

DETERMINAÇÃO DE BORO EM FERTILIZANTES PELA COLORIMETRIA DE AZOMETINA-H MODIFICADA

Assunta Maria Marques da SILVA*
Celso Augusto Fessel GRANER*

■ **RESUMO:** Estudou-se o método colorimétrico da azometina-H para determinação de boro, ajustando-o à análise de fertilizantes. O reagente azometina-H necessita de condições amenas de reação que, aliadas à grande sensibilidade e especificidade, difundiram seu uso na dosagem de boro em diversos materiais. Foram estabelecidos os parâmetros mais adequados para a colorimetria e as condições de análise: a curva padrão entre $0,200$ e $2,25 \text{ mg L}^{-1}$ de boro medida a 415 nm em cubeta de 1 cm , e leitura entre 30 e 90 minutos após a homogeneização final da mistura da solução de boro em cubeta de 1 cm , e leitura reativo corante (solução de azometina-H, $0,9\% \text{ m/v}$ em tampão acetato de amônio $1,82 \text{ mol.L}^{-1}$ /acetato de potássio $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$ /ácido acético $1,67 \text{ mol.L}^{-1}$ -EDTA $2,7 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ -NTA $2,1 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ pH 5,5). Análises estatísticas dos resultados não apresentaram diferenças significativas quando obtidos pelo método colorimétrico proposto e pelo método por titulação potenciométrica da AOAC, seja em fertilizantes industrializados, seja em fertilizantes sintetizados em laboratório.

■ **PALAVRAS-CHAVE:** Azometina-H; boro; fertilizante; colorimetria.

Introdução

O boro é um elemento não metálico essencial para as plantas,^{1,8} desempenhando papel importante na síntese de proteínas e fito-hormônios.^{8, 9}

A demanda por fertilizantes contendo micronutrientes garantidos cresce continuamente, sendo necessárias metodologias adequadas para o seu controle de qualidade. A dosagem de boro por titulação potenciométrica é o método adotado pela "Association of Official Analytical Chemists" (AOAC)¹³ e também oficialmente adotado no Brasil.⁵ Porém, para este ser preciso e exato, exige cuidados especiais e uma boa experiência do analista; além do que, a morosidade desta técnica a torna inadequada para aplicação em grande número de amostras.

As condições experimentais para microdosagem de boro em meio aquoso com vários corantes foram estabelecidas por Capelle.⁶ Dos corantes estudados, a azome-

* Departamento de Química - Instituto de Biociências - UNESP - 18618-000 - Botucatu - SP - Brasil.

tina-H apresentou resultados promissores, sendo posteriormente utilizada para determinação de boro em plantas,³ com as devidas alterações na metodologia devido à necessidade de eliminação dos interferentes.

O método da azometina-H para determinação colorimétrica de boro foi empregado para vários tipos de amostras,^{3, 4, 12, 16, 18, 20} devido sobretudo à sensibilidade do reagente e ao fato de a reação desenvolver-se em meio aquoso, dispensando concentrações elevadas de ácidos, quando comparado com outros afins.^{1, 14, 17}

Assim, o objetivo deste trabalho é melhorar o método colorimétrico da azometina-H para determinação de boro em fertilizantes, e aplicar o procedimento proposto às matrizes específicas de fertilizantes, comparando os resultados obtidos com os provenientes do método oficial.

Material e método

Amostras

Foram utilizadas oito amostras de fertilizantes, sendo cinco industrializadas (Cooperativa Agrícola de Cotia - Cooper Humus-470/B/Z) e as demais preparadas em laboratório. O preparo destas amostras foi feito colocando-se todos os componentes num gral de porcelana, onde procedeu-se à trituração e homogeneização. A Tabela 1 apresenta a composição das amostras preparadas em laboratório.

Tabela 1 - Nutrientes e suas quantidades nas amostras de fertilizantes preparadas em laboratório

Constituintes	Quantidades de nutrientes (g)	
	F	G
(NH ₄) ₂ SO ₄	10,0	0,0
NH ₄ H ₂ PO ₄	25,0	25,0
CO(NH ₂) ₂	0,0	0,0
KNO ₃	0,0	25,0
KCl	15,0	0,0
H ₃ BO ₃	1,5	3,0
		% (m/m)
N	10,0	12,3
P ₂ O ₅	30,0	29,1
K ₂ O	18,4	21,9
B	0,5	1,0
		9,5
		27,3
		22,4
		2,0

A solução-amostra de fertilizante foi preparada a partir de porções de 0,5-1,0 g das amostras transferidas para béquer de vidro ou polietileno de 250 mL com 50 mL de água destilada e 3 mL de HCl concentrado; a mistura foi fervida por 5-10 minutos e diluída a 500 mL em balão volumétrico, após filtração.

Todos os reativos ou preparados em frascos de vidro foram logo em seguida armazenados em frascos de polietileno.

Reagentes

Azometina-H: resultante da condensação do ácido-H (sal monossódico do ácido 4-amino-5-hidroxi-2,7-naftalenodissulfônico) com aldeído salicílico, com base no trabalho de Lachica.¹⁵

Tampão mascarante: foram dissolvidos 140 g de acetato de sódio anidro, 10 g de acetato de potássio, 4 g de ácido nítricoacético, 10 g do sal dissódico di-hidratado do ácido etilendiaminotetraacético com 350 mL de ácido acético 1,67 mol.L⁻¹ e água para 1 litro com ajuste de pH 5,5, com ácido acético ou com amônia.

Solução do reagente corante modificado (a alteração feita foi a preparação direta do reagente corante com mistura de azometina-H e tampão): foram dissolvidos 0,9 g de azometina-H e 2 g de ácido ascórbico com 90 mL do tampão-mascarante de acetato de amônio/acetato de potássio/ácido acético-EDTA-NTA, adicionando-se água deixada até volume final de 100 ml em balão volumétrico.

Solução padrão de boro: dissolveu-se 0,5715 g de ácido bórico p.a. com água destilada e completou-se o volume para 1 litro. Esta solução contém 100 mg de boro.L⁻¹; por diluições convenientes foram preparadas várias soluções padrão de uso, envolvendo concentrações de 0,3-0,6-0,9-1,0-1,5-2,0-2,5 mg.L⁻¹, sempre armazenadas em frasco de polietileno.

Equipamentos

Foram utilizados os seguintes equipamentos: balança analítica Mettler H10T; pHmetro Metrohm E396-B com eletrodo de vidro combinado, espectrofotômetro Varian Modelo 634.

Metodologia

Para determinação colorimétrica, em copo descartável de plástico de 50 mL, misturaram-se 5 mL de solução de uso ou solução de amostra com 5 mL de solução do reagente corante modificado; aguardou-se cerca de 30-90 minutos após homogeneização, fazendo-se as leituras no comprimento de onda de 415 nm contra prova em branco correspondente.

Para determinação pelo método de titulação potenciométrica, foi utilizado o procedimento adotado pela AOAC.^{5, 13}

As medidas foram realizadas com três repetições e os resultados tiveram sua precisão caracterizada em termos de intervalo de confiança ($\alpha = 0,05$).

Resultados e discussão

Espectros de absorção do sistema azometina-H/boro e azometina-H mostraram que nas condições experimentais o comprimento de onda de máxima absorção para a colorimetria proposta é de 415 nm, sendo este adotado para a realização das leituras.

A relação entre quantidades do reagente azometina-H e de boro foi analisada, variando as concentrações do reagente corante de 0,30 - 0,60 - 0,90 e 1,20% (m/v), e a de boro de 0,30 - 0,60 - 0,90 mg.L⁻¹ seguindo o método para determinação colorimétrica descrito anteriormente. Verificou-se que, para uma mesma concentração de boro, a concentração do reagente azometina-H que produz maior absorbância é a de 0,90% (m/v); portanto, esta concentração do reagente corante foi fixada no desenvolvimento da metodologia.

O período de estabilidade do reagente corante, modificado para produzir leitura máxima de absorbância no sistema azometina-H/boro formado pelo reagente corante e em concentração de 1,5 mg.L⁻¹, foi estudado sob diferentes condições de armazenamento. As leituras foram realizadas após 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 e 30 dias do preparo das soluções, sendo estas conservadas protegidas da luz ou não, sob refrigeração ou temperatura ambiente. Os resultados (Tabela 2) mostram que ocorreu perda da capacidade corante do reagente depois de 1 dia, quando suas soluções são armazenadas à temperatura ambiente, com ou sem envoltório de papel alumínio. Verificou-se, ainda, que o reagente é estável por pelo menos 7 dias de armazenamento em refrigerador, não afetado pela presença ou ausência de luz.

O tratamento estatístico dos resultados mostrou intervalo de confiança em termos de absorbância $0,935 \pm 0,002$ e $0,933 \pm 0,003$ ($\alpha = 0,05$) para o primeiro e o sétimo dias de preparo para armazenamento em refrigerador. Nessas condições, conclui-se uma inovação positiva, pois o reagente corante modificado é preparado em tempo curto e possui boa estabilidade de resposta. Estabelecemos, assim, que o reativo pode ser armazenado em frasco de polietileno por até 7 dias em refrigerador.

Sistemas tampão foram analisados enfocando a influência da presença ou não de mascarantes e da variação de pH, na formação e estabilidade do sistema azometina-H/boro. Soluções tampão de 4,0 - 4,5 - 5,0 e 5,5 foram estudadas. Estes ensaios mostraram a formação irreversível de precipitado acima de pH 5,5, confirmando o que foi verificado na determinação de boro em plantas.⁷

O tampão mascarante acetato de amônio/acetato de potássio/ácido acético-EDTA-NTA no pH 5,5 produziu maior resposta de absorbância quando comparado com sistemas tampão sem NTA e EDTA ou só com uma dessas substâncias. Por esta

razão, foi adotado o tampão mascarante acetato de amônio $1,82 \text{ mol.L}^{-1}$ /acetato de potássio $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$ /ácido acético $1,67 \text{ mol.L}^{-1}$ /EDTA $2,7 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ /NTA $2,1 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ /pH 5,5 no tamponamento do método colorimétrico proposto.

Tabela 2 - Influência do tempo de preparo da solução corante e das diferentes condições de armazenamento* na estabilidade do sistema azometina-H/boro em concentrações de boro de 0,50 e 1,50 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ **

Tempo de preparo em dias	Concentração de boro $\mu\text{g.ml}^{-1}$	Soluções corante e condições de armazenamento			
		A	B	C	D
02	0,50	$0,312 \pm 0,003$	$0,295 \pm 0,002$	$0,313 \pm 0,001$	$0,282 \pm 0,003$
	1,50	$0,934 \pm 0,001$	$0,501 \pm 0,004$	$0,935 \pm 0,002$	$0,778 \pm 0,003$
04	0,50	$0,311 \pm 0,001$	$0,289 \pm 0,003$	$0,312 \pm 0,002$	$0,260 \pm 0,002$
	1,50	$0,933 \pm 0,003$	$0,463 \pm 0,004$	$0,934 \pm 0,004$	$0,529 \pm 0,004$
07	0,50	$0,310 \pm 0,003$	$0,190 \pm 0,003$	$0,311 \pm 0,002$	$0,239 \pm 0,004$
	1,50	$0,932 \pm 0,002$	$0,205 \pm 0,004$	$0,933 \pm 0,004$	$0,400 \pm 0,005$
14	0,50	$0,275 \pm 0,004$	$0,181 \pm 0,003$	$0,295 \pm 0,003$	$0,129 \pm 0,002$
	1,50	$0,910 \pm 0,005$	$0,178 \pm 0,004$	$0,921 \pm 0,003$	$0,170 \pm 0,001$
30	0,50	$0,210 \pm 0,006$	$0,010 \pm 0,005$	$0,220 \pm 0,004$	$0,010 \pm 0,003$
	1,50	$0,560 \pm 0,005$	$0,150 \pm 0,006$	$0,510 \pm 0,005$	$0,020 \pm 0,005$

* Envoltório de papel alumínio em refrigerador (A) e ambiente (B). Sem envoltório de papel alumínio refrigerador (C) e ambiente (D).

** Absorbâncias médias de três repetições em intervalo de confiança ($\alpha = 0,05$).

O estudo dos possíveis interferentes em termos de sua presença e teores nos fertilizantes, assim como sua eliminação, foi realizado com 14 íons em quantidades estimadas destes nutrientes ou possíveis contaminantes em tais materiais.¹⁹ Foram estudados fósforo, cloro, nitrito, alumínio, mercúrio (II), níquel (II), chumbo (II), cádmio (II), molibdênio (VI), ferro (III), manganês (II), cobre (II), zinco (II), cobalto (II), além de mistura dos íons estudados (coquetel). Os resultados obtidos envolvendo o sistema azometina-H/boro ($1,5 \text{ mg.L}^{-1}$) com os íons supostamente interferentes mostraram que, à exceção do ferro, os demais íons nas concentrações isoladas ou em mistura não interferem na colorimetria proposta. O tratamento estatístico mostrou absorbância de $0,930 \pm 0,003$ no nível de 5% de significância, sendo este próximo da absorbância da solução isenta de interferentes ($0,933 \pm 0,002$), tomada como referência. O tampão mascarante proposto contorna a interferência de todos os íons normalmente encontrados nos fertilizantes em quantidades maiores que aquelas relatadas na literatura,¹⁹ inclusive o ferro (Tabela 3).

Tabela 3 - Absorbância de soluções contendo o sistema azometina-H/boro (1,50 µg.ml⁻¹) e diferentes íons, ou mistura deles, em três concentrações

Íon	µg.ml ⁻¹	Absorbância*	Íon	µg.ml ⁻¹	Absorbância*
		0,933 ± 0,002	Pb ²⁺	1,0	0,929 ± 0,002
				2,0	0,930 ± 0,001
				4,0	0,928 ± 0,003
H ₂ PO ₄	7,5	0,932 ± 0,002	MeO ₄ ²⁻	0,025	0,930 ± 0,003
	15,0	0,930 ± 0,003		0,05	0,931 ± 0,003
	30,0	0,931 ± 0,001		0,01	0,929 ± 0,001
Cl ⁻	7,5	0,932 ± 0,001	Fe ⁺³	1,25	0,930 ± 0,003
	15,0	0,933 ± 0,002		2,50	0,933 ± 0,002
	30,0	0,930 ± 0,003		5,00	0,945 ± 0,002
NO ₃ ⁻	7,5	0,931 ± 0,002	Mn ²⁺	1,75	0,929 ± 0,002
	15,0	0,930 ± 0,002		3,50	0,931 ± 0,001
	30,0	0,929 ± 0,002		7,00	0,932 ± 0,001
Al ³⁺	5,0	0,930 ± 0,001	Cu ²⁺	0,25	0,932 ± 0,002
	10,0	0,929 ± 0,003		0,50	0,930 ± 0,002
	20,0	0,928 ± 0,002		1,00	0,931 ± 0,001
Hg ²⁺	1,0	0,933 ± 0,001	Zn ²⁺	1,75	0,933 ± 0,001
	2,0	0,931 ± 0,002		3,50	0,929 ± 0,003
	4,0	0,930 ± 0,003		7,0	0,930 ± 0,003
Cd ²	1,0	0,928 ± 0,002	Co ²⁺	0,05	0,931 ± 0,001
	2,0	0,929 ± 0,001		0,10	0,928 ± 0,003
	4,0	0,931 ± 0,002		0,20	0,931 ± 0,002
Ni ²	1,0	0,931 ± 0,003	"Coquetel"***	a	0,931 ± 0,002
	2,0	0,930 ± 0,003		b	0,932 ± 0,003
	4,0	0,932 ± 0,001		c	0,933 ± 0,001

* Média de três repetições em termos de intervalo de confiança (α = 0,05).

** Mistura dos íons estudados nos níveis de concentrações mais diluídos (a), intermediário (b) e mais concentrado (c).

Através da equação de Ringbom,^{2, 10, 11} verificou-se que o menor erro fotométrico ocorre para concentrações de boro na faixa de 0,200 a 2,25 mg.L⁻¹, sendo esta adotada para a confecção da curva padrão. A Tabela 4 mostra os dados médios de cinco repetições com os respectivos intervalos de confiança (α = 0,05); onde verificou-se a sua precisão e excelente correlação, tendo em vista o coeficiente de correlação linear igual a 1,000.

Determinados os parâmetros essenciais à colorimetria pela azometina-H na determinação de boro, o mesmo foi aplicado na dosagem do nutriente nas amostras de fertilizantes. Os resultados obtidos comparados com aqueles provenientes da determinação pelo método oficial de titulação potenciométrica mostram que eles se

equivalerem (Tabela 5). Tais valores igualam-se aos das garantias dos fabricantes ou dos teores introduzidos nos fertilizantes sintetizados no laboratório. O tratamento estatístico mostra que não há diferenças no nível de 5% de significância, entre os teores obtidos pelo emprego da metodologia oficial ou da metodologia da azometina-H ora proposta, ou com os valores garantidos.

Tabela 4 - Curva padrão e avaliação da precisão do método através dos dados de absorbância média (cinco repetições) em termos de intervalo de confiança (α = 0,05)

Concentração de boro mg.L ⁻¹	Absorbância*
0,200	0,124 ± 0,002
0,250	0,155 ± 0,002
0,500	0,310 ± 0,003
1,000	0,624 ± 0,001
1,500	0,932 ± 0,002
2,000	1,242 ± 0,001
2,250	1,398 ± 0,002

* Média em intervalo de confiança (α = 0,05)

EQUAÇÃO DE REGRESSÃO: A = 0,621 . mg B . L⁻¹ ; r = 1,000

Tabela 5 - Teores de boro encontrados em amostras de fertilizantes (adquiridos no comércio A, B, C, D, E e preparados em laboratório F, G, H) através do método de titulação potenciométrica (TP) e do método proposto (P)*

Amostra	Teor de Boro* % (m/m)	
	Garantia	Método TP
A	0,5	0,500 ± 0,000
B	0,05	0,050 ± 0,002
C	0,1	0,100 ± 0,002
D	0,05	0,050 ± 0,002
E	2	1,95 ± 0,01
F	0,5	-
G	1,0	-
H	2	-

* Média de três repetições em termos de intervalo de confiança (α = 0,05).

O método colorimétrico aqui apresentado mostra que a alteração na metodologia proposta na preparação do reagente corante modificado (azometina-H/tampão), além de contornar com grande facilidade os inúmeros interferentes encontrados na matriz em estudo (Tabela 5), apresentou resultados comparáveis àqueles obtidos pelo método de titulação potenciométrica da AOAC para determinação de boro em fertilizantes, sendo uma opção analítica viável precisa, exata e expedita, pela simplicidade inerente a ela.

SILVA, A. M. M. da, GRANER, C. A. F. The azomethine-H colorimetric method modified of boron determination at fertilizers. *Ecl. Quim. (São Paulo)*, v.21, p.61-69, 1996.

■ **ABSTRACT:** The present work studied the azomethine-H colorimetric method for boron determination to fertilizers analysis applications. The reagent azomethine-H needs lights conditions of reaction that, joined to the big sensibility and specificity, diffused its use in boron's dosage in many materials. The most suitable experimental parameters were established for such colorimetry, and analysis conditions: standard curve between 0,200 e 2,25 mg . L⁻¹ boron, in maximum absorption at 415nm, 1 cm cell and reading between 30 and 90 minutes standing after the final homogenization of the boron's solution in analyse and with dye reactive (azomethine H 0,90 % m/v solution at buffer ammonium acetate 1,82 mol . L⁻¹ - potassium acetate 0,10 mol . L⁻¹ - acetic acid 1,67 mol . L⁻¹- EDTA 2,7 . 10⁻² mol . L⁻¹ - NTA 2,1 . 10⁻² mol . L⁻¹ pH 5,5). Statistics analysis of the results didn't present big differences when the same results were got by the colorimetric method offered and by the potentiometric, from AOAC, whatever in manufactured fertilizers or in lab synthesized fertilizers.

■ **KEYWORDS:** Azomethine-H; boron; fertilizer; colorimetry.

Referências bibliográficas

- 1 ALCARDE, J. C. A determinação do boro pelo método colorimétrico da curcumina. Piracicaba, 1969, 78p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade de São Paulo.
- 2 AYRES, G. H. Evaluation of accuracy in photometric analysis. *Anal. Chem.*, v.21, p.652-7, 1949.
- 3 BASSON, W. D., BOHMER, R. G., STANTON, D. A. An automated procedure for determination of boron in plant tissues. *Analyst*, v.94, p.1135-41, 1969.
- 4 BATAGLIA, O. C. et al. *Métodos de análise de plantas*. Campinas: Instituto Agrônomico, 1993. p.29-30. (Circular, 78).

5 BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional da Defesa Agropecuária. *Inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, estimulantes ou biofertilizantes destinados à agricultura*. Brasília, 1987. p.72

6 CAPELLE, R. Microdosage colorimétrique du bore en milieu aqueux, au moyen de réactif à groupement azoïque ou imine dérivés des acides H et K. *Anal. Chim. Acta*, v.24, p.555-72, 1961.

7 CASTILHO, J. R. et al. Estudio comparativo de métodos de calcinación de material vegetal, para la determinación de boro en plantas por el método de la azometina-H. *An. Estac. Exp. Aula Dei*, v.17, p.197-208, 1985.

8 CHEN, D., LÁZARO, M. D., VALCÁRCEL, M. Direct spectrophotometric determination of total boron in soils with ultrasonic leaching in automatic flow systems. *Anal. Chim. Acta*, v.22, p.221-7, 1989.

9 CHESNIN, L. Cálcio, magnésio e os micronutrientes. In: WHITE, W. C., COLLINS, D. N. *Manual de fertilizantes*. Campinas: The Fertilizer Institute, 1986. p.73-94.

10 GIOLITO, I. *Medidas fotométricas*. São Paulo: USP, Grupo de Coordenação para o Aperfeiçoamento Tecnológico, 1968. p.76-82.

11 GRANER, C. A. F. *Determinação de crômio pelo método colorimétrico da difenilcarbazida*. Botucatu, 1972. 92p. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.

12 GUPTA, R. L. Extration of soil boron for predicting its availability to plants. *Commun. Soil Sci. Plant Ana.*, v.22, p.1003-12, 1991.

13 HELRICH, K. (Ed.) *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 15.ed. Washington: AOAC, 1990. p.28-9.

14 INGLE JUNIOR, J. D. Sensitivity and limit of detection in quantitative spectrometric methods. *J. Chem. Educ.*, v.51, p.100-5, 1990.

15 LACHICA, M. Estudio sobre la determinación de boro en plantas con azomethine-H. *An. Estac. Aula Dei*, v.2, p.53-61, 1972.

16 PAVAN, M. A., CORREA, A. E. Relação de equilíbrio solo-boro. *Pesq. Agrop. Bras.*, v.23, p.261-69, 1988.

17 RICCI, E. Sensitives and others properties of reagents for the spectrophotometric determination of boron. *Anal. Chem.*, v.35, p.1542-5, 1963.

18 SHARELA, T. Plant-available boron in soils and the boron requirement or spring oil seed rapes. *Ann. Agric. Fenn.*, v.24, p.189-262, 1985.

19 YNAMA, R., PRIMAVESI, O. *Micronutrientes naturais para agricultura*. 2.ed. São Paulo: Oficina Gráfica Nascimento, 1972. p.10-20.

20 WOLF, B. Improvements in the azomethine-H method for the determination of boron. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, v.5, p.39-44, 1974.

Recebido em 3.10.1995.
Aceito em 7.3.1996.