

Determinação de matéria orgânica em amostras de solo - Estudo comparativo de métodos

Bazoni, C.H.V.¹; Kleinert, J.J.²; Germano, M.G.³; Leite, R.S.³; Oliveira Junior, A. de⁴

¹ Universidade Estadual de Londrina, Bolsista Pibic/CNPq/Embrapa Soja.

e-mail: carloshenriquebazoni@gmail.com; ²Técnico B, Embrapa Soja, Londrina, PR; ³Analista, Embrapa Soja, Londrina, PR; ⁴ Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, PR.

Introdução

A matéria orgânica do solo exerce papel de grande importância, tanto do ponto de vista químico, quanto físico ou biológico. A sua origem, a composição química, as alterações, e suas funções, vêm sendo alvo de diversos estudos, devido ao conhecimento de seus teores ser fundamental em diferentes áreas da Ciência do Solo (SOARES et al., 2009), além da grande importância no fornecimento de nutrientes às plantas, retenção de água, de cátions e outros fatores.

A determinação do teor de matéria orgânica do solo baseia-se na oxidação a CO_2 por íons dicromato em meio fortemente ácido. No método originalmente proposto por Walkley e Black (1934), a determinação da quantidade de íons Cr(III) reduzidos é feita pela titulação dos íons dicromato em excesso, com íons Fe^{3+} . Alternativamente, pode-se determinar indiretamente a quantidade de íons Cr(III) por colorimetria, medindo a intensidade da cor produzida por esses íons em solução. Trata-se, portanto, de uma modificação do método de Walkley e Black.

O método colorimétrico, amplamente adotado pelos laboratórios de análise de solo no Brasil, requer a montagem de uma curva padrão de calibração. Essa curva é feita com uma série de amostras de solo, sendo que o teor de matéria orgânica das amostras utilizadas para a montagem da curva de calibração é determinado por titulação (método padrão).

Tanto a titulação quanto o método colorimétrico são considerados caros e lentos. Embora o colorimétrico ainda seja muito utilizado em rotina, por ser um método satisfatoriamente preciso, existe a busca por um procedimento que não gere resíduos tóxicos. Uma alternativa em estudo é a Espectroscopia no Infravermelho Próximo (Near Infra-red Spectroscopy - NIRS). A metodologia NIRS é uma técnica moderna que permite a determinação de diversos parâmetros físicos e químicos em diversas matrizes, inclusive solo, a partir de sua reflectância em faixas do espectro com determinados comprimentos de onda (NIRS: 800 - 2500 nm). Esta nova geração de equipamento NIRS, além de realizar análise não destrutiva nas amostras, também não necessita de gases, reagentes e outros insumos fundamentais para a operação dos equipamentos tradicionais (MINASNY et al., 2008). Embora a aplicação desta técnica para estudos de solo esteja em pleno crescimento, existem alguns aspectos metodológicos ainda não analisados de maneira conclusiva. Um desses aspectos reside na etapa de pré-processamento de dados, tais como o uso de derivadas e a correção de dispersão, visando aperfeiçoar características espectrais. Na predição do conteúdo de carbono do solo pelo NIRS, muitos autores utilizaram a primeira derivada do espectro (MORON; COZZOLINO, 2004), enquanto outros preferiram a segunda derivada (FYSTRO, 2002). O uso de derivada é uma correção matemática para melhorar o tratamento de dados.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade de uso do NIRS para determinação da matéria orgânica em amostras de solo, em substituição ao método colorimétrico.

Material e Métodos

Para a comparação dos métodos, foram utilizadas 273 amostras de solo coletadas no município de Londrina, PR, que foram moídas até a granulometria inferior a da peneira de 40 mesh (0,420 mm). Para determinação colorimétrica do carbono orgânico do solo, foi utilizado cachimbo de 1,0 cm³ e erlenmeyer de 125 mL. Os reagentes utilizados para oxidação da matéria orgânica foram compostos pelo dicromato de sódio 0,0167 mol L⁻¹ (Na₂Cr₂O₇) e ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄). Para determinação analítica, foi utilizado o Espectrofotômetro de Absorção Molecular Lambda 25 (Perkin Elmer).

Neste procedimento, cachimbou-se 1 cm³ de solo de cada amostra e uma prova em branco completa sem solo. Foi adicionado 10 mL da solução de dicromato de sódio (Na₂Cr₂O₇) e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. Após 2 horas, foi adicionado 50 mL de água sobre cada amostra. Deixou-se descansar por uma noite. No dia seguinte, retirou-se uma alíquota de 10 mL e realizou-se a leitura no espectrofotômetro, no comprimento de onda de 650 nm. A determinação da curva-padrão de calibração foi feita por meio da titulação de 29 amostras de solo, que apresentavam ampla faixa de concentração, bem como a determinação dos respectivos valores em absorvância (pelo método colorimétrico). Ajustou-se, então, o modelo de regressão linear relacionando à absorvância (y) em resposta ao teor de Carbono Orgânico (CO), em g dm⁻³ (x).

A análise por espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) foi realizada no Laboratório de Análises Físico-Químicas e Cromatográficas da Embrapa Soja. Foi medida a reflectância entre 10000 e 4000 cm⁻¹, com resolução de 16 cm⁻¹, utilizando um Espectrômetro FT-NIR Antaris II (Thermo Scientific). Cada espectro, formado a partir da média de 32 leituras ou scans, foi registrado como absorvância (logaritmo do inverso da reflectância), para cada comprimento de onda. Após a obtenção dos espectros crus, realizou-se uma Análise de Componentes Principais (PCA), uma Análise de Regressão de Quadrados Mínimos Parciais (PLS), com o auxílio do programa computacional Unscrambler X.

Foram aplicados três pré-tratamentos diferentes aos dados espectrais para melhorar o agrupamento das amostras: o SNV (Desvio normal padrão), aplicado para diminuir as variações de intensidade de absorção e melhorar as características espectrais; o uso da primeira derivada de Savitzky-Golay aos dados espectrais, recomendada para diminuir a variação da linha de base e melhorar as características espectrais (REEVES et al., 2002); e a MSC (correção múltipla de espalhamento), utilizada para remover a influência de efeitos físicos nos espectros, tais como o tamanho de partícula, a rugosidade e opacidade (SOUZA; POPPI, 2012). Foi aplicado também o teste da incerteza, para verificar quais comprimentos de onda influenciam mais o modelo.

Para identificação de outliers espectrais, foi feita a PCA em todos os espectros crus, permitindo detectar alguns pontos discrepantes que foram eliminados para melhor ajuste do modelo. Já no processo de calibração e validação das amostras, realizou-se a PLS, para correlacionar os comprimentos de ondas obtidos com os valores de referência do carbono. Do conjunto total de amostras, foram utilizadas 218 para a calibração e validação cruzada, e 55 para validação externa. No total foram retirados 15 outliers das amostras de calibração, ficando 203 no conjunto de calibração.

Análise estatística

O teste estatístico utilizado para comparação dos teores de CO foi proposto por Leite e Oliveira (2002). Este procedimento é empregado para comparar duas variáveis dependentes quantitativas, combinando três testes: i) o teste $F(H_0)$ para verificar simultaneamente se os estimadores do modelo de regressão linear b_0 e b_1 são iguais a 0 e 1, respectivamente; ii) o teste t para o erro médio ($t_{\text{erro médio}}$), que avalia se existe algum viés (bias) entre as variáveis e está relacionado à acurácia e/ou precisão do método proposto em relação ao método padrão e; iii) análise do coeficiente de correlação linear (r_{yij}) em comparação ao erro médio [$(r_{yij}) \geq |1 - \text{erro médio}|$]. Com base nessas estatísticas, é proposta uma regra de decisão para o teste de hipótese de identidade entre dois grupos de dados quantitativos. Os métodos são considerados idênticos quando os resultados para os três testes forem:

a) $F(H_0) = \text{ns}$; $t_{\text{erro médio}} = \text{ns}$; $[(r_{yij}) \geq |1 - \text{erro médio}|] = \text{Sim}$

b) $F(H_0) = *$; $t_{\text{erro médio}} = \text{ns}$; $[(r_{yij}) \geq |1 - \text{erro médio}|] = \text{Sim}$

Resultados e Discussão

Após a leitura no NIR, observou-se os espectros crus das 273 amostras, ou seja, sem tratamento matemático (Figura 1).

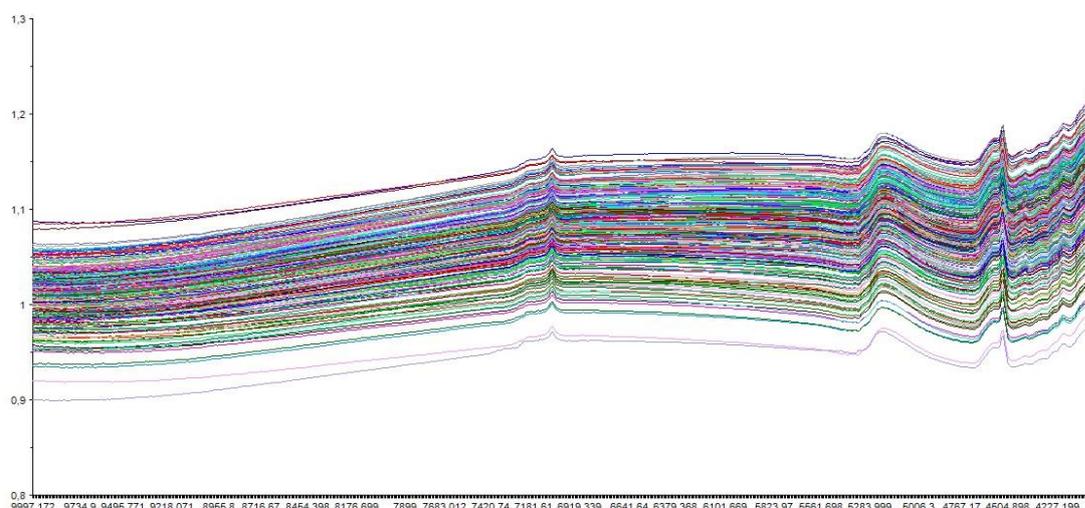


Figura 1. Espectros sem tratamento matemático. Eixo y: valores de absorvância; Eixo x: comprimento de onda.

A utilização do SNV foi descartada, pois não obteve correlação entre o valor de referência e o valor predito. Já a utilização do MSC obteve correlação muito baixa. O tratamento que obteve melhor resultado foi a aplicação da primeira derivada de Savitzky-Golay, como mostra a Figura 2.

Na Figura 2C é possível verificar que a aplicação da primeira derivada apresentou bom resultado. Observa-se que com o fator 1, 45% dos resultados são resolvidos e, até o fator 2, o valor aumentou para 65%. Idealmente, deve-se resolver o maior número de amostras já no primeiro fator. Além disso, também verificou-se que a grande maioria das amostras apresentaram teor de CO entre 10 e 20 g/dm³, como pode ser observado no histograma da Figura 3. É necessário, portanto, alimentar e aprimorar o modelo com amostras que possuam teor de CO menores que 10 e maiores que 20 g/dm³.

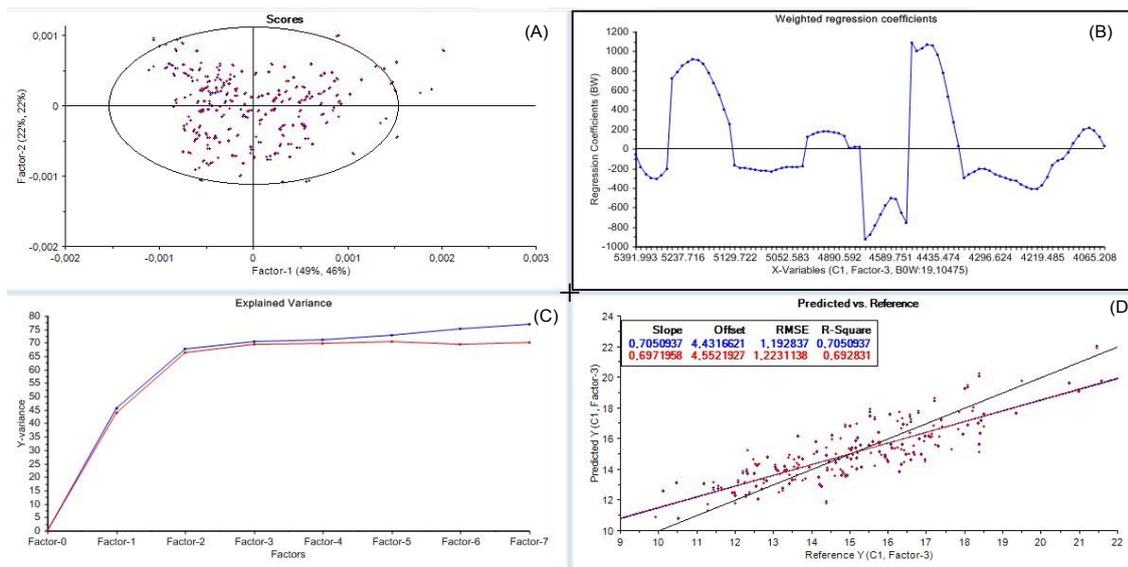


Figura 2. Tratamentos estatísticos aplicados aos espectros. A) Agrupamento das amostras em função dos espectros; B) interferência dos espectros na regressão de coeficientes; C) variação das amostras para cada fator aplicado; D) correlação entre o valor de referência e o predito.

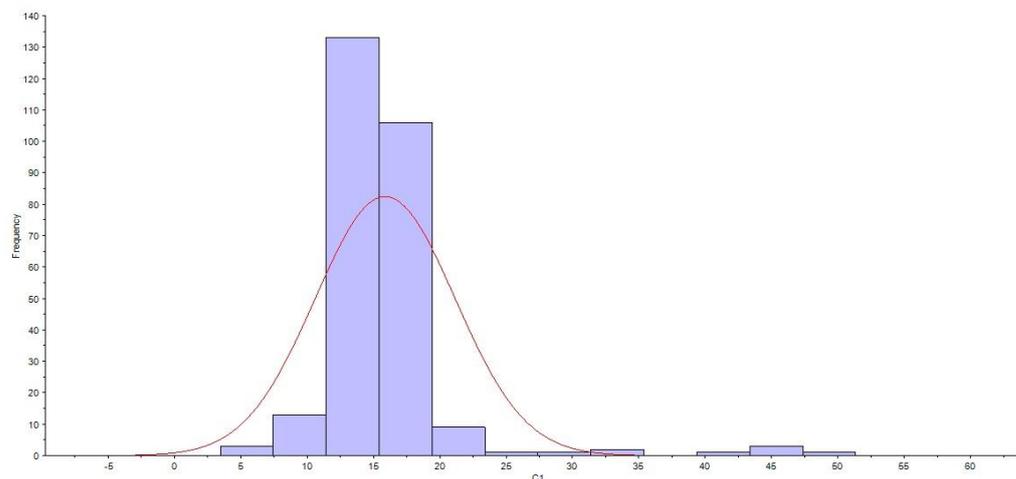


Figura 3. Histograma: concentração de carbono (eixo x) e frequência das amostras (eixo y).

Os dados determinados com a espectroscopia NIR foram comparados com os valores obtidos pelo método colorimétrico (Figura 4). Observa-se, portanto, que existe identidade entre os métodos pelo teste de Leite & Oliveira (2002) o que inicialmente é muito animador tendo em vista o volume de reagentes utilizados com o método de Walkley e Black.

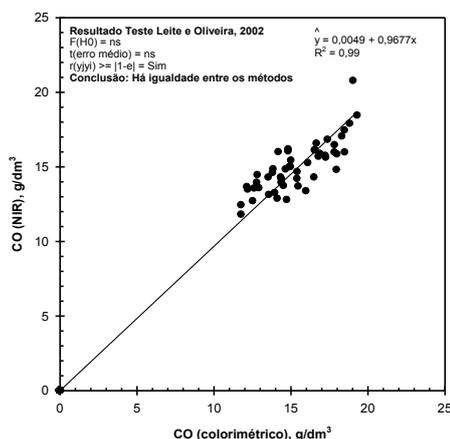


Figura 4. Comparação dos teores de CO determinados por meio dos métodos colorimétrico (eixo x) e NIR (eixo y).

Conclusão

Para o conjunto de amostras avaliadas, há identidade entre o método colorimétrico e o método NIR. Porém, é necessário aumentar o número de amostras, principalmente nas faixas de concentrações extremas, para melhor validação e, conseqüentemente, maior segurança quanto a substituição do método colorimétrico.

Entretanto, muito embora sejam necessários estudos complementares para refinar a técnica do NIR, o fato de haver identidade já na primeira tentativa de comparação das técnicas é um excelente indicativo de que o NIR será uma opção barata e ambientalmente correta para determinação do carbono orgânico em amostras de solo.

Referências

- FYSTRO, G. The prediction of C and N content and their potential mineralisation in heterogeneous soil samples using Vis-NIR spectroscopy and comparative methods. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 246, p. 139-149, 2002.
- LEITE, H.G.; OLIVEIRA, F.H.T. Statistical Procedure to Test the Identity of Analytical Methods. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.33, n.7-8, 2001.
- MISNASNY, B.; MCBRATNEY, A.B.; TRANTER, G.; MURPHY, B.W. Using soil knowledge for evaluation of mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy for predicting soil physical and mechanical properties. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 59, p. 960-971, 2008.
- MÓRON, A.; COZZOLINO, D. Determination of potentially mineralizable nitrogen and nitrogen in particulate organic matter fractions in soil by visible and near-infrared reflectance spectroscopy. **Canadian Journal of Agricultural Science**, Ottawa, v. 142, p. 335-343, 2004.
- REEVES III, J.B.; MCCARTY, G.W.; MIMMO, T. The potential of diffuse reflectance spectroscopy for the determination of carbon inventories in soils. **Environmental Pollution**, London, v. 116, p. 277-284, 2002.
- SOARES, N.L.; XAVIER, J.R.M.; AMARANTE, C.B. **Influência das variáveis massa e temperatura na determinação da matéria orgânica do solo**. IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica; Belém - PA, 2009.
- SOUZA, A.M.; POPPI, R.J.; *Quim. Nova* 2012, 35, 223
- WALKLEY, A.; BLACK, I.A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Science**, Baltimore, v.37, p.29-38, 1934.