

# MÉTODO DE NÃO-DIGESTÃO PARA EXTRAÇÃO DE BORO EM FOLHAS DE PLANTAS<sup>1</sup>

ANTONIO E. CORREA<sup>2</sup>, MARIO MIYAZAWA<sup>3</sup> e MARCOS A. PAVAN<sup>4</sup>

**RESUMO** - É descrito um procedimento analítico para o diagnóstico do estado nutricional de B em folhas de plantas por um método de extração sem digestão com a solução de HCl. A extração consistiu na adição de 20 ml de HCl 1N em tubos de ensaio contendo 400 mg do material vegetal, seguido por aquecimento a 80°C por 15 minutos, agitação por 60 minutos a 250 rpm e filtração. A seguir, transferiu-se uma alíquota de 5 ml do filtrado para tubos de ensaio de 200 ml, adicionaram-se 100 mg de carvão ativado, agitado por 15 minutos a 250 rpm e refiltrado. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos por digestão seca. Os teores de B foram determinados pelo método colorimétrico com azomethina-H. Os resultados evidenciaram que ambos os métodos extraíram quantidades idênticas de B. A adsorção do B pelo carvão ativado em um meio-ácido foi desprezível. A presença do carvão ativado no extrato de folhas sem digestão promoveu a completa adsorção das substâncias solúveis interferentes na determinação colorimétrica de B a 420 nm. A precisão média da extração de B pelo método proposto foi de 1,54%.

Termos para indexação: análise de plantas, carvão ativado, interferências orgânicas, azomethina-H.

## A NONDIGESTION EXTRACTION METHOD FOR BORON IN PLANT LEAVES

**ABSTRACT** - A nondigestion procedure using HCl for the extraction of B in plant tissues is described. Plant materials were treated with 1NHCl, heated at 80°C for 15 minutes, shaken at 250 rpm for 60 minutes, and filtered. Then, 5 ml of the extracted solution was treated with 100 mg of activated charcoal, shaken at 250 rpm for 15 minutes, and refiltered. Boron was determined by the colorimetric azomethine-H method. The results were compared with those obtained by dry-ashing method. B contents were determined by the colorimetric method with azomethine-H. The results have shown that both methods extracted identical quantities of B. B adsorption by activated-charcoal in an acid-medium was minimum. The presence of activated charcoal in the nondigested leaves extract carried out the complete adsorption of the soluble substances interfering with B colorimetric determination at 420 nm. The mean B extraction accuracy by the proposed method was 1.54 percent.

Index terms: plant analysis, activated charcoal, organic interference, azomethine-H.

## INTRODUÇÃO

O boro é um elemento essencial para o desenvolvimento das plantas, participando de várias reações biológicas (Bradford, 1965). Uma das principais limitações para o diagnóstico nutricional de B em plantas é a relação estreita entre os níveis deficientes, adequados e tóxicos, tornando-se necessário o uso de métodos precisos para extração e determinação.

A extração de B em tecidos de plantas tem sido realizada através da digestão seca (Jackson 1965), ou com a solução de hipobromito de sódio (Kowalenko 1979). As principais desvantagens desses métodos são o tempo requerido e os gastos adicionais com reagentes, mufla e energia. Recentemente, Miyazawa et al. (1984) descreveram um método sem digestão com HCl para extração de Ca, Mg, K, Mn, Cu e Zn em tecidos de plantas. A simplicidade, facilidade operacional, baixo custo e precisão deste método têm despertado o interesse pela avaliação de ânions no mesmo extrato.

Embora o extrato de plantas obtido pelo método sem digestão apresente substâncias orgânicas e inorgânicas dissolvidas que afetam as determinações colorimétricas de B, vários agentes químicos, quando adicionados no meio, podem diminuir estas interferências. O carvão ativado é um material que, dependendo do meio, pode adsorver constituintes orgânicos e inorgânicos presentes em ex-

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 22 de agosto de 1985. Trabalho apresentado em parte, no XI Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Londrina, PR., 22-26/10/1984.

<sup>2</sup> Acadêmico do Curso de Química da Univ. Estadual de Londrina, bolsista do CNPq, Área de solos, Instit. Agron. do Paraná (IAPAR), Caixa Postal 1331, CEP 86100 Londrina, PR.

<sup>3</sup> Químico, IAPAR

<sup>4</sup> Eng. - Agr., Ph.D., IAPAR.

tratos de plantas (Miller 1932, Hassler 1951). Esses autores demonstraram que a adsorção de substâncias orgânicas pelo carvão ativado aumenta em pH meio-ácido. Gupta (1979) demonstrou que o carvão ativado pode eliminar as interferências nas determinações colorimétricas de B extraído dos solos com água quente. Entretanto, as adsorções de B e das substâncias orgânicas dissolvidas em HCl 1N pelo carvão ativado necessitam ser avaliadas.

O objetivo do presente trabalho foi aperfeiçoar o método sem digestão com HCl proposto por Miyazawa et al. (1984), como uma alternativa adicional para extração de B em tecidos de plantas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Preparo do material vegetal

Amostras de folhas de café, citros, maçã, ameixa, uva, pêsego e nectarina foram coletadas nas regiões produtoras do Paraná, transferidas para o laboratório, lavadas em água deionizada, secadas a 60°C, moídas e armazenadas para análise química. Foram também utilizadas folhas de um experimento no qual estava sendo avaliada a resposta do cafeeiro a doses crescentes de B adicionado no solo (0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 ppm).

### Métodos de extração de B em tecidos de plantas

1. **Digestão seca** - Amostras contendo 400 mg de cada material vegetal foram transferidas para cadinhos de porcelana e colocadas no interior de uma mufla a 550°C, durante quatro horas. A seguir, os materiais foram esfriados à temperatura ambiente, adicionados 20 ml de HCl 0,6N em cada cadinho e filtrados em papel de filtro Whatman 42.

2. **Sem-digestão** - Uma alíquota de 5 ml do extrato filtrado, obtido pelo método sem digestão com HCl, descrito por Miyazawa et al. (1984), para extração de Ca, Mg, K, Mn, Cu e Zn, foi transferida para tubo de ensaio livre do boro (polipropileno), com capacidade para 20 ml. A seguir, foram adicionados 100 mg de carvão ativado, agitado a 250 rpm por 15 minutos e filtrado em papel de filtro Whatman 42, de 15 mm de diâmetro.

### Determinação de B

Os teores de B nos extratos foram determinados pelo método colorimétrico com azomethina-H (Basson et al. 1969).

### Estudos com carvão ativado

1. **Adição de doses crescentes de carvão ativado no extrato de plantas** - Foram transferidas alíquotas de 5 ml, dos extratos de plantas obtidos pelo método sem digestão, para tubos de polipropileno (20 ml), com adições de 0,

25, 75, 100, 150 e 200 mg de carvão ativado, com e sem azomethina-H. As leituras em absorbância foram realizadas em um espectrofotômetro a 420 nm.

2. **Adsorção de B pelo carvão ativado** - Foi conduzido um experimento com adição de 100 mg de carvão ativado, em frascos de polipropileno (20 ml), contendo 5 ml de soluções padrão de ácido bórico (0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0  $\mu\text{gBml}^{-1}$ ), preparadas com água deionizada, solução pura de HCl 1N, e em extratos de plantas obtidos pelo método sem digestão. As determinações de B foram realizadas pelo método colorimétrico com azomethina-H a 420 nm.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Estudos com carvão ativado

Na Tabela 1 são apresentados os resultados dos efeitos do carvão ativado na adsorção de B em diferentes soluções. Os resultados indicam que a recuperação de B foi, em média, 61%, 93% e 98%, quando este elemento foi adicionado em água deionizada, solução pura de HCl 1N e extrato de plantas obtido pelo método sem digestão com HCl 1N, respectivamente. A adsorção de B pelo carvão ativado foi insignificante no extrato de plantas na presença de HCl 1N, devido, principalmente, à maior competição de substâncias orgânicas e inorgânicas pelos sítios trocáveis (Miller 1932, Hassler 1951).

Os valores de absorbâncias dos extratos de plantas contendo diferentes quantidades de carvão ativado, com e sem adições de azomethina-H, são apresentados na Tabela 2. Os valores de absorbância obtidos com extratos sem azomethina-H e carvão ativado (0,230; 0,206; 0,253; 0,122 para café, citros, maçã e uva, respectivamente) demonstram que a coloração devido aos materiais orgânicos dissolvidos, pode causar interferências nas determinações colorimétricas de B a 420 nm. No trabalho de Wolf (1974), são discutidas influências destas interferências nas determinações de boro com azomethina-H. Os efeitos das substâncias solúveis interferentes foram, gradativamente, removidos com o aumento da quantidade de carvão ativado no extrato sem azomethina-H. As colorações dos extratos das plantas foram totalmente removidas com a adição de 100 mg de carvão ativado/alíquota de 5 ml. É importante mencionar que o extrato tem que estar totalmente claro para não causar interferências nas determinações da absorbância do

TABELA 1. Efeito do carvão ativado na adsorção de B adicionado em água, solução pura de HCl 1N e extrato de plantas, obtido pelo método sem digestão com HCl 1N.

Boro adicionado ( $\mu\text{g/ml}$ )	Boro recuperado (%)		
	Água + CA*	HCl 1N + CA*	Extrato + CA*
0,5	50	88	98
1,0	54	94	98
2,0	60	91	97
4,0	63	93	96
6,0	76	97	96
Média	61	93	98

\* CA = carvão ativado.

TABELA 2. Adição de doses crescentes de CA nos extratos de plantas com e sem azomethina-H.

Carvão ativado (mg/5 ml)	Absorbância (420 nm) de extratos de plantas			
	Café	Citros	Maçã	Uva
Sem azomethina-H				
0	0,230	0,206	0,253	0,122
25	0,038	0,044	0,021	0,001
50	0,004	0,006	0,009	0,000
75	0,000	0,002	0,003	0,000
100	0,000	0,000	0,000	0,000
150	0,000	0,000	0,000	0,000
200	0,000	0,000	0,000	0,000
Com azomethina-H				
0	0,662	0,624	0,653	0,550
25	0,478	0,455	0,419	0,428
50	0,442	0,419	0,404	0,427
75	0,435	0,419	0,400	0,429
100	0,435	0,418	0,400	0,429
150	0,432	0,418	0,400	0,429
200	0,428	0,415	0,390	0,427

complexo azomethina-B. As absorbâncias obtidas nos extratos com azomethina-H e sem carvão ativado (0,662; 0,624; 0,653; 0,550 para café, citros, maçã e uva, respectivamente) foram devidas à absorção da luz a 420 nm pelo complexo azomethina-B e às substâncias interferentes. Os valores, obtidos em extratos de plantas com adições de azomethina-H e 100 mg de carvão ativado/alíquota de 5 ml foram devidos à absorbância do complexo

azomethina-B. Os valores mais baixos de absorbância obtidos na mais alta concentração de carvão ativado adicionado no extrato com azomethina-H (200 mg/5 ml) indicam a provável adsorção de B devido ao aumento da área superficial. Os resultados demonstram que a adição do carvão ativado (100 mg/5 ml) no extrato de plantas, obtido pelo método sem digestão com HCl 1N, proporciona a total adsorção dos materiais orgânicos solúveis que interferem nas determinações colorimétricas a 420 nm, sem causar significativas remoções de B presente na solução.

#### Comparações entre métodos para extração de B em tecidos de plantas

As comparações entre os métodos com digestão seca e sem digestão para extração de B, em folhas de algumas espécies de plantas perenes cultivadas, são apresentadas na Tabela 3. Os resultados indicam que não houve diferenças significativas (teste "t" a 5%) entre os teores de B extraídos por ambos os métodos. Foi também observada uma completa descoloração dos extratos de plantas com adição de carvão ativado. Portanto, a determinação colorimétrica de B azomethina-H em extratos de plantas, obtidos pelo método sem digestão com HCl 1N, pode ser viável com adição de carvão ativado.

Uma importante observação é que o carvão ativado também adsorve uma fração significativa de cátions presentes no extrato de plantas em pH meio-ácido (dados não apresentados). Por esta razão, é conveniente que a adição do carvão ativado

TABELA 3. Comparações entre métodos de extração de B em tecidos de algumas plantas cultivadas.

Cultura	Boro extraído ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	
	Digestão seca	Sem digestão
Café	46,02 $\pm$ 0,64	45,97 $\pm$ 0,75
Citros	44,10 $\pm$ 0,75	43,98 $\pm$ 0,76
Maçã	34,96 $\pm$ 0,82	35,80 $\pm$ 0,68
Uva	61,56 $\pm$ 0,68	62,40 $\pm$ 0,69
Ameixa	32,76 $\pm$ 0,41	32,60 $\pm$ 0,39
Pêssego	27,92 $\pm$ 0,43	28,02 $\pm$ 0,41
Nectarina	28,10 $\pm$ 0,52	28,66 $\pm$ 0,53

para determinação de B seja realizada, após a coleta da alíquota para avaliações de Ca, Mg, K, Mn, Cu e Zn, pelo método sem digestão, proposto por Miyazawa et al. (1984).

A Fig. 1 mostra os resultados da extração de B pelos métodos com digestão seca e sem digestão (HCl 1N), em folhas de cafeeiros tratados com diferentes doses de B no solo. Nesta figura é apresentada apenas uma reta referente aos dados conjun-

tos dos dois métodos de extração devido à igualdade (5%), entre ambos os coeficientes de correlação. Observa-se uma correlação significativa entre os teores de B extraídos por ambos os métodos de folhas contendo concentrações variáveis ( $37 \mu\text{g}$  a  $220 \mu\text{g Bmg}^{-1}$ ). Os resultados indicaram que ambos os métodos extraíram frações idênticas de B em folhas de cafeeiro.

### CONCLUSÕES

1. A adição de carvão ativado em extratos de plantas, obtidos pelo método sem digestão com HCl 1N, eliminou as interferências nas determinações colorimétricas de B a 420 nm.
2. A adsorção de B pelo carvão ativado em um meio-ácido não foi detectada em termos de absorvância pelo aparelho utilizado.
3. A quantidade ideal de carvão ativado na solução foi de 100 mg/alíquota de 5 ml.

### REFERÊNCIAS

- BASSON, W.D.; BOHMER, R.G. & STANTON, D.A. An automated procedure for the determination of boron in plant tissue. *Analyst*, London, 94:1135-41, 1969.
- BRADFORD, G.R. Boron. In: CHAPMAN, H.D., ed. *Diagnostic criteria for plants and soils*. Riverside, Univ. of California Press, 1965. p.33-61.
- GUPTA, U.C. Some factors affecting the determination of hot-water soluble boron from podzol soils using azomethine-H. *Can. J. Soil Sci.*, 59(3):241-7, 1979.
- HASSLER, J.N. *Active carbon*. New York, Chemical, 1951. 57p.
- JACKSON, M.L. *Soil chemical analysis*. Englewood, Prentice-Hall, 1965. p.370-87.
- KOWALENKO, C.G. Sodium hypobromite digestion for boron analysis of plant and soil materials. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 10:1421-34, 1979.
- MILLER, E.J. The adsorption of electrolytes by ash-free charcoal. *J. Phys. Chem.*, 36:2967-80, 1932.
- 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.*, 15:141-7, 1984.
- WOLF, B. Improvements in the azomethine-H method for the determination of boron. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 5:39-44, 1974.

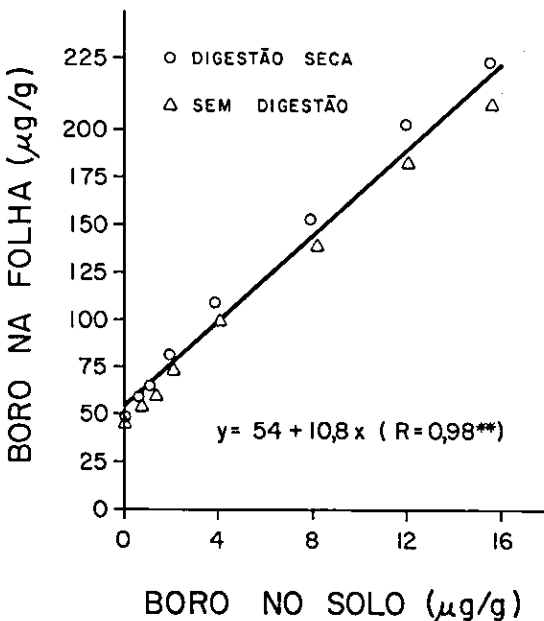


FIG. 1. Efeitos da adição de B no solo nos teores do elemento nas folhas de cafeeiro extraído pelos métodos com digestão seca e sem digestão.