

Comparação de métodos de determinação do carbono orgânico em solos de Portugal

Comparison of organic carbon determination methods in Portuguese soils

Filipa Couchinho*, Ana Marta Paz, Raquel Mano, Maria Moura, João Antunes, Nádia Castanheira & Maria Conceição Gonçalves

Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), Oeiras, Portugal
(*E-mail: filipa.couchinho@iniav.pt)
<https://doi.org/10.19084/rca.38529>

Recebido/received: 2024.08.31
Aceite/accepted: 2024.10.25

RESUMO

A matéria orgânica é fundamental para funções do solo como sejam a regulação dos ciclos de carbono, nutrientes e água ou a sua capacidade produtiva. A monitorização deste parâmetro, avaliado pelo teor de C orgânico (C_{org}), pode ser complexa, dada a sua lenta evolução no tempo e elevada variabilidade no espaço. Assim, é fundamental definir métodos confiáveis de quantificação do C_{org} no solo, permitindo uma monitorização adequada. Existem vários métodos para determinação do C_{org} no solo, entre eles o método de Walkley-Black e o método de combustão seca. O primeiro permite obter a concentração de C_{org} no solo, pelo cálculo da quantidade de Cr^{3+} formado na reação de oxidação do C_{org} pelo $K_2Cr_2O_7$, e posteriormente medido por espectrofotometria de absorção molecular. No segundo, a combustão da amostra transforma o C presente em CO_2 , que foi medido por cromatografia gasosa com deteção por condutividade térmica. O teor de C_{org} é calculado a partir do teor de C total, subtraindo o C inorgânico presente sob a forma de carbonatos. Este estudo compara os resultados destes dois métodos em 278 amostras de diferentes tipos de solos da região sul de Portugal. Os resultados mostram uma elevada concordância entre ambos os métodos.

Palavras-chave: Carbono orgânico, matéria orgânica, método de Walkley-Black, método de combustão seca, comparação estatística

ABSTRACT

Soil organic matter is fundamental for soil functions such as the regulation of carbon, nutrient and water cycles or its productive capacity. Monitoring this parameter, assessed by the organic C content (C_{org}), can be complex, given its slow evolution over time and high variability in space. Therefore, it is essential to define reliable methods for quantifying C_{org} in soil, allowing adequate monitoring. There are several methods for determining C_{org} in soil, including the Walkley-Black method and the dry combustion method. The first allows you to directly obtain C_{org} concentration in the soil, by calculating the amount of Cr^{3+} formed in the C_{org} oxidation reaction by $K_2Cr_2O_7$, and subsequently measured by molecular absorption spectrophotometry. In the second method, the combustion of the sample transforms the C in CO_2 , which was measured by gas chromatography with thermal conductivity detection. The C_{org} content is calculated from the total C content, subtracting the inorganic C present in the form of carbonates. This study compares the results of these two methods with samples from different types of soil in the southern region of Portugal, with forestry and agricultural uses. The results show a high level of agreement between the two methods.

Keywords: Soil organic carbon, organic matter, Walkley-Black method, dry combustion method, statistical comparison

INTRODUÇÃO

É amplamente reconhecido que a matéria orgânica (MO) influencia muitas propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos, contribuindo para funções do solo como a regulação do ciclo de carbono, a capacidade de retenção de água, a fertilidade do solo, a capacidade de infiltração de água, e diminui o risco de erosão. Em consequência, a MO é um indicador-chave da qualidade e saúde do solo (Blanco-Canqui *et al.*, 2013; Obalum *et al.*, 2017). A importância da MO na saúde do solo acentua o esforço que deve ser feito para estabilizar e aumentar as reservas globais de MO no solo. Nesse sentido é importante identificar e implementar práticas de gestão do solo adequadas à realidade local. A aproximação a esse objetivo permitirá aumentar a resiliência do solo para a produção de alimentos, especialmente a sua capacidade para resistir às perturbações causadas pelas alterações climáticas e mitigar os impactos de eventos climáticos extremos nos solos e nas culturas (FAO & ITPS, 2015).

A quantificação precisa da concentração de C_{org} é um desafio face à sua lenta evolução no tempo e elevada variabilidade no espaço (Haynes, 2005). De forma a poder monitorizar e analisar a variação da MO no solo é fundamental definir métodos confiáveis de quantificação do C_{org} no solo. A determinação da MO, avaliada pelo teor de C_{org} , é um procedimento comum em laboratórios de análise de solo. O C_{org} do solo pode ser medido por via seca, por exemplo pelo método de combustão seca (ISO 10694:1995) e também por via húmida, por exemplo pelo método de Walkley-Black (FAO, 2019).

A implementação do método de Walkley-Black no laboratório de solos do INIAV ocorreu há várias décadas. Recentemente, foram realizadas adaptações a este método, motivadas principalmente pela necessidade de contribuir para a harmonização dos dados analíticos do solo a nível global, um objetivo incentivado pela Rede Global de Laboratórios de Solos da FAO (GLOSOLAN). Este esforço visa poder ter dados confiáveis e comparáveis entre países e projetos, apoiando assim a tomada de decisões fundamentadas na gestão sustentável do solo. A adaptação no método de Walkley-Black tornou premente comparar os resultados com um método padrão, o método de combustão seca

(ISO 10694:1995). Também permitiu tornar o método ambientalmente mais sustentável pelo fato de se reduzirem os volumes de reagentes usados.

O método de combustão seca tem como vantagem ser mais ecológico por dispensar reagentes e ter uma elevada precisão (Ramamoorthi & Meena, 2018). No entanto, o custo de um analisador elementar, bem como os custos de manutenção e operação, dificultam a implementação do método em muitos laboratórios. O método de Walkley-Black tem sido mais largamente utilizado para medir o C_{org} do solo por usar de equipamentos geralmente mais comuns nos laboratórios, a nível global. No entanto, apresenta riscos para a saúde humana e o ambiente, pois utiliza $K_2Cr_2O_7$, um reagente altamente tóxico e cancerígeno (Mouridi *et al.*, 2023). Também a oxidação incompleta do C_{org} é uma desvantagem porque, sem calor externo, podem não ser atingidas as temperaturas ideais para a oxidação total, afetando os resultados. Walkley & Black (1934) sugerem que o método leva à oxidação cerca de 75% do C_{org} e propuseram utilizar um fator de correção 1,3 para quantificar o teor total de C_{org} . No entanto, alguns autores alertaram para a elevada variabilidade dos fatores de correção em solos superficiais, por exemplo, para solos russos, pode variar entre 1,09 e 2,27 (Bremner & Jenkinson, 1960; Bahadori & Tofighi, 2017).

O objetivo principal deste estudo foi comparar dois métodos de análise do carbono orgânico: o método de Walkley-Black, tal como harmonizado no procedimento operativo da GLOSOLAN (FAO, 2019) e o método de combustão seca num analisador elementar, de acordo com a norma ISO 10694 (1995).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas 278 amostras de solos da região sul de Portugal (Figura 1), com uso florestal e agrícola, colhidas à profundidade 0-20 cm e também para 20-30 cm em alguns locais de amostragem, no âmbito do projeto de investigação N.º AgroClima 3.3.

A Figura 2 mostra a percentagem dos diferentes tipos de solo do conjunto de amostras usado neste trabalho, com base na Cartografia dos Solos à escala 1:25000 (SNIS, 2024) segundo a classificação

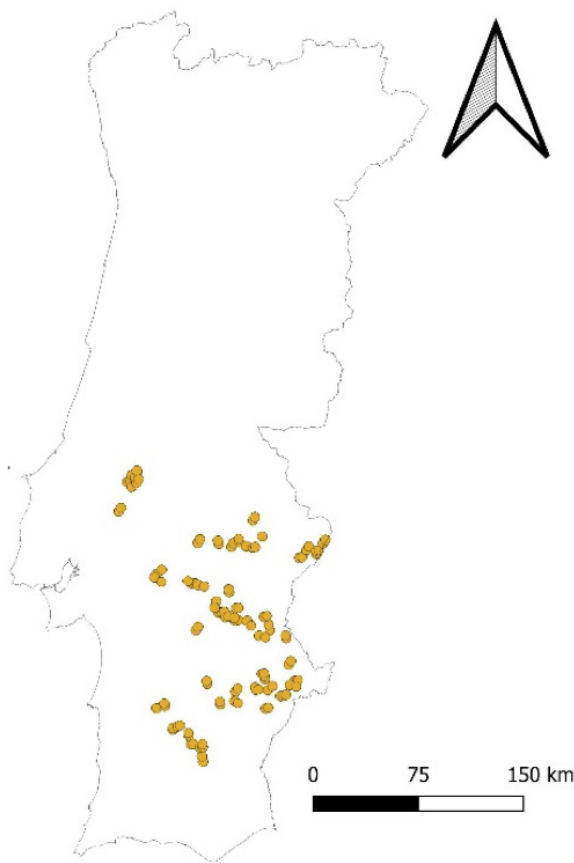


Figura 1 - Localização dos pontos de amostragem em estudo.

dos solos de Portugal desenvolvida pelo Serviço de Reconhecimento e Ordenamento Agrário (SROA).

A análise destas amostras pelo método de Walkley-Black foi feita no Laboratório de Solos do INIAV em Oeiras. A análise por combustão seca foi feita no Laboratório de Análise de Solos do INAV em Lisboa.

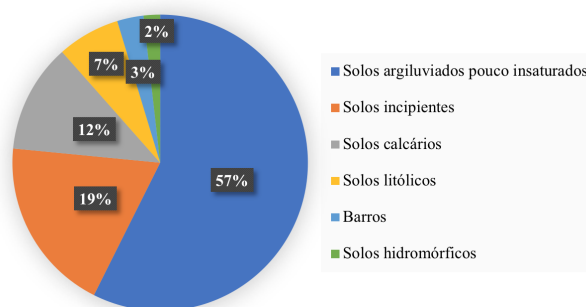


Figura 2 - Gráfico circular com as percentagens de cada tipo de solos nas amostras em estudo.

No método de Walkley-Black foi implementado de acordo com o procedimento da (FAO, 2019). A massa de solo foi 0,25 g (quando $C_{org} < 2\%$) ou 0,1 g (quando $C_{org} > 2\%$) crivada a 2 mm. A esta amostra foram adicionados 2 mL de $K_2Cr_2O_7$ e 5 mL de H_2SO_4 , viabilizando a reação de oxidação de C_{org} em meio ácido sem fornecimento de calor externo. O teor de ião Cr^{3+} , proporcional ao teor de C_{org} oxidado, foi determinado por espectrofotometria de absorção molecular, a 588 nm, usando uma curva de calibração elaborada com padrões de sacarose (0-8 mg C). A percentagem de C_{org} é calculada através da seguinte fórmula:

$$C_{org} (g/kg) = \frac{C_{amostra} - C_{branco}}{m} \times FC \times mcf$$

Onde: $C_{amostra}$ = quantidade de C na amostra (g)

C_{branco} = quantidade de C no ensaio em branco (g)

m = massa da amostra seca ao ar (kg)

FC = fator de correção de oxidação

mcf = fator de correção de humidade $[(100 + \text{teor de água gravimétrico do solo} (\%)) / 100]$

No método de combustão seca, a massa da amostra foi de 0,048-0,052 g, o que implicou a moagem fina do solo. No analisador elementar a amostra foi injetada numa fornalha catalítica a 950 °C e todo o C presente foi convertido em CO_2 com uma injeção de oxigénio puro e arrastado por um fluxo de gás inerte (He), através de uma coluna de cromatografia gasosa até ao detetor de condutividade térmica. O C_{org} foi calculado a partir do teor total de C, subtraindo o carbono inorgânico presente na amostra sob a forma de carbonatos. O teor de carbonatos totais foi determinado segundo a norma ISO 10693:1995 com adição de ácido clorídrico 4M à amostra de solo e consequente decomposição dos carbonatos. O volume de produzido foi medido num calcímetro de Scheibler e comparado com o volume de dióxido de carbono produzido por carbonato de cálcio puro.

A MO foi obtida multiplicando o valor de C_{org} por 1,724, pressupondo um teor de 58% de carbono. Os resultados foram expressos em função da

massa de solo seca a 105 °C tendo sido o teor de água calculado segundo a norma ISSO 11465:1993. Como controlo de qualidade das análises empregaram-se materiais de referência certificados. No caso da combustão seca: Elemental microanalysis Soil Standard Clay Ref. B2184 e Leco Soil Standard 502-062. No caso do método Walkley Black: Matrix Reference Material AgroMAT – Sandy Soil (AG-2) e AgroMAT – Clay Soil (AG-1).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No método de Walkley-Black o C_{org} é obtido diretamente, mas o mesmo não acontece com a combustão seca, uma vez que o teor de C_{org} que é calculado a partir do teor de C total, subtraindo o C inorgânico presente na amostra sob a forma de $CaCO_3$. A Figura 3 mostra a relação entre a concentração de $CaCO_3$ e de C_{org} . Das amostras em estudo, 33,8% contêm $CaCO_3$, não existindo correlação entre as concentrações de $CaCO_3$ e C_{org} .

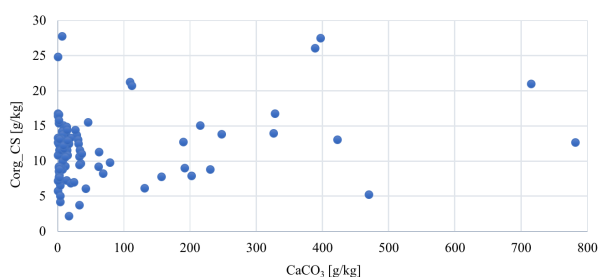


Figura 3 - Relação entre as concentrações de C_{org} pelo método da combustão seca e $CaCO_3$ das amostras com presença de $CaCO_3$ (94 amostras).

Quadro 1 - Estatística descritiva de C_{org} e MO das 278 amostras pelos dois métodos

Estatística descritiva	Método de Walkley-Black		Método de combustão seca	
	C_{org} (g/kg)	MO (g/kg)	C_{org} (g/kg)	MO (g/kg)
Mínimo	1,28	2,21	2,25	3,88
Máximo	30,04	51,79	27,77	47,87
Média	9,18	15,83	9,30	16,03
Desvio-padrão	4,26	7,34	4,08	7,03

Quadro 2 - Correlação entre o C_{org} determinado pelo método de Walkley-Black e pelo método de combustão seca

Equação de regressão	Intervalo a 95% de conf. para o coef. de regressão	r^2	r	Erro padrão da regressão
$y = 0,9138x + 0,9053$	$a = [0,88 ; 0,95]$ $b = [0,55 ; 1,26]$	0,91	0,95	1,25

O Quadro 1 mostra que as amostras de solo apresentaram uma gama de concentrações de C_{org} entre 1,3 e 30,1 g/kg e de MO entre 2,2 (muito baixo) a 51,8 g/kg (alto) (Calouro, 2022). A média de C_{org} foi de 9,2 g/kg no método de Walkley-Black e de 9,3 g/kg na combustão seca. O desvio-padrão foi de 4,3 no método de Walkley-Black e de 4,1 no método de combustão seca.

A Figura 4 mostra a correlação entre os valores de C_{org} determinado pelos métodos de Walkley-Black e da combustão seca. Existe uma elevada correlação entre os valores determinados pelos dois métodos, com um coeficiente de determinação $R^2 = 0,91$. A reta de regressão é muito próxima da reta 1:1, com um declive (a) de 0,91 e ordenada na origem (b) de 0,91. O intervalo de confiança a 95% está entre 0,88 e 0,95 para a e entre 0,55 e 1,26 para b (Quadro 2).

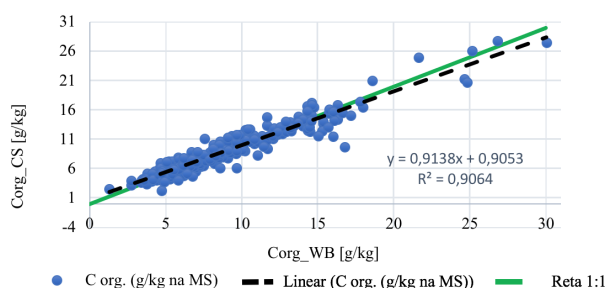


Figura 4 - Regressão entre os teores de C_{org} para os dois métodos em estudo.

Na Figura 5 apresenta o gráfico de Bland-Altman modificado com limite de concordância de 95 % para os dois métodos em estudo, uma vez que não foi verificada a distribuição normal das diferenças entre os valores dos pares de dado (Bland & Altman, 1999). A Figura 2 mostra que existe uma elevada concordância entre os métodos, uma vez que a diferença entre os dados de C_{org} determinados a partir de método de Walkley-Black e do método de combustão seca em relação à média desses

mesmos valores, encontra-se principalmente entre o percentil 5 e o percentil 95. Para valores acima de 20 g/kg de C_{org} , não é evidente a concordância entre os métodos dada a escassez de amostras nessa gama (6 pares de dados).

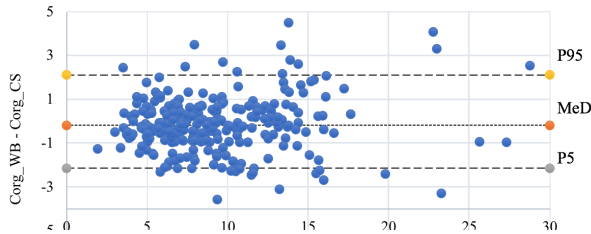


Figura 5 - Gráfico de Bland-Altman modificado com limite de concordância de 95 % com as retas da mediana (MeD), percentil 5 (P5) e percentil 95 (P95).

Segundo a FAO, no método de Walkley-Black a recuperação do C_{org} não é total, estando normalmente entre os 75-90 % em solos superficiais (FAO, 2019). Apesar de existir uma variação do FC mais adequada para cada tipo de solo, a aplicação do FC de 1,3 parece ser adequada para os solos estudados uma vez que o r^2 e o r são bastante próximos de 1. Relativamente às variações mais acentuadas nos valores de C_{org} para os dois métodos em alguns pontos de amostragem, há que ter em consideração que o

método de Walkley-Black está sujeito a algumas interferências de elementos como cloretos, óxidos de Mn e Fe, que reagem com o H_2CrO_4 e levam a valores incorretos de C_{org} . Apesar de não ter sido possível confirmar a presença destes elementos é importante colocar essa hipótese. Por outro lado, os resultados do C_{org} obtido por combustão seca são afetados pelo erro resultante da determinação dos carbonatos.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que há uma elevada concordância entre o método de Walkley-Black e o método de combustão seca para determinação do C_{org} para os solos em estudo. Para solos com uma concentração de C_{org} acima de 20 g/kg a concordância não é evidente dada a escassez de amostras de solo nessa gama.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi efetuado no âmbito do projeto N.º AgroClima 3.3 - Quantificar os efeitos das medidas agroambientais no aumento de sequestro do solo e na redução de emissões de GEE - Fertilização do Solo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bahadori, M. & Tofighi, H. (2017) - Investigation of Soil Organic Carbon Recovery by the Walkley-Black Method Under Diverse Vegetation Systems. *Soil Science*, vol. 182, n. 3, p. 101-106.
<https://doi.org/10.1097/ss.0000000000000201>
- Blanco-Canqui, H.; Shapiro, C.A.; Wortmann, C.S.; Drijber, R.A.; Mamo, M.; Shaver, T.M. & Ferguson, R.B. (2013) - Soil organic carbon: The value to soil properties. *Journal of Soil and Water Conservation*, vol. 68, n. 5, p. 129-134. <https://doi.org/10.2489/jswc.68.5.129A>
- Bland, J.M. & Altman, D.G. (1999) - Measuring agreement in method comparison studies. *Statistical Methods in Medical Research*, vol. 8, n. 2, p. 135-160. <https://doi.org/10.1177/096228029900800204>
- Bremner, J. & Jenkinson, D. (1960) - Determination of organic carbon in soil. I. Oxidation by dichromate of organic matter in soil and plant materials. *European Journal of Soil Science*, vol. 11, n. 2, p. 394-402.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1960.tb01093.x>
- Calouro, F. (2022) - *Manual de fertilização das culturas*. 3ª ed. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. - INIAV.
- FAO (2019) - *Standard operating procedure for soil organic carbon. Walkley-Black method: Titration and colorimetric method*. Food and Agriculture Organisation, Rome.
<https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/e498d73e-1711-4d18-9183-aa8476387e2c/content>
- FAO & ITPS (2015) - *Status of the World's Soil Resources (SWSR) – Main Report*. Roma, Itália: Food and Agriculture Organization of the United Nations and Intergovernmental Technical Panel on Soils.
<https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/6>
- Haynes, R.J. (2005) - Labile Organic Matter Fractions as Central Components of the Quality of Agricultural Soils: An Overview. In: D. Sparks (Ed.) - *Advances in Agronomy*, vol. 85, p. 221-268. San Diego: Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(04\)85005-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(04)85005-3)
- ISO 10694 (1995) – *Soil quality – Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis)*. Geneva: International Organization for Standardization.
- Mouridi, Z.E.; Ziri, R.; Douaik, A.; Bennani, S.; Lembaid, I.; Bouharou, L. & Moussadek, R. (2023) - Comparison between Walkley-Black and Loss on Ignition Methods for Organic Matter Estimation in Different Moroccan Soils. *Ecological Engineering & Environmental Technology*, vol. 4, p. 253-259.
<https://doi.org/10.12912/27197050/163121>
- Obalum, S.E.; Chibuike, G.U.; Peth, S. & Ouyang, Y. (2017) - Soil organic matter as sole indicator of soil degradation. *Environmental Monitoring and Assessment*, vol. 189, n. 4, art. 176.
<https://doi.org/10.1007/s10661-017-5881-y>
- Ramamoorthi, V. & Meena, S. (2018) - Quantification of Soil Organic Carbon - Comparison of Wet Oxidation and Dry Combustion Methods. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, vol. 7, n. 10, p. 146-154. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2018.710.01>
- SNIS (2024) - SNIS - Sistema Nacional de Informação do Solo - DGADR. [cit. 2024.10.15].
<https://snisolos.dgadr.gov.pt/>
- Walkley, A.J. and Black, I.A. (1934) - Estimation of soil organic carbon by the chromic acid titration method. *Soil Science*, vol. 37, n. 1, p. 29-38. <http://dx.doi.org/10.1097/00010694-193401000-00003>