



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**AVALIAÇÃO DE PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO E**  
**DETERMINAÇÃO DE BORO EM AMOSTRAS DE SOLO E**  
**PLANTAS**

**Fernanda Santiago Chaves\***

543.02  
C 512 ap

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, área de concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

**Orientadora: Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira**

**\* Bolsista CNPq**

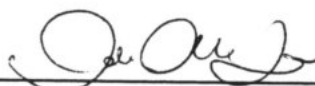


**São Carlos - SP**  
**2006**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
*Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia*  
*Departamento de Química*  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**  
**Curso de Mestrado**

---

*Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliou e aprovou a defesa de dissertação de mestrado da candidata **Fernanda Santiago Chaves** realizado em 20 de fevereiro de 2006:*



---

Profa. Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira



---

Profa. Dra. Mônica Ferreira de Abreu



---

Prof. Dr. Ronaldo Censi Faria

**Dedico este trabalho com todo meu amor, aos meus pais, José Geraldo e Graça, às minhas irmãs Renata e Racchel, meu sobrinho Gabriel, meu cunhado Valdivino, ao meu noivo Márcio e a toda família, por todo amor e apoio dedicados em todos os momentos da minha vida.**

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar sempre presente na minha vida.

Agradeço à Prof. Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira pela orientação, amizade, paciência, confiança, incentivo, oportunidade e apoio durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nobrega, pela amizade e pelas sugestões que muito ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.

A Dra. Mônica Ferreira de Abreu e ao Dr. Ronaldo Censi Faria, membros da Banca Examinadora, por todos os comentários e sugestões.

A Dra. Ana Cândida Primavesi pelas sugestões e por toda ajuda.

Aos amigos Ariel, Caio, Carlinha, Cláudia, Edilene, Edivan, Eveline, Mário, Rodolfo, Sherlan e Sílvia por toda a amizade e por, muitas vezes, pararem seus trabalhos para me ajudar.

Aos amigos do Gaia, Adriana, Alexandra, Andréa, Ariel, Carla, Carlinha, Caio, Cláudia, Clésia, Dani, Edilene, Edivan, Elma, Eveline, Fabiana, Fernando, Flávia, George, Geórgia, Gian, Gilberto, Kelly, Letícia, Lílian, Marcos, Marquinhos, Mário, Mirian, Patrícia, Rodolfo, Sherlan, Sílvia, Telma e Wladiana pelas sugestões, ajuda, discussões, amizade e ótima convivência.

Aos amigos da Embrapa Pecuária Sudeste, Lourdes, Marcos, Cristina, Sr. Nézio, Natal, Gilberto, Tereza, Franciane, Gustavo e Juliana, pelas colaborações e principalmente pela amizade.

Aos meus pais e minhas irmãs, por todo amor e por acreditarem na realização desse sonho.

Ao Márcio, pela compreensão, paciência, ajuda e por todo amor.

Às minhas tias Ormi, Zulmira, Tana, Marta, Fiinha, Tela (em memória), meus queridos primos e toda família pela torcida e por todo incentivo.

Ao amigo Guilherme, pelo apoio e por todo o incentivo.

Às minhas grandes amigas Tiemi, Maria Carmem, Larice, Viviane, Fabiana, Juliana, Silmara, Paula e Roberta pelo incentivo e por estarem presentes no início desse sonho.

Aos meus sogros Gorete e Sebastião, e meus cunhados pelo incentivo.

À Embrapa Pecuária Sudeste por oferecer todo o suporte para o desenvolvimento deste trabalho.

Às secretárias da pós-graduação, Ariane, Cristina e Luciane.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFSCar e ao CNPq pela bolsa concedida.

A todos que, de alguma forma, colaboraram no desenvolvimento deste trabalho.

MUITO OBRIGADA

## **Lista de abreviações**

---

B - Boro

FAAS – Espectrometria de absorção atômica com chama

IAC – Instituto Agronômico de Campinas

ICP OES - Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente.

NIST – Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia

PTFE – Politetrafluoretileno

SRM - Standard reference material

## **Lista de Tabelas**

---

Tabela 4.1. Concentração de B adicionada no ensaio com Girassol ( <i>Hellianthus annuus</i> ).....	30
Tabela 4.2. Volume de B aplicado nos solos.....	31
Tabela 4.3. Concentrações de B nas amostras de solo do Programa de Ensaio de Proficiência do Instituto Agronômico de Campinas.....	33
Tabela 5.1. Rampa de aquecimento da mufla para queima das amostras de planta na decomposição por via seca (SILVA, 1999).....	35
Tabela 5.2. Programa de aquecimento usado no forno com radiação microondas (Multiwave Anton Paar) com frascos fechados de PTFE para as amostras de girassol.....	36
Tabela 5.3. Condições operacionais do ICP OES para determinação de B nas amostras de girassol.....	39
Tabela 5.4. Condições de potência e tempo para a extração de B nos solos com o aparelho de microondas caseiro (ABREU et al., 1994).....	41
Tabela 5.5. Condições otimizadas de potência e tempo para a extração em microondas.....	42
Tabela 5.6. Condições de potência e tempo empregadas na extração de B do solo com a solução de cloreto de bário em forno de radiação microondas caseiro com sistema de aquecimento de água sob pressurização.....	44
Tabela 6.1. Concentrações de B em extratos vegetais do girassol decompostos por via seca. Determinação por Azometina-H e por ICP OES. Os padrões referem-se às repetições dos tratamentos descritos na Tabela 4.1. (n=3).....	50
Tabela 6.2. Concentração média de B presente nos padrões dos extratos vegetais do girassol decompostos por via seca e determinação por azometina-H e ICP OES. (n=3).....	51

Tabela 6.3. Porcentagem de recuperação do B para a decomposição por via seca e determinação por azometina-H e ICP OES.....	53
Tabela 6.4. Concentrações de B em extratos vegetais do girassol decompostos por radiação microondas. Determinação por azometina-H e por ICP OES. Os padrões referem-se às repetições dos tratamentos descritos na Tabela 4.1. (n=3).....	54
Tabela 6.5. Concentração média de B presente nos padrões dos extratos vegetais do Girassol decompostos por radiação microondas e determinadas por azometina-H e ICP OES. (n=3).....	55
Tabela 6.6. Porcentagem de recuperação do B para a decomposição por radiação microondas e determinação por azometina-H e ICP OES.....	56
Tabela 6.7. Comparação de alguns parâmetros entre as decomposições por via seca e por radiação microondas.....	60
Tabela 6.8. Características químicas, físicas e mineralógicas do solo.....	61
Tabela 6.9. Concentrações de B disponíveis no solo extraídas pelo método da água quente e determinadas pelo método da azometina-H e por ICP OES. As amostras referem-se ao experimento descrito na Tabela 4.1. (n=3).....	63
Tabela 6.10. Concentrações de B disponíveis no solo extraídas por radiação microondas e determinadas pelo método da azometina-H e por ICP OES. As amostras referem-se ao experimento descrito na Tabela 4.1. (n=3).....	65
Tabela 6.11. Concentrações de B disponíveis no solo empregando extração de B por radiação microondas com sistema de aquecimento de água sob pressurização e determinadas pelo método da azometina-H e por ICP OES. As amostras referem-se ao experimento descrito na Tabela 4.1. (n=3).....	67
Tabela 6.12. Concentrações de B disponível no solo obtidas na extração de B com sistema elétrico de aquecimento de água sob pressurização e determinadas pelo método da azometina-H e por ICP OES. As amostras referem-se ao experimento descrito na Tabela 4.1. (n=3).....	70

Tabela 6.13. Concentrações de B disponíveis no solo obtidas após extração pelo método Mehlich 1 e determinadas pelo método da azometina-H e por ICP OES. As amostras referem-se ao experimento descrito na Tabela 4.1. (n=3).....	72
Tabela 6.14. Concentrações de B disponíveis no solo obtidas na extração com HCl 0,05 mol L <sup>-1</sup> e determinadas pelo método da azometina-H e por ICP OES. As amostras referem-se ao experimento descrito na Tabela 4.1. (n=3).....	74
Tabela 6.15. Comparação de alguns parâmetros entre as extrações de B no solo...	78
Tabela 6.16. Comparação entre alguns parâmetros das determinações por azometina-H e por ICP OES.....	79

## **Lista de Figuras**

---

Figura 2.1. Visões pontuais sobre as formas de aquecimento condutivo e por microondas (KRUG, 2000).....	16
Figura 2.2 . Reação de condensação da azometina-H.....	18
Figura 2.3. (a) e (b) Possíveis complexos formados na interação entre o ácido bórico e a azometina-H.....	19
Figura 4.1. Ensaio com Girassol ( <i>Helianthus annuus</i> ).....	29
Figura 4.2. Preparo de amostra de Girassol.....	31
Figura 5.1. Diagrama esquemático do preparo de amostras de Girassol em microondas.....	37
Figura 5.2. Diagrama esquemático da extração do B em forno com radiação microondas empregando sistema de pressurização.....	43
Figura 5.3. Diagrama esquemático do funcionamento do sistema de aquecimento de água sob pressurização na extração com radiação microondas.....	43
Figura 5.4. Diagrama esquemático da extração de B do solo pelo método do sistema elétrico de aquecimento sob pressurização.....	44
Figura 5.5. Diagrama esquemático do funcionamento da extração com sistema de aquecimento sob pressurização elétrico.....	45
Figura 6.1: Cálculo da média dos padrões de planta.....	51
Figura 6.2: Concentração de B em função da concentração padrão aplicada no solo.....	52
Figura 6.3. Concentração de B nas plantas em função da concentração no solo.....	56
Figura 6.4. Concentração de B nas plantas em função dos teores aplicados ao solo em amostras decompostas por via seca e por radiação microondas, determinadas por azometina-H.....	57

Figura 6.5. Concentração de B nas plantas em função dos teores aplicados ao solo em amostras decompostas por via seca e por radiação microondas, determinadas por ICP OES.....	58
Figura 6.6. Porcentagem de recuperação do B nas decomposições por via seca e radiação microondas nas determinações por azometina-H e ICP OES.....	59
Figura 6.7. Porcentagem de recuperação do B nas amostras de solo em função das amostras controle IAC 226, 227 e 233, determinadas pelo método da azometina-H.....	76
Figura 6.8. Porcentagem de recuperação do B nas amostras de solo nas amostras controle IAC 226, 227 e 233, determinadas por ICP OES.....	77
Figura 6.9. Diagrama de Hommel.....	80

## Resumo

---

### **AVALIAÇÃO DE PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE BORO EM AMOSTRAS DE SOLO E PLANTAS.**

boro é um micronutriente presente nos solos essencial para o desenvolvimento das plantas. Procedimentos de preparo de amostras de plantas, empregando decomposição por via seca e microondas e de solos empregando extrações em microondas, sistemas de pressurização com água quente e soluções extratoras de cloretos e ácidos diluídos, foram avaliados. A eficiência dos métodos de decomposição e extração foi avaliada pelas determinações espectrofotométrica e por ICP OES, e desta forma procurou-se também estabelecer o método mais eficiente para determinar a recuperação do B presente nas amostras. Os procedimentos de preparo para amostras de planta, apresentaram resultados satisfatórios, já que as recuperações ficaram próximas de 100%, resultados confirmados quando considerado o SEM NIST (1515), os métodos não apresentaram diferenças significativas entre seus resultados com um nível de 95% de confiança. Os métodos de extração no solo que empregaram água e solução de cloreto de bário como extratores apresentaram as maiores recuperações, sendo que houve maior precisão entre os dois métodos que empregaram a radiação microondas com fonte de aquecimento e o que utilizou o sistema pressurização para aquecimento da água. Os resultados obtidos nas análises das soluções extratoras Mehlich 1 e HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup> foram relativamente mais baixos que os demais.

## **Abstract**

---

**ASSESSMENT OF PROCEDURES TO EXTRACTION AND DETERMINATION BORON IN PLANT AND SOIL SAMPLE.** Boron is present in soils as an essential nutrient for plants growing. Soils and plants sample preparation procedures were evaluated aiming to compare the extractors efficiency. Sample preparation methods, such as dry and microwave digestions, extractions using heated water and pressurized water system, and chloride and acid solution extractions, were compared. The spectrophotometric and inductively coupled plasma optical emission spectrometry - ICP OES determinations were used to evaluate the method efficiency's of extraction and of decomposition. Sample preparation procedures for plants showed good results once recovery were approximately 100% when were compared with certificate values for SRM NIST (1515). Extraction method in soil employing water and barium chloride solution as extractors showed the best results. The methods using microwave-assisted presented the best agreements between themselves. The results obtained in analysis from Mehlich 1 and HCl 0,05 mol l<sup>-1</sup> solution extractions were relatively lower than the others.

## Sumário

---

1. INTRODUÇÃO.....	2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
2.1. O BORO NOS SOLOS.....	7
2.1.1. Distribuição do boro no solo.....	7
2.1.2. Métodos de extração do boro nos solos.....	9
2.1.3. O Método da água quente.....	10
2.2. O BORO NAS PLANTAS.....	12
2.2.1. A Importância do boro para as plantas.....	12
2.2.2. Resposta do girassol a níveis de B.....	13
2.2.3. Métodos de decomposição para determinação de B em plantas.....	14
2.3. MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO.....	17
2.3.1. Determinação pelo método da Azometina-H.....	17
2.3.2. Determinação por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente.....	20
3. OBJETIVOS.....	23
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1. REAGENTES E SOLUÇÕES.....	25
4.1.1. Solução Tampão.....	27
4.1.2. Solução de Azometina-H.....	28
4.1.3. Solução extratora Mehlich 1.....	28
4.2. INSTRUMENTAÇÃO.....	28
4.3. AMOSTRAS.....	29
4.3.1. Amostras de Plantas.....	29
4.3.2. Amostras de Solos.....	32

4.4. Amostras com valor de referência certificado de B.....	32
5. MÉTODOS.....	35
5.1. DECOMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS DE PLANTA.....	35
5.1.1. Decomposição por via seca.....	35
5.1.2. Decomposição por radiação microondas.....	36
5.1.3. Determinação pelo método da azometina-H.....	37
5.1.4. Determinação por ICP OES.....	38
5.2. EXTRAÇÃO DO B DOS SOLOS.....	39
5.2.1. Extração pelo método da água quente .....	39
5.2.2. Extração de B por radiação microondas.....	40
5.2.3. Extração de B com sistema de pressurização para aquecimento de água em forno de microondas “caseiro”.....	42
5.2.4. Extração de B com sistema elétrico de pressurização para aquecimento de água.....	44
5.2.5. Extração pelo método Mehlich 1.....	45
5.2.6. Extração com HCl 0,05 mol L <sup>-1</sup> .....	46
5.2.7. Determinação pelo método da azometina-H.....	46
5.2.8. Determinação por ICP OES.....	47
5.3 Confirmação dos níveis de confiança pelo “teste t”.....	47
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
6.1. DECOMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS DE PLANTA.....	49
6.1.1. Decomposição por via seca.....	49
6.1.2. Decomposição por radiação microondas.....	53
6.1.3. Comparação entre os métodos de decomposição.....	57
6.2. EXTRAÇÕES NO SOLO.....	61
6.2.1. Características químicas do solo.....	61
6.2.2. Extração pelo método da água quente .....	62

6.2.3. Extração de B por radiação microondas.....	64
6.2.4. Extração de B com radiação microondas com sistema de aquecimento de água sob pressurização.....	66
6.2.5. Extração de B com sistema elétrico de aquecimento de água sob pressurização.....	68
6.2.6. Extração pelo método Mehlich 1.....	71
6.2.7. Extração com HCl 0,05 mol L <sup>-1</sup> .....	73
6.2.8. Comparação entre os métodos de extração do B nos solos.....	75
6.3. DETERMINAÇÃO POR AZOMETINA-H x ICP OES.....	79
6.4. RESÍDUOS GERADOS.....	80
7. CONCLUSÕES.....	83
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86

# **INTRODUÇÃO**

## 1. INTRODUÇÃO

O boro (B) ocorre na natureza principalmente como um oxianion em minerais silicatados, sendo bastante utilizado em diferentes campos da ciência (PAGE, 1982). O B elementar é utilizado na indústria química como absorvedor de nêutrons e como composto (ácido bórico, boratos e compostos orgânicos) é utilizado em reatores nucleares, em semicondutores e na manufatura de vidros além de outras aplicações (STADEN & TSANWANI, 2002).

Na nutrição humana o B é um mineral que desempenha diversas funções importantes, especialmente sob condições de “stress” metabólico; contribui com a manutenção e estabilidade da membrana celular e está envolvido em reações enzimáticas (SIMSEK, 2003). Além disso, apresenta outra gama de funções biológicas, desde a prevenção de osteoporose, atuando no metabolismo do Ca e Mg, sendo necessário para uso na energia-substrato (HUNT, 1996; NIELSEN, 1998), até no decréscimo de câncer de próstata (LUCICH & LUCICH, 2002). NIELSEN (1997), relatou a existência de um aparente controle hemostático do B nos homens, já que este é rapidamente excretado pela urina, não é acumulado nos tecidos e é mantido em uma estreita faixa de concentração no sangue de indivíduos saudáveis.

Um consumo diário superior a  $0,3 \mu\text{g g}^{-1}$  de B é indicado para animais visando prevenir alterações: no desenvolvimento dos ossos (HUNT, 1994), no metabolismo de macrominerais, nas funções imunológicas e na excreção da insulina (BELLATO, 2003).

Manteiga de amendoim, vinho, frutas secas, legumes e vegetais são importantes fontes de B (NAGHII et al., 1996). Sua concentração em águas naturais, geralmente, é inferior a  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ , níveis superiores são utilizados como indicadores de poluição sanitária por descarte de resíduos domésticos (HARP, 1997).

A deficiência do B no organismo pode causar problemas ao sistema imunológico, inflamações e disfunção hormonal (HUNT, 1994). Porém, em altas concentrações o B pode ser prejudicial, podendo causar perda de peso e apetite, náusea, diminuição da atividade sexual, redução do volume do sêmen, mobilidade e quantidade de espermatozoides e atrofia e degeneração dos testículos (CHAPIN, 1994). Uma dieta rica em B pode causar vômito, náusea, diarreia e dermatites (LINDEN et al., 1986).

Dada a sua importância, a literatura mundial é bastante extensa, principalmente sob o ponto de vista das relações com as plantas, já que o B atua como um micronutriente essencial para seu crescimento e desenvolvimento, exercendo um importante papel na síntese da parede celular, na diferenciação dos tecidos vegetais, na divisão celular, na atividade dos tecidos meristemáticos, no desenvolvimento dos frutos e na translocação dos açúcares (HU & BROWN, 1994). Uma das principais limitações para o diagnóstico nutricional do B em plantas é a estreita relação entre os níveis de deficiência e de toxidez (SILVA e FERREYRA, 1998).

Visando a avaliação da fertilidade, a determinação de B é realizada em rotina em laboratórios de solo. Nesse caso não são determinados os teores totais,

mas apenas o que realmente estaria disponível para as culturas, o que torna crítico o procedimento de extração.

O método de extração com água quente (BERGER & TROUG, 1939) do B em solos é descrito na literatura como adequado para determinar sua disponibilidade nas amostras, sendo por isso o mais utilizado em laboratórios de rotina. Porém, o método é trabalhoso e oferece problemas no controle preciso da temperatura durante as análises.

A importância do B para as plantas tem sido crescente, devido principalmente à expansão da agricultura em áreas de baixa fertilidade natural e sob condições de alta pluviosidade (CORREA et al., 1985). A extração de B em tecidos de plantas tem sido realizada através da digestão por via seca (JACKSON, 1965). No entanto, esse método apresenta desvantagens tais como o grande tempo requerido e os gastos com reagentes e energia.

A azometina-H é o reagente colorimétrico mais utilizado para a determinação do B e o aspecto mais favorável está no meio reacional aquoso, que é mais simples e mais sensível quando comparado a outros métodos (WOLF, 1971). Porém, o método é suscetível à presença de matéria orgânica dissolvida ou em suspensão (GUPTA, 1979) e a presença de altos teores de Fe extraídos por soluções diluídas de ácidos fortes.

O B também pode ser determinado por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES). Essa técnica tem sido uma das mais atrativas na determinação de elementos traço em amostras de plantas e outras amostras biológicas, pois apresenta vantagens tais como ser uma técnica simultânea, possuir uma ampla faixa linear, apresentar baixos limites de detecção e alta precisão (HWANG & WANG, 1995). No entanto, a determinação de B por ICP OES apresenta alguns problemas, sendo o principal o que se relaciona a efeitos de memória.

Esse trabalho procurou comparar os diferentes métodos de extração e determinação de B, em amostras de solos e plantas, visando avaliar sua precisão e propor alternativas para o estabelecimento de um procedimento otimizado que ofereça valores mais próximos dos reais. Como forma de avaliar os resultados, foram empregadas amostras pertencentes ao Programa IAC de análise de solo e amostras com valor de referência certificados (NIST), que contém valores certificados totais e extraíveis.

# **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

---

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. O BORO NOS SOLOS**

#### **2.1.1. Distribuição do B no solo**

A análise de solo é um componente importante na recomendação de adubação de culturas, influenciando a qualidade de todo o processo agrícola (RAIJ, 2001). A evolução agrícola coincidiu com o rápido desenvolvimento dos métodos de análise, da mecanização dos instrumentos nos laboratórios, da informática e da eletrônica.

O B é um micronutriente presente nos solos, essencial para plantas. Todavia, quando em excesso, torna-se um herbicida (SIMSEK et al., 2003). O teor de B total no solo varia de 4 a 98 mg kg<sup>-1</sup>, tendo em média cerca de 30 mg kg<sup>-1</sup>, enquanto que, solos arenosos podem ter valores baixos, na faixa de 2 a 6 mg kg<sup>-1</sup> (JACKSON, 1965). Níveis menores que 0,3 mg L<sup>-1</sup> de B nos solos são considerados como deficientes, enquanto que níveis superiores a 3,0 mg L<sup>-1</sup> de B são considerados tóxicos (LINDSAY & COX, 1985). Nos solos brasileiros, o B é o

micronutriente que, freqüentemente, se encontra deficiente, limitando assim a produção de culturas (MARCHETTI et al., 2001).

A turmalina, um borossilicato básico complexo, é considerada a principal fonte de B nos solos, já que possui proporções variáveis desse elemento em sua composição (PARKS & SHAW, 1941; CHESWORTH, 1991). Devido à extrema insolubilidade e estabilidade de compostos nativos contendo B, como a turmalina, o teor total desse elemento que se encontra disponível para as plantas é relativamente baixo (WEAR, 1965).

O B é tido como o micronutriente mais móvel presente nos solos, sendo desta forma facilmente lixiviado. Do teor total de B presente no solo, de um modo geral, somente o B solúvel em água é considerado como disponível para as plantas (SUN et al., 1998).

A principal fonte de B disponível presente no solo é proveniente da matéria orgânica, parte do B é absorvido pelas plantas, parte é perdido por lixiviação e uma parte relativamente menor pode ser fixada por argilas e tende a se acumular principalmente nas camadas superficiais (GUPTA, 1968). Os solos que apresentam deficiência de B, geralmente, são aqueles que possuem baixos teores de matéria orgânica. Já o excesso de B pode ser removido por lixiviação, ou mesmo, pelo equilíbrio existente entre o B dissolvido e adsorvido no solo (OFFIAH & AXLEY, 1993).

Segundo REISENAUER et al. (1973), em solos alcalinos com altos teores de B a fração lábil é aquela que se encontra adsorvida, a partir da qual a concentração de boratos na solução do solo é mantida, enquanto que, em solos ácidos e com baixos teores de matéria orgânica, o principal reservatório do elemento são os minerais contendo B, os quais são vagorosamente intemperizados. Na faixa de pH comum da maioria dos solos o B está presente na forma de  $B(OH)_3$ ,

sendo que os principais sítios de adsorção do B no solo são os hidróxidos e óxidos de Fe e Al e os minerais de argila (NABLE et al., 1997).

### **2.1.2. Métodos de extração do B nos solos**

Visando avaliação da fertilidade, a determinação de B é realizada em rotina em laboratórios de solo. Nesse caso não são determinados os teores totais, mas apenas o que realmente estaria disponível para as culturas, o que torna crítico o procedimento de extração. As formas dos micronutrientes que se tornam disponíveis para as plantas podem ser descritas como solúveis, trocáveis, adsorvidas ou complexadas. Na prática, é impossível determinar com precisão a forma específica de um determinado nutriente. Assim, várias soluções extratoras são continuamente testadas, a fim de encontrar uma que seja mais eficiente em simular o poder adsorvente dos micronutrientes pelas raízes (RAIJ et al. , 2001).

A padronização e a simplificação das técnicas analíticas do B no solo, especialmente em solos deficientes neste micronutriente se faz necessária, já que a faixa entre os teores de deficiência e de toxidez é estreita (SIMS & JOHNSON, 1991).

Em todos os métodos, o propósito final é uma simulação do que ocorre no solo, na tentativa de se determinar a concentração de B que realmente se encontra disponível às plantas. Na busca de resultados significativos, uma homogeneidade de protocolos específicos são elaborados visando uma padronização dos procedimentos de extração. No Brasil existem diversos programas colaborativos que se dedicam ao estabelecimento e avaliação desses protocolos, sendo que no estado de São Paulo o Instituto Agrônomo de Campinas coordena o programa que reúne cerca de 150 laboratórios. Outros programas importantes são os coordenados pela Embrapa Solos (Rio de Janeiro) e Rede

Oficial de Laboratórios de Análise de Solo e de Tecido Vegetal (ROLAS, Rio Grande do Sul e Santa Catarina).

Para fins de fertilidade, normalmente são feitas extrações com soluções salinas, ácidos diluídos (e.g. solução de  $0,05 \text{ mol L}^{-1} + \text{H}_2\text{SO}_4 0,0125 \text{ mol L}^{-1}$ ), água (e.g. extração de B com água quente) ou resinas trocadoras de íons.

BATAGLIA e RAIJ (1990) testaram os extratores Mehlich-1, HCl,  $\text{CaCl}_2$  e água quente para avaliar a disponibilidade de B em amostras de solos; concluíram que o extrator Mehlich-1 foi menos eficiente que a água quente e o cloreto de cálcio. Em amostras com concentrações crescentes de B, obtêm-se resultados semelhantes à extração com água quente, não sendo esses resultados reprodutíveis para fins agronômicos devido aos baixos teores de B nos solos. A vantagem de se utilizar o Mehlich-1 como extrator é a possibilidade de ser determinar outros elementos além do B. O uso de soluções ácidas como HCl é justificado pelos baixos custos da extração, incluindo o instrumental, e pela simplicidade de controle do tempo em comparação à extração com água quente ou suas adaptações (FERREIRA et al., 2002).

Outros extratores como o acetato de amônio, manitol (AITKEN et al., 1987), ácido acético,  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ -DTPA, também foram usados para avaliar a disponibilidade do B para as plantas porém, a água quente ainda apresenta-se como o extrator mais eficiente (MATSI, 2000).

### **2.1.3. O Método da água quente**

A extração com água quente, proposta por BERGER & TROUG (1939), é o método mais empregado para avaliar a disponibilidade do B no solo. Em geral, a água quente solubiliza o B dos solos de valores muito baixos até valores próximos de  $3 \text{ mg kg}^{-1}$  (ABREU et al., 1994). O procedimento original, ao longo dos anos, tem sofrido alterações, como a introdução de gotas de cloreto de cálcio após a

extração, ou ainda a substituição da água por uma solução diluída de cloreto de cálcio, para evitar problemas de dispersão de argila (FERREIRA et al., 2001). Além disso, o método da água quente é trabalhoso, oferece dificuldades no controle preciso da temperatura nos procedimentos de aquecimento e resfriamento da suspensão solo-extrator, apresenta um baixo rendimento em relação ao número de amostras analisadas por série, requer grande trabalho para limpeza do aparato de refluxo e liberação de espaço para a execução de novas análises, e possui alto custo, devido à exigência de vidraria isenta de boro (FERREIRA et. al, 2002).

Procurando uma alternativa que seja viável, métodos alternativos de extração de B vêm sendo testados nos últimos anos, com a finalidade de tornar sua determinação em amostras de solos viável para análises de rotina em laboratórios. MAHLER et al.(1984), substituíram os recipientes de vidro por frascos de plástico, e o aquecimento sob refluxo por um aquecimento em banho-maria. Neste enfoque, ABREU et al. (1994) usaram saquinhos de plástico no lugar de vidro, forno com radiação microondas como fonte de aquecimento e cloreto de bário  $1,25 \text{ g L}^{-1}$  como extrator. A adição do cloreto foi recomendada por WEAR (1965) com a finalidade de flocular os colóides gerados durante o processo de aquecimento.

Em laboratórios de rotina o cloreto de cálcio é mais utilizado que o cloreto de bário (SIMS, 1991). Sugere-se uma possível interferência na determinação por ICP OES quando utilizado o cloreto de cálcio, sendo assim recomendável sua substituição por cloreto de bário (RAIJ et al., 2001). No entanto, pode-se questionar essa alternativa, uma vez que há a adição de cloreto, além da adição de bário, um metal mais tóxico.

As pesquisas que objetivam otimizar os métodos clássicos de preparo de amostra, geram a perspectiva de se minimizar o consumo de reagentes, uma menor formação de resíduos e adequá-los aos novos métodos de determinação que surgiram nos últimos anos.

FÜLEKY & CZINKOTA (1993) e WEBB et al. (2002) empregaram um sistema de água quente sob pressurização para extração de B de solos e plantas, e compararam a extração com o método água quente. O sistema de pressurização utilizado foi uma cafeteira de café expresso com aquecimento da água a 90°C. Segundo WEBB et al. (2002), a extração pelo método da água quente pressurizada gerou resultados satisfatórios quando determinadas em ICP OES e ainda, demonstrou ser dez vezes mais rápida que a extração convencional.

## **2.2. O BORO NAS PLANTAS**

### **2.2.1. A Importância do B para as plantas**

O B é um micronutriente fundamental para o crescimento e desenvolvimento das plantas e a sua deficiência tem sido relatada em diversas partes do mundo (SUN et al., 1998; RERKASEM, 2004). Sua importância foi inicialmente relatada em 1920 e desde então se estabeleceu sua essencialidade para todas as plantas vascularizadas (BULAÑOS, 2004).

A deficiência deste micronutriente pode causar a paralisação do crescimento e a morte da extremidade da haste principal da planta, levando a formação de ramos laterais, cujas extremidades vêm a morrer (SILVA e FERREYRA, 1998). As folhas podem apresentar uma textura quebradiça e coloração amarronzada nas extremidades, crescimento reduzido das raízes, pequeno número de flores, baixa produtividade de frutos. Em excesso, o B pode causar a morte ou a necrose de partes da planta (SAH & BROWN, 1997).

A importância do B para as plantas tem sido crescente, devido principalmente à expansão da agricultura em áreas de baixa fertilidade natural. Segundo LEWIS (1980) a presença de B é um pré-requisito fundamental para a

evolução vascular das plantas devido ao papel fundamental desse elemento na biossíntese da lignina.

Os micronutrientes se encontram na solução do solo em formas pouco ionizáveis. As plantas absorvem o micronutriente da solução do solo, cujo teor está em equilíbrio com a fração de micronutrientes da fração sólida. A prática de adubação mineral com micronutrientes resulta em ganhos de produtividade das culturas implantadas em diversos tipos de solos. O B e o Zn são os elementos que têm limitado a produtividade em solos tropicais (AZEVEDO et al., 2000).

As plantas respondem somente a concentração de B presente na solução do solo e não são influenciadas pela concentração de B absorvida pela fração mineral. Desta forma, torna-se importante se conhecer os mecanismos de absorção desse elemento nas diversas frações do solo (GOLDBERG, 2005).

### **2.2.2. Resposta do girassol a níveis de B**

Uma planta que apresenta boa resposta à aplicação de B é o girassol (*Helianthus annuus*). Na busca de altas produtividades, faz-se necessária sua aplicação quando indicada pela análise foliar (SHORROCKS, 1997).

O girassol é uma planta rústica que possui grande importância econômica, já que vem sendo utilizado principalmente para extração de óleo. Dentre os óleos vegetais, é tido como um dos que possui a melhor qualidade nutricional. Suas sementes são empregadas na apicultura e a torta resultante da extração de óleo é utilizada para a alimentação de animais.

A pesquisa da absorção de B pelo girassol se faz viável, visto que o girassol é sensível a níveis baixos de boro no solo e apresenta diversos sintomas de deficiência desse elemento, principalmente nas fases de florescimento e maturação (HU & BROWN, 1994). Os sintomas mais comuns: folhas jovens com crescimento

reduzido, com deformações e pálidas, evoluindo para a coloração amarronzada, tornando-se finalmente espessas e quebradiças.

Para a prevenção de deficiência de B, recomenda-se a aplicação de 1,0 a 2,0 kg ha<sup>-1</sup>. Segundo MARSCHNER (1995), esta espécie é bastante exigente em B, necessitando de níveis e quantidades ótimas relativamente mais altas do que para outras espécies.

A deficiência do B no girassol causa, principalmente, alterações anatômicas, fisiológicas e bioquímicas, sendo, entretanto, difícil distinguir entre os efeitos primários e secundários (SHORROCKS, 1997). A rápida inibição do crescimento das raízes, sugere que esse elemento pode participar da manutenção da divisão e alongamento celular (MARCHETTI, 2001).

### **2.2.3. Métodos de decomposição para determinação de B em plantas**

A avaliação e a comparação dos procedimentos de preparo e determinação de B em amostras de plantas são necessárias para o diagnóstico nutricional, já que a relação entre os níveis de deficiência e toxicidade é muito estreita (CORREA et al., 1985). O método de decomposição selecionado deve ser reprodutível, seguro, apresentar o mínimo de manipulação da amostra possível, ser capaz de fornecer resultados com máxima exatidão, precisão e com o menor número de erros sistemáticos.

Para a decomposição de amostras biológicas e orgânicas, geralmente se emprega a decomposição por via seca, método bastante utilizado em laboratórios de rotina. A amostra é colocada em um cadinho (quartzo, porcelana, etc.), e aquecida, geralmente, em um forno tipo mufla, até que todo o material orgânico seja queimado, resultando apenas em um resíduo inorgânico volátil (KRUG, 2000).

No caso de análises de B é utilizado o cadinho de porcelana, já que esta não interage com o B. Um rigoroso controle da temperatura da mufla deve ser efetuado, visto que, o boro pode ser volatilizado e perdido, a temperaturas superiores a 400 °C (KRUG, 2000). Além de ser uma técnica simples de preparo de amostras, a via seca apresenta alguns problemas operacionais como: alto risco de contaminação, lento aquecimento das amostras, possibilidade de perdas por volatilização, dificuldade no controle da temperatura e baixo rendimento.

CORREA et al. (1984), compararam a digestão por via seca com o método de extração sem digestão do B de plantas (MIYAZAWA et al.,1984), utilizando como extrator o HCl e obtiveram resultados semelhantes em ambos os métodos.

A decomposição por microondas surge como uma boa alternativa, diminuindo as fontes de contaminação, o tempo de análise oferecendo um controle rígido de temperatura. As microondas são ondas eletromagnéticas que cobrem uma faixa de frequência do espectro eletromagnético que varia de 300 a 300.000 MHz. Quando um material não transparente às microondas absorve este tipo de radiação, o material pode sofrer um aumento considerável na sua temperatura, devido, principalmente, à interação da radiação eletromagnética com os íons dissolvidos e com o solvente, provocando migração iônica e rotação de dipolos. A ocorrência destes dois processos, que ocorrem quando as microondas interagem com a solução de um ácido (ou mistura de ácidos) usado para a digestão da amostra de interesse, resulta em um movimento molecular no material, que também contribui para o aquecimento do mesmo (KINGSTON & JASSIE, 1988).

O aquecimento por microondas envolve absorção direta de energia pela matéria que está sendo aquecida, diferentemente do aquecimento condutivo (placas aquecedoras ou fornos convencionais), no qual o aquecimento se dá pela ação de correntes de convecção. Assim, somente a energia das microondas não é suficiente

para a quebra das ligações químicas, o que permite algum controle das propriedades dos materiais (KRUG, 2000).

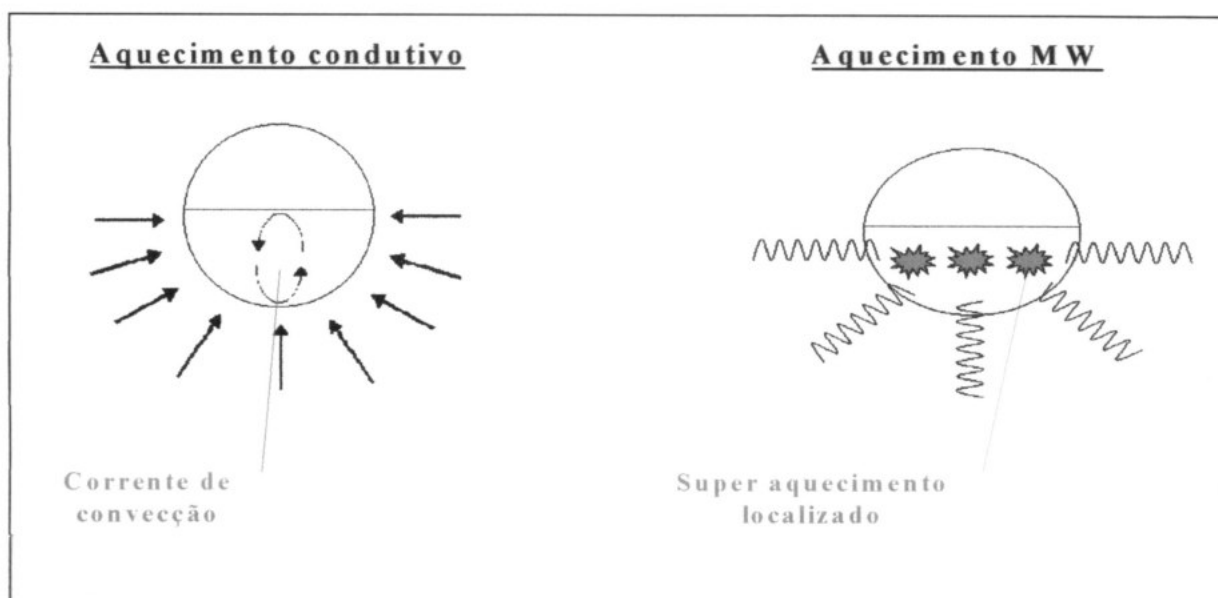


Figura 2.1. Visões pontuais sobre as formas de aquecimento condutivo e por microondas (KRUG, 2000).

Sistemas de digestão com frascos pressurizados são usados com muito sucesso, utilizando-se misturas de ácidos e outros reagentes oxidantes, principalmente para a decomposição de amostras orgânicas. Uma desvantagem deste sistema é que um pequeno número de amostras podem ser digeridas por vez, tornando a técnica pouco viável para laboratórios de análises de rotina.

### 2.3. MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO

A determinação do B em solos e plantas tem sido realizada por diversos métodos analíticos, em consequência do crescente desenvolvimento da

instrumentação analítica. Um grande número de determinações espectrofotométricas e técnicas mais recentes como a espectroscopia de emissão e absorção atômica com chama (FAAS e FAES), espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS), análises de ativação neutrônica (NAA), espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) e espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS), vem sendo empregadas na determinação desse elemento (CARRERO et al., 2005).

### **2.3.1. Determinação pelo método da Azometina-H**

O método da azometina-H, proposto por CAPELLE (1965), é o mais empregado em análises de B em águas naturais, solos e plantas (MATSUO, 2004). O aspecto mais favorável na utilização da azometina-H, está no meio reacional aquoso, que é mais simples e mais sensível quando comparado a outros métodos (WOLF, 1971), e não sofrer interferência da maioria dos íons presentes nas concentrações usuais em extratos de solos e plantas (FERREIRA, 2002).

Segundo GUPTA (1979), o método é suscetível à presença de matéria orgânica dissolvida ou em suspensão e à presença de altos teores de ferro extraídos por soluções diluídas de ácidos fortes. Em solos com baixos teores de B, a interferência de Fe pode afetar os resultados, fornecendo resultados errôneos que podem afetar seriamente a cultura (ZARCINAS, 1995). Mesmo os métodos mais sensíveis, como o ICP OES, ainda sofrem com a interferência de Fe e da matéria orgânica. Carvão ativado tem sido proposto para remover a interferência da matéria orgânica (WOLF, 1971). GUPTA (1979) relata a necessidade de ajustar a quantidade de carvão ativado baseado na matéria orgânica contida nos solos.

Alguns fatores, como o pH e a presença de íons interferentes, podem afetar a reação de condensação. O Al(III), Fe(III) e Zn(II) são considerados os

maiores interferentes em extratos de plantas (KRUG et al., 1981). Estas interferências podem, no entanto, ser minimizadas com o emprego de EDTA (BASSON et al., 1969).

A azometina-H, reagente cromogênico, é o produto de condensação do ácido H (ácido 8-amino-2-naftol-3,6-dissulfônico) e do aldeído salicílico. O ácido bórico age como um catalisador, acelerando a reação de condensação descrita na Figura 2.2.

A azometina-H se apresenta amarelada, a intensidade da coloração aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração de B na amostra e apresenta o máximo de adsorção a 420 nm. Segundo SAH e BROWN (1997), a absorvância no comprimento de onda de 420 nm é linear entre a faixa de concentração de 0,5 a 10 mg L<sup>-1</sup> de B.

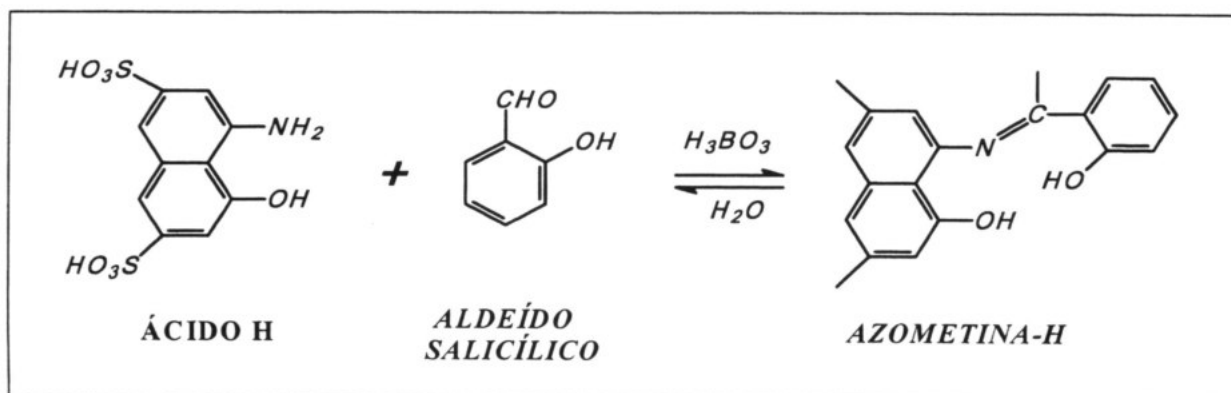


Figura 2.2 . Reação de condensação da azometina-H.

Diversos estudos vêm sendo realizados com a finalidade de otimizar as condições de determinação do B com a azometina-H. Para isso torna-se necessário conhecer as suas interações com o ácido bórico. MATSUO et al. (2004) propõem dois possíveis complexos formados pelo ácido bórico e a azometina-H (Figura 2.3).

Segundo SAH & BROWN (1997) a acidez do meio, especialmente entre 6,4 e 7,0, pode afetar os efeitos da coloração do complexo B-azometina-H.

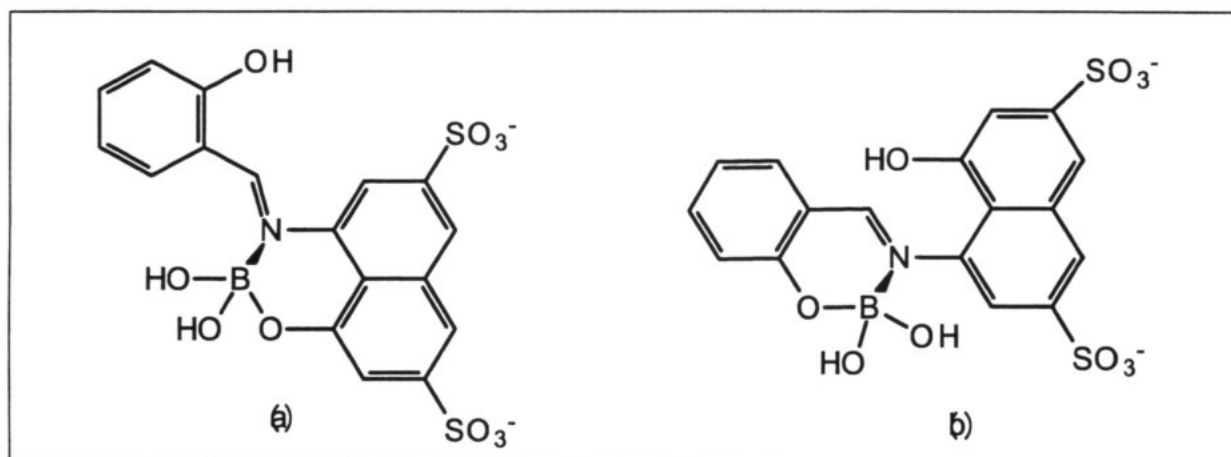


Figura 2.3. (a) e (b) Possíveis complexos formados na interação entre o ácido bórico e a azometina-H.

Outro método colorimétrico empregado na determinação de B é o da curcumina. O método se baseia na formação de um composto colorido solúvel em soluções alcoólicas, quando soluções de ácido bórico, ácido oxálico e curcumina são evaporados por liofilização. Segundo WOLF (1971) um problema encontrado no método da curcumina seria a interferência na determinação de B causada pela presença de nitratos. Em solos com concentrações de nitrato superiores a 100 mg/L haveria a necessidade de extração prévia dos nitratos, com o risco de haver perdas de B (WOLF, 1971). Outro problema seria a necessidade de um meio ácido concentrado (NOGUEIRA, 1993).

A escolha do método da azometina-H quando comparada ao método da curcumina se deve ao fato da azometina-H ser um reagente mais estável, além de necessitar de menor concentração ácida.

### **2.3.2. Determinação por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente**

O B também pode ser determinado por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES). Essa técnica tem sido uma das mais atrativas na determinação de elementos traço em amostras de plantas e outras amostras biológicas, pois apresenta vantagens tais como ser uma técnica simultânea, possuir uma ampla faixa linear, apresentar baixos limites de detecção, além de alta precisão (EVANS & KRÄHENBÜHL, 1994; HWANG & WANG, 1995 e SAH & BROWN, 1997).

Nessa técnica, a amostra é introduzida diretamente em um plasma de argônio a uma temperatura entre 6000 °C e 11000 °C. Nessa temperatura o B é atomizado e excitado eletronicamente e, ao decair para o estado fundamental, emite radiações características, em determinados comprimentos de onda. No entanto, a determinação de B por ICP OES apresenta alguns problemas, sendo o principal o que se relaciona a efeitos de memória.

AL-AMMAR et al. (1999a) atribuem o efeito de memória à tendência do boro se volatilizar na forma de ácido bórico, ficando desta forma, aderido às paredes da câmara de nebulização. Já para SUN et al. (1997) as reações entre o B e o sistema de introdução de amostras do ICP, especialmente com câmara de nebulização, que é constituída de borossilicato ou quartzo, são as causas principais para os efeitos de memória. No entanto, para ambos os autores, a forma mais simples para minimizar esse problema é se reduzir o volume e a concentração de B nas soluções introduzidas no plasma. Visando ainda minimizar esse efeito, diversas alternativas foram sugeridas, tais como lavagens com solução de NaF acidificada com HNO<sub>3</sub> (0,02 mol L<sup>-1</sup>), surfactantes como Triton X-100 e manitol, diluição das soluções de amostra e aumento do tempo de limpeza com soluções diluídas de HNO<sub>3</sub> (BELLATO, 2004).

Um outro problema freqüentemente abordado com relação ao uso de ICP OES está relacionado às interferências espectrais. Os dois comprimentos de ondas mais sensíveis do B (249,772 e 249,678 nm) sofrem interferência do Fe (Fe 249,782 e Fe 249,653) quando em concentrações elevadas (SAH & BROWN, 1997). EVANS & KRÄHENBÜHL (1994) estudaram a interferência do Fe na determinação de B e observaram que quando a razão Fe/B foi de 100 foi observado uma interferência +12% de intensidade na linha B 249,772 e de + 3% na linha B 249,678.

O desenvolvimento de novos métodos e ainda a otimização dos métodos clássicos de preparo de amostra vem se tornando cada vez mais importantes, para atender a crescente necessidade de se analisar um grande número de amostras com elementos em baixas concentrações e aproveitar a característica multielementar do ICP OES .

VIEIRA et al. (2005) estudaram as condições de operação de um ICP OES, com configuração radial, CCD e monocromador com montagem Littrow/Echelle para determinações multielementares em meio de solução extratora de DTPA + trietanolamina – TEA + CaCl<sub>2</sub>, comparando o desempenho do equipamento para análises realizadas com soluções em meio de HNO<sub>3</sub> 1% v/v. Nesse trabalho os autores montaram um planejamento fatorial estrela com triplicata do ponto central variando-se: a potência de rádio frequência entre 0,7 e 1,4 kW, a vazão do gás de nebulização entre 0,6 e 1,4 L min<sup>-1</sup> e a altura de observação entre 6 e 16 mm. Baixos limites de detecção - LODs foram obtidos quando o equipamento foi operado com elevada potência aplicada (1,4 kW) e baixa vazão do gás de nebulização (0,6 L min<sup>-1</sup>).

## **OBJETIVOS**

---

### 3. OBJETIVOS

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar os diferentes procedimentos de preparo de amostra para extração de B em amostras de solos e plantas e estabelecer compromisso com as condições de medida compatíveis com a técnica analítica de espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente.

Buscando alcançar os objetivos propostos foram verificados:

- Procedimentos para preparo de amostras empregando: digestão por via seca, extrações e digestões assistidas por radiação microondas, extrações com sistema de água quente sob pressurização;
- Comparação da eficiência das digestões e extrações por determinação espectrofotométrica e por ICP OES, procurando estabelecer assim, o método mais eficiente para determinar a recuperação do B presente na amostras.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. REAGENTES E SOLUÇÕES

**Solução padrão de referência de boro (B):** solução padrão analítico de B com concentração de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  da Teclab (São Paulo, Brasil).

**Acetato de Amônio ( $\text{NH}_4\text{OAc}$ ):** reagente analítico da marca Merck (Darmstadt, Alemanha), utilizado na preparação da solução tampão empregada na determinação colorimétrica com azometina-H.

**Ácido Acético ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ):** reagente analítico da marca Synth, utilizado na preparação da solução tampão empregada na determinação colorimétrica com azometina-H.

**Ácido Ascórbico ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ):** reagente da marca Synth, utilizado na concentração 2 % m/v para preparação da azometina-H.

**Ácido Bórico ( $H_3BO_3$ ):** reagente da marca Synth, utilizado para preparação dos padrões aplicados nas plantas.

**Ácido Clorídrico 36,4-38% (v/v) (HCl):** ácido concentrado da marca Merck (Darmstadt, Alemanha) foi utilizado para dissolução das cinzas após a decomposição por via seca numa concentração de  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  e na preparação da solução duplo-ácida no método do Mehlich 1.

**Ácido Nítrico 60% (v/v) ( $HNO_3$ ):** ácido concentrado da marca Merck (Darmstadt, Alemanha) foi utilizado como ácido oxidante nas decomposições das plantas em microondas. Uma solução  $7,0 \text{ mol L}^{-1}$  de  $HNO_3$  foi obtida desse ácido.

**Ácido Sulfúrico  $0,0125 \text{ mol L}^{-1}$  ( $H_2SO_4$ ):** ácido concentrado da marca Merck (Darmstadt, Alemanha) foi utilizado para a preparação da solução duplo-ácida na extração com a solução extratora Mehlich 1.

**Azometina-H ( $C_{17}H_{11}NNa_2O_8S_2$ ):** reagente da marca Fluka Chemika, utilizado nos determinações colorimétricas na concentração  $0,9 \text{ \% m/v}$  em meio ácido ascórbico  $2 \text{ \% m/v}$ . Essa solução foi preparada diariamente.

**Carvão Ativado:** reagente da marca Vetec Química Fina, utilizado na extração de boro dos solos.

**Cloreto de bário ( $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ ):** reagente da marca Vetec Química Fina, utilizado na extração de boro dos solos na concentração  $1,25 \text{ g L}^{-1}$ .

**Cloreto de Cálcio ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ):** reagente da marca Vetec Química Fina, utilizado na extração de boro dos solos na concentração  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

**Etilenodiaminatetracetado dissódico ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ):** reagente analítico da marca Ecibra – Reagentes Analíticos, utilizado na preparação da solução tampão empregada na determinação colorimétrica com azometina-H.

**Peróxido de Hidrogênio 30% (m/m) ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ):** peróxido da marca Merck (Darmstadt, Alemanha) foi utilizado concentrado nas decomposições de amostras de plantas em microondas.

Todas as soluções utilizadas foram preparadas empregando-se reagentes de pureza analítica e água ultra pura obtida em sistema Mili-Q (Milipore, Bedford, MA, EUA).

Toda vidraria utilizada neste trabalho foi lavada e em seguida recebeu tratamento para desmineralização, que consiste em imersão por um período de 12 h em banho de ácido nítrico 10% (v/v). Após esse período, foi feita lavagem abundante com água ultra pura.

#### **4.1.1. Solução Tampão**

Foram dissolvidos 250 g de acetato de amônio e 15 g de  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  em 200 mL de água ultra pura. Adicionou-se 125 mL de ácido acético glacial p.a..

#### 4.1.2. Solução de Azometina-H

Dissolveu-se 2 g de ácido acético em água ultra pura até completar o volume a 100 mL de solução e posteriormente adicionada a 0,9 g de azometina-H. Essa solução foi preparada diariamente, já que a azometina-H se oxida muito facilmente.

#### 4.1.3. Solução extratora Mehlich 1

Adicionou-se 4,3 mL de HCl p.a. e 0,69 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a. em aproximadamente 500 mL de água desionizada. Aferiu-se o volume para 1 L e agitou-se.

### 4.2. INSTRUMENTAÇÃO

**ICP OES:** espectrômetro de emissão óptica com plasma de argônio acoplado indutivamente, empregando visão radial, Vista RL da Varian (Mulgrave, Austrália) com comprimentos de onda 249,678 e 249,772 nm.

**Espectrofotômetro:** espectrofotômetro FEMTO (vis) (FEMTO, SP, Brasil).

**Forno de microondas:** com 8 frascos de PTFE fechados, (Multiwave, Anton Parr Áustria).

**Forno de microondas “caseiro”:** LG- intellowave, modelo MS-115MLA.

**Liofilizador:** E-E Edwards – Boc do Brasil Ltda.

**Moinho criogênico:** moinho modelo 6750 Freezer/MILL Keypad Overlayl (5 pex Cert Prep., USA) utilizado na moagem das amostras de planta.

**Sistema de pressurização e aquecimento de água:** Expresso Duo Walita (SP, Brasil).

**Sistema de aquecimento de água sob pressurização para microondas (cafeteira italiana).**

### 4.3. AMOSTRAS

#### 4.3.1. Amostras de Plantas

Foi montando um experimento em casa de vegetação, na Embrapa Pecuária Sudeste, visando acompanhar qual a concentração de B estaria disponível para as culturas (Figura 4.1). A espécie escolhida foi o girassol (*Helianthus annuus*).



Figura 4.1. Ensaio com Girassol (*Helianthus annuus*).



Quinze vasos de 1 kg foram preenchidos com solo. Após receberem volume adequado de solo, os vasos foram umedecidos e, após 24 horas, receberam 6 sementes de girassol, as quais foram parcialmente enterradas.

Doze dias após a eclosão das plantas, foi realizado o desbaste, reduzindo-se para 3 o número de plantas por vaso. A partir do dia do desbaste as plantas passaram a receber doses crescentes de B, que foi aplicado na forma de solução de ácido bórico  $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ .

Três vasos controles foram cultivados juntamente com o ensaio, com a finalidade de acompanhar a influência do B no desenvolvimento da planta.

As concentrações totais de B (solução de ácido bórico), aplicadas nos solos se encontram na Tabela 4.1, sendo que o experimento foi realizado em triplicata.

Tabela 4.1. Concentração de B adicionada no ensaio com Girassol (*Helianthus annuus*).

Amostra	Concentração total de $\text{H}_3\text{BO}_3$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )
Testemunho	0
Padrão 1	0,5
Padrão 2	1,0
Padrão 3	1,5
Padrão 4	2,0

A solução de  $\text{H}_3\text{BO}_3$   $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  foi aplicada no solo em alíquotas que variaram de 10 a 30 mL, como demonstrado na Tabela 4.2, a cada 5 dias após o desbaste, até se completar as concentrações totais.

Tabela 4.2. Volume de B aplicado nos solos.

Concentração total de $H_3BO_3$ ( $mg L^{-1}$ )	Volume da solução de $H_3BO_3$ $0,1 mg L^{-1}$ (mL)								
	Dia do desbaste	5 dias após o desbaste	10 dias após o desbaste	15 dias após o desbaste	20 dias após o desbaste	25 dias após o desbaste	30 dias após o desbaste	35 dias após o desbaste	40 dias após o desbaste
	0	-	-	-	-	-	-	-	-
0,5	10	20	20	-	-	-	-	-	-
1,0	10	20	20	20	30	-	-	-	-
1,5	10	20	20	20	30	30	20	-	-
2,0	10	20	20	20	30	30	20	30	20

Sessenta dias após o desbaste, as plantas foram retiradas dos vasos, levadas ao laboratório, lavadas com água ultra pura e submetidas ao processo de liofilização por 24 h. Após o processo de liofilização as plantas foram moídas em moinho criogênico e submetidas aos processos de decomposição para determinação do B (Figura 4.2).



Figura 4.2. Preparo de amostra de Girassol.

Amostras das sementes de girassol, foram também, submetidas aos processos de moagem e decomposição, para um melhor acompanhamento das concentrações do B presentes na planta.

#### **4.3.2. Amostras de Solos**

A amostra de solo utilizada no ensaio com o girassol, latossolo vermelho amarelo, foi coletada na Fazenda Canchim, sede da Embrapa Pecuária Sudeste. Foi coletada massa suficiente de amostra para preencher 15 vasos de 1 kg, utilizados no ensaio com as plantas.

Antes de se iniciar o ensaio, a amostra foi submetida às análises químicas (pH, matéria orgânica, macronutrientes e micronutrientes) e análises físicas (areia, argila e silte) e posteriormente acondicionadas nos vasos.

Ao término do ensaio, foram coletadas amostras de todos os vasos, secas e trituradas com o auxílio de um almofariz e pistilo, para diminuição das partículas, peneiradas em peneira com 2 mm de porosidade e armazenadas para as análises das concentrações de B.

#### **4.4. Amostras com valor de referência certificado de B**

- Amostra com valor de referência certificado Apple Leaves – NIST SRM 1515 com uma concentração de  $27 \mu\text{g g}^{-1}$  de B.

- Amostras de solos provenientes do Programa de Ensaio de Proficiência do Instituto Agronômico de Campinas para laboratórios de análise de solo para fins agrícolas. Os valores (mínimo, médio e máximo) de boro presentes nas amostras encontram-se na Tabela 4.3.

Tabela 4.3. Concentrações de B nas amostras de solo do Programa de Ensaio de Proficiência do Instituto Agronômico de Campinas.

Amostra	Concentração de B (mg dm <sup>-3</sup> )		
	Mínima	Média	Máxima
IAC 226	0,16 ± 0,04	0,23 ± 0,04	0,30 ± 0,04
IAC 227	0,09 ± 0,03	0,14 ± 0,03	0,20 ± 0,03
IAC 233	0,19 ± 0,08	0,30 ± 0,08	0,42 ± 0,08

## **PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL**

---

## 5. MÉTODOS

### 5.1. DECOMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS DE PLANTA

#### 5.1.1. Decomposição por via seca

Aproximadamente 200 mg de amostra de planta foram pesados diretamente em cadinhos de porcelana e levados para aquecimento em mufla, sendo submetidas a seguinte rampa de aquecimento (Tabela 5.1).

Tabela 5.1. Rampa de aquecimento da mufla para queima das amostras de planta na decomposição por via seca 1 (SILVA, 1999).

Tempo (min)	Temperatura (°C)
30	100
120	200
30	300
120	400
180	520

Terminada a queima, as amostras foram retiradas da mufla e resfriadas à temperatura ambiente. Dissolveu-se as cinzas com 10,0 mL de HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> e, finalmente, os extratos foram levados para determinação em ICP OES e pelo método da azometina-H.

### 5.1.2. Decomposição por radiação microondas

Aproximadamente 200 mg de amostra de planta foram pesadas diretamente nos frascos de PTFE. Em seguida, foram adicionados 3,0 mL de HNO<sub>3</sub> 7 mol L<sup>-1</sup> e 2,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 % (m/v) em cada frasco. A escolha do HNO<sub>3</sub> se deve à sua característica oxidante e seu grau de pureza, sendo o peróxido de hidrogênio um agente oxidante auxiliar.

Após a adição dos reagentes, os frascos foram fechados e aquecidos pelo programa de aquecimento descrito na Tabela 5.2.

Tabela 5.2. Programa de aquecimento usado no forno com radiação microondas (Multiwave Anton Paar) com frascos fechados de PTFE para as amostras de Girassol.

Etapa	Potência (W)	Tempo (min)
1	291	2
2	0	3
3	640	4
4	872	5
5	1000	5
6 (vent.)	0	15

Finalizado o programa de decomposição, os frascos foram retirados do carrossel e as amostras transferidas para tubos de polietileno, sendo seus volumes ajustados com água ultra pura para 10 mL. Em seguida, as amostras foram levadas para a determinação em ICP OES e pelo método da azometina-H. Todo processo de decomposição pode ser acompanhado pelo esquema demonstrado na Figura 5.1.

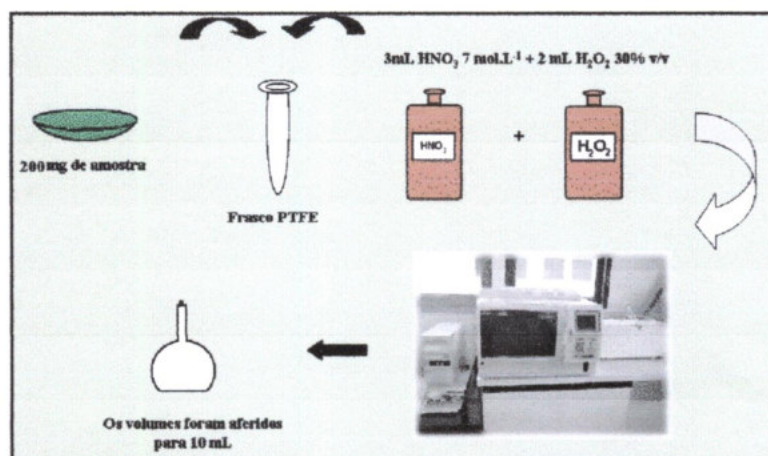


Figura 5.1. Diagrama esquemático do preparo de amostras de Girassol em microondas.

### 5.1.3. Determinação pelo método da azometina-H

Foram preparadas duas curvas de calibração utilizando soluções padrões com concentrações de 0 a 2 mg L<sup>-1</sup> de B. Uma solução foi preparada em meio HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, para determinação das amostras decompostas por via seca, e a outra solução em meio de HNO<sub>3</sub> 7 mol L<sup>-1</sup>, para determinação das amostras decompostas em microondas.

As soluções de azometina-H foram sempre preparadas no dia das determinações. Utilizou-se para as determinações uma solução de azometina-H 0,45 % m/v em meio de ácido ascórbico 2 % m/v.

Para garantir que o pH do meio estivesse em torno de 7,5, utilizou-se uma solução tampão acetato de amônio/ácido acético. A adição da solução tampão acetato de amônio-ácido acético, tem a finalidade de se manter o pH da solução próximo a 7,5, visto que a acidez pode influenciar na reação de condensação que forma a azometina-H. Nessa solução tampão, foi também adicionado o Na<sub>2</sub>EDTA com a finalidade de complexar íons interferentes (BASSON et al., 1969).

Para a determinação do método da azometina-H, são adicionados 1 mL da solução tampão acetato de amônio-ácido acético e 1 mL da solução de azometina-H 0,45 % m/v em 1 mL de todas as amostras, incluindo as soluções padrão (CAPELLE, 1965).

A reação alcança seu máximo de formação após 30 minutos da adição dos reagentes. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (vis) a 420 nm.

#### **5.1.4. Determinação por ICP OES**

Para a determinação em ICP OES, também foram preparadas duas curvas de calibração utilizando soluções padrão com concentrações de 0 a 2 mg L<sup>-1</sup> de B. Uma solução foi preparada em meio HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, para determinação das amostras decompostas por via seca, e a outra solução em meio de HNO<sub>3</sub> 7 mol L<sup>-1</sup>, para determinação das amostras decompostas em microondas.

Na tabela 5.3 encontram-se as condições de operação do equipamento.

Tabela 5.3. Condições operacionais do ICP OES para determinação de B nas amostras de girassol.

Gerador de frequência (MHz)	40
Modo de observação	Radial
Altura de observação (nm)	8
Sistema de difração	Policromador Littrow com grade Echelle
Detector	Dispositivo de carga acoplada (CCD)
Potência de radiofrequência (kW)	1,3
Nebulizador	V- Groove
Câmara de nebulização	Sturman Máster
Vazão do gás de geração do plasma (L.min)	15
Vazão do gás auxiliar (L.min)	1,5
Vazão do gás de nebulização (L.min)	0,6
Replicatas	3
Tempo de integração (s)	10
Elementos e comprimentos de onda (nm)	B (249,678) B (249,772)

## 5.2. EXTRAÇÃO DO B DOS SOLOS

### 5.2.1. Extração pelo método da água quente

Aproximadamente 20 g de amostras de solo foram pesadas em béqueres juntamente com 0,5 g de carvão ativado e adicionados 40 mL de água ultra pura. As amostras foram levadas para uma chapa de aquecimento condutivo e submetidas a aquecimento sob refluxo por 5 minutos. Após o resfriamento, as amostras foram filtradas e adicionados 1 mL da solução de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (BERGER & TROUG, 1939).

## 5.2.2. Extração de B por radiação microondas

### Calibração do forno de microondas “caseiro” (KRUG, 2000)

Antes das extrações do B dos solos empregando radiação microondas como fonte de aquecimento, foi feita a calibração do aparelho como descrita por KRUG (2000):

- Adicionou-se em um béquer 1 kg de água e anotou-se a temperatura inicial ( $T_i$ ).
- O béquer (coberto) foi levado ao forno de microondas “caseiro” e aquecido durante 2 min à potência indicada como máxima (100%).
- Terminado o aquecimento, agitou-se vigorosamente a água e registrou-se a temperatura ( $T_f$ ).
- A água foi substituída por outra a temperatura ambiente e o mesmo procedimento foi repedido para 80, 60, 40 e 20% de potência.

A potência foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$P = \frac{K C_p m \Delta T}{t}$$

Onde:

$P$  = potência aparente absorvida pela amostra ( $W = \text{joule s}^{-1}$ )

$K$  = fator de conversão:  $\text{cal/s} = W$  (4,184  $W.s/\text{cal}$ )

$C_p$  = capacidade calorífica, capacidade térmica ou calor específico (1,00  $\text{cal/g}^\circ\text{C}$ )

$m$  = massa da amostra de água (g)

$\Delta T$  = temperatura final menos temperatura inicial ( $^\circ\text{C}$ )

$T$  = tempo (s)

## Procedimento de Extração

Aproximadamente 10 g de amostras de solo foram pesadas em saquinhos de polipropileno, juntamente com 0,5 g de carvão ativado e adicionados 20 mL de uma solução de  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$   $1,25 \text{ g L}^{-1}$ . Com o auxílio de uma seladora, vedou-se os saquinhos e fez-se pequenos furos com uma agulha, para redução da pressão durante o aquecimento (ABREU et al., 1994).

Pendurou-se os saquinhos em uma prateleira, própria para uso em microondas, e realizou-se procedimentos de extração, no aparelho de microondas “caseiro”, segundo as condições indicadas na Tabela 5.4.

Tabela 5.4. Condições de potência e tempo para a extração de B nos solos com o aparelho de microondas caseiro (ABREU et al., 1994).

<b>Procedimento de extração</b>		
<b>Potência (W)</b>	700	490
<b>Tempo (min)</b>	4	5

Testou-se também as seguintes condições de aquecimento (Tabela 5.5).

Tabela 5.5. Condições otimizadas de potência e tempo para a extração em microondas.

<b>Procedimento de extração 2</b>		
<b>Potência (W)</b>	490	140
<b>Tempo (min)</b>	10	5
<b>Procedimento de extração 3</b>		
<b>Potência (W)</b>	140	70
<b>Tempo (min)</b>	15	15

As melhores condições de extração foram observadas no procedimento 3, sendo este o adotado para o aquecimento.

Após o aquecimento, as amostras foram filtradas e submetidas à determinação em ICP OES e pelo método colorimétrico da azometina-H.

### **5.2.3. Extração de B com sistema para aquecimento de água sob pressurização em forno de microondas “caseiro”**

Procurando-se realizar novos testes utilizando as radiações microondas como fonte de aquecimento, adaptações foram feitas no método proposto por Abreu et al. (1998).

Uma tentativa foi pesar aproximadamente 10 g de amostras de solo em saquinhos de tecido nylon, juntamente com 0,5 g de carvão ativado. Num recipiente próprio, foram adicionados 30 mL de uma solução de  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$   $1,25 \text{ g L}^{-1}$ , montou-se um sistema de pressurização e realizou-se o aquecimento em microondas caseiro, como mostrado na Figura 5.2.

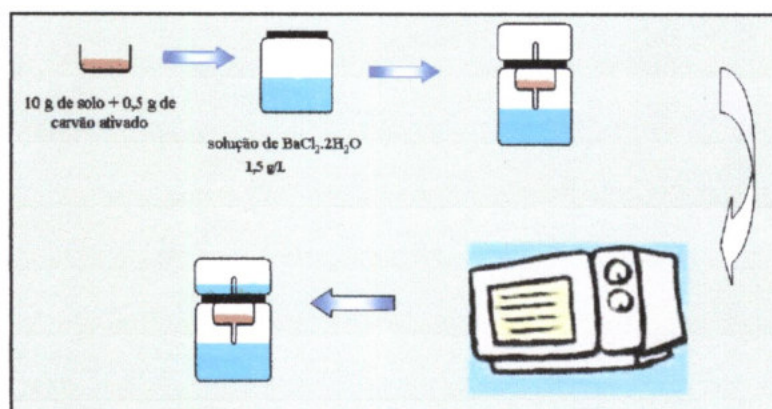


Figura 5.2. Diagrama esquemático da extração do B em forno com radiação microondas empregando sistema de pressurização.

O sistema de aquecimento sob pressurização utiliza o mesmo princípio da cafeteira “italiana”, pela Figura 5.3 é possível observar o funcionamento do sistema de extração utilizado no aparelho de microondas. A incidência das radiações microondas sobre a solução de cloreto de bário, provocam um aumento da temperatura local e conseqüentemente um aumento da pressão, fazendo com que todo o líquido seja transferido para o recipiente superior, passando pela solução do solo.

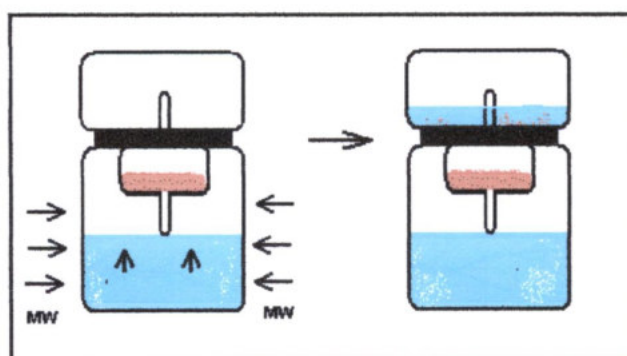


Figura 5.3. Diagrama esquemático do funcionamento do sistema de aquecimento de água sob pressurização na extração com radiação microondas.

As condições de potência e tempo de aquecimento foram otimizadas, e adotou-se as condições demonstradas na Tabela 5.6.

Tabela 5.6. Condições de potência e tempo empregadas na extração de B do solo com a solução de cloreto de bário em forno de radiação microondas caseiro com sistema de aquecimento de água sob pressurização.

Potência (W)	170
Tempo (min)	3

#### 5.2.4. Extração de B com sistema elétrico para aquecimento de água sob pressurização

Pesou-se 10 g de amostras de solos em saquinhos de tecido nylon juntamente com 0,5 g de carvão ativado. Utilizando um sistema de aquecimento sob pressurização da marca Expresso Duo Walita, realizou-se a extração com água segundo o esquema demonstrado no digrama da Figura 5.4.

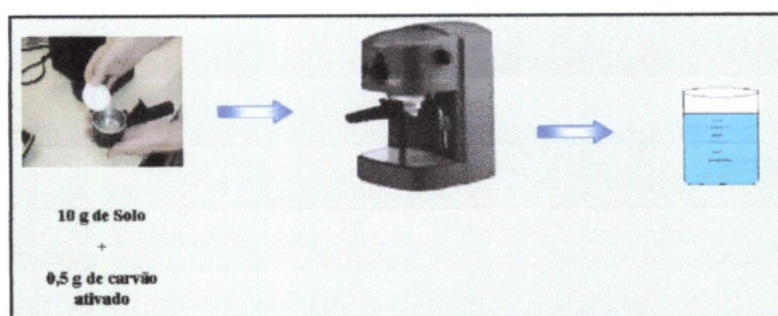


Figura 5.4. Diagrama esquemático da extração de B do solo pelo método do sistema elétrico de aquecimento sob pressurização.

Através da Figura 5.5, é possível observar o processo de extração empregando o sistema elétrico de aquecimento sob pressurização. A água é adicionada a um reservatório fechado e submetida ao aquecimento. O vapor de água formado é lançado para fora do recipiente devido a alta pressão formada, passando pela amostra de solo, sendo o extrato recolhido em um béquer.

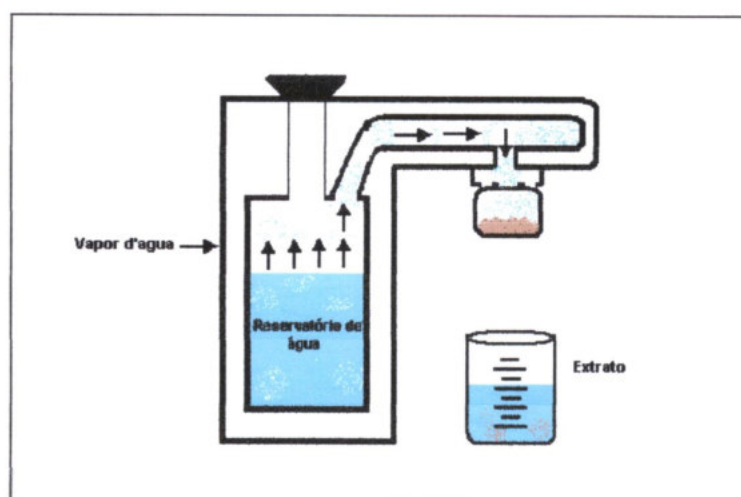


Figura 5.5. Diagrama esquemático do funcionamento da extração com sistema de aquecimento sob pressurização elétrica.

Após resfriamento adicionou-se às amostras 1 mL de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ .

### 5.2.5. Extração pelo método Mehlich 1 (Silva, 1999)

Aproximadamente 5 g de amostras de solo foram pesadas em diretamente em béqueres, adicionados 25 mL de solução extratora duplo-ácida ( $\text{HCl}$  0,05 mol  $\text{L}^{-1}$  +  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,0125 mol  $\text{L}^{-1}$ ). A mistura foi agitada por 5 min em agitador horizontal circular e deixada decantando por uma noite (Silva, 1999).

Filtrou-se as amostras e levou-se os extratos para determinação em ICP OES e pelo método da azometina-H.

### **5.2.6. Extração com HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>**

Aproximadamente 10 g de amostras de solo foram pesadas em diretamente béqueres e adicionados 20 mL de uma solução de HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>. A mistura foi agitada por 5 min em agitador horizontal circular e filtradas (FERREIRA et al., 2002).

### **5.2.7. Determinação pelo método da azometina-H**

Foram preparadas curvas de calibração utilizando soluções padrões com concentrações de 0 a 1 mg mL<sup>-1</sup> de B. As soluções foram preparadas em água ultra pura, BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 1,25 g L<sup>-1</sup>, HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup> e solução duplo-ácida (HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup> + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,0125 mol L<sup>-1</sup>), de acordo com cada extração executada.

As soluções de azometina-H foram sempre preparadas no dia das determinações. Utilizou-se para as determinações uma solução de azometina-H 0,9 % m/v em meio ácido ascórbico 2 % m/v.

Para a determinação do método da azometina-H, às alíquotas de 4 ml de todas as amostras, incluindo as soluções padrão, são adicionados 1 mL da solução tampão acetato de amônio-ácido acético e 1 mL da solução de azometina-H 0,9 % m/v (CAPELLE, 1965).

A reação alcança seu máximo de formação após 30 min da adição dos reagentes. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (vis) no comprimento de onda de 420 nm.

### **5.2.8. Determinação por ICP OES**

Para a determinação em ICP OES, também foram preparadas curvas de calibração utilizando soluções padrão com concentrações de 0 a 1 mg mL<sup>-1</sup> de B. As soluções foram preparadas em água ultra pura, BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 1,25 g L<sup>-1</sup>, HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup> e solução duplo-ácida (HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup> + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,0125 mol L<sup>-1</sup>), de acordo com cada extração executada. As condições de operação foram as mesmas utilizadas nas determinações do B nas plantas (Tabela 5.3).

### **5.3. Confirmação dos níveis de confiança pelo “teste t”**

Obtidos os resultados de todas as análises, os dados foram submetidos ao “teste t de Student” a 95% para confirmação dos níveis de confiança na comparação das diferenças individuais entre dois métodos (HARRIS, 1999).

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

## **6. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **6.1. DECOMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS DE PLANTA**

#### **6.1.1. Decomposição por via seca**

As concentrações de B nos extratos obtidos na decomposição por via seca das amostras de semente de girassol, plantas cultivadas em casa de vegetação e da amostra certificada Apple Leaves – NIST SRM 1515, foram determinadas pelos métodos colorimétrico (azometina-H) e espectroscópico (ICP OES) e os resultados são apresentados Tabela 6.1.

Os dois métodos de determinação apresentaram resultados próximos entre si, sendo observada uma recuperação de cerca de 7% maior para as determinações por ICP OES. É possível afirmar, por intermédio do teste “t” para comparação das diferenças individuais entre os dois métodos de determinação, que as diferenças entre os dois resultados não foram significativas no nível de 95% de confiança.

Os extratos obtidos nas decomposições por via seca se encontravam límpidos, sem a presença de coloração. Desta forma, não foi necessária a utilização de carvão ativado, como sugerida por CORREA et al. (1985), para minimizar as interferências na determinação pelo método da azometina-H.

Observa-se ainda a resposta crescente das concentrações de B nos padrões, confirmando assim a absorção pelas plantas de acordo com as concentrações aplicadas.

Tabela 6.1. Concentrações de B nas plantas de girassol decompostas por via seca. Determinação por Azometina-H e por ICP OES. Os padrões referem-se às repetições dos tratamentos descritos na Tabela 4.1. (n=3)

Amostra	Concentração de B ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{sd}$ )	
	Azometina-H	ICP OES
Apple Leaves*	23,17 $\pm$ 0,015	24,54 $\pm$ 0,087
Sementes de girassol	3,09 $\pm$ 0,337	4,21 $\pm$ 0,219
Testemunho 1	5,08 $\pm$ 0,339	6,89 $\pm$ 0,081
Testemunho 2	5,25 $\pm$ 0,025	6,67 $\pm$ 0,055
Testemunho 3	6,13 $\pm$ 0,014	6,39 $\pm$ 0,029
Padrão 1.1	8,19 $\pm$ 0,008	9,46 $\pm$ 0,041
Padrão 1.2	8,23 $\pm$ 0,012	9,12 $\pm$ 0,061
Padrão 1.3	9,23 $\pm$ 0,097	8,89 $\pm$ 0,045
Padrão 2.1	11,17 $\pm$ 0,031	11,87 $\pm$ 0,062
Padrão 2.2	11,81 $\pm$ 0,002	11,59 $\pm$ 0,056
Padrão 2.3	11,25 $\pm$ 0,007	11,91 $\pm$ 0,032
Padrão 3.1	13,14 $\pm$ 0,015	13,10 $\pm$ 0,082
Padrão 3.2	12,06 $\pm$ 0,004	13,23 $\pm$ 0,042
Padrão 3.3	12,40 $\pm$ 0,002	14,14 $\pm$ 0,126
Padrão 4.1	14,35 $\pm$ 0,041	15,02 $\pm$ 0,411
Padrão 4.2	13,36 $\pm$ 0,021	13,97 $\pm$ 0,033
Padrão 4.3	13,37 $\pm$ 0,010	14,22 $\pm$ 0,024

\* valor de referência certificado: 27  $\mu\text{g/g}$  de B

Para uma análise mais detalhada da absorção do B pelas plantas, foram calculadas as médias das concentrações dos padrões que receberam quantidades iguais de B, segundo o esquema da Figura 6.1.

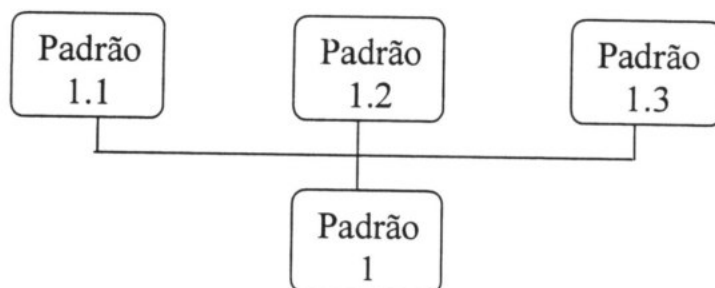


Figura 6.1: Cálculo da média dos padrões de planta .

O mesmo tratamento foi adotado para os demais padrões, e os resultados encontram-se na Tabela 6.2.

Tabela 6.2. Concentração média de B presente nos padrões das plantas de girassol decompostas por via seca e determinação por azometina-H e ICP OES. (n=3)

Amostra	Concentração de B ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{sd}$ )	
	Azometina-H	ICP OES
Testemunho	$5,49 \pm 0,56$	$6,65 \pm 0,25$
Padrão 1	$8,57 \pm 0,58$	$9,16 \pm 0,29$
Padrão 2	$11,41 \pm 0,35$	$11,79 \pm 0,17$
Padrão 3	$12,53 \pm 0,55$	$13,49 \pm 0,57$
Padrão 4	$13,86 \pm 0,49$	$14,40 \pm 0,55$

Através da Figura 6.2, é possível se acompanhar a tendência de absorção do B pelas plantas, em função da concentração padrão aplicada.

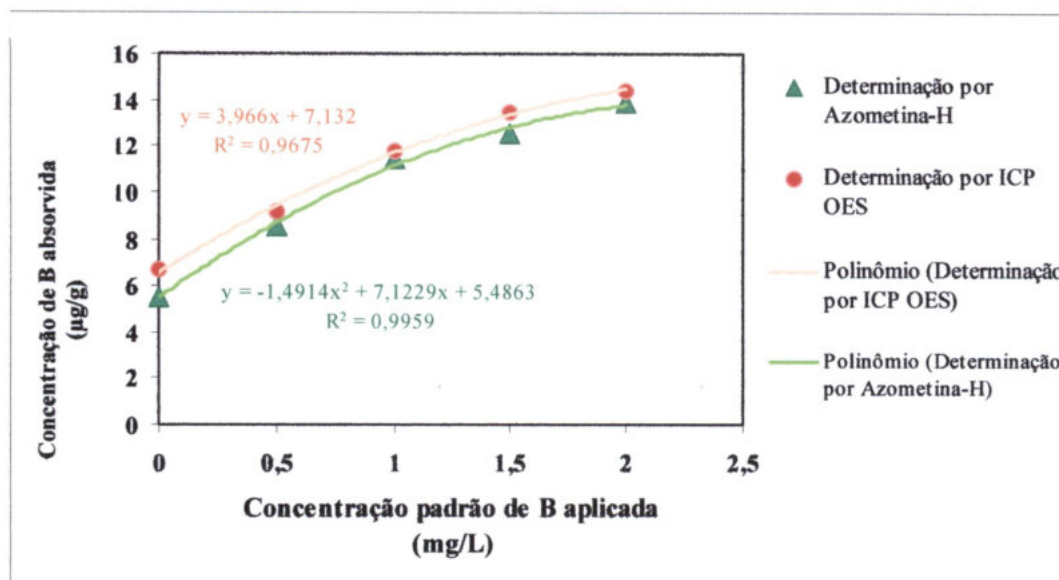


Figura 6.2: Concentração de B em função da concentração padrão aplicada no solo.

A resposta de absorção do B aplicado pode ser atribuída a baixa concentração inicial deste elemento no solo. Como os níveis estavam deficientes, o B aplicado era imediatamente absorvido. A faixa de concentração definida para se aplicar o B nas plantas, a princípio, era de 0 a 5 mg L<sup>-1</sup>. Valores superiores possivelmente provocariam uma saturação do B nas plantas, já que alcançariam níveis tóxicos, segundo SILVA e FERREYRA (1998), porém as condições da planta levaram a um encerramento do experimento quando se alcançou a aplicação de 2 mg L<sup>-1</sup>. De um modo geral, todas as plantas apresentaram baixo desenvolvimento, considerando que o experimento foi realizado durante o inverno, período não indicado para seu cultivo.

Foram calculadas ainda as porcentagens de recuperação do B, levando-se em consideração a amostra com valor de referência (Apple Leaves – NIST SRM

1515) que contém  $27 \mu\text{g g}^{-1}$  de B. Na Tabela 6.3 é possível observar que a recuperação foi próxima a 86% para a decomposição por via seca e determinação pelo método da azometina-H de cerca de 91% quando a mesma amostra foi determinada por ICP OES.

Tabela 6.3. Porcentagem de recuperação do B para a decomposição por via seca e determinação por azometina-H e ICP OES.

<b>Método de decomposição</b>	<b>Método de determinação</b>	<b>Concentração de B</b> <b>(<math>\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{sd}</math>)</b>	<b>Porcentagem recuperada</b> <b>(%)</b>
Via Seca	Azometina-H	$23,17 \pm 0,015$	85,81
	ICP OES	$24,54 \pm 0,570$	90,89

### 6.1.2. Decomposição por radiação microondas

Na Tabela 6.4 encontram-se descritos os teores de B nos extratos obtidos após a decomposição por radiação microondas das amostras de semente de girassol, plantas cultivadas em casa de vegetação e da amostra certificada (Apple Leaves – NIST SRM 1515) determinadas pelo método da azometina-H e por ICP OES.

Assim como nos extratos obtidos após a decomposição por via seca, os extratos das amostras obtidas por radiação microondas encontravam-se límpidos, sem presença de coloração. Desta forma, neste caso também não foi utilizado carvão ativado.

A recuperação do B presente nas amostras de plantas decompostas por radiação microondas foi mais eficiente na determinação por ICP OES, cerca de 9%

maior que a recuperação obtida na determinação pelo método da azometina-H. Os dois métodos de determinação apresentam correlação entre si no nível de 95% de confiança.

Tabela 6.4. Concentrações de B nas plantas de girassol decompostos por radiação microondas. Determinação por azometina-H e por ICP OES. Os padrões referem-se às repetições dos tratamentos descritos na Tabela 4.1. (n=3)

Amostra	Concentração de B ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{sd}$ )	
	Azometina-H	ICP OES
Apple Leaves	24,21 $\pm$ 0,060	28,21 $\pm$ 0,006
Sementes	4,36 $\pm$ 0,011	5,55 $\pm$ 0,015
Testemunho 1	6,93 $\pm$ 0,002	7,67 $\pm$ 0,019
Testemunho 2	6,79 $\pm$ 0,030	7,16 $\pm$ 0,017
Testemunho 3	6,91 $\pm$ 0,006	6,99 $\pm$ 0,016
Padrão 1.1	8,15 $\pm$ 0,054	9,80 $\pm$ 0,006
Padrão 1.2	9,06 $\pm$ 0,260	10,28 $\pm$ 0,031
Padrão 1.3	9,65 $\pm$ 0,450	10,60 $\pm$ 0,006
Padrão 2.1	11,39 $\pm$ 0,650	12,13 $\pm$ 0,012
Padrão 2.2	11,07 $\pm$ 0,780	12,70 $\pm$ 0,057
Padrão 2.3	12,03 $\pm$ 0,870	13,36 $\pm$ 0,012
Padrão 3.1	13,40 $\pm$ 0,630	14,17 $\pm$ 0,011
Padrão 3.2	14,12 $\pm$ 0,002	13,41 $\pm$ 0,007
Padrão 3.3	13,20 $\pm$ 0,056	14,84 $\pm$ 0,034
Padrão 4.1	14,01 $\pm$ 0,077	14,43 $\pm$ 0,040
Padrão 4.2	14,32 $\pm$ 0,030	16,42 $\pm$ 0,155
Padrão 4.3	14,30 $\pm$ 0,900	14,73 $\pm$ 0,095

\* valor de referência certificado: 27  $\mu\text{g g}^{-1}$  de B

A decomposição por radiação microondas comprovou a tendência de absorção do B pelas plantas como observada na decomposição por via seca. Foram calculadas as médias de recuperação do B entre os padrões (Tabela 6.5), seguindo o mesmo procedimento demonstrado na Figura 6.1.

Tabela 6.5. Concentração média de B presente nos padrões dos extratos vegetais do girassol decompostos por radiação microondas e determinadas por azometina-H e ICP OES. (n=3)

Amostra	Concentração de B ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{sd}$ )	
	Azometina-H	ICP OES
Testemunho	$6,88 \pm 0,08$	$7,27 \pm 0,35$
Padrão 1	$8,95 \pm 0,75$	$10,23 \pm 0,40$
Padrão 2	$11,49 \pm 0,49$	$12,73 \pm 0,61$
Padrão 3	$13,57 \pm 0,48$	$14,04 \pm 0,58$
Padrão 4	$14,24 \pm 0,12$	$15,19 \pm 1,07$

A Figura 6.3, confirma a tendência crescente de absorção do B pelas plantas, como na decomposição por via seca.

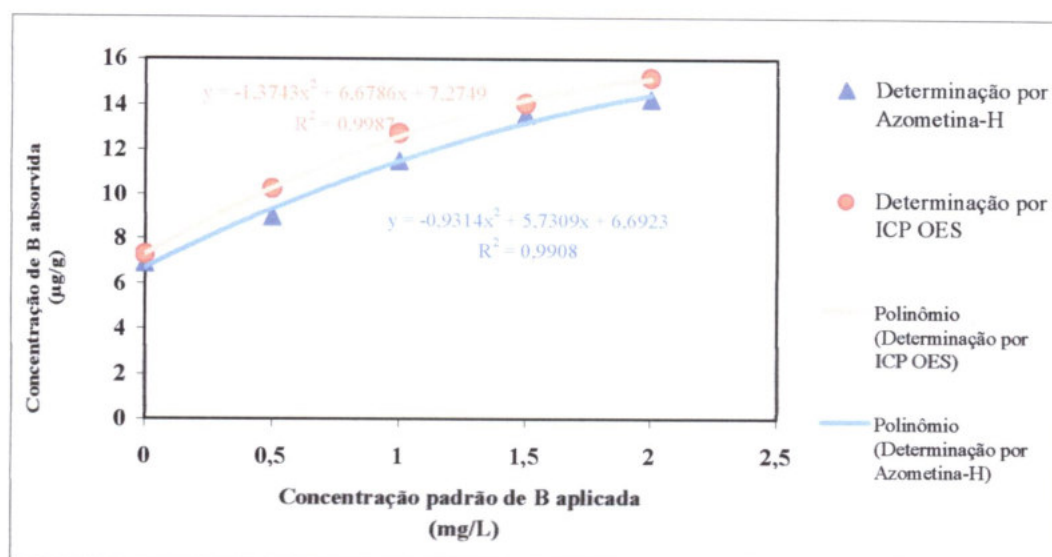


Figura 6.3. Concentração de B nas plantas em função da concentração no solo.

Foram calculadas ainda, as porcentagens de recuperação do B, considerando-se a amostra com valor de referência (Apple Leaves – NIST SRM 1515) com  $27 \mu\text{g g}^{-1}$  de B. Na Tabela 6.6 é possível observar que a recuperação foi próxima a 90% para a determinação pelo método da azometina-H, e de cerca de 104% quando a mesma amostra foi determinada por ICP OES.

Tabela 6.6. Porcentagem de recuperação do B para a decomposição por radiação microondas e determinação por azometina-H e ICP OES.

Método de decomposição	Método de determinação	Concentração de B ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{sd}$ )	Porcentagem recuperada (%)
Microondas	Azometina-H	$24,21 \pm 0,060$	89,67
	ICP OES	$28,21 \pm 0,006$	104,48

### 6.1.3. Comparação entre os métodos de decomposição

Os dois métodos de decomposição apresentaram resultados satisfatórios, já que as recuperações ficaram bem próximas a 100%, tomando-se como base a amostra com valor certificado (Apple Leaves – NIST SRM 1515).

A Figura 6.4 mostra os resultados da extração de B pelos métodos de decomposição por via seca e decomposição com radiação microondas, determinados por azometina-H, nas plantas com diferentes doses de B no solo.

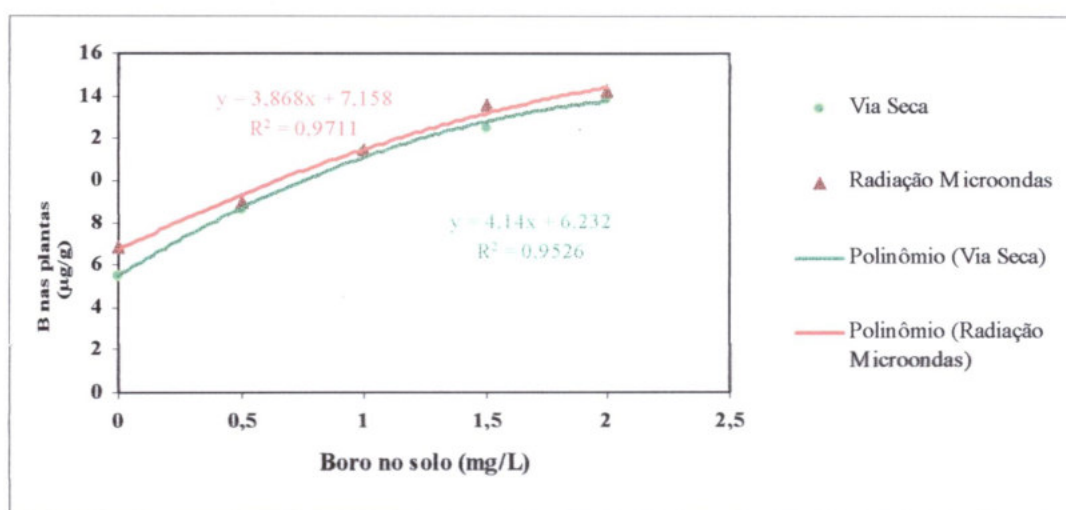


Figura 6.4. Concentração de B nas plantas em função dos teores aplicados ao solo em amostras decompostas por via seca e por radiação microondas, determinadas por azometina-H.

Na Figura 6.5 são apresentados os resultados da extração de B pelos métodos de decomposição por via seca e por radiação microondas, determinados por ICP OES

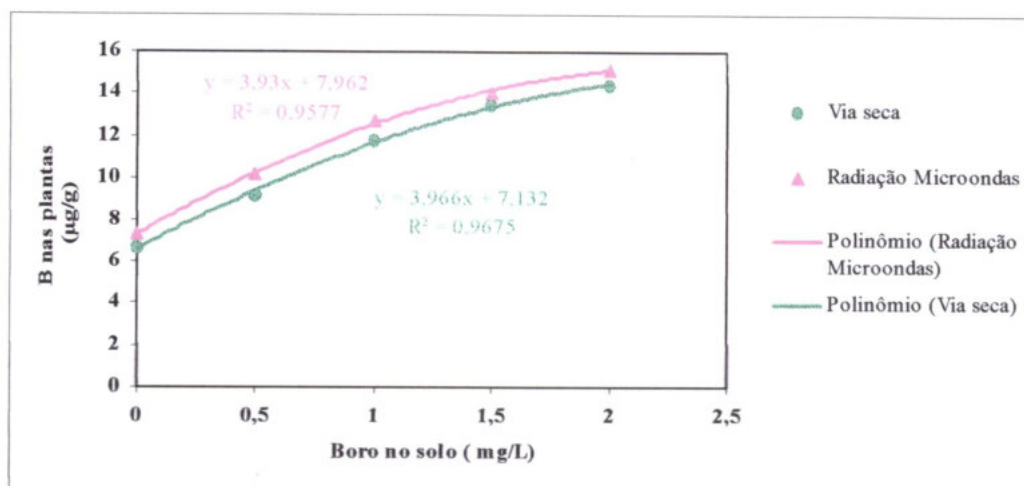


Figura 6.5. Concentração de B nas plantas em função dos teores aplicados ao solo em amostras decompostas por via seca e por radiação microondas, determinadas por ICP OES.

Pela Figura 6.6 é possível se fazer uma comparação entre os dois procedimentos de preparo das amostras. Os resultados indicam que não houve diferenças significativas entre os métodos de decomposição com um nível de confiança de 95% (teste "t"). Desta forma, pode-se afirmar que ambos extraíram frações relativamente iguais de B em amostras de girassol, valores confirmados pelos dois métodos de determinação.

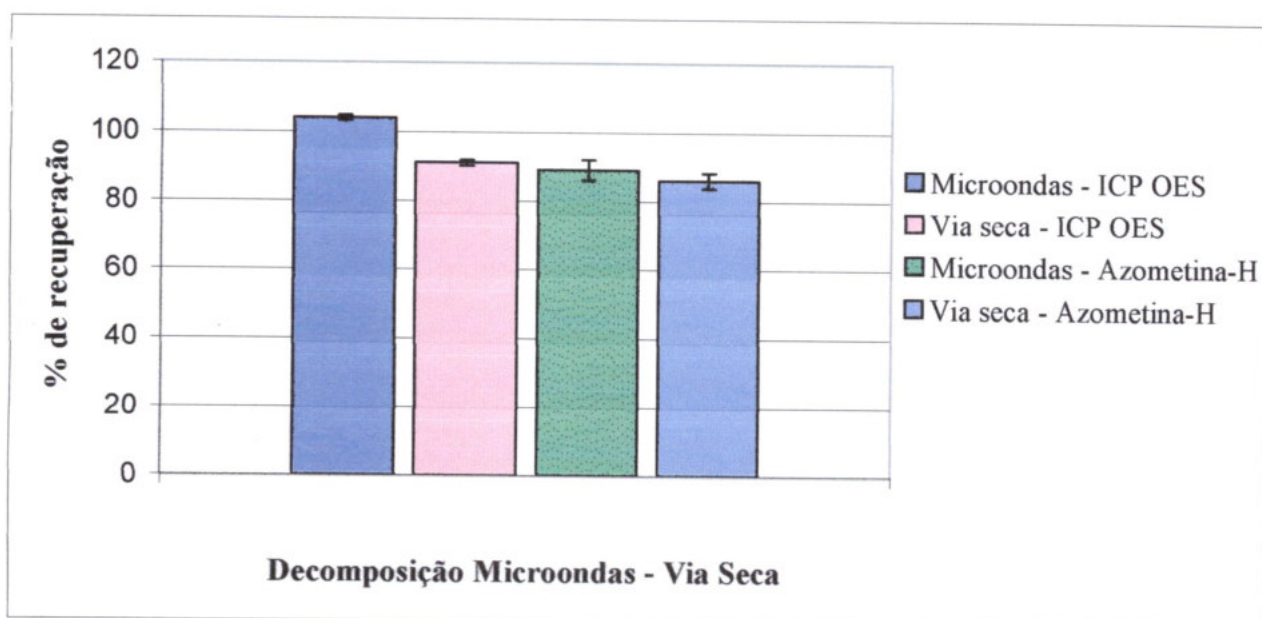


Figura 6.6. Porcentagem de recuperação do B nas decomposições por via seca e radiação microondas nas determinações por azometina-H e ICP OES.

A decomposição empregando a radiação microondas oferece vantagens, quando comparada com a mufla, como o menor tempo de preparo, maior controle de temperatura e, por ser em sistema fechado, evita perdas por volatilização. Por outro lado, os elevados preços do forno de microondas e de seus acessórios se apresentam como uma desvantagem.

Na tabela 6.7 são comparados parâmetros como tempo de decomposição, número de amostras que podem ser decompostas por vez, tipo e volume de reagentes e equipamentos necessários para os ambos procedimentos.

Tabela 6.7. Comparação de alguns parâmetros entre as decomposições por via seca e por radiação microondas.

	Via Seca	Radiação microondas
<b>Tempo de processamento</b>	8 h	29 min
<b>Número de amostras por decomposição</b>	24	8
<b>Reagentes (tipo e volume por amostra)</b>	10 mL HCl 0,1 mol L <sup>-1</sup>	3 mL HNO <sub>3</sub> 7 mol L <sup>-1</sup> 2 mL H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 30% m/v
<b>Equipamentos requeridos</b>	Mufla Cadinho de porcelana	Forno de Microondas com cavidade Tubos de PTFE

## 6.2. EXTRAÇÕES NO SOLO

### 6.2.1. Características químicas do solo

As análises químicas, físicas e mineralógicas do solo utilizado no estudo foram realizadas no Laboratório de Solos da Embrapa Pecuária Sudeste e encontram-se na Tabela 6.8.

Tabela 6.8. Características químicas, físicas e mineralógicas do solo.

pH em água	5,8
pH em CaCl <sub>2</sub>	5,3
Matéria Orgânica ( g dm <sup>-3</sup> )	15
P Resina (mg dm <sup>-3</sup> )	27
K (mmol dm <sup>-3</sup> )	0,2
Ca (mmol dm <sup>-3</sup> )	26
Mg (mmol dm <sup>-3</sup> )	8
H+Al (mmol dm <sup>-3</sup> )	28
Al (mmol dm <sup>-3</sup> )	0
CTC (mmol dm <sup>-3</sup> )	63
S (mmol dm <sup>-3</sup> )	35
V (%)	56
(Ca+Mg)/K	173
S-SO <sub>4</sub> (mg dm <sup>-3</sup> )	11
B (mg dm <sup>-3</sup> )	0,24
Cu (mg dm <sup>-3</sup> )	6,2
Fe (mg dm <sup>-3</sup> )	10
Mn (mg dm <sup>-3</sup> )	12,2
Zn (mg dm <sup>-3</sup> )	0,4
Silte (g kg <sup>-1</sup> )	182
Argila (g kg <sup>-1</sup> )	687
Areia (g kg <sup>-1</sup> )	131

A extração do Ca, P e K foi feita pelo método da resina trocadora de íons e suas determinações feitas por FAAS, FIA e fotômetro de chama respectivamente. A extração do Zn, Cu, Fe e Mn foi feita pelo método do DTPA e a determinação em FAAS.

A concentração original de B presente no solo, antes que qualquer adição, era de  $0,24 \text{ mg dm}^{-3}$ . O método empregado para essa determinação foi o da azometina-H em extratos obtidos pelo método da água quente. Segundo LINDSAY & COX (1985), esse solo pode ser considerado deficiente em B, já que possui um nível inferior a  $0,3 \text{ mg dm}^{-3}$  de B.

### **6.2.2. Extração pelo método da água quente**

Na tabela 6.9, encontram-se as concentrações de B disponíveis no solo obtidas pelo método de extração da água quente e analisadas pelo método da azometina-H e por ICP OES. Os dois métodos de determinação não apresentaram diferenças significativas em nível de 95% de confiança.

Comparando com os teores de B no solo antes do experimento (Tabela 6.8), houve aumento para todas as amostras, inclusive para o solo utilizado como testemunho. Como o testemunho não recebeu adição do elemento, possivelmente, esse aumento se deva à liberação do B retido pela matéria orgânica presente no solo.

As recuperações do B disponível nas amostras IAC 226, 227 e 233 apresentaram valores próximos aos máximos de referência (Tabela 4.3).

A eficiência das extrações foi calculada tomando-se como base os valores médios de referência. É importante salientar que o intervalo entre os valores mínimos e máximos de referência é relativamente alto. Por isso, torna-se válido

executar diferentes métodos de extração para comparar a eficiência de cada um dentro deste intervalo de referência.

Tabela 6.9. Concentrações de B disponíveis no solo extraídas pelo método da água quente e determinadas pelo método da azometina-H e por ICP OES. As amostras referem-se ao experimento descrito na Tabela 4.1. (n=3)

Amostra	Concentração de B (mg dm <sup>-3</sup> ± sd)	
	Azometina-H	ICP OES
IAC 226*	0,322 ± 0,02	0,307 ± 0,02
IAC 227**	0,211 ± 0,04	0,198 ± 0,04
IAC 233***	0,384 ± 0,06	0,363 ± 0,01
Testemunho 1	0,337 ± 0,01	0,382 ± 0,03
Testemunho 2	0,398 ± 0,07	0,326 ± 0,06
Testemunho 3	0,371 ± 0,01	0,348 ± 0,09
Padrão 1.1	0,473 ± 0,01	0,403 ± 0,11
Padrão 1.2	0,504 ± 0,07	0,432 ± 0,02
Padrão 1.3	0,441 ± 0,04	0,512 ± 0,03
Padrão 2.1	0,524 ± 0,04	0,459 ± 0,01
Padrão 2.2	0,599 ± 0,07	0,557 ± 0,03
Padrão 2.3	0,523 ± 0,05	0,516 ± 0,02
Padrão 3.1	0,597 ± 0,01	0,544 ± 0,05
Padrão 3.2	0,741 ± 0,02	0,649 ± 0,06
Padrão 3.3	0,640 ± 0,04	0,687 ± 0,02
Padrão 4.1	0,711 ± 0,01	0,635 ± 0,01
Padrão 4.2	0,687 ± 0,03	0,606 ± 0,03
Padrão 4.3	0,745 ± 0,01	0,707 ± 0,01

Valor de referência certificado (mg dm<sup>-3</sup>): \*mínimo = 0,16, médio = 0,23, máximo = 0,30;

\*\*mínimo = 0,09, médio = 0,14, máximo = 0,20;

\*\*\*mínimo = 0,19, médio = 0,30, máximo=0,42.

As porcentagens de recuperação do B, em termos do valor de referência certificado, nos solos das amostras do IAC foram bem acima de 100% para as três amostras quando comparados aos níveis médios de referência. Levando em conta os níveis máximos de recuperação de referência, os valores ficaram próximos de 100% para as amostras IAC 226 e 277 e de 90% para a amostra IAC 233.

### **6.2.3. Extração de B por radiação microondas**

A extração utilizando o programa de aquecimento (Tabela 5.4), proposta por ABREU et al. (1994), apresentou problemas durante o aquecimento, já que os saquinhos se rompiam dentro do forno microondas, devido às altas pressões formadas em seu interior. A dificuldade para a execução do aquecimento pode ser devida às diferentes configurações do forno de microondas caseiro, demonstrando a importância de se realizar a calibração do aparelho antes do início do experimento.

Foram feitos experimentos procurando ajustar as melhores condições de aquecimento para o aparelho disponível no laboratório, chegando-se a um aquecimento em duas etapas: potência de 140 W durante 15 minutos e 70 W por 15 minutos.

Otimizadas as condições, processou-se as extrações, sendo os extratos determinados por azometina-H e ICP OES. os resultados encontram-se na Tabela 6.10.

Tabela 6.10. Concentrações de B disponíveis no solo extraídas por radiação microondas e determinadas pelo método da azometina-H e por ICP OES. As amostras referem-se ao experimento descrito na Tabela 4.1. (n=3)

Amostra	Concentração de B (mg dm <sup>-3</sup> ± sd)	
	Azometina-H	ICP OES
IAC 226*	0,263 ± 0,01	0,241 ± 0,06
IAC 227**	0,187 ± 0,02	0,151 ± 0,01
IAC 233***	0,361 ± 0,03	0,343 ± 0,01
Testemunho 1	0,309 ± 0,05	0,301 ± 0,05
Testemunho 2	0,327 ± 0,01	0,299 ± 0,01
Testemunho 3	0,334 ± 0,01	0,308 ± 0,05
Padrão 1.1	0,411 ± 0,02	0,389 ± 0,01
Padrão 1.2	0,461 ± 0,04	0,406 ± 0,01
Padrão 1.3	0,449 ± 0,05	0,386 ± 0,05
Padrão 2.1	0,404 ± 0,03	0,421 ± 0,05
Padrão 2.2	0,519 ± 0,01	0,501 ± 0,08
Padrão 2.3	0,616 ± 0,01	0,502 ± 0,04
Padrão 3.1	0,537 ± 0,03	0,487 ± 0,08
Padrão 3.2	0,622 ± 0,05	0,601 ± 0,04
Padrão 3.3	0,678 ± 0,04	0,621 ± 0,02
Padrão 4.1	0,692 ± 0,08	0,652 ± 0,01
Padrão 4.2	0,711 ± 0,02	0,637 ± 0,06
Padrão 4.3	0,708 ± 0,03	0,683 ± 0,08

Valor de referência certificado (mg dm<sup>-3</sup>): \*mínimo = 0,16, médio = 0,23, máximo = 0,30;

\*\*mínimo = 0,09, médio = 0,14, máximo = 0,20;

\*\*\*mínimo = 0,19, médio = 0,30, máximo=0,42.

Os níveis de recuperação para os dois métodos de determinação apresentaram concordâncias de 95% de confiança. As porcentagens de recuperação,



comparadas com os teores médios de referência, ficaram próximas de 100% para a determinação por ICP OES, e acima de 110% para as determinações por azometina-H.

A extração empregando radiação microondas, demonstrou ser mais rápida que a extração com água quente e os resultados obtidos foram satisfatórios, já que as recuperações ficaram dentro da média de referência.

#### **6.2.4. Extração de B com radiação microondas com sistema de aquecimento de água sob pressurização**

Os resultados obtidos da extração de B empregando o sistema de pressurização para aquecimento de água em forno de microondas “caseiro” encontram-se na Tabela 6.11. Os dois métodos de determinação empregados não apresentaram diferenças significativas ao nível de 95% de confiança.

Os níveis de B extraídos foram relativamente próximos aos níveis extraídos pelo método de extração por radiação microondas proposto por Abreu et al. (1994) (Tabela 6.09) e inferiores aos níveis extraídos pelo método da água quente.

O sistema de pressurização oferece a possibilidade de adaptações, como por exemplo, a confecção de um carrossel com vários recipientes, possibilitando a extração de um grande número de amostras simultaneamente.

A vantagem de se empregar o sistema de pressurização no forno de microondas está na incidência uniforme de radiação sobre todas as amostras, além do fácil manuseio do sistema. Os saquinhos de nylon nos quais se encontravam as amostras de solo, funcionaram como filtros, evitando, para a maioria das amostras, a etapa de filtração.

Tabela 6.11. Concentrações de B disponíveis no solo empregando extração de B por radiação microondas com sistema de aquecimento de água sob pressurização e determinadas pelo método da azometina-H e por ICP OES. As amostras referem-se ao experimento descrito na Tabela 4.1. (n=3)

Amostra	Concentração de B (mg dm <sup>-3</sup> ± sd)	
	Azometina-H	ICP OES
IAC 226*	0,323 ± 0,02	0,253 ± 0,02
IAC 227**	0,175 ± 0,05	0,152 ± 0,01
IAC 233***	0,364 ± 0,03	0,321 ± 0,01
Testemunho 1	0,305 ± 0,01	0,278 ± 0,06
Testemunho 2	0,347 ± 0,06	0,324 ± 0,02
Testemunho 3	0,382 ± 0,02	0,347 ± 0,04
Padrão 1.1	0,429 ± 0,01	0,401 ± 0,07
Padrão 1.2	0,412 ± 0,06	0,406 ± 0,02
Padrão 1.3	0,439 ± 0,03	0,404 ± 0,01
Padrão 2.1	0,456 ± 0,07	0,420 ± 0,07
Padrão 2.2	0,536 ± 0,02	0,580 ± 0,05
Padrão 2.3	0,536 ± 0,06	0,502 ± 0,08
Padrão 3.1	0,633 ± 0,04	0,559 ± 0,05
Padrão 3.2	0,618 ± 0,03	0,601 ± 0,04
Padrão 3.3	0,672 ± 0,01	0,631 ± 0,02
Padrão 4.1	0,714 ± 0,04	0,698 ± 0,06
Padrão 4.2	0,695 ± 0,06	0,637 ± 0,05
Padrão 4.3	0,715 ± 0,05	0,697 ± 0,02

Valor de referência certificado (mg dm<sup>-3</sup>): \*mínimo = 0,16, médio = 0,23, máximo = 0,30;

\*\*mínimo = 0,09, médio = 0,14, máximo = 0,20;

\*\*\*mínimo = 0,19, médio = 0,30, máximo=0,42.

A recuperação do B disponível nas amostras de referência ficou próxima a 100% para as determinações por ICP OES e acima de 120% para as determinações em azometina-H.

Assim como na extração por radiação microondas proposta por ABREU et al. (1994), a extração por radiação microondas empregando sistema de pressurização apresentou recuperações próximas dos valores médios de referência, nas determinações por ICP OES.

Os valores de recuperação mais altos obtidos pela azometina-H podem ser atribuídos à forma como a solução extratora entra em contato com a amostra de solo. A solução passa muito rápida e bruscamente pela amostra, devido à alta pressão formada no compartimento inferior do sistema, podendo dessa forma, arrastar partículas de argila que interferem na determinação colorimétrica.

#### **6.2.5. Extração de B com sistema elétrico de aquecimento de água sob pressurização**

As extrações com sistema elétrico de aquecimento de água sob pressurização, apresentaram valores próximos aos obtidos nas extrações empregando aquecimento por radiação microondas e inferiores ao método da água quente.

Na tabela 6.12, encontram-se as concentrações de B disponíveis no solo obtidos pela extração de B com sistema elétrico de aquecimento de água sob pressurização. Os dois métodos de determinação não apresentaram diferenças significativas num nível de 95% de confiança.

Na extração de B com sistema de pressurização elétrico também foram utilizados saquinhos de tecido de nylon contendo as amostras de solos, evitando para a maioria das amostras, a etapa de filtração. O método possibilita a análise de

um grande número de extrações no mesmo dia e um bom controle da temperatura. A desvantagem se encontra na dificuldade para o controle do volume de água quente que passa pela amostras.

WEBB et al. (2002), tiveram problemas causados pela interferência na determinação com azometina-H devido à coloração dos extratos. A utilização de saquinhos de tecido nylon resolveu parcialmente esse problema da presença de argila. Ainda assim, a recuperação com azometina-H foi cerca de 10% superior que a recuperação obtida com ICP OES.

Tabela 6.12. Concentrações de B disponível no solo obtidas na extração de B com sistema elétrico de aquecimento de água sob pressurização e determinadas pelo método da azometina-H e por ICP OES. As amostras referem-se ao experimento descrito na Tabela 4.1. (n=3)

Amostra	Concentração de B (mg dm <sup>-3</sup> ± sd)	
	Azometina-H	ICP OES
IAC 226*	0,293 ± 0,02	0,241 ± 0,01
IAC 227**	0,187 ± 0,03	0,149 ± 0,01
IAC 233***	0,367 ± 0,02	0,321 ± 0,02
Testemunho 1	0,304 ± 0,02	0,284 ± 0,01
Testemunho 2	0,316 ± 0,03	0,301 ± 0,06
Testemunho 3	0,333 ± 0,07	0,314 ± 0,01
Padrão 1.1	0,405 ± 0,09	0,357 ± 0,05
Padrão 1.2	0,427 ± 0,01	0,380 ± 0,02
Padrão 1.3	0,420 ± 0,03	0,401 ± 0,08
Padrão 2.1	0,428 ± 0,04	0,390 ± 0,01
Padrão 2.2	0,514 ± 0,01	0,500 ± 0,02
Padrão 2.3	0,533 ± 0,02	0,504 ± 0,01
Padrão 3.1	0,592 ± 0,09	0,518 ± 0,02
Padrão 3.2	0,633 ± 0,03	0,578 ± 0,09
Padrão 3.3	0,623 ± 0,04	0,598 ± 0,04
Padrão 4.1	0,697 ± 0,01	0,655 ± 0,03
Padrão 4.2	0,712 ± 0,08	0,678 ± 0,09
Padrão 4.3	0,706 ± 0,02	0,659 ± 0,01

Valor de referência certificado (mg dm<sup>-3</sup>): \*mínimo = 0,16, médio = 0,23, máximo = 0,30;

\*\*mínimo = 0,09, médio = 0,14, máximo = 0,20;

\*\*\*mínimo = 0,19, médio = 0,30, máximo=0,42.

A recuperação do B disponível nas amostras controle com valores de referência ficou próxima a 100% para as determinações por ICP OES e acima de 120% para as determinações em azometina-H, quando comparadas com os níveis médios de referência.

### **6.2.6. Extração pelo método Mehlich 1**

Os resultados da Tabela 6.13 mostram as concentrações de B nas amostras pelo método de extração com solução Mehlich 1. Essa solução, empregada na extração de fósforo, potássio e sódio, em muitos casos é também utilizada na extração de micronutrientes (SILVA, 1999). Os níveis de B extraídos, empregando esse procedimento, foram inferiores às extrações que empregaram água quente. Para algumas amostras, a concentração de B extraída ficou abaixo dos limites de detecção.

Apesar do baixo rendimento da extração, os dois métodos de determinação apresentaram boa concordância entre seus resultados a um nível de 95% de confiança (teste "t").

Tabela 6.13. Concentrações de B disponíveis no solo obtidas após extração pelo método Mehlich 1 e determinadas pelo método da azometina-H e por ICP OES. As amostras referem-se ao experimento descrito na Tabela 4.1. (n=3)

Amostra	Concentração de B (mg dm <sup>-3</sup> ± sd)	
	Azometina-H	ICP OES
IAC 226*	0,160 ± 0,06	0,141 ± 0,04
IAC 227**	-	-
IAC 233***	0,191 ± 0,12	0,173 ± 0,02
Testemunho 1	-	0,2415 ± 0,03
Testemunho 2	-	0,233 ± 0,05
Testemunho 3	-	0,254 ± 0,01
Padrão 1.1	0,358 ± 0,02	0,315 ± 0,06
Padrão 1.2	0,384 ± 0,09	0,230 ± 0,02
Padrão 1.3	0,287 ± 0,02	0,289 ± 0,04
Padrão 2.1	0,336 ± 0,04	0,206 ± 0,09
Padrão 2.2	0,426 ± 0,02	0,309 ± 0,03
Padrão 2.3	0,397 ± 0,03	0,301 ± 0,02
Padrão 3.1	0,389 ± 0,05	0,401 ± 0,14
Padrão 3.2	-	0,275 ± 0,05
Padrão 3.3	-	0,298 ± 0,07
Padrão 4.1	0,390 ± 0,06	0,342 ± 0,08
Padrão 4.2	0,368 ± 0,07	0,241 ± 0,02
Padrão 4.3	0,386 ± 0,05	0,314 ± 0,06

- Não determinado

Valor de referência certificado (mg dm<sup>-3</sup>): \*mínimo = 0,16, médio = 0,23, máximo = 0,30;

\*\*mínimo = 0,09, médio = 0,14, máximo = 0,20;

\*\*\*mínimo = 0,19, médio = 0,30, máximo=0,42.

A amostra IAC 227 apresentou recuperação abaixo dos limites de detecção, já as amostras IAC 226 e 233 apresentaram recuperações abaixo de 70% em relação aos níveis médios de referência de B certificados nas amostras.

#### **6.2.7. Extração com HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>**

A extração com HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>, assim como a extração com a solução de Mehlich 1, apresentou uma baixa eficiência, como demonstrado na Tabela 6.14. Para algumas amostras não foi possível a determinação com azometina-H, devido à coloração dos extratos, que apresentavam grande dispersão de argila.

Tabela 6.14. Concentrações de B disponíveis no solo obtidas na extração com HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup> e determinadas pelo método da azometina-H e por ICP OES. As amostras referem-se ao experimento descrito na Tabela 4.1. (n=3)

Amostra	Concentração de B (mg dm <sup>-3</sup> ± sd)	
	Azometina-H	ICP OES
IAC 226*	-	0,159 ± 0,04
IAC 227**	-	0,149 ± 0,01
IAC 233***	0,223 ± 0,10	0,198 ± 0,02
Testemunho 1	0,304 ± 0,02	0,271 ± 0,03
Testemunho 2	-	0,269 ± 0,05
Testemunho 3	-	0,284 ± 0,10
Padrão 1.1	0,241 ± 0,07	0,236 ± 0,02
Padrão 1.2	-	0,231 ± 0,01
Padrão 1.3	-	0,251 ± 0,03
Padrão 2.1	0,315 ± 0,06	0,240 ± 0,02
Padrão 2.2	0,291 ± 0,02	0,301 ± 0,07
Padrão 2.3	0,345 ± 0,03	0,234 ± 0,06
Padrão 3.1	0,261 ± 0,02	0,201 ± 0,01
Padrão 3.2	0,288 ± 0,03	0,213 ± 0,02
Padrão 3.3	0,304 ± 0,02	0,258 ± 0,01
Padrão 4.1	0,341 ± 0,01	0,237 ± 0,01
Padrão 4.2	0,354 ± 0,05	0,211 ± 0,01
Padrão 4.3	0,302 ± 0,05	0,263 ± 0,06

- Não determinado

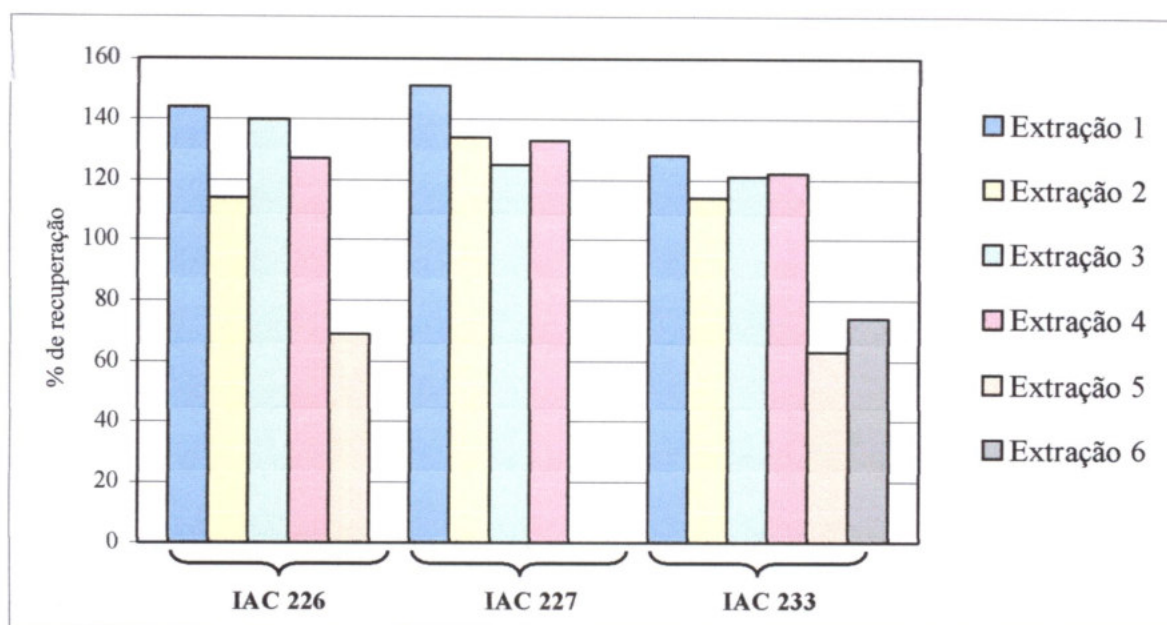
Valor de referência certificado (mg dm<sup>-3</sup>): \*mínimo = 0,16, médio = 0,23, máximo = 0,30;  
 \*\*mínimo = 0,09, médio = 0,14, máximo = 0,20;  
 \*\*\*mínimo = 0,19, médio = 0,30, máximo=0,42.

As recuperações determinadas por ICP OES foram menores que 70% para as amostras 226 e 233, e próxima de 100% para a amostra 227. Os resultados obtidos para as demais amostras foram bem menores que os valores obtidos nas extrações com água, indicando que a reação não foi eficiente.

### **6.2.8. Comparação entre os métodos de extração do B nos solos**

Pela Figura 6.7 é possível se fazer uma comparação entre os rendimentos das extrações realizadas no presente trabalho, considerando-se as amostras controle. Os resultados foram obtidos após determinação pelo método da azometina-H.

As recuperações nos procedimentos empregando água quente e solução de cloreto de bário como extratores foram acima de 110%, sendo que os dois procedimentos com sistema de aquecimento sob pressurização apresentaram melhores concordâncias entre os resultados. A extração com aquecimento por radiação microondas (Abreu et al., 1994), apresentou menor dispersão de argila, devido ao maior contato com a solução salina de  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$   $1,25 \text{ g L}^{-1}$  e por isso apresentou valores mais próximos da média certificada. Os resultados obtidos com as soluções extratoras Mehlich 1 e  $\text{HCl}$   $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  foram relativamente mais baixos que os demais.



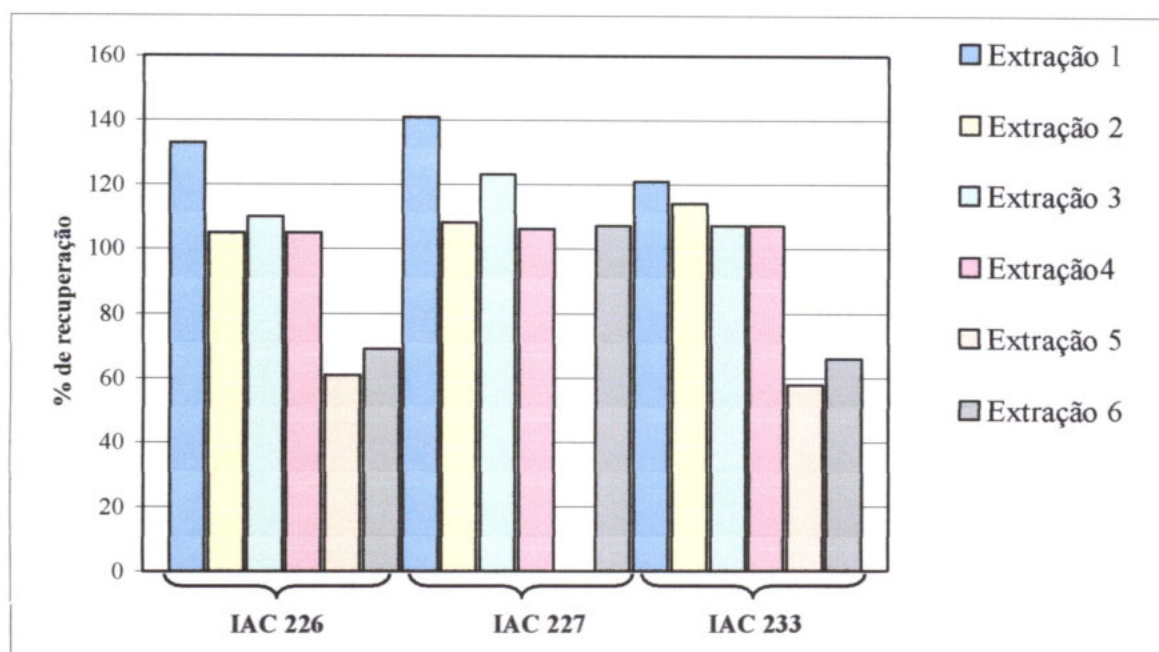
Extração 1: Água quente; Extração 2: Radiação microondas; Extração 3: Radiação microondas com sistema de pressurização; Extração 4: Sistema elétrico de pressurização para aquecimento de água; Extração 5: Mehlich 1; Extração 6: HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>

Figura 6.7. Porcentagem de recuperação do B nas amostras de solo em função das amostras controle IAC 226, 227 e 233, determinadas pelo método da azometina-H.

Na Figura 6.8 é apresentada uma comparação entre os diferentes métodos de extração de B nos solos, determinados por ICP OES.

Os valores obtidos na determinação por ICP OES foram cerca de 10% inferiores aos obtidos na determinação com azometina-H. Na determinação com ICP OES, os métodos que empregaram água e solução de cloreto de bário como extratores de B nos solos também foram os que apresentaram as melhores recuperações.

Os resultados obtidos pela determinação por ICP OES permitem uma melhor visualização da boa concordância entre as extrações que empregaram radiação microondas como fonte de aquecimento e a extração com sistema de pressurização para aquecimento da água.



Extração 1: Água quente; Extração 2: Radiação microondas; Extração 3: Radiação microondas com sistema de pressurização; Extração 4: Sistema elétrico de pressurização; Extração 5: Mehlich 1; Extração 6: HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>

Figura 6.8. Porcentagem de recuperação do B nas amostras de solo nas amostras controle IAC 226, 227 e 233, determinadas por ICP OES.

Na Tabela 6.15 encontram-se a comparação entre parâmetros como a massa da amostra, o tempo de extração, amostragem, volume e tipo de reagente utilizado e os equipamentos requeridos para a execução das diferentes extrações de B do solo avaliadas no presente trabalho.

Tabela 6.15. Comparação de alguns parâmetros entre as extrações de B no solo.

	Água Quente	Radiação microondas	Sistema de pressurização em MW	Sistema elétrico de pressurização	Mehlich 1	HCl 0,05 mol L <sup>-1</sup>
Massa de solo (g)	20	10	10	10	5	10
Número de amostras	± 30	15	± 10	1	± 30	± 30
Tempo de extração	40 min aquecimento	9 min aquecimento	3 min aquecimento	1 min extração	24 h extração	5 min extração
Volume e tipo de reagentes por amostra	- 40 mL água - 0,5 g carvão ativado - 1 mL CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O 0,1 mol L <sup>-1</sup>	- 20 mL solução BaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O 0,125 mol/L - 0,25 g carvão ativado	- 20 mL solução BaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O - 0,25 g carvão ativado	- 20 mL água - 0,25 g carvão ativado - 1 mL CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O 0,1 mol/L	- 25 mL solução extratora (HCl 0,05 mol L <sup>-1</sup> + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,0125 mol L <sup>-1</sup> ) - 0,15 carvão ativado	- 20 mL HCl 0,05 mol L <sup>-1</sup> - 0,25 g carvão ativado
Equipamentos requeridos	- Chapa aquecedora - Recipientes de vidro* desmineralizados	- Microondas "caseiro" - Saquinhos de prolipileno - Seladora de saquinhos	- Microondas "caseiro" - Cafeteira italiana para MW - Saquinhos de nylon	- Cafeteira de café expresso - Saquinhos de nylon - Béquero (PTFE) desmineralizados	- Mesa agitadora - Recipientes de vidro*/plástico desmineralizados	- Mesa agitadora - Recipientes de vidro*/plástico desmineralizados

\* Obs.: Possibilidade de contaminação - borossilicato

### 6.3. DETERMINAÇÃO POR AZOMETINA-H x ICP OES

Na planta, ao contrário do que aconteceu com o solo, os valores determinados pelo método da azometina-H, foram relativamente menores do que os obtidos na determinação por ICP OES. Esse efeito pode ser atribuído à ausência de coloração nos extratos de planta.

No solo, apesar de apresentar recuperações superiores que as determinadas por ICP OES, os resultados obtidos com a azometina-H ficaram dentro da faixa de referência. As recuperações com ICP OES apresentaram boa concordância entre os resultados nas diferentes extrações, exceto para as extrações com Mehlich 1 e HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>, tendo a vantagem de não sofrer interferência da coloração dos extratos.

## 6.4. RESÍDUOS GERADOS

Na sede da Embrapa Pecuária Sudeste encontra-se instalado o Laboratório de Tratamento de Resíduos Químicos, responsável pelo gerenciamento dos resíduos produzidos pelos laboratórios da unidade.

Os resíduos gerados após a utilização do método colorimétrico (azometina-H) foram armazenados em galões de plástico, identificados por etiquetas de acordo com a diagrama de Hommel (Figura 6.9).

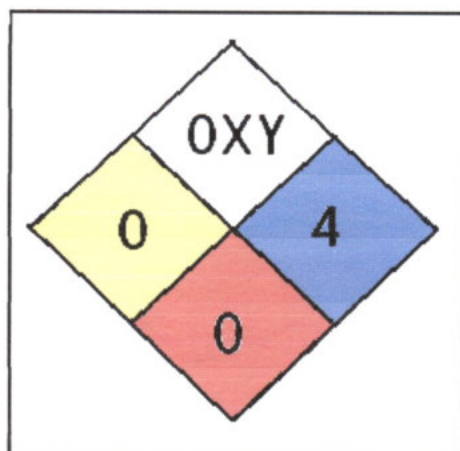


Figura 6.9. Diagrama de Hommel

Onde:

**OXY** – Oxidante

**4** - Perigo: Pode ser fatal em pequena exposição. Usar EPI'S necessários

**0** - Estável: Não combustível.

**0** - Estável: Não reativo quando misturado com água.

Ainda não existe na literatura um tratamento específico para os resíduos de azometina-H. Atualmente encontra-se em desenvolvimento pelo grupo de pesquisa um estudo visando estabelecer um procedimento foto-oxidativo.

Enquanto a metodologia não é estabelecida, os resíduos são colocados em galões devidamente etiquetados e estocados em local apropriado.

Os resíduos gerados após a determinação por ICP OES foram avaliados e considerados inertes. As soluções ácidas foram neutralizadas antes de serem descartadas.

## **CONCLUSÕES**

---

## 7. CONCLUSÕES

### PLANTA

Os dois procedimentos de preparo das amostras de planta, apresentaram resultados satisfatórios, já que as recuperações ficaram próximas de 100%, resultados confirmados quando considerado a amostra de referência certificada. Os dois métodos não apresentaram diferenças significativas entre seus resultados com um nível de 95% de confiança.

As melhores recuperações foram obtidas quando se empregou a decomposição com radiação microondas e determinação por ICP OES.

### SOLO

O método da água quente, considerado padrão para a extração de B nos solos, foi o que apresentou as maiores concentrações de B. As concentrações extraídas pela água quente ficaram próximas dos valores máximos de referência obtidos pela amostra controle.

Os métodos de extração que empregaram radiação microondas como fonte de aquecimento e o que empregou sistema de aquecimento de água sob pressurização apresentaram maior concordância entre os seus resultados e apresentaram resultados próximos aos valores médios de referência.

As recuperações empregando Mehlich 1 e HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup> foram relativamente baixas, mostrando uma inviabilidade dos dois métodos, quando comparados aos demais, para a extração do B disponível nos solos com determinação em azometina-H e ICP OES.

Os resultados obtidos em todos os procedimentos de extração ficaram dentro da faixa aceitável pelas amostras controle. No entanto, a determinação por azometina-H apresentou uma tendência em fornecer resultados mais elevados, o que pode ser atribuído à coloração das amostras.

Como o intervalo apresentado pelas amostras controle é relativamente alto, torna-se difícil atestar qual o método de extração foi mais eficiente, porém a boa concordância entre as extrações com aquecimento empregando radiação microondas, aquecimento em microondas com sistema de aquecimento sob pressurizado e extração com sistema elétrico de aquecimento sob pressurização demonstram a viabilidade da implementação de qualquer um dos procedimentos.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, C. A. DE; ABREU, M. F. ; B. van; BATAGLIA, O. C.; ANDRADE, J. C. de. Extraction of boron from soil by microwave heating for ICP OES determination. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, New York, 25: 3321, 1994.
- AITKEN, R. L.; JEFFREY, A. J.; COMPTON, B. L. Evaluation of selected extractants for boron in some Queensland soils. *Aust, J. Soil Res.*, 25: 263, 1987.
- AL-AMMAR, A.; GUPTA, R.K.; BARNES, R. M. Elimination of boron memory effect in inductively coupled plasma mass spectrometry by addition of ammonia. *Spectrochimica Acta – Part B*, 54: 1077, 1999a.
- AZEVEDO, W. R.; FAQUIN, V.; NETO, A. E. F.; Boro em rabanete cultivado em solos de várzea: produção de matéria seca, níveis críticos no solo e na planta, *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, 24: 7, 2000.

- BASSON, W. D.; BOHMER, R. G.; STANTON, D.A., An automated procedure for the determination of boron in plant tissue, *Analyst*, 94: 1135, 1969.
- BATAGLIA, O. C., RAIJ, B. van., Eficiência de extratores na determinação do boro em solos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, 14: 25, 1990.
- BELLATO, A.C. S.; MENEGÁRIO, A.A.; GINÉ, F. Boron Isotope Dilution in Cellular Fractions of Coffee Leaves Evaluated by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with Direct Injection Nebulization (DIN-ICP-MS), *Journal Brazilian Chemical Society*, 14(2): 269, 2003.
- BELLATO, A. C. S. Determinação de boro e molibdênio em amostras biológicas por espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS). Piracicaba, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2004. Tese de doutorado, 105 p.
- BERGER, K. C.; TROUG, K. Boron determination in soils and plants using quinalizarin reaction. *Industrial and Engineering Chemistry*, Washington, 11: 540, 1939.
- BULAÑOS, L.; LUKASZEWSKI, K.; BONILLA, I.; BLEVINS, D. Why boron?. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42: 907, 2004.
- CAPELLE, R., *Analytica Chimica Acta*, 24: 555, 1964.
- CARRERO, P.; MALAVÉ, A.; ROJAS, E.; RONDÓN, C.; PEÑA, Y. P.; BURGUERA, J. L., BURGUERA, M.; On-line generation and hydrolysis of

methyl borate for the spectrophotometric determination of boron in soil and plants with azomethine-H. *Talanta*, 68: 374, 2005.

CHAPIN, R. E. & Ku, W. W. The reproductive toxicity of boric acid. *Environmental Health Perspectives*, 102(7): 87, 1994.

CHESWORTH, W. Geochemistry of micronutrientes. In *Micronutrients in Agriculture*. Eds. JJ Mortvedt, FR Cox, I m Shuman and RM Welch. Soil Soc. Am., Madison, WI, USA, 1991. p.1.

CORREA, A. E.; MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. Método de não-digestão para extração de boro de folhas de plantas. *Pesq. agropec. Bras*, 20(10): 1213, 1985.

EVANS, S., & KRAHENBUHL, U. Boron analysis in biological material : microwave digestion procedure and determination by diferent methods. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 349: 454, 1994.

FERREIRA, G. B.; FONTES, R. L. F.; FONTES, M. P. F.; ALVAREZ VENEGAS, V. H., Comparing calcium chloride, barium chloride, and hot water extractions and testing activated charcoal plus azomethine-H dosage for boron determination in brazilian soils, *Commun. Soil Sci. Plant Anal*, 32 (19&20): 3153, 2001.

FERREIRA, G. B.; FONTES, R. L. F.; FONTES, M. P. F.; ALVAREZ VENEGAS, V. H. Influência de algumas características do solo nos teores de

boro disponível, *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, MG, 25(1): 93, 2002.

FERREIRA, G. B.; FONTES, R. L. F.; ALVAREZ VENEGAS, V. H; FONTES, M. P. F.; PEREIRA, J. M. N., Interferência de ferro na dosagem de boro no solo com azometina-H em soluções extratoras ácidas, *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, MG, 37(9): 1311, 2002.

FŮLEKY, G.; CZINKOTA, I. Hot water percolation (HWP): a new rapid soil extraction method. *Plant and Soil (Historical Archive)*, 157(1): 131, 1993.

GOLDBERG, S., Inconsistency in the triple layer model description of ionic strength dependent boron adsorption. *Journal of Colloid and Interface Science*, 285: 509, 2005.

GUPTA, U. C., Relationship of total and hot-water soluble boron, and fixation of added boron, to properties of podzol soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc. Madison*, 32: 45, 1968.

GUPTA, U. C. Boron nutrition of crops. *Advances in Agronomy*, San Diego, New York, 31: 273, 1979.

HARRIS, D. C. Quantitative chemical analysis, Nova Iorque, W. H. Freeman and Company, 1999. cap. 4.

HARP, D. L. Modifications to the azomethine-H method for determining boron in water. *Analytica Chimica Acta*, 346: 373, 1997.

- HU, H.; BROWN, P. H., Localization of boron in cell walls of squash and tobacco and its association with pectin. *Plant Physiol*, 105: 681, 1994.
- HUNT, C. D. The biochemical effects of physiologic amounts of dietary boron in animal nutrition models. *Environmental Health Perspectives*, 102 (7): 35, 1994.
- HUNT, C. D. Biochemical effects of physiological amounts of dietary boron. *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 9: 185, 1996.
- HWANG, J. D. & WANG, W. J. "Application of ICP-AES to analysis of solution" *Applied Spectroscopy*, 30(4): 231, 1995.
- JACKSON, M. L. Chemical composition of soils. In: BEAR, F.E., Editor. *Chemistry of the soil*. Second edition. New York, Reinhold Publishing Corporation, 71, 1965.
- KINGSTON, H. M. S. & JASSIE L. B., *Introduction to Microwave Sample Preparation*, Washington, ACS Professional Reference Book, 1988.
- KRUG, F. J.; MORTATTI, J.; PESSEDA, L. C. R., ZACATTO, E. A. G., BERGAMIN, H. F.; Flow injection spectrophotometric determination of boron in plant material with azometine-H. *Anal. Chim. Acta*, 125: 29, 1981.
- KRUG, F. J., ed. *Métodos de decomposição de amostras*. In: *Workshop sobre Preparo de Amostras*, 3., São Carlos, 2000. 149p.

- LEWIS, D. H. Boron, lignification and the origin of vascular plants – a unified hypothesis. *Nem Phytol.*, New York, 84(2): 209, 1980.
- LINDEN, C. H.; HALL, A. H.; KULIG, K. W.; RUMACK, B. H. Acute ingestions of boric acid. *Journal of Toxicology Clinical Toxicology*, 24: 269, 1986.
- LINDSAY, W. L.; COX, F. R. Micronutrient soil testing for the tropics. *Fer. Res.*, 7: 169, 1985.
- LUCICH, A. & LUCICH, K. Food supplements: their effect on the body. Available: [http://foodsupplementshomestead. Com/boron.html](http://foodsupplementshomestead.Com/boron.html). 2004.
- MARCHETTI, M. E.; MOTOMYA, W. R.; FABRÍCIO, C. A.; NOVELINO, J. O. Resposta do girassol, *Helianthus annuus*, a fontes e níveis de boro, 23(5): 1107, 2001.
- MAHLER, R. L.; NAYLOR, D. V.; FREDRICKSON. Hot water extraction of boron from soils using sealed plastic pouches. *Commun. Soil Plant Anal.*, 15: 479, 1984.
- MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2. ed. San Diego: Academy Press, 1995.
- MATSI, T.; ANTONIADIS, V., BARBAYIANNIS, N., Evaluation of the  $\text{NH}_4\text{HCO}_3\text{-DTPA}$  soil test for assessing boron availability to wheat, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 31(5&6): 669, 2000.

- MATSUO, H.; MIYAZAKI, Y.; TAKEMURA, H.; MATSUOKA, S.; SAKASHITA, H.; YOSHIMURA, K., 11B NMR study on the interaction of boric acid with azomethine-H. *Polyhedron*, 23: 955, 2004.
- MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A. & BLOCK, M. F. M. Determination of Ca, Mg, K, Mn, Cu, Zn, Fe and P in coffee, soybean, corn, sunflower, and pasture grass leaf tissues by a HCl extraction method. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 15: 141, 1984.
- NABLE, R. O.; BAÑUELOS, G. S.; PAULL, J. G. Boron toxicity. *Plant and Soil* 193: 181, 1997.
- NAGHII, M. R.; WALL, P. M. L. & SAMMAN, S. The boron content of selected foods and the estimation of its daily intake among freelifving subjects. *Journal of American College Nutrition*, 15: 614, 1996.
- NIELSEN, F. H. Boron in human and animal nutrition. *Plant and Soil*, 193: 199, 1997.
- NIELSEN, F. H. The justification for providing dietary guidance for the nutritional intake of boron. *Biological Trace Element Research*, 66: 319, 1998.
- NOGUEIRA, A. R.; BRIENZA, M. B. S.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, C.F.J.L.; ARAÚJO, A. N., Multi-site detection in flow analysis. Part 2. Monosegmented systems with relocating detectors for the spectrophotometric determination of boron in plants, *Anal. Chim. Acta*, 276: 121, 1993.

- OFFIAH, O. O.; AXLEY, J. H. Soil testing for boron on acid soils. In: GUPTA, U. C. (Ed.) Boron and its role in crop production. Boca Raton: CRC Press, 1993, 105.
- PAGE, A. L., Ed. Methods of soil analysis, Part 2 Chemical and Microbiological Properties. American Society of Agronomy, Inc. Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, 1157, 1982.
- PARKS, R.Q.; SHAW, B. T. Possible mechanisms of boron fixation in soil: I. Chemical. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. Morgantown, 6: 219, 1941.
- RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C. de; CATARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais. Instituto Agrônomo, Campinas SP, 2001. cap. 15.
- RERKASEM, B.; JAMJOD, S.; Boron deficiency in wheat: a review. Field Crops Research, v.89: 171, 2004.
- REISENAUER, H.M., WALSH, L.M., HOEFT, R.G., Testing Soils for Sulphur, Boron, Molybdenum, and Chlorine. In: WALSH, L. M. e J. D. BEATON, Editors. Soil Testing and Plant Analysis. Second Edition, Madison, Soil Sci. Soc. of Amer. Inc. 1973, 173.
- SAH, R.N.; BROWN, P. H., Techniques for boron determination and their application to the analysis of plant and soil. Plant and Soil, 193: 15, 1997.

- SHORROCKS, V. M. The occurrence and correction of boron deficiency. In: DELL. B.; BELL, W. (Ed.). Boron in soils and plants: reviews. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, 1997, 121.
- SILVA, F. R.; FERREYRA, H. F. Avaliação de extratores de boro em solos do estado do Ceará. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, Viçosa, 22(3): 471, 1998.
- SILVA, F. C. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes, Embrapa Solos – Embrapa Informática Agropecuária, 1999, 370p.
- SIMS, J. T., JOHNSON, G. V., Micronutrient soil tests. In: MORTVEDT, J. J., COX, F.F., SHUMAN, L. M., WELCH, R. M. (Ed.). *Micronutrients in agriculture*. 2. ed. Madison: Soil Science Society of America, 1991, p. 472.
- SIMSEK, A.; KORKMAZ, D.; VELIOGLU, Y. S.; ATAMAN, O. Y. Determination of boron in hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties by inductively coupled plasma optical emission spectrometry and spectrophotometry. *Food Chemistry*, 83:293, 2003.
- STADEN, J. K. F. Van; TSANWANI, M. M. Determination of boron as boric acid in eye lotions using a sequential injection system. *Talanta*, 58: 1103, 2002.
- SUN, D. H.; WATERS, J. K.; MAWHINNEY, T. P. Microwave digestion and ultrasonic nebulization for determination of boron in animal tissues by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with internal

standardization and addition of mannitol. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 12: 675, 1997.

SUN, D. H.; WATERS, J. K.; MAWHINNEY, T. P. Determination of total Boron in Soils by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using microwave-assisted digestion. *Commun, Soil Sci. Plant Anal.*, 12(15&16): 2493, 1998.

VIEIRA, E. C.; TREVISAN, L. C.; NOBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A. Avaliação do desempenho de um ICP OES com configuração radial e detector de estado sólido na análise de extratos de solos em meio orgânico. Livro de Resumos do 13º Encontro Nacional de Química Analítica. Niterói-RJ, 2005. Resumo H005.

WEAR, J. I. Boron, In: Black, C. A., Editor. *Methods of Soil Analysis. Part 2 – Chemical and Microbiological properties*. Madison, Amer. Soc. of Agronomy, Inc. 1059, 1965.

WEBB, B. L.; HANKS, D. H.; JOLLEY, V. D. A pressurized hot water extraction method for boron, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33(1-2): 31, 2002.

WOLF, B. The determination of boron in soil extracts, plant materials, composts, manures, water and nutrient solutions, *Soil Science and Plant Analysis*, 2(5): 363, 1971.

ZARCINAS, B. A. Suppression of iron interference in the determination of boron using the azomethine-H procedure. Communications in Soils Science and Plant Analysis, New York, 26: 713, 1995.

