

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**THAIS FRONTINI CARA**

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE OS MÉTODOS WALKLEY&BLACK E  
COLORIMÉTRICO PARA ANÁLISE DE CARBONO ORGÂNICO NO SOLO: UMA  
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Ponta Grossa - PR  
2022

**THAIS FRONTINI CARA**

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE OS MÉTODOS WALKLEY&BLACK E  
COLORIMÉTRICO PARA ANÁLISE DE CARBONO ORGÂNICO NO SOLO: UMA  
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentada como requisito para obtenção do título  
de Bacharel em Engenharia Química da  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
(UTFPR).

Orientador: Luciano Fernandes

Ponta Grossa - PR  
2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**THAIS FRONTINI CARA**

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE OS MÉTODOS WALKLEY&BLACK E  
COLORIMÉTRICO PARA ANÁLISE DE CARBONO ORGÂNICO NO SOLO: UMA  
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentada como requisito para obtenção do título  
de Bacharel em Engenharia Química da  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
(UTFPR).

Orientador: Luciano Fernandes

Data de aprovação: 20 de Junho de 2022

---

Luciano Fernandes

Titulação: Doutor

Luciano Fernandes – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Luís Alberto Chavez Ayala

Titulação: Mestre

Luís Alberto Chavez Ayala – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Marcos André Bechlin

Titulação: Doutor

Cesar Arthut Martins Chornobai – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**PONTA GROSSA - PR**

**2022**

Dedico este trabalho a Deus, o qual me deu energia  
e força para concluir esta etapa.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus por me permitir viver esta experiência incrível que foi a graduação, por me dar forças para continuar nos momentos de dificuldade e em todos os outros.

Aos meus pais que não mediram esforços pela minha educação, pelo apoio e incentivo em todos os momentos. A vocês todo o meu orgulho, amor e gratidão.

Aos meus irmãos Robson e Elaine pela amizade e apoio durante toda a minha trajetória.

A minha filha Catherine, meu ponto forte e companheira do processo de desenvolvimento deste trabalho, pra você e por você todo amor e dedicação.

Aos meus amigos de infância Anderson, Michelly, Gabriella e Bruna por todos os conselhos e ajuda nos momentos difíceis.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Luciano Fernandes pela amizade, dedicação e paciência com a qual desempenhou tal função.

Ao meu noivo Gustavo pela compreensão e incentivo.

Enfim, gostaria de deixar o meu reconhecimento a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desta pesquisa.

Felizes são os que ouvem a palavra de Deus e a  
guardam.  
(Lucas 11: 28).

## RESUMO

A influência da Matéria Orgânica do Solo (MOS) nos ecossistemas e na agricultura, vem sendo objeto de análise de diversos estudos. O principal constituinte da MOS é o Carbono e a determinação do Carbono Total (COT) tem sido utilizada para estimar quantitativamente a fração orgânica do solo. Dentre eles, existem alguns métodos que se sobressaem a outros, seja devido a sua maior eficácia, na facilidade da aplicação ou mesmo pelo baixo custo, tal como os métodos Walkley & Black e Colorimétrico, objetos de estudo deste trabalho. Portanto, foi realizada uma análise comparativa entre os métodos, com o objetivo de determinar as vantagens e desvantagens de cada um. Assim, a partir das informações obtidas da revisão bibliográfica foi possível observar que os valores de COT pelos métodos WB e Colorimétrico são subestimados em relação ao método de referência, o qual geralmente é o método de análise elementar. Esses menores índices encontrados são devido ao fato de que ambos os métodos não são capazes de oxidar todas as formas de carbono presentes no solo. Também foi possível concluir que apesar do método Colorimétrico apresentar algumas das desvantagens do método Walkley & Black, como a dificuldade na oxidação total do carbono e necessidade de cálculos mais precisos para determinação do fator correção, este apresenta maior vantagem em reação ao método mais antigo uma vez que elimina alguns inconvenientes. Dentre estes, a utilização de reagentes menos tóxicos, manipulação mais fácil e rápida, elimina possíveis questões de operacionalidade como o ponto de viragem da titulação utilizada no método WB.

**Palavras-chave:** Carbono Orgânico Total, Walkley&Black, Colorimétrico

## **ABSTRACT**

The influence of Soil Organic Material (SOM) on ecosystems and agriculture has been the object of analysis of several studies. The main constituent of SOM is Carbon, and the determination of Total Carbon (TCO) has been used in several studies to quantitatively estimate the soil organic fraction. Among them, there are some methods that stand out, either due to their greater effectiveness, in the ease of application or even by the low cost, such as the Walkley&Black and Colorimetric methods, objects of study of this work. Therefore, a comparative analysis was performed between the methods, with the objective of determining the advantages and disadvantages of each one. Thus, from the information obtained from the literature review, it was possible to observe that the values of TOC by the WB and Colorimetric methods are underestimated in relation to the commonly used reference method, which is the elementary analysis method. These lower indices found are due to the fact that both methods are not able to oxidize all forms of carbon present in the soil. It was also possible to conclude that although the Colorimetric method presents some of the disadvantages of the Walkley & Black method, such as the difficulty in total carbon oxidation and the need for more accurate calculations to determine the correction factor, it has a greater advantage in reaction to the older method since it eliminates some drawbacks. Among these, the use of less toxic reagents, easier and faster handling, eliminates possible operational issues such as the turning point of the titration used in the WB method.

**Keywords:** Total Organic Carbon, Walkley&Black, Colorimetric



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1. Correlações entre os teores de carbono obtidos pelo método de referência e os métodos Mebius (A); Walkley&Black (B); Colorimétrico (C) e Gravimétrico (D). ..... 28
- Figura 2. Comparação dos teores de carbono determinados por meio dos métodos Walkey&Black modificado, Colorimétrico e Gravimétrico, em função do método de Análise Elementar (CNHS). ..... 29

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação entre diferentes métodos de análise por combustão úmida para análise de carbono.....	24
Tabela 2 - Teor de carbono no solo apresentado por Gatto e Colaboradores.....	26
Tabela 3 - Carbono orgânico obtido pelos diferentes métodos. ....	27
Tabela 4 – Comparação entre os métodos WB, Gravimétrico e Colorimétrico em relação ao método referência CNHS. ....	28

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**MOS** - Matéria Orgânica do Solo

**CT** - Carbono Total

**COT** - Carbono Orgânico Total

**AF** - Ácidos Fúlvicos

**AH** - Ácidos Húmicos

**HUM** - Humina

**CO** - Carbono Orgânico

**WB** - Walkley&Black

**YB** - Yeomans & Bremner

## LISTA DE SÍMBOLOS

**C** – Carbono

**O** – Oxigênio

**H** – Hidrogênio

**N** – Nitrogênio

**S** – Enxofre

**P** – Fósforo

**CO<sub>3</sub><sup>-2</sup>** – Carbonato

**HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>** – Bicarbonato

**CO<sub>2</sub>** – Dióxido de carbono

**CaCO<sub>3</sub>** – Carbonato de Cálcio

**MgCO<sub>3</sub>** – Carbonato de Magnésio

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** – Ácido Sulfúrico

## SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....	9
LISTA DE TABELAS .....	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	11
LISTA DE SÍMBOLOS.....	12
1 INTRODUÇÃO .....	14
2 OBJETIVOS .....	16
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
3.1 Matéria Orgânica do Solo (MOS).....	17
3.2 Carbono Orgânico Total (COT).....	18
3.3 Metodologias para determinação de Carbono Orgânico em Solos .....	19
3.3.1 Método Walkley&Black .....	19
3.3.2 Adaptações do método Walkley&Black .....	20
3.3.3 Método Colorimétrico .....	21
4 METODOLOGIA.....	22
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
6 CONCLUSÕES .....	32
7 REFERÊNCIAS.....	34

## 1 INTRODUÇÃO

A Matéria Orgânica do Solo (MOS), mesmo em pequenas quantidades, influencia as propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos, sendo um dos seus constituintes essenciais (WALINGA, 1992). Dessa forma, desempenha um importante papel nos ecossistemas como um dos principais indicadores da qualidade do solo (LAU, 2004; SINGH, 2007), além de ser responsável pela agregação, porosidade e capacidade de retenção de água e nutrientes no solo (HOFFLAND, 2020).

Devido a isso, a MOS influencia a produtividade (LAU, 2004), os ecossistemas (COLEMAN, 1996) e a remediação do solo (GAN, 2012) afetando diretamente o desenvolvimento da agricultura e a preservação ambiental. Sendo assim, a análise adequada do solo é de extrema importância para identificar problemas de fertilidade, para melhorar a qualidade dos produtos agrícolas, elevando a resistência à seca, doenças e pragas, e também para preservar a qualidade ambiental, uma vez que os solos são uma das principais fontes naturais de gases de efeito estufa para a atmosfera (MACHADO, 2005). Portanto, há uma constante necessidade de métodos eficazes para determinar e analisar a constituição da matéria orgânica que possam manter o controle ambiental e impulsionar a agricultura (VEZZANI, 2008).

O carbono é o maior constituinte da matéria orgânica, representando aproximadamente 58% e por isso, a determinação do carbono orgânico total tem sido utilizada para estimar quantitativamente a fração orgânica do solo (NELSON & SOMMERS, 1996). Desse modo, a correta determinação do carbono e assim, a quantificação do teor de MOS, é de grande relevância para determinar se o solo apresenta um teor adequado ou deficiente de matéria orgânica.

Para essa quantificação do carbono podem ser utilizados métodos para a determinação do mesmo em sua forma total, Carbono Total (CT) ou orgânica, Carbono Orgânico Total (COT). Para a determinação do carbono orgânico em solos podem ser utilizados vários métodos, sendo os principais as técnicas por combustão úmida, Walkley & Black e Colorimetria; e por combustão seca, Análise Elementar e Gravimetria. Estes, os quais, vêm sendo constantemente modificados e/ou adaptados (GATTO, 2009)

Assim, apesar de haver um número considerável de técnicas para este tipo de análise, há carência de informações consistentes quanto à definição e

recomendação dos métodos mais adequados (CONCEIÇÃO, 1999). Nesse sentido, o presente trabalho tem o intuito de avaliar os métodos Walkley & Black e colorimétrico para análise de determinação do carbono orgânico em solos.

## 2 OBJETIVOS

Devido a falta de informações e das dificuldades encontradas para determinar a melhor metodologia para quantificar o teor de carbono orgânico total nos solos, este trabalho teve como objetivo geral discorrer sobre os métodos Walkley&Black e colorimétrico. Como objetivos específicos têm-se:

- Apresentar uma revisão bibliográfica com os últimos trabalhos publicados que realizem as análises desses métodos;
- Avaliar e comparar ambos os métodos;
- Apresentar as vantagens e desvantagens de cada método;
- Analisar qual o melhor método.



### **3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

#### **3.1 Matéria Orgânica do Solo (MOS)**

A matéria orgânica do solo pode ser definida como todo material orgânico, de origem vegetal ou animal submetida a diferentes estágios de decomposição. Essa mistura complexa de resíduos somadas aos micro-organismos vivos e seus produtos de excreção e a biomassa total do solo compõe a denominada MOS (GATTO, 2009; CUNHA, 2015).

Pode ser dividida em fração ativa e passiva, sendo a fração passiva caracterizada pelos compostos que são rapidamente degradados pelos micro-organismos, como os aminoácidos, carboidratos, proteínas etc., representando cerca de 30%. E a fração ativa, constituinte de aproximadamente 70 a 80% da MOS na maioria dos solos, a qual é composta por substâncias húmicas que são estruturas supramoleculares de moléculas heterogêneas, relativamente pequenas e auto-montadas e seus produtos primários de decomposição, além da biomassa microbiana e podem ser descritas pelas frações Ácidos Fúlvicos (AF), Ácidos Húmicos (AH) e Humina (HUM) (STEVERSON, 1994; PICCOLO, 2001; CUNHA, 2015; MOREIRA, 2006).

A MOS desempenha um importante indicador da qualidade do solo devido a seu papel vital nas funções do solo e por apresentar forte interação com as características físicas, químicas e biológicas do solo (MOREIRA, 2006). Isso é, o declínio da matéria orgânica ao longo do tempo indica alguma inadequação no sistema de manejo, podendo resultar em baixa fertilidade, déficit na produção de resíduos vegetais, excesso de revolvimento do solo, erosão acelerada, entre outros (MIELNICZUK, 2008).

Devido a isso, exerce forte influência nas condições físicas do solo, como por exemplo na estabilização da temperatura do solo, no aumento da capacidade de retenção de água no solo, na estabilidade dos agregados, susceptibilidade do solo à erosão, entre outros. Nas condições químicas, como na capacidade de troca de cátions, na ciclagem de nutrientes, na complexação de elementos tóxicos do solo e estimulação da biota do solo, pH e na condutividade elétrica (CONCEIÇÃO, 2005; MOREIRA, 2006).

Em relação à biologia do solo, a MOS também exerce função essencial, como na estimulação da biota do solo, devido ao fornecimento de nutrientes e energia para

atividade desses organismos exercendo forte influência na capacidade produtiva do solo. Dessa forma, a MOS é um ativo essencial para a produtividade do solo, que muda constantemente em função do uso desse recurso natural (CONCEIÇÃO, 2005; MOREIRA, 2006).

De maneira geral, pode-se afirmar que na maioria das vezes, quanto maior o teor de MOS, melhor é o solo. Por ser constituída de 58% de C, 33 % de O, 6% de H e 3 % de N, S e P, é fundamental o conhecimento dos seus teores para determinar a produtividade do solo, mas também para outras áreas da ciência do solo (MOREIRA, 2006; PRIMO, 2011).

### **3.2 Carbono Orgânico Total (COT)**

É possível encontrar três formas de expressão de carbono na natureza: carbono em sua forma elementar, tal qual carvão e grafite, carbono inorgânico (CI), que é definido como toda espécie de sais de carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) e bicarbonatos ( $\text{HCO}_3^-$ ), como dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) dissolvido em água, e o carbono orgânico (CO), definido como todo átomo de carbono ligado covalentemente a uma molécula (SCHUMACHER, 2002).

Nos solos, há os três tipos de carbono, resíduos de animais, plantas ou micro-organismos em vários estados de decomposição, o C elementar que está presente no carvão, carvão vegetal e grafite, ambos são considerados para formar a fração orgânica (CO). Enquanto o carbono inorgânico é encontrado como componente mineral em estruturas de carbonatos ( $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{MgCO}_3$  etc.). O carbono orgânico total no solo se encontra tomando parte desses três tipos de material e está presente na matéria orgânica (MO) em cerca de 48-60% do peso total (SCHUMACHER, 2002; BISUTTI, 2004; TEIXEIRA, 2017).

Pelo fato de a MOS conter maior porcentagem de C, a quantificação do C tem sido realizada empregando-se métodos que determinem a forma total (CT) ou orgânica do C no solo (COT) estimar a fração orgânica do solo (NELSON & SOMMERS, 1982). O princípio básico para a quantificação do carbono orgânico total baseia-se na destruição de matéria orgânica presente no solo, a qual pode ser realizada quimicamente ou por meio de calor a temperaturas elevadas. Todas as formas de carbono na amostra são convertidas em  $\text{CO}_2$  que é então medido direta ou

indiretamente e convertido em carbono orgânico total ou teor de carbono total, com base na presença de carbonatos inorgânicos (SCHUMACHER, 2002).

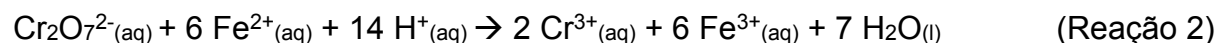
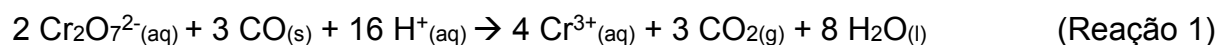
Entretanto, tem sido um grande desafio atualmente estabelecer os níveis críticos de carbono orgânico do solo. Para isso, vários métodos vêm sendo desenvolvidos e adaptados para determinar o teor de matéria orgânica no solo.

### 3.3 Metodologias para determinação de Carbono Orgânico em Solos

Entre os métodos mais utilizados para determinação de COT para análise do teor de MOS, estão: a gravimetria por incineração em mufla, a termogravimetria, cromatografia, a oxidação da matéria úmida (Walkley&Black, Walkley-Black modificado) e oxidação por via seca. Sendo o método de Walkley&Black o mais empregado em laboratórios de solos devido a simplicidade e baixo custo (MIAYZAWA, 2000; MOREIRA, 2006; SEGNINI, 2008). Os métodos Walkley&Black e suas modificações, assim como o Colorimétrico serão descritos a seguir:

#### 3.3.1 Método Walkley&Black

O método Walkley&Black (WB) (Walkley e Black, 1934) é um dos métodos clássicos para análise rápida de carbono orgânico em solos e sedimentos, o qual determina o CO pela oxidação do carbono utilizando dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) em um meio fortemente ácido. A etapa de oxidação é seguida por titulação do excesso de dicromato com sulfato ferroso (GELMAN, 2012; MYLAVARAPU, 2014), conforme as reações abaixo:



Na primeira reação, o dicromato reduzido equivale ao carbono orgânico presente na amostra do solo. Na segunda reação, o excesso de dicromato é titulado com íons  $Fe^{2+}$  (solução padronizada de sulfato ferroso amoniacal). Desta forma, o COT é calculado a partir da diferença entre o dicromato total adicionado e a quantidade de dicromato que não reagiu após a oxidação. É importante ressaltar que

esse método assume que todo o carbono da matéria orgânica está no estado de oxidação zero (RAIJ, 2001).

Para determinar o teor de matéria orgânica presente no solo, o total de carbono orgânico é multiplicado pelo fator van Bemmelen, baseando-se na premissa que a matéria orgânica possui 58% de carbono orgânico (CONCEIÇÃO, 1999), comumente a fórmula empregada para isso é:

$$M.O \text{ g. kg}^{-1} = 1,724 \times C \quad (\text{Equação 1})$$

Este método foi considerado um método padrão para análise de MOS, e tem sido amplamente utilizado por ser uma análise simples, rápida e que dispensa o uso de equipamentos especializados. Entretanto, a precisão do método continua sendo um problema. Um dos pontos questionáveis do método é a extensão da oxidação pelo dicromato (GELMAN, 2012; MYLAVARAPU, 2014), o qual não promove a oxidação completa de carbono orgânico, não alcançando as formas elementares de carbono, o que ocasiona passíveis erros nessa determinação.

Com o intuito de minimizar esses erros, aplica-se um fator de correção (1,33). Estima-se que a recuperação de CO usando esse procedimento varia entre 60 e 86%, com média de 76% (RAIJ, 2011; SCHUMACHER, 2002). Dessa forma, para avaliar a precisão da titulação WB, é necessário comparar os resultados com os obtidos por outros métodos. Entretanto, a técnica possui ainda outras desvantagens, como número limitado de amostras por vez e no que diz respeito às preocupações ambientais sobre a geração de resíduos tóxicos (PAULA, 2013).

### 3.3.2 Adaptações do método Walkley&Black

O método de Walkley & Black (1934) é ainda o mais empregado em laboratórios de solos devido à sua simplicidade e baixo custo. Entretanto, alguns problemas já citados anteriormente têm estimulado a substituição desse procedimento. Devido a isso, ao longo dos anos, surgiram variações e aperfeiçoamentos desse método, como o método proposto por Allison (1960), o qual utiliza o bloco de digestão, baseando-se na captura do CO<sub>2</sub> evoluído, com uma base forte, titulando-se a alcalinidade excedente. Para assim, obter-se unicamente o COT

do solo, no entanto, o método apresenta alto custo e operacionalidade reduzida (NELSON & SOMMERS 1982; RHEINHEIMER, 2008).

Yeomans & Bremner (1988) propuseram o uso do bloco de digestão (Mebius no bloco), no intuito de uniformizar a temperatura durante o processo de digestão, a oxidação do CO é então maximizada pela adição de calor e a reação ocorre sob refluxo, aumentando a eficiência da reação, tornando desnecessária a utilização de fatores de correção. Os autores citam que o aquecimento externo possibilita que maior quantidade de carbono seja detectada, pois a temperatura se mantém durante todo o processo de oxidação do material orgânico (GATTO, 2009). Além disso, nesse método foi possível diminuir a quantidade de solo e de dicromato utilizados, além de aumentar o número de amostras realizadas (RHEINHEIMER, 2008).

Enquanto o método Walkley & Black clássico, ocorre sem aquecimento externo, contando somente com o calor desprendido pela diluição do  $H_2SO_4$  (RAIJ, 2002), no método adaptado por Tedesco *et al.* (1995) as amostras são aquecidas a  $150\text{ }^\circ\text{C}$  por 1 min. Com essa modificação foi possível obter uma melhora na exatidão dos resultados, mas dificultou a operacionalidade, pois as amostras podem não ser aquecidas igualmente, afetando a homogeneidade.

### 3.3.3 Método Colorimétrico

A determinação de CO pela oxidação por via úmida também pode ser feita pelo método Colorimétrico, cujo princípio é baseado nos trabalhos de Coleman, ainda em 1926 (NELSON & SOMMERS, 1996). O método baseia-se na leitura colorimétrica da cor verde do íon  $Cr(III)$  reduzido pelo carbono orgânico. Outra diferença entre o método Walkley & Black é que por questões de solubilidade, é utilizado o dicromato de sódio ( $Na_2Cr_2O_7$ ).

Dessa forma, na primeira etapa o processo ocorre da mesma forma que na oxidação por dicromato de potássio, no entanto, a determinação final é feita por espectrofotometria ao invés de titulação (RAIJ, 2001). Para se quantificar o teor de CO na amostra, uma curva-padrão de calibração deve ser determinada e pode ser construída com teores de carbono determinados pelo WB, ou também por diferentes concentrações de dicromato (OLIVEIRA & PERMONIAN, 2002).

## 4 METODOLOGIA

Com o intuito de avaliar e comparar os métodos Walkley & Black e colorimétrico para análise de determinação do carbono orgânico em solos, a metodologia consistiu, primeiramente, em realizar pesquisas na literatura, a fim de elaborar uma revisão bibliográfica com os trabalhos dos últimos anos relacionados com a análise de carbono orgânico em solos utilizando tanto o método Walkley & Black, quanto o método colorimétrico.

A partir dessa revisão, foi realizada uma análise comparativa entre os métodos, com o objetivo de determinar as vantagens e desvantagens de cada um, para pôr fim determinar qual seria o método mais viável. Desse modo, os procedimentos em relação à metodologia têm como objetivo, pesquisar e gerar uma explicação detalhada acerca da problemática proposta, visando definir o melhor método para determinação do carbono orgânico no solo.

Considerando a abordagem da problemática da pesquisa, o método pode ser de caráter qualitativo, quantitativo, ou ainda, pode-se utilizar de ambos (ANDRADE, 2010). Este estudo, portanto, se caracteriza como qualitativo pelo fato de o estudo ter sido realizado a partir de dados obtidos de fontes documentais a fim de analisar ambos os métodos propostos. Segundo Gerhardt e Silveira (2009), nesse tipo de abordagem o objetivo é de produzir informações aprofundadas e ilustrativas.

Quanto a natureza da pesquisa, este estudo pode ser descrito como pesquisa aplicada, uma vez que tem por objetivo gerar conhecimentos para aplicação prática, visto que apresenta as vantagens e desvantagens de cada método (GERHARDT E SILVEIRA, 2009). Enquanto em relação aos objetivos, pode-se classificar a pesquisa como descritiva, na qual são descritos, analisados e comparados ambos os métodos. Conforme Gil (2008), essas pesquisas têm como objetivo principal a descrição das características de determinada população ou fenômeno ou ainda, o estabelecimento de relações entre variáveis.

Por fim, em relação aos procedimentos pode ser caracterizado como uma pesquisa bibliográfica em que as fontes de pesquisas são secundárias, ou seja, que já foram analisadas de alguma forma (GIL, 2002). Dessa forma, o desenvolvimento da pesquisa ocorreu primeiramente através de fontes primárias a partir de artigos científicos da área.

Isto posto, para a elaboração deste trabalho, foram realizadas diversas análises em artigos científicos, dissertações e teses com temas relacionados a análise de carbono orgânico em solos e os métodos Walkley & Black. As buscas foram feitas utilizando as palavras-chave: método Walkley & Black, método colorimétrico, análise de solos, determinação de carbono orgânico em solo.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o objetivo de avaliar e comparar os métodos Walkley & Black e colorimétrico para análise de determinação do carbono orgânico em solos, primeiramente elaborou-se uma revisão bibliográfica com os trabalhos dos últimos anos que realizaram análises de carbono orgânico em solos de diferentes regiões do país, utilizando tanto o método Walkley & Black, quanto o método colorimétrico.

No trabalho de Rheinheimer e Colaboradores em 2008, os autores avaliaram os métodos análise de carbono por combustão úmida, Walkley & Black modificado por Tedesco et al. (1995), sem fator de correção, Mebius modificado por Nelson & Sommers (1982), Mebius no bloco por Yeomans & Bremner (1988) e Captura de CO<sub>2</sub> descrito por Nelson & Sommers (1982). Estes, os quais se mostraram sensíveis e com uma alta precisão na determinação de COT.

As amostras de solo foram coletadas em triplicata nas camadas de 0–5 e 5–10 cm de um Latossolo Vermelho distrófico típico (Embrapa, 1999) sob mata nativa, campo nativo e sistema de plantio direto, no município de Cruz Alta (RS). Para o método Walkley & Black, os coeficientes de variação foram inferiores a 1,30% nas amostras superficiais (0–5 cm) da mata e campo nativo, com valores elevados de COT. Porém, nas amostras da camada de 5–10 cm, com valores baixos de COT apresentou coeficientes de variação superiores a 1,80%.

**Tabela 1 - Comparação entre diferentes métodos de análise por combustão úmida para análise de carbono.**

Uso do solo	Métodos de análise de carbono por combustão úmida			
	Walkley-Black	Mebius modificado	Mebius no bloco	Captura de CO <sub>2</sub>
<b>Mata nativa</b>	<b>Camada de 0-5 cm</b>			
Média COT g.kg <sup>-1</sup>	35,01 <sup>a</sup>	35,32 <sup>a</sup>	34,68 <sup>a</sup>	31,50 <sup>b</sup>
Desvio padrão	0,44	0,80	0,46	0,78
CV (%)	1,30	2,30	1,30	2,50
<b>Campo nativo</b>				
Média COT g.kg <sup>-1</sup>	27,44 <sup>ab</sup>	28,46 <sup>a</sup>	28,00 <sup>a</sup>	26,37 <sup>b</sup>
Desvio padrão	0,15	0,36	0,72	1,19
CV (%)	0,60	1,30	2,60	4,50
<b>Plantio Direto</b>				
Média COT g.kg <sup>-1</sup>	25,02 <sup>a</sup>	25,82 <sup>a</sup>	25,83 <sup>a</sup>	23,28 <sup>b</sup>
Desvio padrão	0,63	0,28	0,35	1,14
CV (%)	2,50	1,10	1,34	4,90



<b>Mata nativa</b>		<b>Camada 5-10 cm</b>		
Média COT g.kg <sup>-1</sup>	19,69 <sup>a</sup>	18,27b	18,68ab	17,49b
Desvio padrão	1,08	1,18	0,20	0,26
CV (%)	5,50	6,50	1,10	1,50
<b>Campo nativo</b>				
Média COT g.kg <sup>-1</sup>	21,48 <sup>a</sup>	23,22 <sup>a</sup>	22,47 <sup>a</sup>	19,75b
Desvio padrão	1,12	0,35	0,42	1,61
CV (%)	5,20	1,50	1,90	8,20
<b>Plantio Direto</b>				
Média COT g.kg <sup>-1</sup>	18,40a	18,07 <sup>a</sup>	18,58 <sup>a</sup>	16,65c
Desvio padrão	0,33	0,73	0,15	0,76
CV (%)	1,80	4,00	0,80	4,60

Fonte: adaptado de Rheinheimer e Colaboradores (2008).

Dessa forma, é possível perceber que a técnica traz alguns inconvenientes como o fato de que os valores do coeficiente de variação não foram satisfatórios para as amostras com baixa concentração de COT, mostrando que a falta de padronização apresentada pelo método WB, somada a facilidade de interferência do operador nesse tipo de análise trazem consequências para a determinação mais precisa da quantidade de COT no solo. Assim, foi possível concluir que o método Walkley & Black pode ser mais preciso para teores mais elevados de COT.

Em 2009, no trabalho de Gatto e Colaboradores, os autores fizeram a comparação de métodos de determinação do carbono orgânico em solos cultivados com eucalipto. Para determinação do C do solo, foram coletadas amostras em 11 perfis de solo das classes dos Cambissolos, Latossolos e Neossolos em plantações de eucalipto, com idade variando de 7 a 10 anos, cultivadas em diferentes condições edafoclimáticas, na região Centro-Leste do Estado de Minas Gerais.

Três métodos analíticos foram avaliados para determinar o teor de CO, o método Walkley & Black (1934), o método Yeomans & Bremner (YB) (1988) e o método por combustão seca (CHNS/O) como método-referência. De acordo com os resultados obtidos pelos autores, os teores de CO pelo método YB e pelo método WB, apenas diferiram estatisticamente na camada superficial. Nesta camada, maiores teores de CO foram obtidos com o método WB, sendo a diferença entre os dois métodos por combustão úmida de 12% nos Cambissolos, 17% nos Latossolos e 21% nos Neossolos.

Embora a literatura considere o método YB como mais eficiente na oxidação do CO, por causa do controle da temperatura da solução durante o processo (Islam & Weil, 1988), os resultados obtidos pelos autores mostraram o método WB com maior capacidade de predição do CO, especialmente na camada superior. Na camada intermediária, a diferença entre valores foi significativa nos Cambissolos e Neossolos; na camada inferior, não houve diferença estatística entre os teores de CO determinados pelos dois métodos, nas três classes de solo. De maneira geral, foi possível concluir que os teores de CO obtidos pelos três métodos correlacionaram-se significativamente entre si nas classes de solos e profundidades analisadas.

**Tabela 2 - Teor de carbono no solo apresentado por Gatto e Colaboradores.**

Classe	Camada	Profundidade	Teor de C					
			CHNS/O	s	WB	s	YB	s
		<b>Cm</b>	<b>Dag k.g.<sup>-1</sup></b>		<b>Dag k.g.<sup>-1</sup></b>		<b>Dag k.g.<sup>-1</sup></b>	
Cambissolo	Superficial	0-20	1,92 Aa	0,01	1,55 Ab	0,05	1,37 Ac	0,04
	Intermediária	20-80	0,84 Ba	0,01	0,65 Bb	0,04	0,77 Ba	0,01
	Inferior	80-130	0,46 Ca	0,02	0,34 Cb	0,03	0,34 Cb	0,01
Latosolo	Superficial	0-25	2,30 Aa	0,01	1,84 Ab	0,14	1,52 Ac	0,03
	Intermediária	25-70	1,25 Ba	0,09	0,91 Bb	0,02	0,68 Cb	0,04
	Inferior	70-110	0,84 Ca	0,01	0,70 Cb	0,04	0,68 Cb	0,04
Neossolo	Superficial	0-18	1,84 Aa	0,03	1,59 Ab	0,02	1,25 Ac	0,02
	Intermediária	18-50	1,09 Ba	0,00	0,78 Bc	0,01	0,91 Bb	0,01
	Inferior	50-110	0,36 Ca	0,01	0,20 Cb	0,01	0,25 Cb	0,02
Media	Superior	0-20	2,02 Aa	0,01	1,66 Ab	0,07	1,38 Ac	0,01
	Intermediária	20-60	1,06 Ba	0,01	0,78 Bc	0,01	0,87 Bb	0,03
	Inferior	60-108	0,56 Ca	0,03	0,41 Cb	0,02	0,42 Cb	0,01

\* Médias seguidas da mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tuckey a 5%.

**Fonte: adaptado de Gatto e Colaboradores (2009)**

Sato e Colaboradores, em 2013, analisaram 54 amostras de solo coletadas em 0-20 cm em áreas que representam sub-regiões, tipos de solo e histórico de uso e manejo no cerrado brasileiro. O carbono orgânico do solo foi determinado por cinco métodos, dentre eles a análise elementar como método-referência, o método Walkley & Black, Mebius, colorimétrico e gravimétrico. As análises de todos os métodos foram realizadas em triplicata.

**Tabela 3 - Carbono orgânico obtido pelos diferentes métodos.**

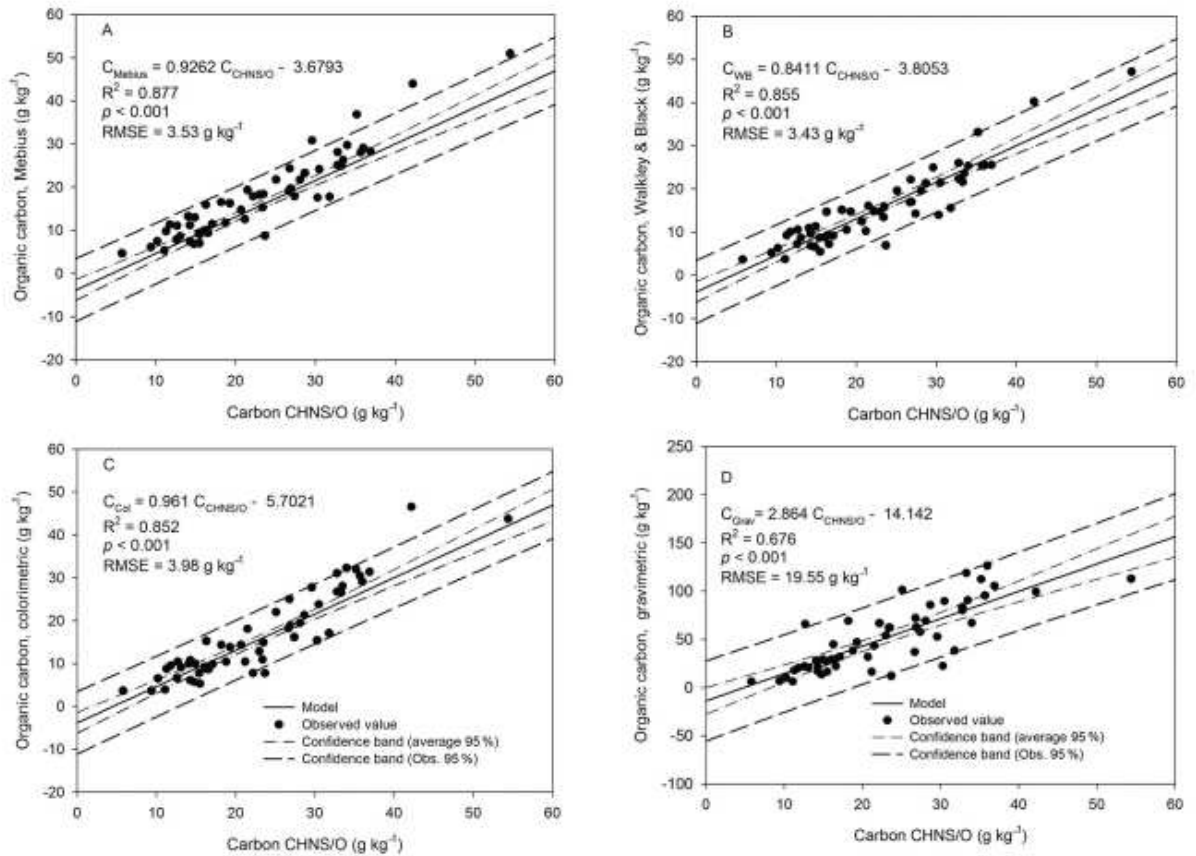
Métodos	Valor Mínimo	Valor Máximo	Média	DP
	g.kg <sup>-1</sup>			
C <sub>CHNS/O</sub>	5,80	54,00	22,98	9,47
CO <sub>WB</sub>	3,62	47,12	15,55	8,91
CO <sub>Mebius</sub>	4,65	50,95	17,67	9,76
CO <sub>Colorimétrico</sub>	3,62	46,52	16,42	10,21
CO <sub>Gravimétrico</sub>	6,15	126,31	51,19	33,76

**Fonte: adaptado de Sato (2013).**

Com os resultados obtidos, os autores puderam observar uma expressiva variação no teor de carbono do solo pelos diferentes métodos estudados. Sendo que o teor de carbono determinado pelo método Mebius foi o mais próximo do método de referência (análise elementar), demonstrando maior recuperação de carbono que os demais métodos baseados em oxidação úmida. Fato que evidencia a eficiência do aquecimento das amostras, que se mantém constante durante o processo de oxidação do material.

Comparando método WB e o Colorimétrico a partir da observação da média das análises, é possível perceber que existe apenas uma pequena diferença entre ambos. Colocando o método CHNS como aquele que determina 100% do COT, o método WB e o Colorimétrico foram capazes de determinar 67 e 71%, respectivamente. A autora aponta que existe diferentes tipos de carbono presente em solos do Cerrado, os quais grande parte está estabilizada em forma inerte como carvão e microagregada ao solo. Como ambos os métodos não são capazes de oxidar totalmente o carbono, os menores índices são reflexo disso. A correlação entre os métodos está descrita na Figura 1 abaixo:

Figura 1. Correlações entre os teores de carbono obtidos pelo método de referência e os métodos Mebius (A); Walkley&Black (B); Colorimétrico (C) e Gravimétrico (D).



Fonte: adaptado de Sato (2013).

A partir dos coeficientes de regressão pôde ser observado que os métodos Walkley&Black e o método colorimétrico apresentaram eficiência semelhante na determinação do C do solo. Com estes resultados também foi possível concluir que a mineralogia do solo e a classe do solo, mostra grande influência na quantificação de carbono orgânico. Barros em 2016, analisou 48 amostras de solo na profundidade de 0-20 cm em locais de mata nativa, em municípios das regiões Litorânea, Agreste e Sertão do Estado de Alagoas. O método referência utilizado foi o CNHS.

Tabela 4 – Comparação entre os métodos WB, Gravimétrico e Colorimétrico em relação ao método referência CNHS.

Métodos	Valores		Média	Md	s	Coeficientes			K-S
	Mín	Máx				CV	CAss	Ccort	
C <sub>Wbmodificado</sub>	0,61	236,07	30,77	18,17	52,38	170,23	3,58	11,81	0,3958*
C <sub>Gravimétrico</sub>	0,29	324,13	39,95	19,59	70,05	175,34	3,51	11,58	0,3917*

$C_{\text{CNHS}}$	0,60	281,81	36,94	21,84	58,19	157,53	3,54	12,12	0,3403*
$C_{\text{Colorimétrico}}$	0,10	125,58	14,65	8,05	27,31	186,42	3,60	12,11	0,3547*

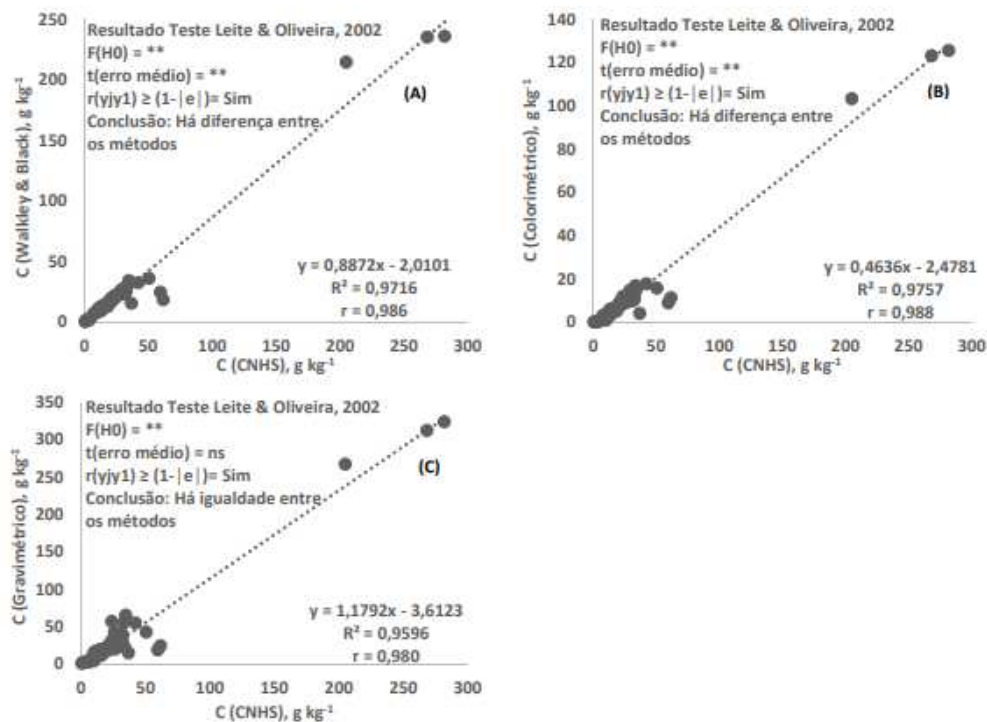
Nota: \*significativo a 5% de probabilidade.

Fonte: Adaptado de Barros (2016)

A autora descreve que os altos valores para os coeficientes de variação, ou seja, maior que 150%, indicam que os teores de CO determinados por estes métodos apresentam elevada heterogeneidade considerando à alta variabilidade ambiental das amostras de solo coletadas. A partir do teste do Kolmogorov-Sminorv a 5% de probabilidade pôde ser observado que os dados não apresentam distribuição normal.

Dessa forma, analisando os resultados é possível perceber que os métodos Walkley&Black modificado e o Colorimétrico, tendem a subestimar os valores de carbono orgânico em comparação ao método-referência. Já o método gravimétrico tem a tendência de superestimar esses valores. Os resultados da comparação entre cada método e a análise elementar encontram-se na Figura 2, abaixo:

Figura 2. Comparação dos teores de carbono determinados por meio dos métodos Walkey&Black modificado, Colorimétrico e Gravimétrico, em função do método de Análise Elementar (CNHS).



Fonte: adaptado de Barros (2016).

Com os testes estatísticos realizados para identificar se há diferença entre os métodos, a autora chegou à conclusão que os métodos Colorimétrico e Walkley&Black diferem do método de análise elementar, enquanto o método Gravimétrico possui similaridade. No entanto, este método apresenta o inconveniente de consumir maior tempo de análise.

Cipriani e Colaboradores em 2014, utilizaram o método Walkley&Black para determinação de carbono em solos no estado do Acre empregando o método de análise elementar como referência. Para a análise foram selecionadas 190 amostras de solo, aleatoriamente, de diferentes classes de solos, diferentes manejos, mineralogia e granulometria. Os resultados analisados foram para o método Walkley & Black entre 0,33 a 26,28 g.kg<sup>-1</sup> de COT com coeficiente de variação de 6,35%. No método de análise elementar, 1,6 a 48,90 g.kg<sup>-1</sup>, com coeficiente de variação médio de 4,92%. Considerando o método de análise elementar como aquele que determina 100% do carbono presente no solo, o método WB determinou apenas 64% do total.

De acordo com Roper e Colaboradores em 2019, à medida que a MOS se torna um foco mais crítico para as recomendações de manejo do solo, é importante observar as limitações entre os métodos existentes e sua sensibilidade para detectar mudanças na MOS ao longo do tempo devido ao manejo do solo. Até que um método confiável de conversão de resultados entre diferentes métodos analíticos seja desenvolvido.

Assim, a partir das informações obtidas da revisão bibliográfica é possível observar que os valores de COT pelos métodos WB e Colorimétrico são subestimados em relação ao método de referência geralmente utilizado que é o método de análise elementar. Esses menores índices encontrados são devido ao fato de que ambos os métodos não são capazes de oxidar todas as formas de carbono presentes no solo, especialmente as formas elementares de carbono que são mais estáveis.

Além disso, é importante ressaltar a importância do fator de correção para as análises de COT precisas e comparativas utilizando o método Walkley&Black. No entanto, como descrito por Gatto em 2009 e confirmado nos trabalhos citados, é necessário que esse fator de correção seja verificado, uma vez que o fator recomendado pelos autores do método WB (1,32) não é capaz de superar a incompleta oxidação de todas as formas do carbono.

No trabalho de Jha e Colaboradores, em 2014, os autores demonstraram que a um fator de correção universal para conversão de WB para COT é uma proposição utópica. Isso é, as particularidades de cada solo refletem no resultado obtido. Para

contornar essa problemática, os pesquisadores levaram em conta o teor de lodo e da argila do solo, além da precipitação média anual da região. Coeficientes, os quais, foram considerados altamente significativos. Dessa forma, os autores propuseram um método analítico capaz de determinar o teor total de C orgânico do solo agrícola com precisão razoável ( $P < 0,0001$ ) utilizando o método WB. O que mostra que é possível utilizar esse método com uma precisão maior, levando em conta outras variáveis estatísticas a fim de contornar essa desvantagem do fator de correção.

Com os experimentos realizados por Bahadori e Colaboradores, em 2017, os autores conseguiram identificar o papel efetivo da salinidade do solo, o tipo de vegetação e a quantidade do carbono no solo sobre a eficiência do método WB. Os resultados concluíram que esta eficiência é significativamente reduzida em solos com menor teor de carbono orgânico. Além disso, concluíram também a importância do fator de correção ajustado para solos sob diferentes sistemas de vegetação para este tipo de análise.

Também foi possível identificar que apesar do método Colorimétrico apresentar algumas das desvantagens do método Walkley & Black, como a dificuldade na oxidação total do carbono e necessidade de cálculos mais precisos para determinação do fator correção, este apresenta maior vantagem em reação ao método mais antigo uma vez que elimina alguns inconvenientes. Dentre estes, a utilização de reagentes menos tóxicos, manipulação mais fácil e rápida, elimina possíveis questões de operacionalidade como o ponto de viragem da titulação utilizada no método WB. Além da menor quantidade de reagentes, diminuindo concentração de resíduos. Dessa forma, foi possível identificar o método Colorimétrico como sendo um ótimo substituto do método Walkley & Black.

Outro dado importante observado durante essa revisão bibliográfica foi a falta de estudos mais recentes de comparação dos métodos e que busquem contornar as problemáticas estabelecidas por estes. Uma vez que geralmente testes mais sensíveis e que apresenta valores mais confiáveis de COT exigem aparelhos caros e maior tempo de análise. Como o método WB ainda é um dos mais práticos e utilizado amplamente em laboratórios de análise de amostras de solo é de extrema importância adaptações deste para enfim eliminar os inconvenientes que ele apresenta.

## 6 CONCLUSÕES

A quantificação do teor de MOS no solo a partir da determinação do carbono, é de suma importância para a manutenção dos ecossistemas. Para isso, são utilizados alguns métodos, dentre eles, estão as técnicas de quantificação do Carbono Orgânico Total (COT), tal como os métodos, Walkley & Black e Colorimetria, abordados por este trabalho.

O método de Walkley & Black (1934) é ainda o mais empregado em laboratórios de solos devido à sua simplicidade e baixo custo. O qual determina o CO pela oxidação do carbono utilizando dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) em um meio fortemente ácido. No entanto, conforme alguns problemas anteriormente citados, a substituição ou aperfeiçoamentos desse procedimento, vêm sendo estimulados. Dessa forma, o método Colorimétrico baseia-se na leitura colorimétrica da cor verde do íon Cr(III) reduzido pelo carbono orgânico e por questões de solubilidade, é utilizado o dicromato de sódio ( $Na_2Cr_2O_7$ ).

Isso posto, o presente trabalho teve o intuito de avaliar os métodos Walkley & Black e Colorimétrico para análise de determinação do carbono orgânico em solos. Para isso, teve como objetivo geral discorrer sobre ambos os métodos. Objetivo esse, que foi acompanhado pelos objetivos específicos: Apresentar uma revisão bibliográfica com os últimos trabalhos publicados que realizem as análises desses métodos; avaliar e comparar ambos os métodos; apresentar as vantagens e desvantagens de cada método e analisar qual o melhor método.

Prova da necessidade em verificar o fator de correção, em 2014, Jha *et al* demonstraram a utopia de propor em um fator de correção universal para conversão de WB para COT, dada as particularidades de cada solo que interferem nos resultados obtidos. Propuseram então, um método analítico altamente significativo, que leva em conta a precipitação anual média da região e o teor de lodo e de argila do solo. Dessa forma, os autores mostraram que é possível utilizar o método WB com maior precisão, considerando variáveis estatísticas para contornar a desvantagem do fator de correção. Segundo a bibliografia consultada, a importância do fator de correção ajustados para solos diferentes foi corroborado por Bahadori *et al*, em 2017, que conseguiram identificar o papel efetivo da salinidade do solo.

Com isso, foi possível concluir que mesmo o método Colorimétrico ainda apresentando algumas desvantagens, possui maior vantagem ao WB, pois elimina



alguns inconvenientes. Dentre estes, a utilização de reagentes menos tóxicos, manipulação mais fácil e rápida, elimina possíveis questões de operacionalidade como o ponto de viragem da titulação. Além da menor quantidade de reagentes, diminuindo concentração de resíduos. Portanto, foi possível identificar o método Colorimétrico como sendo um ótimo substituto do método Walkley & Black.

Outro dado importante observado durante essa revisão bibliográfica foi a falta de estudos mais recentes de comparação dos métodos e que busquem contornar as problemáticas estabelecidas por estes. Uma vez que geralmente testes mais sensíveis e que apresenta valores mais confiáveis de COT exigem aparelhos caros e maior tempo de análise.

Como o método WB ainda é um dos mais práticos e utilizado amplamente em laboratórios de análise de amostras de solo, propõe-se para trabalhos futuros, novas adaptações deste para enfim eliminar os inconvenientes apresentados pelo método Walkley & Black. Além disso, vale destacar que como o método Colorimétrico apresenta maiores vantagens, especialmente, na questão ambiental, maiores estudos a fim de aperfeiçoar o método devem ser investigados.

## 7 REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. M. de et al. **Introdução à metodologia do trabalho científico**. 10 Ed. São Paulo: Atlas, 2010.
- BAHADORI, M.; TOFIGHI, H. Investigation of Soil Organic Carbon Recovery by the Walkley-Black Method Under Diverse Vegetation Systems. **Soil Science**, v. 182, n. 3, p. 101–106, 2017.
- BISUTTI, I.; HILKE, I.; RAESSLER, M. Determination of total organic carbon—an overview of current methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 10-11, p. 716-726, 2004.
- COLEMAN, D.C.; CROSSLEY, D.A., Jr. **Fundamentals of Soil Ecology**. San Diego, CA: Academic Press Academic, 1996.
- CONCEIÇÃO, M. da. *et al.* Estudo comparativo de métodos de determinação do teor de matéria orgânica em organossolos. **Embrapa Solos-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 1999.
- CONCEIÇÃO, P.C. *et al.* Qualidade do solo em sistemas de manejo avaliada pela dinâmica da matéria orgânica e atributos relacionados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 777-788, 2005.
- DE OLIVEIRA, C. L F.; PERMONIAN, L. M. Determinação de Material Orgânica no solo por espectrometria no visível. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 1, n. 2, 2002.
- GAN, S. *et al.* Current status and prospects of Fenton oxidation for the decontamination of persistent organic pollutants (POPs) in soils. **Chemical engineering journal**, v. 213, p. 295-317, 2012.
- GATTO, A. *et al.* Comparação de métodos de determinação do carbono orgânico em solos cultivados com eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 735-740, 2009.
- GELMAN, F.; BINSTOCK, R.; HALICZ, L. Application of the Walkley–Black titration for the organic carbon quantification in organic rich sedimentary rocks. **Fuel**, v. 96, p. 608-610, 2012.
- GERHARDT, T. E.; SILVEIRA, D. T. **Métodos de pesquisa**. 1 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2009. 120 p.
- GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa**. 6. ed. São Paulo: Atlas, 2008.
- HOFFLAND, E. *et al.* Eco-functionality of organic matter in soils. **Plant and Soil**, v. 455, n. 1, p. 1-22, 2020.

JHA, P. *et al.* Predicting total organic carbon content of soils from Walkley and Black analysis. **Communications in soil science and plant analysis**, v. 45, n. 6, p. 713-725, 2014.

LAL, R. Soil Carbon Sequestration Impacts on Global. **Science**, v. 304, p. 1623, 2004.

MACHADO, P. L. de A. Carbono do solo e a mitigação da mudança climática global. **Química Nova**, v. 28, p. 329-334, 2005.

MIYAZAWA, M. *et al.* Gravimetric determination of soil organic matter. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 43, n. 5, p. 475, 2000.

MYLAVARAPU, R. Walkley-Black Method. *In*: **Soil test methods from the Southeastern United States**, p. 158, 2014

MOREIRA, F.M.S. SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2<sup>a</sup> ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729p.

NELSON, D. W.; SOMMERS, L. E. Total carbon, organic carbon, and organic matter. **Methods of soil analysis: Part 3 Chemical methods**, v. 5, p. 961-1010, 1996.

Piccolo, A. The supramolecular structure of humic substances. **Soil Science**, v. 166, p. 810-832, 2001,

PRIMO, D. C.; MENEZES, R. C.; SILVA, T. O. Substâncias húmicas da matéria orgânica do solo: uma revisão de técnicas analíticas e estudos no nordeste brasileiro. **Scientia Plena**, v. 7, n. 5, 2011.

RAIJ, B. van. *et al.* **Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 285 p, 2001.

RHEINHEIMER, D. dos S. *et al.* Comparação de métodos de determinação de carbono orgânico total no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 1, p. 435-440, 2008.

ROPER, W. R. *et al.* Comparing four methods of measuring soil organic matter in North Carolina soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 83, n. 2, p. 466-474, 2019.

SATO, J.H. *et al.* Methods of soil organic carbon determination in Brazilian savannah soils. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 4, p. 302-308, 2014.

SEGNINI, A. *et al.* Estudo comparativo de métodos para a determinação da concentração de carbono em solos com altos teores de Fe (Latossolos). **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 94-97, 2008.

SCHUMACHER, B. A. Methods for the determination of total organic carbon (TOC) in soils and sediments. Ecological Risk Assessment Support Center, 2002.

SINGH, K. P. *et al.* Yield and soil nutrient balance of a sugarcane plant–ratoon system with conventional and organic nutrient management in sub-tropical India. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 79, p. 209-219, 2007.

STEVERSON, F. J. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**. 2 ed. Nova Iorque: John Willey, 1994, 496p

TEDESCO, M. J. *et al.* **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5)

TEIXEIRA, P.C. *et al.* **Manual de métodos de análise de solo**. 3 ed. Brasília: Embrapa Solos, 2017.

VEZZANI, F. M. *et al.* Matéria orgânica e qualidade do solo. *In*: SANTOS, G. *et al.* **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2. Ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008.

Walinga, I. *et al.* Spectrophotometric determination of organic carbon in soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 23, n. 15-16, p. 1935–1944, 1992.

YEOMANS, J. C.; BREMNER, J. M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. **Communications in soil science and plant analysis**, v. 19, n. 13, p. 1467-1476, 1988.