

CONCLUSIONS

The following observations and conclusions were drawn from the results of this study:

— Soil types affect plant growth, as expressed in dry matter yield.

— Amounts of dry matter in t/ha, produced at 12 months of age are:

Parts of the plant	Soils		
	LR	LE t/ha	PVls
Stalks	33.99	32.10	24.27
Leaves	11.79	10.15	11.94
"Stalks + leaves"	45.78	42.25	36.24

— Soil type affects nitrogen, phosphorus and potassium extractions by "stalks + leaves".

— At 12 months of age, the "stalks + leaves" extract the following amounts of nutrients, in kg/ha:

Nutrients	Soils		
	LR	LE kg/ha	PVls
N	164.79	137.93	135.66
P	25.88	15.52	25.99
K	223.59	161.74	189.41

— The following decreasing order is observed in the extraction ("stalks + leaves"): $K > N > P$.

— Soil type affects N, P and K removal by stalks.

— The amounts of N, P and K removed by stalks in kg/ha at 12 months of age are:

Nutrients	Soils		
	LR	LE kg/ha	PVls
N	88.38	80.01	73.57
P	16.21	8.81	16.01
K	101.14	56.13	77.31
t stalks/ha (green weight)	131	118	90

REFERENCES

1. Ayres, A. 1936. Effect of age upon the absorption of mineral nutrients by sugarcane under field conditions. *J. of the Am. Soc. of Agronomy*, 28(11): 871-886.
2. Carvalho, L. C. C. e Graça, L. R. 1976. Produtividade agrícola da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo. *Brasil Açucareiro*, 88(4): 36-59.
3. Catani, R. A., Arruda, H. C., Pelegrino, D. e Bergamin Fº, H. 1959. A absorção de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre pela cana-de-açúcar, Co419, e o seu crescimento em função da idade. *Anais da ESALQ*, Piracicaba, 16: 167-190.
4. Dillewijn, C. Van. 1952. *Botany of sugarcane*. Waltham, Chronica Botanica, 371 p.
5. Espironello, A. e Oliveira, H. 1972. *Orientação geral para adubação da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo*. Campinas, Instituto Agrônômico, 16 p. (Boletim nº 201.)
6. Golden, L. E. 1961. Nutrient uptake by sugarcane in Louisiana. *The Sugar J.*, 23(11): 22-24.
7. Long, A. C. 1972. Distribution of jamor and trace elements in sugarcane. *Rhodésia Agr. J.*, 69(6): 119.
8. Orlando Fº, J. 1975. Cana-de-açúcar: recomendação de adubação para o Estado de São Paulo. *Brasil Açucareiro*, 86(6): 9-12.
9. Orlando Fº, J. e Haag, H. P. 1976. Influência varietal e do solo no estado nutricional da cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) pela análise foliar. Araras, Planalsucar, 52 p. (*Boletim Técnico n.º 2*).
10. Planalsucar 1976. *Relatório Anual — Estações experimentais*. Rio de Janeiro, 88 p.
11. Sarruge, J. R. e Haag, H. P. 1974. *Análise química em plantas*. Piracicaba, ESALQ-USP, 56 p.
12. Steward, M. J. 1969. Potassium and sugarcane. *The South Afr. Sug. J.*, 53(2): 108-121.

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS COM O REAGENTE DE FOLIN-DENIS

Recebido para publicação em 18/8/1980

I. BIANCHINI JR. e A. P. P. TOLEDO, Universidade Federal de São Carlos, 13560, São Carlos, SP.

ABSTRACT. *Phenolic compounds determination with the Folin-Denis reagent*. In this note the authors describe and discuss experiments carried out to verify the stability of the colour developed by using the Folin-Denis reagent in phenolic substances determinations as to the influence of the elapsed time between the addition of the reagent and the absorbance.

The wave length influence used to the absorbance lecture was also studied.

RESUMO. Foi estudada a estabilidade da cor desenvolvida pelo reagente de Folin-Denis, para a determinação de substâncias fenólicas, verificando-se a influência do tempo decorrido entre a introdução do reagente e a leitura da absorbância.

INTRODUÇÃO

As substâncias fenólicas estão largamente distribuídas no reino vegetal, desempenhando múltiplas funções, algumas das quais ainda não convenientemente estudadas.

Por outro lado, essas substâncias assumem grande importância ecológica quando liberadas para o ambiente como produtos de excreção ou de decomposição, quer pelos efeitos que exercem sobre outros organismos, quer como matéria-prima nos processos de humificação.

Assim, o seu estudo, bem como dos seus efeitos, têm merecido uma atenção cada vez maior por parte de vários pesquisadores, mostrando a necessidade de uma padronização de metodologia para uma mais eficiente comparação de resultados.

O primeiro problema no estudo de compostos fenólicos de plantas é a sua extração do tecido vegetal com um mínimo de alteração na estrutura química, e outro é o apresentado pelos métodos de dosagem e caracterização de componentes individuais.

A esse respeito, os diversos componentes fenólicos têm sido determinados por cromatografia e espectroscopia, Ribereau-Gayon (2), White (5), Roberts (3), Walker (4) e muitos outros. Para a dosagem de fenóis totais, tem sido usado o método de Folin-Denis e o índice de permanganato, como descritos por Ribereau-Gayon (2).

Este trabalho tem por objetivo comparar a influência de alguns parâmetros do método de Folin-Denis, visando uma padronização de metodologia para proporcionar resultados mais facilmente comparáveis.

Assim, foi estudada a influência do tempo decorrido, entre a reação com o reagente de Folin-Denis e a leitura da cor desenvolvida, bem como do comprimento de onda utilizado para a leitura dos resultados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi testado o reagente de Folin-Denis, preparado de acordo com recomendação da Association of Office Agric Chemists, como descrito por Ribereau-Gayon (2). Assim, 100g de tungstato de sódio dihidratado, 20g de ácido fosfomolibdico e 50 ml de ácido fosfórico são dissolvidos em 750 ml de água destilada. Essa solução é fervida a refluxo por 2 horas e completada a um litro após esfriar.

Paralelamente, foi preparada uma solução de carbonato de sódio, dissolvendo-se 35g do sal anidro em 100 ml de água a 70-80°C. Essa solução foi deixada em repouso por 12 horas e filtrada em lâ de vidro.

Em balões volumétricos de 50 ml, foram adicionados 4,0 ml da amostra, 33,0 ml de água, 2,5 ml do reagente de Folin-Denis, 10,0 ml da solução de carbonato de sódio e completados com água destilada e, após agitação por 20 minutos, a absorbância era lida no comprimento de onda adequado, usando como branco uma solução preparada da mesma maneira com 4,0 ml de água destilada como amostra.

Como amostra, foi usada solução de fenol P. A., tendo sido ensaiados os comprimentos de onda de 660 nm (colorímetro Atago, filtro vermelho com comprimento de onda nominal de 660 nm) e 760 nm (espectrofotômetro Beckman 25 K), pois Ribereau-Gayon recomenda comprimento de onda na faixa de 730-760 nm e Allen *et al.* (1) recomendam 760 nm ou filtro vermelho. Os resultados são apresentados na Fig. 1. Foi também levantado o espectro de absorção, usando-se o espectrofotômetro Beckman 25 K (Fig. 2).

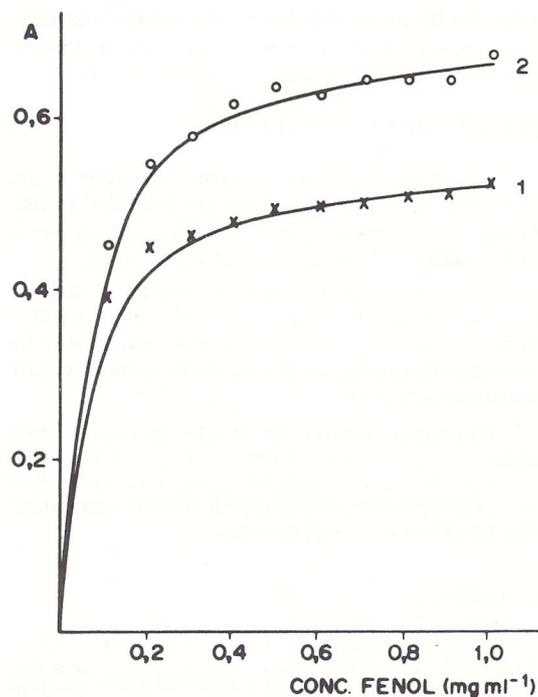


Figura 1. Curva de calibração para a determinação de fenóis, onde a curva 1 refere-se a leituras efetuadas com espectrofotômetro Beckman 25 K, a 760 nm, e a curva 2 refere-se a leituras obtidas em colorímetro Atago, com filtro vermelho (660 nm).

Finalmente, foi ensaiada a estabilidade de cor desenvolvida pelo reagente de Folin-Denis, lendo-se a absorbância das amostras logo que preparadas e após alguns intervalos de tempo. Assim, efetuou-se leituras a cada 30 minutos até o intervalo de 6 horas e

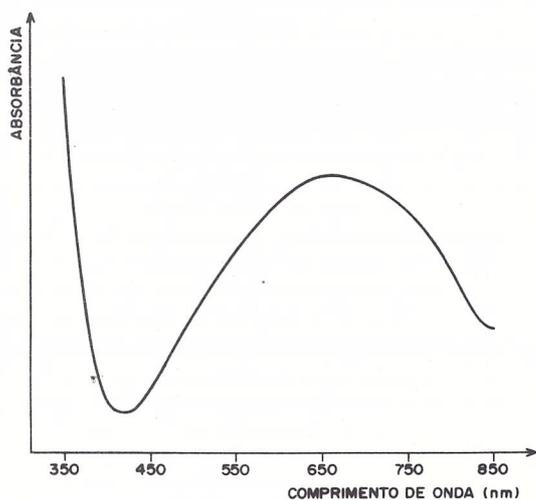


Figura 2. Espectro de absorção para a reação do reagente de Folin-Denis com fenol, obtida em espectrofotômetro Beckman 25 K.

após 15 e 40 horas. Neste ensaio, verificou-se também a possibilidade de usar-se água destilada como branco como recomendado por Allen *et al.* (1).

RESULTADOS E CONCLUSÕES

Os resultados obtidos mostram claramente um desvio de valores quando se usa água destilada como branco, como seria de se esperar, por não haver a compensação da coloração própria do reagente.

Quanto à estabilidade de cor, podemos concluir que até 6 horas de tempo decorrido entre a introdução do reagente e a leitura da absorbância não há alteração alguma e que com 15 horas já há alteração bastante grande.

Finalmente, quanto ao comprimento de onda utilizado para a leitura de absorbância, a Fig. 2 mostra claramente que pode ser utilizada a faixa de 550 a 800 nm, sendo 650 nm o comprimento de onda ideal, ou então 350 nm, já no ultravioleta.

REFERÊNCIAS

1. Allen, S. E., Grimshaw, H. M., Parkinson, J. A. e Quarmby, C. 1974. *Chemical analysis of ecological materials*. Allen, S. E. org. Blackwell Scientific Publications, Londres, 565 p.
2. Ribereau-Gayon, P. 1972. *Plant phenolics*. Heywood, V. H. org. Hafner Publishing N. Y., 254 p.

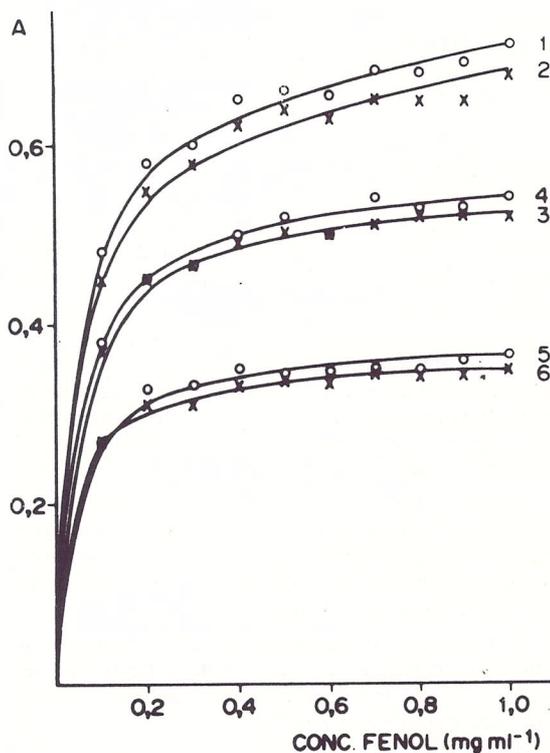


Figura 3. Influência do tempo decorrido entre a adição do reagente Folin-Denis e a leitura de absorbância, onde as curvas de números ímpares foram obtidas usando-se água destilada como branco e as pares Folin-Denis e carbono, as duas curvas superiores referem-se ao tempo zero, as duas inferiores a 40 horas e as intermediárias a 15 horas.

3. Roberts, E. A. H. 1956. Paper chromatography as an aid to the elucidation of the structure of polyphenols occurring in tea. In *The chemistry of vegetable tannins — a symposium*. Society of Leather Trade's Chemists, Inglaterra.
4. Walker, J. R. L. 1975. *The biology of plant phenolics*. Edward Arnold Limited, Londres, 56 p.
5. White, T. 1956. The scope of vegetable tannin chemistry. In *The chemistry of vegetable tannins — a symposium*. Society of Leather Trade's Chemists, Inglaterra.

AGRADECIMENTOS

Somos gratos à FAPESP pela concessão de uma bolsa de mestrado I (Proc. 79/0826), e ao grupo de genética molecular da UFSCar, pelas facilidades para a execução do presente trabalho e constante apoio.