

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO
PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

KOLOBĚH KOBALTU V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

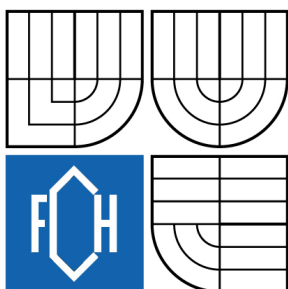
MARTIN CHARUZA

BRNO 2010



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

KOLOBĚH KOBALTU V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ

THE CIRCULATION OF COBALT IN THE ENVIRONMENT

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

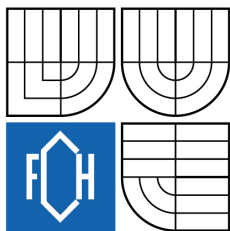
MARTIN CHARUZA

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. LUMÍR SOMMER, DrSc.

BRNO 2010



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce: **FCH-BAK0414/2009** Akademický rok: **2009/2010**
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí
Student(ka): **Martin Charuza**
Studijní program: Chemie a chemické technologie (B2801)
Studijní obor: Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805R002)
Vedoucí bakalářské práce: **prof. RNDr. Lumír Sommer, DrSc.**
Konzultanti bakalářské práce:

Název bakalářské práce:

Koloběh kobaltu v životním prostředí

Zadání bakalářské práce:

přehled a význam mikrokoncentrací kobaltu ve složkách životního prostředí zvláště pak vzhledem k živým organismům

Termín odevzdání bakalářské práce: 28.5.2010

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Martin Charuza
Student(ka)

prof. RNDr. Lumír Sommer, DrSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2009

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá významem kobaltu v životním prostředí, zejména jako součásti vitamínu B12. Vitamin B12 je komplex, který je nezbytný pro správnou tvorbu červených krvinek a DNA, kromě toho ovlivňuje spoustu dalších procesů v organismech. Kobalt tvoří mnoho komplexních sloučenin, které jsou zmíněny v této práci. Nejčastější oxidační čísla kobaltu ve sloučeninách jsou +II a +III.

Ve druhé části je popsáno spektrofotometrické stanovení kobaltu vhodnými činidly. Existuje celá řada spektrofotometrických činidel, kterými lze stanovit kobalt ve vzorku. Nejčastěji používaná spektrofotometrická činidla pro stanovení kobaltu jsou 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR), 1-(2-pyridylazo)-2-naftol (PAN), 2-(5-brom-2-pyridylazo)-5-diethylaminofenol (5-Brom-PADAP), 4-(2-thiazolylazo)resorcinol (TAR) a 2-(2-thiazolylazo)-4-methoxyfenol (TAMP). Všechna tato činidla jsou heterocyklická azobarviva, na které se kobalt váže koordinačně kovalentní vazbou a tvoří s nimi stabilní komplex.

KLÍČOVÁ SLOVA

kobalt, vitamin B12, spektrofotometrie, 4-(2-pyridylazo)resorcinol, 1-(2-pyridylazo)-2-naftol, 2-(5-Brom-2-pyridylazo)-5-diethylaminofenol, 4-(2-thiazolylazo)resorcinol

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with importance of cobalt in the environment, especially as a component of B12 vitamin. Vitamin B12 is a complex, that is necessary for proper formation of blood corpuscles and DNA, except that affects many others processes in the body. Cobalt forms many complex compounds, which are discussed in this work. The most common oxidation number in compounds are +II and +III.

The second part describes spectrophotometric determination of cobalt with suitable reagents. There are a lot of spectrophotometric reagents for cobalt determination in a sample. The most widely used spectrophotometric reagents for determination of cobalt are 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR), 1-(2-pyridylazo)-2-naphtol (PAN), 2-(5-Brom-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol (5-Brom-PADAP), 4-(2-thiazolylazo)resorcinol (TAR) a 2-(2-thiazolylazo)-4-methoxyphenol (TAMP). All of these reagents are heterocyclic azodyes. Cobalt is bonded on this azodyes by coordination covalent bond and forms stable complex.

KEY WORDS

cobalt, vitamin B12, spectrophotometry, 4-(2-pyridylazo)resorcinol, 1-(2-pyridylazo)-2-naphtol, 2-(5-Brom-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol, 4-(2-thiazolylazo)resorcinol

CHARUZA, M.; *Koloběh kobaltu v životním prostředí*. Brno, 2010. 40 s. Bakalářská práce na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Lumír Sommer, DrSc.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Na tomto místě bych rád poděkoval vedoucímu mé bakalářské práce, prof. RNDr. Lumírovi Sommerovi, DrSc., za veškeré zapůjčené materiály, odborné rady a vedení této bakalářské práce.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Objevení	8
2.2	Vlastnosti	8
2.2.1	Alotropické modifikace	10
2.2.2	Izotopy kobaltu	10
2.2.2.1	Využití izotopu kobaltu	10
2.3	Postavení v periodické tabulce prvků a skupinové trendy	11
2.4	Sloučeniny kobaltu	11
2.4.1	Oxidy a sulfidy	11
2.4.2	Halogenidy	12
2.4.3	Komplexní sloučeniny	12
2.4.3.1	Oxidační stav III (d^6)	13
2.4.3.2	Oxidační stav II (d^7)	14
2.4.3.3	Nižší oxidační stavy	16
2.4.4	Organokovové sloučeniny	16
2.5	Výskyt	16
2.6	Toxicita kobaltu	17
2.7	Biochemie kobaltu	17
2.8	Kobalt v biologických systémech	18
2.8.1	Dostupnost kobaltu v biologických systémech	18
2.8.2	Vitamin B12	19
2.8.2.1	Zdroje vitamínu B12 a proces vstřebávání	19
2.8.2.2	Nedostatek a přebytek vitamínu B12 v těle	20
2.8.3	Koenzym B12	20
2.8.4	Funkce vitamínu B12 v těle	21
2.8.5	Metalloproteiny – proteiny substituované kobaltem	22
3	SPEKTROFOTOMETRICKÁ ČINIDLA PRO STANOVENÍ KOBALTU	23
3.1	4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR)	24
3.1.1	Stanovení kobaltu s PAR	24
3.2	1-(2-pyridylazo)-2-naftol (PAN)	26
3.2.1	Stanovení kobaltu s PAN	27
3.3	2-(5-Brom-2-pyridylazo)-5-diethylaminofenol (5-brom-PADAP)	27
3.3.1	Stanovení kobaltu s 5-Brom-PADAP	28
3.3.2	Současné stanovení Fe, Cu, Zn, Co a Ni s 5-Brom-PADAP	29
3.4	4-(2-thiazolylazo)resorcinol (TAR)	30
3.4.1	Stanovení kobaltu s TAR	30
3.5	2-(2-thiazolylazo)-4-methoxyfenol (TAMP)	31
3.5.1	Stanovení kobaltu s TAMP	32
3.6	Stanovení s nitroso – R solí	32
3.7	Stanovení s 2-nitroso-1-naftolem	33
3.8	Stanovení s thiokyanatanem	34
3.9	Stanovení s diethyldithiokarbamidem sodným	35
3.10	Stanovení s 1,10-fenantrolinem	35
3.11	Další metody stanovení	36

4	ZÁVĚR.....	37
5	POUŽITÁ LITERATURA.....	38
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	40

1 ÚVOD

Kobalt je kovový prvek, 27. v periodické tabulce prvků. V přírodě kobalt doprovází obvykle nikl a arsen, mezi významné minerály patří kobaltin a smaltin. Kobalt se už v dávných dobách používal v keramickém a sklářském průmyslu, ovšem tehdy se nevědělo že se jedná o kobalt. Později byl izolován švédským chemikem Georgem Brandtem a Torbern Bergman určil že jde o nový prvek. Kobalt tvoří mnoho sloučenin, z nichž nejvýznamnější z hlediska analytické chemie jsou chaláty.

Kobalt je esenciální mikroprvek a je pro organismus nepostradatelný, protože se zúčastňuje řady biochemických reakcí a je také součástí vitamínu B12. Vitamin B12 je důležitý jak pro člověka, tak pro další živočichy. Komplex vitamínu B12 se stal nejvíce studovanou organokovovou sloučeninou. Kvůli esencialitě se kobalt stanovuje ve formě elementární i ve vitamínu B12. Jednou z metod stanovení je UV-VIS spektrofotometrie.

Jako spektrofotometrická činidla se nejčastěji používají heterocyklická azobarviva a jejich deriváty. Kobalt se ve většině případů oxiduje z oxidačního stavu II na oxidační stav III. Při přípravě roztoků hraje významnou roli pH, z hlediska stability komplexu a množství interferujících iontů, z hlediska přesnosti a správnosti stanovení. Pro udržení konstantní hodnoty pH se používají pufrů. Interferující ionty se eliminují maskujícími činidly.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Objevení

Kobalt byl objeven švédským chemikem, Georgem Brandtem, v roce 1735, ačkoliv sloučeniny kobaltu byly po staletí používány k přenesení jejich modré barvy keramice či glazuře. Kobalt byl detekován v egyptských soškách a v korálcích perských náhrdelníků ve 3 tisíciletí před Kristem, ve skle nalezeném v Pompejích, v Číně v době T'Ang dynastie (618 - 907) a později v modrém porcelánu v době dynastie Ming. Název „kobolt“ byl poprvé použit v 16. století k pojmenování rud obsahujících měď a arsen. Brandt později určil že modré zbarvení těchto rud způsobuje přítomnost kobaltu. Brandt izoloval velmi nečistý kov a nazval jej „cobalt rex“. Že jde o nový prvek, ukázal až v roce 1780 T. O. Bergman.

Pojmenování pochází z německého slova „kobold“, značící „skřítek“ nebo „zlý duch“. Tohoto označení se mu dostalo od horníků ze severní Evropy, kteří považovali výskyt rud, jež se nedaly hutnicky zpracovat na očekávaný kov a které navíc tavením poskytovaly jedovaté výpary (As_4O_6), za schválnost ze strany zlých duchů nebo skřítků.

2.2 Vlastnosti

Kobalt je stříbrolesklý kov s modrým odstínem (obrázek č. 1), vzhledem podobný železu. Je feromagnetický do teploty 1 121 °C (nejvyšší známá Currieova teplota u kovů či slitin). Je to jeden ze tří prvků, které jsou feromagnetické za normální teploty (mezi feromagnetické prvky se dále řadí třeba železo a nikl). Má poněkud nižší teplotu tání než železo. Svou tvrdostí a pevností předčí železo i ocel. Stejně jako železo je feromagnetický a teprve nad 1000 °C se přeměňuje v magnetickou modifikaci.

Vzduch a voda na kompaktní kobalt za obyčejné teploty nepůsobí. V jemně rozptýleném stavu je kobalt pyroforní. Ve zředěných kyselinách, např. chlorovodíkové a sírové, se rozpouští mnohem obtížněji než železo, což odpovídá jeho postavení v elektrochemické řadě napětí vpravo od železa (standardní potenciál, vztažený na standardní vodíkovou elektrodu, je -0,28 V). Ve zředěné kyselině dusičné se kobalt snadno rozpouští, koncentrovanou kyselinou dusičnou se však pasivuje stejně jako železo.

Při zahřívání na vzduchu se kobalt oxiduje a v bílém žáru shoří na Co_3O_4 . Nad teplotou 900 °C probíhá oxidace na CoO . Při zahřívání se slučuje také s jinými prvky, často za vzniku plamene (např. se S, P, As, Sb, Sn a Zn). Taven s křemíkem tvoří více sloučenin. Také s borem se slučuje přímo za vysoké teploty, nikoliv však s dusíkem. Vůči dusíku a vodíku je inertní. Snadno se slučuje s halogeny. Se železem a niklem tvoří v každém poměru směsné krystaly, právě tak jako s chromem a manganem. K uhlíku se chová podobně jako železo, přesto se při ochlazení nikdy nevylučuje karbid - ačkoliv jeho přítomnost v tavenině je pravděpodobná - nýbrž vždy grafit, pokud je obsah uhlíku větší, než odpovídá směsným krystalům. Působením CH_4 nebo CO na jemně rozptýlený kovový kobalt při mírně zvýšené teplotě (pod 225 °C) vzniká sloučenina Co_2C , která se však při vyšší teplotě rozkládá. Katalytického rozkladu CH_4 a CO je kobalt schopen při teplotách, při nichž je karbid nestálý.

Konkrétní hodnoty jednotlivých vlastností kobaltu jsou uvedeny v tabulce 1. [1, 2, 3]



Obrázek č. 1.: Práškový kobalt [4]

Tabulka č. 1: Vlastnosti kobaltu

Vlastnosti kobaltu			
název	značka	jednotka	hodnota
atomové číslo	N	-	27
počet izotopů	-	-	8
počet přírodních izotopů	-	-	1
atomová hmotnost	A_r	$\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$	58,933 2
paulingova elektronegativita	χ	-	1,8
hustota (20 °C)	ρ	$\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$	8,9
teplota tání	t_t	°C	1 495
teplota varu	t_v	-	3 100
rádus van der Waalsových sil	r_w	nm	0,125
iontový rádus +II	r_{ion}^{+II}	nm	0,078
iontový rádus +III	r_{ion}^{+III}	nm	0,063
elektronová konfigurace	-	-	[Ar] 3d ⁷ 4s ²
energie první ionizace	E_I^1	$\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	757
energie druhé ionizace	E_I^2	$\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	1 663,3
energie třetí ionizace	E_I^3	$\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	3 226
standardní potenciál (Co ²⁺ /Co)	E^0	V	-0,28
standardní potenciál (Co ³⁺ /Co ²⁺)	E^0	V	1,84
objevitel	George Brandt, 1735		

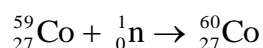
2.2.1 Alotropické modifikace

Kobalt se vyskytuje ve dvou alotropických modifikacích α a β . Nad 417 °C je stálá pouze modifikace β , která má kubickou plošně centrovanou mřížku. Pod touto teplotou je naopak stálější forma α , s hexagonálním těsným uspořádáním mřížky. Přechod mezi oběma modifikacemi je obecně pomalý, takže forma β , kterou jde navíc stabilizovat přidávkem několika procent železa, existuje i často za normální teploty. Tyto skutečnosti mají samozřejmě určitý vliv na fyzikální vlastnosti kobaltu. Jejich změny lze v případě kovu o vysoké čistotě připsat pomalé modifikační přeměně. [5]

2.2.2 Izotopy kobaltu

Kobalt se v přírodě nachází jako izotop $^{59}_{27}\text{Co}$ v rudách a v menších koncentracích v půdách (1 – 2 mg/kg). Existuje devět hlavních izotopů kobaltu, ale jen $^{57}_{27}\text{Co}$ a $^{60}_{27}\text{Co}$ z těchto devíti mají poločasy rozpadu dlouhé dost na to aby se o ně jevil zájem. Poločasy ostatních izotopů jsou menší než 80 dní. $^{57}_{27}\text{Co}$ se rozpadá s poločasem rozpadu 270 dní zachycením elektronu a $^{60}_{27}\text{Co}$ se rozpadá s poločasem rozpadu 5,3 let vyzařením β částic s dvěma energetickými γ paprsky, celková energie těchto dvou paprsků γ je 2,5 MeV (jeden paprsek má 1,2 a druhý 1,3 MeV). $^{60}_{27}\text{Co}$ byl objeven ve 30. letech 20. století na kalifornské univerzitě – Berkley a je produkován neutronovou aktivací složek v jaderných reaktorech, může být také produkován v urychlovači částic. $^{60}_{27}\text{Co}$ je radionuklid, který je obsažen ve vyhořelém radioaktivním odpadu. Stopy tohoto izotopu jsou přítomny po celé zeměkouli jako radioaktivní spad.

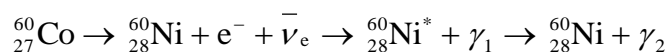
Vznik $^{60}_{27}\text{Co}$ popisuje následující rovnice:



Izotop $^{60}_{27}\text{Co}$ je intenzivní emitör vysoce pronikavého γ nebo rentgenového záření a může poškodit živé buňky, zvláště krevetvorné tkáně. Větší expozice snižuje schopnost těla produkovat protilátky. Při styku s radioaktivním izotopem kobaltu $^{60}_{27}\text{Co}$ se také objevuje průjem, zvracení, suchá kůže a kožní nemoci.

Radionuklid kobaltu se samovolně přeměňuje na $^{60}_{28}\text{Ni}$. Přeměnou jednoho atomu kobaltu provází emise jednoho elektronu a dvou fotonů, γ záření o blízké energii.

Rozpadové schéma $^{60}_{27}\text{Co}$: [5, 6, 20]



2.2.2.1 Využití izotopu kobaltu $^{60}_{27}\text{Co}$

Izotop $^{60}_{27}\text{Co}$ je hojně využíván v lékařství jako zdroj γ záření pro ozařování rakovinných nádorů a dalších tkání.

Dále se využívá v defektoskopii pro vyhledávání vnitřních skrytých vad materiálů. Uvolněným zářením jsou prozařovány kovové součásti důležitých aparatur – zařízení pro jaderný průmysl, chemické reaktory pro vysoké tlaky, části kosmických raket apod. Citlivý detektor snímá množství γ paprsků, které materiálem projdou a výskyt vady (trhlina, chybný svár) se projeví změnou intenzity měřeného záření.

Používá se pro likvidaci hub, plísní, dřevokazného hmyzu a zárodků. Využívá se toho při ošetření potravin a restaurování historických dřevěných předmětů. [7]

2.3 Postavení v periodické tabulce prvků a skupinové trendy

Kobalt se nachází v 9. skupině periodické soustavy prvků s rhodiem a iridiem, (podle starých norem v VIII.B skupině v takzvané triádě železa spolu s železem a niklem).

Kobalt, rhodium a iridium tvoří v různých oxidačních stavech komplexní sloučeniny. Ve srovnání s předcházející triádou je však možné zaznamenat zmenšený rozsah oxidačních stavů. Toto omezení, které se objevuje mezi přechodnými prvky poprvé, vyplývá ze zvýšeného přitahování elektronů (n-1) d atomovým jádrem, které tak zabraňuje v dosažení nejvyšších oxidačních stavů. Pojem „skupinový“ oxidační stav zde proto ztrácí jakýkoliv význam. U rhodia a iridia se nesetkáváme s vyššími oxidačními čísly než VI, stejně jakou u kobaltu neznáme oxidační čísla vyšší než V. Případy, v nichž by kobalt dosahoval oxidačních stavů IV, V jsou celkem vzácné a pokud existují, jde často o nedostatečně charakterizované sloučeniny.

Nejběžnějšími oxidačními čísly kobaltu jsou +II a +III. Od obou jsou známy kationty $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ a $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ rozdílné stálosti. Posledně uvedený kation, který představuje silné oxidační činidlo, se ve vodném roztoku, pokud není kyselý, rychle rozkládá, neboť Co^{III} oxiduje vodu za vývoje kyslíku. Tato nestálost je pak příčinou toho, že na rozdíl od Co^{II} poskytuje Co^{III} jen několik jednoduchých solí podléhajících snadno rozkladu. Na druhou stranu je však Co^{III} doslova nepřekonatelný v počtu koordinačních sloučenin, které vytváří zvláště s N-donorovými ligandy.

Další skutečnost je, že kobalt, rhodium a iridium projevují ve srovnání s prvky skupiny železa menší ochotu podílet se na tvorbě sloučenin s vysokými koordinačními čísly. Nejčastěji se v této triádě vyskytuje koordinační číslo 6 a s výjimkou $[\text{Co}(\text{NO}_3)_4]^{2-}$ všechny tři prvky toto číslo jen vzácně překračují. Jinak je o nich též známo, že až na nestálý $\text{Co}^{\text{V}}\text{O}_4^{3-}$ a nedávno připravený $\text{Co}^{\text{II}}\text{O}_3^{4-}$ netvoří oxoanionty. Tvorba oxoaniontů totiž vyžaduje zpětnou donaci elektronů π od kyslíku do orbitalů d atomu kovu, zatímco k tomu nezbytná π -akceptorová schopnost prvků závisí na stupni obsazení orbitalů d elektrony. Protože v případě těžších prvků jsou tyto orbitály podstatně zaplněny, je schopnost takových prvků k π -akceptorové interakci snížena. [5]

2.4 Sloučeniny kobaltu

Kobalt se nachází zejména ve třech oxidačních stavech 0, +II a +III. Ve sloučeninách se vyskytuje především v mocenství Co^{II} a Co^{III} , vzácně se můžeme setkat i s Co^{I} , Co^{IV} a od nedávna také s některými nestabilními sloučeninami v oxidačním stavu Co^{V} například $\text{Na}_3\text{Co}^{\text{V}}\text{O}_4$. Co^{II} je stabilnější než Co^{III} , který je silné oxidační činidlo, schopné oxidovat vodu a uvolňovat tak kyslík. Kovový Co^0 se nachází ve dvou alotropických formách, s hexagonální a kubickou mřížkou, které jsou stabilní za pokojových teplot. [5]

2.4.1 Oxidy a sulfidy

Počet oxidů, jež tvoří kobalt, je vlivem omezeného rozpětí oxidačních stavů menší, než je tomu v předcházejících skupinách prvků. U kobaltu existují dva oxidy (CoO , Co_3O_4). Trioxidy nejsou známy. CoO se připravuje v podobě olivově zeleného prášku silným zahříváním

hydroxidů, uhličitany nebo dusičnanu za nepřístupu vzduchu. Krystalizuje podle typu chloridu sodného a pod 289 K je feromagnetický. Žháním s křemenným pískem a oxidem hlinitým poskytuje pigmenty používané v keramickém průmyslu. CoO je za normálních teplot a nad 900 °C na vzduchu stálý, je-li však zahříván, např. na asi 600 až 700 °C, přechází na černý Co₃O₄. Tento oxid, jemuž přísluší vzorec Co²⁺Co³⁺O₄, má spinelovou strukturu s kationty Co²⁺ a Co³⁺, vyplňujícími tetraedrické a oktaedrické dutiny v mřížce s kubickým těsným uspořádáním aniontů O²⁻. Co₃O₄ absorbuje kyslík a tato skutečnost, spolu se schopností preparátů vzniklých z hydroxidů zadržovat vodu, vedly k představě o existenci Co₂O₃, která však nebyla potvrzena. Oxidací Co(OH)₂ (modrá sraženina, která se stáním zbarvuje do světle růžové barvy) nebo působením roztoků alkalických hydroxidů na kobaltité komplexy vzniká tmavě hnědá sraženina, která vysušením při 150 °C nepřechází na hydroxid, nýbrž na oxid-hydroxid kobaltitý CoO(OH).

Ze sulfidu kobalt tvoří CoS₂, který má strukturu pyritu a Co₃S₄ spinelové struktury. Oba mají, podobně jako Co₉S₈ a odpovídající selenidy a teluridy, kovový charakter. Kromě sulfidů je známa celá řada nestechiometrických selenidů a teluridů. [5]

2.4.2 Halogenidy

Kobalt se v halogenidech vyskytuje zejména v oxidačním čísle +II. Jediný halogenid s oxidačním číslem +III je CoF₃. Jedná se o světle hnědý prášek izomorfní s FeCl₃, produkt působení F₂ na CoCl₂ při 250 °C. Dále kobalt tvoří CoF₂ (růžový, teplota tání 1200 °C), CoCl₂ (modrý, 724 °C), CoBr₂ (zelený, 678 °C) a CoI₂ (modročerný, 515 °C). Ve všech je atom kobaltu oktaedricky koordinován. Bezvodé sloučeniny se připravují suchou cestou: CoF₂ zahříváním CoCl₂ v HF, CoCl₂ a CoBr₂ účinkem volných halogenů na zahřátý kov a CoI₂ působením HI na kov za tepla. Fluorid je ve vodě málo rozpustný, a tím se odlišuje od zbývajících snadno rozpustných halogenidů, které se z vodných roztoků vylučují v podobě krystalohydrátů. Roztoky halogenidů vznikají také rozpuštěním kovu, oxidu nebo uhličitany v příslušné halogenovodíkové kyselině. Z halogenidů kobaltnatých nachází uplatnění chlorid jako indikátor kvality silikagelu používaného jako sušící prostředek. Použití CoCl₂ je založeno na změně barvy z modré na růžovou, ke které dochází při přechodu z bezvodé formy na hydratovanou.

Neochota kobaltu tvořit oxoanionty se projevuje také v tom že netvoří halogenid-oxidy. [5]

2.4.3 Komplexní sloučeniny

V případě kobaltu vede zahřívání směsí příslušných oxidů kyslíku za normálního nebo zvýšeného tlaku k látkám složení M₃[CoO₄], jejichž oxidační účinky svědčí o přítomnosti Co^V. Jestliže se ale zahřívá CoO se 2,2 moly Na₂O na 500 °C v zatavené trubici v atmosféře argonu, vzniká růžový krystalický Na₄[Co^{II}O₃]. Tato látka, která se stykem se vzdušnou vlhkostí podléhá okamžité hydrolyze, je zajímavá tím, že je vytvořena z diskrétních plošných aniontů [CoO₃]⁴⁻ připomínajících uhličitany anion. V této souvislosti je vhodné se též zmínit o červeném lesklém tetrakobaltnatanu Na₁₀[Co₄O₉], jehož anion je shodný s aniontem tetrauhličitany C₄O₉²⁻.

Komplexních sloučenin kobaltu v oxidačním stavu IV (d⁵) je pouze několik. Jmenovitě se jedná o některé sloučeniny s fluorem a smíšené oxidy kovu vesměs pochybné čistoty. [5]

2.4.3.1 Oxidační stav III (d⁶)

Tyto komplexy jsou bez výjimky nízkospinové a oktaedrické. Je známo několik jednoduchých hydratovaných solí, jako je $\text{CoF}_3 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$ nebo modrý $\text{Co}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$, popř. podvojných solí typu $\text{MCo}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ($\text{M} = \text{K}, \text{Rb}, \text{Cs}$ a NH_4), v nichž je až na fluorid přítomen kationt $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$.

Kobaltité komplexy, podobně jako chromité, jsou kineticky inertní a tak k jejich přípravě přicházejí v úvahu převážně nepřímé metody. Nejčastěji se přitom postupuje tak, že se do vodného roztoku příslušné kobaltnaté soli přidá ligand a takto vzniklý kobaltnatý komplex je pak oxidován některým vhodným oxidačním činidlem, často za přítomnosti aktivního uhlí jako katalyzátoru. V řadě případů slouží jako oxidovadlo vzdušný kyslík, který se do roztoku vhná po dobu několika hodin. Jestliže se místo vzduchu použije vodný roztok H_2O_2 dá se oxidace též dosáhnout, a to v podstatně kratší době.

Komplexy s amoniakem, kterých je znám skutečně ohromný počet, mají mezi koordinačními sloučeninami mimořádné postavení, a to nejen proto, že byly prvními koordinačními sloučeninami, které byly studovány, ale také proto, že představují nejrozsáhlejší studovanou skupinu komplexů Co^{III} . Ke komplexům typu $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{X}]^{2+}$ a $[\text{Co}(\text{NH}_3)_4\text{X}_2]^+$, vede podle podmínek reakce oxidace vodného roztoku, který obsahuje CoX_2 , NH_4X a NH_3 ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{NO}_3$ atd.). Okruh těchto sloučenin se dá ještě podstatně rozšířit záměnou X za jiné aniontové nebo neutrální ligandy. Vzhledem ke kinetické inertnosti komplexů také substituční reakce probíhají jen zvolna (k dosažení rovnováhy je zapotřebí mnoha hodin, popř. dní – dosažení rovnováhy se dá neobyčejně urychlit přidávkem aktivního uhlí), což na druhé straně umožňuje, zejména pokud jde o otázky kinetiky, jejich studium pomocí konvenčních analytických metod.

Kromě těchto komplexů s amoniakem existují i komplexy chelátových aminů, jako jsou např. ethylendiamin nebo bipyridin.

Jiným N-donorovým ligandem, který tvoří mimořádně stálé komplexy, je aniont NO_2^- . Jeho nejznámějším komplexem je oranžový hexanitrokobaltitan sodný $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$, jehož vodný roztok se používá ke kvantitativnímu vysrážení K^+ v podobě $\text{K}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$. Působením fluoru na $\text{K}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$ vzniká $\text{K}_3[\text{CoF}_6]$, jehož aniont je pozoruhodný nejen tím, že je jediným hexahalogenokomplexem Co^{III} , ale také pro to, že je vysokospinový, a tudíž paramagnetický.

Mezi komplexy vyniká mimořádnou stálostí anion $[\text{Co}(\text{CN})_6]^{3-}$, který nepodléhá ani účinku alkalických látek. Podobně jako $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ s podobnou konfigurací, není toxický.

Ve srovnání s komplexy s N-donorovými ligandy, jsou komplexy odvozené od O-donorových ligandů obecně méně stálé. Výjimkou jsou zelené 2,4-pentandionátové a oxalátové chelátové komplexy $[\text{Co}(\text{acac})_3]$ a $\text{M}_3[\text{Co}(\text{C}_2\text{O}_4)_3]$. Ostatní karboxylátové komplexy, např. acetátové, jsou mnohem méně stálé. Zúčastňují se jako katalyzátory řady oxidačních reakcí.

Komplexy $\text{Co}(\text{III})$ až na výjimky nepodléhají hydrolýze a tím se nápadně odlišují od chromitých komplexů. Pokud hydrolyzují, vznikají při tom vícejaderné komplexy, které v případě amminkomplexů obsahují jako můstkový ligand skupiny OH^- . V úloze můstku často vystupují také anionty NH_2^- , NH^{2-} a NO_2^- , přičemž existence takových komplexů se neomezuje pouze na případy s jednoduchými můstky, jaký se např. objevuje ve světle modrém kationtu $[(\text{NH}_3)_5\text{Co}-\text{NH}_2-\text{Co}(\text{NH}_3)_5]^{5+}$. Jsou známy též částice se dvěma a třemi můstkovými ligandy. [5]

2.4.3.2 Oxidační stav II (d^7)

Oxidační stav (II) u kobaltu patří k jednomu ze dvou nejstálejších oxidačních stavů. Kobaltnaté komplexy jsou v porovnání s kobaltitými mnohem méně početné, zato se ale vyznačují větší strukturní rozmanitostí, dále větší labilitou a také tím, že žádná z konfigurací Co^{II} nedosahuje takové stálosti, jakou vykazuje Co^{III} . Z oxidačně-redukčních potenciálů vyplývá, že při přípravě komplexů Co^{II} je třeba vždy počítat s možností oxidace, která si často vynucuje práci za anaerobních podmínek. Jestliže se však pracuje s roztoky, které nejsou alkalické a ligandy neleží ve spektrochemické řadě zcela vpravo, dají se kobaltnaté komplexy připravit bez zvláštních ochranných opatření. Nejběžnějšími typy komplexů Co^{II} jsou vysokospinové oktaedrické komplexy. Vedle nich jsou známy také diamagnetické, které vznikají koordinací ligandů, jakými jsou CN^- . V jejich přítomnosti však snadno dochází k oxidaci.

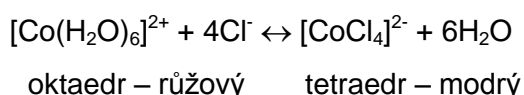
Karboxyláty Co^{II} , např. červeně zbarvený octan $[\text{Co}(\text{O}_2\text{CMe})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, jsou monomerní a v některých případech se v nich acetátový ligand chová jako jednodonorový. Octan kobaltnatý nachází uplatnění jako součást katalyzátorů používaných při oxidacích v organické chemii a také jako prostředek urychlující schnutí olejových laků a fermeže. Co^{II} tvoří se všemi známými anionty jednoduché soli krystalizující z vodných roztoků v podobě hydrátů. Působením alkalických látek na vodné roztoky kobaltnatých solí se sráží $\text{Co}(\text{OH})_2$. Má poněkud amfoterní charakter, a tak se kromě v kyselinách rozpouští i v nadbytku hydroxidů na tmavě modré roztoky obsahující ionty $[\text{Co}(\text{OH})_4]^{2-}$. Hydroxid kobaltnatý existuje ve dvou formách, modré a růžové. Modrá forma se získá pomalým srážením z roztoku při 0°C . Je nestálá, a je-li zahřívána za nepřítomnosti vzduchu, přechází na růžovou.

Četné hydratované soli, podobně jako jejich vodné roztoky, obsahují růžový oktaedrický kationt $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$. Kationtového typu jsou také oktaedrické komplexy $[\text{Co}(\text{L-L})_3]^{2+}$ vzniklé koordinací dvojných N-donorových ligandů bipy, phen. Společně se vyznačují větší stálostí vůči oxidaci např. kationt $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$, přestože je také komplexem N-donorového ligandu. 2,4-pentandion poskytuje s Co^{II} oranžový $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{acac})_2]$ oktaedrické geometrie s molekulami vody koordinovanými v poloze *trans*. Dehydratací přechází na $[\text{Co}(\text{acac})_2]$, a ačkoli bychom podle stechiometrie mohli soudit jinak, je tento komplex ve skutečnosti, díky současně probíhající tetramerizaci také oktaedrický. Bezvodý komplex jeví při velmi nízkých teplotách slabý feromagnetismus. Jiným příkladem komplexu Co^{II} , tentokrát komplexu vícevazného ligandu, je anion $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})\text{edta}]^-$, co do stechiometrie shodný s analogickými komplexy Mn^{II} a Fe^{II} , ve kterých oba centrální atomy mají koordinační číslo 7. Protože kobalt v něm důsledně uplatňuje (podobně jako v jiných komplexech) koordinační číslo 6, a edta se v tomto případě tedy chová jako pětivazný ligand s jedním nekoordinovaným atomem kyslíku, je shoda čistě formální.

Kromě oktaedrických jsou u kobaltu též běžné tetraedrické komplexy. Schopnost vytvořit takový typ je mezi přechodnými prvky v nejvyšší míře vyvinuta právě u Co^{II} (z ostatních prvků jej předčí pouze Zn^{II}). Žádná konfigurace není tak výhodná pro tetraedrické uspořádání, v poměru k oktaedrickému, jako d^7 . Proto musíme počítat s tím, že ve vodných roztocích obsahujících $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ budou v rovnováze vždy přítomny v malém množství také tetraedrické kationty $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$ a v octové kyselině anionty $[\text{Co}(\text{O}_2\text{CMe})_4]^{2-}$. Jinými tetraedrickými komplexy jsou anionty $[\text{CoX}_4]^-$ odvozené od jednovazných ligandů ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}, \text{SCN}$ a OH) a dále komplexy složení $[\text{CoX}_2\text{L}_2]$ ($\text{X} = \text{halogenid}$ nebo NCS , $\text{L} = \text{ligand}$ s donorovým atomem příslušejícím prvku 15. skupiny), od nichž je známa kompletní řada. Jsou pozoruhodné tím, že existují v obou geometriích. Konkrétním příkladem takových komplexů je $[\text{CoCl}_2(\text{py})_2]$ vystupující jednak v modré, monomerní, metastabilní tetraedrické formě, jednak ve fialové polymerní, s chloridovými můstky, které doplňují koordinační číslo

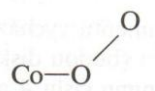
kobaltu na 6, a dovršují tak strukturu na oktaedrickou. Koordinace snáze polarizovatelných ligandů vede přednostně k tetraedrickému uspořádání, protože k neutralizaci náboje středového atomu je jich v takovém případě potřeba méně. Tudíž, je-li $L = \text{py}$, pak záměna Cl za I stabilizuje tetraedrickou geometrii a v případě, že $L = \text{fosfan}$ nebo arsan , je tato forma, bez ohledu na povahu X výhodnější.

Nejnápadnějším znakem, který dovoluje rozlišit mezi oktaedrickým a tetraedrickým uspořádáním komplexů, je jejich zbarvení. Oktaedrické komplexy jsou obecně růžové až fialové, kdežto tetraedrické modré. Tuto skutečnost názorně vystihuje známá rovnováha:



I když toto rozlišení není zcela spolehlivé (dokazuje to existence modrého a přitom oktaedrického CoCl_2) je přesto užitečným vodítkem, jehož spolehlivost mnohem lépe vystihuje analýza elektronových spekter.

Mezi dobře charakterizované komplexy Co^{II} , přestože netvoří nijak zvlášť početnou skupinu, se řadí také tetraedrické, k nimž patří $[\text{Co}(\text{fthalocyanin})]$, podobně jako $[\text{Co}(\text{salen})]$ a komplexy dalších Schiffových bází. Všechny jsou bez výjimky nízkospinové. Jedná se o mimořádně zajímavé látky schopné přenášet kyslík. Koordinace dikyslíku, jež vede k lomenému uspořádání



je provázena současným připojením molekuly rozpouštědla ke komplexu v poloze *trans* k O_2 , aniž by se přitom cokoli měnilo na nízkospinové konfiguraci Co^{II} . Vznikem vazby $\text{Co}-\text{O}_2$, však dochází k přenosu elektronu z atomu kovu na O_2 , podobně jako je tomu v případě můstkových komplexů, čímž vzniká stav blízký extrémní situaci, jakou představuje koordinace hyperoxidového aniontu O_2^- k Co^{III} (opačným extrémním případem je koordinace $\text{Co}^{\text{II}}-\text{O}_2$, kdy nepárový elektron zůstává lokalizován, zatímco O_2 se stává, v důsledku zrušení degenerace orbitalů π^* a spárování elektronů, diamagnetickým). Rozsah, v jakém dochází k přenosu elektronu, pravděpodobně určuje ligand vázaný v poloze *trans* vůči O_2 .

S ještě většími obtížemi při určování formálního oxidačního čísla se setkáváme v případě aduktů NO typu $[\text{Co}(\text{NO})(\text{salen})]$, ve kterých atom kobaltu uplatňuje koordinační číslo 5. Tyto komplexy jsou zcela diamagnetické, neobsahují proto žádný nepárový elektron a můžeme je tedy formulovat buď jako $\text{Co}^{\text{III}}-\text{NO}^-$ nebo $\text{Co}^{\text{I}}-\text{NO}^+$. Jak ukazují studie těchto komplexů pomocí infračervené spektroskopie, nelze o povaze vazby $\text{Co}-\text{NO}$ s určitostí rozhodnout. Nemožnost dosáhnout jednoznačného řešení vyplývá z rozdílné polarizace kovalentní vazby odpovídající oběma formulacím, kdy nelze podobný formalismus dost dobře aplikovat.

Jinými příklady komplexů Co^{II} s koordinačním číslem 5, které byly dostatečně charakterizovány, jsou jednak vysokospinový $[\text{CoBrN}(\text{C}_2\text{H}_4\text{NMe}_2)_3]^+$ tvaru trigonální bipyramidy, v němž má atom kobaltu 3 nepárové elektrony a dále čtvercově pyramidální $[\text{Co}(\text{CN})_5]^{3-}$ s nízkospinovou konfigurací Co^{II} s 1 nepárovým elektronem. [5]

2.4.3.3 Nižší oxidační stavy

Oxidační stav (I) nepatří u kobaltu k běžným. Kobalt Co^{I} uplatňuje ve většině komplexů koordinační číslo 5, např. v $[\text{Co}(\text{SNR})_5]^+$, zatímco čtvercové komplexy jsou u něho prakticky neznámé.

V komplexech, kde atom kobaltu dosahuje oxidačních čísel 0 a -1 , ale dokonce i čísel nižších vystupují jako ligandy především CO, CN^- a RCN, které bývají často též součástí organokovových sloučenin. Jinými ligandy, schopnými ještě dobře stabilizovat nižší oxidační stavy, jsou terciární fosfany. Jako příklad takových komplexů může být uveden hnědý paramagnetický $[\text{Co}^0(\text{PMe}_3)_4]$ tetraedrické struktury. Připravuje se redukcí etherického roztoku, který kromě CoCl_2 ještě obsahuje PMe_3 , pomocí Mg nebo sodného amalgámu. Jeho další redukcí Mg v tetrahydrofuranu (thf) v přítomnosti dusíku vzniká $[\text{Mg}(\text{thf})_4][\text{Co}^{-\text{I}}(\text{N}_2)(\text{PMe}_3)_4]$. Podobně jako fosfany se chovají také estery kyseliny fosforité, a tak reakce, jež vede k $[\text{Co}^0(\text{PMe}_3)_4]$, poskytuje v případě $\text{P}(\text{OMe})_3$ a $\text{P}(\text{OEt})_3$ vedle paramagnetických monomerních komplexů $[\text{Co}^0\{\text{P}(\text{OR})_3\}_4]$ ještě diamagnetické dimery $[\text{Co}_2^0\{\text{P}(\text{OR})_3\}_8]$. [5]

2.4.4 Organokovové sloučeniny

Řada organokovových sloučenin kobaltu, také vitamin B_{12} s chemií vazeb $\text{Co}-\text{C}$, se vyznačuje významnými katalyckými účinky. Přitom je zajímavé, že jednoduché homoleptické alkylové a arylové sloučeniny kobaltu CoR_x se dosud nepodařilo připravit. Protože je ale znám značný počet sloučenin s vazbou $\text{Co}-\text{C}$, v jejichž molekule jsou přítomny nejen π -vazebné ligandy (např. fosfany a CO), ale také ligandy, které s atomem kobaltu netvoří vazby π (glyoximy a Schiffovy báze), nelze tuto skutečnost dost dobře přepisovat termodynamické nestálosti vazeb $\text{Co}-\text{C}$. O existenci sloučenin často rozhodují též sférické podmínky, popř. elektronové vlivy. Ukazuje to příklad glyoximů, kdy adované ligandy sféricky blokují molekulu, jinak z energetického hlediska náchylnou k rozpadu, zatímco elektronový faktor se v tomto případě výrazně neuplatňuje. [5]

Protože kobalt má lichý počet valenčních elektronů, mohou tyto prvky v karbonylech splňovat požadavky 18ti elektronové konfigurace jen za cenu tvorby vazeb $\text{M}-\text{M}$. V souladu s tím u nich nejsou proto známy jednojaderné karbonyly a tak na místo nich jsou základními binárními karbonyly $[\text{M}_2(\text{CO})_8]$, $[\text{M}_4(\text{CO})_{12}]$ a $[\text{M}_6(\text{CO})_{16}]$, ze kterých se dají získat další sloučeniny, jejichž složení odpovídá 18ti elektronovému pravidlu. Takovouto sloučeninou je například monomerní tetraedrický aniont $[\text{Co}(\text{CO})_4]^-$, který okyselením poskytuje hydrid $[\text{CoH}(\text{CO})_4]$ a k jehož přípravě slouží redukce $[\text{Co}_2(\text{CO})_8]$ rozpuštěného v benzenu sodíkovým amalgámem.

Karbonyly kobaltu jsou důležité a jejich význam spočívá především v tom že se stále uplatňují jako původní katalyzátory v hydroformylačních procesech, a to i přes to, že jsou nyní k dispozici nově vyvinuté rhodiové katalyzátory. [8]

2.5 Výskyt

Kobalt, ačkoliv je rozptýlený, tvoří pouze 0,001 % zemské kůry. Může být nalezen v malých množstvích v pozemských nebo meteoritických rudách, obsahující hlavně nikl, v atmosférách slunce a jiných hvězd, a v kombinaci s jinými prvky v přírodní vodě, v půdách, rostlinách, živočiších a takových minerálech jako jsou kobaltin CoAsS a smaltin CoAs_2 . Stopy kobaltu jsou přítomny v mnoha rudách niklu, mědi, stříbra, manganu, zinku a arsenu ze

kterých je často získáván jako vedlejší produkt. Kobalt je zkoncentrován a vyextrahován z těchto rud.

V souvislosti s vodou se nachází organicky vázaný jako vitamin B12 v kalech z biologického čištění odpadních vod, v sušině aktivovaného kalu. Dalším antropogenním zdrojem kobaltu mohou být odpadní vody z metalurgického průmyslu a galvanického pokovování, kde je přítomen převážně ve formě komplexu. O formách výskytu kobaltu ve vodách je známo jen málo. Mohou být však velmi rozmanité vzhledem ke značným schopnostem kobaltu tvořit komplexní sloučeniny. Jde především o hydrokomplexy a komplexy s huminovými látkami. Ve vodách se stanovuje poměrně výjimečně. [24]

2.6 Toxicita kobaltu

Aerosoly jemně rozptýleného práškového kobaltu mohou způsobit vážné plicní abnormality, včetně těžkého kašle a plicní fibrózy. Poškození horních cest dýchacích s příznaky krátkého dechu, kašle i permanentní neschopnost mohou způsobit tyto aerosoly u lidí s expozicí 1-2 mg/m³ ve vzduchu. Folikulitida, kožní nemoci a aktivace akné se může objevit u dospívajících dětí. Velké orální dávky kobaltu vedou k anorexii, nevolnosti, zvracení, průjmům, hluchotě, zrudnutí obličeje a ke kožním vyrážkám. Aktivuje zvětšení štítné žlázy blokováním příjmu jodu, zvláště u dětí. Kobalt je toxický jen jako výsledek vysokého příjmu nebo časté expozice. Posiluje množení krvetvorných buněk v kostní dřeni a buněk štítné žlázy.

V roce 1960 byl kobalt používán ke stabilizování pění piva. Obvykle přídavek 1 – 5 ppm kobaltu předejde pění.

U hospodářských zvířat kobalt snižuje dostupnost mědi, železa a manganu. Maximální bezpečný obsah v otravě činí 20 ppm pro skot, 50 ppm pro ovce, 10 ppm pro prasata a 4 ppm pro drůbež. Pro skot byla stanovena toxická hodnota 24 ppm. Skot při kontaminaci kobaltem trpí slabou kondicí, anorexií, sliněním, průjmem. Kobalt způsobuje polycythemii u králíků, kachen, mladých krys a psů.

LD₅₀: krysa: 1,5 g/kg, králík 20 mg/kg.

Mezi sloučeniny kobaltu toxikologicky významné patří arsenitan kobaltnatý, který představuje nebezpečí z toho hlediska že obsahuje jak arsen tak kobalt. Chlorid kobaltnatý po orálním použití způsobuje slabou vyrážku, nevolnost, zvracení a zákal nebo zastínění čočky. Síran kobaltnatý způsobuje alergickou reakci a také byl přidáván do piva jako přísada proti pění. [20]

2.7 Biochemie kobaltu

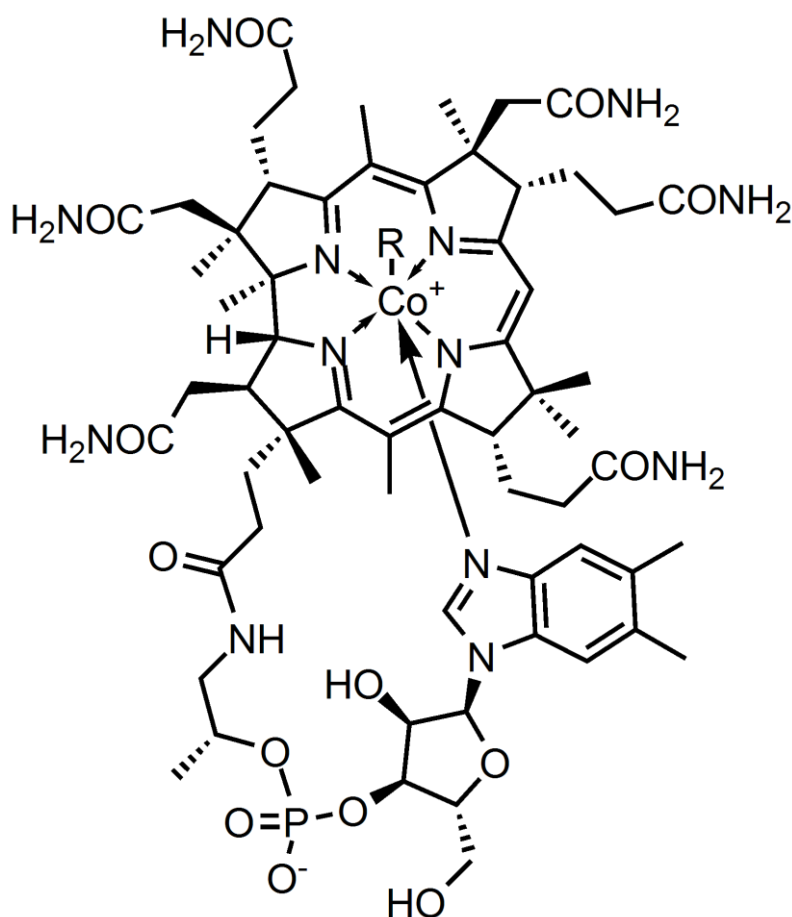
Kobalt se vyskytuje v různých oxidačních a spinových stavech a v nejnižším oxidačním stavu má více než pět 3d elektronů (je elektronově bohatý). Kobalt není jen elektronově bohatý, zejména v nižších oxidačních stavech a v nízkospinových stavech, ale nějaké ze 3d elektronů jsou exponovány σ - (nebo π -) orbitalem do těchto nízkospinových stavů preferovaných symetrií komplexů. To znamená že tetragonální nízkospinový stav $d^7 Co^{II}$ iontu je reaktivní volný radikál a jeho vlastnost je využívána ve vitaminu B12, koenzymu potřebovaného pro mnoho enzymatických reakcí vyžadujících volný radikál. [15]

2.8 Kobalt v biologických systémech

2.8.1 Dostupnost kobaltu v biologických systémech

Kobalt je v biologii důležitý jako stabilní nízkospinový stav, Co^{II} , který má odkrytý nepárový elektron, d^7 . Stabilní nízkospinový stav jiných iontů kovů, Mn, Fe, a Ni neposkytuje nepárový elektron upotřebitelný pro radikálové reakce.

Kobalt je vzácný prvek. Stopové množství kobaltu je důležité pro řadu živých organismů, včetně člověka. Většina kobaltu v lidském těle je v molekule vitamínu B12. Komplex vitamínu B12 sestává z centrálního atomu kobaltu a ligandů (obrázek č. 2) a je to vitamin s nejmenší koncentrací v lidském těle. Tvorba tohoto komplexu je závislá jak na ligandu tak i na centrálním atomu. Existuje asi 11 extrémně citlivých organických reakcí při kterých biologický systém potřebuje vitamin B12. Použití elementárního kobaltu je spojeno s katalýzou volných radikálů a kontrolu reakce těchto radikálů. Kontrola v tomto významu znamená že radikály nesmí být příliš reaktivní aby nepoškodily fyziologickou tkáň. [9]



R = 5'-deoxyadenosyl, Me, OH, CN

Obrázek. č. 2.: Vitamin B12

- R = 5'-deoxyadenosyl – koenzym B12
- R = Me – methylkobalamin
- R = OH – hydroxykobalamin
- R = CN – kyanokobalamin – základní forma

2.8.2 Vitamin B12

Vitamin B12 je rozpustný ve vodě, který je přirozeně přítomen v potravinách, přidáván do jiných potravin a dostupný jako doplněk stravy a jako lékařský předpis. Vitamin B12 je stabilní vůči teplu, svoji aktivitu ztrácí na světle, za přítomnosti vzduchu a v alkalickém prostředí. V kyselém prostředí je odolný a může být zahříván dlouho při 100 °C. Ke ztrátě aktivity vitaminu B12 při vaření dochází spíše jeho vylouhováním do vody, než k jeho tepelné inaktivaci. Byl objeven v roce 1926 Dr. Georgem R. Minotem a Dr. Williamem P. Murphym.

Vitamin B12 existuje v několika formách a obsahuje minerál kobalt, takže sloučeniny s vitaminem B12 jsou všeobecně označovány jako "kobalaminy". Rozeznáváme dvě formy: kyanokobalamin a hydroxykobalamin (ten je účinnější). Aby byl vitamin B12 v lidském metabolismu aktivní musí být kobalaminy přeměněny na methylkobalamin a 5-deoxyadenosylkobalamin.

Chemicky se jedná o derivát korinu, komplex s kobaltem jako centrálním atomem. Je to jeden z nejlépe studovaných organokovových systémů v biologii. Originální struktura byla popsána z kyanokobalaminu, ve kterém je kyanidová skupina druhým axiálním ligandem spolu s dimethylbenzimidazoleovým nukleotidem, který je kovalentně vázán na korinový kruh. [10, 11, 15]

2.8.2.1 Zdroje vitaminu B12 a proces vstřebávání

Rostliny ani živočichové nesyntetizují vitamin B12. Pouze některé rody bakterií (*Alcaligenes*, *Azotobacter*) produkují tento vitamin, jelikož mají potřebné enzymy. Býložravci ho získávají z bakterií, které obývají jejich zažívací trakt a tento se posléze dostane potravním řetězcem i do lidského těla. Ke vstřebání do lidského těla z potravy ve střevě potřebuje tzv. vnitřní faktor (intrinsic faktor) uvolňovaný ze žaludeční sliznice k separaci vitaminu od bílkoviny. Vytvoří se komplex s vnitřním faktorem, což je glykoprotein secernovaný parietálními buňkami žaludeční sliznice (nacházejí se v horní části žaludku). Na tento faktor se váže v žaludku a v dvanáctníku. Komplex se vstřebává v tenkém střevě po vazbě na příslušné receptory transportního mechanismu. Při poškození střevní sliznice se dostává kyanokobalamin do těla pouhým přestupem přes tuto postiženou sliznici. Pro normální absorpci musí být pH neutrální a musí být přítomny vápenaté ionty. Při stravě s vysokým obsahem tuků, bílkovin a rafinovaných cukrů a jiných rafinovaných potravin je absorpce B12 inhibována. Po vstřebání se váže komplex na transkobalamin. Nadbytek se hromadí vázaný na plasmatickou bílkovinu (skladovací rezerva je 3 000 – 5 000 µg) v játrech, méně pak ve svalech a v ledvinách. Cigaretový kouř obsahuje složky, které inaktivují hydroxykobalamin a tento je ničen taky alkoholem, antikoncepčními přípravky, hypnotiky a antibiotiky, která narušují střevní mikroflóru.

V potravinách se vitamin B12 nachází vázaný na proteiny a tato vazba je rozrušena ještě před absorpcí. V potravinových doplňcích stravy je vitamin B12 ve formě vitaminu B12 a nevyžaduje proto separační krok.

Vitamin B12 je přirozeně nacházen v živočišné stravě, například v rybách, mase, drůbeži, vejcích a mléčných výrobcích. Zřídka se vyskytuje v rostlinné stravě, ale cereálie jsou s vysokou dostupností zdrojem vitaminu B12 pro vegetariány. Některé druhy kvasnic také obsahují vitamin B12.

V doplňcích stravy je vitamin B12 přítomen jako kyanokobalamin ve formě, které je tělo schopno převést na aktivní formy methylkobalaminu a 5-deoxyadenosylkobalaminu. Doplnky stravy mohou taktéž obsahovat methylkobalamin a jiné formy vitaminu B12. Faktem je že

vitaminy B by měly být podávány společně jako B-komplex, jelikož jsou vzájemně propojeny ve své funkci. Velké dávky některého z nich mohou být bezcenné a mohou být příčinou deficitu ostatních.

Průměrná strava obsahuje 5 – 30 µg vitamínu B12 a z toho se vstřebává 1 – 5 µg. Denní potřeba pro dospělého člověka je 2 – 3 µg, pro těhotné a kojící ženy 4 µg. [12, 14]

2.8.2.2 Nedostatek a přebytek vitamínu B12 v těle

Při nedostatku vitamínu B12 a B9 (kyseliny listové), která s vitamínem B12 spolupůsobí, dochází k inhibici mitózy a k abnormálnímu zrání vytvořených buněk. Toto je nejvíce patrné na tkáních s rychlým růstem (kostní dřeň, epitel zažívacího traktu) a vzniká megaloblastická anémie. Základní příčinou je nedostatečná produkce DNA a proto je omezeno dělení buněk, syntéza RNA a bílkovin pokračuje. To vede k produkci velkých elementů, které jsou citlivé na poškození. Léčba megaloblastické anemie při nedostatku vitamínu B12 trvá celý život.

Deficit vitamínu B12 je téměř vždy způsoben jeho malou absorpcí způsobenou nedostatečnou produkcí vnitřního faktoru nebo poruchou vstřebávání komplexu B12 a vnitřního faktoru střevní stěnou. Nejčastější příčinou nedostatku vnitřního faktoru bývá buď částečné odstranění žaludku nebo dráždění žaludku potravou (např. káva, koření, léky). Poruchu vstřebávání způsobují chorobné stavy v tenkém střevě jako jsou různé záněty, střevní dismikrobie při syndromu slepé klíčky, při pankreatitidě, nákaze škulovcem.

Nedostatek vitamínu B12 je charakterizován chudokrevností, únavou, slabostí, zácpou, ztrátou chuti a poklesem váhy. Mohou se také objevit neurologické změny, jako je otupělost a brnění v končetinách. Mezi další příznaky patří obtížné udržování rovnováhy, deprese, dezorientace, slabá paměť a bolest jazyka a úst. Neurologické symptomy se mohou objevit i bez chudokrevnosti, ale včasná diagnóza a zákrok může zabránit nevratnému poškození.

Neurologické poškození způsobené dlouhodobým deficitem vitamínu B12 může být ireversibilní. Dochází k syntéze aberantních mastných kyselin, které se zabudovávají do buněčných membrán.

Nedostatek způsobuje také mentální choroby jako je deprese a mnoho dalších symptomů, podobně popisovaných jako Alzheimerova choroba. (Zvýšený homocystein, který může být snížen dodáváním vitamínu B12 se ukázal jako hlavní faktor při vzniku Alzheimerovy choroby). Zvýšený homocystein je též hlavním rizikovým faktorem při vývoji arteriosklerózy, primární poruchy při vzniku onemocnění cév a srdce. Vitamin B12 společně s kyselinou listovou (B9) a pyridoxolem (B6) mohou pomoci ochránit zdi cévních kapilár urychlením přeměny homocysteinu zpátky na aminokyselinu methionin (B12 a B9) a metabolismem homocysteinu na cystathionin cystein (B6).

Běžně se nedostatek vitamínu B12 léčí injekcemi s tímto vitamínem. Ačkoliv efektivnější by byly dózy s vitamínem k orálnímu podání. Nadbytek vitamínu B12 dodaný touto cestou je vylučován močí

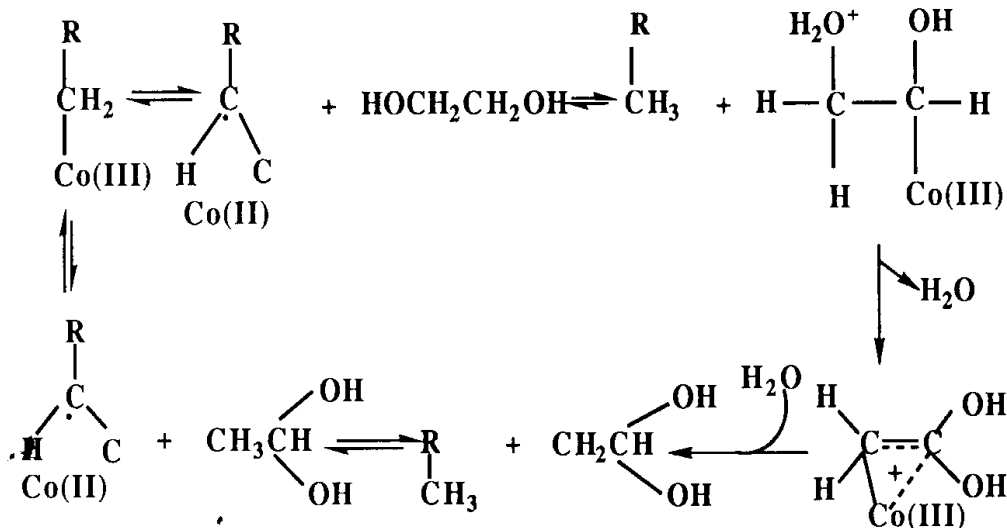
Zatím nebyly zpozorovány žádné nepříznivé efekty spojené s nadbytkem vitamínu B12 dodávaného z potravin. [12, 13]

2.8.3 Koenzym B12

Koenzym B12 (5'-deoxyadenosyl kobalamin) se zúčastňuje jako kofaktor v mnoha enzymatických reakcích, které vyžadují nové uspořádání substrátu, kde atom vodíku je vyměněn s funkční skupinou na sousedících uhlících.

Mnoho reakcí, které využívají koenzym B12 probíhají radikálově nebo reakcí katalyzovanou homolytickým štěpením vazby Co—C za vzniku Co^{II} iontu a deoxyadenosylového radikálu. Radikál potom využije vodíkový atom ze substrátu a vznikne radikál na substrátu, který se následně přeuspořádá.

Byl navrhnout mechanismus (obrázek č. 3) s důkazem přeuspořádání z konfigurace σ na konfiguraci π v kobaloximech. Toto přeuspořádání kontrolují enzymy, závislé na vitamínu B12. V tomto mechanismu je znázorněna i role Co^{III} .



Obrázek č. 3.: Přeuspořádání z konfigurace σ na π

2.8.4 Funkce vitamínu B12 v těle

Vitamin B12 je normálně zapojen do metabolismu každé buňky v těle, speciálně ovlivňuje syntézu a regulaci DNA, ale také syntézu mastných kyselin a produkci energie. Nicméně hodně (ne všech) funkcí vitamínu B12 může být nahrazeno dostatečným množstvím kyseliny listové (vitamin B9).

Podílí se na krvetvorbě, činnosti nervů jater, ovlivňuje metabolismus tuků a sacharidů a replikaci DNA. Vitamin B12 funguje jako kofaktor pro methioninsyntázu a L-methylmalonyl-CoA mutázu. Methioninsyntáza katalyzuje přeměnu homocysteinu na methionin. Methionin je žádoucí pro tvorbu S-adenosylmethioninu, univerzálního methyl donoru pro téměř 100 různých substrátů, včetně DNA, RNA, hormonů, proteinů a lipidů. L-methylmalonyl-CoA mutáza přeměňuje L-methylmalonyl-CoA na sukcinyl Co-A při degradaci propionátu. Jedná se o esenciální biochemické reakce v metabolismu tuků a proteinů. Sukcinyl Co-A je důležitý pro syntézu hemoglobinu.

Z hlediska nervové funkce je potřebný pro tvorbu fosfolipidů buněčných membrán, toto je důležité pro přenos nervových vzruchů a myelinových pouzder, které kryjí a chrání nervové buňky a zrychlují vedení nervových vzruchů.

Příznivý vliv vitamínu B12 na mentální funkce a emoční zdraví je dán jeho rolí při syntéze mastných kyselin a vlivu na zdraví nervových buněk.

Reaktivní vazba Co—C v koenzymu B12 se zúčastňuje tří hlavních enzymatických reakcí v těle:

- 1) Izomerace – vodíkový atom je přenesen mezi dvěma sousedícími atomy s průvodní výměnou druhého substituentu X, který může být uhlíkový atom se substituenty, kyslíkový atom alkoholové skupiny nebo aminová skupina.

- 2) Transfer methyl- skupiny mezi dvěma molekulami – dárceství methyl- skupiny vitamínem B12 urychluje výrobu a recyklaci mozkových přenašečů (neurotransmiterů), které jsou zodpovědné za paměť, mentální jasnost a bdělost, náladu a další procesy.
- 3) Dehalogenace – reakce, ve které je atom halogenu odstraněn z organické molekuly.

Spolu s vitamínem B12 spolupůsobí kyselina listová (Vitamin B9, folacin) [13, 14].

2.8.5 Metalloproteiny – proteiny substituované kobaltem

Existuje značné množství výzkumů zaměřených na metalloproteiny substituované kobaltem. Primární důvod je substituce kobaltu namísto zinku, paramagnetismus kobaltu a jeho citlivost na změny v koordinační geometrii, které lze posuzovat na jeho adsorpčním spektru pro oblast viditelného světla. Často je výhodné substituovat kobalt za zinek ke studiu metalloenzymů závislých na zinku. Dvě důležité proteázy závislé na zinku jsou karboxypeptidáza A, a thermolysin.

Byly připraveny strukturní a elektronové imitace jejich aktivních složek v substituovaných metalloenzymech. Jak viditelná tak MCD spektra byly velice podobné jako spektra thermolysinu a karboxypeptidázy A, zatímco rentgenové snímky struktur Zn a Co substituovaných metalloenzymů vykazovaly jen velmi malé rozdílnosti ve struktuře.

Výzkumy získaly pádný důkaz týkající se vazebného místa Co^{II+} v kobaltem substituovaných modrých proteinech mědi. Dřívější výzkumy se omezovaly pouze na měření absorpce v UV-VIS oblasti, kde spektrální vyhodnocení jsou limitovány překrytím spinově povolených d-d přechodů a excitací přenosem náboje. Dnes už se metoda absorpce v UV-VIS oblasti nepoužívá a používají se sofistikovanější metody.

Substituce kobaltem na aktivní místo zinečnatých enzymů nabízí excelentní spektroskopickou sondu pro výzkum strukturní morfologie. [9]

3 SPEKTROFOTOMETRICKÁ ČINIDLA PRO STANOVENÍ KOBALTU

UV-VIS Spektrofotometrie:

Molekuly mají schopnost pohlcovat elektromagnetické záření pouze určitých vlnových délek. Je to dáno tím, že mohou existovat v určitých kvantových stavech, které se liší obsahem energie. Jestliže má molekula přejít ze stavu s nižší energií do stavu s energií vyšší, musí absorbovat záření o frekvenci, která právě odpovídá rozdílu energií mezi energetickými hladinami.

Energeticky nejnáročnější jsou přechody mezi elektronovými energetickými hladinami. Běžně jsou způsobeny absorpcí UV záření (190 – 380 nm) a viditelného záření (380 – 780 nm). Absorpce záření se měří na přístrojích zvaných absorpční spektrofotometry.

Při měření je ze vstupujícího toku záření Φ_0 část absorbována vzorkem (absorbovaný zářivý tok Φ_A) a v ideálním případě zbytek projde a je zaznamenán jako vystupující zářivý tok Φ . Podíl zářivých toků Φ a Φ_0 se nazývá propustnost neboli *transmittance*:

$$\tau = \Phi / \Phi_0$$

Na většině spektrofotometrů lze také odečíst hodnotu *absorbance* A , tj. záporně vzatý logaritmus propustnosti:

$$A = -\log \tau = \log (\Phi_0 / \Phi)$$

Většina kationtů kovů ve zředěných vodných roztocích vykazuje jen nepatrnou vlastní absorpci. Kationty se proto převádějí do barevných stabilních komplexů reakcí s komplexotvornými činidly obsahujícími chromoforní skupiny. Vznik komplexu vyžaduje obvykle vhodné pH.

Kvantitativní analýza je založena na Lambert-Beerově zákoně, podle kterého je hodnota absorbance A při vlnové délce λ přímo úměrná látkové koncentraci c (mol/l). V případě jediné absorbující látky platí:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c = k \cdot c$$

kde ε je molární absorpční koeficient, b je tloušťka vrstvy, k je konstanta úměrnosti. Pro stanovení koncentrace prvku se vybírá vhodná vlnová délka, při které stanovovaná látka nejvíce absorbuje a interferující látky absorbují minimálně. Měření se provádí většinou metodou kalibrační křivky nebo metodou standardního přídatku.

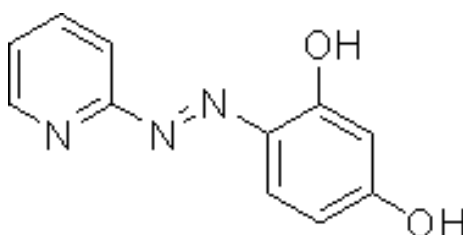
Absorpční spektrofotometr je tvořen 4 základními částmi:

- 1) *Zdroj* spojitého elektromagnetického záření, pro viditelnou oblast se běžně používá wolframová nebo halogenová žárovka.
- 2) *Monochromátor* je tvořen vstupní a výstupní štěrbinou, rozkladným prvkem (optický hranol nebo optická mřížka) a zrcadlovou nebo čočkovou soustavou. Natáčením rozkladného prvku se postupně zobrazují jednotlivé monochromatické obrazy vstupní štěrbinu na štěrbinu výstupní.
- 3) *Absorpční prostředí* tvoří kyveta s měřeným popř. srovnávacím roztokem. Materiál kyvet se řídí měřenou oblastí spektra.
- 4) *Detekční systém* je složen z detektoru záření a elektronického zařízení na zpracování jeho odezvy. Detektor převádí zářivý tok na elektrický signál. Jako detektory se nejčastěji používají fotonky nebo fotonásobiče. Signál z detektoru se zpracovává

v zesilovači, jeho výstup se zobrazí na číslicovém displeji nebo v příslušném programu v počítači.

Svazek polychromatického záření vycházející ze zdroje dopadá na vstupní štěrbinu monochromátoru. Po rozkladu na reflexní mřížce nebo hranolu vychází z výstupní štěrbině svazek přibližně monochromatického záření, které je charakterizováno intervalem vlnových délek, které projdou výstupní štěrbinou. Střední hodnotou tohoto intervalu je nastavená vlnová délka. Velikost intervalu je závislá na konstrukci přístroje. Po průchodu absorpčním prostředím dopadá monochromatické záření na fotoelektrický detektor a vzniklý fotoproud se převádí na digitální výstup. [25]

3.1 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR)



Obrázek č. 4.: 4-(2-pyridylazo)resorcinol [20]

4-(2-pyridylazo)resorcinol PAR (obrázek č. 4) je žlutá ve vodě rozpustná sloučenina a poskytuje ve vodě rozpustné cheláty. Absorpční maximum má 645 nm při pH 4 – 9.

PAR je široce používán jako spektrofotometrické činidlo pro stanovení kovů. Významnou výhodou je zvýšená selektivita tohoto činidla na ionty kovů obsahující neobsazený d- nebo d^{10} orbital nebo f-orbital, jestliže jsou srovnatelné s o-substituovanými azo barvivy nebo o, o'-dihydroxy azo barvivy, nebo 4-substituovanými fenylazo chromotropickými barvivy. V adičních reakcích je PAR více citlivý než pyridylazofenoly nebo thiazolylazo barviva, je docela stabilní vůči rozkladu v kyselinách nebo zásadách. PAR poskytuje analytické využití pro reakce s Cu(II), Co(III), Ni(II), Fe(II, III), Cd, Zn, Pb(II), Hg(II), UO_2^{2+} , Pd(II), Pt(IV, II), Os, Ru, Rh, Ga, In, Tl(III), Sc, Y, La, Lanthanoidy, aktinoidy, Mn(II), Zr, Hf, V(V, IV), Nb, Ta, Bi(III), někdy za zvýšené teploty nebo varu s Cr(III), Os, Ru, Rh, nebo za přítomnosti komplexotvorného činidla s V, Nb, Ta. Většina z těchto chromogenních reakcí mohou být využity pro spektrofotometrické stanovení iontů kovů za zvolených podmínek.

Podvojně protonované a normální cheláty kovů jako je třeba MLH, ML, $M(LH)_2$, ML_2H nebo ML_2 vznikají ve vodných roztocích v závislosti na pH a koncentraci činidla, jejichž staūsobilita a molární absorptivita je značně odlišná. Některé z aniontových chelátů jsou snadno extrahovány do nepolárních rozpouštědel, ve formě iontových párů s velkým terciárním organickým kationtem. Optické vlastnosti jako je λ_{max} a molární absorptivita PAR chelátů jsou závislé na stabilitě chelátů a elektronové struktuře iontu kovu, ale tyto korelace nejsou jednoduché. [16]

3.1.1 Stanovení kobaltu s PAR

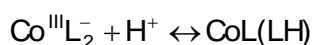
PAR tvoří s kobaltem 2 sloučeniny. $Co^{III}L(LH)$ vzniká v kyselém prostředí při pH < 3, je rozpustný ve vodě a organických rozpouštědlech, vodné roztoky mají 2 absorpční maxima – 430 nm a 550 nm. Při pH 3 – 10 vzniká $Co^{III}L_2^-$, dobře rozpustný ve vodě, mírně rozpustný

v polárních organických rozpouštědlech ($\lambda_{\max} = 510 \text{ nm}$). Absorbance vodných roztoků je konstantní a maximální při pH 6 – 9. [28]

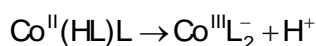
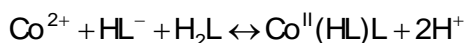
Kineticky netečný $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^-$ ($\lambda_{\max} = 510 \text{ nm}$, $\epsilon = 6,1 \cdot 10^4 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) vzniká v roztocích s přebytkem iontu kovu, ale také v ekvimolárním roztoku nebo roztoku s přebytkem činidla. Co(II) je oxidován na Co(III) v přítomnosti přebytku činidla v celém rozsahu pH stupnice dokonce i v nepřítomnosti oxidačních činidel nebo v přítomnosti askorbové kyseliny, takže neexistuje Co(II) chelát s PAR ve vodném roztoku. Tyto výsledky byly ověřeny i z magnetochemických studií v roztocích.

Slabě absorbující $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}(\text{LH})$ ($\lambda_{\max} = 550 \text{ nm}$, $\epsilon = 1,66 \cdot 10^4 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) je vytvářen při pH 0,5 – 3,0, speciálně v roztocích s přebytkem iontu kovu. Tento komplex může být připravován taky z $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^-$ v roztocích s menším přebytkem činidla jestliže roztok je připravován při pH 6,5 – 8,0 je okyselen zpět na pH 3,2 – 4,9.

Rovnováha:



je charakterizována rovnovážnou konstantou, $\log k = 4,0$. Pravděpodobné schéma reakce má dva kroky:



V 50%ním dioxanu dochází k odštěpení tří protonů.

Tvorba $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^-$ začíná být rychlá od pH > 3,2 a je kvantitativní od pH > 6,5. $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^-$ připraven při pH 8,9 (borátový pufr) nebo pH 6,88 (pufr octanu amonného), není rozkládán dokonce ani v přítomnosti 0,1 M EDTA nebo CDTA. Citráty nebo vínany vůbec neruší komplex a minerální kyseliny mění tento chelát na více protonovaný komplex Co(III). Při pH 2 – 8 se pravděpodobně netvoří žádný chelát kobaltu s PAR v poměru Co(III):L = 1:1.

$\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_3$ je lehce extrahovatelný do chloroformu při pH 8 – 9 ve formě aniontového asociátu B^+CoL_2^- s kationogenní povrchově aktivní látkou na základě kvartérní amoniakové báze jako je třeba Zephyramin nebo tetradecyldimethyl benzylammonium chlorid ($\lambda_{\max} = 520 - 530 \text{ nm}$). Extrakce může být prováděna při pH 7,0 – 7,5 (citrátové nebo borátové prostředí) po povaření se zředěným EDTA nebo CDTA i za přítomnosti interferujících iontů. Podobný terciární druh je vytvářen s tetrafenylfosfoniovým a tetrafenylarsoniovým kationtem a tento komplex je extrahovatelný při pH 8,0 do chloroformu ($\lambda_{\max} = 515 - 520 \text{ nm}$, $\epsilon = 1,76 \cdot 10^4 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), nebo s difenylguanidinovým kationtem při pH 4 – 8,5 ($\lambda_{\max} = 520 - 530 \text{ nm}$).

Stechiometrie Co:L = 1:2 v chelátu byla určena dříve, ale předpokládalo se že chelát obsahuje Co(II) [29]. Podobně, dřívější předpoklady tvorby chelátu CoL a CoL_2 , pouze z potenciometrických křivek při pH 4 – 7 jsou diskutabilní, protože tyto cheláty mohou obsahovat jen Co(II) a tyto oxidační čísla zatím nebyly dokázány. Komplexy Co:L = 1:1 (pH 2,5) a Co:L = 1:2 (pH 6 – 7) jsou v přítomnosti kyseliny kapronové extrahovatelné do chloroformu. Oxidační číslo kobaltu v těchto komplexech je diskutabilní.

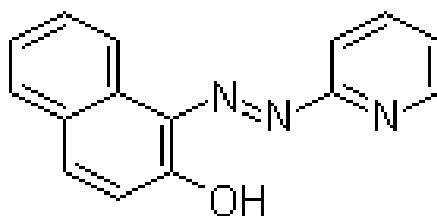
Pro spektrofotometrické stanovení kobaltu s PAR bylo mnoho postupů provedeno dříve, všechny na základě chelátu $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^-$. Například při pH 8 a 500 nm, v přítomnosti octanu a citrátu amonného a následném přidání EDTA na odstranění interferujících PAR chelátů. Postup stanovení kobaltu při pH 8 a 510 nm je popsán níže. V prostředí citrátového pufru při pH 6,8 a 510 nm s následným přidáním EDTA a CN^- , které odstraní ineterferující Fe(III) a Ni(II); V prostředí borátového pufru při pH 9, kde vroucí 0,05 M EDTA nerozloží vyvinutý

komplex $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^-$ minimálně do 30 minut. Za normální teploty jsou Fe(II), Co(III), Ni(II), Cr(III) a Pd(II) cheláty s PAR všechny odolné zředěnému roztoku EDTA. Optimální podmínky pro metodu na základě chelátu $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^-$ korespondují s pH 8,9 (0,1 M borát) nebo pH 6,9 (0,25 M octan amonný) v roztoku s $c_{\text{L}} = 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, $I \leq 2,0$ (dusičnan nebo síran). Fluorid (0,1 M), thiomčovina (0,1 M) a citrát (0,1 M) mohou taky být použity pro maskování některých interferujících iontů. EDTA v koncentraci $0,01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ může působit jako přidavné maskovací činidlo za předpokladu, že $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^-$ je předtím připraven při pH 8,8 – 8,9 během 5 minut a EDTA na konec působí po 10 minut při 80 °C. Absorbance je v tomto případě měřena při vlnové délce 510 nm.

Byly vyvinuty některé více selektivní, ale méně citlivé způsoby, které v kyselém prostředí využívají protonovaný Co(III). Například při pH 3 (octan amonný) v přítomnosti EDTA a po 1 hodině tvorby komplexu, byla absorbance měřena při 530 – 560 nm, $\epsilon = 2,1 \cdot 10^4 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. V roztoku 0,4 M kyseliny sírové při vlnové délce 530 – 540 nm ($\epsilon = 1,9 \cdot 10^4 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) po předchozím vyvíjení chelátu $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^-$ při pH 5. Ve 2,5 M kyselině sírové při 536 nm ($\epsilon = 1,54 \cdot 10^4 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), kdy se mateční roztok chelátu $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^-$ připravuje při pH 8. Absorbance se měří po 30 minutách. Po dalším, podrobnějším zkoumání těchto postupů bylo objeveno že 1,26 M kyselina sírová i 0,4 M kyselina chloristá jsou vhodné pro rychlou přeměnu vytvořeného chelátu $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^-$ při pH 8,8 – 8,9 na protonovaný chelát $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}(\text{LH})$, jehož absorbance je měřena po 5 minutách při 550 nm ($\epsilon = 1,66 \cdot 10^4 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Nejvíce rušivé prvky jsou potom Fe(II,III), Ni(II), Cu(II) a Pd(II). [30]

Postup: K roztoku obsahujícímu 5 – 50 μg Co se přidá 2,5 ml činidla, 10 ml pufru (pH 8) a roztok se doplní vodou na 50 ml. Červený roztok se fotometruje při 510 nm. Metoda dovoluje stanovit množství kobaltu 0,1 – 1,0 ppm Co. [16]

3.2 1-(2-pyridylazo)-2-naftol (PAN)



Obrázek č. 5.: 1-(2-pyridylazo)-2-naftol [21]

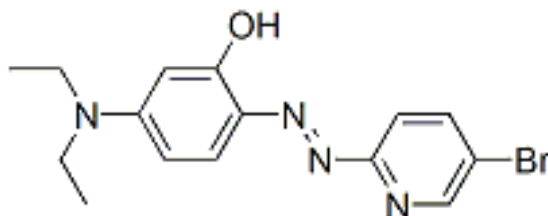
1-(2-pyridylazo)-2-naftol (obrázek č. 5) je rozpustný v methanolu a ethanolu a poskytuje roztok žluté barvy. PAN tvoří komplexy s mnoha kovy, které jsou částečně rozpustné ve vodě a zcela rozpustné v chloroformu, dimethylformamidu, dimethyl sulfoxidu nebo benzenu. Rozpustnost ve vodě stoupá v přítomnosti neionogenních nebo anionogenních povrchově aktivních látek (PAL). Činidlo PAN slouží jako reagent pro stanovení Mn, Zn, Cd, Cu, Ni, Co, U a dalších kovů. Komplexy většiny kovů jsou červené nebo červenofialové, ovšem cheláty Co(III) jsou zelené, velmi stabilní a kineticky inertní. Absorpční maxima vzniklých komplexů jsou odlišné od maxim reagentů. [21].

3.2.1 Stanovení kobaltu s PAN

Činidlo PAN dává s Co(II) červeně, za přítomnosti oxidačního činidla (KIO_4 , H_2O_2) pak zeleně zbarvené komplexy Co(III). Cheláty Co(II) s PAN jsou stabilní v alkoholickém roztoku, ale ve vodném roztoku jsou rychle oxidovány kyslíkem na Co(III). Toho se využívá pro spektrofotometrické stanovení kobaltu s činidlem PAN. Jedná se o jednoduchou a velmi citlivou metodu stanovení kobaltu na bázi rychlé reakce s PAN v přítomnosti povrchově aktivních látek a malého množství peroxodisíranu amonného při pH 5. Chelát Co(III) se rozpustí ve vodě s obsahem neutrální povrchově aktivní látky a je snadno extrahovatelný do chloroformu. K roztoku se ještě přidává Triton X-100 v kombinaci s DBS. Přídavkem oxalátu nebo citrátu jsou maskovány Fe(II), Bi, Sn(IV) a Pb. Cheláty PAN s dalšími kovy (kromě niklu) jsou rozkládány přídavkem EDTA. Nikl neovlivňuje stanovení do koncentrace 150 μg . Při pH < 0,5 jsou všechny nežádoucí cheláty kovů, včetně niklu, kompletně a okamžitě rozloženy, zatímco chelát Co(III) s PAN zůstává nezměněn. Když se po vyvinutí zbarvení místo EDTA přidá pár kapek 6 M HCl, nevadí přítomnost niklu až do 1250 μg . Zinek ani mangan neinterferuje ani v mnohonásobném přebytku. Absorbance se měří pro vlnovou délku 620 nm pro koncentrace kobaltu 0,4 – 3,2 $\mu\text{g/ml}$. Přesnost stanovení je $\pm 1 \mu\text{g}$ na 100 μg kobaltu, $\epsilon = 1,9 \cdot 10^4 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Postup: K roztoku obsahujícímu 0,5 – 12,0 μg Co se postupně přidává 2 ml 10% kyseliny citronové, 2 ml 50% octanu amonného, 1 kapka KIO_4 a 0,5 ml 0,1% činidla PAN v ethanolu. Roztok se extrahuje 3 minuty s 5 ml chloroformu a spektrofotometrické stanovení probíhá při 640 nm proti stejně připravenému slepému roztoku. [22, 26]

3.3 2-(5-Brom-2-pyridylazo)-5-diethylaminofenol (5-brom-PADAP)



Obrázek č. 6.: 2-(5-Brom-2-pyridylazo)-5-diethylaminofenol

Pyridylazobarviva, s jednou zcela nebo částečně alkylovanou amino skupinou v *para* pozici k azo skupině, náleží do citlivých azo barviv pro stanovení řady iontů přechodných kovů. Mimo jiné to jsou také činidla pro reakci s Co(II), vhodné pro stanovení kobaltu spektrofotometricky. 5-Brom-PADAP (obrázek č. 6), ačkoliv je ve vodě téměř nerozpustný, je také činidlo pro stanovení uranu, zinku, kadmia, manganu, niklu, mědi, železa, thallia, india, gallia a kobaltu.

Ve srovnání s dříve používanými činidly pro kobalt jsou jen 5-chlor-PADAP [31], 3,5-dibrom-PADAP [32], 4-(2-dipyridylazo)-1,3-diaminobenzol a jeho analogy a 2-(2-thiazolylazo)-[4-methyl-5-sulfomethyl]-aminobenzoová kyselina citlivější než 5-Brom-PADAP, to díky jejich snadné dostupnosti, stabilitě v roztocích a lepšímu barevnému kontrastu mezi reagující formou a jejich Co(III) chelátů. [18]

3.3.1 Stanovení kobaltu s 5-Brom-PADAP

Citlivé a selektivní stanovení kobaltu ($< 0,9 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) s činidlem 5-brom-PADAP je prováděno při pH 7 v přítomnosti pufru octanu amonného, $5 \cdot 10^{-3}$ M peroxodisíranu amonného, 0,1% Tritonu X-100 a 10% (v/v) dimethylformamidu. Kineticky inertní chelát $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^-$ ($\lambda_{\text{max}} = 548 \text{ nm}$ a 586 nm), vzniklý při pH 7 ve vodném roztoku dimethylformamidu (10% v/v), je stabilní při jakémkoliv určeném pH (v 1,25 M H_2SO_4 , 1,8 M HNO_3 nebo 0,1 – 0,01 M EDTA, kde mnoho jiných chelátů 5-brom-PADAP je rozloženo). V(V), Hg^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} a Pd^{2+} mohou rušit stanovení. Toto činidlo se používá pro stanovení kobaltu v kyanokobalaminech a v pitné vodě. Chyby jsou v rozmezí 3 – 7 % (1,8 – 9 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$).

Molární absorpční koeficient je $8,1 \cdot 10^4$ (548 nm) a $9,2 \cdot 10^4 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (586 nm).

Reakční podmínky:

Roztok obsahuje 10% (v/v) Dimethylformanidu, 0,1% roztok Triton X-100 a přebytek Co(II) ($c_{\text{M}} = 1,48 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, $c_{\text{L}} = 1,48 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) nebo téměř ekvimolární roztok. V přítomnosti peroxodisíranu amonného ($5 \cdot 10^{-3}$ M) nebo askorbové kyseliny ($1,7 \cdot 10^{-3}$ M) při pH > 1 se vytvoří chelát $\text{Co}(\text{III})\text{L}_2$ ($\lambda_{\text{max}} = 548 \text{ nm}$ a 586 nm , izobestický bod je při 490 nm). Tvorba chelátu je kvantitativní až od pH 3,9. Odchylka křivek roztoků s velkým přebytkem Co(II) od izobestického bodu je způsobena vlastní absorpcí iontu $\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$. [26]

Optimální podmínky: $c_{\text{L}}/c_{\text{M}} = 10$, 10% (v/v) dimethylformamid, 0,1% Triton X-100, 0,1 M octan amonný (pH 6.98), a $5 \cdot 10^{-3}$ M peroxodisíran

Vliv oxidačních a redukčních činidel:

V roztoku s přebytkem činidla ($c_{\text{L}} = 7,38 \cdot 10^{-5}$ M) peroxodisíran amonný do koncentrace 10^{-2} neovlivňuje stanovení. Jodistan sráží málo rozpustné iontové asociáty a ovlivňuje stanovení. V přítomnosti askorbové kyseliny ($c < 1,7 \cdot 10^{-3}$ M) se snižuje po 120 minutách absorbance jen mírně (méně než 2 % při 586 nm).

Vliv pufrů a iontové síly

Acetátový pufr (pH 4,88), pyridinový pufr (pH 5,00) a octan amonný neovlivňuje stanovení do koncentrace 0,4 M. Chlorid nebo dusičnan sodný popř. draselný neovlivňuje stanovení do iontové síly $I \leq 1$.

Vliv tenzidů

Anionogenní dodecylsulfát ($c \leq 2 \cdot 10^{-3}$ M) prakticky neovlivňuje spektrum molekulární formy činidla, snižuje ale absorbanci chelátu Co(III) při obou maximech absorpčního spektra a jsou negativně ovlivněny koeficienty směrnice kalibrační křivky při 586 nm. Neionogenní tenzidy Triton X-100 popř. Brij 35 snižují absorbanci Co(III) chelátů, při 586 nm 0,1% Triton X-100 snižuje přibližně o 13 % a 1%, Brij 35 snižuje asi o 8 % ($c_{\text{L}} = 7,38 \cdot 10^{-5}$). Zpožďují také tvorbu chelátu v roztoku.

Vliv silných kyselin

Přidání kyseliny dusičné ($c \leq 2,34$ M) 15 minut po vytvoření chelátu k roztoku $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^-$, připravenému za optimálních podmínek neovlivňuje stanovení 10 minut po přidání kyseliny ani při 548 nm ani při 586 nm.

Přidání kyseliny sírové ($c \leq 2,6$ M) neovlivňuje stanovení ani po 120 minutách po přidání. Teprve po 12 hodinách se rozloží 35 % chelátu Co(III).

Kyselina chlorovodíková ($c \leq 0,05$ M) po dobu 10 minut neovlivňuje stanovení, později se rozloží činidlo i chelát Co(III).

Kyselina chloristá sráží zelené iontové asociáty, CoL_2ClO_4 , které jsou extrahovatelné do chloroformu.

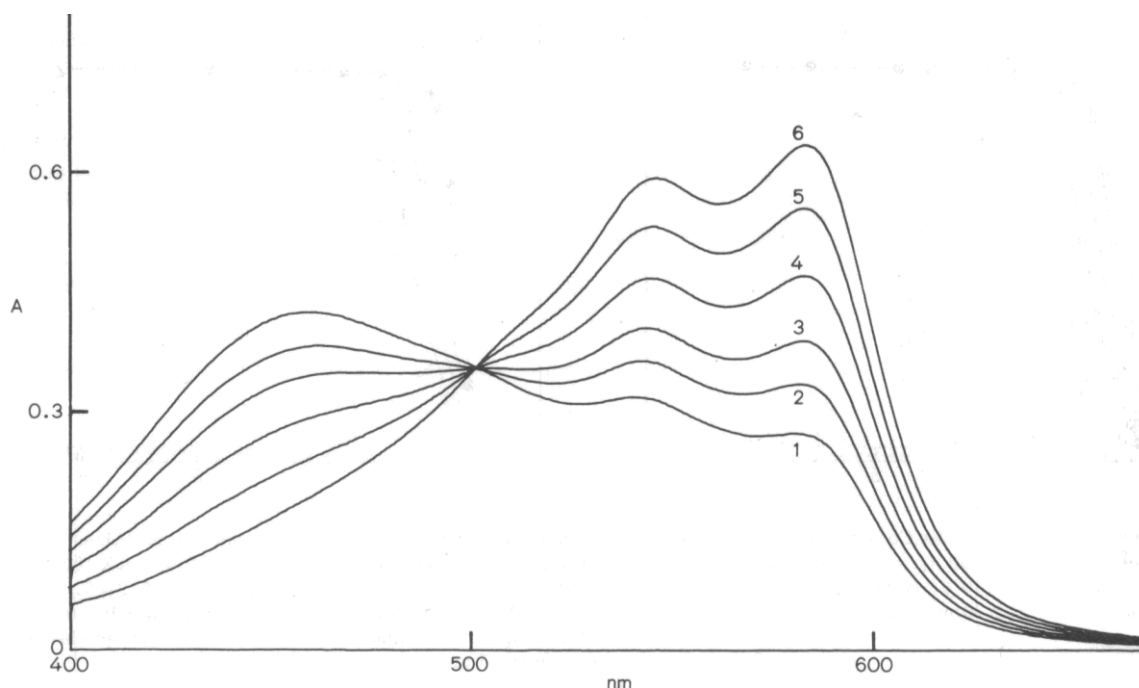
Vliv maskovacích činidel

Za optimálních podmínek přidání 0,1 M EDTA nebo 0,5 M CDTA 15 minut po vytvoření chelátu neovlivňuje stanovení po dobu 120 minut. Účinek maskovacích činidel je potlačen, pokud jsou tato přítomna v roztoku během tvorby chelátu. V přítomnosti EDTA ($c \geq 10^{-3}$ M) se za 120 minut nevytvoří chelát. V přítomnosti nitrilotrioctové kyseliny ($c \geq 10^{-2}$ M) se vytvoří po 120 minutách až 90 % chelátu, v přítomnosti iminodioctové kyseliny ($c \geq 10^{-3}$ M) se vytvoří po 120 minutách jen 45 % chelátu. Citrát ($c = 0,02$ M) neruší stanovení vůbec.

Stanovení kobaltu ve vitaminu B12:

Objem 1 ml Ampule kyanokobalaminu ve fyziologickém roztoku chloridu sodného (s deklarovaným obsahem 1 000 $\mu\text{g/ml}$) se zředí 10 krát a 1 ml tohoto zředěného roztoku se odpaří v kádince postupným přidáním 1 ml koncentrované H_2SO_4 , 1 ml koncentrované HClO_4 a nakonec 1 ml zředěné H_2SO_4 (1:1) do sucha. Odparek se rozpustí ve vodě a tento roztok se převede do odměrné baňky (25 ml) a doplní se po rysku vodou. Dále následuje postup k vytvoření optimálních podmínek popsaných výše. Cheláty možných rušivých prvků se rozloží přidávkem 5,20 ml 6 M H_2SO_4 .

Na obrázku č. 7 je znázorněna závislost naměřené absorpance na vlnové délce při pH 2,10; a složení vzorku: 10% (v/v) dimethylformamid, $c_L = 1,48 \cdot 10^{-5}$ M, $c_M = 1,23 \cdot 10^{-3}$ M, 0,1% Triton X-100; $1,7 \cdot 10^{-3}$ M askorbová kyselina.



Obrázek č. 7.: Závislost naměřené absorpance na vlnové délce: Křivka 1-po 1 min, 2-po 5 min, 3-po 9 min, 4-po 15 min, 5-po 20 min, 6-po 35 min

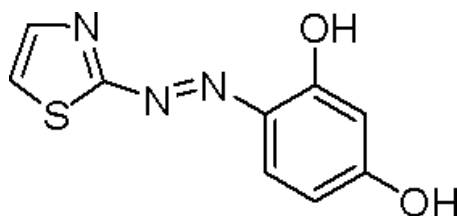
3.3.2 Současné stanovení Fe, Cu, Zn, Co a Ni s 5-Brom-PADAP

5-Brom-PADAP je vhodné činidlo i pro stanovení železa při pH 4,7 (acetátový pufr), pH 9,0 (borátový pufr) v přítomnosti EDTA. Toto činidlo dává přijatelné výsledky při

současném stanovení Fe, Cu, Zn, Co a Ni ve vodném prostředí a při stanovení Fe, Cu, a Zn v krevním séru při pH 9. Používá se multivariační kalibrace s vyhodnocením dat absorpance metodou PLS (partial least squares), metodou po projekci do latentních struktur.

Ke směsi chloridů kovů v přibližně 0,1 M HCl se odpipetuje 2,5 ml 0,5 M hydroxylammonium chloridu a po 10 minutách lehkého promíchávání se přidá 2,5 ml 1% Triton X-100, 5 ml 0,3 mmol/l Br-PADAP v 99,5% dimethylformamidu a 5 ml 0,5 M tetraborátového pufru. Několika kapkami koncentrovaného amoniaku se nastaví pH 9,0. Roztok se převede do odměrné baňky (25 ml) a doplní se po rysku destilovanou vodou. Absorbance je měřena po 10 minutách po ustanovení pH. Maxima absorpčních křivek jsou následující: $\text{Fe(II)L}_2 - \lambda_{\text{max}} = 554 \text{ nm}$ a 742 nm , $\text{Cu(II)L}_2 - \lambda_{\text{max}} = 555 \text{ nm}$, $\text{ZnL}_2 - \lambda_{\text{max}} = 555 \text{ nm}$, $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^+ - \lambda_{\text{max}} = 584 \text{ nm}$ a $\text{NiL}_2 - \lambda_{\text{max}} = 559 \text{ nm}$. Komplexy jsou kvantitativně formovány při pH 9,0 (0,1 M borátový pufr) v přítomnosti 20% dimethylformamidu, 0,1% Triton X-100 a více než 5ti násobném přebytku činidla oproti celkové koncentraci iontů kovů. [19]

3.4 4-(2-thiazolylazo)resorcinol (TAR)



Obrázek č. 8.: 4-(2-thiazolylazo)resorcinol [21]

Analytické vlastnosti 4-(2-thiazolylazo)resorcinolu (obrázek č. 8) jsou podobné vlastnostem činidel PAN a PAR. Hydroxylová skupina je orientována v *o*-poloze k azoskupině.

Při pH 2,5 – 8,6 TAR vytváří s mnoha kationty červené, červenofialové i zelené (s Paladiem) komplexy, které jsou snadno rozpustné v roztoku voda-aceton a dimethylformamidu. Samotné činidlo je zbarveno žlutě. Činidlo je velmi citlivé pro stanovení kobaltu. Selektivitu stanovení kobaltu s TAR zvyšuje použití maskujících látek a výběr vhodných reakčních podmínek. [27]

3.4.1 Stanovení kobaltu s TAR

Ionty kobaltu reagují s TAR ve slabě kyselém, neutrálním nebo zásaditém prostředí, kde tvoří rozpustné tmavě červené komplexy.

Absorpční křivky roztoků, obsahující přebytek kobaltu, při různých hodnotách pH mají maximum při 510 nm a izobestický bod při 460 – 465 nm. Pozice absorpčního maxima se nemění ani při měření roztoků s přebytkem činidla. Při $\text{pH} \leq 2,5$ se v roztoku vyskytuje oranžový kationt RH_3^+ ($\lambda_{\text{max}} = 488 \text{ nm}$), při $\text{pH} 2,5 - 4,5$ se v roztoku vyskytuje žlutý kationt RH_2 ($\lambda_{\text{max}} = 410 - 440 \text{ nm}$), při $\text{pH} \geq 4,5$ se odštěpí proton z hydroxy skupiny, substituované v *para* pozici k azo skupině a vytvoří žluto-oranžový komplex RH^- ($\lambda_{\text{max}} = 470 \text{ nm}$). Při $\text{pH} > 8$ se odštěpí proton od hydroxy skupiny v *ortho* poloze k azo skupině a vytvoří se aniont R^{2-} červené barvy. Na obrázku č. 9 jsou znázorněny jednotlivé formy TAR v závislosti na pH.

V rozmezí hodnot, kdy se tvoří chelát Co(II) s TAR, se maximum absorpce nachází při 470 nm. Absorpce při 510 nm je relativně malá a prudce klesá s rostoucí vlnovou délkou.

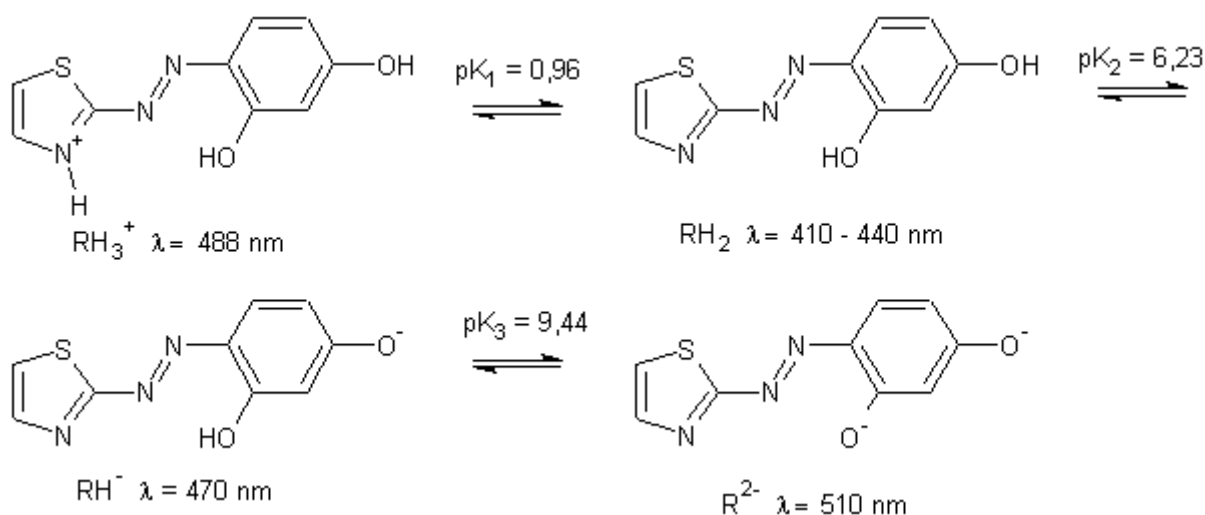
V roztoku se tvoří převážně komplex v poměru Co : TAR 1:2. Molární absorpční koeficient je $5,6 \cdot 10^4 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

V prostředí 0,01 M askorbové kyseliny jsou absorpční křivky roztoku při různých pH prakticky totožné, vzniká tedy komplex Co(III) s TAR. Avšak v prostředí 0,01 M roztoku NaIO_4 při pH 3,5 je trojmocný kobalt hydrolyzován a vzniká barevná sraženina $\text{Co}(\text{OH})_3$, tyto experimenty ukazují na komplex Co(II) s TAR.

Stanovení ovlivňuje přidavek několikanásobně vyššího množství chelatonu 3 a chelatonu 4 chybou 1 – 3 %, jestliže se přidá do 5 min po vzniku barevných komplexů.

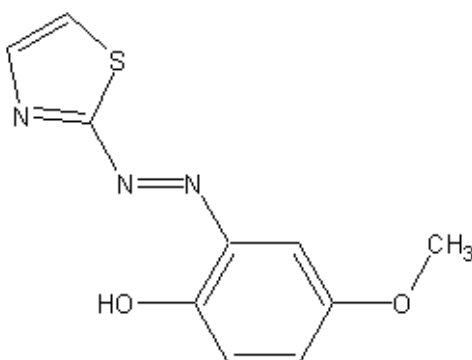
Postup: K roztoku obsahujícímu kobalt, se přidá 2 ml $1,25 \cdot 10^{-3}$ M acetonového roztoku činidla TAR, 5 ml pufru triethanolaminu ke stabilizaci pH 7,5 – 7,7. Roztok se nechá stát po dobu 10 min, poté se zahřívá 2 – 3 min, ochladí na laboratorní teplotu a přidá se 5 – 10 ml 1 M roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Celý roztok se zředí vodou na 50 ml a spektrofotometrie probíhá při 570 nm ve skleněné kyvetě proti vodě.

Metoda stanovení kobaltu s činidlem TAR umožňuje stanovit kobalt i v přítomnosti mnoha jiných iontů. Konstanta stability komplexu je $1,33 \cdot 10^{16}$. Absorbance roztoku vzorku je přímo úměrná koncentraci kobaltu ve vzorku. [27]



Obrázek č. 9.: Formy TAR v závislosti na pH

3.5 2-(2-thiazolylazo)-4-methoxyfenol (TAMP)



Obrázek č. 10.: 2-(2-thiazolylazo)-4-methoxyfenol

N-heterocyklické o-hydroxysubstituovaná azo barviva na bázi pyridinu, thiazolu a některých dalších heterocyklických kruzích jsou značně citlivé a selektivní skupiny činidel na

identifikaci a spektrofotometrické stanovení iontů Co, Cu, Zn, Ni (pH 9), nebo Fe(II) (pH 6 – 7). Tvorba barevných chelátů v roztoku je doprovázena velkým barevným kontrastem a velmi vysokou absorpcí světla (ϵ).

Jako reakční činidlo pro Co(II) obsahuje 2-(2-thiazolylazo)-4-methoxyfenol (obrázek č. 10) 30% ethanolu a má iontovou sílu $I = 0,1$. [17]

3.5.1 Stanovení kobaltu s TAMP

V nadbytku iontu kovu se vytváří pouze mononukleární komplex ML. Komplex ML_2 se dominantně vytváří až za podmínek, nadbytku ligandu a při $pH > 4$.

V inertní atmosféře dusíku nebo v přítomnosti askorbové kyseliny a v přítomnosti redukčních činidel v roztoku s přebytkem Co(II) se vytvoří pouze modrý komplex o složení $Co^{II}L$ v rozpětí koncentrací $C_M = 6,1 \cdot 10^{-5} - 1,5 \cdot 10^{-2} M$, při konstantní koncentraci činidla $c_L = 6,1 \cdot 10^{-5} M$ TAMP. Tento komplex vzniká v rozmezí $pH 2 - 7$ s molekulární formou HL, s iontem kovu s uvolněním jednoho protonu *o*-hydroxylové skupiny podle schématu $M + HL \leftrightarrow ML + H$. V roztocích s přebytkem ligandu a v ekvimolárních roztocích, $c_L/c_M \geq 1$, při koncentraci roztoku kobaltu $c_M = 3,05 \cdot 10^{-5} M$, byla nalezena směs komplexů ML a ML_2 ($-\log \beta_{11} = 6,76$, $\lambda_{max} = 610 \text{ nm}$, $\epsilon = 1,34 \cdot 10^4 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; $-\log \beta_{12} = 15,0$, $\lambda_{max} = 610 \text{ nm}$, $\epsilon = 3,1 \cdot 10^4 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Koncentrační poměr obou komplexů závisí na koncentraci ligandu. Komplex ML_2 se tvoří interakcí iontu kobaltu se dvěma molekulami ligandu a také konverzí dvou komplexů podle rovnice $ML + LH \leftrightarrow ML_2 + H$ (speciálně v roztocích s menším přebytkem ligandu). Ke kvantitativnímu vytváření komplexu dochází při $pH > 6$, $c_L/c_M > 10$ a při $c_M = 3 \cdot 10^{-5} M$.

V přítomnosti vzdušného kyslíku nebo v přítomnosti oxidačních činidel (KIO_4 , H_2O_2) se s TAMP vytváří zelený Co(III) komplex ($\lambda_{max} = 400$ a 690 nm , $\epsilon = 1,1 \cdot 10^4 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ pro 690 nm). [17]

3.6 Stanovení s nitroso – R solí

Reakce Co s nitroso-R solí (1-nitroso-2-naftol-3,6-disulfonovou kyselinou) se v praxi používá pro spektrofotometrické stanovení kobaltu. Žlutě zbarvené činidlo dává s Co^{2+} červený, ve vodě rozpustný komplex, který je značně stálý i v prostředí zředěných minerálních kyselin včetně HNO_3 . Pro vlastní fotometrické stanovení bývá udávána řada hodnot vlnové délky od 415 až do 585 nm (např. 415, 420, 425, 510, 515, 520, 525, 550, 560, 578 nm). Tyto značně se různící údaje úzce souvisí s průběhem absorpčních křivek komplexu i samotného činidla. Měří-li se absorpce komplexu proti činidlu o stejné koncentraci, je maximum absorpce při 420 nm; provádí-li se toto měření proti vodě, pak při vlnových délkách nad 480 nm se jinak značná absorpce činidla zmenšuje, zatímco absorpce komplexu se mezi 500 – 540 nm téměř nemění. Při 550 nm samotné činidlo již prakticky neabsorbuje, ovšem měření se v této oblasti provádí se zmenšenou citlivostí. Absorpce činidla při 480 nm se odstraňuje tak, že se činidlo vhodným způsobem rozruší spolu s komplexem, které se současně tvoří, např. Cu, Ni, Fe apod. Po vybarvení komplexu se k reakční směsi přidává nejčastěji používaná 1 – 2 M HNO_3 , nebo bromová voda, $KBrO_3$, peroxoboritanem sodným, směsí bromidu a bromičnanu i HCl. Po zahřátí zůstává pak v roztoku pouze zbarvení příslušející komplexu kobaltu, takže se tím současně zvyšuje i selektivita stanovení. Vlastní vybarvení komplexu proběhne během 5 – 10 minut, za zvýšené teploty již do 3 minut. Zbarvení na denním světle časem slábne, proto je nejlépe uchovávat příslušné roztoky v temnu až do okamžiku měření.

Tvorba komplexu probíhá v mírně kyselém prostředí (pH 5 – 7), nejlépe však v acetátovém pufru pH 5; při pH < 5 reakce již neprobíhá kvantitativně. Metoda dovoluje stanovit až 2,4 ppm Co. Stanovení neruší přítomnost alkalických kovů, kovů alkalických zemin, Pb, Hg, Sn(IV), Zn, Ce(III), Mn, Mo(VI), UO_2^{2+} a aniontů Cl^- , SO_4^{2-} , NO_2^- , acetátů a citrátů. Vliv dalších iontů jako Fe (II i III), Cr(VI), Ni, Cu, Sn(II), V(V), se odstraňuje přítomností alkalických fluoridů, jejichž nadbytek je opět možno vázat octanem hořečnatým. Železo se odstraňuje extrakcí z kyselého prostředí (8 M HCl) směsí izobutylalkohol-amylalkohol (2:1) nebo až do poměru 1:5 000 kombinací činidla kupferonu a chloroformu. Železo a měď se odstraňují extrakcí s 8-hydroxychinolinem a dithizonem. Vliv některých prvků (Zn, Mn, Ni apod.) se omezí zvýšením koncentrace samotného činidla. V roztoku nemají být přítomny CN^- , jakož i oxidující a redukující látky. Stanovení Co s nitroso-R solí bývá také kombinováno s předběžnou extrakcí diethyldithiokarbamidem, 1-nitroso-2-naftolem, dithizonem, se 40% tributylfosfátem z prostředí 10,5 M HCl, za použití anexu (Amberlite IRA-400), spolusrážením s $\text{Al}(\text{OH})_3$ i chromatograficky.

Stanovení s nitroso-R solí je 2 krát méně citlivé než stanovení s PAR.

Činidlo 0,1% nitroso-R sůl se uchovává v dobře uzavřené hnědé lahvi a je-li v temnu vydrží stálé i několik měsíců.

Postup: K roztoku o koncentraci až 120 μg Co se přidá 5 ml octanu sodného (pH se popř. upraví na 5,5), roztok se zahřívá téměř k varu 1 minutu, pak se přidá 5 ml HNO_3 , zahřeje se opět k varu, ochladí na laboratorní teplotu, doplní se na 50 ml vodou. Měření probíhá při 520 nm proti vodě. [23]

3.7 Stanovení s 2-nitroso-1-naftolem

Pro fotometrické stanovení kobaltu byla navržena další činidla obsahující nitroso- skupinu, jako např. 2-nitroso-1-naftol, 1-nitroso-2-naftol, dále nitrosokresol, o-nitrosoresorcinol, nitroso-salicylová kyselina, isonitrosodimedon, karboxy-2-isonitrosoacetanilid, 4-hydroxy-3-nitrosonaftalen-1-sulfonová kyselina, a další.

Činidlo 2-nitroso-1-naftol reaguje s Co(II) za tvorby ve vodě nerozpustného červeně zabarveného komplexu, avšak dobře rozpustného v různých organických rozpouštědlech např. benzen, chloroform, toluen, xylen, přičemž zabarvení je značně stálé (až 4 týdny). Absorpční křivka komplexu má jedno dobře vyvinuté maximum absorpce v UV části spektra okolo 360 nm a druhé velmi ploché okolo 500 nm, doporučuje se však i měření při 585 nm. Hodnota vlnové délky se liší podle rozpouštědla ve kterém je komplex rozpuštěn. Vlastní srážení komplexu probíhá v mírně kyselém, popř. až v slabě alkalickém prostředí (pH 2 – 9), a to buď za laboratorní nebo zvýšené teploty. Při laboratorní teplotě se směs nechává stát nejméně 30 minut, reakci urychluje intenzivní protřepávání. Zabavení komplexu v prostředí organického rozpouštědla je značně stálé (až 4 týdny), navíc je stálé i vůči kyselinám (HCl, 10 M H_2SO_4 , 5 M HNO_3) i vůči zásadám (10 M NaOH). Stálost komplexu vůči zásadám dovoluje z výtřepku odstranit nadbytek činidla, protože jeho sodná sůl je v organických rozpouštědlech nerozpustná. Metodou lze stanovit až 4 ppm Co.

Stanovení kobaltu s 2-nitroso-1-naftolem zásadně ruší Fe(II) a Sn(II), dále Pd, Au a platinové kovy. Při pH > 4 dává také větší množství Ni červenou sraženinu s činidlem. Provádí-li se měření při pH 3,0 – 3,8 a promyje-li se chloroformová fáze 2 M HCl, pak se komplex Ni rozruší. Vliv Fe(II) a Sn(II) je možno odstranit oxidací H_2O_2 , čehož lze použít i za přítomnosti Mn, Fe(III) lze pak maskovat kyselinou citronovou. Pd se oddělí srážením s dimethylglyoximem v kyselém prostředí a extrakcí do chloroformu (nadbytek glyoximu se rozruší HNO_3). Cu se extrahuje do chloroformové, popř. jiné organické fáze jako hnědý

komplex, který se snadno rozruší protřepáváním této fáze se zředěnou kyselinou, popř. i alkalickým hydroxidem.

1% 2-nitroso-1-naftol se připraví tak, že se 1 g této látky rozpustí ve 100 ml koncentrované kyseliny octové a k roztoku se přidá 1 g aktivního uhlí. Před upotřebením se roztok protřepává a potřebné množství činidla se zfiltruje.

Postup: K roztoku obsahujícímu až 200 μg Co se přidá 20 ml citranu sodného, zředí se destilovanou vodou asi na objem 70 ml, pomocí HCl se upraví pH na hodnotu 3 – 4. Přidá se dále 10 ml H_2O_2 , 2 ml činidla a nechá se stát nejméně 30 minut. Poté se směs extrahuje vždy 1 – 2 minuty, nejprve s 25, pak dvakrát 10 ml chloroformu. Výtřepky se spojí a doplní chloroformem na 50 ml, pak se ještě protřepávají s 20 ml HCl a dvakrát s 20 ml NaOH. Vlastní fotometrické měření se provádí při 530 nm nebo s dvojnásobnou citlivostí (tj. pro $c < 100 \mu\text{g}$ Co) při 365 nm proti samotnému rozpouštědлу. [23]

3.8 Stanovení s thiokyanatanem

Ionty Co^{2+} poskytují s SCN^- modré zbarvení komplexního thiokyanatanu kobaltnatého. Při malé koncentraci SCN^- je zbarvení slabé a je přisuzováno komplexnímu kationtu $[\text{Co}(\text{CNS})]^+$, při jeho nadbytku je pak intenzivní a odpovídá aniontu $[\text{Co}(\text{CNS})_4]^{2-}$. Fotometrické měření modrého komplexu se provádí buď ve vodném prostředí za přítomnosti ethanolu nebo acetonu podporující tvorbu komplexu snížením dielektrické konstanty roztoku nebo častěji se komplex extrahuje do fáze s vodou nemísitelného rozpouštědla (např. cyklohexanonu, isoamylalkoholu), v němž se pak uskuteční vlastní stanovení. Absorpční křivka komplexu má jedno maximum ve viditelné oblasti při 600 nm a druhé víc než pětkrát vyšší při 300 nm. Roztok komplexu v organické fázi je značně stálý (až 24 hodin). Reakce v prostředí voda-aceton nejlépe probíhá v poměrně kyselém prostředí ($\text{pH} < 1$), zatímco extrakci je nejlépe provádět v prostředí mírně kyselém ($\text{pH} 3 - 5,3$). Acetonovým postupem je možno stanovit 4 – 40 ppm a extrakčním 0,2 – 10,0 ppm Co.

Tato metoda je rušena přítomností mnoha prvků, z nichž Ni, Cr, Mn, Ti, U, Mo poskytují za stejných podmínek zbarvení, jiné jako Ca, Sr, Ba, W, Ag, Hg(I) se sráží nebo tvoří zákaly. Hg(II) spotřebovává činidlo za tvorby málo disociovaného $\text{Hg}(\text{SCN})_2$. V roztoku nesmí být též přítomny chromany, dichromany a Ce(IV). Ostatní prvky, pokud nejsou ve větším než 100násobném přebytku neruší. Vliv většího množství Fe(III) a Cu se odstraní přidávkem kyseliny askorbové (nejméně 100 mg), Fe(III) lze též zamaskovat přísadou fluoridu.

Při extrakčním postupu je možno stanovit 6 μg Co vedle řady prvků (v ppm: 1 000 As, Cd, Ca, K, Mg, Na, NH_4^+ , ...), jiné nesmí být v roztoku přítomny vůbec (Cr(III i IV), Fe(III), Sn(IV), Ti(IV), U(VI), citráty).

Postup při acetonové metodě: K roztoku obsahujícímu 100 – 1 000 μg Co(II), okyselenému HCl, se přidá 0,1 ml SCN^- , Je-li přítomno Fe, zbarví se tekutina červeně a je nutno k ní přikapávat roztok $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ až do odbarvení. Potom se k roztoku přidá ještě navíc polovina již daného množství $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$, 5 ml SCN^- , 25 ml acetonu, doplní se vodou na 50 ml a spektrofotometrie probíhá při 625 nm.

Postup při extrakční metodě: K roztoku 10 – 50 μg Co okyselenému HClO_4 ($\text{pH} 3,0 - 5,3$) se přidá 18,5 ml SCN^- , doplní se vodou na 50 ml. Poté se roztok extrahuje s 20 ml a potom dvakrát s 10 ml isoamylalkoholu. Spojené výtřepky se isoamylalkoholem doplní na 50 ml a měření probíhá při 312 nm proti samotnému rozpouštědлу. [23]

3.9 Stanovení s diethyldithiokarbamidem sodným

Ionty Co^{2+} reagují s diethyldithiokarbamidem sodným za vzniku komplexu v podobě zelenohnědé sraženiny, které jsou dobře rozpustné v různých organických rozpouštědlech (ethylacetátu, chloroformu) na zeleně až žlutě zbarvené roztoky. Podle prostředí, ve kterém je komplex rozpuštěn, se uvádějí různá maxima absorpce. V ethylacetátu se doporučuje měření při 410 nm, zatímco druhé maximum při 650 nm je málo citlivé. Pro roztok komplexu v tetrachlormethanu se uvádějí maxima při 321 nm a 367 nm, bylo by však možné využít i dalšího maxima při 300 nm. Roztoky komplexu jsou stálé nejméně 3 hodiny. Tvorba komplexu probíhá v mírně kyselém až alkalickém prostředí (pH 4 – 11), prakticky se však stanovení provádí v prostředí téměř neutrálním (pH 6,3), slabě amoniakálním nebo alkalickém.

Stanovení kobaltu ruší např. Bi, Fe, Ti, U, Al, Cr(III), Mn, CN^- . Fe, Ti, Al je možno vázat kyselinou citronovou, Mn se maskuje přidávkem $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$. Vliv Cu a Ni se odstraňuje protřepáním organické fáze s roztokem KCN, ještě lépe je protřepávat jej s roztokem HgCl_2 , který tyto a ještě další kovy vytěsňuje, aniž se tím ovlivňuje komplex Co. Stanovení Co není rušeno např. As, Ce, Cr, Mo, W, Pt, a Ru.

Postup I: K roztoku obsahujícímu 20 – 200 μg Co se přidá několik kapek NH_4OH , 2 ml činidla, promíchá se, extrahuje se 14 ml a pak 10 ml ethylesteru octové kyseliny. Spojené výtřepky se dvakrát promyjí malým množstvím vody, doplní se ethylacetátem na 25 ml. Vzorek se měří spektrofotometricky při 410 nm. Touto metodou se dá stanovit 0,8 – 8,0 ppm Co.

Postup II: K roztoku obsahujícímu až 50 μg Co se přidají 2 kapky fenolové červeně, 10 ml $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, 2,5 ml kyseliny citronové, NH_4OH až do červeného odstínu roztoku. Potom se přidá 2,5 ml činidla a extrahuje se čtyřikrát 2 minuty, vždy 10 ml tetrachlormethanu. Spojené výtřepky se doplní na 50 ml. Spektrofotometrie probíhá při 367 nm proti slepému roztoku připravenému za stejných podmínek. Touto metodou se dá stanovit 0,4 – 2,0 ppm Co. [23]

3.10 Stanovení s 1,10-fenantrolinem

Komplexy 1,10-fenantrolinu s Co(III) a Fe(II) jsou pevnější než s Fe(III) a Co(II). Přidává-li se k roztoku soli Co(II) roztok Fe(III) za přítomnosti fenantrolinu (pH 2 – 4), dochází k oxidaci na Co(III). Současně se vytváří červeně zbarvený komplex o-fenantrolinu s ekvivalentním množstvím iontů Fe^{2+} ($\lambda_{\text{max}} = 510 \text{ nm}$). Intenzita jeho zbarvení nepřímo udává v roztoku obsažený Co. Reakce proběhne do 2 minut a vytvořené zbarvení je nejméně 1 hodinu stálé. Reakci lze ještě urychlit zvýšením teploty reakčního prostředí až do 50 °C. Základní podmínkou reakce je, aby celková koncentrace 1,10-fenantrolinu byla značně vyšší než suma koncentrací Fe a Co. Vhodné pH se zajišťuje acetátovým pufrům. Tento nepřímý postup dovoluje stanovit koncentrace 0,24 – 1,44 ppm Co.

Stanovení neruší Be, Pb, Mn(II), Cr(III), Al, Ti(IV), Zr, alkalické kovy, kovy alkalických zemin, lanthanoidy i Cl^- , SO_4^{2-} a NO_3^- , do určité míry pak Fe(III), které je nutné pro vlastní stanovení. Rušící prvky tvoří s činidlem rozpustné (Cu, Ni, Fe(III), Zn) a nerozpustné komplexy (Ag, Hg(II), Cd).

Činidlo 0,1 M 1,10-fenantrolin se připraví rozpuštěním 18,02 g látky ve vodě okyselené HCl na pH 3. [23]

3.11 Další metody stanovení

K fotometrickému stanovení je možno dále využít modrého zbarvení jeho chloro-komplexu v prostředí HCl, spektrofotometrické měření probíhá při 625 nm, popř. 688 nm. Nověji bylo toto stanovení modifikováno tak, že se modře zbarvený chloro-komplex $[\text{CoCl}_4]^{2-}$ proměřuje v prostředí dimethylformamidu, kde vykazuje obě maxima absorpce, nižší při 610 nm a vyšší při 675 nm. Koncentrace HCl musí být 0,5 – 2,5 M, obsah vody nesmí převyšovat 6 %. Metoda dovoluje stanovit 5 – 100 ppm Co. Stanovení ruší značný nadbytek Fe, Ni, Cu, a Cr(III), které lze oddělit iontoměničem. Ge, Rh, Nb, Ta se v daném případě srážejí, chloridy Pb, Ag a Hg(I) se za daných reakčních podmínek netvoří. Neruší běžné anionty ani acetáty, šťavelany, vlnany a EDTA.

Postup: Roztok vzorku obsahující 50 – 1 000 μg Co se odpaří téměř do sucha, zbytek se rozpustí maximálně v 1 ml 12 M HCl, přidá se 6 – 8 ml dimethylformamidu, ochladí se a doplní se dimethylformamidem na 10 ml. Spektrofotometrické měření se provádí při 675 nm proti slepému vzorku.

Roztok kobaltu v přítomnosti chelatonu 3, peroxidu vodíku a v alkalickém, nejlépe amoniakálním prostředí se oxiduje za tvorby purpurově červeně zbarveného komplexu Co(III) s maximem absorpce při 535 nm (540 nm). Tvorba komplexu probíhá též v prostředí pyridinu nebo i v kyselém prostředí (pH 1,5 – 2,5), kde se proměřuje při 520 nm. Metodou je možno stanovit 5 – 50 ppm Co, a to za přítomnosti bezbarvých kationtů včetně Mn(II), další jako Fe(III), Mn(III), Cr(III), Cu, Ni ruší, měří-li se proti slepému (nezoxidovanému) roztoku, odstraňuje se vliv Cu a Ni.

Postup: K roztoku 250 – 2 500 μg Co se přidá dostačující množství 5% chelatonu 3 (nejméně 5 ml), 5 ml 3% H_2O_2 , roztok se zahřeje k varu, povaří se 1 minutu, ochladí se, doplní se vodou na 50 ml. Spektrofotometrické stanovení se provádí při 535 nm proti roztoku bez peroxidu vodíku.

Velmi citlivá stanovení Co se zakládají na tvorbě komplexů eriochromčerni A nebo barviva Fast navy 2R s ionty Co^{2+} . Eriochromčern A tvoří při pH 10,0 červeně zbarvený stabilní komplex s maximem absorpce při 560 nm, který se nerozkládá ani účinkem chelatonu 3. Činidlo samotné je při daném pH modré ($\lambda_{\text{max}} = 630 \text{ nm}$), vlastní nepřímá fotometrie (až 0,16 ppm) se provádí při 620 nm, kdy samotné činidlo se tvorbou komplexu nejvíce odbarvuje. Pevnost komplexu činidla s Co dovoluje provádět jeho stanovení i za přítomnosti dalších prvků tvořících pevnější komplexy s chelatonem 3 než s činidlem (např. Mn, Ca, Sr, Ba, Zn, Cd, Pb, Mn, Ni).

Postup: K 1 ml roztoku činidla (0,04%) se přidá roztok obsahující až 4 μg Co, 0,5 ml pufru (13,8 g NH_4Cl , 88 ml NH_4OH se zředí na 250 ml destilovanou vodou), 5 ml 0,01 M chelatonu 3, doplní se destilovanou vodou na 25 ml, dobře se protřepe a po 2 hodinách stání se změří absorbance roztoku při 620 nm proti slepému vzorku.

Nejcitlivější je však stanovení katalyckými reakcemi, z nichž nejčastěji používaná je metoda zakládající se na oxidaci alizarinu s peroxoboritanem nebo H_2O_2 , kde se měření provádí při 453 nm.

Pro stanovení kobaltu bylo navrženo více dalších metod pro stanovení méně než 5 ppm Co (např. s p-nitrofenylhydrazinem biacetylmonooximu nebo s některými azobarvivy – Diamond red PV).

Většina dalších metod je méně citlivá, i když některé našly uplatnění v praxi (např. s kyselinou thioglykolovou). [23]

4 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce byla zaměřena na koloběh kobaltu v životním prostředí. Úkolem bylo sestavit literární rešerši na téma význam kobaltu v životním prostředí, především v živých organismech a popsat spektrofotometrické metody a činidla pro stanovení kobaltu.

V mikro koncentracích je kobalt pro živé organismy nezbytně důležitý, avšak při větších koncentracích je toxický. V elementární formě katalyzuje mnoho biochemických reakcí. V tělech organismů se však vyskytuje převážně v komplexu vitamínu B12, kde tvoří centrální atom. Vitamin B12 si lidské tělo nedokáže vytvořit a je nutno ho tedy dodávat v potravě. Vitamin B12 jsou schopny syntetizovat pouze některé rody bakterií. Přírozenou cestou se do lidského těla dostává potravním řetězcem, zejména ze živočišné stravy. Funkce vitamínu B12 v těle spočívá v izomeračních, dehalogenačních reakcích a jako přenašeče methyl skupiny. Zúčastňuje se reakcí, které jsou klíčové pro život organismů, mimo jiné i syntézy DNA a fosfolipidů.

Pro spektrofotometrické stanovení kobaltu jsou nejvhodnějšími činidly heterocyklická azobarviva a jejich deriváty. Mezi nejdůležitější patří:

- 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR)
- 1-(2-pyridylazo)-2-naftol (PAN)
- 2-(5-Brom-2-pyridylazo)-5-diethylaminofenol (5-Brom-PADAP)
- 4-(2-thiazolylazo)resorcinol (TAR)
- 2-(2-thiazolylazo)-4-methoxyfenol (TAMP)

Nejcitlivější stanovení jsou s činidly PAR a 5-Brom-PADAP. Při stanovení kobaltu s PAR vzniká především komplex o složení $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^{2-}$, který je dobře rozpustný ve vodě. Dvojmocný kobalt se činidlem oxiduje na trojmocný, i bez přítomnosti oxidačních činidel. Zatím nebyl dokázán chelát s PAR, kde by měl kobalt oxidační číslo +II. Tvorba tohoto komplexu je kvantitativní od $\text{pH} > 6,5$. Proto se komplex $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^{2-}$ připravuje v prostředí octanu amonného nebo borátového pufru. Není stabilní v prostředí silných kyselin a při $\text{pH} < 3$ přechází na protonovaný komplex $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}(\text{LH})$.

5-Brom-PADAP je jedno z nejcitlivějších heterocyklických azobarviv pro stanovení kovů, nejen kobaltu. Ze zmíněných činidel pro stanovení kobaltu je nejcitlivější a používá se pro stanovení v pitné vodě a vitamínu B12. Cheláty kobaltu s 5-Brom-PADAP mají stechiometrii $\text{Co}^{\text{III}}\text{L}_2^{2-}$ a jsou stabilní v kyselém až mírně alkalickém pH . Tvorba chelátu je kvantitativní při $\text{pH} 9$.

Pro stanovení velmi nízkých koncentrací kobaltu je nejvhodnější činidlo 5-Brom-PADAP. Pro stanovení vyšších koncentrací je vhodnější PAR.

5 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] *online*, <<http://www.britannica.com/EBchecked/topic/123235/cobalt>>, citováno 25. 2. 2010
- [2] Remy, H.: *Anorganická chemie 2*, SNTL, **Praha, 1971**, p. 304
- [3] Holleman, A. F., Wiberg, E., Wiberg, N. **2007**. *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, 102nd ed. de Gruyter., p. 1146–1152. ISBN 9783110177701.
- [4] *online*, <<http://www.made-in-china-com/showroom/hrchemi/product-detailmaQEflJxUUdW/China-Cobaltpowder-99-8-EFS-.html>>, citováno 12.3.2010
- [5] Greenwood, N.N, Earnshaw, A., *Chemie prvků 2*. díl, 1. vydání, Informatorium **Praha 1993**, p.1375-1415 ISBN 80-85427-38-9
- [6] Argonne National Laboratory, EVS, Human Health fact sheet, **2005**
- [7] *online*, <<http://projektysipvz.gytool.cz/ProjektySIPVZ/Default.aspx?uid=121>>, citováno 15.3. 2010
- [8] Griffith W.P.: Carbonyls, Cyanides, Isocyanides and nitrolysis. 4. díl. in: *Comprehensive Inorganic Chemistry*. Pergamon Press, **Oxford 1973**. Kap. 46, p. 105
- [9] Kendrick, M., J., May, M., T., Plishka, M., J., Robinson, K., D.: *Metals in Biological systemes*, II. vydání, **Chichester 1992**, p. 70-75, ISBN 0-13-577727-5
- [10] *online*, <<http://ods.od.nih.gov/factsheets/vitaminb12.asp#ref>>, citováno 19. 3. 2010
- [11] *online*, citováno 19. 3. 2010, <<http://www.celostnimedicina.cz/co-to-jsou-vitaminy-a-jaka-je-jejich-funkce.htm>>
- [12] Loeffler, G.: *Basiswissen biochemie*, VI. vydání, **Heidelberg 2005**, p. 606, ISBN 3-540-23885-9
- [13] Voet, J. G., Voet, D.: *Biochemistry*. **New York, 1995**: J. Wiley & Sons. p. 675. ISBN 0-471-58651-X.
- [14] Čegan, A., Korecká, L.: *Biochemie pro bakalářské studium*, Univerzita Pardubice, skriptum, **2008**, p. 16 – 17.
- [15] Crichton, R., R., Boealert, J., R.: *Inorganic Biochemistry of iron Metabolism: from molecular mechanism to clinical consequences*, II. vydání, **Chichester 2001**, Wiley, p. 300 – 301, ISBN 0-471-49223-X
- [16] Sommer, L., Kubáň, V., Langová M.: *4-(2-pyridylazo)resorcinol as spectrophotometric reagent for cobalt, copper nickel and zinc*, Scripta Fac. Sci. Nat. Univ. Purk. Brun. Vol.14, *Chemia*, No. 3-4, **1984**, p. 135 – 138.

- [17] Sommer, L., Kubáň, V.: *Spectrophotometric study of Co(II) chelates with 2-(2-thiazolylazo)-4-methoxyphenol*, Scripta Fac. Sci. Nat. Ujep. Brunnesis. Vol. 6, Chemia, No.17 – 34, **1976**, p. 17 – 32
- [18] Zbíral, J., Sommer, L.: *Spektrophotometrische Bestimmung von Kobalt mit 2-(5-Brom-2-pyridylazo)-5-Diethylaminophenol*, Fresenius Z. Anal. Chem., vol. 306, **1981**, p. 129 – 135
- [19] Vitouchová, M., Jančář, L., Sommer, L.: *Interaction of Iron(II) and the Simultaneous Spectrophotometric determination of Fe, Cu, Zn, Co and Ni with 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol*, Fresenius Journal Anal Chem, Vol. 343, **1992**, p. 274-279.
- [20] Rossof I., S.: *Encyklopedia of clinical toxicology*, 1. vydání, **New York 2002**, p. 283 - 284, ISBN 1-84214-101-5
- [21] Marczenko, Z.: *Spectrophotometric determination of trace elements*, CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry, **Warsaw 1981**, p. 203-204
- [22] Watanabe, H.: *Spectrophotometric determination of cobalt with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol and surfactants*, Talanta, Vol. 21, Issue 4, **1974**, p. 295 – 302
- [23] Malát, M: *Absorpční anorganická fotometrie*, Academia, **Praha 1973**, 1. vydání, p. 709 – 719
- [24] Pitter, P.: *Hydrochemie*, 3.vydání, **Praha 1999**, vydavatelství VŠCHT, p. 145, ISBN 80-7080-340-1
- [25] *online*, <http://www.vscht.cz/anl/lach1/5_Foto.pdf>, citováno 28.4.2010
- [26] IWAMOTO, T., FUJIMOTO, M.: *On the oxidation state of cobalt in its PAR and PAN chelates*, Anal. Chim. Acta, 29, **1963**, p. 282
- [27] BUSEV, A., I., IVANOV, V., M., NEMTSEVA, Zh., I.: *A spectrophotometric study of complex formation between cobalt and 4-(2-thiazolylazo)-resorcinol*, Zhur. Anal. Chim., Vol. 14, No. 3, Moskva **1969**, p. 414 – 421.
- [28] BUSEV, A., I., IVANOV, V., M., NEMTSEVA, Zh., I.: Zhur. Anal. Khim., Vol. 13, **Moskva 1968**, p. 511
- [29] BUSEV, A., I., IVANOV, V., M.: Zhur. Anal. Khim., Vol. 18, **Moskva 1963**, p. 208 – 215
- [30] Zbíral, J., Sommer, L.: Scripta Fac. Sci. Nat. Purk. Brun., Vol. 12, No. 6, (Chemia), **Brno 1982**, p. 283
- [31] GUSEV, S., I., DAZHINA, L., G.: Zhur. Anal. Khim., Vol. 29, **Moskva 1974**, p. 810
- [32] GUSEV, S., I., KIRYUKHINA, N., N.: Zhur. Anal. Khim., Vol. 24, **Moskva 1969**, p. 210

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

DNA	deoxyribonukleová kyselina
PAR	4-(2-pyridylazo)resorcinol
PAN	1-(2-pyridylazo)naftol
5-Brom-PADAP	2-(5-brom-2-pyridylazo)-5-diethylaminofenol
TAR	4-(2-thiazolylazo)resorcinol
TAMP	2-(2-thiazolylazo)-4-methoxyfenol
UV	ultrafialová oblast spektra
VIS	viditelná oblast spektra
$\bar{\nu}$	vyzářená energie
γ	energetické záření
bipy	bipyridin
acac	acetylaceton
Me	methyl
phen	fenantrolin
L	ligand
edta (EDTA)	ethylendiamintetraoctová kyselina
py	pyridin
LD ₅₀	letální dávka
M	centrální atom
MCD	magnetický cirkulární dichroismus
λ	vlnová délka
CDTA	cyklohexandiamintetraoctová kyselina
Triton X-100	oktylfenolpoly(ethylenglykoether) _x
DBS	dodecylbenzensulfonát
Brij 35	polyoxyethylen lauryl ether
ϵ	molární absorpční koeficient
c_L	koncentrace ligandu
c_M	koncentrace centrálního atom
I	iontová síla