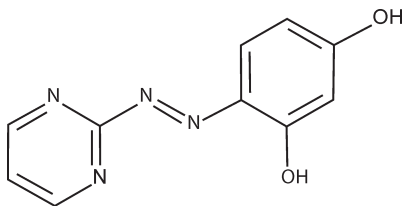
Jedna od često korišćenih azo boja za spektrofotometrijsko određivanje metala je 4-(2-piridilazo)-rezorcinol (PAR). Za razliku od sličnih spektrofotometrijskih reagenasa, na primer 1-(2-piridilazo)-2-naftola (PAN), kompleksi PAR-a rastvorljivi su u vodi, tako da određivanje metala ne zahteva ekstrakciju kompleksa. Nedostatak PAR-a je mala selektivnost, zbog čega određivanje pojedinačnih metala zahteva maskiranje ili odvajanje ometajućih jona (Anderson i Nickless 1967), što produžava vreme potrebno za analizu i čini je skupljom. Zbog toga postoje težnje ka sintezi selektivnijih i osetljivijih reagenasa. Neke azo boje sa pirimidinskim delom strukture pokazale su se kao selektivnije za određene metale, sa

Hana Čížik (2000), Kovačica, Janka Čmelika 101, učenica 3. razreda Gimnazije „Mihajlo Pupin” u Kovačici

MENTOR: Nikola Obradović, student 4. godine Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

većim pomeranjem maksimuma apsorpcije prilikom kompleksiranja, u odnosu na iste boje sa piridinom (Anderson i Nickless 1968).

U ovom radu sintetisana je azo boja sa pirimidinskim prstenom 4-(2-pirimidilazo)-rezorcinol (PMAR, slika 1), pri čemu je ispitano sa kojim metalima treće periode se PMAR kompleksira, i razvijena je spektrofotometrijska metoda za određivanje kobalta sa PMAR-om kao reagensom. Određena je optimalna talasna dužina i optimalna pH vrednost rastvora za određivanje kobalta, i ispitana je selektivnost metode. Takođe, metoda je proverena primenom na dva realna uzorka: rastvoru novčića i preparatu za pčele Forsirmat.



Slika 1. Strukturna formula 4-(2-pirimidilazo)-rezorcinola

Figure 1. Structural formula of 4-(2-pyrimidylazo)-resorcinol

Materijal i metode

Za pripremu rastvora metala korišćene su sledeće soli: $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Fluka), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (MP), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma Aldrich), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Centrohema), $\text{NiCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Zorka Šabac), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Alkaloid Skoplje), $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ (Kemika) i $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Zorka Šabac). Kiselost sredine održavana je fosfatnim puferom, koncentracije 0.1 mol/L. Za pripremu fosfatnog pufera korišćeni su kalijum-dihidrogenfosfat (Centrohema) i kalijum-hidrogenfosfat (Centrohema). Za sintezu boje korišćene su sledeće hemikalije: 2-aminopirimidin (Merck), natrijum-nitrit (Kemika) i rezorcinol (Kemika). U istraživanju je takođe korišćen preparat za pčele Forsirmat (UNIVERZAL M-BEE PLUS Šabac). Apsorpcioni spektri u oblasti od 200–800 nm snimljeni su na UV-VIS spektrofotometru ThermoScientific-Evolution 60S, dok su snimanja na fiksnoj talas-

noj dužini od 480 nm rađena na spektrofotometru Iskra AM5923.

Azo boja je sintetisana diazotizacijom 2-aminopirimidina i kuplovanjem sa rezorcinolom (Gaber *et al.* 2005; Wang *et al.* 2013). U 30 mL dejonizovane vode je bilo rastvoreno 2.00 g 2-aminopirimidina, dok je u 15 mL dejonizovane vode rastvoreno 1.45 g natrijum-nitrita. Rastvor komponente za kuplovanje pripremljen je rastvaranjem 2.30 g rezorcinola u 40 mL rastvora natrijum-hidroksida ($c = 1 \text{ mol/L}$). Sva tri rastvora ohlađena su u vodenom kupatilu na temperaturu od 0°C i nadalje su održavana na temperaturi u opsegu od $0\text{--}5^\circ\text{C}$. U rastvor 2-aminopirimidina je nakon toga dodato 2.0 mL koncentrovane sumporne kiseline. Nakon ponovnog hlađenja smeše do 0°C , u ovaj rastvor je polako ukapavan rastvor natrijum-nitrita uz neprestano mešanje. Nastala diazonijum so je nakon toga polako ukapavana u rastvor rezorcinola uz mešanje. Smeša je ostavljena da se meša u ledenom kupatilu oko sat vremena. Izdvojen talog je filtriran i prekrystalisan iz etanola.

Ispitano je da li dolazi do kompleksiranja PMAR-a i sledećih katjona: Cr^{3+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} i Pb^{2+} . Odnos metala i boje u uzorcima je bio 2:8. Uzorci, zapremine 10.0 mL, sadržavali su 1.0 mL rastvora azo boje ($c = 10^{-3} \text{ mol/L}$), 4.0 mL rastvora metala ($c = 10^{-3} \text{ mol/L}$), 4.0 mL pufera pH = 6.00, dok je ostatak činila voda. Spektri ovako pripremljenih uzoraka su snimani na talasnim dužinama od 200 do 800 nm.

Ispitan je uticaj kiselosti sredine na kompleksiranje. Ispitane su pH vrednosti 4.00, 5.00, 6.00, 7.00 i 8.00, pri čemu je odnos metala i boje u uzorcima bio 2:8. Uzorci, zapremine 10.0 mL, sadržavali su 0.4 mL rastvora azo boje ($c = 10^{-3} \text{ mol/L}$), 0.1 mL rastvora metala ($c = 10^{-3} \text{ mol/L}$), 5.0 mL pufera, dok je ostatak činila voda. Uzorci su snimani na talasnim dužinama od 200–800 nm.

Svi naredni uzorci snimani su na optimalnoj talasnoj dužini i u zapremini od 10.0 mL sadržavali su 5.0 mL pufera optimalne pH vrednosti.

Za konstruisanje kalibracionih kriva korišćeni su rastvori u kojima je koncentracija boje iznosila 50.0 $\mu\text{mol/L}$, a koncentracija metala: 1.5, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0 i 50.0 $\mu\text{mol/L}$.

Za svaku kalibracionu krivu su rađena tri probna merenja.

Selektivnost PMAR-a ispitana je merenjem apsorbance rastvora u kome je koncentracija liganda bila 112.5 $\mu\text{mol/L}$, a koncentracija kobalta 5.0 $\mu\text{mol/L}$. Ispitani su sledeći odnosi stranog metala i kobalta: 10:1, 1:1, 1:5, 1:10 i 1:50.

Koncentracija kobalta određena je pomoću PMAR-a u rastvoru novčića sa prethodno deklarisanim sastavom i u preparatu za pčele Forsimat. Preparat za pčele Forsimat bio je razblažen 2000 puta pre analize. Konačni uzorci su sadržavali 2.25 mL rastvora boje ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$), 2.0 mL rastvora realnog uzorka, 5.0 mL pufera optimalne pH vrednosti i bili su dopunjeni vodom do 10.0 mL. U slučaju preparata za pčele, rađene su tri probe.

Rezultati i diskusija

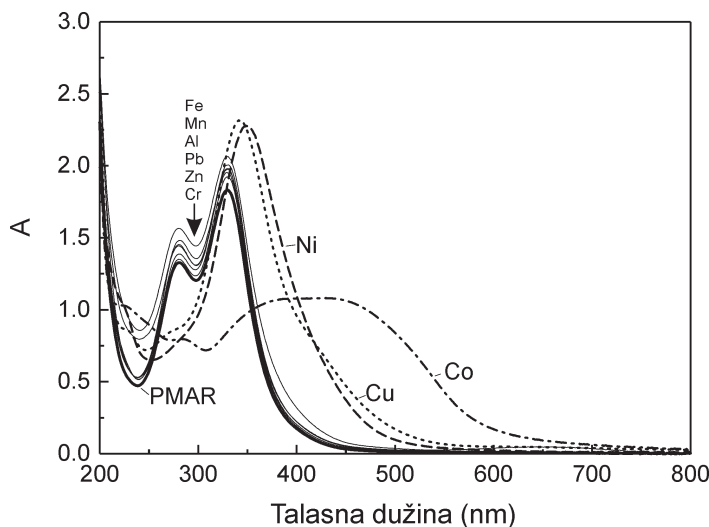
Na slici 2 prikazani su spektri PMAR-a i rastvora metala i boje u odnosu 2 : 8. Azo boja PMAR maksimalno apsorbuje na talasnoj dužini od 328 nm. Na osnovu spektara se može zaključiti da se PMAR ne kompleksira sa Cr^{3+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} , Al^{3+} i Pb^{2+} jonima, jer se spektri uzoraka ovih metala poklapaju sa spektrom boje. Kod Ni^{2+} i Cu^{2+} jona dolazi do pomeranja apsorpcijskog maksimuma na 350 nm kod nikla, odnosno na 342 nm kod bakra, dok je spektar uzorka sa Co^{2+} jonima potpuno drugačiji od spektra same

boje. Promene u UV-VIS spektrima ukazuju da PMAR gradi komplekse sa kobaltom, niklom i bakrom.

Zbog prilično velike razlike spektra kompleksa kobalta od spektara ostalih kompleksa, dalje istraživanje usmereno je na razvijanje spektrofotometrijske metode za određivanje kobalta. Na osnovu slike 2 takođe može biti zaključeno da je talasna dužina od 480 nm najpogodnija za dalja snimanja, zbog toga što je na ovoj talasnoj dužini najveća razlika u apsorbanci kompleksa kobalta i apsorbanci kompleksa nikla tj. kompleksa bakra.

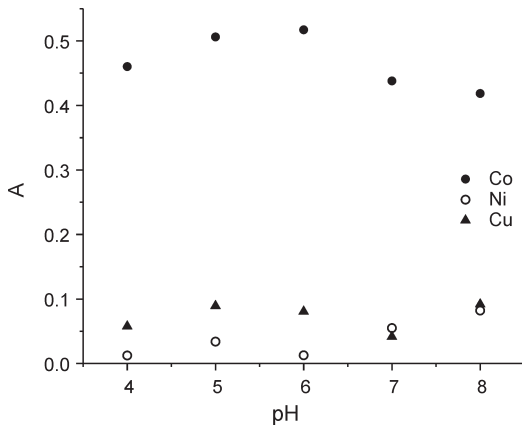
Ispitan je uticaj kiselosti sredine na kompleksiranje kobalta, nikla i bakra sa PMAR-om. Za optimalnu pH vrednost na talasnoj dužini od 480 nm izabrana je pH vrednost 6.00. Razlog tome je što na ovoj pH vrednosti kompleks kobalta najviše apsorbuje u odnosu na ostale četiri ispitivane pH vrednosti. Takođe, na ovoj pH je i najveća razlika između apsorbance kompleksa kobalta i apsorbance kompleksa nikla, tj. kompleksa bakra, što je prikazano na slici 3. Zbog toga je pH vrednost svih narednih uzoraka bila optimalna pH vrednost, odnosno pH vrednost 6.00.

Kalibracione krive za kobalt, nikel i bakar prikazane su na slici 4. Kompleksi nikla i bakra nekoliko puta manje apsorbuju u odnosu na kompleks kobalta kod istih koncentracija metala. Takođe, kod kobalta promena apsorbance sa promenom koncentracije je veća, pa je prema tome metoda osetljivija na kobalt. Kod koncen-



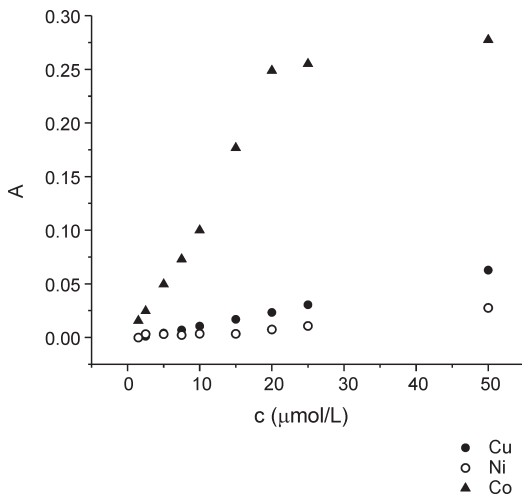
Slika 2. Spektri rastvora PMAR-a i rastvora metala i boje u odnosu 2:8

Figure 2. Spectra of solution of PMAR and solutions of metal and dye in ratio 2:8



Slika 3. Zavisnost apsorbance od pH vrednosti rastvora na talasnoj dužini od 480 nm za komplekse PMAR-a sa kobaltom, niklom i bakrom

Figure 3. The effect of pH value on absorbance on wavelength of 480 nm for solutions of PMAR complexes with cobalt, nickel and copper



Slika 4. Kalibracione krive za kobalt, nikel i bakar na talasnoj dužini od 480 nm

Figure 4. Calibration curves for cobalt, nickel and copper at a wavelength of 480 nm

tracija kobalta većih od 20.0 μmol/L apsorbance je konstantna. Verovatan uzrok toga je potpuno kompleksiranje boje kod date koncentracije, tako da pri većim količinama metala zbog nedostatka liganda ne može da dođe do građenja kompleksa.

Poslednje dve koncentracije zbog toga nadalje nisu uzimane u obzir.

Na slici 5 prikazane su tri probe za kalibracionu krivu kobalta, nikla i bakra u opsegu koncentracija od 1.5 do 20.0 μmol/L. Na osnovu kalibracione krive za nikel može se zaključiti da ligand PMAR nije osetljiv na ovaj metal u opsegu pomenutih koncentracija, jer u ovom opsegu ne pokazuje linearnu zavisnost apsorbance od koncentracije, dok su dobijene apsorbance u okvirima greške instrumenta. Kod kompleksa kobalta i bakra zavisnost apsorbance od koncentracije kompleksa je linearna. Nagib, odsečak i koeficijent linearnog fita (R^2) za srednju vrednost dobijene apsorbance za sve tri kalibracione krive prikazani su u tabeli 1.

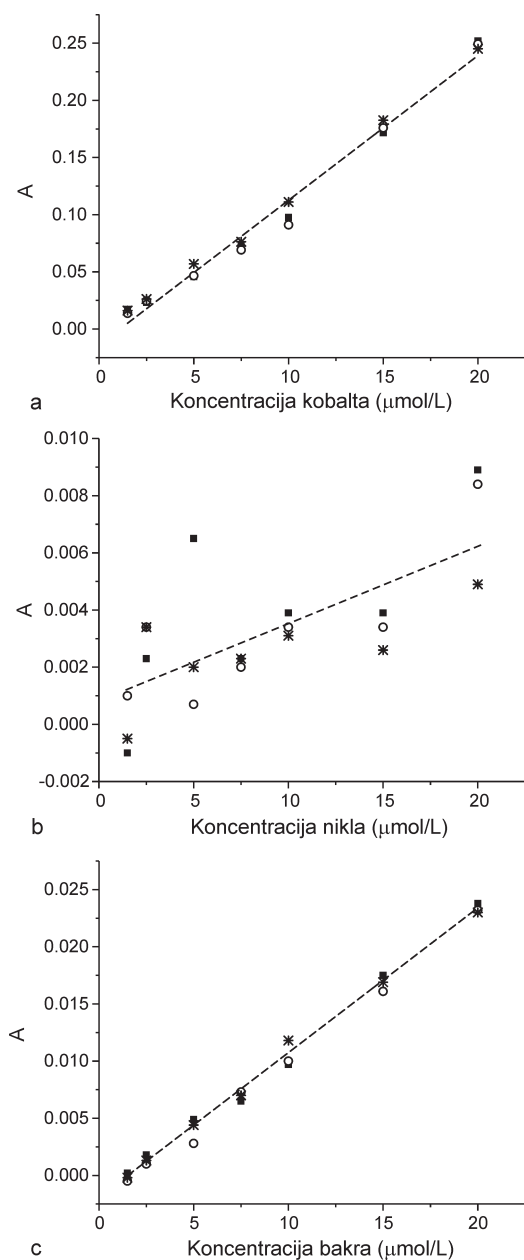
Tabela 1. Parametri jednačine prave za kobalt, nikel i bakar

	Kobalt	Nikal	Bakar
Nagib	$12.60 \cdot 10^3$	$0.27 \cdot 10^3$	$1.27 \cdot 10^3$
Odsečak	$-12.4 \cdot 10^{-3}$	$0.77 \cdot 10^{-3}$	$-2.27 \cdot 10^{-3}$
R^2	0.987	0.626	0.999

Tabela 2. Odstupanja u koncentracijama izražena kao relativna greška merenja (%)

Odnos strani metal:kobalt	Ni ²⁺		Cu ²⁺	
10:1	85.98		233.05	
1:1	13.39		25.31	
1:5	14.02		10.46	
1:10	7.32		7.32	
1:50	6.07		8.58	

Selektivnost PMAR-a na kobalt, nikel i bakar prikazana je u tabeli 2 kao relativna greška merenja izražena u procentima. Najveća odstupanja javljaju se pri koncentracijama stranog metala deset puta većim od koncentracije kobalta, s tim što bakar u ovom odnosu nekoliko puta više ometa određivanje u odnosu na nikel. Sa padom koncentracije stranog metala smanjuje se i greška merenja. Kod odnosa 1:10 i 1:50 može se reći da greška za oba metala postaje konstantna, zbog toga što su merene veoma niske koncentracije



Slika 5. Kalibraciona kriva za: a) kobalt, b) nikal i c) bakar

Figure 5. Calibration curve for: a) cobalt, b) nickel, and c) copper

ometajućih jona koji pri datim koncentracijama daju odziv koji je u okviru greške instrumenta.

Rezultati analize realnih uzoraka prikazani su u tabeli 3. Koncentracija kobalta u rastvoru novčića iznosi 2.7 mg/L, dok je stvarna koncentracija 0.6 mg/L. Greška od 355% javlja se usled velike koncentracije ometajućih supstanci u rastvoru, pošto je novčić sačinjen pretežno od bakra i nikla, koji značajno ometaju određivanje, dok je kobalt sporedna komponenta u rastvoru. Koncentracija kobalta u preparatu za pčele Forsirmat je 6.8 g/L. Ovaj rezultat je u skladu sa koncentracijom kobalta naznačenom na ambalaži, koja iznosi 6-8 g/L.

Tabela 3. Rezultati analize realnih uzoraka

	Novčić	Forsirmat
Proba 1	2.7	6281.2
Proba 2	–	6589.9
Proba 3	–	6281.2
Srednja vrednost	2.7	6384.1

Zaključak

Sintetisana azo boja PMAR gradi kompleks sa kobaltom, niklom i bakrom. Zbog prilične razlike apsorpcionog spektra kompleksa kobalta od ostalih spektara, razvijena je spektrofotometrijska metoda za određivanje kobalta sa PMAR-om kao reagensom. Za najpogodniju talasnu dužinu je odabrana talasna dužina od 480 nm, dok je optimalna pH vrednost 6.00. Pod ovim uslovima dobijaju se najveće razlike u apsorbciji kompleksa kobalta i kompleksa ostala dva metala. Konstruisane kalibracione krive za sva tri metala pokazuju linearnost za kobalt i bakar u opsegu od 1.5 do 20.0 μmol/L, dok ligand nije osetljiv na nikal u datom opsegu, pri čemu je osetljiviji reagens za kobalt u odnosu na bakar. Ispitivanje selektivnosti metode pokazalo je da određivanje kobalta PMAR-om više ometa bakar nego nikal. Najveća odstupanja se javljaju pri odnosu stranog metala i kobalta 10 :1, dok se selektivnost povećava sa padom koncentracije stranog metala. Metoda je primenjena na dva realna uzorka: rastvoru novčića i preparatu Forsirmat, pri čemu

je pokazala dobro slaganje dobijene koncentracije sa deklarisanom vrednošću za preparat za pčele Forsirmat, dok je kod analize novčića došlo do velikih odstupanja usled velike koncentracije ometajućih supstanci. Dalje istraživanje bi moglo biti usmereno na ispitivanje da li PMAR gradi komplekse sa još nekim metalima, koji nisu bili ispitani u ovom radu, kao i na ispitivanje strukture, fizičkih osobina i biološke aktivnosti kako PMAR-a, tako i njegovih kompleksa sa kobaltom, niklom i bakrom.

Hana Čížik

Spectrophotometric Method for Determination of Cobalt Based on its Reaction with 4-(2-Pyrimidylazo)-Resorcinol

In this paper, azo dye 4-(2-pyrimidylazo)-resorcinol (PMAR) was synthesized by the diazotisation of 2-aminopyrimidin and successive coupling with resorcinol. The complexes of metals of the third period were investigated. Using UV/VIS spectroscopy it was shown that PMAR forms complexes with cobalt, nickel and copper. Owing to the UV/VIS spectra of these three complexes and their different absorption maxima, a spectrophotometric method for the determination of cobalt with PMAR as a reagent was developed. The optimal wavelength for this determination was shown to be 480 nm, while the optimal pH value was 6.00. The linear range of this method is from 1.5 to 20.0 $\mu\text{mol/L}$. The investigation of method shows that the main interference is caused by copper and at a lesser scale nickel. The method was applied to two real samples: a coin, which has Cu and Ni as major components, and the honey bee feed supplement Forsirmat. The concentration of cobalt in the honey bee feed supplement was 6.38 g/L, while the analysis of the coin showed high deviations because of high concentration of interfering copper and nickel ions. From the obtained results, it was concluded that PMAR can be used for the determination of cobalt in the samples which contain low amounts of copper and nickel. ☹

Literatura

Anderson R. G., Nickless G. 1967. Heterocyclic azo dyestuffs in analytical chemistry. A review. *Analyst*, **92** (1093): 207.

Anderson R. G., Nickless G. 1968. Heterocyclic azo dyestuffs in analytical chemistry. Part I. The ligand properties of 2-(2-pyridylazo)-1-naphthol and its sulphonated analogues. *Analyst*, **93** (1102): 13.

Gaber M., Ayad M. M., El-Sayed Y. S. Y. 2005. Synthesis, spectral and thermal studies of Co (II), Ni (II) and Cu (II) complexes 1-(4, 6-dimethyl-pyrimidin-2-ylazo)-naphthalen-2-ol. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **62** (1-3): 694.

Savvin S. B. 1985. Organic reagents in spectrophotometric analysis. *Russian Chemical Reviews*, **54** (11): 1074.

Takamoto S., Fernando Q., Freiser H. 1965. Structure and behavior of organic analytical reagents. Some aryl azo 8-quinolinols. *Analytical Chemistry*, **37** (10): 1249.

Wang H., Li J., Yao D., Gao Q., Guo F., Xie P. 2013. A highly selective colorimetric sensor to Fe^{3+} and Co^{2+} in aqueous solutions. *Research on Chemical Intermediates*, **39** (6): 2723.