

## A DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DO COBALTO PELO MÉTODO DA 2,2'-DIPYRIDIL CETOXIMA (I)\* – Estudos sobre o reativo, pH e tampão

A.O. JACINTHO\*\*

### RESUMO

No presente trabalho foi desenvolvida a primeira fase dos estudos experimentais do método da 2,2'-dipiridil cetoxima, para a determinação do cobalto.

Os ensaios foram conduzidos em soluções puras e dentre os aspectos estudados constam; o **reativo**, preparo, concentração e conservação; o **pH**, influencia sobre a formação e extração do composto colorido; o **sistema tampão**, influencia sobre a reação, eficiência e escolha.

Numa seqüência, serão apresentados posteriormente estudos sobre solventes, influência de diversos íons e aplicação do método em análises de plantas.

### INTRODUÇÃO

O interesse pela obtenção de dados sobre o cobalto tem crescido bastante, também no campo agrônômico.

A quantidade de informações relativas à distribuição e concentração do citado elemento, assim como o mecanismo de sua ação nos vegetais e animais, poderia ser muito mais ampla se não ocorressem dificuldades de ordem analítica, resultantes, principalmente, do baixo nível do elemento nos citados organismos.

Na litosfera, os teores de cobalto apresentados por diversos autores oscilam entre 10 e 40 ppm (GOLDSCHMIDT, 1954; HODGSON, 1963; MASON, 1971).

VALADARES (1972) apresenta dados de Swaine (1955), onde o cobalto no solo varia de 1 a 40 ppm, estando em torno de 8 ppm o valor médio.

VANSELOW (1966) compilou dados de diversos pesquisadores onde são encontrados valores de 0,01 a 7,5 ppm de cobalto nos mais variados vegetais.

Para MITCHELL (1964), o cobalto está incluído entre os elementos essenciais para um desenvolvimento sadio dos animais, plantas e microrganismos. SCHROEDER et al. (1967), efetuando determinações em diferentes tipos de alimentos, bebidas, tecidos vegetais e animais, solos, águas, etc., encontrou cobalto em todos os materiais.

As bactérias dos nódulos das raízes das leguminosas necessitam do cobalto para sintetizar a vitamina B<sub>12</sub>, fator essencial para a fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico (BONNER & VARNER, 1965; KUBOTA & ALLAWAY, 1972). Além da sua implicação na síntese da vitamina B<sub>12</sub>, o cobalto é descrito como ativador de várias en-

\* Entregue para publicação em 6/10/1975. Trabalho realizado com auxílio da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

\*\* Departamento de Química da E.S.A. "Luiz de Queiroz", Piracicaba.

zimas como: arginases, lecitinases, peptidases, fosforilases, fosfatases, etc. (FRUTON & SIMONDS, 1959).

No campo da química analítica, particularmente, no caso da determinação do cobalto, as técnicas colorimétricas ainda constituem recursos de grande valia, principalmente, quando é diminuta a concentração do elemento nos materiais a serem analisados. Mesmo a fotometria de chama de absorção atômica, não tem satisfeito as exigências de sensibilidade para a análise de materiais com baixo teor de cobalto, como é o caso dos vegetais.

Dessa forma, com estudos que se iniciam neste trabalho, pretende-se oferecer mais uma opção analítica para aqueles que se dedicam ao estudo do cobalto.

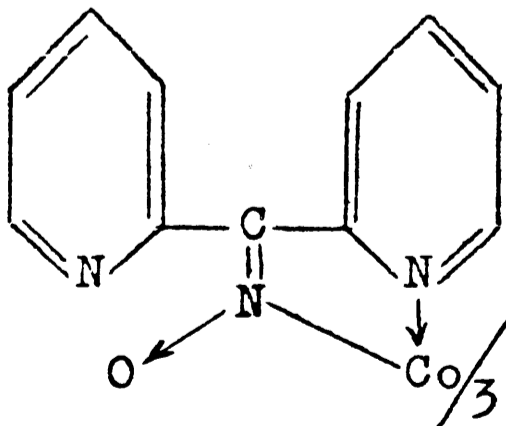
Dentre o grande número de reativos que tem sido recentemente propostos para a determinação do citado elemento, empregou-se para o presente estudo a 2,2'-dipiridil cetoxima (2,2'-DC), não só pelas características do composto (Co - 2,2' - DC), as quais indicam a possibilidade de se conseguir uma técnica suficientemente sensível para a aplicação do método, mas também pela possibilidade de se obter comercialmente o citado reativo.

#### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Dentre os reagentes mais comumente empregados para a determinação do cobalto, destacam-se o 2-nitroso,-1-naftol e o sal nitroso R (SANDELL, 1959). Contudo uma série de substâncias tem sido propostas com esta finalidade, dentre as quais poderemos citar: ácido monocromo verde S (BAGREEV & ZOLOTOV, 1968); 2,3-quinoxalinedi-tiol (BURKE & DEARDORFF, 1970); benzil mono- (2-piridil) hidrazona (PFLAUM & TUCKER, 1971) e outros.

Diversos reagentes do grupo das piridilcetoximas, têm sido propostos para a determinação espectrofotométrica de vários metais. Porém o emprego da 2,2'-dipiridil cetoxima como reagente para o cobalto, foi proposto por HOLLAND & BOZIC (1968), após ter sido descrito seu uso por estes autores, para determinações de ouro e paládio.

De acordo com HOLLAND & BOZIC (1968), o cobalto reage instantaneamente com a 2,2'-dipiridil cetoxima (2,2'-DC), em meio alcalino contendo citrato, formando um quelato amarelo solúvel em água, de fórmula  $\text{Co}(\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_3\text{O})_3$  sendo representado da seguinte maneira:



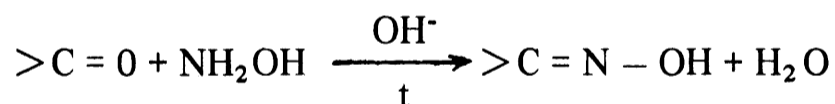
Empregando o método da relação molar, HOLLAND & BOZIC (1968) estabeleceram que no quelato a proporção reagente-cobalto é 3:1, tendo a análise química do produto formado, fornecido as seguintes porcentagens: C- 60,5%; N- 19,2%; H- 3,9%; Co- 9,0%; valores praticamente iguais aos teóricos ou sejam: C- 60,65%; H- 3,70%; N- 19,29% e Co- 9,02%, o que vem confirmar a fórmula  $\text{Co}(\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_3\text{O})_3$ , para o composto.

As evidências espectroscópicas indicando a ligação do cobalto com o nitrogênio do grupo oxima ao invés do oxigênio do grupo hidroxila, foram obtidas através de espectros na região do infravermelho. Os estudos desenvolvidos pelos citados autores, sobre as principais características do composto, forneceram um valor experimental para a constante de dissociação de  $7,09 \times 10^{-16}$ .

## MATERIAL E MÉTODOS

### Estudo sobre o reativo

1. **Preparo da 2,2'-dipiridil cetoxima** – Por ocasião da realização do presente trabalho, a 2,2'-dipiridil cetoxima não era comercialmente disponível, devendo então ser obtida a partir da cetona correspondente. Para o seu preparo, conforme indicação de HOLLAND & BOZIC (1968), foi seguida, em linhas gerais, a técnica de LEETE & MARION (1952), segundo a qual a cetona, após reagir com cloridrato de hidroxilamina em meio fortemente alcalino, se transforma em oxima. A referida preparação baseia-se na reação geral: (BREWSTER, 1953; CRAM & HAMMOND, 1964; ROBERTS & CASERIO, 1965)



### Reativos

No presente trabalho, para o preparo de todas as soluções e em todos os experimentos, empregou-se água desmineralizada.

**Di-2-piridil cetona** (Aldrich) ref. – 12,722-1

**Cloridrato de hidroxilamina**, p.a.

**Solução aquosa de hidróxido de sódio**, p.a., a 40%

**Solução de ácido clorídrico** 6 N (destilado)

**Solução hidroalcoólica a 95%**- Preparada a partir de etanol destilado, com 99,5°GL.

**Procedimento**

Dissolveu-se 0,74 g da cetona em 7,0 ml de etanol (99,5°GL) e transferiu-se para balão de destilação de 125 ml. Adicionaram-se 0,45 g de cloridrato de hidroxilamina e 1,75 ml de solução de NaOH a 40% (0,7 g de NaOH). A mistura aquecida à ebulição, foi mantida sob refluxo durante 5 minutos. Esperou-se esfriar e o material foi transferido para um cristizador através de lavagens com três porções de 5,0 ml de água e, em seguida, neutralizou-se com a solução 6 N em HCl. Quando o pH 7,0 foi atingido, ocorreu uma rápida cristalização da oxima. Procedeu-se à filtração, lavando-se o precipitado, ligeiramente rosado, com duas porções de 5,0 ml de água. Em seguida, o material foi secado em estufa com circulação de ar, a 35–40°C até peso constante.

**2. Quantidade do reativo a ser empregada** – HOLLAND & BOZIC (1968) recomendaram o emprego de 3,0 ml de uma solução do reativo a 1% em etanol a 95%, para a determinação de até 60 microgramas de cobalto.

Procurando estabelecer a quantidade mais adequada do reagente para o completo desenvolvimento da cor do composto obtido com até 10 microgramas de cobalto, realizou-se o presente experimento. Empregou-se também, para esse estudo, o reativo em solução hidroalcoólica a 80%, visto que o mesmo solubilizou mais facilmente nesta concentração.

Além dos reagentes já descritos, foram preparados mais os seguintes:

**Reativos**

**Solução-padrão "estoque" de cobalto** – Dissolveram-se 4,040 g de  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , p.a., em água e transferiu-se para balão volumétrico de 1 litro. Adicionaram-se 5,0 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado p.a., esperou-se esfriar e completou-se o volume. Nessa solução contendo aproximadamente 1000 ppm de cobalto, esse elemento foi determinado gravimetricamente, tendo sido precipitado pelo alfa-nitroso-beta-naftol (FURMAN, 1962). Por diluição, foi preparada uma solução contendo 100 ppm de cobalto.

**Soluções-padrão "de uso" de cobalto** – Através de diluições, foram preparadas soluções contendo 2,0 – 4,0 – 6,0 – 8,0 e 10,0 ppm de cobalto.

**Solução hidroalcoólica a 80%** – Preparada a partir de etanol destilado com 99,5°GL.

**Soluções de 2,2'-DC a 1,0 – 0,5 e 0,1%** – Preparadas em solução hidroalcoólica a 95 e 80%.

**Solução aquosa de citrato de sódio a 25%** – Preparada a partir do  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  p.a.

**Solução alcoólica de fenolftaleína a 0,1%.**

**Solução aquosa de hidróxido de sódio 1 N.**

**Clorofórmio, p.a.**

### Procedimento

Em funis de separação de 60 ml, foram colocados 10 microgramas de cobalto, 5,0 ml da solução de citrato de sódio, 10 ml de água, 1 gota da solução de fenolftaleína e hidróxido de sódio até cor levemente rósea. Adicionaram-se, a seguir, as quantidades do reativo descritas no Quadro 1 e exatamente 5,0 ml de clorofórmio. Os funis foram agitados por 2 minutos e, após a separação das fases, procederam-se às leituras (\*) a 385 nm de comprimento de onda contra prova em branco, tendo sido conduzido uma para cada quantidade do reativo e para as diferentes soluções.

Os resultados obtidos são apresentados no Quadro 1.

**3. Conservação da solução do reativo** – Procurou-se obter alguns dados relativos à conservação das soluções do reativo.

HOLLAND & BOZIC (1968) trabalharam com a referida solução a 1% em etanol a 95% e segundo esses autores, a mesma é indefinidamente estável mesmo em presença de luz.

Para o presente estudo, soluções a 1% do reativo, em etanol a 95 e 80%, foram mantidas em diferentes condições e comparadas por um espaço de tempo de até 90 dias. Cada solução foi dividida em 3 porções sendo uma conservada em geladeira (1 a 2°C) e as outras duas foram mantidas ao ambiente do laboratório (20 a 30°C), em frasco transparente e em frasco escuro.

Decorridos os intervalos de tempo, após o preparo das soluções (Quadro 2) e empregando-se 10 microgramas de cobalto, procederam-se às determinações conforme o procedimento descrito em 2, somente que ao invés de 1,0 ml da solução do reativo, empregou-se 0,25 ml. Tal modificação deve-se ao fato de ter sido esse o menor volume da solução do reativo a 1%, com o qual foi possível obter o máximo desenvolvimento da cor do composto.

Os resultados obtidos constam do Quadro 2.

### Estudo sobre a influência do pH

HOLLAND & BOZIC (1968) citam como estando entre 8,0 e 9,5 o intervalo de pH de melhores condições para a formação e extração do quelato pelo clorofórmio, isto é, onde a reação se completa instantaneamente e apenas uma extração é suficiente para remover todo o composto colorido da fase aquosa. Esses autores obtiveram em pH 8,7, o valor mais elevado para a absorbância da solução.

Com os experimentos que serão descritos a seguir, procurou-se estudar mais detalhadamente a influência do pH, na velocidade de sua formação e em sua extração pelo solvente orgânico.

---

(\*) As leituras, quando não especificadas, foram sempre efetuadas no espectrofotômetro Beckman modelo B.

Através de um ensaio prévio, determinou-se que 1,0 ml da solução de citrato de sódio a 25% seria suficiente para o completo desenvolvimento da cor do quelato obtido a partir de 10 microgramas de cobalto. A redução na quantidade de citrato visou facilitar a obtenção dos diferentes valores de pH, por ocasião dos ensaios.

**1. Influência do pH na formação do composto colorido** – Nesta primeira etapa, procurou-se analisar o efeito do pH sobre a formação (intensidade e velocidade da reação) e comportamento do composto colorido.

A amplitude estudada do pH esteve entre os limites de 4,0 a 12,0, aproximadamente, sendo que as diferentes quantidades (soluções) de NaOH e HCl para se obter aqueles valores, foram determinadas através de experimento prévio e sob controle potenciométrico. Com exceção das soluções de HCl e NaOH, devidamente preparadas, os demais reagentes já foram descritos.

#### **Procedimento**

Um balão volumétrico de 25 ml, adicionaram-se 2,0 ml da solução-padrão contendo 10 ppm de cobalto, 2,0 ml da solução de citrato de sódio, 10,0 a 15,0 ml de água, as quantidades de HCl ou NaOH indicadas pelo ensaio prévio, 2,0 ml da solução do reativo, completou-se o volume com água e agitou-se. Imediatamente, as soluções foram transferidas para células de sílica especial e as leituras foram realizadas de 15 em 15 minutos, a 385 nm contra prova em branco (conduzida uma para cada pH estudado no espectrofotômetro Beckman modelo B, até estabilização das leituras. Os resultados obtidos encontram-se resumidos no Quadro 3. Nessa ocasião, foram obtidos os espectros de absorção na região compreendida entre 500 e 320 nm, no espectrofotômetro Beckman modelo DB, empregando-se como fonte lâmpada de hidrogênio, ao mesmo tempo em que eram efetuadas as medidas de pH das soluções.

**2. Influência do pH na extração do composto colorido** – Os efeitos produzidos pela variação do pH do meio, sobre a extração do composto colorido, foram estudados levando-se em conta o fato de estar compreendido entre pH 6,9 e 8,5, as melhores condições para o desenvolvimento da reação de formação do quelato.

Com auxílio de ensaio prévio, foram determinadas as quantidades de HCl e NaOH para se obter pH 7,0 – 7,5 – 8,0 e 8,5. Após a adição do reativo e conseqüente desenvolvimento da reação, o pH do meio sofreu outra alteração, para valores variáveis de 4,0 a 12,0, mediante adição de novas quantidades de HCl ou NaOH. A seguir, os experimentos foram repetidos diretamente nos funis de separação e, finalmente, efetuaram-se as extrações. As soluções e reagentes, aqui empregados, já foram descritos.

#### **Procedimento**

Em funis de separação de 60 ml, foram adicionados 10 microgramas de cobalto, 15 ml de água, 2,0 ml da solução de citrato de sódio e as quantidades de HCl ou NaOH

para se obter pH 7,0 – 7,5 – 8,0 ou 8,5. Adicionou-se, a seguir, 1,0 ml da solução do reativo, esperou-se 1 minuto e colocaram-se as novas quantidades de HCl ou NaOH previamente determinadas, para se obter os pH de 4,0 a 12,0. Adicionaram-se 5,0 ml de clorofórmio e agitaram-se os funis por dois minutos. Para cada pH estudado foi conduzida uma prova em branco. Após as extrações, determinaram-se potenciométricamente os valores de pH da fase aquosa. No Quadro 4, encontram-se os resultados obtidos.

#### **Estudo do sistema tampão**

Em ensaios preliminares (JACINTHO, 1972), onde procurou-se analisar os principais problemas que seriam enfrentados, por ocasião da aplicação do método, foi possível constatar que certos íons aumentavam sua interferência, quando o pH excedia a 7,5. Verificou-se, naquela oportunidade, a conveniência em se estudar um tampão adequado para controlar o pH em torno de 7,5, tendo em vista a acidez do extrato a ser analisado. Tal recurso viria contornar, em grande parte, as interferências causadas por íons como  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ , etc., as quais se intensificavam com o acréscimo do pH, visto que as soluções para tais problemas, apresentadas por HOLLAND & BOZIC (1968) não puderam ser empregadas.

Procurando conseguir um tampão de características satisfatórias para o método, prepararam-se diversas soluções, algumas das quais tampões clássicos e que foram testadas, quanto a sua influência sobre a reação e quanto a sua eficiência.

A solução de citrato de sódio, originalmente empregada no método, foi incluída no presente estudo com a finalidade de se conhecer sua capacidade em resistir às variações de pH do meio.

**1. Influência das soluções (tampão) sobre a reação** – Conforme citação de HOLLAND & BOZIC (1968), a presença de sais amoniacaís poderia provocar interferências sobre a reação, devido a formação de amina.

Considerando a possibilidade dos componentes do tampão exercerem influência sobre a reação cobalto-oxima, procurou-se desenvolver o composto, a partir de 6 e 10 microgramas de cobalto e em presença de cada uma das soluções propostas.

Prepararam-se mais as seguintes soluções:

#### **Reativos:**

**Solução aquosa de ácido cítrico a 30%** – Preparada a partir do  $\text{H}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$  p.a.

**Solução aquosa de trietanolamina (1+2)** – Preparada a partir de  $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{NO}_3$  p.a.

**Solução aquosa de citrato de sódio 1 M** – Preparada a partir do  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Essa solução apresenta um pH ao redor de 7,8.

**Solução aquosa de citrato de amônio 1 M** – Preparada a partir do  $(\text{NH}_4)_2\text{HC}_6\text{H}_5\text{O}_7$  p.a., tendo o pH corrigido para 7,8 com  $\text{NH}_4\text{OH}$  a 25% p.a.

**Solução aquosa 0,250 M em fosfato dissódico e 0,125 M em fosfato monossódico** – Preparada a partir de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  p.a. O pH foi corrigido para 7,8, com solução 1 M em NaOH.

**Soluções A, B e C de citrato de sódio, ácido cítrico e trietanolamina** – Foram misturados 100 ml da solução 1 M em citrato de sódio com 50 ml (solução A), 70 ml (solução B) ou 100 ml (solução da solução de trietanolamina (1+2)). Adicionou-se, em seguida, solução de ácido cítrico a 30% até pH 7,8.

#### Procedimento

Em funis de separação de 60 ml, adicionaram-se 6 e 10 microgramas de cobalto, 10 ml de cada solução a ser testada como tampão, 5,0 ml de água e 1,0 ml da solução do reativo a 1%. A seguir, procederam-se às extrações do composto colorido com 5,0 ml de clorofórmio e efetuaram-se as leituras a 385 nm, contra as respectivas provas em branco, conforme já descrito em procedimentos anteriores. Após as extrações, efetuaram as medidas do pH da fase aquosa. Os resultados encontram-se no Quadro 5.

**2. Verificação da eficiência e escolha da solução tampão** – Com o presente experimento, procurou-se avaliar a capacidade das soluções A, B, C e da solução 1 M em citrato de sódio, em resistir às oscilações em seu pH, quando da adição de ácido ou base.

Desse modo, a diferentes quantidades daquelas soluções, foram adicionados 0,25 – 0,50 – 0,75 e 1,00 e.mg de  $\text{H}_3\text{O}^+$  e  $\text{OH}^-$  e as variações obtidas no pH, determinadas potenciométricamente. Com essa finalidade, foram preparadas mais as seguintes soluções:

#### Reativos

**Solução aquosa de HCl 0,100 N** – Preparada a partir de solução 6 N em HCl (destilada).

**Solução aquosa de NaOH 0,100 N** – Preparada a partir de NaOH p.a.

#### Procedimento

Em copos de 30 ml, foram colocados 5,0 – 10,0 e 15,0 ml de cada uma das soluções em estudo, adicionando-se a seguir, 2,5 – 5,0 – 7,5 e 10,0 ml das soluções 0,100 N, em HCl ou NaOH. Após agitação, o pH das soluções foi medido potenciométricamente e os valores estão contidos no Quadro 6.

Com a finalidade de testar as soluções tampão, foram efetuadas determinações a partir de 6 e 10 microgramas de cobalto de soluções padrão em presença de 10 ml das soluções A, B e C e de 1,0 e.mg de  $\text{H}_3\text{O}^+$ . O procedimento seguido já foi descrito em (1.) somente que, antes da adição do reativo, em cada funil de separação, foram adicionados 10 ml da solução 0,100 N em HCl. Após as extrações, efetuaram-se as medidas do pH da fase aquosa. Os resultados constam do Quadro 7.



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Estudo sobre o reativo

1. **Preparo da 2,2'-dipiridil cetoxima** – A oxima preparada conforme o procedimento descrito, após duas recristalizações, acusou um ponto de fusão entre 141 e 143°C (determinação realizada no ITAL–Campinas), exatamente o valor esperado descrito por LEETE & MARION (1952).

2. **Quantidade do reativo a ser empregada** – Os dados do Quadro 1 permitem observar que as diferenças decorrentes da concentração alcoólica das soluções do reativo, foram mais evidentes quando se empregou a solução 0,1%. Isto é, quanto mais diluída as soluções do reativo, mais nítidas foram as diferenças nos valores de absorvância das soluções. Os referidos valores indicaram a possibilidade da existência de uma relação, teor alcoólico do meio – concentração do reativo, a qual, a partir de um determinado limite poderia influir nos resultados, pois quando se utilizou a solução do reativo a 0,1% em etanol a 95%, o máximo desenvolvimento da cor do composto não foi obtido mesmo em presença de 2,50 ou 5,00 mg da 2,2'-DC.

Verificou-se que o aumento do teor alcoólico do meio provocou uma diminuição na velocidade de separação das fases, após a extração. Desse modo, a utilização da 2,2'-DC em solução hidroalcoólica contendo 80% de etanol, será vantajosa.

QUADRO 1 – Variação nos valores de absorvância da solução, obtidos a partir de 10 microgramas de cobalto, em função das quantidades do reativo e do teor alcoólico das soluções.

Concentração da solução do reativo	em etanol a 95%			em etanol a 80%		
	ml da solução	mg do reativo	A	ml da solução	mg do reativo	A
1%	5,00	50,00	0,54	5,00	50,00	0,57
	3,00	30,00	0,58	3,00	30,00	0,58
	2,00	20,00	0,59	2,00	20,00	0,59
	1,00	10,00	0,59	1,00	10,00	0,59
	0,50	5,00	0,59	0,50	5,00	0,59
	0,25	2,50	0,59	0,25	2,50	0,59
	0,10	1,00	0,58	0,10	1,00	0,58
	5%	6,00	30,00	0,55	6,00	30,00
4,00		20,00	0,58	4,00	20,00	0,58
2,00		10,00	0,59	2,00	10,00	0,59
1,00		5,00	0,59	1,00	5,00	0,59
0,50		2,50	0,59	0,50	2,50	0,59
0,25		1,25	0,59	0,25	1,25	0,59
0,1%	5,00	5,00	0,52	5,00	5,00	0,55
	2,50	2,50	0,56	2,50	2,50	0,58
	1,00	1,00	0,57	1,00	1,00	0,57
	0,50	0,50	0,54	0,50	0,50	0,55
	0,25	0,25	0,51	0,25	0,25	0,54

Constata-se, também, pela análise do Quadro 1, que o máximo desenvolvimento da cor do composto só foi conseguido com 1,25 mg do reativo, ou seja, aproximadamente, 12 vezes a quantidade estequiométrica.

3. **Conservação da solução do reativo** – Os dados do Quadro 2 permitem inferir que as soluções do reativo não sofreram qualquer influência das condições estudadas e 0,25 ml das mesmas foi suficiente para o completo desenvolvimento da cor do quelato, até 90 dias após o preparo das citadas soluções.

Com base nos resultados obtidos, considerou-se mais conveniente o emprego de 1,0 ml da solução do reativo a 1% em etanol a 80%, para a determinação de até 10 microgramas de cobalto.

QUADRO 2 – Conservação das soluções do reativo mantidas em diferentes condições e em função do tempo. Avaliação através da absorbância das soluções contendo o composto colorido, obtido a partir de 10 microgramas de cobalto.

Dias após o preparo das soluções	Conservada ao ambiente (20–30°C)		Conservada em geladeira (1 a 2°C)	Solução do reativo a 1% em etanol a
	frasco incolor	frasco escuro		
	A	A	A	
5	0,59	0,59	0,59	
10	0,59	0,59	0,59	
15	0,59	0,59	0,59	
30	0,59	0,59	0,59	95%
45	0,59	0,59	0,59	
60	0,59	0,59	0,59	
90	0,59	0,59	0,59	
5	0,59	0,59	0,59	
10	0,59	0,59	0,59	
15	0,59	0,59	0,59	
30	0,59	0,59	0,59	80%
45	0,59	0,59	0,59	
60	0,59	0,59	0,59	
90	0,59	0,59	0,59	

#### Estudo sobre a influência do pH

1. **Influência do pH na formação do composto colorido** – Através dos dados do Quadro 3, é possível observar o pronunciado efeito do pH no desenvolvimento e na velocidade de formação do quelato. Nota-se que, somente a partir de pH 6,90, a cor atingiu o máximo desenvolvimento imediatamente, mantendo-se inalterada durante todo o intervalo de tempo estudado. O mesmo ocorreu para os pH 7,80 – 8,10 e 8,50. A partir do pH 9,10, apesar da reação ser imediata, a cor do composto foi progressivamente perdendo intensidade com o aumento do pH do meio. Pelos valores obtidos, pode-se concluir que o melhor intervalo de pH, para o desenvolvimento do composto, é o compreendido entre 6,90 e 8,50.

QUADRO 3 – Valores de absorvância das soluções (aquosas) contendo o composto colorido, obtidos em intervalos de tempo e em diferentes pH (leituras a 385 nm).

pH do meio	Intervalo de tempo em minutos						
	0	15	30	45	60	75	90
4,10	0,01	0,04	0,06	0,09	0,10	0,12	0,13
5,00	0,01	0,04	0,07	0,09	0,10	0,12	0,13
6,00	0,05	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
6,90	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
7,80	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
8,10	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
8,50	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
9,10	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
10,00	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
11,00	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
12,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10

Os espectros de absorção do composto colorido quando em meio aquoso, obtidos após a estabilização das leituras, mostraram que, em todos os pH estudados, o máximo de absorção foi atingido a partir de 352 e permanecendo até 320 nm. Tal fato elimina a possibilidade de ocorrência de uma modificação na sua estrutura em função do pH.

**2. Influência do pH na extração do composto colorido** – Através dos dados do Quadro 4, pode-se observar a influência do pH na extração do composto colorido pelo solvente orgânico. Os valores obtidos indicaram que quando o pH da fase aquosa esteve abaixo de 6,0 ou acima de 8,0, de um modo geral, a extração do quelato pelo clorofórmio não foi completa.

QUADRO 4 – Influência do pH na extração do composto colorido obtido a partir de 10 microgramas de cobalto e nos pH 7,0 – 7,5 – 8,0 e 8,5. Extração com 5,0 ml de clorofórmio.

reação em pH 7,0			reação em pH 7,5			reação em pH 8,0			reação em pH 8,5		
pH da fase aquosa		A	pH da fase aquosa		A	pH da fase aquosa		A	pH da fase aquosa		A
antes da extração	depois da extração		antes da extração	depois da extração		antes da extração	depois da extração		antes da extração	depois da extração	
4,0	4,1	0,54	4,0	4,1	0,56	4,0	4,0	0,54	4,0	4,2	0,55
5,0	5,0	0,55	5,0	5,0	0,56	5,0	5,2	0,55	5,0	5,1	0,55
6,0	6,1	0,56	6,0	6,0	0,57	6,0	6,0	0,57	6,0	6,0	0,57
7,0	7,1	0,59	7,0	7,0	0,59	7,0	7,2	0,59	7,0	7,0	0,59
8,0	8,1	0,59	8,0	8,0	0,59	8,0	8,1	0,59	8,0	8,0	0,59
9,0	9,2	0,57	9,0	9,2	0,59	9,0	9,1	0,58	9,0	9,1	0,58
10,0	10,0	0,56	10,0	10,1	0,57	10,0	10,0	0,56	10,0	10,0	0,56
11,0	11,2	0,53	11,0	11,0	0,57	11,0	11,0	0,56	11,0	11,0	0,54
12,0	12,1	0,52	12,0	12,0	0,55	12,0	12,0	0,55	12,0	12,1	0,54

Contudo, pelos resultados dos ensaios, pode-se concluir que encontram-se entre pH 7,0 e 8,0 as condições mais seguras para o desenvolvimento e extração do composto colorido.

### Estudo do sistema tampão

1. **Influência das soluções (tampão) sobre a reação** — Através dos valores apresentados no Quadro 5, observa-se que, em presença de citrato de amônio, os valores de absorvância sofreram um pronunciado decréscimo, o que vem confirmar a restrição apresentada por HOLLAND & BOZIC (1968), com relação à presença de sais amoniacaais.

Em presença da solução tampão de fosfatos, apesar da cor ter se desenvolvido melhor que no caso anterior, a reação não foi completada, indicando também, certa influência da referida solução, no método.

QUADRO 5 — Valores de absorvância do composto colorido em clorofórmio, obtidos a partir de 6 e 10 microgramas de cobalto e em presença de 10 ml de cada solução empregada como tampão.

Solução Tampão	Microgramas de cobalto	A	pH da fase aquosa após a extração
Citrato de sódio	6	0,36	7,80
	10	0,59	7,80
Citrato de amônio	6	0,20	7,80
	10	0,32	7,80
Fosfatos mono e dissódico	6	0,32	7,75
	10	0,54	7,70
Solução A	6	0,36	7,80
	10	0,59	7,80
Solução B	6	0,36	7,80
	10	0,59	7,80
Solução C	6	0,36	7,80
	10	0,59	7,80

Pode ser observado contudo, que, em presença de citrato de sódio e das soluções A, B e C, foram obtidos os valores mais elevados de absorvância do composto em clorofórmio, a partir de 6 e 10 microgramas de cobalto.

2. **Verificação da eficiência e escolha da solução tampão** — Os valores contido no Quadro 6 mostram que a solução de citrato de sódio não apresentou capacidade tampão comparável às demais, considerando-se as quantidades de ácido e base utilizadas no presente ensaio.

Por outro lado, o aumento das quantidades da base trietanolamina não produziu um aumento significativo na capacidade tampão da solução de citrato de sódio e ácido cítrico.

Deve-se salientar que o aspecto mais importante na escolha do tampão está ligado a sua capacidade em resistir à ação de ácidos, uma vez que os extratos dos materiais a serem analisados poderão conter de 0,5 a 1,0 e.mg de  $H_3O^+$ .

QUADRO 6 – Variação no pH das soluções tampão em função das quantidades de HCl e NaOH adicionadas.

ml da solução 0,100N em HCl	Solução 1M em citrato de sódio ml			Solução A ml			Solução B ml			Solução C ml		
	5,0	10,0	15,0	5,0	10,0	15,0	5,0	10,0	15,0	5,0	10,0	15,0
	pH			pH			pH			pH		
2,5	6,40	6,6	6,8	7,4	7,6	7,7	7,6	7,7	7,8	7,7	7,8	7,8
5,0	6,1	6,3	6,5	7,2	7,5	7,6	7,3	7,7	7,7	7,4	7,7	7,8
7,5	5,9	6,1	6,3	6,8	7,4	7,5	7,0	7,5	7,6	7,1	7,6	7,7
10,0	5,8	5,9	6,2	6,5	7,3	7,4	6,6	7,4	7,5	6,7	7,5	7,6

ml da solução 0,100N em HCl	Solução 1M em citrato de sódio ml			Solução A ml			Solução B ml			Solução C ml		
	5,0	10,0	15,0	5,0	10,0	15,0	5,0	10,0	15,0	5,0	10,0	15,0
	pH			pH			pH			pH		
2,5	12,2	12,1	11,9	8,0	7,0	7,8	7,9	7,9	7,8	7,9	7,9	7,8
5,0	12,3	12,2	12,0	8,1	7,9	7,8	8,0	7,9	7,8	7,9	7,9	7,8
7,5	12,4	12,3	12,1	8,2	8,0	7,9	8,1	7,9	7,9	8,0	7,9	7,8
10,0	12,4	12,3	12,2	8,3	8,1	8,0	8,2	8,0	7,9	8,1	8,0	7,9

Observando-se os dados obtidos com 10 ml das soluções A, B e C (Quadro 6), verifica-se que 1,0 e.mg de HCl provocou um decréscimo no pH das referidas soluções de 0,5 – 0,4 e 0,3 unidade, respectivamente. Assim sendo, pode-se considerar que o emprego de 10 ml da solução A fornecerá condições satisfatórias ao método, desde que a acidez proveniente do extrato não exceda a 1,0 e.mg de  $H_3O^+$ . Nessas condições, o pH do meio irá oscilar de 7,5 a 7,3, permitindo perfeito desenvolvimento da reação e extração, com suficiente margem de segurança.

Com relação à eficiência das soluções quando da adição de NaOH, apesar da relativa importância para o presente estudo, nota-se que os tampões A, B e C comportaram-se de maneira satisfatória. Por outro lado, a solução de citrato de sódio, como pode ser visto através do Quadro 6, não apresentou resistência a oscilações em seu pH, comparável às demais soluções.

Os resultados do Quadro 7 confirmam que o emprego de 10 ml da solução tampão A, manteve o pH do meio entre 7,3 e 7,4 quando a reação se desenvolveu em presença de 1,0 e.mg de  $H_3O^+$ , fornecendo de igual modo que as soluções B e C, adequadas condições para reação e extração do composto, o que é revelado pelos valores de absorvância.

QUADRO 7 – Valores de absorvância do composto colorido em clorofórmio, obtidos a partir de 6 e 10 microgramas de cobalto e em presença das soluções A, B e C, e de 10 ml de solução 0,100N em HCl.

10 ml da solução tampão	Microgramas de cobalto	pH da fase aquosa após a extração	ml da solução 0,100N em HCl	A
A	6	7,3	10	0,36
	10	7,4		0,59
B	6	7,5	10	0,36
	10	7,4		0,59
C	6	7,5	10	0,36
	10	7,6		0,59

### CONCLUSÕES

Os estudos até aqui efetuados, sobre diversos aspectos da parte experimental do método espectrofotométrico da 2,2'-dipiridil cetoxima, forneceram dados os quais permitiram as seguintes observações e conclusões:

- a - A técnica empregada para o preparo da 2,2'-dipiridil cetoxima (2,2'-DC), a partir da cetona correspondente, possibilitou a obtenção do reativo com as características desejáveis. Com base nos ensaios realizados, considerou-se conveniente o emprego de 1,0 ml da solução do reativo a 1% em etanol a 80%, para a determinação de até 10 microgramas de cobalto. A referida solução testada até 90 dias após o seu preparo, forneceu resultados indicativos de sua adequada conservação durante o citado período.
- b - Verificou-se que as melhores condições de pH, para o desenvolvimento da cor do composto e sua extração pelo clorofórmio, encontra-se entre 7,0 e 8,0 (intervalo em que a reação é imediata). Não foram observadas modificações no espectro do quelato de cobalto, em função do pH.
- c - Dentre as diversas soluções testadas com a finalidade de tamponar o meio, aquela preparada com citrato de sódio 1 M e trietanolamina (1+2), na proporção 2:1, ajustando-se a seguir o pH a 7,8 com ácido cítrico a 30%, foi a que apresentou a eficiência desejada, isto é, 10 ml dessa solução resistiram satisfatoriamente à ação de 1,0 e.mg de  $H_3O^+$ .

**SUMMARY****SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF COBALT BY THE 2,2'-DI-PYRIDYL KETOXIME METHOD (I) – (Reagent, pH and buffer solutions studies)**

The initial studies are presented, relative to the experimental part of the method of the 2,2'-dypiridyl ketoxime, for determination of cobalt.

The preparation technique of the reagent from the corresponding ketone was presented.

The use of 1.0 ml of the 1% reagent solution in 80% ethyl alcohol was suggested, for the determination of up to 10 micrograms of cobalt. The above solution was tested until 90 days after it's preparation, and no alteration was detected.

The best pH conditions, for the formation and extration of the colored compound is between 7.0 and 8.0.

Among several buffer solutions used, the most efficient was the one prepared with sodium citrate 1 molar, triethanolamina (1+2), in the proportion of 2:1, after ascertaining the pH at 7,8 with 30% citric acid.

Studies about solvents, effects of several ions and the application of the method to plant analysis, will be presented later.

**LITERATURA CITADA**

- BAGREEV, V.V. & ZOLOTOV, Y.A., 1968. Extractive photometric determination of cobalt with acid monochrome green S. *Talanta*, vol. 15:988-991.
- BONNER, D. & VARNER, J.E., 1965. *Plant Biochemistry*. Academic Press, New York. London. 1054 p.
- BREWSTER, R.Q., 1953. *Organic Chemistry*. 2nd edition. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N.J. 855 p.
- BURKE, R.W. & DEARDORFF, E.R., 1970. Simultaneous spectrophotometric determination of cobalt nickel and copper with 2,3-quinoxalinedithiol. *Talanta*, vol. 17:255-264.
- CRAM, D.J. & HAMMOND, G.S., 1964. *Organic Chemistry*. 2nd edition McGraw-Hill Book Co. New York. Toronto. London. 846 p.
- FRUTON, J.S. & SIMMONDS, S., 1959. *General Biochemistry*. 2nd ed. New York, John Wiley & Sons Inc. 1077 p.
- FURMAN, N.H., 1962. Cobalt. IN: *Standard Methods of Chemical Analysis*. 6st ed. D. Van Nostrand Company, Inc. Princeton, New Jersey. p. 377-394.
- GOLDSCHMIDT, V.M., 1954. *Geochemistry*. Oxford University Clarendon Press, 730 p.
- HODGSON, J.F., 1963. Chemistry of the micronutrients elements in soil. IN: *Advances in Agronomy*. Norman, A.G., ed. Academic Press Inc., 15:119-159.
- HOLLAND, W.J. & BOZIC, J., 1968. Rapid spectrophotometric determination of cobalt with 2,2'-dypiridyl ketoxime. *Talanta*, 15:843-847.

- JACINTHO, A.O., 1972. A 2,2'-Dipiridil cetoxima, como reagente para determinação espectrofotométrica do cobalto (nota prévia). *Anais da ESALQ*, 29:19-22.
- KUBOTA, J. & ALLAWAY, W.L., 1972. Geographic distribution of trace element problems. IN: MORTVEDT, J.J., GIORDANO, P.M. & LINDSAY, W.L. (eds.). *Micronutrients in Agriculture*. Soil Sci. of Am. Inc. Madison Wisconsin, USA, p. 525-554.
- LEETE, F. & MARION, L., 1952. The papilionaceous alkaloids. XVII. The synthesis of structural isomers of aparteine<sup>1</sup>. *Can. J. Chem.*, 30, nº 8:563-574.
- MASON, B.H., 1971. *Princípios de Geoquímica*. Trad. Rui Ribeiro Franco. Editora da Univ. de São Paulo. Ed. Polígono. São Paulo. 403 p.
- MITCHELL, R.L., 1964. Trace elements in soil. IN: BEAR, F.E. (ed.). *Chemistry of the Soil*. Reinhold Publishing Co. New York, p. 320-368.
- PFLAUM, R.T. & TUCKER, E.S., 1971. Spectrophotometric determination of cobalt with benzil mono-(2-pyridyl) hydrozone. *Anal. Chem.*, 43(3):458-459.
- ROBERTS, J.D. & CASERIO, M.C., 1965. *Basic Principles of Organic Chemistry*. W.A. Benjamin. Inc. New York. Amsterdam. 1315 p.
- SANDELL, E.B., 1959. *Colorimetric Determination of Traces of Metals*, 3rd ed. New York. Interscience Publishers Inc., 1032 p. (Chemical Analysis, vol. III).
- SCHROEDER, H.A., NASON, A.P. & TIPTON, I.N., 1967. Essential trace metals in man: Cobalt. *J. Chron. Dis.*, 20:869-890.
- VALADARES, J.M.A.S., 1972. *Microelementos*. Em: MONIZ, A.C. – *Elementos de Pedologia*. Editora da Universidade de São Paulo. Ed. Polígono. São Paulo. p. 199-207.
- VANSELOW, A.D., 1966. Cobalt. IN: CHAPMAN, H.D. *Diagnostic Criteria for Plants and Soils*. University of California. Division of Agricultural Sciences, p. 142-156.