

A DETERMINAÇÃO DO BORO EM PLANTAS PELO MÉTODO  
COLORIMÉTRICO DA CURCUMINA<sup>1</sup>

J.C. Alcarde<sup>2</sup>

RESUMO

O presente trabalho relata os estudos desenvolvidos sobre a determinação do boro em plantas através do método da curcumina, que se fundamenta na formação do complexo rosocianina em meio acético-sulfúrico.

Nesse método a reação de formação da rosocianina é desenvolvida em meio líquido e à temperatura ambiente, não necessitando, portanto, do controle da temperatura a  $55 \pm 3^\circ\text{C}$ , conforme é exigido pelo método comum, cujo complexo formado é principalmente rubrocurcumina. Uma alíquota do extrato do vegetal é tornada alcalina pela adição de solução de NaOH e seca em banho-maria. Sobre o resíduo obtido adicionam-se a solução acética de curcumina a 0,125% e a solução de ácido sulfúrico - ácido acético (1 + 1). A reação completa-se em 15 minutos.

No estudo da aplicação do método em plantas, diversos aspectos foram abordados, como: interferentes e sua eliminação, a solubilização do boro contido nas amostras incineradas, a contaminação do extrato de vegetal pelo papel de filtro, como consequência da filtração a que deve ser submetido, e a precisão e a exatidão do referido método.

Os resultados obtidos permitiram concluir que, dentre os elementos normalmente encontrados nas cinzas vegetais, os que interferem no citado método são o cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), o magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), o ferro ( $\text{Fe}^{3+}$ ), o manganês ( $\text{Mn}^{2+}$ ) e o cobalto ( $\text{Co}^{2+}$ ). Esses elementos foram eliminados do extrato de planta, passando-o através de resina catiônica.

O método, conforme é preconizado, pode ser considerado eficiente na determinação do boro em plantas, pois, mostrou

---

<sup>1</sup> Entregue para publicação em 30/7/1969.

<sup>2</sup> Cadeira de Química Analítica e Físico-Química-E.S.A. "Luiz de Queiroz"- USP.

possuir precisão e exatidão satisfatórios, aliadas à sua alta sensibilidade, permitindo determinar desde 2 ppm de boro em plantas, dentro do seu intervalo de menor erro.

### INTRODUÇÃO

Os métodos colorimétricos de determinação do boro são numerosos. De uma maneira geral, tem sido dada preferência aos métodos da curcumina, da quinalizarina, do ácido carmínico e da 1,1-diantramida (PORTER & SHUBERT, 1958). Dentre esses reagentes, a curcumina é a mais sensível (GOWARD & WIEDERKEHR, 1963).

Os métodos que usam a curcumina podem ser divididos em dois grupos, conforme o complexo formado seja rubrocurcumina ou rosocianina (UPPSTROM, 1968). O complexo rubrocurcumina é formado em presença de ácido oxálico, enquanto o complexo rosocianina é formado em presença de ácido mineral (SPICER & STRICKLAND, 1952a e 1952b).

Os métodos baseados na formação de rosocianina são mais sensíveis em virtude da relação boro:curcumina ser 1:2 nesse complexo, enquanto na rubrocurcumina a relação é 1:1 (SPICER & STRICKLAND, 1952a e 1952b; THIERIG & UMLAND, 1965; Roth & Miller, 1964, citados por UPPSTROM, 1968).

O método da curcumina comumente usado na determinação do boro em plantas e solos é o apresentado por DIBLE, TRUOG & BERGER (1954), os quais simplificaram o método desenvolvido por NAFTAL (1939), eliminando diversas operações de filtração e evaporação. Apesar disso, COGBILL & YOE (1955), LUKE (1955), DUCRET & SEGUIN (1957), LUKE & FLASCHEN (1958), SPICER & STRICKLAND (1958) e UPPSTROM (1968), apontam diversos fatores que devem ser rigorosamente controlados no referido método, a fim de se conseguir boa precisão. Assim, a precipitação de sais durante a evaporação, a pureza da curcumina e todos os requisitos que podem fazer variar a velocidade de evaporação, como temperatura do banho de água, conteúdo de água nos reagentes, tamanho e forma dos recipientes, etc, são os fatores mais citados. Tal método baseia-se na produção de rubrocurcumina.

HAYES & METCALFE (1962), com base nos trabalhos de SPICER & STRICKLAND (1952a; 1952b e 1958), apresentaram um método bastante sensível onde se obtém somente rosocianina, através de uma técnica simples e rápida. A reação se processa à temperatura ambiente, em meio líquido, mas não aquoso, porém fortemente ácido, não necessitando de evaporação sob temperatura con-

trolada. Aplicaram-no em diversos materiais, inclusive orgânicos.

Diversos aspectos desse método foram estudados por ALCARDE (1969) tais como: a velocidade da reação e os fatores que nela influem, efeito da presença de água, influência da temperatura, solvente, estabilidade da solução colorida, amplitude, precisão, exatidão, etc.

O presente trabalho aborda alguns estudos desenvolvidos sobre a aplicação do referido método na determinação do boro em vegetais.

#### MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais usados constaram de amostras de diversos vegetais, devidamente preparadas.

Os reativos utilizados foram os seguintes:

Solução de NaOH a 5%, em água desmineralizada.

Solução de HCl 0,1 N.

Soluções padrões de boro. Foram preparadas a partir de ácido ortobórico ( $H_3BO_3$ ) p.a., previamente seco em estufa a 50-60°C, durante 4-5 horas. Solução A, contendo 100 microgramas de boro por mililitro: dissolver 0,5720 g do  $H_3BO_3$  em água desmineralizada e completar o volume a 1 litro. Solução B contendo 25 microgramas de boro por mililitro: transferir 25 ml da solução A para balão volumétrico de 100 ml e completar o volume com água desmineralizada. Soluções padrões, contendo 0,25, 0,50, 0,75, 1,00, 1,50, 2,00 e 2,50 microgramas de boro por mililitro: transferir, por meio de microbureta, 1,00, 2,00, 3,00, 4,00, 6,00, 8,00 e 10,00 ml da solução B para balões volumétricos de 100 ml e completar os volumes com água desmineralizada.

Solução de curcumina a 0,125% em ácido acético glacial. Dissolver 0,125 g de curcumina, em 100 ml de ácido acético glacial p.a., em copo plástico e com agitação.

Solução de ácido sulfúrico-ácido acético (1+1). Adicionar 50 ml de ácido sulfúrico p.a.,  $d = 1,84$ , vagarosamente, e sob agitação constante, a 50 ml de ácido acético glacial p.a., contido num copo de plástico colocado numa cuba contendo água e gelo.

Álcool etílico a 75%. Transferir 750 ml de álcool etílico 99,5º G.L. para balão volumétrico de 1 litro e completar o volume com água desmineralizada.

Solução 4 N de HCl destilado.

Resina de troca iônica DOWEX 50W-X8 (50-100 mesh), na forma iônica  $H^+$ , com capacidade total de troca de cátions de 5,4 e.mg por grama de resina seca.

Solução de HCl (1+1).

Com exceção do álcool etílico, HCl 4N e HCl (1+1), todas as demais soluções foram armazenadas em frascos plásticos.

Preparo das colunas de resina. As colunas foram preparadas utilizando um sistema percolador de vidro constituído de um tubo de 135 mm de altura e 5 mm de diâmetro interno, possuindo na parte inferior uma torneira de rôlha esmerilhada (do tipo de bureta), para controle da vazão do líquido percolado e na parte superior um depósito de, aproximadamente, 75 ml. Para evitar a passagem de resina pela rôlha esmerilhada, sobre esta foi colocada uma pequena porção de algodão, no fundo do tubo.

Pesar 2,0 g de resina, colocar em suspensão em água desmineralizada e transferir para o sistema percolador, após o que deve ser colocada outra porção de algodão sobre a resina. Esse sistema, assim preparado, dá uma vazão de, aproximadamente, 2 ml por minuto. A regeneração da resina (eluição dos cátions retidos) é feita lavando-a com 3 a 4 porções de 5 ml de solução 4 N de HCl destilado, seguida de 3 a 4 porções de água desmineralizada.

O método de determinação do boro em plantas é o seguinte (ALCARDE, 1969):

Preparo da curva padrão.

a) Transferir 1 ml das soluções padrões de boro contendo 0,25, 0,50, 1,00, 1,50, 2,00 e 2,50 microgramas por mililitro, para copos de plástico de 100 ml, os quais já devem conter 1 ml de solução de NaOH a 5%.

b) Homogeneizar e colocar os copos em banho-maria até secagem completa.

c) Retirar do banho, esperar esfriar, adicionar 3ml da solução de curcumina a 0,125% e voltar os copos ao banho para dissolver os resíduos por, no máximo, 3 minutos, sendo que a temperatura do banho não deve exceder a 90°C.

d) Deixar esfriar, adicionar 2 ml da solução de ácido sulfúrico-ácido acético (1+1), homogeneizar e deixar reagir por 15 minutos.

e) Juntar, ao conteúdo dos copos, álcool etílico a 75%, transferir para balões volumétricos de 50 ml e, com o mesmo álcool, completar o volume dos balões, tomando o cuidado de deixar esfriar, por alguns minutos, antes de se atingir o volume final.

f) Filtrar, se necessário, e proceder à leitura das soluções a 540 milimicrons ou usando o filtro nº 55 do colorímetro Klett-Summerson.

g) Desenvolver uma prova em branco usando 1 ml de água desmineralizada no lugar do padrão de boro. Recomenda-se que todo o material de vidro ou de plástico utilizado seja previamente lavado com solução de HCl (1+1).

#### Procedimento

a) Pesar 0,2500 ou 0,5000 g da amostra seca e moída transferir para uma cápsula de porcelana e incinerar a 500-550°C, até a obtenção de cinza clara.

b) Retirar do forno, deixar esfriar e adicionar 10 ml de solução de HCl 0,1 N, agitando, em seguida, com um bastão provido de ponta de borracha.

c) Filtrar por papel Whatman nº 1, de 6 centímetros de diâmetro.

d) Passar 5 ml do filtrado através da coluna de resina catiônica e lavar a coluna com, no mínimo, duas porções de 2 ml de água desmineralizada, recebendo os eluídos num balão volumétrico de 10 ml ou de 25 ml.

e) Completar o volume e transferir 5 ml dessa solução para copo de plástico de 100 ml, o qual já deve conter 1 ml de solução de NaOH a 5%. Prosseguir conforme foi descrito para a curva padrão, a partir do item b.

f) Desenvolver uma prova em branco a partir do item b deste procedimento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Estudo dos interferentes

Em vista das referências, até certo ponto contraditórias, a respeito dos interferentes no presente método da curcumina, emitida por numerosos autores (ALCARDE, 1969), nesse estudo foram abordados, praticamente, todos os elementos encontrados em cinzas vegetais, ou seja, fósforo (P), potássio ( $K^+$ ), cálcio ( $Ca^{2+}$ ), magnésio ( $Mg^{2+}$ ), cobre ( $Cu^{2+}$ ), zinco ( $Zn^{2+}$ ), ferro ( $Fe^{3+}$ ), alumínio ( $Al^{3+}$ ), cobalto ( $Co^{2+}$ ), manganês ( $Mn^{2+}$ ), molibdênio ( $MoO_4^{2-}$ ) e silício ( $SiO_2$ ).

Os resultados mostraram que fósforo (até 8 mg de P), potássio (até 50 mg de  $K^+$ ), cobre (até 100 ug de  $Cu^{2+}$ ), zinco (até 500 ug de  $Zn^{2+}$ ), alumínio (até 500 ug de  $Al^{3+}$ ) e molibdênio (até 100 ug de Mo como  $MoO_4^{2-}$ ), não interferiram. Por outro lado, cálcio (desde 1 mg de  $Ca^{2+}$ ), magnésio (desde 1 mg de  $Mg^{2+}$ ), ferro (desde 1 ug de  $Fe^{3+}$ ), manganês (desde 20 ug de  $Mn^{2+}$ ), e cobalto (desde 20 ug de  $Co^{2+}$ ) influenciaram (ALCARDE, 1969).

Em virtude de todos os interferentes serem cátions, o problema foi contornado eliminando-os da solução através do uso de resina catiônica. A técnica do emprêgo de resina trocadora de cátions, na separação desses íons contidos em extratos de material vegetal, foi estudada por GLÓRIA & VITTI (1968).

A aplicação e a eficiência da referida técnica foi estudada utilizando soluções padrões de boro contendo todos os cátions encontrados em cinzas vegetais e em concentrações equivalentes a um extrato de vegetal. Os resultados permitiram concluir que a ação da resina foi eficiente na separação dos cátions interferentes (ALCARDE, 1969).

A influência da sílica, conforme relata HAYES & METCALFE (1962), também foi estudada usando materiais vegetais altamente silicosos, como folhas de arroz (3,71% de  $SiO_2$ ) e folhas de milho (5,99% de  $SiO_2$ ). Os resultados não acusaram nenhuma influência da sílica no método em aprêço (ALCARDE, 1969).

### Estudo da precisão e exatidão do método

O estudo da precisão foi feito determinando-se o conteúdo de boro em diversos vegetais, com 5 repetições. Os resultados acham-se no Quadro 1.

QUADRO 1 - Estudo da precisão do método através da variação dos resultados obtidos na determinação do boro em plantas (5 repetições)

Materiais	ppm de boro	C.V.(%)
Café (Fôlhas)	72,7 ± 0,28	0,87
Café (Frutos)	32,2 ± 0,24	1,68
Citrus (Fôlhas)	22,4 ± 0,00	0,00
Arroz (Fôlhas)	11,2 ± 0,00	0,00
Cana (Fôlhas)	4,3 ± 0,12	6,28

Pelo exame dos desvios padrões das médias e dos coeficientes de variação, apresentados no Quadro 1 e considerando que o coeficiente de variação médio para os cinco vegetais é de 1,77%, pode-se concluir que o método tem satisfatória precisão, para a determinação do boro em vegetais.

A exatidão do método foi avaliada através de um ensaio de recuperação, trabalhando com as mesmas amostras usadas no estudo da precisão. Antes da incineração, foram adicionados sobre as amostras já pesadas, 1 ml de solução padrão de boro contendo 4,88 ug/ml e 1 ml de solução saturada de  $\text{Ca(OH)}_2$  (para prevenir perda de boro), sendo posteriormente secas em estufa a 70-80°C. Os dados obtidos com 5 repetições, assim como os cálculos relativos à quantidade de boro recuperada, estão no Quadro 2.

Portanto, em vista dos dados apresentados, pode-se considerar que o método é dotado de apreciável exatidão, quando aplicado na determinação do boro em plantas.

Um fato de relativa importância diz respeito ao papel de filtro usado na filtração do extrato de vegetal. Isto porque os referidos papéis podem conter boro e contaminam o extrato, como foi constatado com os papéis Whatman nº 1 e o S&S 589, faixa branca, que apresentaram, respectivamente, 2,8 e 14,1 ppm de boro. Contudo, usando o papel Whatman nº 1, o desenvolvimento de uma prova em branco em condições idênticas às determinações deduziu satisfatoriamente a contaminação (ALCARDE, 1969).

Finalmente, verificou-se que a retomada das cinzas vegetais com 5 ml de HCl 0,1 N e mais 5 ml de água desmineralizada, conforme recomendam DIBLE, TRUOG & BERGER (1954), é insuficiente para solubilizar todo o boro para amostras de 0,5000 g.

Para tal quantidade de amostra são necessários 10 ml de HCl 0,1 N.

QUADRO 2 - Resultados do ensaio de recuperação do boro em plantas. Médias de 5 repetições.

Materiais	p p m d e b o r o			% de recuperação
	adicionado	determinado	recuperado	
Cafê (fôlhas)	0,0	72,7 ± 0,28		
Cafê (fôlhas)	19,5	91,2 ± 0,00	18,5	98,9
Cafê (frutos)	0,0	32,2 ± 0,24		
Cafê (frutos)	19,5	52,1 ± 0,92	19,9	100,8
Citrus(fôlhas)	0,0	22,4 ± 0,00		
Citrus(fôlhas)	19,5	41,0 ± 0,24	18,6	97,9
Arroz (fôlhas)	0,0	11,2 ± 0,00		
Arroz (fôlhas)	19,5	30,0 ± 0,38	18,8	97,7
Cana (fôlhas)	0,0	4,3 ± 0,12		
Cana (fôlhas)	19,5	23,3 ± 0,21	19,0	97,9

#### CONCLUSÕES

Com base nos dados obtidos pode-se concluir que:

a) dentre os elementos normalmente encontrados em cinzas de vegetais, os que influem no método em apreço são o cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), o magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) e mais acentuadamente o ferro ( $\text{Fe}^{3+}$ ), o manganês ( $\text{Mn}^{2+}$ ) e o cobalto ( $\text{Co}^{2+}$ );

b) o problema dos interferentes foi satisfatoriamente resolvido eliminando-os da solução através do uso de resina trocadora de cátions;

c) a retomada das cinzas de vegetais, provenientes de amostras de 0,2500 g ou 0,5000 g, deve ser feita com 10 ml de HCl 0,1 N, visto que 5 ml de HCl 0,1 N e mais 5 ml de água desmineralizada não são suficientes para solubilizar todo o boro contido nas cinzas de uma amostra de 0,5000 g.

d) o método, conforme é preconizado, pode ser considerado eficiente na determinação do boro em plantas. Mostrou possuir precisão e exatidão satisfatórias, aliadas à sua alta sensibilidade, permitindo determinar desde 2 ppm de boro em plantas, dentro do seu intervalo de menor erro.



## SUMMARY

The determination of boron in vegetables by the curcumin colorimetric method is based on the formation of the rosocianin complex in acetic-sulphuric media.

In this procedure the reaction takes place in solution at room temperature, needing not to control the temperature at 55 °C, as with the common method in which the rubrocurcumin complex is formed. An aliquot of the vegetable extract is rendered alkaline by adding a solution of NaOH and then dried over a vapor bath. To the residue is added a 0,125% curcumin acetic solution and a (1 + 1) acetic-sulphuric solution. The reaction is completed in 15 minutes.

In the application of the method to plant materials analysis, several aspects were studied: interferences and their elimination, the recovery of boron from the ashed samples, the contamination due to filtration through paper filter, and the precision and accuracy of the method.

Among the normally found elements in vegetable ash, the one interfering were:  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  and  $\text{Co}^{2+}$ . They were separated by passing the extract through cation exchange resin.

The method, as described, may be considered efficient for the boron determination in vegetables, since it showed good precision and accuracy, coupled with high sensitivity, allowing the determination of as low as 2 ppm of boron in vegetables, within the limits of the least errors.

## LITERATURA CITADA

- ALCARDE, J.C., 1969. A determinação do boro pelo método colorimétrico da curcumina. Tese apresentada à E.S.A. "Luiz de Queiroz", para obtenção do título de "Doutor em Agronomia". USP, Piracicaba. 78 pp (mimeografadas).
- COGBILL, E.C. & J.H. YOE, 1955. Derivatives of anthrarufin, chryzazin and quinizarin as colorimetric reagents for boron. *Analytica chim. Acta*, 12: 455-463.
- DIBLE, W.T., E. TRUOG & K.C. BERGER, 1954. Boron determination in soils and plants. *Analyt. Chem.*, 26: 418-421

- DUCRET, L. & P. SEGUIN, 1957. Separation et dosage de traces de bore dans le silicium. I. Application de la methode d'extraction chloroformique sous forme de fluoborate de tetraphenylarsonium. *Analytica chim. Acta*, 17:207-212.
- GLÓRIA, N.A. & G.C. VITTI, 1968. Emprêgo de coluna trocadora de cátions na separação de cátions e ânions de extrato de material vegetal. No prelo dos Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz", USP, Piracicaba.
- GOWARD, G.W. & V.R. WIEDERKEHR, 1963. Sensitivities and other properties of reagents for the spectrophotometric determination of boron. *Analyt. Chem.*, 53: 1542-1545.
- HAYES, M.R. & J. METCALFE, 1962. The boron-curcumin complex in the determination of traces amounts of boron. *Analyst*, London, 87: 956-969.
- LUKE, C.L., 1955. Determination of traces of boron in silicon, germanium and germanium dioxide. *Analyt. Chem.*, 27: 1150-1153.
- LUKE, C.L. & S.S. FLASCHEN, 1958. Photometric determination of traces of boron in silicon. *Analyt. Chem.*; 30:1406-1409.
- NAFTEL, J.A., 1939. Colorimetric microdetermination of boron. *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.*, 11: 407-409.
- PORTER, G. & R.C. SHUBERT, 1958. Boron. Em: Colorimetric Determination of Nonmetals - Chemical Analysis. Vol. 8, pg. 339-353. Editado por D.F. Boltz. Interscience Publishers, New York.
- SPICER, G.S. & J.D.H. STRICKLAND, 1952a. Compounds of curcumin and boric acid. Part I. The structure of rosocianin. *J. Chem. Soc.*, 4: 4644-4650.
- SPICER, G.S. & J.D.H. STRICKLAND, 1952b. Compounds of curcumin and boric acid. Part II. The structure of rubrocurcumin. *J. Chem. Soc.*, 4: 4650-4653.
- SPICER, G.S. & J.D.H. STRICKLAND, 1958. The determination of microgram and sub-microgram amounts of boron. Part I. Absortimetric determination using curcumin. *Analytica chim. Acta*, 18: 231-239.

THIERIG, D. & F. UMLAND, 1965. Photometrische Borbestimmung in Nanogram. - Bereich nach Extraktion des Bor - Curcumin - Komplexes. Z. Anal. Chem., Bd., 211: 161-169.

UPPSTROM, L.R., 1968. A modified method for determination of boron with curcumin and a simplified water elimination procedure. Analytica chim. Acta, 43: 475-486.

