



RODRIGO LUIZ CHAVES DE CAMPOS

**MÉTODOS DE ANÁLISE QUÍMICA PARA
DETERMINAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA
TOTAL E SUAS FRAÇÕES EM AMOSTRAS DE
SOLO**

**LAVRAS - MG
2011**

RODRIGO LUIZ CHAVES DE CAMPOS

**MÉTODOS DE ANÁLISE QUÍMICA PARA DETERMINAÇÃO DA
MATÉRIA ORGÂNICA TOTAL E SUAS FRAÇÕES EM AMOSTRAS
DE SOLO**

Monografia apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Curso de Pós-Graduação Lato
Sensu em Química, para a
obtenção do título de Especialista
em Química.

Orientador

Dr. WALCLÉE DE CARVALHO MELO

Co-Orientador

Dr. MANUEL CLÁUDIO MOTTA MACEDO

**LAVRAS – MG
2011**

RODRIGO LUIZ CHAVES DE CAMPOS

**MÉTODOS DE ANÁLISE QUÍMICA PARA DETERMINAÇÃO DA
MATÉRIA ORGÂNICA TOTAL E SUAS FRAÇÕES EM AMOSTRAS
DE SOLO**

Monografia apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Curso de Pós-Graduação Lato
Sensu em Química, para a
obtenção do título de Especialista
em Química.

23 de Março de 2011

Orientador

Dr. WALCLÉE DE CARVALHO MELO

Co-Orientador

Dr. MANUEL CLÁUDIO MOTTA MACEDO

**LAVRAS – MG
2011**

À Deus pela saúde e oportunidade da realização do curso.

A meus familiares e minha amada Esposa, pelo apoio e demonstração de orgulho mútuo.

AGRADECIMENTOS

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), em especial à Embrapa Gado de Corte, pela oportunidade concedida, na utilização das suas dependências e apoio financeiro para a realização do curso de especialização.

Aos colegas e amigos: Fábio Lúcio Petrucci, Gustavo Eugênio Barrocas, Heraldo Miranda da Fonseca, Rinaldo Dario Bandeira Duarte e Odivaldo Nantes Goulart pela cooperação técnica de fundamental importância para realização dos experimentos.

Ao pesquisador e amigo Alexandre Romeiro de Araújo, pela importante ajuda na reta final desta monografia.

Ao pesquisador Manuel Cláudio Motta Macedo e ao Professor Walclée de Carvalho Melo pelo incentivo, suporte, paciência e orientação para o desenvolvimento do presente trabalho.

RESUMO

Nos últimos anos, a produção agrícola mundial tem aumentado consideravelmente para atender o crescimento da população e, com isso, os recursos naturais do solo têm sofrido grande demanda de nutrientes. A matéria orgânica do solo (MOS), medida pelos teores de carbono, é uma das principais indicadoras do uso sustentável das áreas agrícolas em produção. Dada a sua importância, este trabalho teve como objetivo avaliar métodos químicos de procedimento simples para determinação da matéria orgânica total. Estes devem ser apropriados para aplicação em uso de rotina, possuir boa precisão e adequado custo-benefício. A estimativa da MOS é medida pelos teores do carbono total – COT, sendo que uma de suas frações que corresponde ao carbono ativo é denominada carbono lábil (CL). Para a realização dos testes e análises, foram escolhidas 48 amostras de solo que foram submetidas a 12 tratamentos, com 4 repetições, coletadas em um Latossolo Vermelho (LV) sob vegetação original de Cerrado, onde está sendo conduzido um experimento de Integração Lavoura-Pecuária, na Embrapa Gado de Corte. Foram determinados os teores de COT, utilizando o método Dakota do Sul modificado e por combustão seca, e o CL através do processo de fracionamento físico (FF) e da oxidação parcial em solução de permanganato de potássio (KMnO_4), com concentrações de 330mM e 60mM. A leitura foi realizada em colorímetro UV/VIS em comprimento de onda de 565 nm. Comparou-se os resultados obtidos, por meio de análise de correlação, nos dados dos teores de CL, obtidos pelo método de fracionamento físico e da oxidação com KMnO_4 , assim como os de COT, analisados pelo método de combustão úmida (Dakota do Sul modificado) e por combustão seca (CS) em auto-analisador Sumika-NC900, acoplado a um cromatógrafo gasoso Shimadzu-GC08A. Os resultados de COT e CL, efetuados respectivamente, pelos métodos de Dakota do Sul modificado e

da oxidação com KMnO_4 , apresentaram correlação significativa com os dados obtidos pela análise de COT e pelo fracionamento físico, ambos por CS. Destacam-se os resultados obtidos pelo método da oxidação do CL com a solução de KMnO_4 a 60mM, o qual apresentou boa acurácia, e praticidade para aplicação na rotina de laboratórios de solo.

Palavras-chave: sustentabilidade, matéria orgânica, frações da matéria orgânica, carbono lábil, oxidação do carbono.

ABSTRACT

In recent years, agricultural production worldwide is increasing significantly to meet population growth, and for this reason, natural resources from the soil have experienced high demand of nutrients. The soil organic matter (SOM), measured by carbon content, is a leading indicator of sustainability in agricultural producing areas. Given its importance, the aim of this paper was to present chemical methods of cost-effective and simple procedure (routine application in good accuracy and repeatability) for determination of total organic matter (as measured by total carbon content - TC) and one of the fractions corresponding to activated carbon (labile-LC) in soil samples. To perform the analysis, were selected 48 soil samples subjected to 12 treatments, with 4 replications, collected under an Oxisol, from the Brazilian Savannas, in an experiment of Crop-Livestock Integration, at Embrapa Beef Cattle Center. Levels of TC were determined using the modified South Dakota and dry combustion methods, and LC through the process of physical fractionation and partial oxidation in a solution of potassium permanganate (KMnO_4), with concentrations of 330mM and 60mM. Samples extracts were read in a colorimeter UV / VIS, with spectrum set at 565 nm. Comparisons were made with results obtained through the correlation of data obtained from levels of LC analyzed, respectively, by the method of physical fractionation and oxidation with KMnO_4 and TC, and from the wet combustion method (modified South Dakota) and by dry combustion (DC) obtained by an auto-analyzer Sumika-NC900 coupled to a gas chromatograph Shimadzu-GC08A. The final results of TC and LC estimated by the methods of South Dakota modified and oxidation with KMnO_4 , showed high correlation with results obtained by physical fractionation and by analysis of TC, both made for DC. It is worth

mentioning the results of oxidation of LC with KMnO_4 solution to 60 mM, which method showed accuracy and to be practical for routine application in soil analysis laboratories.

Keywords: sustainability, organic matter, organic matter fractions, labile carbon, Carbon oxidation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1. FIGURAS

FIGURA 1. Ciclo e compartimentos globais do carbono. Fonte: Lal (1999).....	19
FIGURA 2. Ciclo e principais compartimentos de carbono no sistema solo-planta-atmosfera. (Adaptado de Stevenson, 1986).....	20
FIGURA 3. Fatores que condicionam a decomposição de resíduos orgânicos no solo. Fonte: Noordwijk <i>et al.</i> (1997).....	22
FIGURA 4. Esquema em diagrama dos principais compartimentos da matéria orgânica do solo. (Adaptado de Machado, 1999).	23
FIGURA 5. Modelo descritivo da organização especial das partículas minerais e orgânicas do solo. Complexo organo-mineral secundário (COM-secundário) e material orgânica livre ou fração leve livre. Os COM-secundários são formados por agragação dos COM-primários.....	25
FIGURA 6. Esquema de fracionamento densimétrico.....	26
FIGURA 7. Gráfico comparativo dos valores médios de MOS (em %) por tratamento entre os métodos de combustão seca e Dakota do Sul modificado.....	49
FIGURA 8. Gráfico de dispersão dos valores médios de MOS (em %) por tratamento entre os métodos de combustão seca e Dakota do Sul modificado com a equação da reta média e coeficiente de correlação entre eles.....	49
FIGURA 9. Gráfico comparativo dos valores médios de MOS (em %) por tratamento entre os métodos de combustão seca e Dakota do Sul modificado e a diferença pontual entre os tratamentos.....	50
FIGURA 10. Gráfico de dispersão dos valores médios de CL (em mg/g) por tratamento entre os métodos de oxidação do CL por permanganato de potássio a	

60mM e 333mM, com a equação da reta média e coeficiente de correlação entre eles.....	42
FIGURA 11. Gráfico comparativo dos valores médios de CL (em mg/g) por tratamento entre os métodos de oxidação do CL por permanganato de potássio a 60mM, 333mM e fracionamento físico.....	53
FIGURA 12. Gráfico de dispersão dos valores médios de CL (em mg/g) por tratamento entre os métodos de oxidação do CL por permanganato de potássio a 333mM e fracionamento físico, com a equação da reta média e coeficiente de correlação entre eles.....	53
FIGURA 13. Gráfico de dispersão dos valores médios de CL (em mg/g) por tratamento entre os métodos de oxidação do CL por permanganato de potássio a 60mM e fracionamento físico, com a equação da reta média e coeficiente de correlação entre eles.....	54
FIGURA 14. Gráfico de dispersão dos valores médios de CL (em mg/g) por tratamento entre os métodos de oxidação do CL por permanganato de potássio a 60mM e fracionamento físico, com a equação da reta média e coeficiente de correlação entre eles.....	56
FIGURA 15. Gráfico comparativo dos valores médios de CL (em mg/g) por tratamento entre os métodos de oxidação do CL por permanganato de potássio a 60mM e fracionamento físico.....	56

2. TABELAS

TABELA 1. Equações e coeficientes de correlações entre os teores de MOS determinado pelo método Walkley & Black (X) e as leituras colorimétricas para os quatro métodos em estudo (Y) (Quaggio & Raij, 1979).....	31
---	----

TABELA 2. Tratamentos (manejos) que as amostras de solo foram submetidas.....	41
TABELA 3. Valores médios de MOS (em %) por tratamento.....	48
TABELA 4. Valores médios de CL por tratamento (em mg/g) de solo.....	51
TABELA 5. Valores médios de CL por tratamento (em mg/g) de solo.....	55

LISTA DE ABREVIACOES

- CL – Carbono lábil (orgânico)
- CMI – Carbon Management Index
- COP – Carbono orgânico particulado
- CS – Combustão seca
- CT – Carbono Total (orgânico)
- CTC – Capacidade de troca inica do solo
- CU – Combustão mida
- DSM – Método Dakota do Sul modificado
- FF – Método de fracionamento físico
- g – Grama
- LVE – Latossolo Vermelho escuro
- M – Molar
- mg – mili grama
- mM – mili molar
- MOP – Matéria orgânica particulada
- MOS – Matéria orgânica do solo (equivale a MOS)
- MOT - Matéria orgânica total do solo
- N – Normal
- Pg – Pico grama
- UV/VIS – Ultra-violeta / visível (espectro)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	16
REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
1. ESTOQUES DE CARBONO E A IMPORTÂNCIA DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO NA REGIÃO TROPICAL.....	18
2. CARACTERIZAÇÃO E FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO.....	20
2.1 - MODELOS E FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO.....	20
2.2- FRACIONAMENTO DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO – MÉTODOS COMUNS UTILIZADOS.....	24
2.2.1 – Limitações dos métodos de fracionamento físico e químico.....	27
2.2.1.A – Fracionamento químico.....	27
2.2.1.B – Fracionamento físico – Densimétrico e granulométrico.....	28
3. MÉTODOS PRÁTICOS PARA DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE CARBONO TOTAL E FRACIONAMENTO DA MATÉRIA ORGÂNICA.....	28
3.1 - DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE CARBONO TOTAL EM AMOSTRAS DE SOLO – MÉTODO WALKLEY & BLACK E DAKOTA DO SUL MODIFICADO.....	28
3.2 - DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE CARBONO LÁBIL, POR OXIDAÇÃO PARCIAL COM SOLUÇÃO DE PERMANGANATO DE POTÁSSIO (KMnO ₄).....	31
3.2.1 - Característica da solução aquosa de permanganato de potássio.....	33

3.2.2 - Permanganato de potássio em meio neutro (para oxidação).....	34
3.2.3 - Permanganato de potássio em meio ácido (para padronização).....	35
3.2.4 - Métodos disponíveis para padronização do KMnO_4	37
3.2.4.A - Oxalato de sódio $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$	37
3.2.4.B - Trióxido de arsênio As_2O_3	39

MATERIAIS E MÉTODOS.....41

1. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SOLO PARA ANÁLISE.....	41
2. DETERMINAÇÃO DO CARBONO TOTAL – MÉTODO DAKOTA DO SUL MODIFICADO E COMBUSTÃO SECA.....	42
2.1 – CARBONO TOTAL POR COMBUSTÃO SECA.....	42
2.2 – CARBONO TOTAL POR COMBUSTÃO ÚMIDA – MÉTODO DAKOTA DO SUL MODIFICADO.....	42
3 DETERMINAÇÃO DO CARBONO LÁBIL.....	43
3.1 – FRACIONAMENTO FÍSICO.....	43
3.2 – OXIDAÇÃO PARCIAL COM PERMANGANATO DE POTÁSSIO.....	44
3.2.1 - Preparo da solução de permanganato de potássio e padronização.....	44
3.2.2 - Operação de oxidação do carbono lábil aplicado às amostras de solo.....	45
3.2.2 - A – KMnO_4 a 333mM.....	46
3.2.2 .B – KMnO_4 a 60mM.....	46

RESULTADOS E DISCUSSAO..... 48

1. DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE CARBONO TOTAL-METODO DAKOTA DO SUL MODIFICADO E COMBUSTÃO SECA.....	48
---	----

2. DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE CARBONO LÁBIL.....	50
2.1 – OXIDAÇÃO COM KMnO_4 – COMPARATIVO ENTRE KMnO_4 A 333mM E 60mM.....	51
2.2 – OXIDAÇÃO DO CL COM KMnO_4 A 60mM E FRACIONAMENTO FÍSICO.....	54
CONCLUSÃO.....	58
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

INTRODUÇÃO

A matéria orgânica do solo (MOS) é importante na disponibilidade de nutrientes, na agregação do solo e no fluxo de gases de efeito estufa, entre a superfície terrestre e a atmosfera. Modelos para a compreensão da dinâmica da MOS são ferramentas essenciais na predição dos efeitos das mudanças ocorridas pelo manejo das áreas agrícolas produtoras, para testar cenários específicos e desenvolver estratégias que mitiguem o efeito negativo destas mudanças.

São muitos os estudos para desenvolver modelos adequados (ou que se aproximam da realidade) para as alterações na matéria orgânica do solo. Porém, alguns desses modelos não podem ser aplicados em certos tipos de solo encontrados pelo mundo, pois as frações da MOS podem se diferenciar por causa da qualidade do solo estudado e o quanto estão sofrendo mudanças provenientes de reações químicas naturais.

Um dos modelos de manejo sustentável da MOS que abrange grande aceitação pelos pesquisadores da área de fertilidade de solos foi estudado por Swift et al. (1991), citados por Blair et al. (1995). Eles se baseiam em que a MOS possui frações e cada uma irá responder diferentemente na forma de manejo e uso do solo, e a decomposição e síntese das frações dependem de processos físico-químicos e biológicos, que estão sujeitos a alterações pelo manejo. Uma das frações importantes da MOS é o carbono lábil (CL) no qual, por definição, consiste em compostos orgânicos que tem mais facilidade de serem mineralizados pelos microorganismos presentes no solo. Em laboratório, há vários métodos que se baseiam nesse fracionamento. Um exemplo, muito conhecido, é o de separar fisicamente uma das frações através de peneiras com granulação específica e, posteriormente, realizar as análises químicas do retido. Contudo, esse método é bastante trabalhoso e dificulta a sua aplicação na rotina.

Segundo Loginow et al. (1987), o processo de separação das frações da MOS em solo deve ser adequado para avaliar as transformações da mesma nos solos, tendo em vista que isso depende de microorganismos e que se deve mensurar, e também, a disponibilidade da MOS à ação decompositora da biomassa microbiana. O carbono lábil, então, hipoteticamente, pode ser considerado o carbono oxidável sob ação de uma solução de KMnO_4 a 333mM, pois há uma correlação com o carbono oxidado pelos microorganismos presentes no solo em função da produção de CO_2 - Loginow et al. (1987). Isto se dá pelo processo de decomposição feita pelos microorganismos da MOS do solo ser realizada por oxidação enzimática. Loginow et al. (1987) desenvolveu esse método analítico e posteriormente modificado por Blair et al. (1995) e Shang & Tiessen (1997).

O objetivo do presente trabalho foi o de testar e validar métodos analíticos práticos e de bom custo-benefício para quantificação do carbono total (COT) e do carbono lábil (CL), em amostras de solo submetidas a 12 manejos diferentes, em um experimento de Integração Lavoura-Pecuária, conduzido em um Latossolo Vermelho, na Embrapa Gado de Corte em Campo Grande, MS.

REFERENCIAL TEÓRICO

1. ESTOQUES DE CARBONO E A IMPORTÂNCIA DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO NA REGIÃO TROPICAL

A MOS do solo é constituída basicamente por C, H, O, N, S e P, sendo que o C compreende cerca de 58% da MOS (Stevenson & Cole, 1999). Devido à grande participação do C na constituição dos materiais orgânicos, a dinâmica da MOS está diretamente relacionada ao ciclo de C, de forma que os estudos sobre caracterização, dinâmica e funções da MOS são realizados, principalmente, por meio do carbono.

A importância da MOS é abrangente, assim como sua constituição. Sua atuação influencia tanto na melhoria de condições físicas (aeração, maior retenção e armazenamento de água) quanto nas propriedades químicas e físico-químicas, bem como no fornecimento de nutrientes às plantas e na maior capacidade de troca catiônica do solo (CTC). Proporciona também um ambiente adequado ao estabelecimento e à atividade da microbiota.

Para entender a importância da MOS, exige-se conhecimento dos diferentes compartimentos de carbono em termos globais. De acordo com Lal (2001), o C está armazenado nos seguintes compartimentos: oceânico (38.000 Pg), geológico (5.000 Pg), biosfera, que corresponde ao solo (2.500 Pg) + biota terrestre (620 Pg) e atmosférico (760 Pg). Esses valores expressam a importância da MOS para os ecossistemas terrestres.

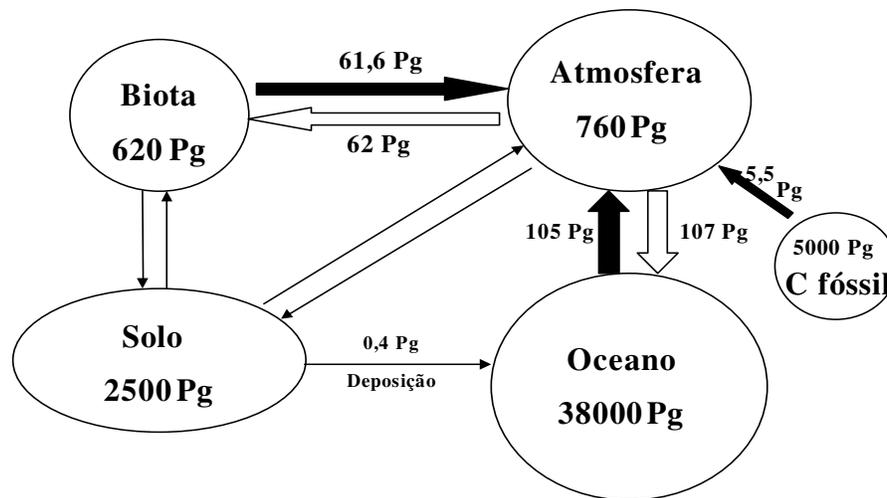


FIGURA 1. Ciclo e compartimentos globais do carbono. Fonte: Lal (1999).

Os sistemas de manejo alteram os estoques de C. Uma média de C em solo sob sistemas de manejo foi de 56,6 mg/ha, enquanto que, no cerrado nativo, o estoque foi de 68,4mg/ha (até 30cm de profundidade) – Jantalia et al., 2007). Marchão et al. (2008) encontraram diferenças nos estoques de C em solo sob diferentes usos conforme a forma de determinação desses estoques, principalmente pela influência da densidade do solo.

A MOS tem importância primária na manutenção do equilíbrio dos estoques de carbono nos ecossistemas terrestres e nas suas relações com as demais esferas fundamentais (atmosfera, hidrosfera e litosfera). Mudanças nos estoques de C do solo podem levar a alterações significativas nos teores de C-CO₂ na atmosfera, que está. Também, intimamente relacionada com os processos que ocorrem na biosfera e na hidrosfera (Lal, 2008).

Além de sua importância ambiental, através do ciclo do carbono, a MOS tem importância direta ou indireta nas atividades agrícolas, principalmente em solos na região tropical, caracterizados por elevado grau de intemperismo. Nesses solos, entre outras contribuições, a MOS exerce influência em

propriedades químicas e físicas do solo, como: na CTC (Rein & Duxbury, 2008), na agregação (Salton et al., 2008), na retenção de água e no fornecimento de nutrientes (Silva & Resck, 1997).

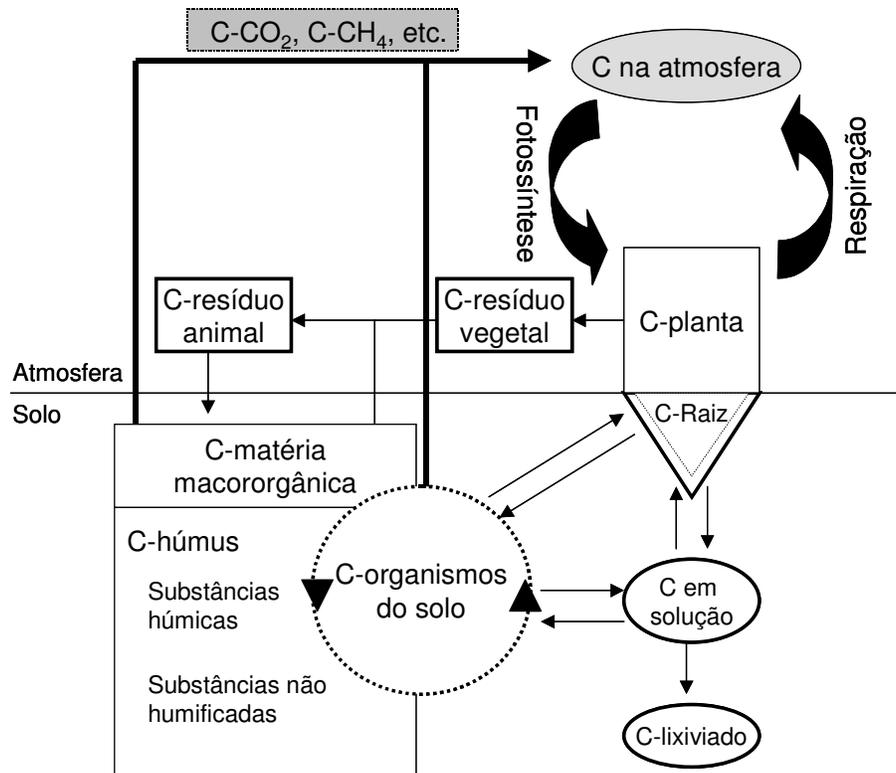


FIGURA 2. Ciclo e principais compartimentos de carbono no sistema solo-planta-atmosfera. (Adaptado de Stevenson, 1986).

2. CARACTERIZAÇÃO E FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO

2.1 - MODELOS E FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGANICA DO SOLO

As frações orgânicas do solo podem ser arbitrariamente estabelecidas com base em critérios de localização, composição química ou grau de estabilidade do material orgânico (Baldock & Nelson, 2000). Alguns modelos têm sido apresentados com o objetivo de separar os diversos componentes da MOS (Woomer et al., 1994; Duxbury et al., 1989).

O modelo conceitual de Duxbury et al. (1989) considera as partes da MOS como reservatórios protegidos (física e quimicamente protegidos) e não protegidos (LÁBIL e BIO). O reservatório BIO, também conhecido como ATIVO, é constituído pela fauna e pela flora microbiana do solo. Sua persistência em solos de regiões tropicais é mais curta do que de regiões temperadas. Já o reservatório LABIL é constituído de materiais prontamente disponíveis para decomposição por ataque microbiano – fração mais “jovem”. Os reservatórios física (COP) e quimicamente protegidos (COM) são dotados de mecanismos de proteção contra a decomposição microbiana.

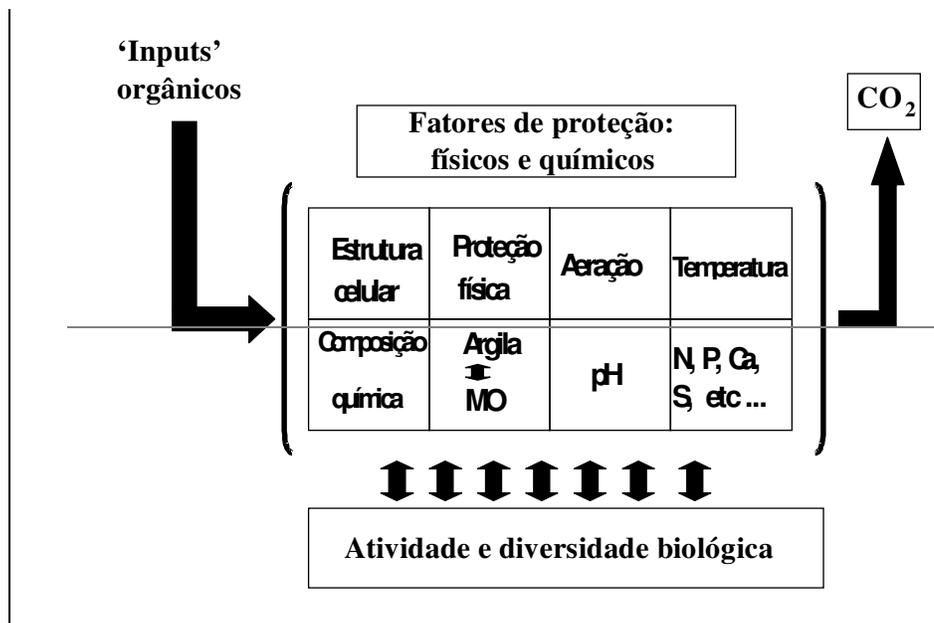


FIGURA 3. Fatores que condicionam a decomposição de resíduos orgânicos no solo. Fonte: Noordwijk *et al.* (1997).

Baldock (2002) também apresenta uma divisão dos diferentes componentes da MOS. Trata-se de um modelo estático, cuja diferenciação da composição dos componentes orgânicos é baseada em padrões biológicos, na composição química, ou ,ainda em mistura de composição química e características físicas. Assim, pode-se afirmar que a divisão é abrangente e didática. São dois os principais componentes da MOS apresentados pelo autor: matéria orgânica viva e morta. A primeira é dividida em fitomassa (tecidos vivos de origem vegetal), biomassa microbiana (materiais orgânicos associados à faina vida do solo). A segunda é composta por matéria orgânica dissolvida (materiais orgânicos em solução com um diâmetro esférico $< 0,45\mu\text{m}$) e matéria orgânica particulada (fragmentos orgânicos com estruturas celulares reconhecíveis). Nesta categoria, são incluídos matérias de liteira (localizados na superfície do solo e desprovidos de partículas minerais), matéria microrgânica (fragmentos de material orgânico $> 53\mu\text{m}$ de diâmetro) e da fração leve (materiais orgânicos separados do solo por flotação). Ainda nesta categoria, Baldock (2002) inclui o húmus (biomoléculas alteradas e inalteradas) e a matéria orgânica inerte (altamente carbonizada, carvão).

Diekow (2003), por meio de informações oriundas de diferentes autores, resumiu os diferentes tipos de frações da matéria orgânica em três grupos: a) frações com base na localização da matéria orgânica (particulada, associada com os minerais, dissolvida, inerte e biomassa microbiana); b) frações com base na composição química da matéria orgânica (biomoléculas com estruturas moleculares e substâncias húmicas com estrutura molecular); c) frações com base o grau de estabilidade da matéria orgânica.

A partir da combinação das frações baseadas na localização com as frações baseadas na composição química, pode-se estabelecer um terceiro grupo de frações orgânicas, com base o grau de estabilidade que estas possuem ao ataque microbiano (Baldock & Skjemstad, 2000). De forma simplificada, duas

frações podem ser estabelecidas a partir desse modelo: a lábil e a estável. A primeira é mais propensa ao ataque microbiano que a segunda, pois sua localização física e sua composição química permitem isso, como, por exemplo, a celulose localizada na matéria orgânica particulada (MOP). São exemplos de fração estável as substâncias húmicas associadas aos minerais, cujos compostos apresentam recalcitrância molecular e atuam o processo coloidal.

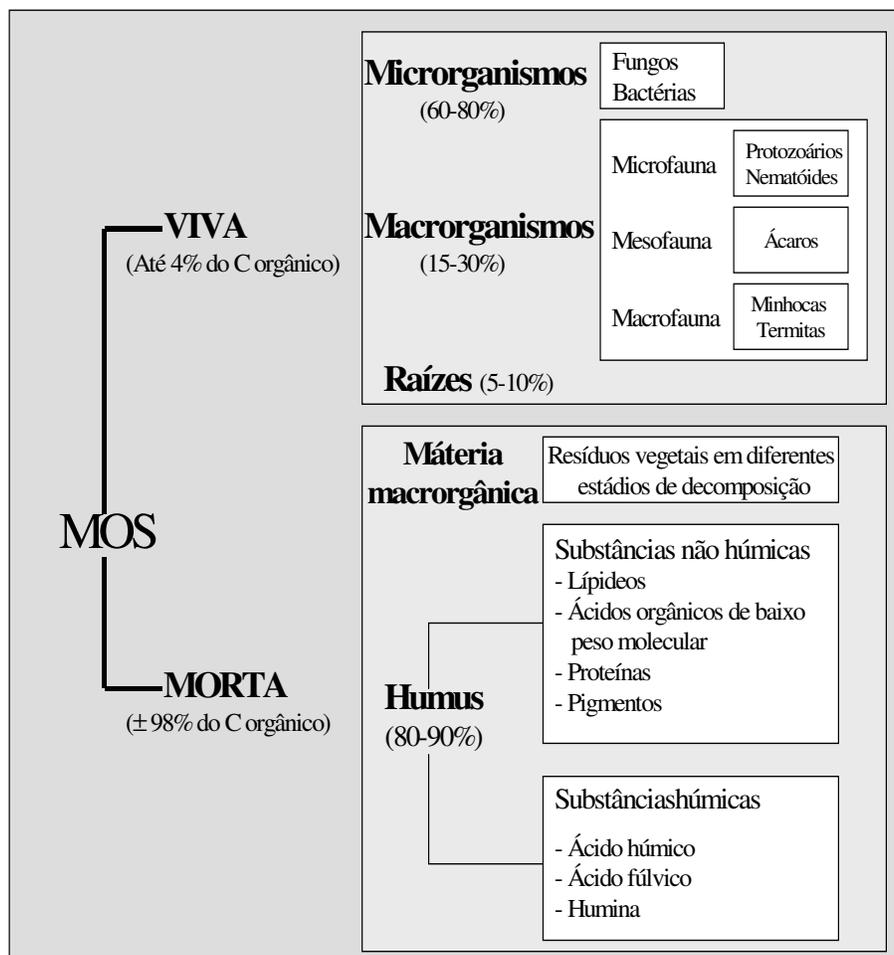


FIGURA 4. Esquema em diagrama dos principais compartimentos da matéria orgânica do solo. (Adaptado de Machado, 1999).

2.2 - FRACIONAMENTO DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO – MÉTODOS COMUNS UTILIZADOS

Devido à complexibilidade química e às suas interações com as partículas minerais, diversas técnicas têm sido desenvolvidas para buscar entender as funções dos diferentes compartimentos da MOS. De acordo com Stevenson & Cole (1999), a compreensão dos compartimentos da MOS é antiga, mas os métodos para definir e quantificar esses compartimentos são relativamente recentes, com a maioria das pesquisas sendo realizadas as últimas décadas.

De maneira geral, as técnicas de fracionamento da MOS são: fracionamento físico e fracionamento químico. O último pode ser empregado para avaliar os teores de C nas diferentes frações húmicas presentes no solo, já que se baseia na diferença de solubilidade dessas frações em meios ácido e básico. As substâncias húmicas (humina, ácido húmico e ácido fúlvico) representam mais de 70% do carbono presente no solo e são diferenciadas uma das outras pela cor, massa molecular, presença de grupos funcionais (carboxílicos, fenólicos, entre outros) e grau de polimerização (Schnitzer, 1978).

O interesse no fracionamento físico da MOS nasceu da observação de que o tempo de reciclagem dos nutrientes depende não apenas do tipo e da quantidade da matéria orgânica do solo, mas da sua localização dentro do perfil do solo (Stevenson & Cole, 1999), haja vista que a localização da MOS tem impacto nas propriedades físicas do solo.

De acordo com Stevenson & Cole, (1999), o fracionamento físico tem sido usado nos seguintes tipos de estudos: 1) recuperar a fração leve que consiste de restos vegetais não decompostos e seus produtos em decomposição parcial; 2) estabelecer a natureza e a significância biológica da matéria orgânica

nas frações do solo dos diferentes tamanhos; e 3) determinar os tipos de matéria orgânica envolvidos a formação de agregados estáveis em água.

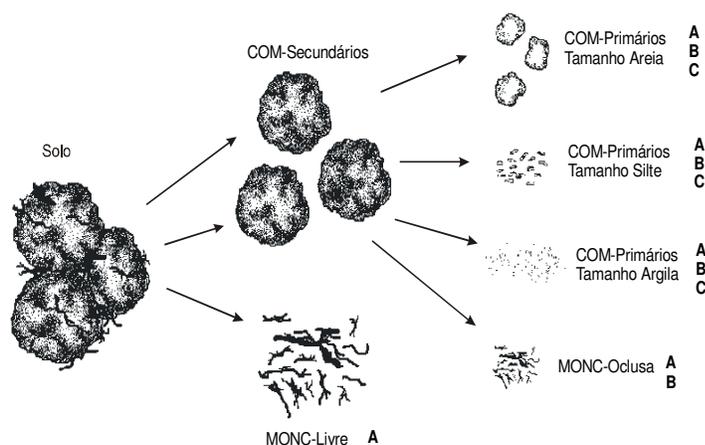


FIGURA 5. Modelo descritivo da organização espacial das partículas minerais e orgânicas do solo. Complexo organo-mineral secundário (COM-secundário) e material orgânica livre ou fração leve livre. Os COM-secundários são formados por agregação dos COM-primários.

Roscoe & Machado (2002), após ampla revisão sobre os fracionamentos físicos da MOS, dividiram em dois os tipos de fracionamento: o densimétrico e o granulométrico.

No método densimétrico, são utilizados sais (principalmente iodeto e politungstato de sódio), com densidade variando de 1,5 a 2,0 g/cm³. O princípio do método baseia-se na separação de materiais orgânicos (densidade menores que 1,5 g/cm³) e minerais (densidades superiores a 2,0 g/cm³), considerando-se, portanto, diferenças de densidade. Dessa forma, a matéria orgânica pode ser dividida nas frações leve (FL) e pesada (FP - ligada aos minerais). A FL pode ser ainda subdividida em FL livre e FL oclusa – dentro dos agregados (Roscoe & Machado, 2002). Dependendo da metodologia, essa

fração leve pode ser classificada como matéria orgânica particulada (MOP), normalmente determinada pelo teor de carbono particulado (COP).

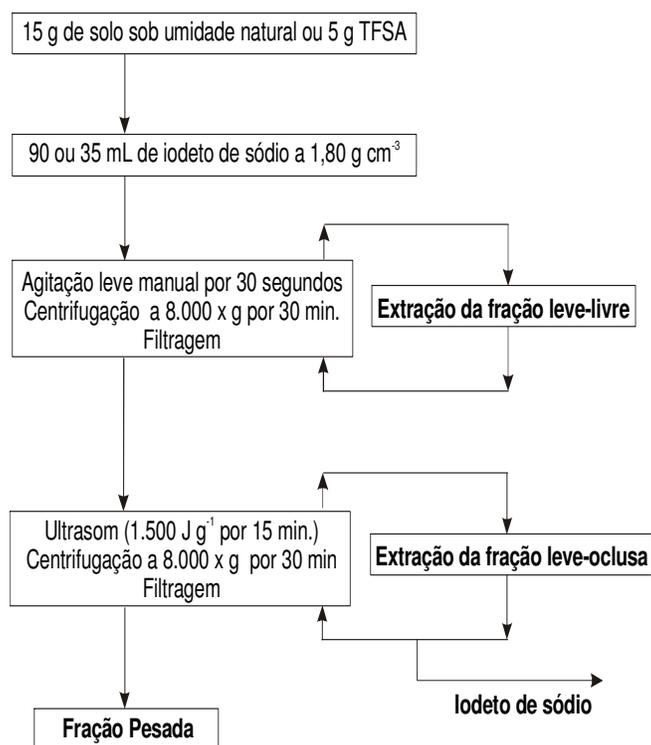


FIGURA 6. Esquema de fracionamento densimétrico.

No método granulométrico, utilizado por Roscoe & Buurman (2003), conforme o grau de associação com a matriz do solo, a MOS pode estar livre ou fracamente associada às partículas de solo, sendo chamada de matéria orgânica não-complexada ou estar fortemente ligada às partículas minerais, formando complexos organo-minerais. Diferentemente do método densimétrico, neste, o fracionamento é realizado com base no tamanho das partículas. Cambardella & Elliot (1992) separaram a matéria orgânica pro fracionamento físico granulométrico e consideraram duas frações básicas da MOS. Após dispersão e passagem em peneira de 53 μ m, separou-se a MOP (>53 μ m) daquela

de tamanho silte e argila (<53um). A primeira fração é constituída por materiais que ainda apresentam tecidos intactos, como pedaços de folhas e raízes, apresentando tempo de reciclagem mais rápido do que a menor que 53 um. A fração do tamanho silte e argila é denominada associada aos minerais e, portanto, apresenta formas de proteção que proporcionam tempo de reciclagem muito lento. Devido à facilidade de determinação, diversos trabalhos foram realizados pelo uso exclusivo desta técnica ou pelo uso conjugado com o fracionamento densimétrico para estudo da MOS em diferentes regiões e solos.

Tanto o fracionamento químico quanto o fracionamento físico foram desenvolvidos para identificação e estabelecimento dos diferentes compartimentos da MOS e suas funções nos mecanismos químicos, físicos e biológicos do solo. A partir dessa identificação, é possível avaliar, por exemplo, os impactos do manejo nas propriedades do solo.

Contudo, as metodologias citadas possuem algumas limitações, que serão citadas a seguir:

2.2.1 - LIMITAÇÕES DOS MÉTODOS DE FRACIONAMENTO FÍSICO E QUÍMICO

2.2.1.A - FRACIONAMENTO QUÍMICO

De acordo com Loginow et al. (1987) o processo de separação de frações orgânicas do solo com base na solubilidade em ácido ou base, parece não ser adequado do ponto de vista da avaliação das transformações da matéria orgânica nos solos. A utilização da biomassa microbiana para avaliar a suscetibilidade da matéria orgânica à decomposição, é seguramente o método mais apropriado, mas requer procedimentos laboriosos. Esta situação induziu os

pesquisadores à busca de uma metodologia simples, que se correlacionasse com a decomposição microbiana.

Conceitualmente, carbono lábil é aquele carbono constituinte de compostos orgânicos mais facilmente mineralizados pelos microrganismos do solo. Operacionalmente, pode ser considerado o carbono oxidável com uma solução de KMnO_4 333 mM, visto que este se correlaciona com o carbono oxidado pelos microrganismos do solo, medido pela evolução do CO_2 (Loginow et al., 1987). Esta correlação se justifica pelo fato da decomposição microbiana da matéria orgânica no solo se processar por oxidação de caráter enzimático. Este processo foi inicialmente desenvolvido por Loginow et al. (1987) e modificado posteriormente por Blair et al. (1995) e Shang & Tiessen (1997).

2.2.1.B - FRACIONAMENTO FÍSICO – DENSIMÉTRICO E GRANULOMÉTRICO

Basicamente, a precisão dos dois métodos são equivalentes, porém, a maior desvantagem de ambos é o seu custo-benefício, pois para executar as análises químicas das amostras é preciso dispor de um aparelho de combustão seca (CS) para quantificação dos teores de carbono, além de que a capacidade de preparação de amostras por dia é bastante reduzida.

3. MÉTODOS PRÁTICOS PARA DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE CARBONO TOTAL E FRACIONAMENTO DA MATÉRIA ORGÂNICA

3.1 - DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE CARBONO TOTAL EM AMOSTRAS DE SOLO – MÉTODO WALKLEY & BLACK E DAKOTA DO SUL MODIFICADO.

Em geral, os métodos analíticos para determinação da MOS em solos são baseados em dois princípios: determinação da MOS através da combustão quantitativa do analito (combustão seca - CS) e redução do íon dicromato $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ pela MOS (combustão úmida - CU). Os mais utilizados em laboratório são os de combustão úmida, pois dispensam a aquisição de equipamentos sofisticados e de alto custo e pela facilidade e rapidez para sua execução.

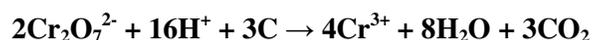
O processo de CU foi primeiramente desenvolvido por Schollenberger (1927), onde se adicionava dicromato de potássio e ácido sulfúrico ao analito (amostra de solo) e submetido a um aquecimento de até 175°C . Após resfriar as amostras, o excesso de dicromato era determinado por titulação com sulfato ferroso. Já Walkley & Black (1934) modificaram esse método retirando o aquecimento das amostras, pois o calor da diluição do ácido sulfúrico em solução aquosa já supriria esse passo no processo.

Posteriormente, Graham (1948) substituiu a titulação, comum anteriormente, por colorimetria, medindo a coloração azul do íon Cr^{3+} proveniente da redução do íon $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ como medida quantitativa do carbono oxidado. As calibrações desse método foram feitas a partir de resultados obtidos por CS. Carolan (1948) modificou o método anterior, utilizando a coloração amarela do íon dicromato colocado em excesso, como medida indireta do carbono oxidado. Reid & Copeland (1966) propuseram um método colorimétrico semelhante ao de Graham, utilizando dicromato de sódio e ácido sulfúrico. Os teores de MOS eram obtidos através de uma curva-padrão feita a partir da mistura de volumes de sulfato ferroso e dicromato de sódio, em função das leituras da absorbância, em colorímetro, correspondentes.

Verlengria & Gargantini (1967) avaliaram alguns métodos para determinação da MOS e concluíram que o Reid & Copeland (1966) se

assemelha ao Walkley & Black (1934), porém, mostrando preferência a praticidade ao que não utiliza a titulação. Eles detectaram também que o método de Reid & Copeland tem um ponto negativo: o método utiliza H_2SO_4 concentrado diretamente nas amostras, isso acarreta em desprendimento de gases desagradáveis, necessitando a utilização de uma capela e grande quantidade de água.

J.A. Quaggio & Van Raij (1979) compararam cinco métodos e suas variações, para determinação da MO em solos: Walkley & Black, Reid & Copeland, Reid & Copeland modificado, Dakota do Sul e Dakota do Sul modificado (utilizado pelo laboratório de análise de solo do Estado da Dakota do Sul, E.U.A., que usa o princípio básico do método de Walkley & Black). Todos foram testados e comparados os resultados colorimétricos com o Walkley & Black, tomado como padrão. Os autores concluíram que o método Dakota do Sul original e modificado foram os mais interessantes e de fácil execução, pois os resultados obtidos da reação da oxidação da matéria orgânica ocorreram em temperatura ambiente, sem auxílio de fonte de calor externa e dispensa o processo de filtração (substituído por decantação) e ainda se correlacionaram muito bem com o método original proposto por Walkley & Black, sendo possível a calibração com os resultados obtidos nesse método. Por conseguinte, neste trabalho será realizado a determinação da MOS usando o método Dakota do Sul modificado e calibrado com uma curva-padrão proposta por Walkley & Black. A equação química representativa do método é:



Onde o equivalente-grama para o carbono nessa reação de oxi-redução:

$$2\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} \cdot 12^{-1} \equiv 3\text{C} \cdot 12^{-1}$$

Os resultados obtidos neste processo serão correlacionados com o CT obtidos através de CS, afim de verificar a sua precisão.

TABELA 1. Equações e coeficientes de correlações entre os teores de MOS determinado pelo método Walkley & Black (X) e as leituras colorimétricas para os quatro métodos em estudo (Y) (Quaggio & Raij, 1979).

Método	Equação	R ²
Reid-Copeland	$Y=3,40 + 12,23X - 0,15 X^2$	0,997
Reid-Copeland modificado	$Y=0,79 + 15,60X - 0,26X^2$	0,998
Dakota do Sul	$Y=6,17 + 22,25X - 1,48X^2 + 0,03X^3$	0,996
Dakota do Sul modificado	$Y=0,16 + 10,01X - 0,02 X^2$	0,996

3.2 - DETERMINAÇÃO DOS TEORES CARBONO LÁBIL, POR OXIDAÇÃO PARCIAL COM SOLUÇÃO DE PERMANGANATO DE POTÁSSIO (KMnO₄).

Recentemente, métodos para quantificar o CL através de oxidação com permanganato de potássio vêm sendo estudados. Esse método envolve basicamente a oxidação do CL quando em contato com uma solução de concentração conhecida de KMnO₄ e posteriormente, retirada uma alíquota, onde esta é submetida a leitura em espectrofotômetro, onde será avaliada a mudança de concentração do KMnO₄, ocasionada pela reação (oxidação) com o CL (Lefroy et al., 1993; Blair et al., 1995; Moody et al., 1997; Bell et al., 1999; Weil et al., 2003), onde o C oxidado (C lábil) é estimado considerando-se que 1,0 mmol de MnO₄⁻ é consumido na oxidação de 0,75 mmol (9g) de carbono.

Em condições aproximadamente neutras, o KMnO₄ é um forte oxidante, isso se dá por causa do grande potencial negativo entre o íon Mn⁺² e MnO₄⁻ (Cotton and Wilkinson, 1965). Loginow et al. (1987) mostrou que a solução de KMnO₄ a pH 7,2 oxida componentes do carbono orgânico do solo. A

reação de oxidação resulta em queda da concentração de KMnO_4 , onde esse decréscimo pode ser avaliado em colorímetro. Entre os compostos sensíveis a oxidação do KMnO_4 são que contém hidroxila ligada a carbonos, cetonas e carboxilas, compostos alifáticos, carboidratos simples, aminoácidos, amino-açúcares e açúcares de amido (Skoog and West, 1969; Stanford, 1978; Loginow et al. 1987). Loginow et al. (1987) usou KMnO_4 a 333mM, 167mM e 333mM para realizar o fracionamento da MOS, observando a sua suscetibilidade à oxidação. Lefroy et al. (1993) usou algumas concentrações diferentes afim de relacionar as frações da MOS com a qualidade e propriedades do solo. Baseado nas conclusões de Lefroy et al. (1993) que a solução de KMnO_4 a 333mM é suficiente para caracterizar a fração do CL da MOS em solos. Blair et al. (1995) realizou análises com essa solução para determinar a MOS oxidável pelo KMnO_4 e o CT, analisado por combustão seca, para calcular duas frações da MOS: a oxidada pelo KMnO_4 e uma segunda fração remanescente que não foi afetada pelo KMnO_4 . Blair et al. (1995) usou esse método afim de comparar amostras de solo em diferentes setores e através dessa comparação, ele determinou um índice de manejo do carbono (CMI – *Carbon Management Index*).

Em um estudo mais recente, F.C.B. Vieira et al.(2007) comparou o CL resultante do fracionamento químico baseado na oxidação do CL com permanganato de potássio com os teores de CL obtidos através do fracionamento físico. O método químico foi realizado com duas concentrações diferentes do oxidante: 333mM e 60mM. Foi observado que os resultados do CL com permanganato a 333mM não correlacionaram com os dados obtidos no fracionamento físico. Porém, as análises feitas com a solução de KMnO_4 a 60mM tiveram resultados bem parecidos com o processo físico, obtendo um grau satisfatório de correlação dos dados. A explicação para isso seria que, devido ao decréscimo na concentração de permanganato de potássio, a

sensibilidade à oxidação no processo aumentou e que também, pelo tipo de solo estudado por Blair et al. (1995) que adotou a concentração original do método a 333mM, seria diferente do usado nesse estudo. Neste trabalho, iremos seguir esse roteiro metodológico, comparando os resultados do carbono lábil obtido por fracionamento físico (também chamado de carbono particulado ou matéria orgânica particulada - MOP) com os teores de CL resultantes da oxidação com permanganato de potássio nas concentrações de 333mM e 60mM.

3.2.1 - CARACTERÍSTICA DA SOLUÇÃO AQUOSA DE PERMANGANATO DE POTÁSSIO

É preciso ter em mente que o permanganato de potássio não pode ser considerado um padrão primário. A estabilidade dessas soluções de KMnO_4 em água são relativamente baixas. Isso se dá porque o KMnO_4 em solução sofre autodecomposição com desprendimento de oxigênio:



A autodecomposição das soluções neutras de permanganato é menor a frio e com ausência de dióxido de manganês. Uma solução de permanganato de potássio a 0,1N (0,02M), livre de impurezas e conservada no escuro, perde cerca de 0,2% de sua capacidade oxidante em 6 meses. Já uma solução 0,01N (0,002M) está sujeita, em condições idênticas, a um decréscimo de título de aproximadamente 0,2% ao mês. A mesma solução exposta à luz difusa pode sofrer um enfraquecimento em torno de 20% ao mês.

A autodecomposição é catalisada pelo dióxido de manganês e, portanto, a reação é autocatalítica. O íon manganês (II) tem efeito semelhante, pois ele reage com permanganato resultando em hidróxido hidratado. A autodecomposição depende também da concentração de hidrogênio e da

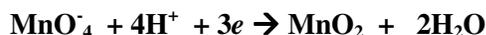
temperatura. Uma solução de KMnO_4 0,05 N (0,01M) em H_2SO_4 0,4N, aquecida a 100°C durante uma hora, perde 0,6% de sua capacidade oxidante. Em ácido sulfúrico 0,8 e 2N, as perdas são de 1,7 e 58%, nesta ordem. A decomposição pelo aquecimento é também acentuada em solução alcalina.

Para isso, é importante salientar que para trabalhar com uma solução de permanganato de potássio, da forma que os cálculos dependem de sua concentração exata, devemos periodicamente padronizar a solução. Os processos para isso serão descritos mais a frente.

O KMnO_4 é um agente oxidante, mas a forma segundo o qual ele atua depende das condições do meio. Conforme a maneira de atuar do permanganato, tem-se propriamente 3 diferentes tipos de comportamento: em meio ácido, neutro e alcalino. No caso, nesse trabalho, serão realizadas reações em meio aproximadamente neutro ($\text{pH}=7,2$) para a oxidação do CL e ácido, para sua padronização.

3.2.2 - PERMANGANATO DE POTÁSSIO EM MEIO NEUTRO (PARA OXIDAÇÃO)

As oxidações com KMnO_4 em meio aproximadamente neutro, se dão de acordo com a equação:



O potencial normal do sistema permanganato-dióxido de manganês é de 1,67 volts e o peso equivalente do permanganato é igual o mol dividido por três.

O KMnO_4 contém sempre ao menos um traço de dióxido de manganês. Por isso, não é possível a preparação de soluções padrões de KMnO_4

por via direta. Outro fator a considerar é que as soluções obtidas por simples dissolução do sal em água não apresentam título estável. A água destilada ordinária pode conter traços de substâncias redutoras, mesmo que deionizada, que reagem com o permanganato formando o dióxido de manganês. O processo de formação desse composto não paralisa quando as substâncias redutoras originariamente presentes da água destilada tiverem sido completamente oxidadas. Ocorre que o dióxido de manganês catalisa a autodecomposição do permanganato. Por isso, as soluções de permanganato somente devem ser padronizadas depois que as substâncias redutoras que por ventura existentes na água destilada tiverem sido oxidadas e que o dióxido de manganês tenha sido removido. Uma solução relativamente estável é obtida por meio de ebulição de solução recentemente preparada e filtração através de abesto ou vidro sinterizado. Também se pode ferver somente a água destilada para posteriormente preparar a solução de KMnO_4 . As soluções de KMnO_4 devem ser conservadas em frasco de vidro escuro, pois a luz catalisa a autodecomposição.

3.2.3 - PERMANGANATO DE POTÁSSIO EM MEIO ÁCIDO (PARA PADRONIZAÇÃO)

Em meio ácido, o permanganato atua de acordo com a equação:



O potencial normal do sistema permanganato-manganês (II) é de 1,52 volts. O potencial de oxidação do sistema é grandemente influenciado pela concentração do íon hidrogênio:

$$E = 1,52 + (0,0591/5) \cdot \{\log [\text{MnO}_4^-][\text{H}^+]^8 / [\text{Mn}^{+2}]\}$$

Quando o permanganato de potássio atua em meio ácido, o seu peso equivalente é igual o mol dividido por 5.

A acidificação da solução titular é feita, preferencialmente, com ácido sulfúrico, visto que o íon sulfato não é afetado pelo permanganato. O ácido sulfúrico utilizado para este fim deve estar livre de substâncias redutoras. É igualmente utilizável o ácido perclórico. O ácido nítrico, que é intrinsecamente oxidante, não pode ser utilizado. Quanto ao ácido clorídrico, inúmeras substâncias redutoras, tais como o arsênico e o antimônio trivalentes, o peróxido de hidrogênio e o hexacianoferrato (II), podem ser tituladas, em sua presença, sem nenhum inconveniente. O mesmo não acontece, entretanto, por exemplo, na titulação com ferro divalente. Em presença de íon ferro (II), o permanganato oxida parcialmente o íon cloreto, de sorte que resultaria um gasto excessivo de solução padrão se a interferência referida não fosse evitada por um meio adequado. A redução do permanganato a íon manganês (II) é acompanhada de consumo de íon hidrogênio; conseqüentemente, a acidez deve ser suficiente para que, no curso de titulação, não diminua a ponto de permitir a precipitação de dióxido de manganês.

Numerosas substâncias redutoras podem ser tituladas diretamente em meio ácido, com KMnO_4 . O ponto final é determinado, comumente, pelo aparecimento de coloração rósea devido a um leve excesso de permanganato. No caso de titulações em meio ácido com soluções muito diluídas, pode ser recomendável o uso de indicadores de oxidação-redução, como a difenilamina, a difenilbenzidina, o ácido difenilaminossulfônico e o complexo *o*-fenantrolina-ferro (II), todos de potencial elevado e, portanto, adequados para um forte oxidante como é o KMnO_4 .

As soluções de KMnO_4 podem ser padronizadas em relação às seguintes substâncias: oxalato de sódio, trióxido de arsênio e sais de ferro (II) estáveis (este último, por ser um método pouco usado e de custo mais elevado que os outros, não será comentado).

3.2.4 - MÉTODOS DISPONÍVEIS PARA PADRONIZAÇÃO DO KMnO_4

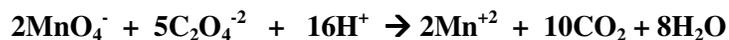
3.2.4.A - OXALATO DE SÓDIO $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$

O oxalato de sódio puro para análise tem uma pureza superior a 99,9%. O sal é dessecado mediante aquecimento a 120°C durante 2 horas. Sob forte aquecimento, o oxalato de sódio é transformado em carbonato:



É exatamente nesta conversão que se baseia o emprego do oxalato de sódio como padrão primário para determinação do título de soluções ácidas. O peso equivalente é igual a 67,01. Se, durante a conversão, houver perda pouco significativa de dióxido de carbono em consequência da decomposição do carbonato de sódio, o fato não apresenta inconveniente porque a alcalinidade total do resíduo não é alterada. A desvantagem do uso do oxalato de sódio na padronização de soluções ácidas relaciona-se com o perigo de perdas mecânicas ocasionadas pelo desprendimento de monóxido de carbono durante a conversão em carbonato.

Em solução ácida, o permanganato de potássio oxida o oxalato de sódio de acordo com a equação:



O processo clássico usado na padronização consistia em titular lentamente a solução sulfúrica do padrão primário, aquecida a 80-90°C, com a solução de permanganato. Entretanto, de acordo com os estudos de Fowler & Bright esta técnica conduz a resultados com erros elevados (0,1 a 0,45%) e o volume do permanganato gasto na titulação depende da acidez, da temperatura e da velocidade de adição do KMnO_4 . As primeiras gotas de permanganato adicionadas à solução sulfúrica contendo oxalato costumam a reagir, mas, depois de formada uma pequena quantidade de manganês (II), a reação se processa quase instantaneamente a quente. Fowler & Bright mostraram que até 55°C a reação é lenta e incompleta e que, entre 55 e 60°C, em presença de íon manganês (II), que atua cataliticamente, a reação se processa rapidamente e de forma quantitativa. Acima de 60°C, há o perigo de decomposição do ácido oxálico:



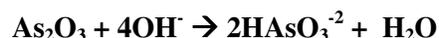
Além do mais, é preciso considerar a possibilidade de autodecomposição do permanganato, em soluções demasiadamente quentes. Os referidos autores recomendaram, em face do exposto, a seguinte técnica:

- A) acidez elevada (2N);
- B) adição rápida, à temperatura ambiente, de 90 a 95% da solução de permanganato (15 a 35ml por minuto);
- C) aquecimento final a 55-60°C e titulação, gota a gota, dos últimos 0,5 a 1ml.

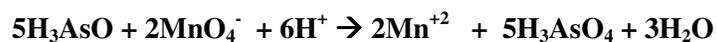
A exatidão do processo é dada como sendo de 0,06%.

3.2.4.B - TRIÓXIDO DE ARSÊNIO As_2O_3

O trióxido de arsênio é obtido puro e pode ser dessecado sobre ácido sulfúrico em dessecador. Sob condições adequadas, o arsênio III é quantitativamente oxidado, em meio ácido, pelo permanganato de potássio. O trióxido de arsênio é solúvel em ácido clorídrico, mas a dissolução se processa muito lentamente. Por isso, o trióxido de arsênio começa sendo dissolvido em hidróxido de sódio:



Após acidificação, a solução é titulada com KMnO_4 :



O peso equivalente do trióxido de arsênio é igual a 49,45.

O ácido sulfúrico não se presta para a preparação da solução de trióxido de arsênio. É que a titulação de uma solução sulfúrica de arsênio trivalente se processa bem de início, mas logo depois de algum tempo formam-se arsenatos mangânicos complexos, de coloração marrom, que reagem muito lentamente mesmo a quente. A titulação da solução clorídrica a quente pode ser conduzida diretamente, mas o mesmo não acontece a frio. Entretanto, já Lang mostrou que a reação pode ser catalisada pela presença de compostos de iodo. A observação de Lang foi comprovada por vários autores, inclusive Kolthoff, Laitinen e Lingane, que usaram iodato de potássio. Posteriormente, estudos feitos por Meltzler, Myers & Swift chegaram à conclusão de que, mesmo em presença de iodato, a reação torna-se lenta nas imediações do ponto de equivalência. Em consequência, um tempo considerável e paciência seriam

requeridos para obtenção de pontos finais satisfatórios. Partindo do ponto de vista de que a dificuldade poderia ser resolvida com uma maior quantidade de catalisador, desde que o mesmo fosse adicionado na forma de um composto em que o iodo se encontrasse já no estado de oxidação e que seria convertido pelo permanganato, os autores propuseram o uso de monocloreto de iodo como catalisador e a titulação em presença do complexo *o*-fenantrolina-ferro II. Os resultados são de precisão de 0,03%.

Ohlweiler & Meditsch compararam os métodos de padronização das soluções de KMnO_4 com oxalato de sódio e trióxido de arsênio. Foram estudados os seguintes processos:

- A) padronização com oxalato de sódio segundo Fowler & Bright;
- B) padronização com trióxido de arsênio em presença de iodato de potássio e identificação do ponto final pelo excesso de KMnO_4 ;
- C) padronização com trióxido de arsênio em presença de iodato e identificação do ponto final com o complexo *o*-fenantrolina-ferro II;
- D) padronização com trióxido de arsênio segundo Meltzler, Myers e Swift.

Os autores concluíram que, do ponto de vista da exatidão e da precisão, os métodos de Fowler & Bright e de Meltzler, Myers e Swift são equivalentes, mas que o último é de execução mais simples. Contudo, afim de preservar a segurança dos experimentadores (isso porque o trióxido de arsênio é altamente venenoso), o mais indicado seria o método de Fowler & Bright, além de que a execução deste método proporciona um baixo custo de operação.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SOLO PARA ANÁLISE

Utilizaram-se 48 amostras de solo, de 12 diferentes tratamentos, com 4 repetições coletadas em um Experimento de Integração Lavoura-Pecuária, pertencente à Embrapa Gado de Corte, localizado no município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. O solo da área experimental é um Latossolo Vermelho (LV). A área vem sendo utilizada durante 16 anos com diferentes manejos, os quais são descritos na Tabela 2.

TABELA 2. Descrição dos tratamentos: tipos de manejos, que as amostras de solo foram submetidas.

ABREVIÇÃO	TRATAMENTO
L1PM	1 ano de lavoura de soja, seguido de 3 anos de pastagem de B. brizantha Marandu (pastagem implantada com milho)
L1PS	1 ano de lavoura de soja, seguido de 3 anos de pastagem de B. brizantha Marandu (pastagem implantada solteira)
L4PM	4 anos de lavoura de soja/sorgo inverno seguidos de 4 anos de pastagem de P. maximum Tanzania
L4PS	4 anos de lavoura de soja/ solo descoberto no inverno seguidos de 4 anos de pastagem de P. maximum Tanzania
LCCS	plantio contínuo de soja, sorgo no outono inverno, sem preparo de solo, subsolador a cada 4 anos
LCCV	plantio de soja contínuo, solo descoberto no outono-inverno e preparo de solo anual com grade
LCPD	plantio contínuo de soja, sorgo no outono inverno, sem preparo de solo nenhum
P4LM	4 anos de pastagem de P. maximum Tanzania seguidos de 4 anos de lavoura de soja/ sorgo no outono-inverno

P4LS	4 anos de pastagem de <i>P. maximum</i> Tanzania seguidos de 4 anos de lavoura de soja/ solo descoberto no outono-inverno
PCAL	pastagem de <i>B. decumbens</i> continua com adubação de manutenção e leguminosa
PCCA	pastagem de <i>B. decumbens</i> continua com adubação de manutenção
PCSA	pastagem de <i>B. decumbens</i> continua sem adubação de manutenção

2. DETERMINAÇÃO DO CARBONO TOTAL – MÉTODO DAKOTA DO SUL MODIFICADO E COMBUSTÃO SECA

2.1. CARBONO TOTAL POR COMBUSTÃO SECA

As amostras de solo foram previamente moídas em micro-moinho para solos e pesadas em torno de 150mg em cadinhos de quartzo (o cadinho foi tarado e o peso exato da amostra anotado). Elas foram introduzidas em auto-analisador de nitrogênio e carbono (Sumika NC900) acoplado em cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC08). Para a confecção da curva-padrão, utilizaram-se diferentes alíquotas de acetanilida ultra pura (C_8H_9NO), com pesos variando em torno de 0.5mg a 10mg (peso exato foi anotado). Para obtenção dos resultados, a área sob o cromatograma gerado foi utilizada e correlacionada com os respectivos pesos, obtendo da equação da reta e utilizando o coeficiente de correlação de Person.

2.2. CARBONO TOTAL POR COMBUSTÃO ÚMIDA – MÉTODO DAKOTA DO SUL MODIFICADO

Foram adicionados 1cm^3 de solo moído em copo plástico, 10ml de solução de $Na_2Cr_2O_7$ a 4N em H_2SO_4 10N, agitou-se por 10 min e, após repouso

de 60 minutos, foi adicionado 50ml de água (não necessariamente destilada, mas livre de matéria orgânica). Logo após, homogeneizou-se, brevemente, com bastão de vidro e submetido a repouso “*over-night*”. No dia seguinte, procedeu-se leitura em colorímetro com filtro de transmissão máxima de 645nm (Perkin-Elmer – Lambda 20 com cubeta de vidro de 1cm de percurso ótico). Os resultados da MOS foram obtidos a partir de uma curva-padrão com resultados de MOS feitas pelo método original proposto por Walkley & Black para uma série de solos padrão. As leituras colorimétricas obtidas pelo método proposto, para as mesmas amostras de solo, foram correlacionadas através de equação de reta, aplicando o coeficiente de correção de Person.

3. DETERMINAÇÃO DO CARBONO LÁBIL

3.1. FRACIONAMENTO FÍSICO

O fracionamento físico foi efetuado pesando-se 20g de solo seco e peneirando-se em malha de 2mm, logo depois dispensado 75ml de uma solução de hexametáfosfato de sódio (NaPO_3)_n a 0,5% (atuando como dispersante), e submetido a agitação de 200rpm por 15-16 horas. Após esse período a amostra foi passada em peneira de 0,053mm e lavada com água (de torneira, isento de matéria orgânica). O material retido foi seco a temperatura ambiente, a fim de preservar a integridade da matéria orgânica retida. Após o mesmo foi pesado, para realização do cálculo de porcentagem da COP presente na amostra. Logo após, a amostra foi moída e a COP determinada por combustão seca em auto analisador de nitrogênio e carbono Sumika NC900 acoplado em cromatógrafo gasoso Shimadzu GC-08. As amostras foram pesadas em torno de 150mg em cadinhos de quartzo (o cadinho foi tarado e o peso exato da amostra anotado). Para a confecção da curva-padrão, utilizaram-se diferentes alíquotas de

acetanilida ultra pura (C_8H_9NO), com pesos variando em torno de 0.5mg a 10mg (peso exato foi anotado). Para obtenção dos resultados, a área sob o cromatograma gerado foi utilizada e correlacionada com os respectivos pesos, obtendo da equação da reta e utilizando o coeficiente de correlação de Person.

3.2 – OXIDAÇÃO PARCIAL COM PERMANGANATO DE POTÁSSIO

3.2.1 - PREPARO DA SOLUÇÃO DE PERMANGANATO DE POTÁSSIO E PADRONIZAÇÃO

Primeiramente, ferveu-se a água destilada (1,5L) durante uma hora. Logo depois, esperou-se esfriar até sua temperatura ficar abaixo de 40°C (pode-se deixar a solução de permanganato de potássio já pronta em repouso, a temperatura ambiente por 3-5 dias, como alternativa à fervura). Logo após esse resfriamento, filtrou-se a água em cadinho de vidro sinterizado, previamente limpo (livre de agentes redutores) e calcinado em mufla a 550°C por 2-3 horas (pode-se usar também filtro de amianto ou lã de vidro, submetidos ao mesmo processo de preparação). Usou-se, alternativamente, kitassato e auxílio de bomba de vácuo, afim de acelerar o processo de filtração, sempre com o cuidado de não deixar a água destilada entrar em contato com componentes orgânicos do aparato. Depois, foi dissolvido a quantidade de permanganato para a concentração desejada. Transferiu-se a solução para um frasco de vidro escuro, previamente limpo e ambientalizado com a água fervida (remanescente do preparo descrito anteriormente), com rolha de vidro (ou qualquer tampa não orgânica). Terminada a solução, sua padronização foi iniciada.

***Observação Importante:** Neste trabalho, não se filtrou a solução pronta de $KMnO_4$, como propõe outros autores. Pois isso evita o acúmulo de agentes*

reduzores, principalmente o dióxido de manganês, provenientes da autodecomposição natural do resíduo de permanganato de potássio que, inevitavelmente, fica retido no filtro utilizado, além de que a filtração da água, apenas, é bem mais rápida.

Para a padronização, foram pesados, exatamente, 3,35 g de oxalato de sódio ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) p.a. previamente seco em estufa a 105°C por 2 horas. Depois, dissolvido em béquer com aproximadamente 100 mL de água destilada, transferido para balão volumétrico de 1000 mL, homogeneizado e logo após completado o volume. Transferiu-se, com pipeta 20 mL, a solução de oxalato de sódio em erlenmeyer de 250 mL e adicionado 10 mL de solução de ácido sulfúrico (1+1), aquecido a $70 - 80^\circ\text{C}$, de preferência em agitador com chapa de aquecimento. Titulou-se a solução nessa temperatura, gotejando a solução de permanganato de potássio numa velocidade de 3 a 4 gotas por segundo até coloração levemente rósea se apresentar persistente por mais de 30 segundos.

Observações: Deve-se ter em mente que as soluções de oxalato atacam o vidro, de modo que a solução só deverá ser armazenada durante poucos dias. A lavagem dos materiais utilizados constituídos de vidro deve ser muito bem executada (termômetros, principalmente).

3.2.2 - OPERAÇÃO DE OXIDAÇÃO DO CARBONO LÁBIL APLICADO ÀS AMOSTRAS DE SOLO

Primeiramente, será feito o método original descrito por Blair et al (1995), que utiliza solução aquosa de KMnO_4 a 333mM e posteriormente a 60mM como proposto por F.C.B. Vieira et al (2007).

3.2.2 .A – KMnO_4 A 333mM

Depois de preparada a solução de KMnO_4 e devidamente padronizada, as 48 amostras de solo foram passadas em peneira de 0,5 mm. Depois foram pesados 1000mg de solo e colocado em tubos de centrífuga de 45 mL, adicionando-se 25 mL de solução de KMnO_4 a 333mM. Os tubos foram tapados e agitados por uma hora, em agitador horizontal a 200 rpm; em seguida, eles foram centrifugados a 2.000 rpm por cinco minutos, e 1,0 mL do sobrenadante foi transferido para tubos de ensaio de vidro afim de obter fator de diluição 1:1000 (com água destilada e deionizada como eluente). Alíquotas de 1,0 mL de seis soluções-padrões de KMnO_4 , com concentrações variando de 280 a 333mM, sofreram a mesma diluição. Determinou-se a absorbância das soluções diluídas em espectrofotômetro ajustado para o comprimento de onda de 565 nm (Perkin-Elmer – Lambda 20 com cubeta de vidro de 2cm de percurso ótico). A variação na concentração do KMnO_4 , estimada a partir da curva-padrão, foi usada para se estimar a quantidade de C oxidado (C lábil) considerando-se que 1,0 mmol de MnO_4^- é consumido, em 25ml, na oxidação de 0,75 mmol (9mg) de carbono.

3.2.2.B – KMnO_4 A 60mM

Depois de preparada a solução de KMnO_4 e devidamente padronizada, as 48 amostras de solo foram passadas em peneira de 0,5 mm. Depois foram pesados 1000mg de solo e colocado em tubos de centrífuga de 45 mL, adicionando-se 25 mL de solução de KMnO_4 a 60mM. Os tubos foram tapados e agitados por uma hora, em agitador horizontal a 200 rpm; em seguida, eles foram centrifugados a 2.000 rpm por cinco minutos, e 1,0 mL do sobrenadante foi transferido para tubos de ensaio de vidro afim de obter fator de

diluição 1:250 (com água destilada e deionizada como eluente). Alíquotas de 1,0 mL de seis soluções-padrões de KMnO_4 , com concentrações variando de 30 a 60mM, sofreram a mesma diluição. Determinou-se a absorbância das soluções diluídas em espectrofotômetro ajustado para o comprimento de onda de 565 nm (Perkin-Elmer – Lambda 20 com cubeta de vidro de 2cm de percurso ótico). A variação na concentração do KMnO_4 , estimada a partir da curva-padrão, foi usada para se estimar a quantidade de C oxidado (C lábil) considerando-se que 1,0 mmol de MnO_4^- é consumido, em 25ml, na oxidação de 0,75 mmol (9mg) de carbono.

RESULTADOS E DISCUSSAO

1. DETERMINACAO DOS TEORES DE CARBONO TOTAL- METODO DAKOTA DO SUL MODIFICADO E COMBUSTAO SECA

Conforme observado na Tabela 3, ambos os métodos mostraram-se sensíveis às variações dos teores de COT decorrentes dos diferentes tratamentos de manejo do solo (figura 7).

TABELA 3. Valores médios de COT (%) nos diferentes tratamentos.

TRATAMENTO	DSM (em %)	CS (em %)
L1PM	3,20	2,80
L1PS	3,51	2,82
L4PM	2,85	2,43
L4PS	3,04	2,39
LCCS	3,00	2,33
LCCV	2,90	2,02
LCPD	3,13	2,54
P4LM	3,16	2,57
P4LS	3,07	2,51
PCAL	3,84	2,99
PCCA	3,70	3,01
PCSA	3,17	2,69

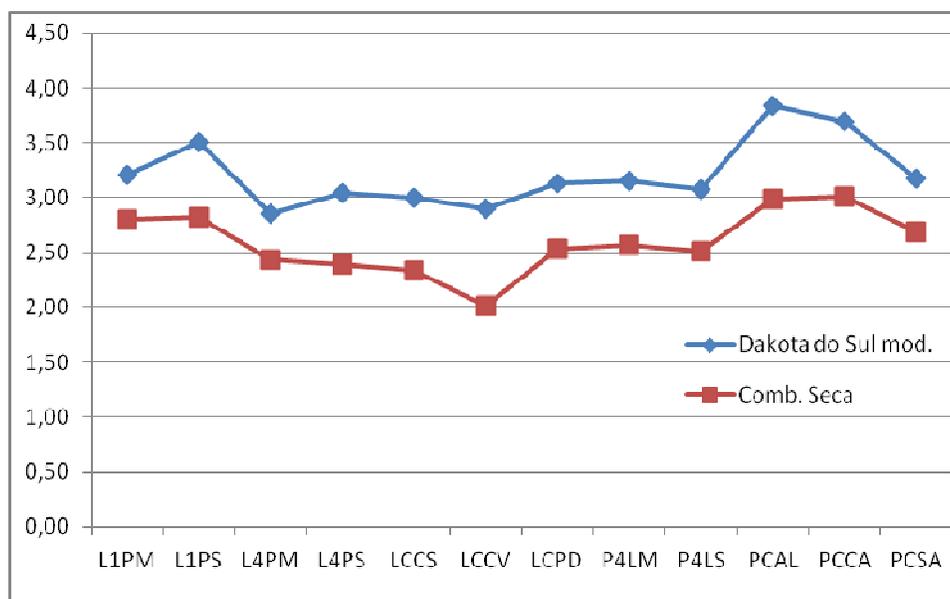


FIGURA 7. Gráfico comparativo dos valores médios de COT (m %) entre os métodos de combustão seca e Dakota do Sul modificado por tratamento.

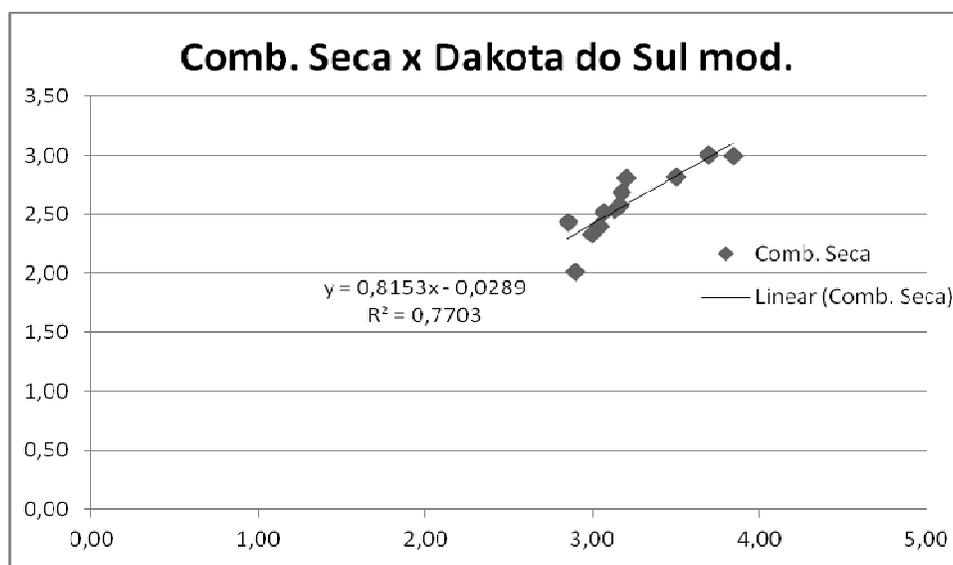


FIGURA 8. Gráfico de correlação dos valores médios de COT (%) entre os métodos de combustão seca e Dakota do Sul modificado, por tratamento, e equação linear representativa.

O método de combustão seca, obtido em auto analisador, comparado ao Dakota do Sul modificado, apresentou valores de COT inferiores em todas as amostras. Esses resultados mostram que o método Dakota do sul modificado foi mais sensível para os teores mais elevados de COT. As diferenças obtidas entre a combustão seca e o Dakota do Sul modificado podem ter sido ocasionadas por quantidades de carvão resultantes da queima da vegetação pretérita, que não podem ser detectados via auto-analisador e cromatografia, mas são dissolvidos por combustão úmida na mistura do ácido sulfúrico e o dicromato de sódio.

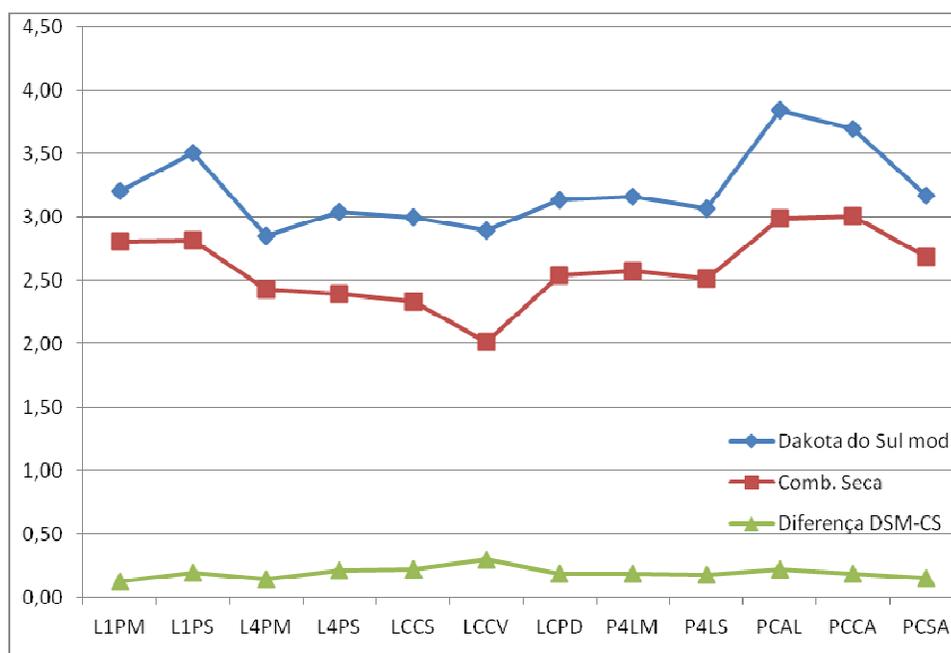


FIGURA 9. Gráfico comparativo dos valores médios de COT (%) entre os métodos de combustão seca e Dakota do Sul modificado entre os diferentes tratamentos.

2. DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE CARBONO LÁBIL

2.1. OXIDACAO COM KMnO_4 – COMPARATIVO ENTRE KMnO_4 A 333mM E 60mM

Foram efetuados testes comparativos entre os métodos de fracionamento físico e por oxidação para avaliar a suas aplicações para amostras de solo da região do Cerrado. Para isso, foram escolhidas 6 amostras de diferentes manejos (tabela 4).

TABELA 4. Valores médios de CL por tratamento (em mg/g) de solo.

TRATAMENTO	CL (mg/g) 60mM	CL (mg/g) 333mM	CL (mg/g) FF
PCAL	1,57	2,39	4,70
L1PS	1,72	3,79	5,23
P4LM	1,27	2,99	4,20
LCCV	1,03	2,99	3,08
LCPD	1,55	4,24	4,44
PCSA	1,26	2,34	3,91

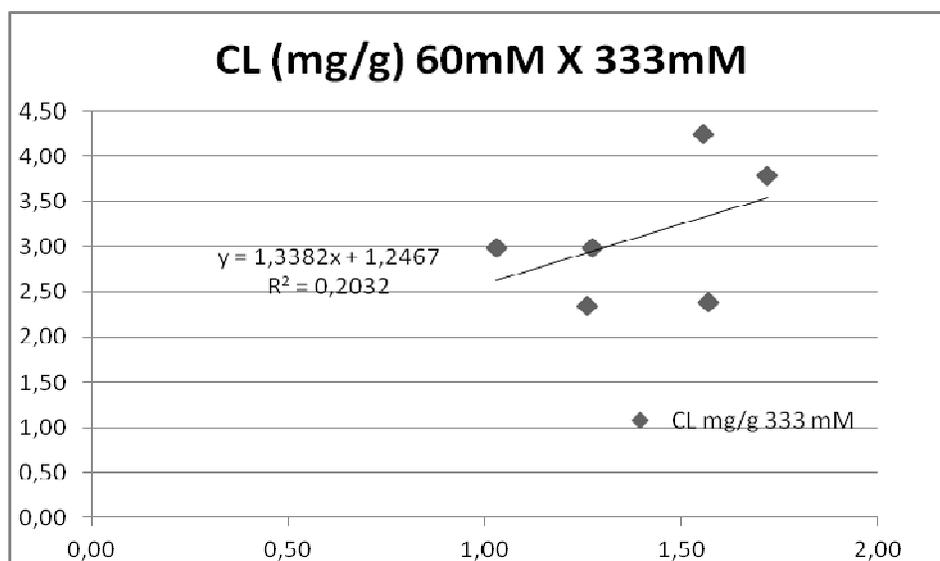


FIGURA 10. Gráfico de correlação entre valores médios de CL (mg/g) entre os métodos de oxidação do CL por permanganato de potássio a 60mM e 333mM, com a equação linear representativa entre os diferentes tratamentos.

Observou-se que houve uma baixa correlação entre os dois métodos, da ordem $r^2 = 0,2032$, sem significância estatística (figura 10).

A oxidação com o KMnO_4 a 333mM ocasionou resultados de teores de CL superiores a oxidação com 60mM de KMnO_4 . Porém, a sensibilidade para distinguir os efeitos dos diferentes tratamentos foi comprometida com o KMnO_4 de maior concentração (figura 11).

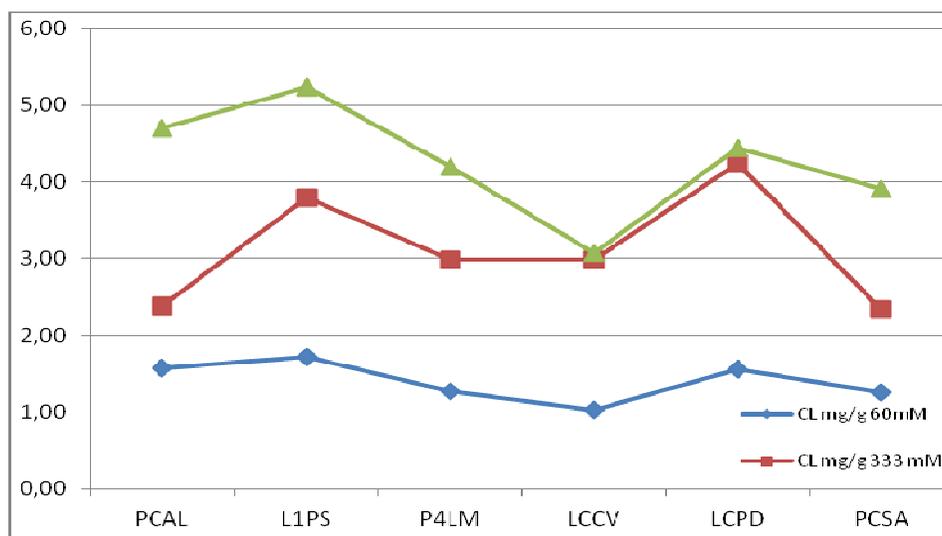


FIGURA 11. Gráfico comparativo dos valores médios de CL (em mg/g) por tratamento entre os métodos de oxidação do CL por permanganato de potássio a 60mM, 333mM e fracionamento físico.

Os resultados de correlação entre os métodos de oxidação e por fracionamento físico, foram maiores e significativos com a solução de KMnO_4 a 60Mm (Figura 12 e 13).

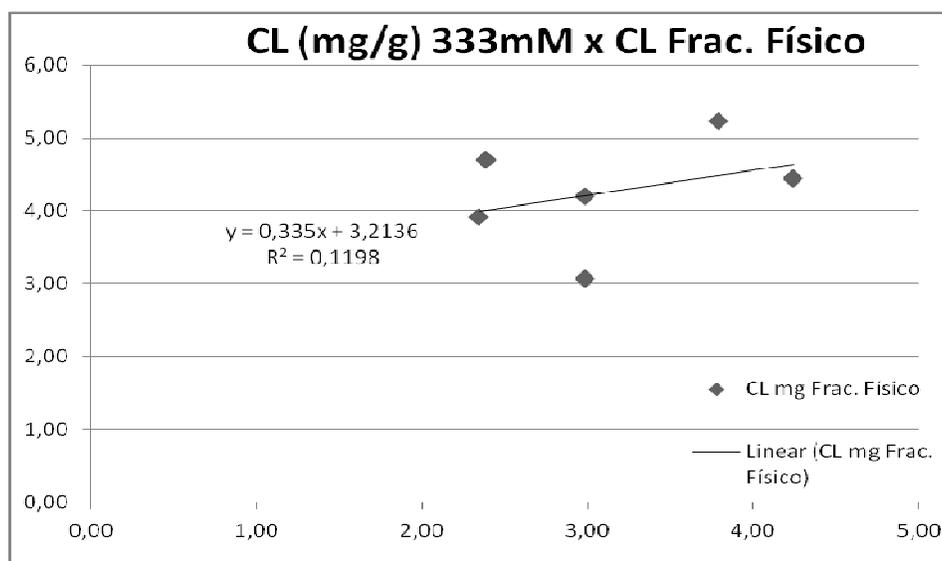


FIGURA 12. Gráfico de dispersão dos valores médios de CL (em mg/g) por tratamento entre os métodos de oxidação do CL por permanganato de potássio a 333mM e fracionamento físico, com a equação da reta média e coeficiente de correlação entre eles.

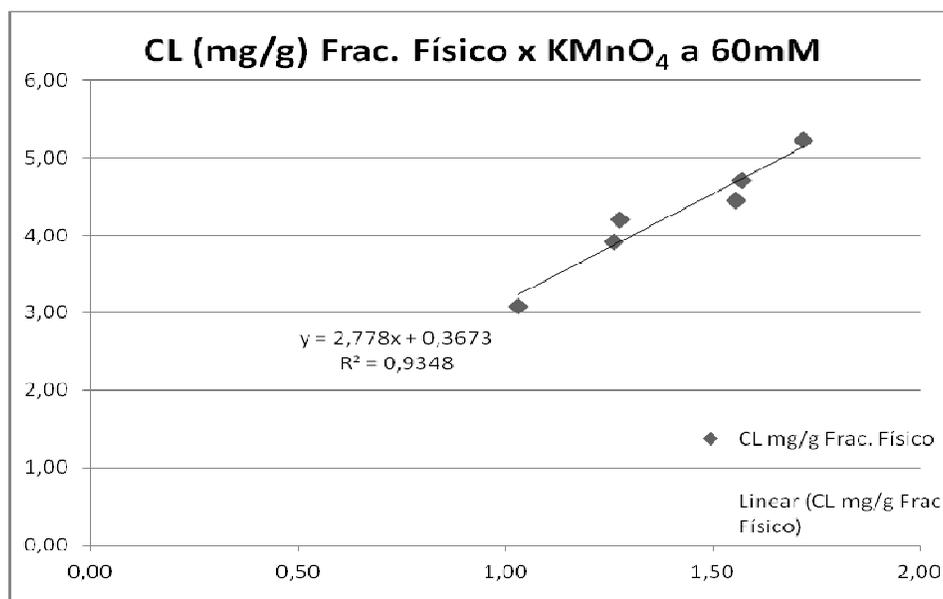


FIGURA 13. Gráfico de dispersão dos valores médios de CL (em mg/g) por tratamento entre os métodos de oxidação do CL por permanganato de potássio a 60mM e fracionamento físico, com a equação da reta média e coeficiente de correlação entre eles.

Pelos resultados apresentados nos testes preliminares, optou-se pelo método de oxidação com o KMnO₄ a 60mM, pois este se mostrou mais apropriado para aplicabilidade em mostras de solo e comparação com o fracionamento físico na análise global das amostras de solo utilizadas. Resultados similares foram obtidos por F.C.B. VIEIRA et al. (2007).

2.2- OXIDAÇÃO DO CARBONO LÁBIL COM KMnO₄ A 60mM E FRACIONAMENTO FÍSICO

Comparando-se na Tabela 5, os resultados entre os métodos de oxidação com 60mM e o fracionamento físico, foi observada uma correlação linear cujo $r^2 = 0.82$, com níveis de significância de $P < 0.001$.

TABELA 5. Valores médios de CL (mg/g de solo) obtidos pelo método de oxidação a 60 mM e pelo fracionamento físico em amostras de solo coletadas sob diferentes manejos.

TRATAMENTO	CL (mg/g) KMnO_4	
	60 mM	CL (mg/g) FF
L1PM	2,07	5,00
L1PS	2,13	5,82
L4PM	1,82	5,12
L4PS	1,63	4,43
LCCS	1,86	4,32
LCCV	1,55	3,92
LCPD	1,96	4,99
P4LM	1,73	4,66
P4LS	1,75	4,43
PCAL	2,11	6,14
PCCA	2,36	6,83
PCSA	1,85	5,13

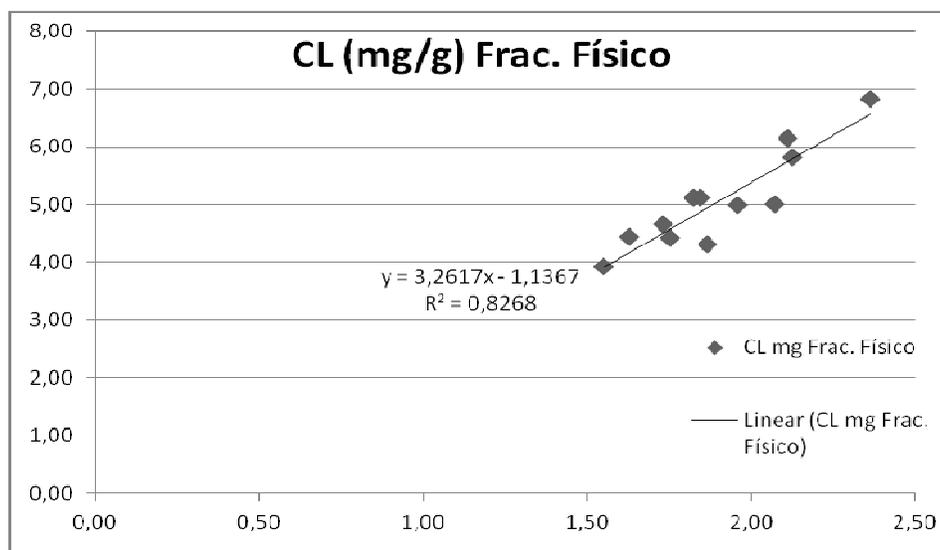


FIGURA 14. Gráfico de correlação de CL (mg/g) entre os métodos de oxidação por permanganato de potássio a 60mM e o do fracionamento físico, com a equação linear representativa, em amostras de solo da região do Cerrado submetidas a diferentes manejo de solo.

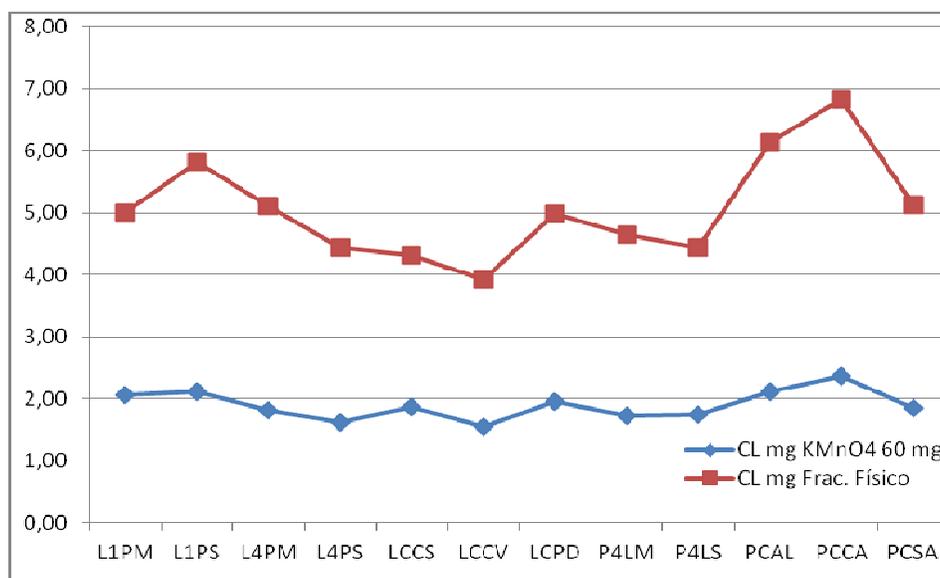


FIGURA 15. Gráfico comparativo dos valores médios de CL (em mg/g) por tratamento entre os métodos de oxidação do CL por permanganato de potássio a 60mM e fracionamento físico.

Conforme observado na figura 15, os teores de CL obtidos através da oxidação com o KMnO_4 a 60mM foram inferiores aos resultados obtidos através do fracionamento físico.

A justificativa mais plausível para essas diferenças é que o conceito fundamental do processo de fracionamento físico da MOS em solos é a retenção da matéria orgânica particulada. Isto está diretamente relacionado à quantidade adicionada de fitomassa dos diferentes tratamentos. Já o método da oxidação do CL com KMnO_4 a 60mM, isso nem sempre é possível, pois a solução oxidante não reage com alguns constituintes internos ou recalcitrantes dessa fração (porções mais estabilizadas da matéria orgânica). Porém, o KMnO_4 a 60mM pode oxidar quantidades significativas de CL associado a fração mineral, o qual não é detectado de forma eficiente por meio do fracionamento físico.

Pela definição de carbono lábil, o KMnO_4 a 60mM deve oxidar porções mais “jovens” de matéria orgânica. Logo, a diferença provável entre os dois métodos seria que: o carbono atacado pela oxidação com KMnO_4 é a fração da matéria orgânica disponível para a ação decompositora da massa microbiana, enquanto no fracionamento físico; seriam recuperadas, possivelmente, porções mais estáveis da MOS do solo presentes na porção mais grosseira e de maior tamanho do solo, retida na peneira de 0,053mm.

CONCLUSÕES

O método Dakota do Sul modificado e o método de combustão seca para determinação dos teores de carbono total em amostras de solo apresentaram resultados distintos, mas com tendências similares.

O método de combustão seca subestimou os teores de COT quando comparados ao Dakota do Sul modificado. Isso se deve, provavelmente, a presença de resíduos de carvão resultantes de queima da vegetação pretérita nas amostras, os quais foram consumidos e detectados via combustão úmida.

Um ponto positivo do método Dakota do Sul modificado é que o mesmo apresenta bom custo-benefício, repetitividade e capacidade de leitura de várias amostras por dia, muito superior ao da combustão seca.

O método para determinação do CL com KMnO_4 a 333mM mostrou não ser adequado para aplicação em amostras de solo do Cerrado, pois os resultados observados em amostras com teores mais baixos de MOS são superestimados.

O método para determinação do CL com solução de KMnO_4 a 60mM apresentou alta correlação com o método de fracionamento físico da matéria orgânica em amostras de solo, com boa precisão e sensibilidade aos diferentes tratamentos. A capacidade de determinação de amostras por dia e o custo-benefício do método foi superior ao fracionamento físico. Apesar dos resultados via oxidação com KMnO_4 a 60mM serem menores em relação ao fracionamento físico, o mesmo pode ser de boa aplicação em rotina de laboratórios de análise de solos, com o objetivo de estimar e diagnosticar as mudanças qualitativas dos teores de CL em função de diferentes manejos do solo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sugere-se, a exemplo do método Dakota do Sul modificado, que sejam estudadas alternativas de se realizar a decantação dos extratos das amostras para a determinação do CL por oxidação com KMnO_4 a 60mM antes de proceder a leitura das mesmas em espectrofotômetro, como forma de eliminar o processo de centrifugação.

Sugere-se também testar diferentes concentrações de KMnO_4 para oxidação do CL, possivelmente abaixo de 60mM, com o intuito de se aumentar a sensibilidade e a eficiência do método.

Uma possibilidade para aumentar a quantidade de carbono lábil oxidado em KMnO_4 , seria mudar o meio de oxidação de neutro para ácido, utilizando-se o ácido sulfúrico em diferentes concentrações, formando-se um gradiente para futuros estudos.

Para se reduzir os resíduos remanescentes das análises de amostras de solo para análises de COT e CL, sugere-se a diminuição das quantidades de reagentes (solução sulfocrômica e de KMnO_4 , respectivamente), sem perder a acurácia, repetitividade e capacidade de leitura de amostras por dia, com vistas a melhorar a preservação ambiental e o manejo de resíduos em laboratório.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALDOCK, J.A., NELSON, P.N., 2000. Soil organic matter. In: Sumner, M.E. (Ed.), Handbook of Soil Science. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 25–84.

BALDOCK, J.A., SKJEMSTAD, J.O., 2000. The role of the mineral matrix in protecting natural organic materials against biological attack. *Org. Geochem.* 31, 697-710.

BAYER, C. Dinâmica da matéria orgânica em sistemas de manejo de solos. 1996.240f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

BAYER, C. e MIELNICZUK, J. Características químicas do solo afetadas por métodos de preparo e sistemas de cultura. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.21, p.105-112,1997.

BAYER, C. e MIELNICZUK, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F. A. O. Fundamentos da matéria orgânica do solo. *Ecosistemas tropicais e subtropicais*. Ed. Gênese. Porto Alegre, p. 9-26. 1999.

BELL, M.J., P.W. MOODY, R.D. CONNOLLY, AND B.J. BRIDGE. 1998. The role of active fractions of soil organic matter in physical and chemical fertility of Ferrosols. *Aust. J. Soil Res.* 36:809-819.

BELL, M.J., P.W. MOODY, S.A. YO, AND R.D. CONNOLLY. 1999. Using active fractions of soil organic matter as indicators of the sustainability of Ferrosol farming systems. *Aust. J. Soil Res.* 37:279-287.

BLAIR, G.J.; LEFROY, R.D.B.; LISLE, L. Soil carbon fractions based on their degree of oxidation, and the development of a carbon management index for agricultural system. *Australian Journal of Agriculture Research*, v.46, p.1459-1466, 1995.

BLAIR, N., CROCKER, G.J., 2000. Crop rotation effects on soil carbon and physical fertility of two Australian soils. *Aust. J. Soil Res.* 38, 71–84.

BLAIR, N., FAULKNER, R.D., TILL, A.R., CROCKER, G.J., 2006b. Long-term management impacts on soil C, N and physical fertility. Part III. Tamworth crop rotation experiment. *Soil Till. Res.* 91, 48–56.

BLAIR, N., FAULKNER, R.D., TILL, A.R., KORSCHENS, M., SCHULZ, E., 2006a. Long-term management impacts on soil C, N and physical fertility. Part II. Bad Lauchstadt static and extreme FYM experiments. *Soil Till. Res.* 91, 39–47.

CAMBARDELLA, C.A., ELLIOTT, E.T., 1992. Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56, 777–783.

CAMBARDELLA, C. A. e ELLIOTT, E.T. Carbon and nitrogen dynamics of soil organic matter fractions from cultivated grassland soils. *Soil Science Society American Journal*, v. 58, p. 123-130, 1994.

CAMPBELL, C.A., V.O. BIEDERBECK, .G. MCCONKEY, D. CURTIN, AND R. P. ZENTNER. 1999. Soil quality – Effects of tillage and fallow frequency. Soil organic matter quality as influenced by tillage and fallow frequency in a silt loam in southwester Saskatchewan. *Soil Biol. Biochem.* 31:1-7.

CAROLAN, R., Modification of Graham's method for determination of soil organic matter by colorimetric analysis. *Soil Sci.* 66: 241-247, 1948.

COTTON, F.A., AND G. WILKINSON. 1965. *Advanced inorganic chemistry.* 4th ed. Interscience Publishers, John Wiley and Sons, New York. p. 839-840.

DIEKOW, J., MIELNICZUK, J., KNICKER, H., BAYER, C., DICK, D.P., KOGEL-KNABER, I., 2005A. Carbon and nitrogen stocks in physical fractions of a subtropical Acrisol as influenced by long-term no-till cropping systems and N fertilization. *Plant Soil* 268, 319–328.

DIEKOW, J., MIELNICZUK, J., KNICKER, H., BAYER, C., DICK, D.P., KOGEL-KNABER, I., 2005b. Composition of organic matter in a subtropical Acrisol as influenced by land use, cropping and N fertilization assessed by CPMAS ¹³C NMR spectroscopy. *Eur. J. Soil Sci.* 56, 705–715.

DUXBURY, J. M., SMITH, M. S. e DORAN, J. W. Soil organic matter as a source and sink of plant nutrients. In: *Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems.* D.42 C. Coleman, J. M. Oades e G. Uehara (Eds.), University of Hawaii, Honolulu, Hawaii, p. 33-67, 1989.

FRAGA, V. da S. e SALCEDO, I. H. Frações da matéria orgânica determinadas por quatro métodos para avaliar mudanças no uso do solo. In: *FertBio. Anais...*

Rio de Janeiro. 2002.

F.C.B. VIEIRA et al. Carbon management index based on physical fractionation of soil organic matter in an Acrisol under long-term no-till cropping systems / Soil & Tillage Research 196-96 (2007) 195–204.

FOWLER, R. H. E BRIGHT, H. A., J. Research Nat. Bur. Standarts, 15, 493, 1935.

GRAHAM, E.R., Determination of soil organic matter by means of photoelectric colorimeter. Soil Sci. 65: 181-183, 1948.

GUIMARÃES, G. A.; BASTOS, J. B.; LOPES, E. C. Métodos de análise física, química e instrumental de solos. Vol. 1, n. 1. Belém: IPEAN, 1970. 112p.

HUTZINGER, O. The handbook of environmental chemistry. 3 vols, parts A, B, C, D. Heidelberg: Springer-Verlag, 1980/1986.

JANTALIA, C.P.; RESCK, D.V.S.; ALVES, B.J.R.; ZOTZRELLI L.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Tillage effect on C stocks of a clayey oxisol under a soybean-based crop rotation in the Brazilian Cerrado region. Soil and Tillage Research, Amsterdam, v.95, n. 1-2, p. 97-109, 2007.

J.A. QUAGGIO, B. VAN RAIJ, Comparação de métodos rápidos para determinação da matéria orgânica em solos. R. Bras. Ci. Solo 3: 184-187, 1979.

KOLTHOFF, I. M., LAITINEN, H. A. E LINGANE, J. J., J. Am. Chem Soc., 59, 429, 1937.

LAL, R. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma*, Amsterdam, v.123, n.1-2, p. 1-22, 2004.

LANG, R., *Z. Anal. Chem.*, 45, 649, 1906.

LOGINOW, W.; WISNIEWSKI, W.; GONET, S.S.; CIESCINSKA, B. Fractionation of organic carbon based on susceptibility to oxidation. *Polish Journal Soil Science*, v.20, p.47-52, 1987.

MARCHÃO, R.L.; BECQUER, T.; BRUNET, D.; BALBINO, L.C.; VILELA, L.; BROSSARD, M. Carbon and nitrogen stocks in a Brazilian clayey oxisol: 13-year effects of integrated crop-livestock management systems. *Soil and Tillage Research*, Amsterdam, 2008.

METZLER, D. E., MYERS, R. J. E SWIFT, E. H., *Ind. Eng. Chem. Soc.*, 59, 429, 1937.

MOODY, P.W., S.A. YO, AND R.L. AITKEN. 1997. Soil organic carbon, permanganate fractions, and the chemical properties of acidic soils. *Aust. J. Soil Res.* 35:1301-1308.

NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C.L.; BARROS, N.F. de. Ensaio em ambiente controlado. In: EMBRAPA. *Métodos de pesquisa em fertilidade do solo*. Brasília: EMBRAPA, 1991. p.189-251.

OHLWEILER, O. A.. E MEDITSCH, J. O., *Eng. E Quim.*, 6, 2, 1955

O'NEILL, P. Environmental Chemistry. London: Chapman & Hall, 1993. 268p.

RAIJ, B VAN & ZULLO, M.A.T., Métodos de análise de solo para fins de fertilidade. Inst. Agron. Campinas, 1977.

REID, P.H. & COPELAND, C., Tentative analytical methods used for the testing of farmers samples by the soil testing Division. North Carolina Department of Agriculture, Raleigh, 1966.

REIN, T.A.; DUXBURY, J.M. Modeling the soil organic carbon, texture and mineralogy relations in the profile of oxisols from the Brazilian cerrado. In: SIMPOSIO NACIONAL CERRADO E II SIMPOSIO INTERNACIONAL DE SAVANAS TROPICAIS, 9., 2008, Brasilia. Anais: Embrapa Cerrados, 2008.

ROSCOE, R. BUURMAN, P. Tillage effects on soil organic matter dynamics in density fractions of a Cerrado oxisol. Soil and Tillage Research, Amsterdam, v.70, n.2, p.107-119, 2003.

ROSCOE, R.; MACHADO, P.L.O.A. Fracionamento físico do solo em estudos da matéria orgânica. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2002. 86 p.

SALTON, J.C.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; FABRICIO, A.C; MACEDO, M.C.M.; BROCH, D.L.; BOENI, M.; CONCEICAO, P.C. Matéria orgânica do solo na integração lavoura-pecuária em Mato Grosso do Sul. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2005. 58p. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 29.

SALTON, J.C.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; BOENI, M.; CONCEICAO, P.C.; FABRICIO, A.C; MACEDO, M.C.M.; BROCH, D.L. Agregação e estabilidade de agregados do solo em sistemas agropecuários em Mato Grosso do Sul. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v.32, n.1, p. 11-21, 2008.

SAWYER, C. N. & McCARTY, P. L. *Chemistry for environmental engineering*. New York: McGraw-Hill, 1994. 532p.

SILVA, J.E. & RESCK, D.V.S. Matéria orgânica do solo. In: *Biologia dos solos dos cerrados*. VARGAS, M.A.T. & HUNGRIA M., Eds, EMBRAPA-CPAC, 1997. P. 465-524.

SCHNITZER, M. Humic substances: chemistry and reactions. In. SCHNITZER, M.; KHAN, S.U. (Ed.). *Soil organic matter*. New York: Elsevier, 1978. P. 1-64.

SCHOLLENBERGER, C.J., A rapid approximate method of determining soil organic matter. *Soil Sci.* 24: 65-68, 1927.

SHANG, C.; TIESSEN, H. Organic matter lability in a tropical oxisol: evidence from shifting cultivation, chemical oxidation, particle size, density, and magnetic fractionations. *Soil Science*, Baltimore, v.162, p.795-807, 1997.

SKOOG, D.A., AND D.M. WEST. 1969. Applications of oxidation-reduction reagents to volumetric organic analysis. Chapter 21. *In* *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 2nd Edition. Holt, Rinehart, and Winston, New York, NY.

SPOSITO, G. The chemistry of soils. New York: Oxford University Press, 1989. 277p.

STEVENSON, F.J. 1994. Humus chemistry: genesis, composition, reactiond. Second edition ed, John Wiley & Sons, 496p.

STEVENSON & COLE Cycles of soils: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. 2. ed. Ed. York: J. Wiley, 1999. 427p.

SWIFT R.S. Organic matter characterization. In. SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHSTON, C.T. & SUMMER, M.E., eds. Methods of soil analisys. Madison: Soil Science Society of America/American Society of agronomy, 1996. Part 3. Chemical methods. P. 1011-1020 (Soil Science Society of America book, Series5).

TEDESCO, J.M.; WOLKWEISS, S.J.; BOHNEN, H. Análise de solo, planta e outros materiais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1985. 156p.

TIESSEN, H; CUEVAS, E.; SALCEDO, I.H. Organic matter stability and nutrient availability under temperate and tropical conditions. Advances in GeoEcology, v. 31, p. 415-422, 1998.

VERLEGIA, F. & GARGANTINI, H., Deterinação de matéria orgânica em solos. Estudo comparativo entre métodos. Bragantia 27: 257-266, 1967.

VOGEL, A. I. Química Analítica Cuantitativa. Vol. 1. Buenos Aires: Editora

Kapelusz, 1960. 812p.

YEOMANS, J.C. AND BREMNER, L.M. 1998. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Communication in Soil Science Plant Analysis*, Vol. 19, pp 1467-1576.

WALKLEY, A., A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils. Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Sci.* 63: 251-264, 1947.

WALKLEY, A. & BLACK, I. A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, v. 37, p. 29-38, 1934.

WEIL, R.R., AND F. MAGDOFF. 2004. Significance of soil organic matter to soil quality and health. p. 1-43. In F. Magdoff and R.R. Weil (ed.) *Soil organic matter in sustainable agriculture*. CRC Press. Boca Raton, FL.

WEIL, R.W., ISLAM, K.R., STINE, M.A., GRUVER, J.B., SAMSON-LIEBIG, S.E., 2003. Estimating active carbon for soil quality assessment: a simplified method for laboratory and field use. *Am. J. Altern. Agric.* 18, 3-17.

WENDLING, B ; JUCKSCH, I ; MENDONÇA, E.S. ; NEVES, J.C.L.; SILVA, I.R. AND COSTA, L. M. 2008. Organic-Matter Lability and Carbon-Management Indexes in Agrosylvopasture System on Brazilian Savannah. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, Vol. 39, pp 1750-1772.

WOOMER P.L.; MARTIN A.; ALBRECHT, A.; RESCK, D.V.S. &

CHARPENSEEL, H.W. The importance and management of soil organic matter in the tropics. In: WOOMER, P.L. & SWIFT, M.J., eds. The biological management of tropical soil fertility. Chichester, West Sussex, UK: John Wiley & Sons. 1994. P. 47-80.