

UFRRJ
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE

**DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE CARBONO
ORGÂNICO TOTAL EM SOLOS COM KMnO_4 , UMA NOVA
METODOLOGIA COM ÊNFASE NA QUÍMICA VERDE**

ÉRICA BARBOSA DE SOUSA

2023



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE CARBONO
ORGÂNICO TOTAL EM SOLOS COM KMnO_4 , UMA NOVA
METODOLOGIA COM ÊNFASE NA QUÍMICA VERDE**

ÉRICA BARBOSA DE SOUSA

Sob a orientação do professor

Dr. José Geraldo Rocha Junior

e coorientação do Professor

Dr. Otavio Raymundo Lã

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Doutora Química, no Programa de
Pós-Graduação em Química, Área
de Concentração em Química

Seropédica, RJ

Março de 2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S725d Sousa, Érica Barbosa de, 1990-
 DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE CARBONO
 ORGÂNICO TOTAL EM SOLOS COM KMnO_4 , UMA NOVA
 METODOLOGIA COM ÊNFASE NA QUÍMICA VERDE / Érica
 Barbosa de Sousa. - São João de Meriti, 2023.
 102 f.: il.

 Orientador: José Geraldo Rocha Junior.
 Coorientador: Otavio Raymundo Lã.
 Tese (Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
 Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Química,
 2023.

 1. CHN. 2. Solos. 3. Yeomans e Bremner. 4.
 Planejamento fatorial. I. Rocha Junior, José Geraldo,
 1984-, orient. II. Lã, Otavio Raymundo, 1962-,
 coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de
 Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

ÉRICA BARBOSA DE SOUSA

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora em Química, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de concentração Química.

TESE APROVADA EM 02/03/2023

José Geraldo Rocha Junior
(Dr.) UFRRJ (Orientador)

Marcos Gervásio Pereira
(Dr.) IA/UFRRJ

Cristina Maria Barra
(Dr^a.) UFRRJ

Eva Lúcia Cardoso Silveira
(Dr^a.) UFMT

Luiz Fernando Silva Caldas
(Dr.) IFRJ



Emitido em 2023

TERMO Nº 177/2023 - PPGQ (12.28.01.00.00.00.60)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 06/03/2023 11:06)

CRISTINA MARIA BARRA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
IQ (11.39.00.21)
Matrícula: ###73#4

(Assinado digitalmente em 03/03/2023 08:09)

JOSE GERALDO ROCHA JUNIOR
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DQA (11.39.00.22)
Matrícula: ###264#4

(Assinado digitalmente em 04/03/2023 08:09)

MARCOS GERVASIO PEREIRA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptS (12.28.01.00.00.00.33)
Matrícula: ###607#1

(Assinado digitalmente em 03/03/2023 15:16)

EVA LUCIA CARDOSO SILVEIRA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.703-##

(Assinado digitalmente em 09/03/2023 19:19)

LUIZ FERNANDO SILVA CALDAS
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.297-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: 177, ano: 2023, tipo: TERMO, data de emissão: 03/03/2023 e o código de verificação: 89407dbd36

*"Consagre ao Senhor tudo o que você faz,
e os seus planos serão bem-sucedidos".
(Bíblia Sagrada, Provérbios 16:3)*

AGRADECIMENTOS

A Deus por sua infinita bondade.

Aos meus pais (Geraldo e Luzia) por serem a minha base em todos os momentos e essenciais para eu ter chegado até aqui.

Ao neném Bernardo (nem tanto neném mais) por todos os momentos, em que o seu sorriso se tornou a razão da minha alegria e minha principal fonte de energia durante todo o doutorado.

Ao meu orientador, José Geraldo, por confiar em meu potencial e ter me deixado participar do seu grupo de pesquisa. Por acreditar em mim em momentos que nem eu mesma acreditava (se eu cheguei até aqui, nem tudo deu tão errado!!). Agradeço por toda orientação, dedicação, paciência e pizzas também!

Ao meu coorientador, Otavio, e à professora Cristina por todo o apoio durante a elaboração deste trabalho.

Aos meus “irmãos”, Carol e Gabriel, que se tornaram grandes amigos, por toda amizade, apoio e risadas durante toda essa jornada. Obrigada por compartilharem comigo choro, conversas, tretas, almoços e, principalmente, pela companhia constante nos três laboratórios em que passamos.

Aos “irmãos” de laboratório, Cayo, Luana, Memelli e Saide por todo o companheirismo nos momentos que passamos juntos no laboratório.

À Sheisi por todo carinho, atenção e principalmente por ter me deixado fazer parte um pouquinho da vida dos pequenos Gabriel e João Pedro!

Ao Gabriel e João Pedro pelas brincadeiras e sorrisos que deram um gás a mais na minha vida!

Ao Víctor por todas as conversas, conselhos e amizade desde a graduação, passando pelo mestrado e agora, o doutorado. Obrigada pelas caronas também.

Às minhas amiguinhas Evelyn e Bianca por todo o apoio e amizade mesmo à distância.

Ao Laboratório de Química Agrícola da EMBRAPA Agrobiologia pela ajuda nas análises do CHN.

A todos os professores que passaram ao longo da minha vida acadêmica.

Ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

À CAPES pela bolsa concedida.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

RESUMO

SOUSA, Érica Barbosa de. **Determinação espectrofotométrica de carbono orgânico total em solos com KMnO_4 , uma nova metodologia com ênfase na Química Verde.** 2023. 102 p Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

A matéria orgânica do solo é de fundamental importância para diversas funções ambientais associadas ao seu processo de ciclagem. É estimada pelo teor de carbono orgânico total (COT) e desempenha um papel fundamental na retenção de nutrientes, agregação do solo, dinâmica da água e atua como fonte primária de energia para a atividade biológica. No Brasil, os métodos de oxidação úmida de Walkley e Black e de Yeomans e Bremner são os mais utilizados para determinar o COT. Estes métodos se baseiam na oxidação do carbono orgânico (CO) com dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), em meio fortemente ácido e, posterior, titulação do dicromato remanescente. No entanto, existem várias desvantagens associadas a esses métodos, incluindo preocupações ambientais devido ao uso de dicromato de potássio, o alto custo de armazenamento e descarte de resíduos perigosos e a necessidade de utilizar grandes volumes de ácido sulfúrico concentrado, que é um reagente de compra controlada. Além disso, esses métodos de oxidação úmida não oxidam totalmente o CO. A análise elementar por combustão seca é a técnica de referência e mais confiável para determinar o COT, pois pode oxidar totalmente o CO. Entretanto, os custos para sua implantação e análise são elevados, inviabilizando seu uso em análises de rotina. Este trabalho propõe a quantificação do COT de solos utilizando KMnO_4 como oxidante alternativo ao $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ e a posterior determinação espectrofotométrica do permanganato remanescente em $\lambda=525$ nm. A espectrofotometria ultravioleta-visível é uma técnica bem estabelecida e de baixo custo operacional, que permite resultados precisos e confiáveis. Inicialmente, o estudo da oxidação de CO foi conduzido utilizando biftalato de potássio como padrão de matéria orgânica e um planejamento fatorial 2^3 (2 níveis e 3 variáveis) para otimizar as condições de reação. Os fatores estudados foram tempo (30 e 60 minutos), temperatura (60 e 95 °C) e acidez (0,125 e 0,250 mol L⁻¹ de H_2SO_4), sendo a temperatura o fator que mais influenciou a oxidação do CO. As condições ótimas de reação foram determinadas como 30 minutos, 95 °C e 0,125 mol L⁻¹ de H_2SO_4 . A oxidabilidade dos compostos orgânicos investigados pelo KMnO_4 foi avaliada, obtendo-se resultados equiparáveis ao $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Para a determinação espectrofotométrica do permanganato remanescente, foi investigada a influência do tamanho da amostra para quatro diferentes classes de solos, sendo 500 mg a massa ideal. Na análise de 16 amostras de solo, os teores de COT obtidos pelo método proposto correlacionaram fortemente com os obtidos pelo método Yeomans e Bremner ($r = 0,966$) e combustão seca ($r = 0,975$). Esta nova abordagem para determinar o TOC em solos pode substituir os métodos atualmente utilizados em laboratórios de solos, pois apresenta confiabilidade, simplicidade, baixo custo e oferece menos riscos ao analista e ao meio ambiente, em relação aos métodos com o dicromato de potássio.

Palavras-chave: CHN, solos, Yeomans e Bremner, planejamento fatorial.

ABSTRACT

SOUSA, Érica Barbosa de. 2023. **Spectrophotometric determination of total organic carbon in soils with KMnO_4 , a new methodology with an emphasis on Green Chemistry**. 102 p Thesis (Doctorate in Chemistry) – Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

Soil organic matter is of fundamental importance for various environmental functions associated with its cycling process. It is estimated by the total organic carbon (TOC) content and plays a key role in nutrient retention, soil aggregation, water dynamics and acts as an energy source of energy for biological activity. In Brazil, the Walkley-Black and Yeomans-Bremner wet oxidation methods are the most used to determine TOC. These methods are based on the oxidation of organic carbon (CO) with potassium dichromate ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), in a strongly acid medium and, subsequently, titration of the remaining dichromate. However, there are several disadvantages associated with these methods, including environmental concerns due to the use of potassium dichromate, the high cost of storing and disposing of hazardous waste, and requirement for large volumes of concentrated sulfuric acid, which is a controlled purchase reagent. Furthermore, these wet oxidation methods do not entirely oxidize CO. Dry combustion by elemental analysis is the reference and most reliable technique for determining the TOC, as it can fully oxidize CO. However, the costs for its implementation and analysis are high, making its use unfeasible in routine analyses. This work proposes the quantification of TOC in soil using KMnO_4 as an alternative oxidant to $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ and the subsequent spectrophotometric determination of the remaining permanganate at $\lambda=525\text{ nm}$. Ultraviolet-visible spectrophotometry is a well-established technique with low operational cost, which allows accurate and reliable results. Initially, the OC oxidation study was conducted using potassium biphthalate as the organic matter standard and a 2^3 factorial design (2 levels and 3 variables) to optimize the reaction conditions. The factors studied were time (30 and 60 minutes), temperature (60 and 95 °C) and acidity (0.125 and 0.250 mol L⁻¹ of H_2SO_4), with temperature being the factor that most influenced OC oxidation. The optimal reaction conditions were determined as 30 minutes, 95 °C and 0.125 mol L⁻¹ of H_2SO_4 . The oxidability of the investigated organic compounds by KMnO_4 was evaluated, obtaining results comparable to $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. For the spectrophotometric determination of the remaining permanganate, the influence of sample size was investigated for four different soil classes, with 500 mg being identified as the ideal mass. In the analysis of 16 soil samples, the TOC contents obtained by the proposed method correlated strongly with those obtained by the Yeomans-Bremner method ($r = 0.966$) and dry combustion ($r = 0.975$). This new approach to determine the TOC in soils can replace the methods currently used in soil laboratories, since it presents reliability, simplicity, cost-effective and presents less risk to the analyst and to the environment, in relation to the methods with potassium dichromate.

Keywords: CHN, soils, Yeomans-Bremner, factorial design.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Composição química da MOS. Adaptado de SCHNITZER, 1991	3
Figura 2. A MOS como moderadora das propriedades e funções do solo. Adaptado de MOREIRA & SIQUEIRA (2006)	4
Figura 3. Fatores de conversão de COT para MO encontrados na literatura nos anos de 1880 - 2001. A linha vertical refere-se ao fator usual de 1,724. Adaptado de PRIBYL, 2010.	5
Figura 4. Número de publicações por ano envolvendo a temática do carbono orgânico do solo. Busca na base de dados do <i>Science Direct</i> com o termo “Soil Organic Carbon” em títulos, resumos e palavras-chaves. Acessado em: 01 de dezembro de 2022.....	7
Figura 5. Espectros de absorção típicos do permanganato a diferentes concentrações. Os números adjacentes às curvas indicam a concentração de permanganato em ppm. (SKOOG <i>et al.</i> , 2006).....	22
Figura 6. Instrumentação básica para espectrofotômetro de feixe simples (SKOOG <i>et al.</i> , 2006).....	23
Figura 7. Esquema geral do método permanganimétrico proposto	33
Figura 8. Esquema geral para a análise pelo método de Yeomans e Bremner.....	38
Figura 9. Curva analítica de absorvância versus concentração de KMnO_4 , em $\lambda = 525 \text{ nm}$ (N=5)	41
Figura 10. Gráfico de resíduos da curva analítica de absorvância versus concentração de KMnO_4 , em $\lambda = 525 \text{ nm}$ (N=5)	42
Figura 11. Percentual de carbono oxidado (%CO) nas condições de reação empregadas no planejamento fatorial 2^3 (N=5)	43
Figura 12. Gráfico de pareto dos efeitos padronizados sobre o fator resposta.....	45
Figura 13. Gráficos de efeitos principais do tempo de reação (a), da concentração de H_2SO_4 (b) e temperatura da reação (c), no percentual de carbono oxidado	46
Figura 14. Gráficos de interação (a) tempo*concentração de H_2SO_4 , (b) tempo*temperatura e (c) concentração de H_2SO_4 *temperatura	47
Figura 15. Gráfico de cubo para o %CO no planejamento fatorial 2^3	48
Figura 16. Gráficos de probabilidade normal de resíduos (a), de resíduos <i>versus</i> ajustado (b), de histograma (c) e de resíduos <i>versus</i> ordem (d).....	49

Figura 17. Condições ótimas (em vermelho) preditas para o alvo de 100% de oxidação do carbono orgânico. As linhas vermelhas são a posição (valores) das condições obtidas, as azuis são a posição da resposta desejada (100%) e a inclinação das cinzas representam a influência da variável na resposta. O y representa o %CO alcançado..... **50**

Figura 18. Percentual de carbono oxidado predito pelo modelo (em azul) para as condições reacionais escolhidas: 30 minutos, H_2SO_4 0,125 mol L^{-1} e 95 °C. As linhas vermelhas são a posição (valores) das condições informadas, as azuis são a posição da resposta obtida (99,91%) e a inclinação das linhas cinzas representam a influência da variável na resposta. **50**

Figura 19. Percentuais de carbono orgânico oxidado pelo método de Yeomans e Bremner e pelo método proposto nos compostos orgânicos investigados (N=5) **52**

Figura 20. Efeito da massa de solo analisada no teor de COT em Chernossolo 202 A, Latossolo 88 A, Cambissolo 49 AB e Chernossolo 202 A pelo método Yeomans e Bremner. N = 3 **55**

Figura 21. Efeito da massa de solo analisada no teor de COT em Chernossolo 202 A, Latossolo 88 A, Cambissolo 49 AB e Chernossolo 202 A pelo método proposto. N = 3 **61**

Figura 22. Carbono orgânico total (mg g^{-1}) obtidos nas amostras de solos pelo método proposto, Yeomans e Bremner e combustão seca via analisador CHN (referência)..... **68**

Figura 23. Correlação entre os teores de carbono orgânico total obtidos pelo método proposto e de referência (CHN)..... **69**

Figura 24. Correlação entre os teores de carbono orgânico total obtidos pelo método Yeomans e Bremner e de referência (CHN)..... **70**

Figura 25. Correlação entre os teores de carbono orgânico total obtidos pelo método proposto e de Yeomans e Bremner..... **70**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Técnicas analíticas utilizadas para a determinação de COT por métodos de via úmida e suas principais características	10
Tabela 2. Alguns fatores de correção para o método Walkley e Black	11
Tabela 3. Diferenças entre os métodos propostos por Nelson e Sommers (1974) e Yeomans e Bremner (1988).....	12
Tabela 4. Coeficientes de variação obtidos pelos métodos de Nelson e Sommers e Yeomans e Bremner	13
Tabela 5. Métodos de via úmida para a determinação de COT em solos ‘Continua’ ...	14
Tabela 6. Classificação das amostras de solos e locais de coleta	31
Tabela 7. Matriz de experimento do planejamento fatorial 2^3 para oxidação do biftalato de potássio	32
Tabela 8. Fatores e níveis investigados no planejamento fatorial 2^3 para oxidação do biftalato de potássio	32
Tabela 9. Amostras, massas e estudos realizados com a metodologia proposta e pelo método de Yeomans e Bremner.....	36
Tabela 10. Parâmetros da curva analítica	42
Tabela 11. Matriz de experimentos com o percentual de carbono oxidado (%CO) no planejamento fatorial 2^3	43
Tabela 12. Avaliação dos efeitos principais e das interações entre os fatores	44
Tabela 13. Percentual do carbono orgânico oxidado (%CO) pelos métodos proposto e de Yeomans e Bremner (N=5)	52
Tabela 14. Carbono orgânico total (em mg g^{-1}), obtido pelo método Yeomans e Bremner, para diferentes massas de solos	54
Tabela 15. Valor-p obtido no teste de Shapiro-Wilk para os teores de COT determinados pelo método Yeomans e Bremner	55
Tabela 16. Valor-p para o teste de Levene para as variâncias dos teores de COT determinados pelo método Yeomans e Bremner	56
Tabela 17. Valor-p obtido na ANOVA de Welch aplicada ao método Yeomans e Bremner	56
Tabela 18. <i>Post hoc</i> de Games-Howell para o Chernossolo 202 A com o método Yeomans e Bremner	57

Tabela 19. <i>Post hoc</i> de Games-Howell para o Latossolo 88 A com o método Yeomans e Bremner	58
Tabela 20. <i>Post hoc</i> de Games-Howell para o Cambissolo 49 AB com o método Yeomans e Bremner	59
Tabela 21. <i>Post hoc</i> de Games-Howell para o Gleissolo 201 A com o método Yeomans e Bremner	60
Tabela 22. Carbono orgânico total (em mg g ⁻¹) obtido pelo método proposto para diferentes massas de solos	61
Tabela 23. Valor-p obtido no teste de Shapiro-Wilk para os teores de COT determinados pelo método proposto	62
Tabela 24. Valor-p obtidos no teste de Levene para as variâncias dos teores de COT determinados pelo método proposto.....	62
Tabela 25 . Valor-p obtido na ANOVA de Welch para o método proposto	62
Tabela 26. <i>Post hoc</i> de Games-Howell para o Chernossolo 202 A com o método proposto	63
Tabela 27. <i>Post hoc</i> de Games-Howell para o Latossolo 88 A com o método proposto	64
Tabela 28. <i>Post hoc</i> de Games-Howell para o Cambissolo 49 AB com o método proposto	65
Tabela 29. <i>Post hoc</i> de Games-Howell para o Gleissolo 201 A com o método proposto	66
Tabela 30. Carbono orgânico total (mg g ⁻¹) e fatores de correção (<i>f</i>) obtidos na análise dos solos pelo método proposto, Yeomans e Bremner e combustão seca via analisador CHN (referência).....	67
Tabela 31. Consumo de reagentes e condições de oxidação para o método proposto e de Yeomans e Bremner na determinação de COT em 100 amostras de solos	72
Tabela 32. Custos avaliados para o método proposto, Yeomans e Bremner e a combustão seca com analisador elementar (CHN) na análise de 100 amostras de solo.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE – Analisador elementar
CHN – Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio
CHNS – Carbono, Hidrogênio, Nitrogênio e Enxofre
CI – Carbono inorgânico
CL – Carbono lábil
CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLOM - Matéria orgânica quimicamente lábil
CNL – Carbono não lábil
CO – Carbono orgânico
CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
COT – Carbono orgânico total
CT – Carbono total
EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
IARC – Agência Internacional de Pesquisa de Câncer
IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada
LD – Limite de detecção
LIBS - *Laser Induced-Breakdown Spectroscopy*
LQ – Limite de quantificação
MOS – Matéria orgânica do solo
MO – Matéria orgânica
N – Número de réplicas
NSSL – Laboratório Nacional de Vigilância do Solo
PMI – Perda de massa por ignição
POC, OxidC ou PermOxC - Carbono orgânico do solo oxidável pelo permanganato
RLX - Raloxifeno
ROC - Carbono prontamente oxidável
UV-VIS - Ultravioleta-visível
%CO – Percentual de Carbono Oxidado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Matéria Orgânica do Solo (MOS)	3
2.2 Carbono Orgânico no Solo	5
2.3 Métodos de Combustão Seca	7
2.3.1 Análise por Perda de Massa por Ignição (PMI)	8
2.3.2 Análise Elementar	8
2.4 Métodos de Via Úmida.....	9
2.5 Investigação de Metodologias para a Determinação do COT	17
2.6 O Permanganato de Potássio na Oxidação da Matéria Orgânica	19
2.7 Espectrofotometria na Região do Ultravioleta-visível (UV-VIS)	22
2.7.1 Princípios Básicos	22
2.7.2 Instrumentação	23
2.7.3 Aplicações em Determinações Permanganimétricas.....	24
2.8 Planejamento Fatorial.....	25
3 OBJETIVOS	27
3.1 Objetivo Geral	27
3.2 Objetivos Específicos	27
4 METODOLOGIA	28
4.1 Reagentes.....	28
4.2 Equipamentos	28
4.3 Preparação e Padronização das Soluções Padrão	28
4.4 Obtenção e Preparação dos Solos.....	30
4.5 Planejamento Fatorial para Otimização da Oxidação com o Permanganato.....	31
4.6 Obtenção da Curva Analítica Permanganimétrica	33
4.7 Método Proposto	33
4.8 Avaliação do Método Proposto	35
4.9 Determinação do COT pelo Métodos de Yeomans e Bremner	37
4.10 Método de Referência (Combustão Seca com Analisador Elementar CHN).....	39
4.11 Cálculo do fator de correção (f).....	39
4.12 Análise Estatística	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1 Curva Analítica Permanganimétrica	41
5.2 Planejamento Fatorial para a Oxidação do Carbono Orgânico	42
5.2.1 Estudo da influência das condições reacionais e suas interações.....	42

5.2.2 Otimização e escolha das condições de oxidação	49
5.3 Avaliação da Oxidabilidade de Compostos Orgânicos	51
5.4 Influência da Massa de Amostra na Determinação do COT	54
5.4.1 Efeito da massa da amostra no método de Yeomans e Bremner.....	54
5.4.2 Efeito da massa da amostra no método proposto	60
5.5 Comparação dos Métodos	66
5.6 Viabilidade do Método Proposto na Análise de Solos	71
6 CONCLUSÃO.....	73
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

1 INTRODUÇÃO

A matéria orgânica do solo (MOS) é reconhecida por seus efeitos nas propriedades químicas, físicas e biológicas no solo (DORAN & PARKIN, 1994; TABATABAI, 1996; DENG & DIXON, 2002; BOT & BENITES, 2005; HAYNES, 2005; MOREIRA & SIQUEIRA, 2006; OSMAN, 2013; KIRKBY *et al.*, 2013). O carbono é o componente majoritário da matéria orgânica e, portanto, está fortemente relacionado aos níveis da MOS (BAHADORI & TOFIGHI, 2015). A MOS geralmente é estimada pelo teor de carbono orgânico (CO) ou carbono orgânico total (COT).

A literatura apresenta diversos métodos para a determinação de COT nos solos. Os métodos de combustão seca que empregam analisadores elementares (AE) (JIMENEZ & LADHA, 1993; DORAN *et al.*, 1996; SCHUMACHER, 2002; CHATTERJEE *et al.*, 2009; CARMO & SILVA, 2012; FAO, 2019) são utilizados na determinação do carbono total (CT) dos solos e são empregados como método de referência para novas metodologias para determinação de carbono orgânico total (COT). Contudo, é pouco difundido em países subdesenvolvidos devido ao custo elevado de aquisição e manutenção do equipamento. Além disso, os laboratórios que dispõem desta instrumentação optam por metodologias alternativas, de via úmida, devido ao menor custo operacional, especialmente quando a frequência analítica é alta.

No Brasil, destacam-se os métodos de via úmida preconizados por Walkley e Black (1934), Yeomans e Bremner (1988) e EMBRAPA (2017). Esses métodos se baseiam na oxidação do carbono orgânico por uma solução de dicromato de potássio em meio fortemente ácido. Eles são bastante difundidos pela simplicidade e baixo custo (ALLISON *et al.*, 1965; GREWAL *et al.*, 1991; DIAS *et al.*, 2013; SCHUMACHER, 2002; JOHNS *et al.*, 2015). Contudo, a oxidação da matéria orgânica utilizando essas metodologias pode ser incompleta (SANTI *et al.*, 2006; DIAS *et al.*, 2013), apresentando forte dependência do tipo de matéria orgânica presente no solo e de sua associação com a matriz da amostra. Estes métodos, embora comumente usados nos laboratórios de análise de solo, possuem como desvantagens a utilização do reagente dicromato de potássio, extremamente tóxico para a saúde humana e para o meio ambiente (JOHNS *et al.*, 2015; MIYAZAWA *et al.*, 2000; KERVEN *et al.*, 2000; SANTI *et al.*, 2006; BRUNETTO *et al.*, 2006; DIAS *et al.*, 2013; VIEIRA, 2019; SCHUMACHER, 2002; SHAMRIKOVA *et al.*, 2022). Além disso, utilizam ácido sulfúrico concentrado, reagente de compra controlada em diversos países, e que é utilizado em grande quantidade para favorecer a oxidação do carbono orgânico (CHILE, 2007; COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, 2019; BRASIL, 2019; ARGENTINA, 2019). Neste contexto, se faz necessário métodos alternativos de baixo custo para a determinação do COT em solos e que utilizem reagentes menos tóxicos.

Recentemente, Lã e colaboradores (2023) obtiveram resultados promissores na determinação de COT por titrimetria, em amostras de biftalato de potássio, com erros relativos inferiores a 3,0%, em condições brandas de acidez, empregando o KMnO_4 como oxidante da matéria orgânica. A metodologia se mostrou laboriosa na etapa de titulação, envolvendo várias etapas e o uso de grande quantidade de reagentes. Como o estudo só envolveu a comparação dos resultados com o Método Yeomans e Bremner (1988), e foi aplicado somente a quatro tipos de solos, com erro relativo (-12%, 0,8%, 17% e 35%), foi aberta uma nova perspectiva de abordar a determinação de COT pela quantificação espectrofotométrica de permanganato remanescente, e aplicar esta técnica em uma maior diversidade de solos e comparar os resultados com a análise elementar por combustão seca.

Assim, o presente trabalho propõe um método alternativo e inovador para a oxidação do COT em solos utilizando KMnO_4 como agente oxidante e a posterior diluição do produto de reação para a determinação do carbono orgânico total (COT) por espectrofotometria no ultravioleta-visível (UV-VIS). Esta mudança na técnica analítica para quantificar o permanganato remanescente diminui o número de etapas na análise, envolve menor consumo de reagentes e gera menos rejeitos. Com a finalidade de promover maior confiabilidade aos resultados, as condições reacionais (tempo, temperatura e acidez) empregadas na oxidação da matéria orgânica (biftalato de potássio) foram otimizadas e avaliadas através de um planejamento fatorial 2^3 . Finalmente, foram analisados 16 tipos de solos e os teores de COT foram comparados com os obtidos pelos métodos de Yeomans e Bremner e por análise elementar em um analisador CHN.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Matéria Orgânica do Solo (MOS)

A Matéria Orgânica do Solo (MOS) é um componente essencial do solo (OSMAN, 2013). A MOS pode ser definida como o total de todas as substâncias orgânicas do solo (SCHNITZER, 1991; BATJES & SOMBROEK, 1997), sendo composta principalmente por carbono (C), hidrogênio (H) e oxigênio (O), além de pequenas quantidades de nitrogênio (N), fósforo (P), enxofre (S), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) (HOYLE, 2013). É composta por uma mistura complexa de resíduos vegetais e animais frescos em diversos estágios de decomposição, tecido microbiano, biomassa heterotrófica e substâncias húmicas resistentes (OSMAN, 2013; ROSELL *et al.*, 2001; SCHUMACHER, 2002; SHAMRIKOVA *et al.*, 2022). O carbono pode ser encontrado nos solos nas formas orgânicas, inorgânica (tipicamente na forma de carbonatos, como a calcita e a dolomita) e elementar (carvão, grafite, cinzas) (ALLISON *et al.*, 1965).

Além das fontes de MOS que ocorrem de maneira natural no meio ambiente, outras fontes são resultantes da contaminação por atividades antrópicas, tais como os derramamentos ou liberação de contaminantes no meio ambiente, aumentando o teor de carbono total (CT) presente no solo (SCHUMACHER, 2002). Em geral, a nível global, a contribuição de carbono dos contaminantes para o teor de carbono orgânico total do solo (COT) é insignificante (SCHUMACHER, 2002).

Quimicamente, a MOS é composta por carboidratos (10%), compostos nitrogenados (10%), tais como, proteínas, peptídeos, aminoácidos, amino açúcares, purinas, piridinas e entre outros, uma mistura de alcanos, ácido graxos, ceras, resinas etc. (15%) e substâncias húmicas (65%) (Figura 1). Contudo, a composição média pode se alterar devido às condições ambientais (SCHNITZER, 1991).

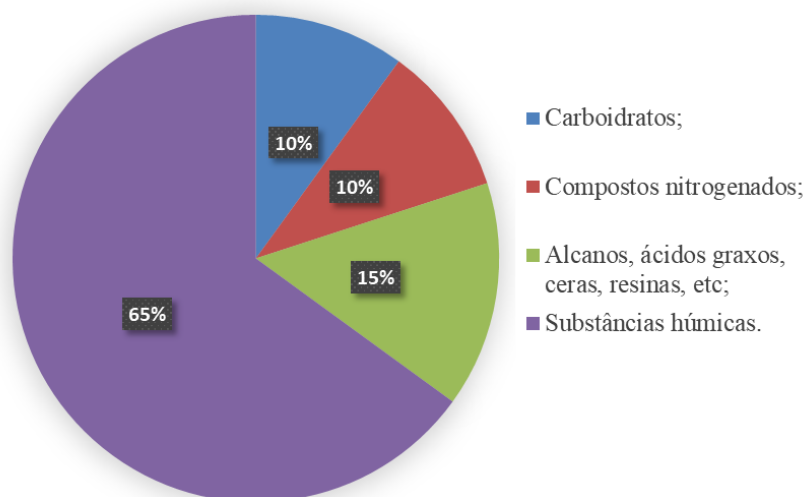


Figura 1. Composição química da MOS. Adaptado de SCHNITZER, 1991

A MOS, embora represente apenas uma pequena fração da massa do solo (5-10%) (HAYNES *et al.*, 2005), é um componente importante do solo que exerce funções diretas e indiretas nas suas propriedades e processos físicos, químicos e biológicos (DORAN & PARKIN, 1994; TABATABAI, 1996; DENG & DIXON, 2002; BOT & BENITES,

2005; HAYNES, 2005; MOREIRA & SIQUEIRA, 2006; OSMAN, 2013; KIRKBY *et al.*, 2013) (Figura 2), sendo um importante indicador da qualidade do solo (DORAN *et al.*, 1996, ROSELL *et al.*, 2001, MOREIRA & SIQUEIRA, 2006, KIRKBY *et al.*, 2013).

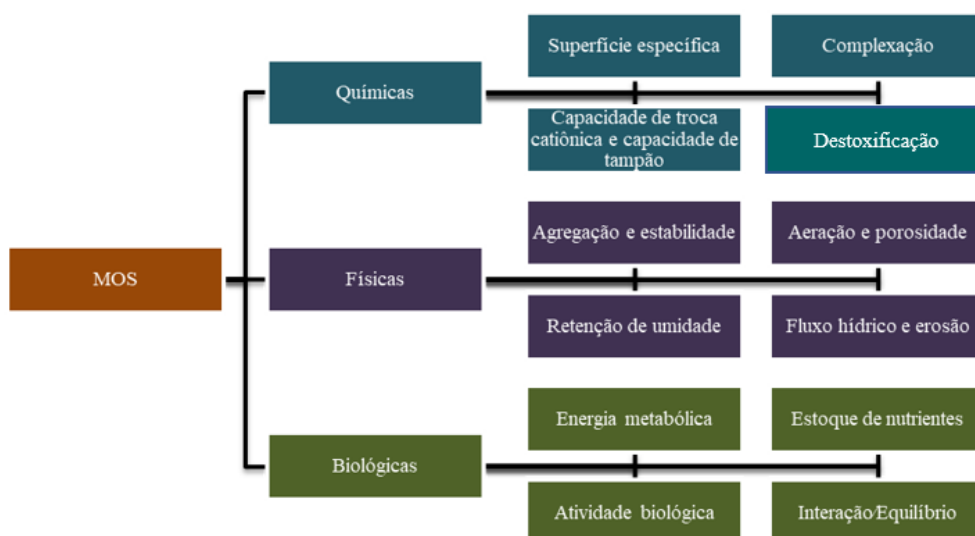


Figura 2. A MOS como moderadora das propriedades e funções do solo. Adaptado de MOREIRA & SIQUEIRA (2006)

O estudo da MO é importante para a fertilidade do solo, mitigação de mudanças climáticas e, por consequência, o bem-estar humano (ANGST *et al.*, 2021), sendo também utilizada para classificação dos solos (BOT & BENITES, 2005).

O teor de MOS é variável sendo, em geral, <1% em solos desérticos, cerca de 100% em solos orgânicos (SCHNITZER, 1991; DENG & DIXON, 2002) e tipicamente 1-5% em solos agrícolas (SCHNITZER, 1991). O teor de MOS é maior na superfície do solo e diminui gradualmente com a profundidade em solos agrícolas e de pastagens e abruptamente, com algumas exceções, em solos de floresta. Isso ocorre porque os insumos orgânicos estão em maiores quantidades na superfície (OSMAN, 2013).

O carbono é o componente majoritário da MOS. Portanto, o carbono orgânico (CO) do solo está fortemente ligado aos níveis da MOS (BAHADORI & TOFIGHI, 2015). A determinação direta do teor de MOS é uma tarefa difícil. Com isso, os laboratórios de pesquisa determinam o teor de MOS a partir do teor de COT (ou CO) no solo utilizando de um fator de conversão (ALLISON, 1965; KERVEN *et al.*, 2000; HOYLE, 2013; CHENU *et al.*, 2015). Esse fator tem como base a suposição de que 58% m/m da MOS é composta por carbono orgânico (ALLISON, 1965; DORAN *et al.*, 1996; KERVEN *et al.*, 2000; DIAS *et al.*, 2003; HOYLE, 2013; CHENU *et al.* 2015). Então para se estimar o teor de MOS deve-se multiplicar o COT por 100/58 (ou 1,724), conhecido como fator de “Van Bemmelen” (ALLISON, 1965; KERVEN *et al.*, 2000; ROSELL *et al.*, 2001; DIAS *et al.*, 2003; JOHNSTON, 2009; HOYLE, 2013; CHENU *et al.*, 2015), conforme a equação a seguir:

$$\text{MOS} = \text{COT} \times 1,724$$

Equação 1

Este fator é uma convenção utilizada amplamente, como destacado por Pribyl (2010) e, que por mais que se mostre impreciso, já está consolidado e convencionado na comunidade científica (MINASNY *et al.*, 2020).

Segundo Nelson e Sommers (1982), o fator adequado deve ser determinado experimentalmente para cada solo. A literatura relata o uso de diversos fatores de conversão para converter o COT em MO. Pribyl (2010) em sua extensa revisão crítica, encontrou diferentes fatores na literatura (Figura 3).

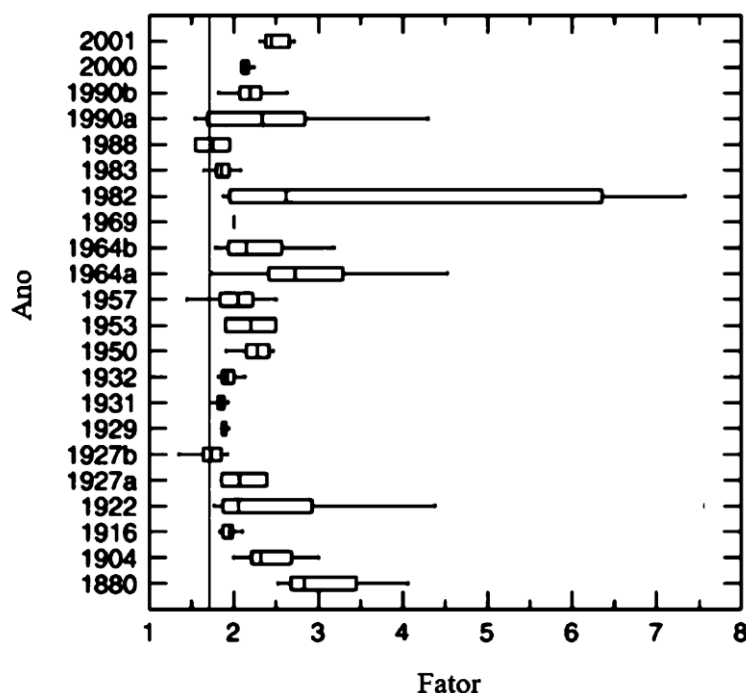


Figura 3. Fatores de conversão de COT para MO encontrados na literatura nos anos de 1880 - 2001. A linha vertical refere-se ao fator usual de 1,724. Adaptado de PRIBYL, 2010.

Portanto, qualquer fator utilizado para converter COT em MOS não pode ser considerado uma constante universal. É apenas uma estimativa razoável, já que este pode ser influenciado por vários fatores, como cobertura vegetal, composição da MO, argila no solo e grau de decomposição, variando de solo para solo e, até mesmo, no horizonte de um mesmo solo (ALLISON, 1965; NELSON & SOMMERS, 1982; PRIBYL, 2010; HOYLE, 2013). Em pesquisas de solos, os autores geralmente convertem o valor de COT determinado analiticamente utilizando um fator de conversão, porém como este fator é apenas uma estimativa, tem sido mais interessante determinar e relatar o teor de COT em um solo ao invés da medida do valor da MO (ALLISON, 1965; NELSON & SOMMERS, 1982; PRIBYL, 2010; HOYLE, 2013; MINASNY *et al.*, 2020).

2.2 Carbono Orgânico no Solo

O carbono pode ser encontrado no solo nas formas orgânicas (carbono orgânico total - COT) e inorgânicas (carbono inorgânico - CI) (ALLISON *et al.*, 1965; ALISSON, 1965; SCHUMACHER, 2002), sendo a soma dessas formas definida como o CT (Equação 2) (NELSON & SOMMERS, 1982; ALISSON, 1965; SCHUMACHER, 2002). A maior parte do carbono do solo é encontrada na fração de MOS e nos minerais carbonatados (ALLISON *et al.* 1965; NELSON & SOMMERS, 1982).

$$CT = COT + CI$$

Equação 2

O COT ocorre naturalmente em todos os solos, enquanto o CI ocorre apenas em alguns (ALLISON *et al.*, 1965). Nas regiões úmidas, o carbono ocorre predominantemente ou inteiramente na forma orgânica, enquanto nas regiões áridas o CI excede frequentemente o COT (ALLISON *et al.*, 1965). Alguns solos contêm carbono elementar (carvão, grafite, cinzas)

A determinação do teor de carbono é importante na avaliação da qualidade, da saúde do solo do ponto de vista agrícola (KUMAR *et al.*, 2009; SHAMRIKOVA *et al.*, 2022), para avaliar o ciclo do carbono (JOHNS *et al.*, 2015) além de ser muito utilizada nos últimos anos para a avaliar os estoques de carbono (JOHNS *et al.*, 2015; SHAMRIKOVA *et al.*, 2022).

Melhorias na qualidade e na quantidade do reservatório de carbono orgânico no solo pode acarretar efeitos positivos, como o aumento da relação biomassa/produção agrônômica e da qualidade da água, redução na sedimentação em reservatório e cursos d'água, além de atenuar os riscos do aquecimento global (LAL, 2004 a).

O carbono armazenado no solo é o maior reservatório terrestre de carbono (GONZÁLEZ-PÉREZ *et al.*, 2004; FLIEßBACH *et al.*, 2007; RUMPEL & KÖGEL-KNABNER, 2010, ANGST *et al.*, 2021). O reservatório global de carbono no solo é de 2.500 Gt, incluindo cerca de 1.550 Gt de carbono orgânico e 950 Gt de carbono inorgânico, sendo 4,5 vezes maior que o reservatório biótico (560 Gt) e, aproximadamente, 3,3 vezes maior que o reservatório de carbono contido na atmosfera (760 Gt) (LAL, 2004 b).

No final dos anos 90, após o estabelecimento do Protocolo de Kyoto, ocorreu um grande aumento do interesse de cientistas e políticos sobre o carbono do solo (FRANKS *et al.*, 2001). Sendo a estimativa do COT em solos o centro das atenções em convenções e acordos internacionais, no que diz respeito à mudança climática (MACHADO *et al.*, 2003).

A Figura 4 mostra o número de publicações nas últimas duas décadas envolvendo a temática carbono orgânico do solo. O número crescente de publicações demonstra a relevância e o interesse de pesquisadores sobre o tema.

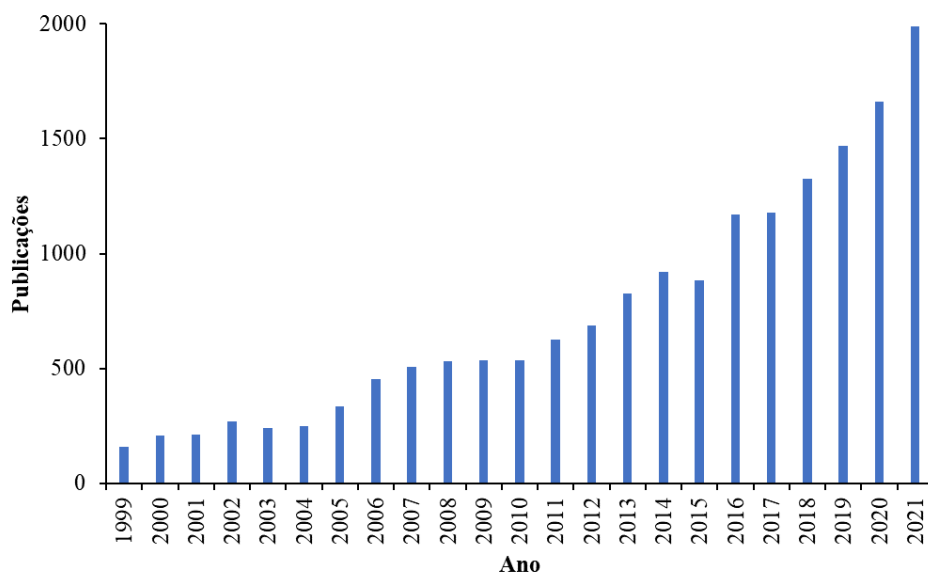


Figura 4. Número de publicações por ano envolvendo a temática do carbono orgânico do solo. Busca na base de dados do *Science Direct* com o termo “Soil Organic Carbon” em títulos, resumos e palavras-chaves. Acessado em: 01 de dezembro de 2022.

O carbono total (CT) está presente no solo como COT e CI (Equação 2). O teor de COT pode ser medido diretamente, por diferença entre o teor de CT e o CI (Equação 3) (SCHUMACHER, 2002) ou, pela determinação do carbono total após a retirada do carbono inorgânico (NELSON & SOMMERS, 1982).

$$\text{COT} = \text{CT} - \text{CI} \quad \text{Equação 3}$$

Em solos sem o CI, a Equação 2 torna-se a Equação 4 (SCHUMACHER, 2002; JOHN *et al.*, 2015).

$$\text{CT} = \text{COT} \quad \text{Equação 4}$$

A determinação do COT em solos pode ser feita quimicamente (via úmida) ou por meio de combustão a temperaturas elevadas (via seca). Nestes métodos, o carbono presente na amostra deve ser convertido em dióxido de carbono (CO₂) que é, então, medido direta ou indiretamente e expresso em COT ou CT, considerando na presença ou não de carbonatos inorgânicos (SCHUMACHER, 2002; JOHN *et al.*, 2015).

2.3 Métodos de Combustão Seca

Os métodos de combustão seca se baseiam na oxidação de substâncias do solo promovidas por altas temperaturas, onde o CO₂ liberado é medido pela perda de massa da amostra após combustão (método de perda de massa por ignição – PMI), ou medido diretamente por um analisador elementar (AE) (CHATTERJEE *et al.*, 2009; NAYAK *et al.*, 2019).

Na PMI a amostra é aquecida em uma mufla, em temperatura na faixa de 200-500 °C, enquanto os métodos que utilizam AE empregam temperaturas mais altas, na faixa de 950-1150 °C (CHATTERJEE *et al.*, 2009; NAYAK *et al.*, 2019).

Em solos ácidos o CT corresponde ao COT (Equação 4), pois nesta condição não há CI, sendo possível medir diretamente o teor de COT por métodos de combustão seca.

Já em solos carbonatados é necessária a determinação paralela do CI, de modo que o CI é descontado do CT determinado pelo método de combustão seca (Equação 3) (SANTI *et al.*, 2006). Alternativamente, para a determinação do COT, deve ser realizado um tratamento prévio com ácido para a eliminação do CI, que se encontra na forma de carbonatos (JOHNS *et al.*, 2015).

2.3.1 Análise por Perda de Massa por Ignição (PMI)

Esse método se baseia na diferença da massa de uma amostra de solo seco antes e após a sua ignição a alta temperatura (SCHULTE & HOPKINS, 1996; CHATTERJEE *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2011; FAO, 2019). A temperatura neste método é um fator crítico (SCHULTE & HOPKINS, 1996; WANG *et al.*, 2011). A temperatura de secagem da amostra deve ser suficiente alta para eliminar a água do solo sem eliminar os componentes orgânicos (SCHULTE & HOPKINS, 1996). Caso a água não seja totalmente eliminada nesta etapa, então, ela será volatilizada na etapa de ignição superestimando o valor do COT (CHATTERJEE *et al.*, 2009; NAYAK *et al.*, 2019). Já a temperatura de ignição deve ser o suficiente alta para remover e oxidar ao máximo de carbono orgânico do solo sem remover outros constituintes (SCHULTE & HOPKINS, 1996). Para evitar que as amostras absorvam umidade, elas devem ser armazenadas em dessecador até o momento das pesagens (SCHULTE & HOPKINS, 1996; FAO, 2019).

A análise por PMI está sendo cada vez menos utilizada devido ao longo tempo requerido para a realização da análise e da dificuldade de sua automação (MIYAZAWA *et al.*, 2000). Contudo, é considerado ecologicamente correta e mais segura em comparação aos métodos de via úmida (DIAS *et al.*, 2013; MIYAZAWA *et al.*, 2000; BAKR & EL-ASHRY *et al.*, 2018), que comumente empregam Cr^{6+} e ácido sulfúrico concentrado. A técnica é relativamente simples, requerendo apenas um forno mufla, cadinhos cerâmicos e balança analítica (WESTMAN *et al.*, 2006; BAKR & EL-ASHRY *et al.*, 2018; FAO, 2019). Além disso, permite a análise de massas de amostras relativamente maiores do que a combustão com AE ou análise por via úmida, podendo assim proporcionar erro analítico menor devido à maior representatividade da amostra (FAO, 2019).

2.3.2 Análise Elementar

A combustão seca com AE tem sido amplamente utilizada como método de referência para a determinação de COT (CHATTERJEE *et al.*, 2009; JOHNS *et al.*, 2015; DUQUE, 2018; FAO, 2019). Isso ocorre não apenas devido à automatização que pode ser realizada nas análises, o que possibilita maior reprodutibilidade, como também, pelo fato das condições de combustão empregadas, permitirem a oxidação quantitativa do carbono orgânico em uma maior diversidade de substâncias orgânicas, nas mais variadas combinações com o solo e níveis de complexidade, eliminando de erros sistemáticos (DUQUE, 2018; BISUTTI *et al.*, 2004).

Os métodos atuais de combustão seca automatizados, em sua maioria, envolve a oxidação de MO em altas temperaturas (superiores a 1000 °C), utilizando oxigênio purificado com ou sem outras misturas de catalisadores para converter o carbono presente na amostra a CO_2 (JOHNS *et al.*, 2015; SHAMRIKOVA *et al.*, 2022).

Na análise elementar pode ser realizada a quantificação de diversos elementos como Carbono (C), Hidrogênio (H), Nitrogênio (N), Enxofre (S) e Oxigênio (O) em amostras sólidas, líquidas, viscosas e voláteis (METLER TOLEDO, 2023). Nessa técnica o carbono presente é convertido em dióxido de carbono, o hidrogênio em água, o

nitrogênio em gás nitrogênio ou óxidos de nitrogênio e o enxofre para dióxido ou trióxido de enxofre (ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, 2006). Os produtos da combustão são removidos da câmara de combustão por gás de arraste inerte (exemplo He), passando por uma coluna de cobre de alta pureza (ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, 2006; EMBRAPA 2017). A detecção e quantificação destes produtos pode ser realizada por várias técnicas analíticas (ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, 2006).

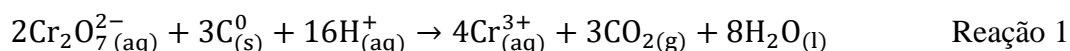
Os métodos envolvendo AE estão gradualmente substituindo os métodos por via úmida (SLEUTEL *et al.*, 2007; VITTI *et al.*, 2016). Isso ocorre porque esses métodos não utilizam reagentes tóxicos, como o $K_2Cr_2O_7$, não produzindo assim rejeitos (SLEUTEL *et al.*, 2007; VITTI *et al.*, 2016; SHAMRIKOVA *et al.*, 2022), são de fácil automação (MATEJOVIC, 1993; SLEUTEL *et al.*, 2007; VITTI *et al.*, 2016), as medições são rápidas, permitindo uma rápida frequência analítica (YEOMANS & BREMNER, 1991; MATEJOVIC, 1993; JIMENEZ & LADHA, 1993; SLEUTEL *et al.*, 2007; CHATTERJEE *et al.*, 2009; DIAS *et al.*, 2013; VITTI *et al.*, 2016; FAO, 2019) e permite a medição simultânea de outros elementos, além do C, como N, S, H e O (ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, 2006; SLEUTEL *et al.*, 2007; CHATTERJEE *et al.*, 2009; EMBRAPA, 2017; DUQUE, 2018; FAO, 2019).

Esses métodos requerem preparo mínimo da amostra (SCHUMACHER, 2002; DIAS *et al.*, 2013). Ela é apenas seca ao ar e, após, moída, tamisada em peneira, pesada e colocada no equipamento. No caso, da amostra possuir carbonatos, estes podem interferir (ALLISON, 1965; SCHUMACHER, 2002; FAO, 2019). Então se faz necessário mais uma etapa para a eliminação dos carbonatos (geralmente feita com HCl) e posterior secagem.

Apesar dos inúmeros benefícios, estes métodos possuem um alto custo para a aquisição e manutenção do equipamento (JIMENEZ & LADHA, 1993; DORAN *et al.*, 1996; SOUZA *et al.*, 2016; SCHUMACHER, 2002; CHATTERJEE *et al.*, 2009; CARMO & SILVA, 2012; FAO, 2019), fazendo assim, que não sejam amplamente utilizados, principalmente em países subdesenvolvidos. Esta técnica necessita de mão de obra especializada para a operação do equipamento (DORAN *et al.*, 1996, ZIMMERMAN *et al.*, 1997). Outro problema é a pequena massa de amostra analisada (geralmente 100-200 mg), que pode gerar erros devido à baixa representatividade (CHATTERJEE *et al.*, 2009; FAO, 2019). Logo, deve-se ter o devido cuidado na etapa de homogeneização da amostra, além de se realizar réplicas da mesma amostra.

2.4 Métodos de Via Úmida

Nos métodos de via úmida, o carbono orgânico presente na amostra é oxidado por uma solução de $K_2Cr_2O_7$, em meio fortemente ácido proporcionado pelo ácido sulfúrico concentrado, com ou sem fonte de aquecimento externo, produzindo CO_2 (Reação 1).



Após a oxidação, a determinação do COT pode ser feita por técnicas titrimétricas, potenciométricas, colorimétricas, gravimétricas ou manométricas (Tabela 1) (SCHUMACHER, 2002).

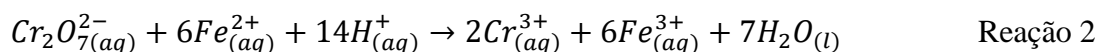
Tabela 1. Técnicas analíticas utilizadas para a determinação de COT por métodos de via úmida e suas principais características

Técnica	Característica	Referências
Titrimetria clássica	Após a oxidação do CO, o excesso de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ é titulado com uma solução padrão de Fe^{2+} . A identificação da viragem do indicador pode ser dificultada na análise de solos de coloração escura.	SCHOLLENBERGER (1927), WALKLEY & BLACK (1934), WALKLEY (1947), MEBIUS (1960), NELSON & SOMMERS (1974), YEOMANS & BREMNER (1988), EMBRAPA (2017)
Titulação potenciométrica	O $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ remanescente da oxidação do CO é titulado com uma solução padrão de Fe^{2+} . Não requer o uso de indicadores químicos.	GILLMAN <i>et al.</i> 1986, SOIL SURVEY LABORATORY, 1992
Colorimetria	A mistura obtida após a oxidação do CO é filtrada e centrifugada e o COT é determinado indiretamente pela quantificação do Cr^{3+} produzido na reação, empregando um colorímetro ($\lambda = 601 \text{ nm}$) e uma curva padrão.	HEANES (1984), VICKERY <i>et al.</i> , 1995
Gravimétrica	O CO_2 formado durante a oxidação da amostra é absorvido por sílica (ou outro adsorvente similar). A diferença de massa do adsorvente é convertida em COT. O sistema deve estar isento de CO_2 atmosférico.	ALLINSON <i>et al.</i> , 1965
Manométrica	O CO_2 produzido promove mudança de pressão em um manômetro Van Slyke-Neil, que permite determinar o COT.	BREMNER (1949)

Adaptado de SHUMARCHER, 2002

A técnica mais utilizada para a determinação de COT e destacada na literatura é a titrimetria clássica, sendo o método de Walkley e Black (1934) o mais difundido por ser simples, rápido e exigir equipamentos facilmente disponíveis em qualquer laboratório (DIAS *et al.*, 2013; FAO, 2019; MIYAZAWA *et al.*, 2000; DHILLON *et al.*, 2015; SHAMRIKOVA *et al.*, 2022). No Brasil, atualmente, são muito utilizados os métodos preconizados por Yeomans e Bremner (1988) e Embrapa (2017), que foram baseados no método de Walkley e Black (1934), com algumas modificações.

Nestas metodologias é imprescindível que o dicromato adicionado esteja em excesso para que os íons $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ remanescentes sejam retrotitulados com uma solução padrão de Fe^{2+} (solução de sulfato ferroso amoniacal ou solução de sal de Mohr) na presença de um indicador adequado (Reação 2).



Schollenberger (1927), um dos pioneiros ao relatar o uso de dicromato de potássio nestas determinações, utilizou uma mistura de dicromato de potássio e ácido sulfúrico concentrado, com a utilização de aquecimento externo, para a oxidação da MOS. O método oxidou cerca de 50% da MOS. Degtjareff (1930) propôs uma modificação no método desenvolvido por Schollenberger (1927), que envolveu a adição de H₂O₂ para promover a completa oxidação da MO.

Quando Walkley e Black (1934) publicaram sua metodologia, eles informaram que os resultados encontrados por Degtjareff (1930) eram fictícios, devido a erros estequiométricos. Com isso, Walkley e Black propuseram uma nova modificação ao método de Schollenberger (1927), na qual não se deveria fornecer calor externo à mistura oxidante. Nesta modificação, o aquecimento se deu apenas devido ao calor liberado na dissolução do ácido concentrado. O método proposto por Walkley e Black (1934) permitiu oxidar cerca de 76% do carbono presente nas amostras de solo. Para compensar a oxidação incompleta do carbono, os autores recomendaram a aplicação de um fator de correção ($\frac{100}{76} = 1,32$) no COT obtido pelo método.

O grau da extensão da oxidação do carbono pelo dicromato depende da complexidade da MOS, que é afetada por diversos fatores como a cobertura vegetal, clima, composição da MOS, profundidade do solo, quantidade e qualidade da população microbiana, quantidade de MOS e grau de decomposição. Assim, diferente do proposto por Walkley e Black (1934), não é possível um fator de correção universal (BHATTACHARYYA *et al.*, 2015). A literatura relata diversos fatores de correção para a aplicação do método Walkley e Black (Tabela 2).

Tabela 2. Alguns fatores de correção para o método Walkley e Black

Fator de correção	Referência
1,32	WALKLEY & BLACK, 1934
1,41	AMACHER <i>et al.</i> , 1986
1,35	DIÁZ-ZORITA, 1999
1,69	DIÁZ-ZORITA, 1999
1,2	KAMARA <i>et al.</i> , 2002
1,63	MIKHAILOVA <i>et al.</i> , 2003
1,23 – 1,79	GATTO <i>et al.</i> , 2009
1,31	MATUS <i>et al.</i> , 2009
1,15 – 2,03	BHATTACHARYYA <i>et al.</i> , 2015
1,41 (ou 1,23 para oxissolos)	FERNANDES <i>et al.</i> , 2015
1,32	GESSESSE & KHAMZINA, 2018
2,38 para amostras superficiais	ENANG <i>et al.</i> , 2018
3,34 para amostras subsuperficiais	ENANG <i>et al.</i> , 2018
1,15	SHAMRIKOVA <i>et al.</i> , 2022

Segundo Nelson e Sommers (1982), a falta de exatidão deste método é compensada devido à sua simplicidade e rapidez. Porém, este inconveniente não tem impedido sua utilização em muitos laboratórios de solo. Este método, mesmo com pequenas modificações, ainda é bastante aplicado, sendo os fatores de correção de COT,

uma convenção aceita pela comunidade científica, tentando diferenciar os tipos e perfis de solos.

As possíveis fontes de erro que têm sido apontadas para o método Walkley e Black (1934) são o erro na leitura do ponto final da titulação do dicromato com Fe^{2+} (muito difícil de ser visualizado), oxidação incompleta da MO, requerendo diferentes fatores de correção para a determinação do COT, e o fator de conversão usado para estimar a MOS a partir do teor de COT (PRIBYL *et al.*, 2010). Apesar disto, vários pesquisadores propuseram modificações ao método Walkley e Black.

Mebius (1960) propôs manter a mistura de dicromato de potássio com o ácido sulfúrico, mas sob refluxo e fervura, em banho de areia, por 30 minutos. Este método obteve resultados estatisticamente semelhantes para as 14 amostras de solos, quando comparados ao método de combustão seca, dispensando a utilização de um fator de correção.

Nelson e Sommers (1974) modificaram o método proposto por Mebius (1960), duplicando a concentração do dicromato de potássio utilizado e fazendo o aquecimento da mistura dicromato e ácido em condensadores, com o uso de chapa elétrica.

Yeomans e Bremner (1988) propuseram a simplificação do método de Mebius (1960) realizando o aquecimento da mistura reacional em um bloco digestor, um equipamento bastante difundido em laboratórios de análise de solos, dispensando o uso de condensadores. A Tabela 3 apresenta as diferenças entre as modificações feitas por Nelson e Sommers (1974) e o proposto por Yeomans e Bremner (1988).

Tabela 3. Diferenças entre os métodos propostos por Nelson e Sommers (1974) e Yeomans e Bremner (1988)

Método	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	H_2SO_4	Aquecimento	Temperatura
NELSON & SOMMERS, 1974	10,00 mL de 0,0833 mol L ⁻¹	15 mL	Utilização de condensadores e placas elétricas (6 amostras)	150 °C
YEOMANS & BREMNER, 1988	5,00 mL de 0,167 mol L ⁻¹	7,5 mL	Bloco digestor (40 amostras)	170 °C

Adaptado de Yeomans e Bremner (1988)

Pela Tabela 3 é possível perceber que o método proposto Yeomans e Bremner (1988) proporcionou a diminuição na quantidade de ácido sulfúrico pela metade reduzindo, assim, os custos da análise. O novo método permitiu oxidar 40 amostras simultaneamente, tornando-o bastante utilizado em análises de rotina. O método proposto por Yeomans e Bremner (1988) se mostrou mais preciso que o método de Nelson e Sommers (1974) (Tabela 4). Segundo os autores, isso ocorreu devido à homogeneidade proporcionada pelo aquecimento utilizando o bloco digestor.

Tabela 4. Coeficientes de variação obtidos pelos métodos de Nelson e Sommers e Yeomans e Bremner

Método	Coeficiente de variação (%)	
	Intervalo	Média
NELSON & SOMMERS, 1974	1,23 – 5,43	2,81
YEOMANS & BREMNER, 1988	0,19 – 2,53	1,01

Para a análise de 15 solos, com 5 réplicas.

Adaptado de Yeomans e Bremner (1988)

Os resultados encontrados por Yeomans e Bremner (1988) na análise de solos concordaram com os obtidos pelo método de combustão seca (ALISSON, 1965) e foram superiores (em termo de exatidão) ao método de Walkley e Black (1934). Segundo os autores, não necessitaria da aplicação de fatores de correção. Os autores relataram que isto ocorreu porque a adição de uma fonte de calor externo favoreceu a oxidação dos compostos orgânicos.

Porém, alguns trabalhos na literatura relataram o uso de fator de correção para esse método, como o realizado por Pereira e colaboradores (2006). Neste trabalho, os autores analisaram 53 amostras de solos (histossolos e solos com grande conteúdo de MO) de diferentes regiões do Brasil, encontrando fatores de correção na faixa de 0,64 – 2,28 para os solos estudados, utilizando o método Yeomans e Bremner (1988) e tendo como referência a combustão seca com AE.

Outro estudo que utilizou fator de correção para o método Yeomans e Bremner (1988) é o realizado por Gatto e colaboradores (2009). Nesse estudo, os autores utilizaram amostras de solos de diferentes classes e horizontes (totalizando 99 amostras) do estado de Minas Gerais. Gatto e colaboradores (2009) encontraram fatores de correção na faixa de 1,09 a 1,52 para o método Yeomans e Bremner tendo como referência a análise por combustão seca com AE (CHNS/O).

Muitos trabalhos encontrados na literatura propõem a adição do calor externo para uma oxidação mais completa do carbono orgânico. Porém, segundo Hardy e Dufey (2017) esses métodos não são tão popularizados quanto o de Walkley e Black (1934), pois a etapa de aquecimento diminui a conveniência do método.

A eficiência da oxidação do carbono orgânico dos solos varia de acordo com as condições reacionais, como temperatura, concentração dos reagentes e tempo de oxidação (SHAMRIKOVA *et al.*, 2022). Assim, a literatura relata várias metodologias para a determinação de COT em solos (Tabela 5).

Tabela 5. Métodos de via úmida para a determinação de COT em solos ‘Continua’

Mistura oxidante	Aquecimento	Técnica analítica	Referência
10,00 mL de $K_2Cr_2O_7$ 0,068 mol L ⁻¹ , em H ₂ SO ₄ concentrado	175 °C por 90 segundos	Titulação com solução Fe ²⁺ de 0,2 mol L ⁻¹ e indicador difenilamina	SCHOLLENBERGER, 1927
10,00 ou 15,00 mL de H ₂ O ₂ 0,3% m/v (em ácido sulfúrico concentrado) + igual volume de CrO ₃ (em H ₂ SO ₄ concentrado) 0,160 mol L ⁻¹	Não utiliza fonte de calor externo	Titulação com solução Fe ²⁺ de 0,2 mol L ⁻¹ e indicador difenilamina	DEGTJAREF, 1930
10,00 mL de $K_2Cr_2O_7$ 0,167 mol L ⁻¹ + 20 mL H ₂ SO ₄ concentrado	Não utiliza fonte de calor externo	Titulação com solução Fe ²⁺ de 0,4 mol L ⁻¹ em meio de 5 g de NaF e indicador difenilamina	WALKLEY & BLACK, 1934
15,00 mL de $K_2Cr_2O_7$ (em H ₂ SO ₄ 55% m/v) 0,0444 mol L ⁻¹	Refluxo sob calor externo (fervura por 30 minutos)	Titulação com solução Fe ²⁺ de 0,2 mol L ⁻¹ e indicador ácido n-fenilntranílico	MEBIUS, 1960
10,00 mL de $K_2Cr_2O_7$ 0,0667 mol L ⁻¹ (em H ₂ SO ₄ 50 m/v) + 0,02 g de Ag ₂ SO ₄	Aquecimento até fervura branda e mantê-la por 5 minutos	Titulação com solução Fe ²⁺ de 0,1 mol L ⁻¹ em meio de 2,5 mL de H ₃ PO ₄ e indicador difenilamina	Método de Tiurin, descrito por VETTORI, 1969
5,00 mL de $K_2Cr_2O_7$ 0,0833 mol L ⁻¹ + 7,5 mL H ₂ SO ₄ concentrado	150 °C por 30 minutos	Titulação com solução Fe ²⁺ de 0,2 mol L ⁻¹ e indicado ácido n-fenilntranílico	NELSON & SOMMERS, 1974

Tabela 5. ‘Continuação’

10,00 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,167 mol L ⁻¹ + 20 mL H_2SO_4 concentrado	135 °C por 30 minutos (bloco digestor)	Espectrofotometria ($\lambda = 600$ nm). Calibração com padrão externo de sacarose	HEANES, 1984
5,00 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,167 mol L ⁻¹ + 7,5 mL H_2SO_4 concentrado	170 °C por 30 minutos (bloco digestor)	Titulação com solução Fe^{2+} de 0,2 mol L ⁻¹ e indicador ácido n- fenilntranílico	YEOMANS & BREMNER, 1988
10 mL de mistura 2:1 H_2SO_4 : H_3PO_4 + 10,00 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 10% m/v	140 °C por 1 hora	Colorimetria, empregando difenilcarbazida como ligante	VICKERY <i>et al.</i> , 1995
10 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 1,25 mol L ⁻¹ + 20 mL de H_2SO_4 concentrado	Aquecer no bico de Bunsen até 150 °C (manter por 1 minuto)	Titulação com solução Fe^{2+} de 0,25 mol L ⁻¹ e indicador ferroína	TEDESCO <i>et al.</i> , 1995
10,00 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,0667 mol L ⁻¹ (em H_2SO_4 50% m/v)	Aquecer em chapa aquecedora (no máximo 150 °C) até a fervura branda ou durante 5 minutos	Titulação com solução Fe^{2+} de 0,1 mol L ⁻¹ em 2 mL de H_3PO_4 e indicador difenilamina 1% m/v ou ferroína 0,025 mol L ⁻¹	EMBRAPA, 2017
10,00 mL de KMnO_4 0,2 mol L ⁻¹ + 10,00 mL H_2SO_4 0,125 mol L ⁻¹	70 °C, por 30 minutos, em bloco digestor	Adição de excesso de Fe^{2+} para reagir com o KMnO_4 remanescente. Após, o excesso de Fe^{2+} é titulado com KMnO_4 0,02 mol L ⁻¹	LÃ <i>et al.</i> , 2023

A vantagem da determinação de COT por via úmida é o baixo custo e simplicidade da instrumentação utilizada, comumente encontrada nos laboratórios de análise químicas (ALLISON *et al.*, 1965; GREWAL *et al.*, 2001; DIAS *et al.*, 2013; SCHUMACHER, 2002; JOHNS *et al.*, 2015). A outra vantagem é que a presença de carbonatos não causa interferência na determinação de COT, uma vez que ao se adicionar ácido às amostras de

solo, condição necessária para a oxidação, o carbonato é eliminado facilmente pela formação de CO_2 (ALISSON, 1965; JOHNS *et al.*, 2015; DHILLON *et al.*, 2015).

A principal desvantagem da utilização dos métodos de via úmida para determinação de COT nos solos está relacionada à presença de Cr^{6+} e de grandes volumes de ácido sulfúrico concentrado (MIYAZAWA *et al.*, 2000), gerando assim grande quantidade de rejeito de solução de sulfocromica. No ano 2000, a *National Soil Survey Laboratory* (NSSL) extinguiu o uso do método Walkley e Black, devido aos riscos ambientais ocasionados pelo uso do dicromato (FRANKS *et al.*, 2001).

Segundo a NBR 10.004, os resíduos contendo cromo são classificados com perigosos, ou Classe I (ABNT, 2004), necessitando de sistemas apropriados para transporte e acondicionamento. Resíduos de Cr^{6+} podem ser neutralizados, por exemplo, por processos de redução e precipitação. Entretanto, isso não evita que seja gerado resíduos sólidos de cromo (ESCOSTEGUY *et al.*, 2007).

A toxicidade do Cr^{6+} se deve à formação de radicais livres durante a sua redução a Cr^{3+} , que acontece no interior da célula (KOTÁŠ & STASICKA, 2000). O Cr^{3+} quando formado em altas quantidades pode acarretar efeitos negativos à célula, devido à sua alta capacidade de coordenar com diversos compostos orgânicos ocasionando, assim, na inibição de alguns sistemas metaloenzimáticos (KOTÁŠ & STASICKA, 2000). O Cr^{3+} é, contudo, menos tóxicos que o Cr^{6+} (WILBUR *et al.*, 2012; ATDSR, 2012; PUBCHEM, 2022 a).

Apesar da literatura relatar o Cr^{3+} como um nutriente essencial, a exposição em altas concentrações seja por inalação, ingestão ou contato com a pele, pode causar efeitos negativos à saúde relacionado a problemas imunológicos e respiratórios (ATDSR, 2012; WILBUR *et al.*, 2012).

A Resolução nº. 430, de 13 de maio de 2011, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), estabeleceu que as concentrações máximas de cromo hexavalente (Cr^{6+}) e trivalente (Cr^{3+}) que podem ser lançadas em efluentes são de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ e $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente.

Segundo a IARC (*International Agency for Research on Cancer*, Agência Internacional de Pesquisa de Câncer) os compostos de Cr^{6+} são carcinogênicos aos seres humanos (Grupo 1). A exposição a esses compostos, além de provocar o desenvolvimento de câncer, pode causar doenças respiratórias, cutâneas, oculares, imunológicas, hematológica, gastrointestinais, reprodutivos e de desenvolvimento dependendo do tipo de exposição (ATDSR, 2012; WILBUR *et al.* 2012; PUBCHEM, 2022 a).

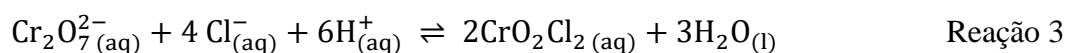
O ácido sulfúrico é um reagente de compra controlada não só no Brasil, como em outros países (CHILE, 2007; COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, 2019; BRASIL, 2019; ARGENTINA, 2019). O seu uso deve ser feito com cautela, realizando o seu manuseio com equipamentos de proteção adequados. Por se tratar de um reagente bastante corrosivo, pode trazer danos respiratórios, dermatológicos, oculares, gastrointestinais e, até mesmo, a morte (ATSDR, 1998; SIGMA-ALDRICH, 2021; QUIMESP, 2021; PUBCHEM, 2022 b).

Nas últimas décadas tem aumentado a preocupação com a toxicidade de substâncias químicas, não só para o meio ambiente, como para os seres humanos. Nesse contexto, a Química Verde desenvolve um importante papel com seus princípios de redução ou eliminação do uso ou geração de substâncias perigosas no projeto, fabricação e aplicação de produtos químicos (ANASTAS & WARNER, 1998). Assim, é altamente desejável, dentro, dos conceitos de Química Verde, a elaboração de métodos analíticos alternativos, não nocivos, ou pelo menos, menos nocivo ao meio ambiente e ao analista.

Vale ressaltar, que o dicromato não é capaz de oxidar toda a MOS, fazendo assim necessário o uso de fatores de correção para o teor de COT obtido no término da análise (SANTI *et al.*, 2006; DIAS *et al.*, 2013).

Os métodos de via úmida estão sujeitos a erro devido à presença de interferentes, tal como Cl^- e Fe^{2+} , que superestimam (erro positivo), e Mn (na forma de óxidos), que subestima (erro negativo); os teores de COT (ALLISON, 1965; NELSON & SOMMERS, 1974; CHATTERJEE *et al.*, 2009, TABATATAI, 1996).

O Cl^- presente no solo reage com o dicromato produzindo o cloreto de cromilo (CrO_2Cl_2), consumindo o $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ (Reação 3), superestimando o teor de COT (NELSON & SOMMERS, 1974; NELSON & SOMMERS, 1982; CHATTERJEE *et al.*, 2009; TABATATAI, 1996).

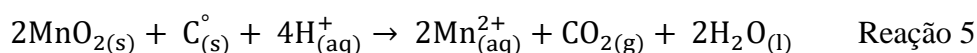


Essa interferência pode ser eliminada lavando o solo com água isenta de Cl^- antes da análise (CHATTERJEE *et al.*, 2009) ou adicionando Ag_2SO_4 na mistura reacional para que, assim, o Cl^- presente na amostra possa ser precipitado na forma de AgCl (Reação 4), NELSON & SOMMERS, 1974; NELSON & SOMMERS, 1982; SCHUMACHER, 2002; CHATTERJEE *et al.* 2009).



Traços de ferro são encontrados em solos bem areados e em solos ricos em MO (ALLISON, 1965). O Fe^{2+} presente no solo pode ser oxidado pelo $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ (Reação 2), superestimando o teor do de COT (ALLISON, 1965; CHATTERJEE *et al.*, 2009, TABATATAI, 1996; SCHUMACHER, 2002). Esse erro é mais pronunciado se a amostra não é seca antes da análise (CHATTERJEE *et al.*, 2009).

Óxido superiores de Mn (principalmente na forma de MnO_2) competem com o $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ por substâncias oxidáveis, quando aquecidos em meio ácido (Reação 5), subestimando o teor de COT na amostra (ALLISON, 1965, TABATATAI, 1996, SCHUMACHER, 2002, CHATTERJEE *et al.*, 2009).



2.5 Investigação de Metodologias para a Determinação do COT

Silva e colaboradores (2021) avaliaram 26 amostras de solos selecionados da soloteca da Embrapa-Acre, com diferentes teores de carbono. Neste estudo, os autores determinaram os teores de COT em solos do Acre, utilizando diferentes procedimentos analíticos. As seguintes condições de análise foram avaliadas: sem aquecimento externo e com aquecimento externo (170°C) na etapa de oxidação da amostra; amostras maceradas e não maceradas; e concentração do titulante (solução de sulfato ferroso amoniacal 0,2 e 1,0 mol L^{-1}). Como método de referência foi utilizada a combustão seca com AE (CHNS). Os autores observaram que todas as metodologias utilizadas apresentaram alta e significativa correlação com o método de referência. A metodologia analítica que apresentou o maior coeficiente de determinação ($R^2 = 0,940$) em relação ao método de referência foi a que utilizou aquecimento externo a 170°C e solução de sulfato ferroso amoniacal 0,2 mol L^{-1} .

Heanes (1984), em seu trabalho, propôs modificações ao método Walkley e Black para a análise de COT em solos, utilizando a espectrofotometria como técnica. Nesse

estudo foram utilizadas 14 amostras de solo de superfície (0-10 cm) e subsuperfície (30 – 40 cm) coletados em 3 estados da Austrália. A escolha foi feita de forma a se obter amostras com uma ampla faixa de teores de calcário (0 - 38%), MO (0,25 – 5,5% COT) e texturas (24 - 100% areia, 0 – 62% argila). Nesta modificação a determinação do COT foi realizada por espectrofotometria ($\lambda=600$ nm), utilizando curva analítica de sacarose. Para os 14 solos investigados por este novo método as interferências de Fe^{2+} , carbonato, coque, carvão, Cl^- e óxidos de manganês foram insignificantes em solos não salinos. Para solos salinos, a correção estequiométrica de Cl^- se fez necessária. Segundo os autores, esse método foi comparável aos métodos de combustão seca, com a vantagem de ser mais barato, mais rápido sem a necessidade da eliminação de carbonatos.

Rheinheimer e colaboradores (2008) compararam os seguintes métodos de via úmida: Walkley e Black, modificado por Tedesco e colaboradores (1995), sem o fator de correção; captura de CO_2 descrito por Nelson e Sommers (1982); Mebius, modificado por Nelson e Sommers (1982); e Mebius, modificado para o bloco digestor, descrito por Yeomans e Bremner (1988). Foram investigadas 18 amostras de um Latossolo Vermelho distrófico típico (camadas de 0-5 e 5-10 cm), oriundos de 3 sistemas de uso de solo (mata nativa, campo nativo e plantio direto). Após as análises os autores observaram que a precisão desses métodos foi semelhante com coeficientes de variação (CV) abaixo de 10%.

Os autores destacaram ainda, que o método de captura de CO_2 obteve teores de COT, em sua maioria, menores e CV maiores, quando comparados aos outros métodos. Os autores supõem que isso ocorreu, porque durante a titulação formou-se uma camada de material no fundo de alguns tubos, dificultando a visualização do ponto de viragem, influenciando na precisão dos resultados. No mesmo trabalho, o método Walkley e Black obteve coeficiente de variação baixos ($<1,30\%$) nas camadas de solos superficiais (0 – 5 cm) da mata e campo nativo. Estas amostras apresentaram altos valores de COT. Para amostras com baixos valores de COT (amostras das camadas 5 - 10 cm) os coeficientes de variação apresentaram valores mais altos. Assim os autores sugeriram que o método Walkley e Black é mais preciso para amostras com altos teores de COT.

O método Mebius, com bloco digestor não diferiu estaticamente dos métodos Walkley e Black e Mebius modificado. Os coeficientes de variação foram abaixo de 2,6%, menor em relação aos outros métodos investigados. A utilização do bloco digestor favoreceu a padronização do aquecimento das amostras, melhorando assim, a precisão do método, em comparação aos outros métodos utilizados, além de permitir a análise concomitante de um maior número de amostras.

Ferreira e colaboradores (2009) propuseram um método alternativo para dispensar o preparo de amostras e a utilização de reagentes. Para tanto, foi empregada a espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS), com algoritmos de redes neurais para a calibração. A calibração foi feita utilizando um conjunto de 28 amostras e a validação com um conjunto de 8 amostras. Para ambos os conjuntos, 8 linhas de emissão de carbono e linhas adjacentes foram consideradas: C(I) 193,04; C(III) 229,683; 229,735; 229,8391; C(I) 247,857; 247,907; C(I) 283,5886; C(II) 426,739. Os resultados do teste proposto foram comparados com os da análise por combustão com AE. Os resultados do método proposto foram considerados promissores devido à boa correlação linear com o método de referência ($r = 0,93$).

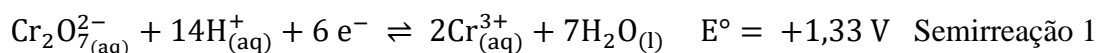
Miyazawa e colaboradores (2015) avaliaram a modificação do método Walkley e Black, com o intuito de reduzir a quantidade de reagentes e o custo com os resíduos gerados pelo método. Foi proposto a substituição da titulação pela espectrofotometria para estimar a quantidade de carbono orgânico nos solos, através da quantidade de Cr^{3+} produzido na oxidação do carbono. Também foi reduzido para 4% o uso de reagentes

($K_2Cr_2O_7$ e H_2SO_4) e massa de amostras, em relação ao original. A curva analítica de carbono foi feita empregando padrões de sacarose. O erro relativo na determinação de COT em amostras de solos foram menores que 8%. O coeficiente de determinação ($R^2 = 0,929$) entre o método proposto e o de referência (Walkley e Black), elevado, explica 93% da variância dos resultados de CO entre os dois métodos se ajustam ao modelo linear.

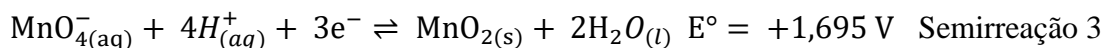
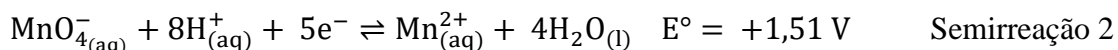
Dias e colaboradores (2013) analisaram amostras de solos agrícolas do Estado de São Paulo e compararam os métodos de oxidação úmida baseada na proposta de Walkley e Black, porém com determinação espectrofotométrica, combustão com AE e análise por PMI (a $550^\circ C$). Em todas as amostras estudadas, a determinação gravimétrica superestimou o teor de COT. Segundo os autores isso ocorreu devido à perda de água estrutural e compostos coloidais inorgânicos. As correlações entre os 3 métodos foram bastante semelhantes: PMI e AE ($r = 0,87$), PMI e espectrofotométrico ($r = 0,83$) e AE e espectrofotométrico ($r = 0,84$). Os autores indicaram que a combustão com AE é preferível frente ao método Walkley & Black modificado (comumente, utilizado como referência no Estado de São Paulo) devido à maior exatidão e precisão, além de possuir a vantagem ambiental, já que não se utiliza dicromato de potássio.

2.6 O Permanganato de Potássio na Oxidação da Matéria Orgânica

Os potenciais padrão de redução das substâncias químicas permitem prever, com certas restrições, como um oxidante irá se comportar em determinadas condições de reação, sendo uma ferramenta útil para indicar a força de um oxidante e, consequentemente, a eficiência na oxidação de substâncias químicas (KRUPÍŇSKA *et al.*, 2020). Logo, idealmente, para substituir o $K_2Cr_2O_7$, um oxidante alternativo deveria ter, no mínimo, potencial de redução igual ou superior ao do íon $Cr_2O_7^{2-}$ ($E^\circ = 1,33\text{ V}$) (Semirreação 1), sendo desejável que a substância seja menos tóxica e segura para o analista e para o meio ambiente, além de possuir baixo custo.



O $KMnO_4$ é um poderoso oxidante de baixo custo que possui potencial padrão de redução maior que o $K_2Cr_2O_7$ (Semirreações 2 e 3). Sua utilização é menos perigosa e pode levar à produção de rejeitos mais amigáveis ambientalmente (ZHAO *et al.*, 2018) em comparação ao $K_2Cr_2O_7$. Contudo, não tem sido empregado na determinação do COT devido aos diversos estados de oxidação que o manganês pode adquirir, formando diversos produtos, o que dificulta na definição de estequiometria da reação de oxidação da matéria orgânica.



No final do século XIX e início do século XX, começaram os estudos para avaliar o carbono orgânico em solos através da oxidação química. Foram avaliados permanganato de potássio e dicromato de potássio, sendo que o dicromato de potássio foi o mais eficiente (JONHS *et al.*, 2015). A partir destas observações, percebeu-se que o $KMnO_4$ era efetivo em oxidar as formas de carbono mais disponíveis, denominadas de formas lábeis de carbono orgânico.

Há uma vasta literatura que utiliza soluções de permanganato de potássio para a determinação do carbono lábil (CL), que é o carbono orgânico prontamente oxidável e que, por estar mais disponível, possui mais sensibilidade que o COT ao manejo do solo (BLAIR *et al.*, 1995; CULMAN *et al.*, 2012; CULMAN *et al.*, 2013; GERAEL *et al.*, 2016; DIEDERICH *et al.*, 2019; GOMES *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2022). Tem se observado que o permanganato de potássio oxida somente 13-28% do COT presente no solo (CHENU *et al.*, 2015).

Conceitualmente, o CL está presente em compostos orgânicos mais facilmente mineralizados por microrganismos do solo. Para a sua determinação, normalmente, emprega-se metodologias baseadas na colorimetria envolvendo a oxidação com KMnO_4 (RANGEL *et al.*, 2008). Blair e colaboradores (1995) relataram que, para a determinação do CL, deve-se promover a oxidação da matéria orgânica com solução de KMnO_4 333 mmol L^{-1} .

Segundo Culman e colaboradores (2012), há diversas nomenclaturas para o carbono orgânico prontamente disponível ou para o parâmetro que se é medido ao empregar o permanganato como oxidante, tal como: carbono ativo, matéria orgânica quimicamente lábil (CLOM), carbono prontamente oxidável (ROC), carbono lábil (CL) e carbono orgânico do solo oxidável pelo permanganato (POC, OxidC ou PermOxC). Os autores ainda relatam que vários nomes para o mesmo método, leva à ambiguidade e à falta de padronização, propondo uma única terminologia unificada para a comunidade científica: carbono oxidável pelo permanganato (POXC).

Komy (1995) comparou os métodos de oxidação com o dicromato, a oxidação com o permanganato, a PMI (450°C e 600°C) e a combustão com AE, tomando este último como referência. Para tanto, foram investigadas 47 amostras de solos, de 4 localizações, em 2 níveis profundidades (0-15 e 15-30 cm) na área de Sohag (Egito). A combustão com AE obteve os maiores valores para o teor de COT, em comparação com o método do dicromato. Segundo o autor, isso ocorre devido à oxidação incompleta de proteínas e lipídeos pelo dicromato. A PMI superestimou os teores de COT frente à combustão com AE, fato que, segundo o autor, se deu pela perda de massa de materiais não orgânicos como carbonatos e água. Valores baixos de COT foram obtidos pelos métodos envolvendo a oxidação da MO com o dicromato e o permanganato, demonstrando que a oxidação foi incompleta nos dois casos. Coeficientes de determinação de 0,93 e 0,64 e fatores de correção de 1,109 (recuperação de 91%) e 1,841 (recuperação de 54%) foram obtidos, respectivamente, para os métodos com dicromato e permanganato, apontando para uma menor eficiência do permanganato, frente ao dicromato, para a determinação do COT.

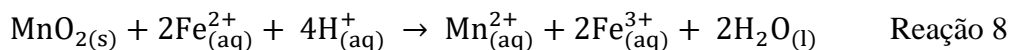
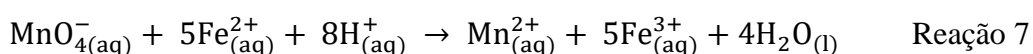
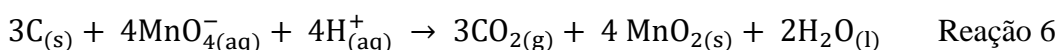
Blair e colaboradores (1995) propuseram um procedimento para determinar o grau de labilidade do C do solo. A oxidação da matéria orgânica pelo KMnO_4 foi realizada para determinar carbono lábil (CL) e a fração não lábil (CNL) foi obtida por diferença, descontando o CL do COT (Equação 5), este último determinado por combustão seca.

$$\text{CNL} = \text{COT} - \text{CL} \quad \text{Equação 5}$$

Para a mensuração do CL, realizada por Blair e colaboradores (1995), a amostra de solo contendo cerca de 15 mg de carbono foi colocada em um tubo de centrifuga que, posteriormente, sofreu a adição de 25,00 mL de uma solução de KMnO_4 333 mmol L^{-1} . O tubo foi hermeticamente fechado e agitado por 1 hora, a 12 rpm. Após a agitação, o tubo foi centrifugado por 5 min a 2000 rpm e o sobrenadante foi diluído com água destilada, na proporção 1:250. O permanganato remanescente foi determinado por espectrofotometria ($\lambda = 565 \text{ nm}$). A partir da mudança da concentração de KMnO_4 , em

relação ao branco, foi possível determinar a quantidade de carbono que foi oxidada, assumindo que $1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ MnO}_4^-$ é consumindo na oxidação de $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$, ou 9 mg , de carbono, produzindo Mn^{2+} .

Lã e colaboradores (2023) investigaram a oxidação do biftalato de potássio com o KMnO_4 em diferentes condições reacionais (tempo, temperatura e acidez) para o desenvolvimento de uma metodologia ambientalmente amigável para determinação do COT em solos. O método consistiu, basicamente, em oxidar o carbono orgânico com uma solução padrão de KMnO_4 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (Reação 6) e, posteriormente, reagir o KMnO_4 em excesso e o MnO_2 produzido com uma solução padrão de Fe^{2+} (Reações 7 e 8, respectivamente) para, finalmente, titular o excesso de Fe^{2+} (retrotitulação) com uma solução padrão de KMnO_4 $0,02 \text{ mol L}^{-1}$.



Os autores obtiveram excelentes resultados na oxidação do biftalato, dentre os quais 99,6% do carbono orgânico foi oxidado a 80°C , por 15 minutos, em meio com adição de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Segundo os autores, o sucesso alcançado se deve a 2 fatores: na oxidação do carbono orgânico o íon MnO_4^- foi reduzido a MnO_2 (Reação 6), e não a Mn^{2+} como tem sido abordado na literatura, fato comprovado pela expressiva formação de sólido castanho, característico da presença de MnO_2 , o que implica no uso de uma razão estequiométrica de 3:4 de C: MnO_4^- (diferente da que tem sido utilizada); emprego de condições de acidez mais brandas e menores temperaturas para favorecer a Reação 6. Portanto, além da metodologia substituir o $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ pelo KMnO_4 , permite diminuir consideravelmente o consumo do H_2SO_4 .

Estudando o efeito que a quantidade de matéria orgânica presente na amostra poderia exercer na etapa de oxidação e buscando condições mais robustas para a acidez do meio, Lã e colaboradores (2023) concluíram que as condições reacionais adequadas seriam temperatura de 70°C , com adição de H_2SO_4 $0,125 \text{ mol L}^{-1}$ e 30 minutos de reação, nas quais 96,9% de carbono orgânico do biftalato de potássio foi oxidado, o que ainda é um excelente resultado. Contudo, na determinação do COT em solos, apenas uma dentre as 4 amostras investigadas, o erro relativo foi baixo (0,8%, frente aos erros de -12%, 17% e 35%).

Um estudo para a otimização das condições reacionais, apontadas por Lã e colaboradores (2023), para a oxidação da MO pode ser uma alternativa para se alcançar resultados mais satisfatórios para a análise de solos. Ao mesmo tempo, a metodologia proposta pelos autores possui alguns inconvenientes, especialmente na etapa de análise titrimétrica, que dificultam sua aplicação em análises de rotina como: a necessidade da realização de mais de uma titulação na análise de uma única amostra, que pode ocasionar o aumento do erro; grande consumo de reagentes; e o longo tempo requerido. Além disso, o método foi testado em poucas amostras de solos e não empregou como referência para tal, a análise por combustão seca com a AE, de maior confiabilidade.

Portanto, este trabalho propõe realizar um estudo para a otimização das condições reacionais para a oxidação da MO e simplificar a etapa de análise pelo uso da técnica espectrofotométrica para a determinação do permanganato remanescente da oxidação, que implica, paralelamente, em um menor consumo de reagentes. A espectrofotometria na região do ultravioleta-visível (UV-VIS) é amplamente utilizada nos laboratórios de

pesquisas devido aos custos relativamente baixos da instrumentação, facilidade de utilização, rapidez e boa exatidão e precisão da técnica (LOBIŃSKI & MARCZENKO, 1992). A proposta deste trabalho é apresentar uma metodologia/técnica para a determinação de COT em solos avaliando um maior número de amostras e comparando os resultados com os obtidos com combustão seca com AE, e que possa ser aplicada nos laboratórios de solo.

2.7 Espectrofotometria na Região do Ultravioleta-visível (UV-VIS)

2.7.1 Princípios Básicos

O princípio da espectrofotometria molecular UV-VIS se baseia na absorção da radiação ultravioleta e visível por uma molécula, provocando a transição de elétrons de um orbital molecular ou atômico de baixa energia (estado fundamental) para um orbital de maior energia (estado excitado). Este processo é chamado de transição eletrônica.

A análise espectrofotométrica utiliza uma fonte de radiação na faixa de comprimento de onda do UV-VIS (190-800 nm) para excitar os elétrons da espécie de interesse, selecionando um comprimento de onda (λ) específico que proverá a absorção máxima ($\lambda_{\text{máx}}$) pela substância. No caso do permanganato, a radiação absorvida por essa espécie deve ser complementar a púrpura, que é a radiação verde de λ situado entre 500-560 nm, tendo a absorção máxima em $\lambda_{\text{máx}}$ de 525 nm (SKOOG *et al.*, 2006) (Figura 5).

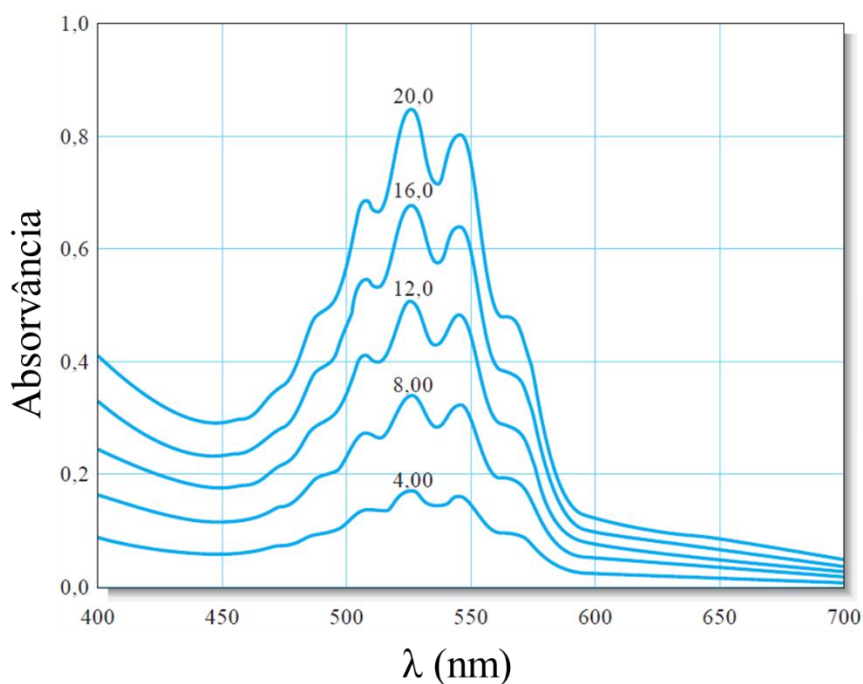


Figura 5. Espectros de absorção típicos do permanganato a diferentes concentrações. Os números adjacentes às curvas indicam a concentração de permanganato, em mg L^{-1} . (SKOOG *et al.*, 2006)

Considerando uma faixa de concentração de permanganato onde a sua relação com a absorvância é linear, a determinação da concentração do permanganato pode ser calculada considerando a lei de Beer-Lambert (Equação 6).

$$A = \epsilon bc$$

Equação 6

onde:

A = absorvância;

ϵ = absortividade molar ($\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$);

b = caminho ótico na solução analisada (cm);

c = concentração do analito (mol L^{-1}).

Na prática, considerando a relação linear da lei de Beer-Lambert, mede-se a absorvância de soluções padrão de permanganato (padrões externos) e determina-se, por regressão linear, a equação da curva analítica que correlaciona a absorvância medida com a concentração do padrão, aplicando o método dos mínimos quadrados (SKOOG *et al.* 2006). O objetivo da construção da curva analítica é avaliar se, de fato, há uma relação linear das medidas na faixa de concentração investigada, eliminar erros sistemáticos instrumentais e de efeito da matriz da amostra.

2.7.2 Instrumentação

Os espectrofotômetros tradicionais comerciais podem apresentar um (feixe simples) ou dois (feixe duplo) feixes de luz incidente (BERGAMIN FILHO *et al.*, 2010). Nos espectrofotômetros de feixe simples a radiação, que percorre o caminho da fonte de luz ao detector, passa diretamente pelo sistema de seleção de comprimento de onda e pela amostra, ou vice-versa. Nos equipamentos de feixe duplo, a radiação original é dividida em dois feixes de luz, dos quais um atravessa uma solução ou solvente de referência e o outro passa pela amostra (BERGAMIN FILHO *et al.*, 2010).

Segundo Bergamin Filho e colaboradores (2010), os espectrofotômetros de feixe simples possuem as seguintes vantagens em comparação ao de feixe duplo: possuem configuração mais simples, apresentando assim, menor custo e menor limite de detecção (LD) já que apresentam maior razão sinal/ruído.

Devido ao baixo custo, à facilidade do manuseio e por ser um equipamento amplamente encontrado em qualquer laboratório, o espectrofotômetro de feixe simples foi utilizado nesse trabalho.

A instrumentação básica de um espectrofotômetro de feixe simples consiste em uma fonte de radiação, um filtro ou monocromador, células (cubetas) para as amostras, fotodetector (transdutor), um amplificador e um dispositivo de leitura (SKOOG *et al.*, 2006) (Figura 6).

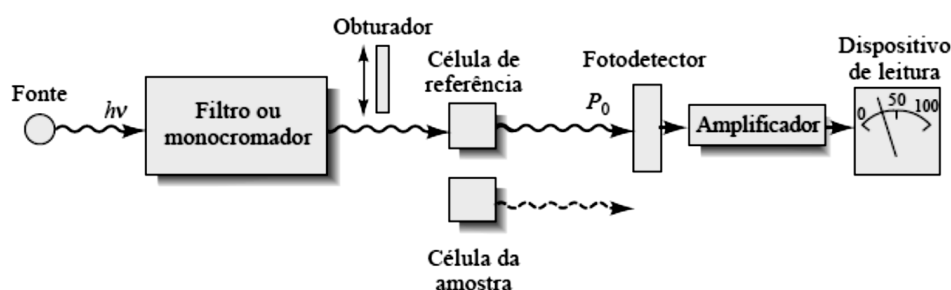


Figura 6. Instrumentação básica para espectrofotômetro de feixe simples (SKOOG *et al.*, 2006)

Como fonte de luz contínua geralmente são utilizados uma lâmpada de deutério (para região do ultravioleta) e uma de tungstênio (para a região do visível). A função de um monocromador é promover a difração e selecionar uma banda estreita com o comprimento desejado para que somente essa banda seja detectada e medida (SKOOG *et al.* 2006). A luz que atravessa pela célula contendo a amostra chega ao detector (comumente é um fotomultiplicador, mas fotodiodos são encontrados em equipamentos mais modernos) que, acoplado a um sistema de leitura, registra a intensidade de luz transmitida (PAVIA *et al.*, 2015).

2.7.3 Aplicações em Determinações Permanganimétricas

A espectrofotometria UV-VIS é uma técnica bastante popular em laboratórios científicos e tecnológicos para determinações analíticas nas mais diversas áreas, sendo considerada de baixo custo, de fácil manipulação, além de produzir resultados de interpretação bastante simples (GALO & COLOMBO, 2009). Há uma extensa literatura para o uso desta técnica na determinação do permanganato (Al-TAMRAH, 1999); KALBUS *et al.*, 2004; GOUDA *et al.*, 2008; BASAVAIAH *et al.*, 2009; RAJENDRAPRASAD *et al.*, 2009; DEVI *et al.*, 2010; GANESH *et al.*, 2012; BASAVAIAH & RAJENDRAPRASAD (2018); McBEATH *et al.*, 2020).

Al-Tamrah (1999) propôs um método espectrofotométrico simples para a determinação de nicotina em cigarros baseado na reação do KMnO_4 , em meio alcalino, formando o íon MnO_4^{2-} , de cor verde, com máxima absorvância em $\lambda=610$ nm. Segundo o autor, a reação com a nicotina depende da quantidade de KMnO_4 , NaOH e a temperatura. Para aumentar a sensibilidade do método, as condições reacionais foram otimizadas. Inicialmente, avaliou-se a influência da concentração de KMnO_4 ($0,1 \times 10^{-4}$ a $6,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}) fixando a concentração de nicotina ($5 \mu\text{g mL}^{-1}$) e de NaOH ($0,05$ mol L^{-1}). A concentração de KMnO_4 de 5×10^{-4} produziu maior absorvância, sendo a escolhida. O NaOH foi investigado nas concentrações de 1×10^{-2} a $2,5$ mol L^{-1} , empregando KMnO_4 $0,05$ mol L^{-1} e de nicotina $5 \mu\text{g mL}^{-1}$. O uso do NaOH $0,5$ mol L^{-1} se mostrou mais adequado. O efeito da temperatura foi estudado testando valores de 20 a 120°C , empregando KMnO_4 $0,05$ mol L^{-1} , NaOH $0,5$ mol L^{-1} e tempo de reação de 6 minutos. A temperatura de 100°C produziu maior absorvância.

No mesmo trabalho, o Al-Tamrah (1999), observou que o tempo de aquecimento é uma variável importante para a completa oxidação da nicotina. Assim, foram investigados o tempo de 0 a 30 minutos. Segundo o autor, o tempo de 7,5 minutos foi suficiente para oxidar totalmente a nicotina. Finalmente, o autor investigou a interferência de alguns compostos normalmente presentes no cigarro, que produziram erros de 20 a 40%. Segundo o autor, a nicotina deve ser extraída para a aplicação do método. O método foi aplicado em 3 marcas de cigarro, após a extração da nicotina, que foi determinada espectrofotometricamente, utilizando método de adição padrão. Foram encontradas recuperações na faixa de 98,2 – 106,5%.

Basavaiah e colaboradores (2009) otimizaram e validaram 2 métodos espectrofotométricos para a determinação de raloxifeno (RLX) puro e em comprimidos, empregando oxidação com o KMnO_4 . O primeiro método se baseou na reação do RLX com KMnO_4 em meio de ácido acético, que favoreceu a formação de um produto marrom-amarelado, com pico absorvância em 430 nm. Foi realizada a otimização univariada do método, investigando-se a concentração do ácido acético, tempo de reação e concentração do KMnO_4 . Os melhores resultados foram obtidos com ácido acético $0,1$ mol L^{-1} , 20 minutos de reação e $1,0$ mL de KMnO_4 $600 \mu\text{g mL}^{-1}$.

O segundo método, proposto por Basavaiah e colaboradores (2009), se baseou na reação do RLX com permanganato, em meio de H_2SO_4 , seguido pela medição espectrofotométrica do KMnO_4 não reagido ($\lambda = 550 \text{ nm}$). A otimização foi feita de maneira semelhante ao método anterior. A concentração identificada como a mais apropriada para o H_2SO_4 foi de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Nessa concentração, a reação foi mais rápida que a do primeiro método, atingindo o término em 10 minutos. A lei de Beer-Lambert foi verificada nas faixas de 0,6-6,0 e 1,5-15,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o primeiro e segundo método, respectivamente. Os LD foram 0,08 e 0,55 mg mL^{-1} e os LQ foram 0,25 e 1,67 mg mL^{-1} , para o primeiro e segundo método, respectivamente. Os valores de precisão intradia foram menores que 0,74% e 0,83%, respectivamente, para o primeiro e segundo método. A precisão entre os dias apresentou valores na faixa de 0,56-0,95%.

Basavaiah e colaboradores (2009) compararam os dois métodos apresentados acima com o método de referência (CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), não tendo sido constatado diferença significativa entre os métodos ao nível de confiança de 95%. Na análise de comprimidos, as recuperações obtidas de RLX, pelo método de adição padrão, ficaram na faixa de 96,53 – 98,8% sugerindo que não houve interferência dos excipientes presentes nos comprimidos.

Basavaiah e Rajendraprasad (2018) desenvolveram dois métodos para a determinação de cloridrato de pioglitazona em comprimidos. O primeiro método (indireto) foi baseado na reação do pioglitazona com KMnO_4 , em meio de ácido (H_2SO_4), onde o oxidante remanescente foi determinado por espectrofotometria ($\lambda = 550 \text{ nm}$). No segundo método (direto), a reação foi realizada em meio básico (NaOH), seguido da determinação do manganato produzido, em $\lambda = 610 \text{ nm}$. A lei de Beer foi obedecida na faixa de 1,25 – 25,0 e 1,0-12,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de pioglitazona para o método indireto e direto, respectivamente. Os LD foram 0,36 e 23 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e os LQ foram 1,08 e 0,69 $\mu\text{g mL}^{-1}$, para o método indireto e direto, respectivamente. Após a análise estatística os autores relatam que não ocorreu diferença significativa entre os métodos propostos e o de referência (espectrofotométrico). As recuperações na análise das amostras ficaram na faixa de 98,56 e 103,1%.

2.8 Planejamento Fatorial

Dentre os diversos tipos de planejamento experimental, os sistemas de planejamento fatorial se destacam, pois permitem avaliar, simultaneamente, o efeito de muitas variáveis, a partir de um número reduzido de ensaios experimentais, quando comparados aos processos univariados (TEIXEIRA, 2018). O planejamento fatorial representa um conjunto de ensaios, estabelecido com critérios científicos e estatísticos, com o objetivo de determinar a influência de diversas variáveis nos resultados de um dado sistema ou processo. É uma estratégia analítica útil e sua principal aplicação reside na triagem das variáveis mais relevantes de um determinado sistema analítico. Após este processo de triagem das variáveis mais significativas, são executados experimentos que permitem refinamento e um melhor conhecimento do sistema em estudo (VICENTINI *et al.* 2011).

O primeiro passo no planejamento fatorial é definir os fatores e as respostas de interesses. Os fatores são variáveis controladas pelo analista podendo ser qualitativas ou quantitativas (BARROS NETO *et al.*, 2007). As respostas são variáveis que o analista não consegue controlar, podendo ser qualitativas ou quantitativas, que podem ou não, ser afetadas pela mudança de fatores (BARROS NETO *et al.*, 2007). Após selecionados os fatores importantes, o próximo passo é avaliar a influência desses fatores sobre a reposta de interesse e as possíveis interações de uns fatores com os outros. Para tanto, pode-se

empregar um planejamento fatorial completo ou fracionário, sendo este último caso preferível, quando as variáveis independentes são muitas (BARROS NETO *et al.*, 2007).

No trabalho de SOUZA e colaboradores (2016) foram otimizadas as condições acidez e tempo de aquecimento, ao estudarem o método Mebius (1960) com adaptação espectrofotométrica. Para tal, realizaram o estudo de planejamento fatorial e a investigação da superfície de resposta para identificar as condições de máxima oxidação da MO. Os autores adotaram um planejamento fatorial 5^2 (2 fatores em 5 níveis). Os dois fatores demonstraram ser significativos e as condições ótimas obtidas foram o uso de 9,08 mL H_2SO_4 e tempo de aquecimento de 320 minutos. Os autores demonstraram, após otimização, que o volume de ácido para 0,2 g de solo e o tempo de aquecimento devem ser superiores aos utilizados por Mebius (1960), sugerindo que o método proposto por Mebius (1960) não é capaz de oxidar toda a MO de alguns solos. Os autores compararam o método proposto otimizado com os métodos Walkey e Black e Embrapa (espectrofotométrico) e observaram maior eficiência para o método proposto em termos de oxidação da MO.

Já, no trabalho realizado por Lã e colaboradores (2023), em que foi aplicada uma análise estatística univariada, das variáveis tempo de reação, temperatura e acidez do meio reacional para avaliar a eficiência da oxidação do carbono orgânico pelo $KMnO_4$ e, portanto, no teor de COT medido experimentalmente, apesar dos resultados ótimos resultados alcançados, demandou longo tempo, e impossibilitou a avaliação das interações entre as todas as variáveis que afetam o processo.

Como tal estudo pode resultar em uma otimização ineficiente, impedindo o rápido estabelecimento das condições experimentais ótimas e reais, e que podem ser alcançadas, apenas, pelo emprego de processos estatísticos multivariados (BRASIL *et al.* 2007). Assim, com o objetivo de avaliar mais profundamente as interações da temperatura, acidez e tempo na oxidação do carbono orgânico com permanganato, foi aplicado o planejamento fatorial, com o intuito de redução do número de ensaios, sem prejuízos da qualidade de informação, permitindo ainda, o estudo simultâneo de diversas variáveis, como destacado por Silveira *et al.* (2017).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Propor um novo método permanganimétrico para a determinação do COT de solos, baseado no uso da espectrofotometria UV-VIS, e realizar a otimização das condições reacionais para a oxidação da matéria orgânica com o KMnO_4 .

3.2 Objetivos Específicos

- Otimizar, por meio do planejamento fatorial seguido do uso da ferramenta Otimizador de Respostas do software Minitab®, as condições de oxidação do carbono orgânico, frente a um padrão de biftalato de potássio;
- Avaliar a oxidabilidade de diferentes substâncias orgânicas frente ao KMnO_4 e ao $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$;
- Avaliar a influência da massa da amostra de solo empregada para a determinação do COT;
- Comparar o método proposto com o de Yeomans e Bremner e com o de referência (combustão seca com AE).

4 METODOLOGIA

4.1 Reagentes

Os reagentes empregados na realização deste trabalho foram usados, conforme obtidos comercialmente, com exceção dos casos mencionados a seguir. São eles:

- Ácido clorídrico, 35% m/m, Vetec, Duque de Caxias, Brasil;
- Ácido sulfúrico, 95-98% m/m, Proquímicos, Rio de Janeiro, Brasil;
- Álcool isopropílico, 99,7% m/m, Vetec, Duque de Caxias, Brasil;
- Biftalato de potássio, 99,95% m/m, Vetec, Duque de Caxias, Brasil. Este reagente foi triturado em almofariz e seco em estufa a 105 °C por 1 hora;
- Diclorometano, 99,8% m/m, Alphatec, Paraná, Brasil;
- Dicromato de potássio, 99,9% m/m, Merck, Duque de Caxias, Brasil. Este reagente foi seco em estufa a 105°C, por 2 horas;
- Glicose anidra, Merck, Darmstadt, Alemanha;
- Lactose monohidratada, Merck, Darmstadt, Alemanha;
- N-heptano, 99,5% m/m, Isofar, Duque de Caxias, Brasil;
- Orto-fenantrolina, P. A., Proquímios, Rio de Janeiro, Brasil;
- Oxalato de sódio, 99% m/m, Vetec, Duque de Caxias, Brasil. Este reagente foi previamente seco em estufa a 105°C, por 2 horas;
- Permanganato de potássio, 99% m/m, Proquímios, Rio de Janeiro, Brasil;
- Sacarose, P.A., Vetec, Duque de Caxias, Brasil;
- Sulfato ferroso amoniacal hexahidratado, 98,5-101% m/m, Isofar, Duque de Caxias, Brasil;
- Sulfato ferroso hepta-hidratado, 99% m/m, Sigma-Aldrich, Duque de Caxias, Brasil;
- Tris-(hidroximetil)-aminometano, 99,5% m/m, Vetec, Duque de Caxias, Brasil.

4.2 Equipamentos

Os equipamentos empregados neste estudo foram:

- Espectrofotômetro de feixe simples, Bioespectro, modelo SP-22, Brasil;
- Bloco digestor Quimis®, modelo Q327-A242, Brasil;
- Analisador Elemental CHN, modelo Vario Macro Cube, Elementar, Hanau, Alemanha;
- Estufa de ventilação DeLeo®, Rio Grande do Sul, Brasil;
- Tubos de vidro borossilicato (25 x 150 mm) com tampa rosqueada;
- Tubos de vidro borossilicato (55 x 255 mm) sem rosca;
- Chapa aquecedora redonda Fisatom®, modelo 502, São Paulo, Brasil;
- Pipetas automáticas de 100-1000 (±8) µL e 1000-5000 (±35) µL;
- Balança analítica (±0,0001 g).

Todas as pipetas e os balões volumétricos utilizados foram de classe A.

4.3 Preparação e Padronização das Soluções Padrão

Solução padrão de Na₂C₂O₄ 0,05000 mol L⁻¹

Foi realizada a dissolução de 3,35 g (medida com exatidão de $\pm 0,0001$ g) de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ em água destilada e posterior diluição aquosa em balão volumétrico até o volume final de 500,0 mL.

Solução padrão dicromato de potássio 0,1666 mol L⁻¹

Foi realizada a dissolução de 49,025 g (medida com exatidão de $\pm 0,0001$ g) de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ em água destilada e posterior diluição aquosa em balão volumétrico até o volume final de 1000,0 mL.

Solução padrão de sulfato ferroso amoniacal 0,2000 mol L⁻¹

Foi realizada a dissolução de 156,8 g de $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 100 mL de H_2SO_4 concentrado e posterior diluição com água em balão volumétrico até 2000,0 mL. Esta solução deve ter a concentração molar de Fe^{2+} exatamente conhecida e ser padronizada no dia de uso, a fim de evitar erros devido à oxidação a Fe^{3+} .

Para a padronização desta solução foram pipetados 5,00 mL da solução padrão de dicromato de potássio 0,1666 mol L⁻¹ para um erlenmeyer. A seguir, foram adicionados 50 mL de água destilada e 7,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. A solução foi agitada até resfriamento a temperatura ambiente, e foram adicionadas 6 gotas de indicador ferroína 0,025 mol L⁻¹. A mistura foi titulada com a solução de sulfato ferroso amoniacal até o aparecimento de uma coloração castanho-avermelhada. Este procedimento foi realizado em triplicata. Para calcular a concentração molar dessa solução foi utilizada a Equação 7 segundo a Reação 2.

$$C_{\text{Fe}^{2+}} = \frac{V_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7} \times C_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7} \times 6}{V_{\text{Fe}^{2+}}} \quad \text{Equação 7}$$

onde:

$C_{\text{Fe}^{2+}}$ = concentração da solução de Fe^{2+} , em mol L⁻¹;

$C_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}$ = concentração da solução padrão de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, em mol L⁻¹;

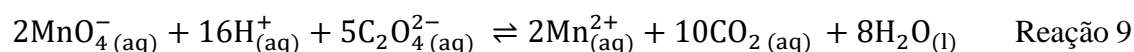
$V_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}$ = volume titulado da solução de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, em mL;

$V_{\text{Fe}^{2+}}$ = volume consumido da solução de Fe^{2+} , em mL.

Solução padrão de KMnO_4 0,02000 mol L⁻¹

Uma massa de 31,6 g de KMnO_4 foi dissolvida em água destilada. Esta solução foi diluída em balão volumétrico de 1000,0 mL. A solução produzida foi aquecida a 65 (± 5) °C durante 2 horas. Após, a solução foi filtrada em lã de vidro e armazenada em frasco âmbar e mantida em temperatura ambiente, produzindo uma solução estoque de KMnO_4 de 0,2000 mol L⁻¹. Uma alíquota da solução estoque foi diluída com água destilada, na proporção 1:9, para produzir uma solução de KMnO_4 0,02000 mol L⁻¹.

Para a padronização da solução de KMnO_4 0,02000 mol L⁻¹ foram pipetados 25,00 mL da solução padrão de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,05000 mol L⁻¹ para um erlenmeyer de 250 mL. A seguir, adicionou-se 40 mL de uma solução de H_2SO_4 3,0 mol L⁻¹. Uma bureta de 50,00 mL foi preenchida com a solução de KMnO_4 0,02000 mol L⁻¹ e, posteriormente, iniciou-se a titulação deixando escoar 15 mL desta solução para o erlenmeyer, produzindo solução de cor púrpura que, rapidamente tornou-se castanha. A titulação foi interrompida e essa mistura foi aquecida a 55 (± 5) °C e a solução se tornou incolor. Com a solução ainda quente, prosseguiu-se a titulação até obter cor levemente rosada. Esse procedimento foi feito em triplicata. Para calcular a concentração molar do KMnO_4 foi utilizada a Equação 8 segundo a Reação 9.



$$C_{\text{KMnO}_4} = \frac{2 \times C_{\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4} \times V_{\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4}}{5 \times V_{\text{KMnO}_4}} \quad \text{Equação 8}$$

onde:

C_{KMnO_4} = concentração da solução de KMnO_4 , em mol L^{-1} ;

V_{KMnO_4} = volume consumido da solução de KMnO_4 , em mL;

$C_{\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4}$ = concentração da solução padrão de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$, em mol L^{-1} ;

$V_{\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4}$ = volume titulado da solução de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$, em mL.

4.4 Obtenção e Preparação dos Solos

As amostras de solos foram doadas pelo Laboratório de Solos do Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, *campus* de Seropédica-RJ. Os solos foram classificados de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solo (2013). Os perfis, horizontes e coordenadas geográficas dos solos doados estão listados na Tabela 6, totalizando 16 amostras de solos, com diferentes características.

Tabela 6. Classificação das amostras de solos e locais de coleta

Classificação	Perfil	Horizonte	Localização geográfica
Cambissolo Háplico distrófico típico	47	BT2	7506878/601090 WGS84
Cambissolo Háplico Alumínico típico	49	A	7506780/601156 WGS84
Cambissolo Háplico Alumínico típico	49	AB	7506780/601156 WGS84
Gleissolo Háplico tb Eutrófico típico	59	BY2	7509474/604061 WGS84
Cambissolo Háplico Alico úmbrico	71	A	7505125/602415 WGS84
Cambissolo Háplico tb Eutrófico típico	74	A	7504384/603060 WGS84
Cambissolo Háplico tb Eutrófico típico	74	BTZ	7504384/603060 WGS84
Cambissolo Háplico Alumínico típico	75	A	7509012/603423 WGS84
Cambissolo Háplico Alumínico típico	75	BT2	7509012/603423 WGS84
Gleissolo Háplico tb Eutrófico típico	75	CI	7509012/603423 WGS84
Latossolo Amarelo Distrófico típico	78	BW2	7508139/603890 WGS84
Latossolo Amarelo Distrófico típico	88	A	7508038/602084 WGS84
Gleissolo Háplico ta Eutrófico solódico	88	BG1	7509305/604468 WGS84
Gleissolo Háplico ta Eutrófico solódico	201	A	7509305/604468 WGS84
Chernossolo Háplico Órtico léptico	202	BI	7506551/602447 WGS84
Chernossolo Háplico Órtico léptico	202	A	7506551/602447 WGS84

Os solos foram secos ao ar, tamisados em peneira e armazenados em recipientes fechados.

4.5 Planejamento Fatorial para Otimização da Oxidação com o Permanganato

O biftalato de potássio é normalmente empregado como um padrão analítico de carbono orgânico para avaliar as metodologias empregadas para a determinação do COT (KIM *et al.*, 2018; AIKEN *et al.*, 2012; WALINGA *et al.*, 1992) e foi, portanto, empregado neste estudo para otimizar as condições reacionais para a oxidação do carbono orgânico.

As condições investigadas foram tempo de reação, acidez e temperatura (variáveis independentes) e o percentual de biftalato de potássio oxidado (%CO) foi a resposta avaliada (variável dependente), empregando um planejamento fatorial 2³. As variáveis independentes estudadas foram designadas com os sinais “-”, para as variáveis de menor

nível, e “+”, para as de maior nível. O planejamento foi realizado sem ponto central, com 8 condições reacionais, em quintuplicata, totalizando 40 experimentos (Tabela 7). Os ensaios e suas respectivas réplicas foram realizados de forma aleatória.

Tabela 7. Matriz de experimento do planejamento fatorial 2^3 para oxidação do biftalato de potássio

Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Acidez (mol L ⁻¹)
1	(-) 60	(-) 30	(-) 0,125
2	(-) 60	(-) 30	(+) 0,250
3	(-) 60	(+) 60	(-) 0,125
4	(-) 60	(+) 60	(+) 0,250
5	(+) 95	(-) 30	(-) 0,125
6	(+) 95	(-) 30	(+) 0,250
7	(+) 95	(+) 60	(-) 0,125
8	(+) 95	(+) 60	(+) 0,250

Foram estudados os fatores concentração de H₂SO₄ (0,125 e 0,250 mol L⁻¹), tempo de reação (30 e 60 minutos) e temperatura (60 e 95 °C) (Tabela 8). A escolha dos níveis investigados levou em consideração os valores mais promissores identificados por Lã e colaboradores (2023).

Tabela 8. Fatores e níveis investigados no planejamento fatorial 2^3 para oxidação do biftalato de potássio

Fatores	Níveis	
	Limite inferior (-)	Limite Superior (+)
Tempo (minutos)	30	60
Concentração de H ₂ SO ₄ (mol L ⁻¹)	0,125	0,250
Temperatura (°C)	60	95

Para o tratamento dos dados foi utilizado o *software* estatístico MiniTab® (2018). Os efeitos principais e as interações entre os fatores foram analisados empregando intervalo de confiança de 95%.

Para esta investigação, foram pesados 30 mg (medida com exatidão de $\pm 0,1$ mg) de biftalato de potássio em tubos de vidro de 50 mL. Após a adição de 10,0 mL de H₂SO₄, os tubos foram inseridos no bloco digestor pré-aquecido nas temperaturas e concentrações de estudo (Tabela 8), no qual foi mantido até a completa dissolução do biftalato de potássio. Os tubos foram retirados do bloco digestor e sofreram a adição, com pipeta volumétrica, de 10,00 mL de solução padrão de KMnO₄ 0,2000 mol L⁻¹. Em seguida, foram colocados novamente no bloco digestor e mantidos durante os tempos investigados (Tabela 8). O branco deste estudo correspondeu à mistura dos reagentes empregados, sem a adição do biftalato de potássio.

Após esse procedimento, arrefeceu-se os tubos a temperatura ambiente e o conteúdo foi transferido para um balão volumétrico e o volume foi completado com água destilada até o volume final de 100,00 mL. O íon MnO₄⁻ remanescente da oxidação do biftalato de potássio foi determinado por espectrofotometria no visível, em $\lambda = 525$ nm. A concentração molar do íon MnO₄⁻ remanescente em cada tubo foi determinada empregando a curva analítica.

4.6 Obtenção da Curva Analítica Permanganimétrica

Para a construção da curva analítica foram preparadas soluções padrões aquosas de KMnO_4 de concentrações de 50,0, 100,0, 150,0, 200,0, 250,0, 300,0, 350,0 e 400,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, pela diluição de volumes adequados da solução padrão de KMnO_4 0,02000 mol L^{-1} em um balão volumétrico de 25,00 mL. Foram preparadas 5 réplicas de cada padrão. Em seguida, foi realizada a leitura da absorvância das soluções no espectrofotômetro, selecionando o λ de 525 nm.

Para a determinação do limite de detecção (LD) e do limite de quantificação (LQ) foi realizada a medida da absorvância de 10 réplicas do branco (água destilada) e as seguintes equações, respectivamente:

$$\text{LD} = \frac{3 \times s_b}{a} \quad \text{Equação 9}$$

$$\text{LQ} = \frac{10 \times s_b}{a} \quad \text{Equação 10}$$

onde:

LD = limite de detecção, em $\mu\text{mol L}^{-1}$;

LQ = limite de quantificação, em $\mu\text{mol L}^{-1}$;

a = coeficiente angular da curva analítica, em $\text{L } \mu\text{mol}^{-1}$;

s_b = desvio padrão das medidas de absorvância do branco;

4.7 Método Proposto

O planejamento fatorial realizado anteriormente (tópico 4.5) permitiu definir as condições reacionais adequadas para a oxidação da matéria orgânica pelo KMnO_4 , que foram empregadas na metodologia proposta.

As amostras contendo o carbono orgânico foram pesadas, com exatidão de $\pm 0,1$ mg, em um tubo de vidro de 50 mL (com tampa rosqueada). Em seguida, foram adicionados 10,00 mL de H_2SO_4 0,125 mol L^{-1} e 10,00 mL de solução de KMnO_4 0,2000 mol L^{-1} . Os tubos foram fechados inseridos no bloco digestor, pré-aquecido na temperatura de 95 °C, e foi mantido durante 30 minutos para a oxidação do carbono orgânico. O branco desta análise foi a mistura dos reagentes empregados sem a adição da amostra contendo a matéria orgânica. Após esse procedimento, arrefeceu-se os tubos até a temperatura ambiente e o seu conteúdo foi transferido para um balão volumétrico e completado com água destilada até 100,00 mL.

Em seguida, foram realizadas as leituras das absorvâncias no espectrofotômetro, em $\lambda = 525$ nm. As concentrações de permanganato nas amostras e no branco foram determinadas a partir da curva analítica do KMnO_4 . A Figura 7 apresenta o esquema geral do método proposto.

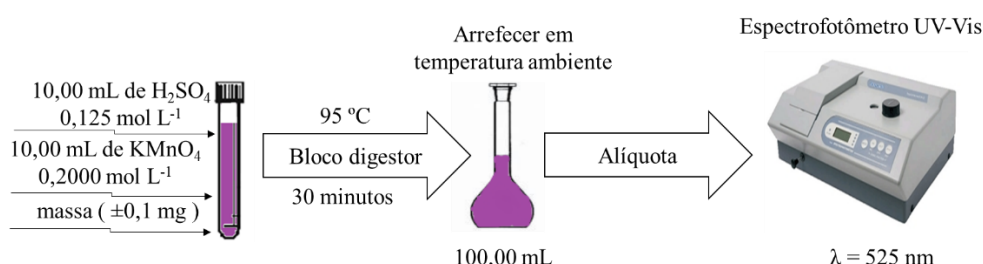


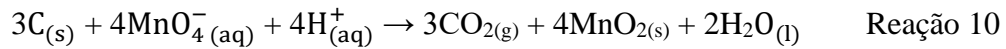
Figura 7. Esquema geral do método permanganimétrico proposto

A determinação do COT considera a diferença entre o permanganato remanescente na oxidação do branco com o da oxidação da amostra. Tal diferença deve-se ao consumo de permanganato devido à sua reação com o carbono orgânico da amostra.

Considerando a adição de $n_{\text{MnO}_4^-}^0$ milimoles de íons permanganato na solução amostra e que $n_{\text{MnO}_4^-}^1$ milimoles de permanganato tenham reagido com o carbono orgânico e que $n_{\text{MnO}_4^-}^2$ milimoles seja a quantidade de permanganato remanescente, tem-se:

$$n_{\text{MnO}_4^-}^0 = n_{\text{MnO}_4^-}^1 + n_{\text{MnO}_4^-}^2 \quad \text{Equação 11}$$

Se a solução contendo a amostra contém n_C milimoles de carbono orgânico, considerando a Reação 10,



tem-se

$$n_{\text{MnO}_4^-}^0 = \frac{4n_C}{3} + n_{\text{MnO}_4^-}^2 \quad \text{Equação 12}$$

logo

$$n_C = \frac{3}{4}(n_{\text{MnO}_4^-}^0 - n_{\text{MnO}_4^-}^2) \quad \text{Equação 13}$$

Repetindo o raciocínio para a solução do branco, usando a apóstrofe ('), a Equação 13 fica:

$$n'_C = \frac{3}{4}(n_{\text{MnO}_4^-}^{0'} - n_{\text{MnO}_4^-}^{2'}) \quad \text{Equação 14}$$

Subtraindo a Equação 14 da Equação 13 e como $n_{\text{MnO}_4^-}^{0'} = n_{\text{MnO}_4^-}^0$, tem-se:

$$n_C - n'_C = \frac{3}{4}(n_{\text{MnO}_4^-}^{2'} - n_{\text{MnO}_4^-}^2) \quad \text{Equação 15}$$

A diferença $n_C - n'_C$ é o carbono orgânico da amostra, em milimoles e, após a oxidação. Como a mistura reacional é diluída a 100,00 mL, tem-se a Equação 15 fica:

$$n_{\text{CO}} = \frac{300}{4}(C_{\text{MnO}_4^-}^b - C_{\text{MnO}_4^-}^{\text{am}}) \quad \text{Equação 16}$$

onde:

n_{CO} = quantidade de carbono orgânico na amostra, em mmol;

$C_{\text{MnO}_4^-}^b$ = concentração de KMnO_4 determinada após a leitura do branco, em mol L^{-1} ;

$C_{\text{MnO}_4^-}^{\text{am}}$ = concentração de KMnO_4 determinada após a leitura da amostra, em mol L^{-1} .

O carbono orgânico total (COT) é calculado, por definição, pela equação:

$$COT = \frac{m_{CO}}{m_{am}} \quad \text{Equação 17}$$

onde:

COT = carbono orgânico total, em mg g⁻¹;

m_{CO} = massa do carbono orgânico, em mg;

m_{am} = massa de amostra, em g.

Portanto, considerando as Equações 16 e 17 e a massa molar do carbono igual à 12,0 g mol⁻¹, o COT pode ser obtido pela Equação 18:

$$COT = \frac{900}{m_{am}} (C_{MnO_4^-}^b - C_{MnO_4^-}^{am}) \quad \text{Equação 18}$$

onde:

COT = carbono orgânico total, em mg g⁻¹;

m_{am} = massa da amostra, em g;

C_{MnO₄⁻}^b = concentração de KMnO₄ após análise do branco, em mol L⁻¹;

C_{MnO₄⁻}^{am} = concentração de KMnO₄ após análise da amostra, em mol L⁻¹.

Na análise das amostras e dos brancos, em certas ocasiões, a leitura da absorvância extrapola a faixa de trabalho da curva analítica, sendo necessário a realização da diluição da solução elaborada no final do procedimento. Nestes casos, deve-se considerar o fator de diluição e as Equações 17 e 18 tornam-se, respectivamente, as Equações 19 e 20:

$$n_{CO} = \frac{300}{4} (C_{MnO_4^-}^b \times FD_b - C_{MnO_4^-}^{am} \times FD_{am}) \quad \text{Equação 19}$$

onde:

n_{CO} = quantidade de carbono orgânico na amostra, em mmol;

C_{MnO₄⁻}^b = concentração de KMnO₄ determinada após a leitura do branco, em mol L⁻¹;

C_{MnO₄⁻}^{am} = concentração de KMnO₄ determinada após a leitura da amostra, em mol L⁻¹.

FD_b = fator de diluição para a análise do branco;

FD_{am} = fator de diluição para a análise da amostra.

$$COT = \frac{900}{m_{am}} (C_{MnO_4^-}^b \times FD_b - C_{MnO_4^-}^{am} \times FD_{am}) \quad \text{Equação 20}$$

onde:

COT = carbono orgânico total, em mg g⁻¹;

m_{am} = massa de amostra, em g;

C_{MnO₄⁻}^b = concentração de KMnO₄ após análise do branco, em mol L⁻¹;

C_{MnO₄⁻}^{am} = concentração de KMnO₄ após análise da amostra, em mol L⁻¹;

FD_b = fator de diluição para a análise do branco;

FD_{am} = fator de diluição para a análise da amostra.

4.8 Avaliação do Método Proposto

A nova metodologia proposta foi avaliada por meio da realização de alguns estudos envolvendo a determinação do COT. Inicialmente, a metodologia foi empregada na análise de diferentes substâncias orgânicas para testar a sua oxidabilidade frente ao

permanganato nas condições reacionais propostas. Em seguida, investigou-se influência da massa de amostra de solo analisada na medida do COT nos solos. Finalmente, foram feitas comparações da nova metodologia com o método de Yeomans e Bremner e o de referência (combustão seca com AE e o de Yeomans e Bremner). Tais estudos estão sumarizados na Tabela 9.

Tabela 9. Amostras, massas e estudos realizados com a metodologia proposta e pelo método de Yeomans e Bremner

Amostra	Massa (mg)	Estudo
Álcool isopropílico (C ₃ H ₈ O)	23,5	Avaliação da oxidabilidade de compostos orgânicos
Biftalato de potássio (KHC ₈ H ₄ O ₄)	30,0	
Citrato de sódio di-hidratado (C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O)	58,3	
Diclorometano (CH ₂ Cl ₂)	99,9	
Glicose anidra (C ₆ H ₁₂ O ₆)	35,3	
Lactose (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	35,2	
N -heptano (CH ₃ (CH ₂) ₅ CH ₃)	16,8	
Sacarose (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	35,5	
Tris-(hidroximetil)-aminometano (C ₄ H ₁₁ NO ₃)	35,7	
<hr/>		
Chernossolo 202 A	30, 60, 125, 250, 750, 1000	Estudo do efeito da massa dos solos
Cambissolo 49 AB		
Latossolo 88 A		
Gleissolo 201 A		
<hr/>		
Solos listados na Tabela 6	500	Comparação do método proposto com os de referência

Os compostos orgânicos analisados para a avaliação da oxidabilidade (Tabela 9) foram escolhidos de maneira a englobar tanto compostos normalmente utilizados como padrão para a determinação de MO (biftalato, glicose anidra, lactose e sacarose), como poluentes orgânicos (tris-(hidroximetil)-aminometano e citrato de sódio di-hidratado) e compostos de difícil oxidação (álcool isopropílico, diclorometano e n-heptano). A massa de amostra utilizada (Tabela 9) considerou a utilização de igual quantidade carbono (em mol) ao do carbono presente na massa de biftalato de potássio utilizada no estudo de otimização do método. Nesta etapa, a oxidabilidade do permanganato frente aos compostos orgânicos foi calculada em termos de percentual de carbono orgânico total oxidado (%CO) empregando a Equação 21:

$$\%CO = \frac{n_{CO}}{f_e \times m \times MM} \times 100 \quad \text{Equação 21}$$

onde:

%CO = percentual de carbono orgânico total oxidado, em %;

n_{CO} = quantidade, em mmol, de carbono orgânico determinado pela Equação 16 ou 19;

m = massa do composto orgânico, em mg;

MM = massa molar do composto orgânico, em g mol⁻¹;

f_e = fator estequiométrico, que representa a quantidade de carbono no composto orgânico.

O estudo do efeito da massa no teor de COT se justifica pelo fato de que os métodos de via úmida que utilizam o dicromato de potássio, geralmente, utilizam a massa de 500 mg de solo para a análise. Porém essa massa precisa ser diminuída ou o volume de oxidante deve ser aumentado, caso a quantidade de dicromato adicionado não seja suficiente para a oxidação da matéria orgânica, ou seja, quando o teor de COT é relativamente alto (MENDONÇA & MATOS, 2005, EMBRAPA, 2017). Neste caso, é necessário avaliar se o KMnO₄ se comporta de modo semelhante. Além disso, massas maiores de amostras poderiam demandar maior tempo de reação, subestimando os valores de COT. Portanto, faz-se necessário determinar a massa adequada de amostra para tal determinação.

O estudo do efeito de massa no método proposto não foi realizado juntamente com o planejamento fatorial devido a um interesse em se estudar esta variável isoladamente para comparar o seu efeito, em paralelo, ao efeito produzido por um método que utiliza o dicromato, o de Yeomans e Bremner. Contudo, este estudo foi realizado em amostra de solo.

4.9 Determinação do COT pelo Métodos de Yeomans e Bremner

O método de Yeomans e Bremner (1988) foi empregado nas mesmas avaliações realizadas sobre o método proposto, listadas na Tabela 9, ou seja, de a oxidabilidade de compostos orgânicos frente ao dicromato, no estudo do efeito de massa do solo e na comparação das metodologias proposta e de referência na análise de solos.

As amostras foram pesadas, com exatidão de $\pm 0,1$ mg, em tubos de vidro longo de 100 mL. A seguir, foram adicionados 5,00 mL de K₂Cr₂O₇ 0,1666 mol L⁻¹ e 7,5 mL de H₂SO₄ concentrado. Após, os tubos foram colocados em um bloco digestor, pré-aquecido a 170 °C e mantidos nesta temperatura por 30 minutos. Posteriormente, os tubos foram retirados e deixados esfriar por 15 minutos. O conteúdo dos tubos foi transferido quantitativamente para um erlenmeyer e o volume foi completado com água destilada até 50 mL. A solução diluída foi arrefecida até temperatura ambiente. Foram adicionadas 6 gotas de solução indicadora de ferroína 0,025 mol L⁻¹ (indicador empregado por MENDONÇA & MATOS, 2005) e a mistura foi titulada com a solução de padrão de Fe²⁺ 0,2000 mol L⁻¹.

O branco empregado nesta análise foi a mistura dos reagentes sem a amostra. Contudo, adicionalmente, foram analisados os brancos sem o aquecimento da mistura reacional em bloco digestor. Estes brancos foram denominados branco frio, enquanto aqueles no qual se empregou aquecimento foram denominados branco quente. A análise do branco frio foi recomendada por Yeomans e Bremner, a fim de se considerar o dicromato perdido por decomposição ou evaporação, na etapa de aquecimento na ausência de amostra (YEOMANS & BREMNER, 1988, MENDONÇA & MATOS, 2005). A Figura 8 representa o esquema geral da análise pelo método de Yeomans e Bremner.

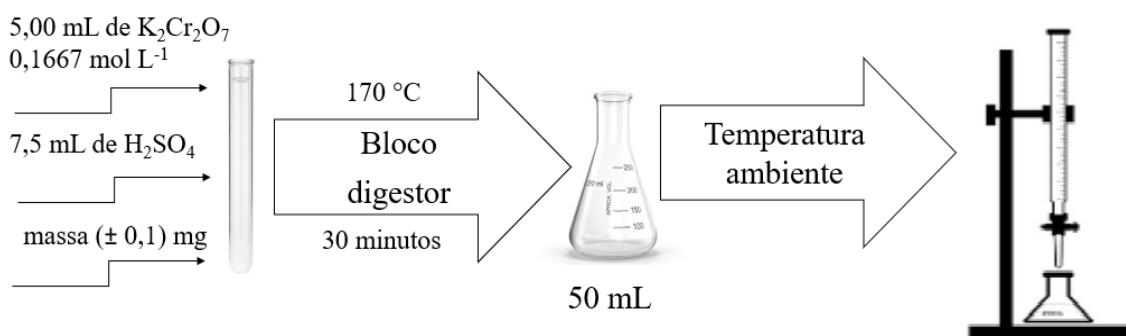


Figura 8. Esquema geral para a análise pelo método de Yeomans e Bremner

Na análise dos solos, apesar ter sido empregado de 500 mg de amostra, em certos casos foi utilizado massa inferior, pois a amostra analisada continha quantidade superior a 8 mg de carbono orgânico. Tal modificação já está estabelecida para o método de Yeomans e Bremner (YEOMANS & BREMNER, 1988).

O cálculo do teor de COT foi realizado empregando a Equação 22:

$$\text{COT} = \frac{3 \times C_{\text{Fe}^{2+}} \times A}{m} \quad \text{Equação 22}$$

Onde:

COT = teor de carbono orgânico total, mg g^{-1} ;

$C_{\text{Fe}^{2+}}$ = concentração da solução padrão de Fe^{2+} , em mol L^{-1} ;

m = massa de solo, em g;

A = volume efetivo da solução de Fe^{2+} gasto na titulação, em mL.

O cálculo do volume efetivo, A , gasto de solução de Fe^{2+} é determinado pela Equação 23:

$$A = \left[\frac{(V_{\text{bq}} - V_{\text{a}}) \times (V_{\text{bf}} - V_{\text{bq}})}{V_{\text{bf}}} \right] \times V_{\text{bq}} - V_{\text{a}} \quad \text{Equação 23}$$

onde:

V_{bq} = Volume da solução de Fe^{2+} utilizado na titulação do branco quente, em mL;

V_{a} = Volume da solução de Fe^{2+} utilizado na titulação da amostra, em mL;

V_{bf} = Volume da solução de Fe^{2+} utilizado na titulação do branco frio, em mL.

Para o estudo da oxidabilidade dos compostos orgânicos frente ao dicromato, a porcentagem de carbono oxidado (%CO) foi calculada pela Equação 24:

$$\% \text{CO} = \frac{n_{\text{C}}}{n_{\text{C}_{\text{teórico}}}} \times 100 \quad \text{Equação 24}$$

onde:

%CO = percentual de carbono orgânico oxidado, em %;

n_{C} = quantidade de carbono orgânico determinado, em mol;

$n_{\text{C}_{\text{teórico}}}$ = quantidade teórica de carbono orgânico, em mol.

A quantidade de carbono orgânico foi determinada pela Equação 25:

$$nC = \frac{m_{\text{composto}} \times \text{COT}}{MM_C} \quad \text{Equação 25}$$

onde:

nC = quantidade de carbono orgânico determinado, em mol;

m_{composto} = massa do composto, em gramas;

COT = teor de carbono orgânico total, mg g^{-1} ;

MM_C = massa molar do carbono, em g mol^{-1} .

A quantidade teórica de carbono orgânico foi determinada pela Equação 26:

$$nC_{\text{teórico}} = \frac{\text{massa}_{\text{composto}}}{MM_{\text{composto}}} \times NC_{\text{composto}} \quad \text{Equação 26}$$

onde:

$nC_{\text{teórico}}$ = quantidade teórica de carbono orgânico, em mol;

$\text{massa}_{\text{composto}}$ = massa analisada do composto, em gramas;

MM_{composto} = massa molar do composto, em g mol^{-1} ;

NC_{composto} = número de carbonos na estrutura química do composto.

4.10 Método de Referência (Combustão Seca com Analisador Elementar CHN)

Este método foi empregando apenas nas análises das amostras de solos. As amostras foram tratadas previamente com gotas de HCl 0,05 mol L⁻¹ para a eliminação de eventuais resíduos de carbonatos existente. Após, os solos foram secos em estufa a 65°C, com de ventilação, para a eliminação do HCl.

Para a determinação do COT, pesou-se 100 mg de amostra em uma cápsula de estanho. Em seguida, a amostra foi analisada em um analisador elementar CHN, modelo Vario Macro Clube (Elementar, Hanau, Alemanha) com temperatura de combustão de 953 °C. As análises foram realizadas no Laboratório de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia, Seropédica-RJ. O equipamento vem calibrado de fábrica, sendo utilizado apenas amostras de controle para a verificação da calibração durante as análises de rotina.

4.11 Cálculo do fator de correção (f)

O fator de correção (f) para os teores de COT foi calculado empregando a seguinte equação (GATTO *et al.*, 2009; LÃ *et al.* 2023).

$$f = \frac{\text{COT}_{\text{Referência}}}{\text{COT}} \quad \text{Equação 27}$$

onde:

f = fator de correção;

$\text{COT}_{\text{Referência}}$ = teor de COT obtido pelo método de referência, em mg g^{-1} ;

COT = teor de COT obtido para o método investigado, em mg g^{-1} .

4.12 Análise Estatística

A identificação de *outliers* foi feita utilizando o teste estatístico de Grubs (G). No caso de alguma exclusão, não houve a reposição de réplicas excluídas. Para o estudo de planejamento fatorial foi empregado o *software* MiniTab®, versão de 2018. Na avaliação da oxidabilidade dos compostos orgânicos, frente ao dicromato e ao permanganato, foi empregado o teste *t de Student* para a verificação de diferença significativa entre os valores de %CO, com auxílio do *software* Excel®.

No estudo de influência da massa de amostra de solo analisada nos teores de COT foi empregada a análise de variância (ANOVA). Os pressupostos da ANOVA de normalidade dos dados e homogeneidade de variâncias foram avaliados através dos testes Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Nos casos em que a homogeneidade de variâncias não foi cumprida, foi utilizado o teste F de Welch (ou Welch ANOVA). Para identificar quais grupos diferiram significativamente, foi realizada a avaliação de *post-hoc* por meio da técnica de Games-Howell. Esta etapa do trabalho foi realizada no *software* Jamovi®.

A comparação dos métodos proposto, Yeomans e Bremner e de referência (combustão seca) foi realizada por meio de análise de regressão, pelo *software* Excel®.

Para todas as análises, considerou-se o nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Curva Analítica Permanganométrica

A construção da curva analítica (Figura 9) foi realizada com padrões de KMnO_4 consistindo em uma série de 9 pontos (5 réplicas em cada nível) distribuídos no intervalo de 0 – 400,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Esse intervalo foi escolhido buscando a obtenção de uma faixa linear da curva que compreendesse as absorvâncias dos brancos e das amostras.

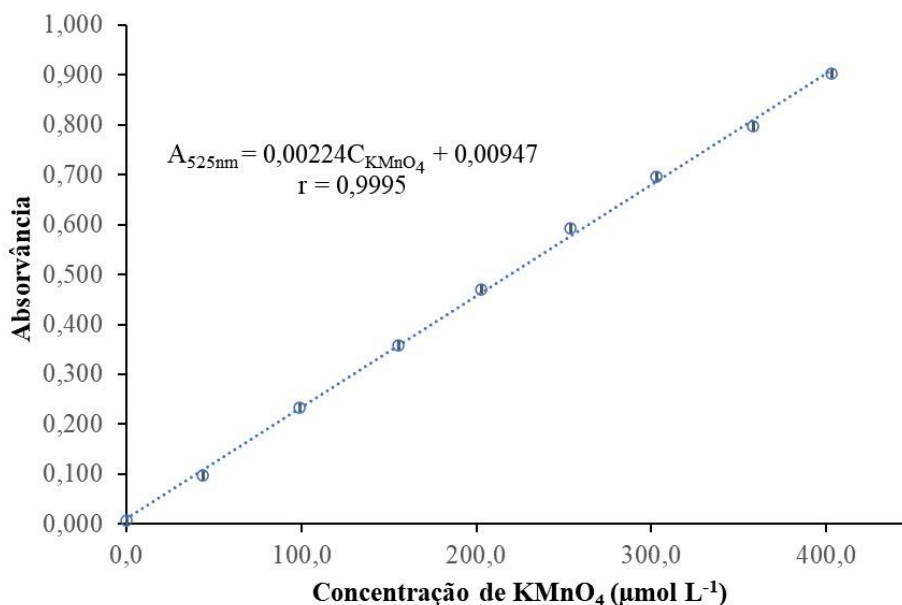


Figura 9. Curva analítica de absorvância versus concentração de KMnO_4 , em $\lambda = 525 \text{ nm}$ (N=5)

A linearidade da curva foi inspecionada visualmente e pela análise do gráfico de resíduos (Figura 10), calculados pela diferença entre os valores da absorvância previsto pela reta de regressão e os obtidos experimentalmente. Nota-se que os pontos estão aleatoriamente distribuídos em torno do zero, não apresentando tendência, podendo assim presumir que a variância dos resíduos é homocedástica, atestando a linearidade da curva. A adequação do ajuste da curva, representada pelo coeficiente de correlação (r), foi de 0,9995, evidenciando a sua linearidade.

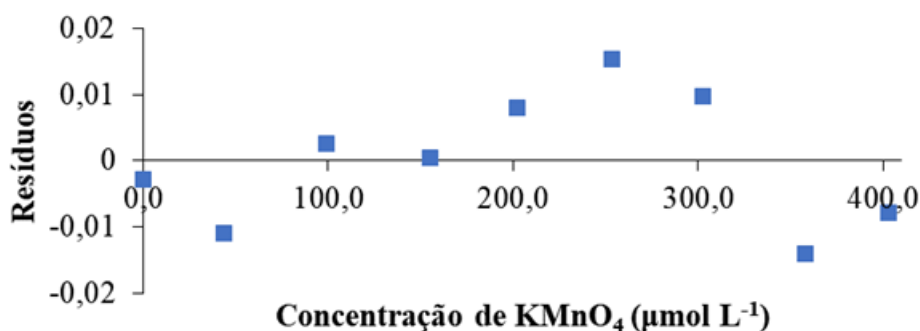


Figura 10. Gráfico de resíduos da curva analítica de absorvância versus concentração de KMnO₄, em $\lambda = 525$ nm (N=5)

A Equação 28 descreve a relação linear existente entre a absorvância e a concentração:

$$A_{525\text{nm}} = 0,00224C_{\text{KMnO}_4} + 0,00957 \quad \text{Equação 28}$$

onde:

$A_{525\text{nm}}$ = absorvância da solução em 525 nm;

C_{KMnO_4} = concentração de KMnO₄, em $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Os parâmetros da curva analítica obtidos pelo método espectrofotométrico proposto estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Parâmetros da curva analítica

Parâmetros	Valores
Sensibilidade	$0,00224 \text{ L } \mu\text{mol}^{-1}$
Coefficiente linear	0,9995
Coefficiente de determinação (R^2)	0,9990
Valor-p da inclinação	$5,42 \times 10^{-14}$

A inclinação da curva analítica apresentou valor- $p < 0,05$ indicando, assim, que o valor da inclinação é significativamente diferente de zero. Logo, as mudanças na inclinação da curva estão associadas às variações dos padrões. A curva apresentou um ótimo coeficiente de determinação ($R^2 = 0,9990$).

Os limites de quantificação (LQ) e detecção (LD) foram calculados segundo recomendação da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), empregando as Equações 9 e 10, sendo $29,94 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $8,98 \mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente.

5.2 Planejamento Fatorial para a Oxidação do Carbono Orgânico

5.2.1 Estudo da influência das condições reacionais e suas interações

Neste estudo foram avaliadas a influência da concentração de H₂SO₄, tempo de reação e temperatura (variáveis independentes) no %CO (variável dependente) em um padrão de biftalato de potássio e suas interações.

O valor de 100% é o ideal para o %CO, quando toda a matéria orgânica presente na amostra é oxidada completamente.

A Tabela 11 e a Figura 11 expressam os valores médios de %CO nos 8 ensaios realizados no estudo do planejamento fatorial 2^3 , que variaram de 64 a 106%. Os resultados encontrados em cada ensaio estão na chamada ordem-padrão, onde as colunas iniciam com o nível (-) e, depois, há a alternância de sinais. Um a um na primeira coluna, - + - +..., depois dois a dois, - - + +... e, por fim, com 4 sinais negativos e 4 sinais positivos na terceira coluna.

Tabela 11. Matriz de experimentos com o percentual de carbono oxidado (%CO) no planejamento fatorial 2^3

Ensaio	Tempo (minutos)	Concentração (mol L ⁻¹)	Temperatura (°C)	Percentual de carbono oxidado ^a (%)
1	-(30)	-(0,125)	-(60)	82 ± 2
2	+(60)	-(0,125)	-(60)	99±9
3	-(30)	+(0,250)	-(60)	64±5
4	+(60)	+(0,250)	-(60)	88 ± 5
5	-(30)	-(0,125)	+(95)	100 ±1,6
6	+(60)	-(0,125)	+(95)	106±0,8
7	-(30)	+(0,250)	+(95)	99±1
8	+(60)	+(0,250)	+(95)	106 ±3,2

^aN = 5

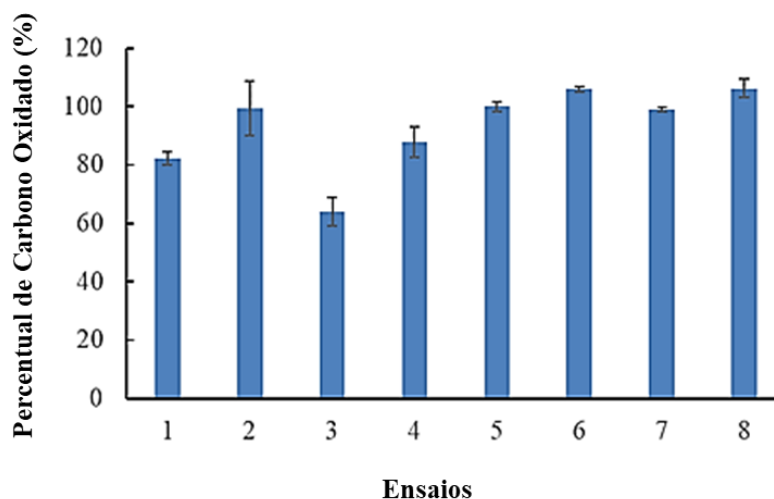


Figura 11. Percentual de carbono oxidado (%CO) nas condições de reação empregadas no planejamento fatorial 2^3 (N=5)

Os valores dos efeitos, dos coeficientes, valor-T e valor-p estão listados na Tabela 12, separados por efeitos principais (influência de cada fator) e interações entre os fatores (influência da interação entre dois ou mais fatores).

Tabela 12. Avaliação dos efeitos principais e das interações entre os fatores

Termo	Efeito	Coefficiente	Valor-T	Valor-p
<i>Efeitos principais</i>				
Tempo	13,456	6,728	9,09	0,000
Concentração	-7,689	-3,845	-5,19	0,000
Temperatura	19,401	9,700	13,10	0,000
<i>Interação entre 2 fatores</i>				
Tempo*Concentração	2,015	1,008	1,36	0,184
Tempo*Temperatura	-6,865	-3,432	-4,64	0,000
Concentração*Temperatura	7,248	3,624	4,90	0,000
<i>Interação entre 3 fatores</i>				
Tempo*Concentração*Temperatura	-1,412	-0,706	-0,95	0,348

$t_{crítico} = 2,04$

O sinal do coeficiente de um termo é responsável diretamente pela relação entre este e a variável resposta, sendo calculado como a metade do tamanho do efeito. O valor de efeito das variáveis independentes é uma forma de avaliar a significância que este termo exerce sobre a variável resposta. Quanto maior o valor do coeficiente, maior é a interferência no parâmetro analisado. Porém, o efeito não é capaz de indicar se o termo é estatisticamente significativo. Para tanto, deve-se avaliar o valor-p (MINITAB, 2020). Quando o valor-p de um determinado fator é menor que 0,05, o efeito do fator é significativo, ou seja, é considerado ter influência com relação à variável resposta analisada. De maneira semelhante, quanto maior o valor-T (em módulo), maior a evidência que o fator estudado possui significância. Assim, pela Tabela 12, se observa que apenas a interação dupla tempo*concentração e interação tripla tempo*concentração*temperatura não foram significativos, já que estes termos obtiveram valor-p maior que 0,05.

A Figura 12 representa o diagrama de pareto dos efeitos padronizados, em valores absolutos, para o %CO. Este diagrama é uma forma gráfica para identificar os fatores que influenciam significativamente na variável resposta e para comparar a grandeza relativa dos efeitos principais e das interações. Neste gráfico, os efeitos são apresentados na ordem crescente de seus valores absolutos. Os fatores que apresentam valores maiores que o valor crítico da distribuição t de Student, ou seja, que ultrapassam a linha tracejada, são estatisticamente significativos. O tamanho da barra revela a magnitude de cada efeito.

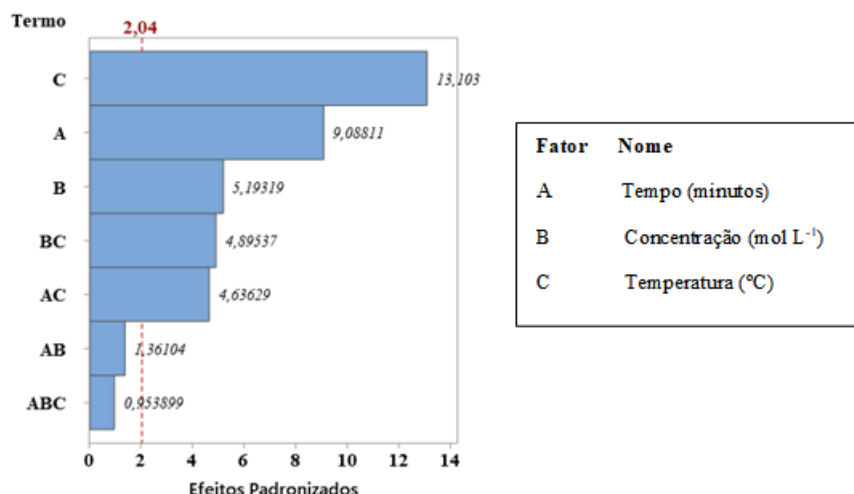


Figura 12. Gráfico de pareto dos efeitos padronizados sobre o fator resposta

Pela análise da Figura 12, nota-se que os fatores principais (A, B e C) ultrapassaram a linha tracejada, indicando que a acidez, o tempo e a temperatura de reação influenciam no %CO. Somente a interação dupla tempo*concentração e a interação tripla tempo*concentração*temperatura não ultrapassaram a linha tracejada, indicando que esses fatores não foram estatisticamente significativos. Além disso, a partir da magnitude da barra, percebe-se que a temperatura exerce maior efeito, seguida pelo tempo de reação, concentração de H₂SO₄, da interação concentração*temperatura e da interação tempo*temperatura.

O gráfico de efeito principal (Figura 13) descreve as relações entre as condições de reação e o %CO. O efeito principal é a diferença na resposta média entre dois níveis e um fator. Cada ponto deste gráfico representa o %CO para um nível de um fator. A linha pontilhada central horizontal representa o valor de %CO médio para todos os ensaios. A avaliação do efeito principal se faz pelas inclinações das linhas (MINITAB, 2020). Se a reta gerada para cada variável independente tem inclinação zero em relação à linha horizontal (eixo x), indica que a sua variação não afeta a resposta, ou seja, não há efeito principal significativo. Se a reta tem uma inclinação (positiva ou negativa), a variação daquela variável influenciará a resposta. Quanto maior a inclinação da linha, maior é a magnitude do efeito principal.

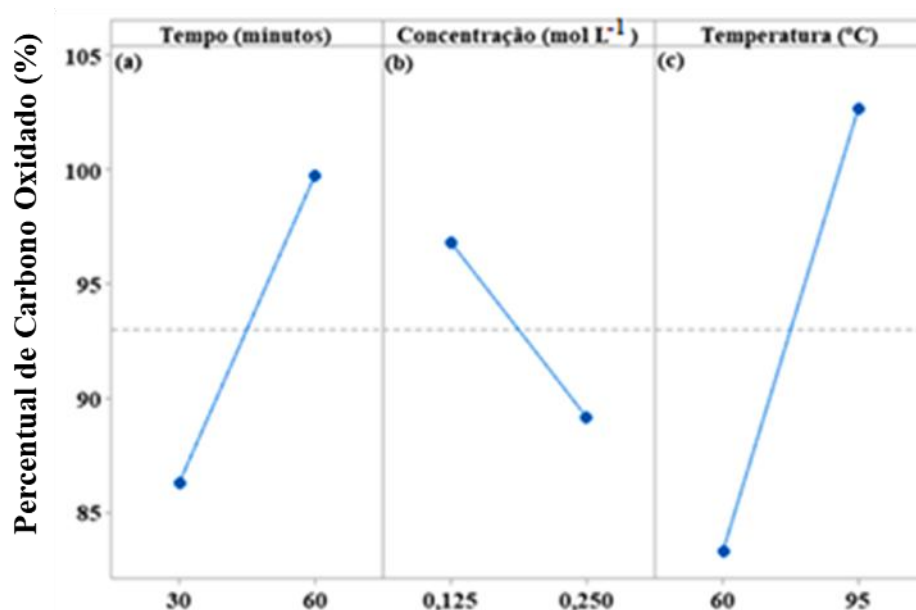
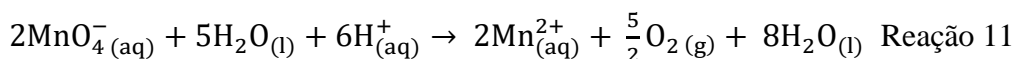


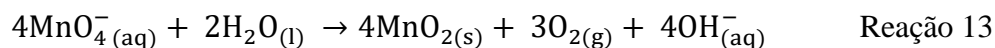
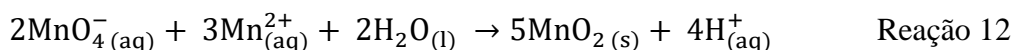
Figura 13. Gráficos de efeitos principais do tempo de reação (a), da concentração de H₂SO₄ (b) e temperatura da reação (c), no percentual de carbono oxidado

Pela Figura 13, nota-se que o fator mais significativo, ou seja, com maior efeito na variável resposta, é a temperatura (Figura 13c), pois sua inclinação é a maior, seguida pelo tempo de reação (Figura 13a). A temperatura em seu nível mais alto, influenciou positivamente a oxidação do carbono orgânico. Esse fato também foi observado por Yeomans e Bremner (1988), no qual a adição do calor externo ao método do dicromato auxiliou na oxidação da matéria orgânica. O aumento do tempo de reação também influenciou positivamente no %CO.

Quando se provocou o aumento da concentração de H₂SO₄ foi observado uma queda no %CO, ou seja, não há benefícios ao aumentar a concentração de ácido na reação. A literatura relata que o maior potencial de redução do íon MnO₄⁻ envolve a formação de MnO₂ ($E_{MnO_4^-/MnO_2}^0 = 1,69 V$) em meio não muito ácido (pH > 3,2), enquanto a redução ao íon Mn²⁺ é favorecida ($E_{MnO_4^-/Mn^{2+}}^0 = 1,51 V$) em meio mais ácido (pH < 3,2) (SKOOG *et al.* 2006). Por esta razão, a diminuição da concentração de H₂SO₄ produziu maiores valores de %CO, pois a reação de oxidação do carbono orgânico envolve a formação de MnO₂ (Reação 10).

Lã e colaboradores (2023) observaram que o aumento da concentração do ácido não favoreceu a oxidação da matéria orgânica. Ao invés disso, favoreceu a ocorrência de reações paralelas, pois foi observado um aumento gradual da formação de MnO₂ com o aumento da acidez. Isso porque soluções diluídas de KMnO₄ em H₂SO₄ são relativamente estáveis. Já em soluções mais concentradas de H₂SO₄, o KMnO₄ reage com a água produzindo Mn²⁺ (BURGOT, 2012) (Reação 11). Os íons Mn²⁺, por sua vez, aumentam consideravelmente a degradação do KMnO₄, produzindo MnO₂ (Reação 12), que catalisa a reação do KMnO₄ com a água (BURGOT, 2012) formando mais MnO₂ (Reação 13). Nas condições mais ácidas, as reações paralelas do KMnO₄ parecem ser prioritárias em relação à sua reação com o biftalato, diminuindo a quantidade de carbono oxidado.





Uma vantagem de ser utilizado uma menor acidez se refere ao consumo de H_2SO_4 , já que este é um reagente de aquisição controlada no Brasil e em diversos países (BRASIL, 2019, CHILE, 2007, UNIÃO EUROPÉIA, 2019, ARGENTINA, 2019).

O gráfico de efeitos principais é capaz de descrever de forma adequada a relação entre cada fator e a resposta. Entretanto, quando a interação é significativa para alguns fatores, como acontece nesse trabalho, se faz necessário analisar o gráfico de interação, pois a interpretação dos efeitos principais pode ser afetada (MINITAB, 2020).

A Figura 14 mostra o gráfico de interação entre os fatores no %CO. Neste gráfico, o %CO em diferentes combinações de níveis de fator é representado por cada ponto do gráfico.

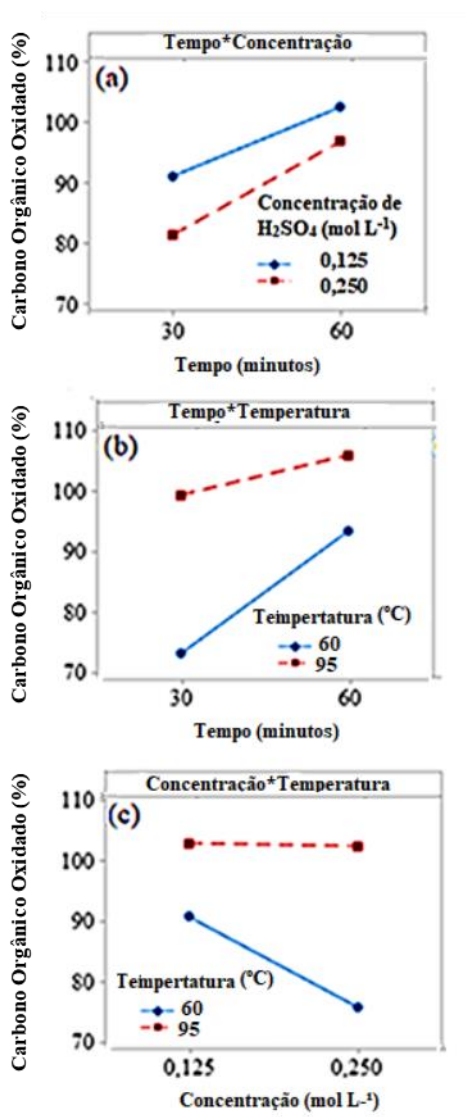


Figura 14. Gráficos de interação (a) tempo*concentração de H_2SO_4 , (b) tempo*temperatura e (c) concentração de H_2SO_4 *temperatura

Pode se observar na Figura 14 que a única interação não significativa é entre as variáveis tempo e concentração de H_2SO_4 (Figuras 14a), pois suas inclinações são muito próximas.

Analizando a Figura 14b, a temperatura de 95 °C proporcionou maiores %CO nos dois tempos de oxidação investigados, apresentando uma pequena diferença nas respostas para os tempos. Já temperatura de 60 °C, resultaram em menores %CO, apresentando melhor desempenho em 60 minutos. Tal comportamento sugere que o aumento do tempo de oxidação é uma estratégia importante para o aumento do %CO quando a temperatura de reação é insuficiente.

Analizando a Figura 14c, percebemos que na temperatura de 95 °C não ocorreu diferença no %CO entre os níveis de concentração de H_2SO_4 . Na mesma figura, observa-se que na temperatura de 60 °C, o %CO é consideravelmente maior na concentração de H_2SO_4 mais baixa. Portanto, a diminuição da acidez é uma estratégia importante para o aumento do %CO, quando a temperatura de reação é insuficiente, pois essa diminuição da acidez favorece a redução do MnO_4^- a MnO_2 (SKOOG *et al.* 2006).

O gráfico de cubo foi utilizado para mostrar a relação entre os fatores e a resposta (Figura 15). Nesse gráfico, em cada vértice está representado o valor médio do %CO para as combinações das 3 variáveis independentes (concentração de H_2SO_4 , temperatura e tempo de oxidação) em cada nível.

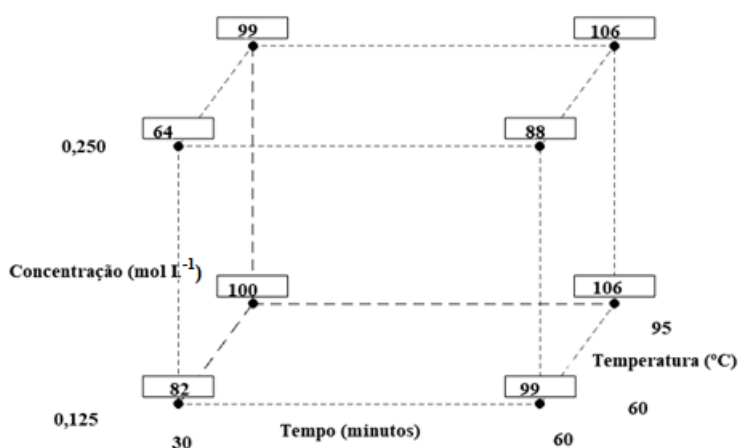


Figura 15. Gráfico de cubo para o %CO no planejamento fatorial 2^3

A Figura 15 confirma que a temperatura foi o fator preponderante na análise. Na temperatura de 95 °C os valores de %CO do biftalato de potássio pelo método proposto foram satisfatórios (próximos a 100 %), independente do tempo ou concentração de ácido utilizados, com erros de até 6%. A temperatura de 60 °C foi fortemente influenciada pelo tempo de reação, onde as maiores médias de 99% e 88% foram obtidas no tempo mais longo (60 minutos), independente da concentração do ácido.

O coeficiente de determinação (R^2) do modelo estatístico para o %CO foi de 0,9181, ou seja, 91,81% da variação é explicada pelo modelo. A adequação do modelo proposto foi verificada pela avaliação dos resíduos (Figura 16).

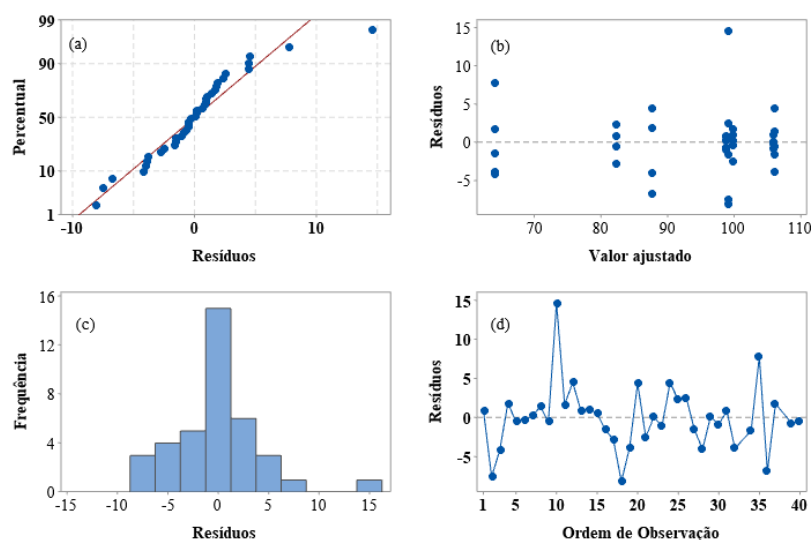


Figura 16. Gráficos de probabilidade normal de resíduos (a), de resíduos *versus* ajustado (b), de histograma (c) e de resíduos *versus* ordem (d)

O gráfico de probabilidade normal de resíduos (Figura 16a) permite verificar a pressuposição de que os erros do ajuste são independentes e normalmente distribuídos. Nota-se que os pontos no gráfico de probabilidade normal se aproximam da reta exibindo uma distribuição homogênea de pontos, podendo-se assim assumir que os resíduos não se desviam de forma significativa de uma distribuição normal.

O gráfico de resíduos *versus* valor ajustado (Figura 16b) é utilizado para verificar a pressuposição da homoscedasticidade, ou seja, verificar se os resíduos possuem variância constante. Os valores ajustados são os valores previstos pelo modelo de regressão e é esperado que os resíduos tenham valores independentes dos valores ajustados, sendo indesejável que exista qualquer padrão no diagrama de dispersão. O gráfico obtido apresentou dispersão aleatória dos dados, em torno de zero, indicando uma variância constante dos resíduos tendo, assim, o pressuposto de homoscedasticidade satisfeita.

O histograma dos resíduos (Figura 16c) é utilizado para verificar se os dados são assimétricos ou se contêm *outliers*. A partir do histograma obtido, é possível observar que o gráfico se aproxima a uma curva gaussiana.

O gráfico de resíduos *versus* ordem de observação (Figura 16d) é utilizado para verificar a pressuposição de que os resíduos não estão correlacionados. A Figura 16d não apresenta nenhum padrão ou tendência, não indicando autocorrelação residual, validando o pressuposto que os resíduos são independentes um do outro, indicando que o modelo ajustado para o %CO pode ser validado, pois os critérios estatísticos aplicados aos resíduos foram satisfeitos.

5.2.2 Otimização e escolha das condições de oxidação

As condições ótimas foram calculadas utilizando a ferramenta *otimizador de respostas* do software Minitab®, informando o alvo de 100% para o %CO. Após a otimização, foi gerado um gráfico com as condições ideais para que o %CO alcance o valor de 100% (Figura 17).

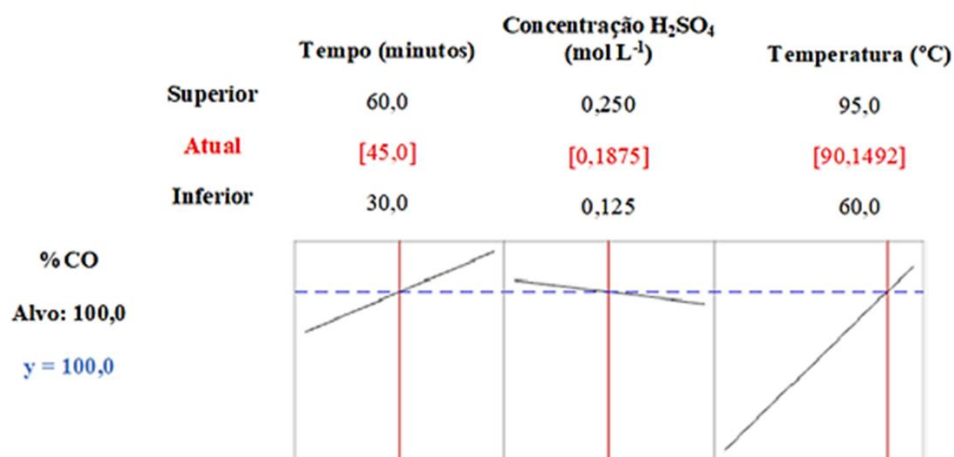


Figura 17. Condições ótimas (em vermelho) previstas para o alvo de 100% de oxidação do carbono orgânico. As linhas vermelhas são a posição (valores) das condições obtidas, as azuis são a posição da resposta desejada (100%) e a inclinação das cinzas representam a influência da variável na resposta. O y representa o %CO alcançado.

As condições reacionais ótimas fornecidas pelo Minitab® foram o tempo de reação de 45 minutos, concentração de H_2SO_4 de $0,1875 \text{ mol L}^{-1}$ e temperatura de $90,15^{\circ}\text{C}$ (Figura 17). Contudo, optou-se por empregar tempo oxidação de 30 minutos, concentração de H_2SO_4 de $0,125 \text{ mol L}^{-1}$ e temperatura de 95°C na metodologia proposta neste trabalho, tendo em vista que nestas condições foi obtido %CO de 100% (Tabela 11). As condições ótimas definidas pelo *software* foram preteridas em relação a estas condições porque seria necessário um tempo maior para a análise (diminuindo a frequência analítica) e maior consumo de ácido, aumentando os custos.

Estes valores foram testados para avaliar a resposta predita pelo modelo de otimização (Figura 18). O %CO predito pelo modelo foi de 99,91% e o valor de d foi de 0,9979.

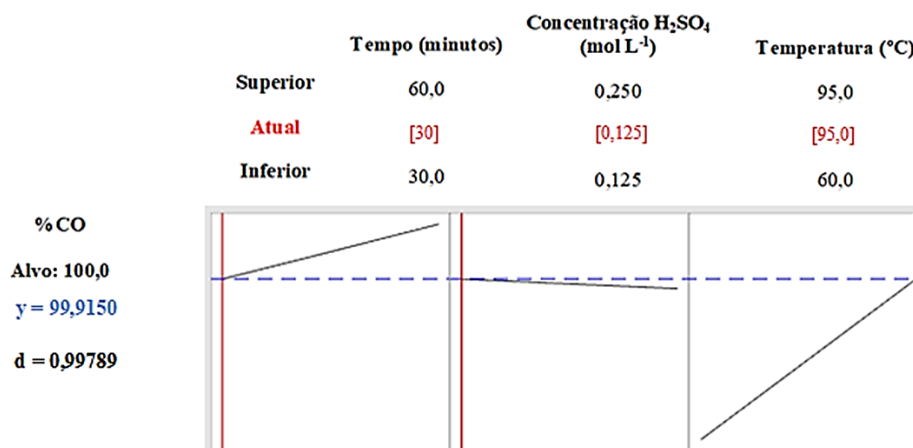


Figura 18. Percentual de carbono oxidado predito pelo modelo (em azul) para as condições reacionais escolhidas: 30 minutos, H_2SO_4 $0,125 \text{ mol L}^{-1}$ e 95°C . As linhas vermelhas são a posição (valores) das condições informadas, as azuis são a posição da resposta obtida (99,91%) e a inclinação das linhas cinzas representam a influência da variável na resposta.

O parâmetro d , gerado pelo *software* Minitab®, avalia a qualidade da combinação das variáveis escolhidas, que satisfaz as metas definidas para a resposta. Os valores de d gerados se situam entre 0 e 1, onde 1 indica a condição desejável e 0 um valor inaceitável. Segundo Derringer e Suich (1990), as seguintes conclusões podem ser tomadas de acordo com o valor do parâmetro d :

- $d = 1$: valor desejável;
- $0,80 \leq d < 1$: valor excelente;
- $0,63 \leq d < 0,80$: valor considerado adequado;
- $0,40 \leq d < 0,63$: valor aceitável, mas pobre;
- $0,30 \leq d < 0,40$: valor no limite de aceitável;
- $0 \leq d < 0,30$: valor fora da faixa adequada.

O parâmetro d para as condições testadas no modelo (30 minutos, H_2SO_4 $0,125 \text{ mol L}^{-1}$ e 95°C) que serão utilizadas nos estudos posteriores, foi de 0,9979, próximo ao valor desejado. Estas condições reacionais, em parte, corroboram com o trabalho de Lã e colaboradores (2023), onde as condições mais aceitáveis naquele estudo foram o uso de H_2SO_4 $0,125 \text{ mol L}^{-1}$, o tempo de reação de 30 minutos e temperatura de 70°C .

5.3 Avaliação da Oxidabilidade de Compostos Orgânicos

O potencial oxidante do $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, no método Yeomans e Bremner (1988), e do KMnO_4 no método proposto foi determinado para alguns compostos orgânicos (Tabela 13 e Figura 19). O estudo foi realizado empregando massas de compostos orgânicos suficientes para que as amostras analisadas tivessem igual quantidade, em mol, de carbono (Tabela 9).

Tabela 13. Percentual do carbono orgânico oxidado (%CO) pelos métodos proposto e de Yeomans e Bremner (N=5)

Matéria orgânica	Características	Percentual de carbono oxidado (%)		^b t _{calc}	^c t _{crít}	^d gl
		Método Proposto	Método Yeomans-Bremner			
n-heptano		ND ^a	4±1	ND ^a	ND ^a	-
Diclorometano	Compostos de difícil oxidação	4±5	14±4	-3,82	1,86	8
Álcool isopropílico		43±7	74±1	-8,74	2,35	3
Biftalato de potássio		100±1,4	95±2	-5,32	1,86	8
Glicose anidra	Padrões utilizados para análise da MO	99±2	96±2	-2,40	1,86	8
Sacarose		102±0,6	106±8,5	0,76	2,35	3
Lactose		108±2,7	115±11	1,20	2,01	5
Citrato trissódico di-idratado	Poluentes orgânicos	100±1,2	62±1	55,4	1,89	7
Tris-(hidroximetil)-aminometano		116±0,5	111±4,8	1,93	2,35	3

^aND = não detectado; ^bt_{calc} = t calculado; ^ct_{crít} = t crítico; ^dgl = graus de liberdade

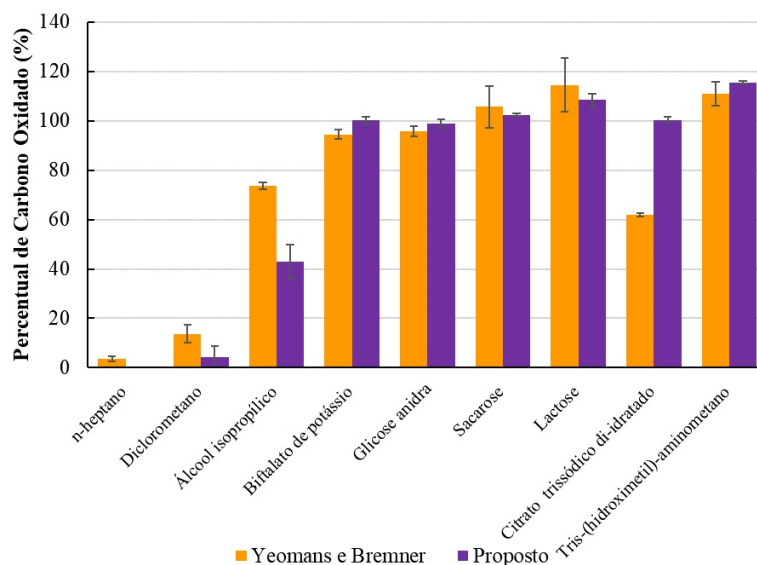


Figura 19. Percentuais de carbono orgânico oxidado pelo método de Yeomans e Bremner e pelo método proposto nos compostos orgânicos investigados (N=5)

Na análise dos compostos tris-(hidroximetil)-aminometano, lactose e sacarose foi observado que a quantidade de dicromato utilizada foi insuficiente para oxidar o carbono orgânico, fato notado pelo surgimento imediato da coloração (castanho-avermelhado) do ponto final da titulação ao se adicionar o indicador. Por esta razão, as massas empregadas tiveram que ser diminuídas para a metade do valor inicial, conforme recomendado por Yeomans e Bremner (1988), Mendonça e Matos (2005) e Embrapa (2017).

Tal comportamento foi inesperado, tendo em vista que a quantidade de carbono é igual em todas as amostras analisadas neste estudo, de modo que a quantidade de

dicromato deveria ser igualmente suficiente ou insuficiente para todas as amostras. Essa diferença no comportamento sugere a ocorrência de reações paralelas nestas amostras.

As variâncias dos resultados obtidos pelos compostos álcool isopropílico, lactose, sacarose, tris-(hidroximetil)-aminometano e n-heptano diferiram significativamente ao nível de 95% e, portanto, os valores de %CO foram comparados pelo teste t, presumindo variâncias diferentes, utilizando o *software* Excel® (Tabela 13). Para os demais compostos estudados, as variâncias não diferiram significativamente e os %CO foram comparados pelo teste t, presumindo variâncias equivalentes utilizando o *software* Excel® (Tabela 13).

Pela análise da Figura 19 e Tabela 13, nota-se que o poder oxidante KMnO_4 e do $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ sobre os compostos orgânicos investigados são equiparáveis. Para o composto de difícil oxidação n-heptano a comparação estatística não foi realizada, pois o %CO determinado pelo KMnO_4 não pode ser detectado, entretanto o %CO determinado pelo $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ foi insatisfatório (Tabela 13). Para os compostos de difícil oxidação (diclorometano e álcool isopropílico) houve diferença significativa no %CO ($t_{\text{calc}} > t_{\text{crit}}$) obtido pelos dois métodos (Tabela 13). Onde o $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, demonstrou maior poder oxidante. Porém, assim como o KMnO_4 , o $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ foi ineficiente para oxidar completamente o CO, sendo os percentuais insatisfatórios, indicando que os dois oxidantes não são capazes de oxidar compostos alifáticos de cadeia linear e compostos clorados.

Para os compostos biftalato e glicose anidra foi observado diferença significativa nos %CO ($t_{\text{calc}} > t_{\text{crit}}$) entre os métodos (Tabela 13). O KMnO_4 mostrou maior poder oxidante que o do $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, alcançando valores próximos a 100%, ou seja, o KMnO_4 foi capaz de oxidar todo o CO. Para a sacarose e glicose não houve diferença significativa ($t_{\text{calc}} < t_{\text{crit}}$) entre os métodos, e os dois oxidantes consumiram cerca de 100% do CO presente na amostra. Porém, em relação ao método de Yeomans e Bremner, o método proposto produziu %CO mais próximos a 100% e apresentou maior precisão (Tabela 13 e Figura 14).

É importante salientar, que os compostos biftalato de potássio, glicose anidra, sacarose e lactose são compostos comumente utilizados como padrão em análise de MO e obtiveram resultados satisfatórios para o método proposto.

Para o composto citrato trissódico di-idratado houve diferença significativa na %CO ($t_{\text{calc}} > t_{\text{crit}}$) entre os métodos (Tabela 13). Neste caso, o KMnO_4 oxidou cerca de 100% do CO presente e o $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ oxidou apenas 60%. Para o composto tris-(hidroximetil)-aminometano não houve diferença significativa ($t_{\text{calc}} < t_{\text{crit}}$), onde os dois métodos estudados oxidaram o CO presente na amostra com erros superiores a 10%.

Diferentemente do que ocorreu com o método do dicromato, para o método do permanganato não foi necessário diminuir a massa do composto orgânico. Esta é uma vantagem adicional que o método proposto apresenta já que não torna necessária a repetição da análise, proporcionando economia de tempo e reagentes. Isto ocorre porque o permanganato adicionado para a oxidação apresenta concentração suficiente alta para que ocorra o seu excesso após oxidar o CO presente na amostra.

Até o momento, o KMnO_4 , tem sido empregado em análises de solos como um oxidante, somente para a determinação de carbono lábil (BLAIR *et al.*, 1995; CULMAN *et al.*, 2012; CULMAN *et al.*, 2013; GERAEL *et al.*, 2016; DIEDERICH *et al.*, 2019; GOMES *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2022). Este estudo comprova o potencial do KMnO_4 que, quando utilizado nas condições adequadas, é capaz de oxidar diferentes compostos orgânicos de modo semelhante, ou superior, ao $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (Tabela 13 e Figura 19), sugerindo que este pode ser substituído pelo KMnO_4 para a determinação de carbono orgânico.

5.4 Influência da Massa de Amostra na Determinação do COT

O teor de COT varia em função do tipo do solo. A massa de amostra de solo tem que ser representativa e adequada para o melhor desempenho do método analítico. Nesta etapa, investigou-se a massa de solo apropriada para a determinação do teor de COT pelo método proposto, comparando os resultados com o método de Yeomans e Bremner. Para esta investigação foram selecionados, aleatoriamente, os solos do tipo Chernossolo 202 A, Latossolo 88 A, Cambissolo 49 AB e Gleissolo 201, que têm características e teores de carbono orgânico diferentes.

5.4.1 Efeito da massa da amostra no método de Yeomans e Bremner

Os teores de COT dos solos pelo método de Yeomans e Bremner estão apresentados na Tabela 14. Alguns valores de COT para algumas massas de solo não puderam ser determinados pelo método do dicromato, porque a quantidade de dicromato adicionada foi insuficiente para reagir com toda a matéria orgânica presente na amostra, fato identificado pela percepção da coloração do ponto final da titulação (castanho-avermelhado) imediatamente após a adição do indicador ferroína. Nestes casos, Yeomans e Bremner recomendam diminuir a massa de amostra analisada (YEOMANS & BREMNER, 1988). Contudo, por se tratar de um estudo do efeito da massa da amostra, não há sentido realizar esta modificação.

Tabela 14. Carbono orgânico total (em mg g⁻¹), obtido pelo método Yeomans e Bremner, para diferentes massas de solos

Massa de solo (mg)	Carbono orgânico total (mg g ⁻¹)			
	Chernossolo 202 A	Latossolo 88 A	Cambissolo 49 AB	Gleissolo 201 A
1000	ND ^a	ND ^a	7,1±0,3	14,3±0,05
750	ND ^a	17,4±0,6	7,5±0,09	15,4±0,6
500	24,6±0,2	17,5±0,3	6,7±0,7	15,2±0,2
250	26,9±1,2	20,2±0,6	7,1±1,0	19±2
125	35±4	16,4±0,7	15,0±1,0	23±4
60	39,5±0,8	25±5	27±3,25	31±6
30	52±3	25±3	36±5	41±15

ND^a = Não determinado, pois o dicromato foi insuficiente para reagir com o COT; N = 3

Pela Tabela 14 é possível perceber valores maiores de desvio padrão para as massas menores. Isso pode ser explicado pelo fato que massas pequenas comprometem a representatividade da amostra, influenciando assim na precisão do método.

Pelo perfil da Figura 20, pode-se observar uma tendência de diminuição do teor de COT devido ao aumento da massa de amostra analisada e de menores variações nas determinações com massas superiores a 500 mg. Portanto, pode-se concluir que qualquer massa acima desta quantidade pode ser utilizada para a determinação do COT pelo método de Yeomans e Bremner. Contudo, para o Chernossolo 202 A, não é possível determinar o COT para massas maiores que 500 mg para perceber se há alguma variação em massas superiores. Por outro lado, observando o comportamento dos outros solos, recomenda-se o uso da massa de 500 mg.

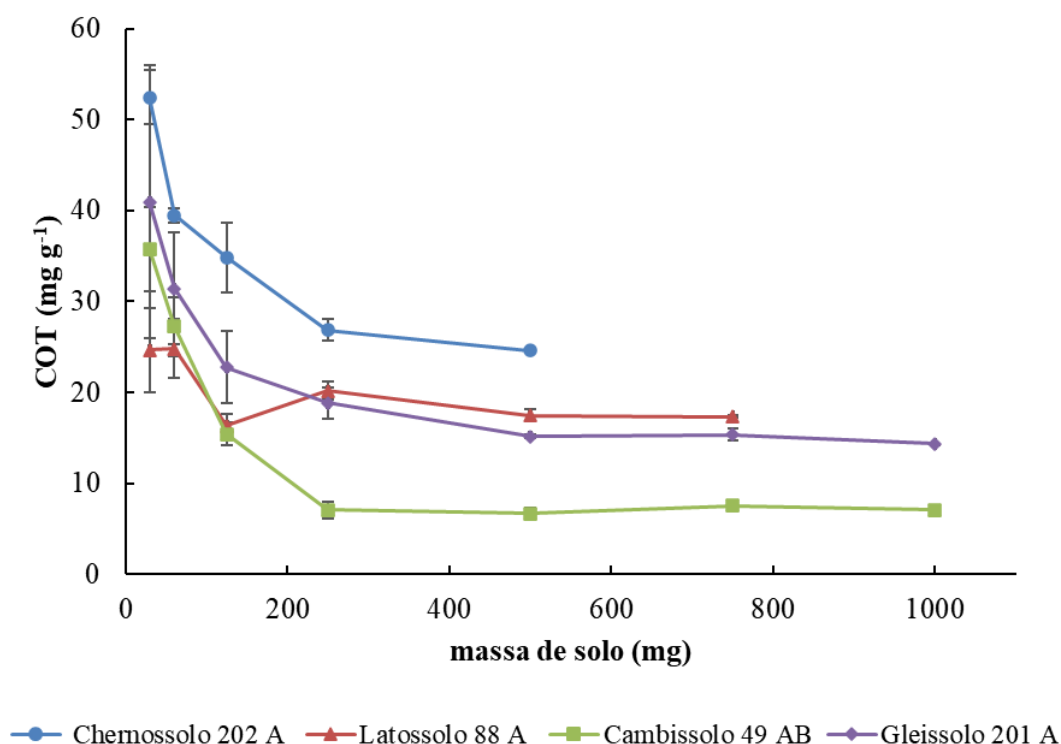


Figura 20. Efeito da massa de solo analisada no teor de COT em Chernossolo 202 A, Latossolo 88 A, Cambissolo 49 AB e Chernossolo 202 A pelo método Yeomans e Bremner. N = 3

Empregando o teste de Shapiro-Wilk foi constatado que os dados apresentam distribuição normal (valor- $p > 0,05$) (Tabela 15). A homogeneidade dos dados avaliada pelo teste de Levene demonstrou que as variâncias dos teores de COT obtidos para as massas analisadas não são homogêneas (valor- $p < 0,05$) (Tabela 16). Como não se pode assumir o pressuposto da homogeneidade da variância para os solos investigados, foi realizada a ANOVA de Welch. O valor- p da ANOVA de Welch (Tabela 17) foram menores que 0,05 para todos os solos estudados, demonstrando que a massa de solo analisada influencia no teor de COT.

Tabela 15. Valor- p obtido no teste de Shapiro-Wilk para os teores de COT determinados pelo método Yeomans e Bremner

Massa de solo (mg)	Valor- p			
	Chernossolo 202 A	Latossolo 88 A	Cambissolo 49 AB	Gleissolo 201 A
1000	ND ^a	ND ^a	0,441	0,397
750	ND ^a	0,116	0,458	ND ^b
500	0,375	0,994	0,385	0,086
250	0,767	0,184	0,272	0,667
125	ND ^b	0,329	0,355	0,136
60	0,897	0,876	0,890	0,868
30	0,614	0,327	0,764	0,388

ND^a = Não determinado, pois o dicromato foi insuficiente para reagir com o COT; ND^b – Não determinado devido ao baixo número de réplicas; N = 3

Tabela 16. Valor-p para o teste de Levene para as variâncias dos teores de COT determinados pelo método Yeomans e Bremner

Solo	Valor-p
Chernossolo 202 A	0,004
Latossolo 88 A	0,007
Cambissolo 49 AB	0,004
Gleissolo 201 A	<0,001

Tabela 17. Valor-p obtido na ANOVA de Welch aplicada ao método Yeomans e Bremner

Solo	Valor-p
Chernossolo 202 A	<0,001
Latossolo 88 A	0,002
Cambissolo 49 AB	<0,001
Gleissolo 201 A	0,005

Como ficou constatado que a massa de solo influencia estatisticamente no teor de COT, se fez necessário utilizar o *Post hoc* (pós teste) de Games-Howell para determinar quais os grupos diferem estatisticamente entre si.

O *Post hoc* de Games-Howell para o Chernossolo 202 A (Tabela 18) mostrou que as massas de 250 e 500 mg produziram teores de COT que não diferiram entre si. Para o Latossolo 88 A (Tabela 19), isto foi observado para as massas de 500 e 750 mg. Para o Cambissolo 49 AB (Tabela 20), o COT não diferiu para massas acima 250 mg. Para o Gleissolo 201 A (Tabela 21), embora não tenha sido possível avaliar a diferença nas massas acima de 500 mg, pois o número de réplicas não foi suficiente para o valor-p ser calculado, pela Figura 20 foi possível perceber que o valor de COT é aproximadamente constante a partir de 500 mg.

Tabela 18. *Post hoc* de Games-Howell para o Chernossolo 202 A com o método Yeomans e Bremner

Massa (mg)	PE ^a	Massa (mg)				
		30	60	125	250	500
30	DM ^b	—	13,0 *	17,6	25,6 *	27,9 *
	Valor-p	—	0,041	ND ^c	0,008	0,012
60	DM		—	4,61	12,6 *	14,9 *
	Valor-p		—	ND ^c	<,001	0,002
125	DM			—	8,00	10,3
	Valor-p			—	ND ^c	ND ^c
250	DM				—	2,26
	Valor-p				—	0,054
500	DM					—
	Valor-p					—

^aPE = parâmetro estatístico; ^bDM = diferença média; ^cNão terminado devido ao número de réplicas; * possui diferença estatística ($\alpha=0,05$). N=3

Tabela 19. *Post hoc* de Games-Howell para o Latossolo 88 A com o método Yeomans e Bremner

Massa (mg)	PE ^a	Massa (mg)					
		30	60	125	250	500	750
30	DM ^b	—	-0,139	8,30	4,48	7,17	7,31
	Valor-p	—	1,00	0,155	0,434	0,211	0,199
60	DM		—	8,44	4,62	7,31	7,45
	Valor-p		—	0,328	0,680	0,405	0,395
125	DM			—	-3,83 *	-1,13	-0,996
	Valor-p			—	0,0150	0,374	0,556
250	DM				—	2,70 *	2,83 *
	Valor-p				—	< 0,001	0,016
500	DM					—	0,134
	Valor-p					—	0,998
750	DM						—
	Valor-p						—

^aPE = parâmetro estatístico; ^bDM = diferença média; * possui diferença estatística ($\alpha=0,05$). N=3

Tabela 20. *Post hoc* de Games-Howell para o Cambissolo 49 AB com o método Yeomans e Bremner

Massa (mg)	PE ^a	Massa (mg)						
		30	60	125	250	500	750	1000
30	DM ^b	—	8,54	20,3	28,7*	29,1*	28,2*	28,7
	Valor-p	—	0,324	0,0530	0,0300	0,0310	0,0350	0,0330
60	DM		—	11,8	20,1*	20,5*	19,7*	20,2
	Valor-p		—	0,0710	0,027	0,0290	0,0350	0,033
125	DM			—	8,37*	8,72*	7,87*	8,38
	Valor-p			—	0,00600	0,0120	0,0300	0,0220
250	DM				—	0,353	-0,498	0,00966
	Valor-p				—	0,990	0,883	1,000
500	DM					—	-0,851	-0,343
	Valor-p					—	0,241	0,925
750	DM						—	0,508
	Valor-p						—	0,290
1000	DM							—
	Valor-p							—

^aPE = parâmetro estatístico; ^bDM = diferença média; * possui diferença estatística ($\alpha=0,05$). N=3

Tabela 21. *Post hoc* de Games-Howell para o Gleissolo 201 A com o método Yeomans e Bremner

Massas (mg)	PE ^a	Massa (mg)						
		30	60	125	250	500	750	1000
30	DM ^b	—	9,52	18,2	22,1	25,8	25,6	26,6
	Valor-p	—	0,917	0,550	0,424	0,341	0,344	0,325
60	DM		—	8,70	12,6	16,3	16,08	17,1
	Valor-p		—	0,508	0,252	0,168	0,168	0,154
125	DM			—	3,91	7,57	7,38	8,41
	Valor-p			—	0,697	0,291	0,299	0,246
250	DM				—	3,66	3,47	4,50*
	Valor-p				—	0,055	0,084	0,028
500	DM					—	-0,190	0,840*
	Valor-p					—	ND ^c	0,047
750	DM						25,6	1,030
	Valor-p						ND ^c	ND ^c
1000	DM						—	—
	Valor-p							—

^aPE = parâmetro estatístico; ^bDM = diferença média; ^cNão terminado devido ao número de réplicas; * possui diferença estatística ($\alpha=0,05$). N=3

Portanto, considerando as curvas apresentadas na Figura 20 e as diferenças apontadas nas Tabelas 18 a 21, as massas de solo a partir 500 mg são, de modo geral, adequadas para serem empregadas no método de Yeomans-Bremner, corroborando com a massa relatada na literatura (MENDONÇA & MATOS, 2005, EMBRAPA, 2017).

5.4.2 Efeito da massa da amostra no método proposto

Os teores de COT obtidos nas análises das amostras de solos com o método proposto estão apresentados nas Tabelas 22. Assim como ocorreu no método com o método do dicromato, pode-se notar maiores desvios padrão nos casos em que a massa de amostra empregada foi menor.

Tabela 22. Carbono orgânico total (em mg g^{-1}) obtido pelo método proposto para diferentes massas de solos

Massa de solo (mg)	Carbono orgânico total (mg g^{-1})			
	Chernossolo 202 A	Latossolo 88 A	Cambissolo 49 AB	Gleissolo 201 A
1000	15,70 \pm 0,18	13,470 \pm 0,006	5,94 \pm 0,6	11,70 \pm 0,06
750	18,2 \pm 0,10	15,0 \pm 0,6	5,86 \pm 0,4	13,3 \pm 1,0
500	20,2 \pm 1,4	15 \pm 2	6,81 \pm 0,542	15,0 \pm 1,4
250	21,4 \pm 1,5	18,1 \pm 1,4	6,92 \pm 1,7	17,5 \pm 1,2
125	27,0 \pm 1,2	27 \pm 3	6,68 \pm 0,7	20,0 \pm 0,4
60	29 \pm 3	27 \pm 9	15,68 \pm 8	25 \pm 3
30	34 \pm 3	38 \pm 3	16,42 \pm 0,5	33 \pm 14

N = 3

Diferentemente do observado pelo método de Yeomans e Bremner, o método proposto foi capaz de determinar o carbono orgânico para todas as massas de solo investigadas, para qualquer que seja o teor de COT, sendo uma vantagem adicional deste método.

Pelos valores de COT obtidos nas amostras de solos analisadas (Tabela 22 e Figura 21), nota-se uma tendência de diminuição do teor de COT em função do aumento da massa e de pouca variação para massas superiores a 250 mg no intervalo estudado, assim como observado no método de Yeomans e Bremner (Figura 20).

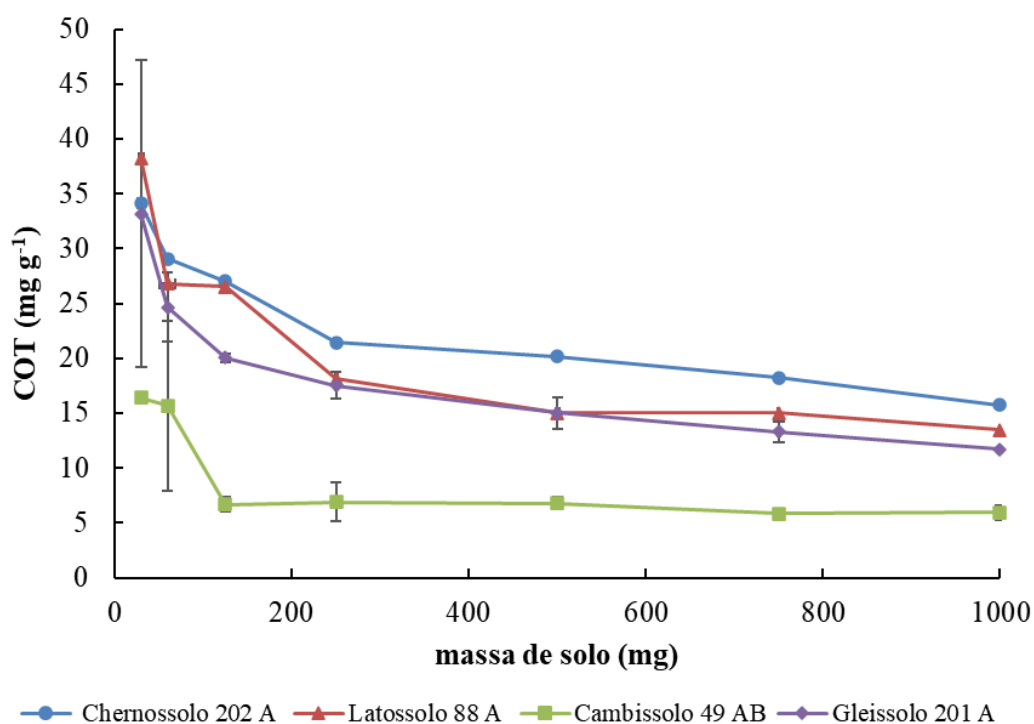


Figura 21. Efeito da massa de solo analisada no teor de COT em Chernossolo 202 A, Latossolo 88 A, Cambissolo 49 AB e Chernossolo 202 A pelo método proposto. N = 3

Empregando o teste de Shapiro-Wilk foi constatado que os dados apresentam distribuição normal (valor- $p > 0,05$) (Tabela 23). A homogeneidade dos dados avaliada pelo teste de Levene demonstrou que as variâncias dos teores de COT obtidos para as massas analisadas não são homogêneas (valor- $p < 0,05$) (Tabela 24). Como não se pode assumir o pressuposto da homogeneidade da variância para os solos investigados, foi realizada a ANOVA de Welch. O valor- p da ANOVA de Welch (Tabela 25) foram menores que 0,05 para todos os solos estudados, demonstrando que a massa de solo analisada influencia no teor de COT.

Tabela 23. Valor- p obtido no teste de Shapiro-Wilk para os teores de COT determinados pelo método proposto

Massa de solo (mg)	Valor- p			
	Chernossolo 202 A	Latossolo 88 A	Cambissolo 49 AB	Gleissolo 201 A
1000	0,871	ND ^a	0,010	0,376
750	ND ^a	0,303	0,995	0,968
500	0,766	0,246	0,061	0,317
250	0,203	0,366	0,955	0,884
125	0,383	0,732	0,545	ND ^a
60	0,853	0,515	0,942	0,646
30	0,212	ND ^a	ND ^a	0,252

ND^a = Não terminado devido ao número de réplicas; N=3

Tabela 24. Valor- p obtidos no teste de Levene para as variâncias dos teores de COT determinados pelo método proposto

Solo	Valor- p
Chernossolo 202 A	0,026
Latossolo 88 A	0,002
Cambissolo 49 AB	0,038
Gleissolo 201 A	<0,001

Tabela 25 . Valor- p obtido na ANOVA de Welch para o método proposto

Solo	Valor- p
Chernossolo 202 A	<0,001
Latossolo 88 A	<0,001
Cambissolo 49 AB	<0,001
Gleissolo 201 A	<0,001

A importância de se investigar as diferenças significativas observadas para os teores de COT nas massas de solos é identificar, para o método proposto, uma massa a partir da qual não se observe diferença no teor de COT e, assim, recomendar uma massa de solo apropriada para ser empregada nesta nova metodologia.

O *Post hoc* de Games-Howell para o Chernossolo 202 A (Tabela 26) demonstrou que o COT obtido para a massa de 500 mg não diferiu significativamente dos valores obtidos nas massas de 750 e 1000 mg. O mesmo comportamento foi observado para o Latossolo 88 A (Tabela 27). Para o Cambissolo 49 AB (Tabela 28), não foi observado diferença estatística no COT para massas a partir de 60 mg. Contudo, como o desvio padrão obtido para esta massa foi muito alto (o que dificulta a ocorrência de diferença

significativa) e, considerando o perfil observado na Figura 21, nota-se que o COT se torna aproximadamente constante, de fato, a partir da massa de 125 mg. Para o Gleissolo 201 A (Tabela 29), o COT obtido para massas a partir de 250 mg não variou estatisticamente.

Tabela 26. *Post hoc* de Games-Howell para o Chernossolo 202 A com o método proposto

Massa (mg)	PE ^a	Massa (mg)						
		30	60	125	250	500	750	1000
30	DM ^b	—	5,050	7,12	12,7	14,0	16,0	18,4*
	Valor-p	—	0,590	0,232	0,0710	0,0510	0,0580	0,0430
60	DM		—	2,070	7,66	8,91	10,8	13,3
	Valor-p		—	0,923	0,204	0,144	0,119	0,0800
125	DM			—	5,59*	6,85*	8,78*	11,3*
	Valor-p			—	0,0160	0,0200	0,0250	0,0140
250	DM				—	1,26	3,19*	5,70*
	Valor-p				—	0,834	0,0230	0,00100
500	DM					—	1,93	4,44
	Valor-p					—	0,442	0,109
750	DM						—	2,51*
	Valor-p						—	0,00200
1000	DM							—
	Valor-p							—

^aPE = parâmetro estatístico; DM^b = diferença média; *possui diferença estatística ao nível $\alpha=0,05$; N=3

Tabela 27. *Post hoc* de Games-Howell para o Latossolo 88 A com o método proposto

Massa (mg)	PE ^a	Massa (mg)						
		30	60	125	250	500	750	1000
30	DM ^b	—	11,5	11,7	20,12	23,06	23,2	24,8
	Valor-p	—	0,520	0,171	ND ^a	ND ^a	ND ^a	ND ^a
60	DM		—	0,250	8,66	11,6	11,8	13,3
	Valor-p		—	1,00	0,671	0,491	0,479	0,407
125	DM			—	8,41	11,3*	11,5	13,07
	Valor-p			—	0,120	0,0410	0,0720	0,0620
250	DM				—	2,94	3,12*	4,66*
	Valor-p				—	0,311	0,0180	0,00300
500	DM					—	0,178	1,72
	Valor-p					—	1,000	0,663
750	DM						—	1,54
	Valor-p						—	0,153
1000	DM							—
	Valor-p							—

^aPE = parâmetro estatístico; DM^b = diferença média; *possui diferença estatística ao nível $\alpha=0,05$; N=3

Tabela 28. *Post hoc* de Games-Howell para o Cambissolo 49 AB com o método proposto

Massa (mg)	PE ^a	Massa (mg)						
		30	60	125	250	500	750	1000
30	DM ^b	—	0,736	9,74*	9,50*	9,61*	10,56	10,5*
	Valor-p	—	1,00	0,00300	0,0280	0,00500	ND ^b	0,00300
60	DM		—	9,00	8,76	8,88	9,82	9,75
	Valor-p		—	0,570	0,594	0,578	0,515	0,520
125	DM			—	-0,240	-0,126	0,822	0,747
	Valor-p			—	1,00	1,00	0,600	0,781
250	DM				—	0,114	1,0620	0,986
	Valor-p				—	1,00	0,908	0,940
500	DM					—	0,948	0,873
	Valor-p					—	0,369	0,596
750	DM						—	-0,0753
	Valor-p						—	1,00
1000	DM							—
	Valor-p							—

^aPE = parâmetro estatístico; DM^b = diferença média; *possui diferença estatística ao nível $\alpha=0,05$; N=3

Tabela 29. *Post hoc* de Games-Howell para o Gleissolo 201 A com o método proposto

Massa (mg)	PE ^a	Massa (mg)						
		30	60	125	250	500	750	1000
30	DM ^b	—	8,50	13,1	15,6	18,2	19,9	21,5
	Valor-p	—	0,911	0,701	0,595	0,501	0,446	0,402
60	DM		—	4,63	7,13	9,67	11,4	13,0
	Valor-p		—	0,426	0,200	0,0980	0,0780	0,0740
125	DM			—	2,50	5,040	6,75*	8,34*
	Valor-p			—	0,231	0,087	0,015	<0,0001
250	DM				—	2,53	4,25	5,84
	Valor-p				—	0,390	0,0600	0,0520
500	DM					—	1,71	3,31
	Valor-p					—	0,649	0,213
750	DM						—	1,59
	Valor-p						—	0,372
1000	DM							—
	Valor-p							—

^aPE = parâmetro estatístico; DM^b = diferença média; *possui diferença estatística ao nível $\alpha=0,05$; N=3

Portanto, considerando o perfil de variação do COT em função da massa para todos os solos analisados (Figura 21) e os resultados obtidos pela ANOVA de Welch (Tabelas 26 a 29), recomenda-se a utilização de 500 mg de amostra no método proposto. Tal valor se iguala ao valor utilizado pelo método de Yeomans e Bremner.

Finalmente, o que se pode observar, é que tanto o método proposto quanto o método Yeomans e Bremner estão sujeitos à erros sistemáticos, ocasionados pelo efeito da massa de solos empregadas na análise. Contudo, este erro não é um impedimento para a utilização destes métodos como, de fato, já não tem sido há décadas, desde que o método de Yeomans e Bremner vem sendo utilizado. Isso ocorre devido ao uso de metodologias padronizadas com aplicação de fatores de correção, para eliminação de erros sistemáticos. Portanto, a implementação do método proposto deve seguir critérios similares aos adotados pelo método de Yeomans e Bremner, utilizando fatores de correção para a eliminação de eventuais erros.

5.5 Comparação dos Métodos

A Tabela 30 e a Figura 22 listam os teores de COT e os fatores de correção (*f*) encontrados para as 16 amostras de solos analisadas pelo método proposto, de Yeomans e Bremner e pelo método de combustão seca com analisador elementar CHN, sendo este último o método de referência.

Tabela 30. Carbono orgânico total (mg g⁻¹) e fatores de correção (*f*) obtidos na análise dos solos pelo método proposto, Yeomans e Bremner e combustão seca via analisador CHN (referência)

Solo	Carbono orgânico total (mg g ⁻¹)			Fatores de correção (<i>f</i>)		
	Método Proposto ^a	Yeomans e Bremner ^a	Combustão seca ^b	<i>f</i> _{P-YB} ^a	<i>f</i> _{P-C} ^d	<i>f</i> _{YB-C} ^e
Cambissolo 47 BTZ	3,2±0,2	7,2±0,4	5,3	2,2	1,64	0,74
Cambissolo 49 A	20,5±0,9	25,10±0,010	24,0	1,2	1,17	0,96
Cambissolo 49 AB	6,8±0,5	6,7±0,7	9,22	1,0	1,35	1,37
Gleissolo 59 A	11,6±0,5	16,4±0,2	12,19	1,4	1,05	0,74
Cambissolo 71 A	7,5±0,5	10,1±0,5	7,73	1,4	1,03	0,76
Cambissolo 74 BTZ	2,8±0,2	6,1±1,1	4,13	2,1	1,46	0,68
Cambissolo 74 A	12,3±0,8	16,2±0,2	14,03	1,3	1,14	0,87
Cambissolo 75 A	15,8±0,1	20,9±0,2	16,1	1,3	1,02	0,77
Cambissolo 75 BTZ	3,0±0,6	5,4±0,8	4,71	1,8	1,57	0,88
Gleissolo 78 CI	5,7±0,3	8,3±0,4	6,2	1,5	1,09	0,74
Latossolo 88 BTZ	4,2±0,5	7,2±0,4	5,6	1,7	1,32	0,78
Latossolo 88 A	15,2±2,0	17,5±0,3	17,02	1,2	1,12	0,97
Gleissolo 201 BG1	4,8±0,3	8,1±0,2	5,66	1,7	1,19	0,70
Gleissolo 201 ^a	15,0±1,4	15,2±0,2	14,82	1,0	0,99	0,98
Chernossolo 202 BI	8,5±0,8	15,2±0,3	13,75	1,8	1,61	0,90
Chernossolo 202 A	20,2±1,4	26,9±1,2	24,9	1,3	1,23	0,93

^aN = 5; ^bN=1; ^c*f*_{P-YB} = fator de correção do método proposto para o de Yeomans e Bremner; ^d*f*_{P-C} = fator de correção do método proposto para o de combustão seca; ^e*f*_{YB-C} = fator de correção do método Yeomans e Bremner para o de combustão seca

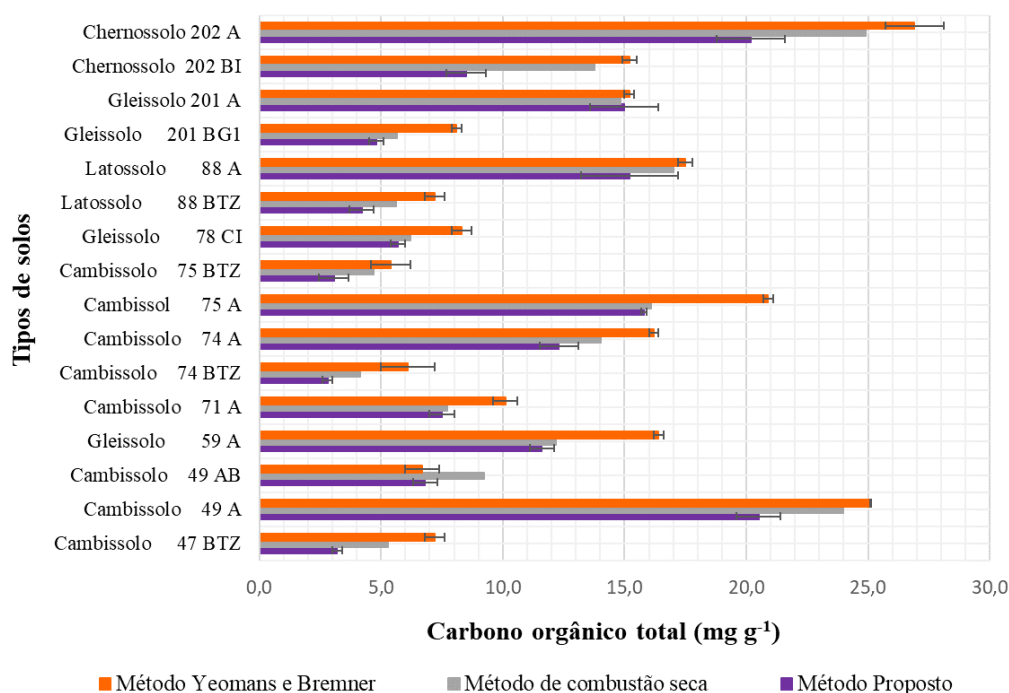


Figura 22. Carbono orgânico total (mg g^{-1}) obtidos nas amostras de solos pelo método proposto, Yeomans e Bremner e combustão seca via analisador CHN (referência)

Considerando os resultados obtidos pelo método de referência (CHN), as amostras de solos apresentam uma faixa razoável de COT, variando de $4,13 - 24,9 \text{ mg g}^{-1}$ (Tabela 30), representando uma dispersão de valores de COT apropriada para os estudos de determinação de carbono orgânico (CARMO & SILVA, 2012).

Comparando os teores de COT das amostras de solos (Tabela 30 e Figura 22), nota-se que o método de Yeomans e Bremner tende a superestimar o carbono orgânico em relação ao método de referência, pois das 16 amostras analisadas, apenas uma delas deu valor de COT abaixo do valor de referência (Cambissolo 49 AB). Tal comportamento sustenta a ideia de ocorrência de reações paralelas ou alguma perda de dicromato ao longo da etapa de oxidação, pois, além disso, o dicromato, apesar de estar em quantidade suficiente para oxidar as amostras de tris-(hidroximetil)-aminometano, lactose e sacarose, foi completamente consumido na etapa de oxidação destes compostos, conforme discussões no tópico 5.3. Outro fator que poderia estar provocando esse erro sistemático, especificamente na análise dos solos, pode ser alguma dificuldade na percepção da cor do ponto final na etapa de titulação devido ao efeito da amostra, que escurece a cor da solução titulada, provocando erro positivo.

O método proposto, por outro lado, tende a produzir teores de COT inferiores aos valores de referência. Das 16 amostras analisadas, apenas uma produziu teor acima do de referência (Gleissolo 201 A), o que poderia ser justificado por uma possível oxidação incompleta da matéria orgânica do solo pelo permanganato de potássio.

Apesar da diferença entre os teores de COT para os métodos proposto e de Yeomans e Bremner, em relação ao método de referência, isso não invalida estes métodos de serem empregados na análise de solos como, de fato, já ocorre para o método de Yeomans e Bremner. Isso porque esta diferença é corrigida pelo uso de fatores de correção.

Considerando o método de referência, os fatores de correção variaram de $0,99 - 1,64$, com fator de correção médio de $1,25 \pm 0,22$, para o método proposto e $0,68 - 1,37$,

com fator de correção médio $0,86 \pm 0,17$, para o método Yeomans e Bremner (Tabela 30). Se o método de Yeomans e Bremner for tomado como referência para o método proposto, os fatores de correção variam de $0,99 - 2,22$ (Tabela 30), com fator de correção médio de $1,49 \pm 0,33$.

Na análise de 53 amostras de solo, realizada por Pereira e colaboradores (2006), os fatores de correção para o método Yeomans e Bremner, utilizando a combustão seca com analisador CHN como referência, estão na faixa de $0,47 - 1,56$. Gatto e colaboradores (2009), em um estudo em 99 amostras de solos (cambissolos, latossolos e neossolos), encontram fatores de correção para o método Yeomans e Bremner, na faixa de $1,09 - 1,52$ em comparação a combustão seca. Portanto, a faixa dos fatores de correção obtidos pelo método proposto neste trabalho ($0,99 - 1,64$) são aceitáveis se considerar as faixas encontradas na literatura para o método de Yeomans e Bremner, demonstrando que o permanganato possui a mesma potencialidade que o dicromato na determinação do COT.

A comparação de métodos analíticos para a determinação do COT é realizada correlacionando o método de referência com o método proposto através de regressão linear (PEREIRA *et al.*, 2006; BARROS, 2016; SAMPAIO *et al.*, 2012; DIAS *et al.*, 2013; RHEINHEIMER *et al.*, 2008). As Figuras 23, 24 e 25 apresentam a curva de regressão linear envolvendo a comparação dos métodos proposto, Yeomans e Bremner e de combustão seca com analisador elementar CHN.

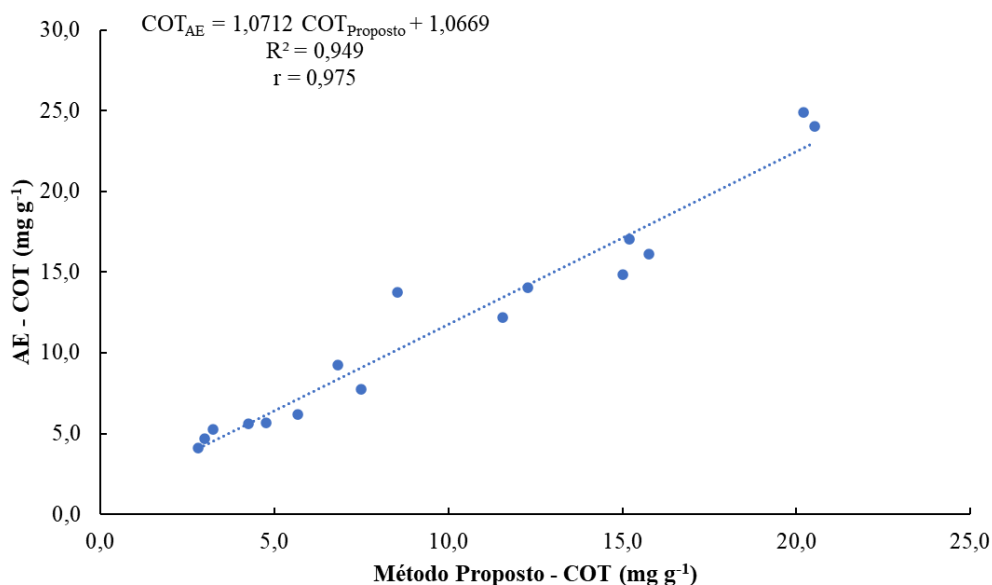


Figura 23. Correlação entre os teores de carbono orgânico total obtidos pelo método proposto e de referência (CHN)

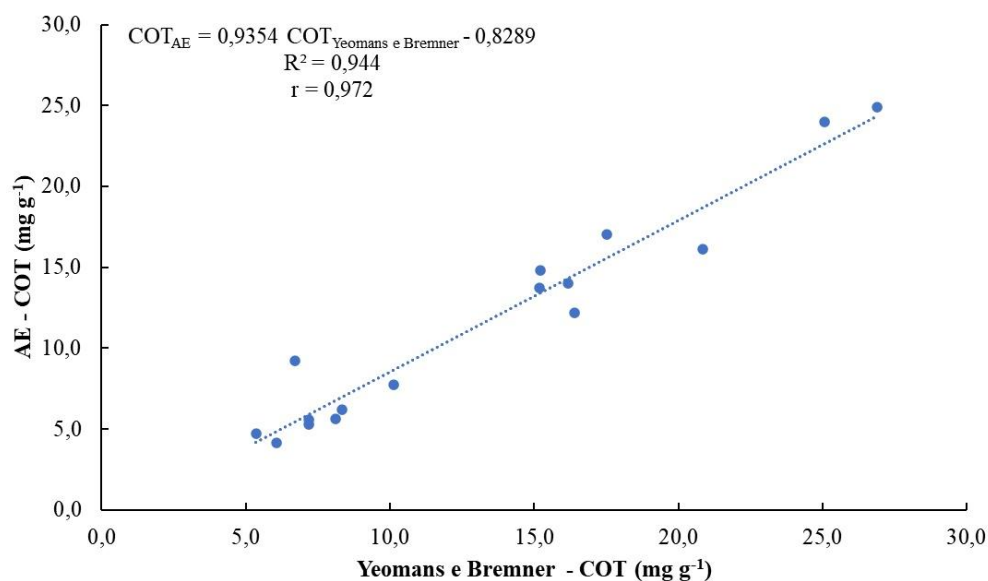


Figura 24. Correlação entre os teores de carbono orgânico total obtidos pelo método Yeomans e Bremner e de referência (CHN)

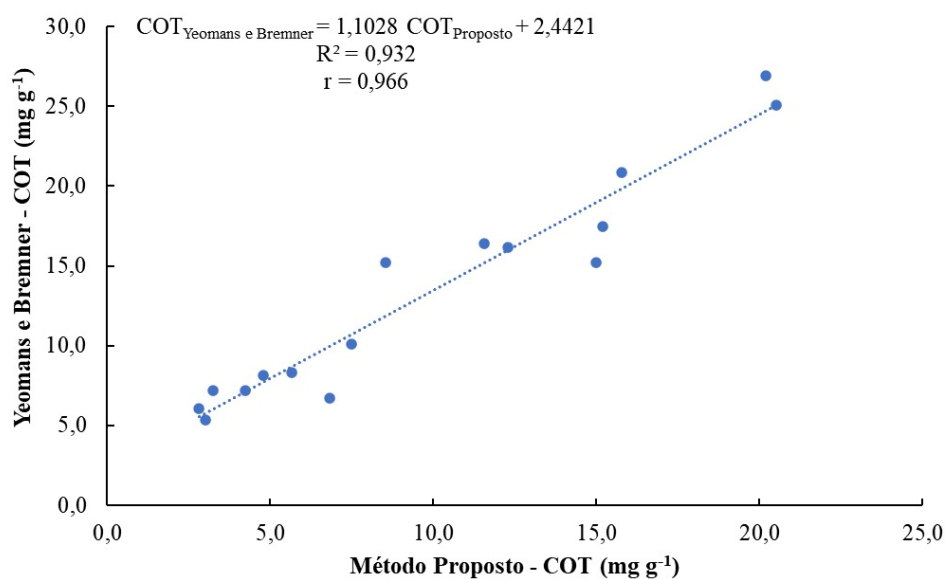


Figura 25. Correlação entre os teores de carbono orgânico total obtidos pelo método proposto e de Yeomans e Bremner

Os teores de COT determinados pelos métodos proposto e de Yeomans e Bremner apresentaram alta correlação linear com o método de referência, sendo semelhantes entre si ($r = 0,975$ e $r = 0,972$, respectivamente). Os coeficientes de determinação do método proposto ($R^2 = 0,949$) foi sutilmente superior ao método de Yeomans e Bremner ($R^2 = 0,944$), demonstrando que o modelo de regressão obtido pelo método proposto (Equação 29) apresenta uma capacidade preditiva semelhante, ou até superior, que ao modelo obtido pelo método Yeomans e Bremner (Equação 30).

$$COT_{AE} = 1,0712 COT_{Proposto} + 1,0669 \quad \text{Equação 29}$$

$$COT_{AE} = 0,9354 COT_{Yeomans \text{ e } Bremner} - 0,8289 \quad \text{Equação 30}$$

onde:

COT_{AE} = teor de carbono orgânico total obtido por combustão seca, em $mg\ g^{-1}$;

$COT_{Proposto}$ = teor de carbono orgânico total obtido pelo método proposto, em $mg\ g^{-1}$;

$COT_{Yeomans \text{ e } Bremner}$ = teor de carbono orgânico total obtido pelo método Yeomans e Bremner, em $mg\ g^{-1}$.

O coeficiente de determinação obtido pelo método de Yeomans e Bremner ($R^2 = 0,944$) foi menor do que o encontrado por Rheinheimer e colaboradores (2008) ($R^2 = 0,97$) e maior do que o encontrado por Pereira e colaboradores (2006) ($R^2 = 0,73$) para o mesmo método. Gatto e colaboradores (2009) encontraram valores na faixa de 0,911 – 0,976, cuja variação se deu de acordo com a classe e a profundidade do solo.

Uma alta correlação linear é observada entre os teores de COT obtidos pelo método proposto e o método de Yeomans e Bremner ($r = 0,966$) (Figura 25), aproximadamente igual à correlação do método proposto com o de referência ($r = 0,975$) (Figura 23). Contudo, o coeficiente de determinação do COT de Yeomans e Bremner a partir do método proposto ($R^2 = 0,932$) (Figura 25) é inferior ao coeficiente do método de combustão seca a partir do método proposto ($R^2 = 0,949$) (Figura 23). Logo, o modelo (Equação 29) preditivo para a determinação do COT do método de combustão seca, a partir do método proposto, é superior ao modelo para a determinação do COT obtido pelo método Yeomans e Bremner (Equação 31).

$$COT_{Yeomans \text{ e } Bremner} = 1,1028 COT_{Proposto} + 2,4421 \quad \text{Equação 31}$$

onde:

$COT_{Yeomans \text{ e } Bremner}$ = teor de carbono orgânico total obtido pelo método Yeomans e Bremner, em $mg\ g^{-1}$;

$COT_{Proposto}$ = teor de carbono orgânico total obtido pelo método proposto, em $mg\ g^{-1}$.

5.6 Viabilidade do Método Proposto na Análise de Solos

Os métodos de via úmida são os mais utilizados para análise de COT (ALLISON *et al.*, 1965; GREWAL *et al.*, 1991; DIAS *et al.*, 2013; SCHUMACHER, 2002; JOHNS *et al.*, 2015), porém possuem a desvantagem do passivo ambiental gerado e os problemas de saúde que podem se acarretados pelo uso do reagente dicromato de potássio, além dos grandes volumes de ácido sulfúrico concentrado, reagente este bastante corrosivo, que deve ser manuseado com cautela e que possui compra controlada (CHILE, 2007; COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, 2019; BRASIL, 2019; ARGENTINA, 2019).

A Tabela 31 compara o consumo de reagentes utilizado e condições para a oxidação do carbono orgânico no método Yeomans e Bremner e no método proposto na análise de 100 amostras de solo.

Tabela 31. Consumo de reagentes e condições de oxidação para o método proposto e de Yeomans e Bremner na determinação de COT em 100 amostras de solos

Condições	Método proposto	Método Dicromato
Agente oxidante	KMnO ₄	K ₂ Cr ₂ O ₇
Volume/Concentração de H ₂ SO ₄	10,00 mL/0,125 mol L ⁻¹	7,5 mL/concentrado
Tempo de aquecimento	30 minutos	30 minutos
Temperatura	95 °C	170 °C
Massa de agente oxidante	31,6 g	24,5g
Volume de H ₂ SO ₄ concentrado	7 mL	850 mL

Para todos os casos, foi desconsiderado os gastos nas padronizações e análise dos brancos.

Pela Tabela 31 observa-se que, além da substituição do dicromato de potássio por um reagente mais amigável ambientalmente, o método proposto possui a vantagem de utilizar apenas 7 mL de ácido sulfúrico concentrado, enquanto o método Yeomans e Bremner utiliza volume cerca de 120 vezes maior.

A combustão seca com AE, apesar de ser a referência para análise de COT, possui a desvantagem do custo elevado de aquisição e manutenção do equipamento. Na Tabela 32 está a comparação dos custos da análise de 100 amostras de solos realizadas pelo método proposto, Yeomans e Bremner e combustão seca. Observa-se que o método proposto apresenta menores custos de consumo se comparado com o método Yeomans e Bremner e de combustão seca.

Tabela 32. Custos avaliados para o método proposto, Yeomans e Bremner e a combustão seca com analisador elementar (CHN) na análise de 100 amostras de solo

Material	Método Proposto	Método Yeomans e Bremner	Combustão seca (CHN)
Agente oxidante	R\$ 3,92 ^a	R\$ 4,55 ^a	-
H ₂ SO ₄ ^a	R\$ 0,65	R\$ 79,13	-
Valor total	R\$ 4,57	R\$ 83,68	R\$ 5.000,00^b

Disponíveis em: ^a<https://www.glasslab.com.br>; ^b<https://caqi.iqsc.usp.br/outras/analizador-elementar/> acessados em 30 de janeiro de 2023

Por outro lado, vale ressaltar, que na análise por combustão seca os custos com a aquisição de equipamentos são muito superiores ao dos dois métodos. Um analisador elementar custa em torno de R\$ 260.000,00. Além disso, há outros consumíveis na combustão seca que foram desconsiderados na Tabela 32, como gás de arraste, cápsulas de estanho etc. No caso do método proposto, há a necessidade de aquisição de um espectrofotômetro UV-VIS para a técnica analítica, enquanto o método Yeomans e Bremner dispensa o uso de instrumentação analítica especial. Contudo, um espectrofotômetro apresenta um custo relativamente baixo (cerca de R\$ 3.500,00) facilitando a implementação da técnica.

6 CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que esta metodologia inovadora para a determinação do COT envolvendo a oxidação da matéria orgânica com o KMnO_4 , em meio fracamente ácido e, posterior, determinação espectrofotométrica do permanganato remanescente apresenta as características necessárias para substituir os métodos atualmente utilizados nos laboratórios de solos. A metodologia apresenta confiabilidade, simplicidade, baixo custo e oferece menores riscos ao analista e ao meio ambiente em relação ao método do dicromato de potássio.

O planejamento fatorial 2^3 demonstrou que temperatura foi o fator que exerceu maior influência na oxidação do carbono orgânico. A oxidação promovida à 95 °C, por 30 minutos empregando H_2SO_4 0,125 mol L^{-1} se mostrou adequada para oxidação do carbono orgânico com o permanganato.

A comparação do carbono oxidado em diferentes matrizes orgânicas demonstrou que o KMnO_4 , nas condições reacionais empregadas, foi capaz de oxidar o carbono orgânico de maneira equiparável ao $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$.

O estudo da variação da massa demonstrou que método proposto apresentou comportamento semelhante ao método Yeomans e Bremner, onde o aumento da massa provoca a diminuição do COT. Nesta etapa, considerando os quatro tipos de solos avaliados, constatou-se que 500 mg de solo é a massa apropriada de amostra para a determinação do COT pelo método proposto. Contudo, diferentemente do método Yeomans e Bremner, o método proposto foi capaz de determinar o COT para todas as massas de amostras analisadas sem a necessidade de reanálise com massas menores.

Os teores de COT determinados pelo método proposto apresentou alta correlação linear com o método de referência, igualmente ao observado no método Yeomans e Bremner. O modelo de regressão obtido pelo método proposto para a determinação do COT apresentou alta capacidade preditiva. Os modelos obtidos possuem capacidade preditiva validada somente dentro dos níveis testados para as variáveis, podendo ser utilizado como um indicativo do que poderia acontecer fora desses intervalos.

Portanto, do ponto de vista analítico, o método proposto apresenta características semelhantes para o conjunto de solos testado, em termos de qualidade dos resultados, ao método Yeomans e Bremner, porém com vantagens adicionais como o menor consumo de ácido sulfúrico, uso de reagentes menos tóxicos e condições reacionais mais brandas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIKEN, G.; KAPLAN, L.; WEISHAA, J. Assessment of relative accuracy in the determination of organic matter concentrations in aquatic systems. *Journal of environmental monitoring* v. 4, n. 1, p. 70-74, **2002**.

ALLISON, L. E. **Organic Carbon**. In *Methods of Soil Analysis*, A.G. Norman (Ed.). **1965**. Disponível em: <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.c39>. Acessado em: 08 set. 2022.

ALLISON, L. E.; BOLLEN, W. B.; MOODIE, C. D. **Total Carbon**. In *Methods of Soil Analysis*, A.G. Norman (Ed.). **1965**. Disponível em: <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.c38>. Acessado em: 08 set. 2022.

AL-TAMRAH, S. A. Spectrophotometric determination of nicotine, *Analytica Chimica Acta*, v. 379, n. 1-2, p. 75-80, **1999**. Disponível: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00517-0](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00517-0). Acessado em: 10 jan. 2023.

AMACHER, M. C.; HENDERSON, R. E.; BRUPBACHER, R. H.; SEDBERRY JUNIOR, J. E. Dichromate-oxidizable and total organic carbon contents of representative soils of the major soil areas of Louisiana, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 17, n. 10, p. 1019-1032, **1986**. DOI: **10.1080/00103628609367771**.

ANALYTICAL METHODS COMMITTEE. Evaluation of analytical instrumentation. Part XIX CHNS elemental analysers. *Accreditation and Quality Assurance* v. 11, p. 569-576, **2006**. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00769-006-0185-x>. Acesso em: 31 jan 2023.

ANASTAS, P. T.; WARNER J. C. **Green Chemistry: Theory and Practice**, Oxford University Press, Oxford, **1998**.

ANGST, G.; MUELLER, K. E.; NIEROP, K. G. J.; SIMPSON, M. J. Plant- or microbial-derived? A review on the molecular composition of stabilized soil organic matter, *Soil Biology and Biochemistry*, v. 156, p. 108-189, **2021**. ISSN 0038-0717. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108189>. Acessado em: 01 fev. 2023.

ARGENTINA, Ministerio de Seguridad; Decreto Nacional N° 593/2019. Resolucion N° 1122/2019 de 27 de agosto de 2019. Manual de Procedimientos Administrativos. Reglamentacion de la Ley Nro 26.045 “del Registro Nacional de Precursores Quimicos”, Buenos Aires, Argentina, 2019. Disponível em: <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/renpremanual-procedimientos-administrativos-resolucion-1122-19.pdf>. Acessado em: 01 out. 2022.

ATSDR - AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Toxicological Profile for Sulfur Trioxide and Sulfuric Acid**. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. **1998**.

ATSDR - AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Toxicological profile for Chromium**. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. **2012**.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 10.004, NBR 10.005, NBR 10.006, NBR 10.007 – **Resíduos Sólidos: Coletânea de normas**. 2.ed. Rio de Janeiro, **2004**. 71p

BAHADORI, M.; TOFIGHI, H. A Modified Walkley-Black Method Based on Spectrophotometric Procedure, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 47, n. 2, p. 213-220, **2015**. DOI:10.1080/00103624.2015.1118118.

BAKR, N.; EL-ASHRY, S. M. Organic matter determination in arid region soils: loss-on-ignition versus wet oxidation, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 49, n. 20, p. 2587-2601, **2018**. DOI: 10.1080/00103624.2018.1526947.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E.; *Como fazer experimentos*, 3rd ed., Unicamp: Campinas, **2007**.

BASAVAIAH, K.; RAJENDRAPRASAD, N. Spectrophotometric assay of pioglitazone hydrochloride using permanganate in acidic and basic media. *Current Chemistry Letters*, v. 7, n. 2, p. 45-56, **2018**.

BASAVAIAH, K.; THARPA, K.; KUMAR U. R. A, RAJEDRAPRASAD, N.; HIRIYANNA S. G.; VINAY K. B. Optimized and validated spectrophotometric methods for the determination of raloxifene in pharmaceuticals using permanganate. *Archives of pharmacal research*, v. 32, n. 9, p. 1271-1279, **2009**. DOI: 10.1007/s12272-009-1913-7.

BATJES, N. H.; SOMBROEK, W. G. Possibilities for carbon sequestration in tropical and subtropical soils, *Global Change Biology*, v. 3, p. 161-173, **1997**.

BERGAMIN FILHO, H.; KRUG, F. J.; ZAGATTO, E. A. G.; ROCHA, F. R. P. **Espectrofotometria no ultravioleta e visível**. Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, **2010**. 21p

BHATTACHARYYA, T.; CHANDRAN, P.; RAY, S. K. ; MANDAL, C. ; TIWARY, P.; PAL, D. K.; MAURYA, U. K.; NIMKAR, A. M.; KUCHANKAR, H.; SHEIKH, S.; TELPANDE, B. A.; KOLHE, A. Walkley-Black Recovery Factor to Reassess Soil Organic Matter: Indo-Gangetic Plains and Black Soil Region of India Case Studies, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 46, n. 20, p. 2628-2648, **2015**. DOI: 10.1080/00103624.2015.1089265.

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**.

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 systems. *Australian Journal of Agricultural Research*, v. **46**, p. 1459-1466, **1995**. Disponível em: <https://doi.org/10.1071/AR9951459>. Acessado em 11 nov. 2022.

BOT, A.; BENITES, J. **The Importance of Soil Organic Matter: Key to Drought-resistant Soil and Sustained Food Production**. Food and Agriculture Organization. **2005**, 78p

BRASIL, Ministério da Justiça e Segurança Pública Gabinete do Ministro; Portaria N° 240, de 12 de março de 2019. **Estabelece procedimentos para o controle e a fiscalização de produtos químicos e define os produtos químicos sujeitos a controle pela Polícia Federal**, Diário Oficial da união (DOU), Brasília, Brasil, 2019. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=14/03/2019&jornal=515&pagina=41>. Acessado em 01 out. 2022.

BRASIL, J. L.; VAGHETTI, J. C. P.; SANTOS JR, B. R. A.; SIMON, N. M.; PAVAN, F. A.; DIAS, S. L. P.; LIMA, E. C. Planejamento estatístico de experimentos como uma ferramenta para otimização das condições de biossorção de Cu (II) em batelada utilizando-se casca de nozes pecã como biossorvente. *Química Nova*. v. 30, n. 2, p. 548-553, **2007**.

BREMNER, J. M. Use of the Van Slyke-Neil manometric apparatus for the determination of organic and inorganic carbon in soil and of organic carbon in soil extracts. *The Analyst*, v. 74, n. 882, p. 492, **1949**. Doi:10.1039/an9497400492.

BRUNETTO, G.; MELO, G. W.; KAMINSKI, J.; FURLANETTO, V.; FIALHO, F. B. Avaliação do método de perda de peso por ignição na análise de matéria orgânica em solos da Serra Gaúcha do Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*, v. 36, n. 6, 1936-1939, p. 425-430, **2006**. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2015.03.048>. Acessado em: 15 dez 2022.

BURGOT, J. L.; *Ionic Equilibria in Analytical Chemistry*; Springer Science & Business Media: Germany, **2012**.

CARMO, D. L.; SILVA, C. A. Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos, *Revista Brasileira de Ciência do Solo* [online]. v. 36, n. 4, p. 1211-1220, **2012**, Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832012000400015>, Acesso em 17 out. 2022.

CHATTERJEE, A.; LAL, R.; WIELOPOLSKI, L.; MARTIN, M. Z.; EBINGER, M. H. Evaluation of Different Soil Carbon Determination Methods, *Critical Reviews in Plant Sciences*, v. 28, n. 3, p. 164-178, **2009**.

CHENU, C.; RUMPEL, C.; LEHMANN, J. *Chapter 13 - Methods for Studying Soil Organic Matter: Nature, Dynamics, Spatial Accessibility, and Interactions with Minerals*, Editor(s): Eldor A. Paul, Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Fourth Edition), Academic Press, p. 383-419, **2015**. ISBN 9780124159556, Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415955-6.00013-X>. Acesso em 31 ago. 2022.

CHILE; Decreto Supremo N° 1.358, 17 de abril de 2007, *Establece normas que regulan las medidas de control de precursores y sustancias químicas esenciales*; Ministerio del Interior, Santiago, Chile, **2007**. Disponível em: <https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=260089>. Acessado em: 01 out. 2022.

COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. 2019/1148/EU: *Commission Decision of 11 July 2019*; Official Journal of the European Union, 2019, L 186, p.1. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/?uri=OJ:L:2019:186:TOC>. Acessado em: 01 out. 2022.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução CONAMA N° 430, de 13/05/2011, que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes. **2011**.

CULMAN, S. W.; SNAPP, S. S.; FREEMAN, M. A.; SCHIPANSKI, M. E.; BENISTON, J.; LAL, R.; DRINKWATER, L. E.; FRANZLUEBBERS, A. J.; GLOVER, J. D.; GRANDY, A. S.; LEE, J.; SIX, J.; MAUL, J. E.; MIRSKY, S. B.; SPARGO, J. T.; WANDER, M. M. Permanganate oxidizable carbon reflects a processed soil fraction that

is sensitive to management, *Soil Science Society of America Journal*, v. 76, p. 494-504, **2012**. Disponível em: <https://doi.org/10.2136/sssaj2011.0286>. Acessado em 19 ago. 2022.

CULMAN, S. W.; SNAPP, S. S.; GREEN, J. M.; GENTRY, L. E. Short- and Long-Term Labile Soil Carbon and Nitrogen Dynamics Reflect Management and Predict Corn Agronomic Performance. *Agronomy Journal*, v.105, p. 493-502, **2013**. Disponível em: <https://doi.org/10.2134/agronj2012.0382>. Acessado em: 19 ago. 2022.

DEGTJAREFF, W. T. Determining soil organic matter by means of hydrogen peroxide and chromic acid, *Soil Science*, v. 29, p. 239-245, **1930**.

DENG, Y.; DIXON, J. B. **Soil Organic Matter and Organic-Mineral Interactions. In Soil Mineralogy with Environmental Applications** (eds J.B. Dixon and D.G. Schulze). 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.2136/sssabookser7.c3>. Acessado em: 17 ago. 2022.

DEVI, O. Z., BASAVAIAH, K.; VINAY, K. B. Application of potassium permanganate to spectrophotometric assay of metoclopramide hydrochloride in pharmaceuticals. *Journal Applied Spectroscopy*, v. 78, p. 873-883, **2012**. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10812-012-9547-9>. Acessado em: 05 out. 2022.

DHILLON, G. S.; AMICHEV, B. Y.; FREITAS, R.; REES, K. V. Accurate and Precise Measurement of Organic Carbon Content in Carbonate Rich Soils, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 46, n. 21, p. 2707-2720, **2015**. DOI: **10.1080/00103624.2015.1089271**.

DIAS, R. S.; ABREU, C. A.; ABREU, M. F.; PAZ-FERREIRO, V.; MATSURA, E. E.; GONZÁLEZ, A. P. Comparison of Methods to Quantify Organic Carbon in Soil Samples from São Paulo State, Brazil, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 44, n. 1-4, p. 429-439, **2013**. DOI: **10.1080/00103624.2013.742345**.

DÍAZ-ZORITA, M. Soil organic carbon recovery by the Walkley-Black method in a typic hapludoll, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 30, n. 5-6, p. 739-745, **1999**. DOI:**10.1080/00103629909370242**.

DIEDERICH, K. M.; RUARK, M. D.; KRISHNAN, K.; ARRIAGA, F. J.; SILVA, E. M. Increasing labile soil carbon and nitrogen fractions require a change in system, rather than practice. *Soil Science Society of America Journal*, v. 83, p. 1733-1745, **2019**. Disponível em: <https://doi.org/10.2136/sssaj2018.11.0458>. Acessado em: 19 ago. 2022.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. **Defining and Assessing Soil Quality. In Defining Soil Quality for a Sustainable Environment** (eds J.W. Doran, D.C. Coleman, D.F. Bezdicsek and B.A. Stewart **1994**. DOI:**10.2136/sssaspecpub35.c1**.

DORAN, J. W.; JONES, A. J.; SIKORA, L. J.; STOTT, D. E. **Soil Organic Carbon and Nitrogen**. SSSA Special Publication. **1996**. DOI:**10.2136/sssaspecpub49.c9**.

DUQUE, C.C. **Determinação de carbono em amostras de solos do estado de são paulo por espectroscopia no infravermelho próximo**, Instituto Agronômico, Campinas, **2018**, 77p

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. 3ª edição revista e ampliada, Brasília, DF, **2017**.

ENANG, R. K.; YERIMA, B. P. K.; KOME, G. K.; VAN RANST, E. Assessing the Effectiveness of the Walkley-Black Method for Soil Organic Carbon Determination in Tephra Soils of Cameroon, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, p. 1–8, **2018**. DOI:10.1080/00103624.2018.151094.

ESCOSTEGUY, P. A. V.; GALLIASSI, K.; CERETTA, C. A. Determinação de matéria orgânica do solo pela perda de massa por ignição, em amostras do Rio Grande do Sul, *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, v. 31, n. 2, p. 247-255, **2007**.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Measuring and modelling soil carbon stocks and stock changes in livestock production systems: Guidelines for assessment (Version 1)**. Livestock Environmental Assessment and Performance (LEAP) Partnership. Rome, FAO. 170 pp. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 2019

FERNANDES, R. B. A.; CARVALHO JUNIOR, I. A.; RIBEIRO JUNIOR, E. S.; MENDONÇA, E.S. Comparison of different methods for the determination of total organic carbon and humic substances in Brazilian soils. *Revista Ceres* [online]. v. 62, n. 5, p. 496-501, **2015**. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0034-737X201562050011>>. Acessado em: 22 set. 2022.

FERREIRA, E. C.; MILORIT, D. M. B. P.; FERREIRA, E. J.; NETO, L. Utilização de espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser (libs) e rede neural artificial para determinação de carbono em solos *In: ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS*, v. 8, Pelotas, RS. **Matéria orgânica ambiental e sustentabilidade**: livro de resumos. Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, **2009**. 95p

FLIEßBACH, A.; OBERHOLZER, H.; GUNST, L.; MÄDER, P. Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming, *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 118, n. 1-4, p. 273-284, **2007**. ISSN 0167-8809. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.05.022>. Acessado em 06 mai. 2022.

FRANKS, C. D.; KIMBLE, J. M.; SAMSON-LIEBIG, S. E.; SOBECKI, T. M. **Organic carbon methods, microbial biomass, root biomass, and sampling design under development**. *Natural Resources Conservations Reprinted from Assessment Methods for Soil Science*, Capítulo 8. Lewis Publishers, Washington, D.C. **2001**.

GALO, A. L.; COLOMBO, M. F. Espectrofotometria de longo caminho óptico em espectrofotômetro de duplo-feixe convencional: uma alternativa simples para investigações de amostras com densidade óptica muito baixa. *Química Nova*, v. 32, n. 2, **2009**.

GANESH, S.; KHAN, F.; AHMED, M.; VELAVENDAN, P.; PANDEY, N.; MUDALI, U. Developed New Procedure for Low Concentrations of Hydrazine Determination by Spectrophotometry: Hydrazine-Potassium Permanganate System, *Journal of Analytical Sciences, Methods and Instrumentation*, v. 2, n. 2, p. 98-102, **2012**. Doi: 10.4236/jasmi.2012.22018.

GATTO, A.; BARROS, N. F.; NOVAIS, R. F.; SILVA, I. R.; MENDONÇA, E. S.; VILLANI, E. M. A. Comparação de métodos de determinação do carbono orgânico em

solos cultivados com eucalipto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 33, n. 3, **2009**. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832009000300026>. Acessado em: 27 jul. 2019.

GERAEI, D. S.; HOJATI, S.; LANDI, A.; CANO, A. F.; Total and labile forms of soil organic carbon as affected by land use change in southwestern Iran, *Geoderma Regional*, v. 7, n. 1, p. 29-37, **2016**. ISSN 2352-0094. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2016.01.001>. Acessado em: 19 ago. 2022.

GESSESSE, T. A.; KHAMZINA, A. How reliable is the Walkley-Black method for analyzing carbon-poor, semi-arid soils in Ethiopia? *Journal of Arid Environments*, v. 153, p. 98-101, **2018**.

GILLMAN, G. P.; SINCLAIR, D. F.; BEECH, T. A. (1986). Recovery of organic carbon by the Walkley and Black procedure in highly weathered soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 17, n. 8, p. 885–892, **1986**. Doi:10.1080/00103628609367759.

GOMES, M. F.; VASCONCELOS, S. S.; VIANA-JUNIOR, A. B.; COSTA, A. N. M.; BARROS, P. C.; RYOHEI KATO, O.; CASTELLANI, D. C. Oil palm agroforestry shows higher soil permanganate oxidizable carbon than monoculture plantations in Eastern Amazonia. *Land Degradation & Development*, v. 32, n. 15, p. 4313-4326, **2021**. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ldr.4038>. Acessado em: 19 ago. 2022.

GONZÁLEZ-PÉREZ, J. A.; GONZÁLEZ-VILA, F. J.; ALMENDROS, G.; KNICKER, H.; The effect of fire on soil organic matter—a review, *Environment International*, v. 30, n. 6, p. 855-870, **2006**. ISSN 0160-4120. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.02.003>. Acessado em 06 mai. 2022.

GOUDA, A. A.; EL-SHEIKH, R.; EL SHAFEY, Z.; HOSSNY, N.; EL-AZZAZY, R. Spectrophotometric Determination of Pipazethate HCl and Dextromethorphan HBr using Potassium Permanganate, *International Journal Biomedic Science*, v. 4, n. 4, p. 294-302, **2008**.

GREWAL, K. S.; BUCHAN, G. D.; SHERLOCK, R. R. A comparison of three methods of organic carbon determination in some New Zealand soils. *Journal of Soil Science*, v. 42, p. 251-257, **1991**.

HARDY, B.; DUFEY, J. E. The resistance of centennial soil charcoal to the “Walkley-Black” oxidation, *Geoderma*, v. 303, p. 37-43, **2017**. ISSN 0016-7061. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.05.001>. Acessado em: 18 ago. 2022.

HAYNES, R. J. Labile Organic Matter Fractions as Central Components of the Quality of Agricultural Soils: An Overview, *Advances in Agronomy*, p. 221–268, **2005**. DOI:10.1016/s0065-2113(04)85005-3.

HEANES, D. L. Determination of Total Organic-C in soils by an improved chromic acid digestion and spectrophotometric procedure. *Journal Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 15, p. 1191-1213, **1984**. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00103628409367551>. Acessado em: 24 jun. 2019.

HOYLE, F. *Managing Soil Organic Matter: A Practical Guide*. Grains Research and Development Corporation, **2013**. Disponível em: <<https://grdc.com.au/resources-and>

publications/all-publications/publications/2013/07/grdc-guide-managingsoilorganicmatter. Acessado em: 27 ago. 2022.

IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Chromium, nickel and welding. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, World Health Organization, IARC, France, Vol. 49, **1990**.

JAMOVI. (Version 2.2) THE JAMOVI PROJECT (2021). [Computer Software]. Disponível em: <https://www.jamovi.org>.

JIMENEZ, R. R.; LADHA, J. K. Automated elemental analysis: A rapid and reliable but expensive measurement of total carbon and nitrogen in plant and soil samples, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 24, n. 15-16, p. 1897-1924, **1993**. DOI: **10.1080/00103629309368926**.

JOHNS, T. J.; ANGOVE, M. J.; WILKENS, S. Measuring soil organic carbon: which technique and where to from here? *Soil Research*, v. 53, n. 7, p. 717, **2015**. Disponível em: <https://link.gale.com/apps/doc/A437395023/AONE?u=capes&sid=bookmark-AONE&xid=05047a5e>. Acessado em 16 set. 2022.

JOHNSTON, A. E.; POULTON, P. R.; COLEMAN, K. Soil Organic Matter: Its Importance in Sustainable Agriculture and Carbon Dioxide Fluxes, *Advances in Agronomy*, v. 101, p. 1-57, **2009**.

KALBUS, G. E.; LIEU, V. T.; KALBUS, L. H. 100 A Spectrophotometric Study of the Permanganate–Oxalate Reaction: An Analytical Laboratory Experiment. *Journal of Chemical Education*, v. 81, n. 1, p. 100-102, **2004**. DOI: **10.1021/ed081p100**

KAMARA, A.; RHODES, E. R.; SAWYERR, P. A. Dry combustion carbon, Walkley–Black carbon, and loss on ignition for aggregate size fractions on a toposequence. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 38, n. 15-16, p. 2005-2012, **2007**. DOI:**10.1080/00103620701548639**.

KERVEN, G. L.; MENZIES, N. W.; GEYER, M. D. Analytical methods and quality assurance, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 31, n. 11-14, p. 1935-1939, **2000**. DOI: **10.1080/00103620009370551**.

KIM, C.; JI, T.; EOM, J. B. Determination of organic compounds in water using ultraviolet LED. *Measurement Science and Technology*, v. 29, n. 4, **2018**. DOI **10.1088/1361-6501/aaa364**

KIRKBY, C. A.; RICHARDSON, A. E.; WADE, L. J.; BATTEN, G. D.; BLANCHARD, C.; KIRKEGAARD, J. A. Carbon-nutrient stoichiometry to increase soil carbon sequestration, *Soil Biology and Biochemistry*, v. 60, p. 77-86, **2013**.

KOMY, Z. R. Comparative study of Titrimetric and Gravimetric Methods for the determination of organic carbon in soils, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v. 60, n. 1, p. 41-47, **1995**. DOI: **10.1080/03067319508027226**.

KOTAŚ, J.; STASICKA, S. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation, *Environmental Pollution*, v. 107, n. 3, p. 263-283, **2000**. ISSN 0269-7491. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00168-2](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00168-2). Acesso em: 15 set. 2022.

KRUPÍŇSKA, I. Impact of the Oxidant Type on the Efficiency of the Oxidation and Removal of Iron Compounds from Groundwater Containing Humic Substances, *Molecules*, v. 25, n. 15, p. 3380, **2020**. DOI: **10.3390/molecules25153380**.

KUMAR, S.; GHOTEKAR, Y. S.; DADHWAL, V. K. C. Equivalent correction factor for soil organic carbon inventory by wet oxidation, dry combustion and loss on ignition methods in Himalayan region, *Journal Earth System Science*, v. 128, n. 62, **2019**. Disponível em: <https://doi-org.ez30.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s12040-019-1086-9>. Acessado em: 17 ago. 2022.

LÃ, O. R.; AZEVEDO, C. C.; BARRA, C. M.; NETTO-FERREIRA, J. B.; SOUSA, E. B.; ROCHA JR, J. G. A green and reliable titrimetric method for total organic carbon determination with potassium permanganate. *Química Nova*, v. 46, n. 2, p. 143-149, **2023**.

LAL, R. Soil carbon sequestration to mitigate climate change, *Geoderma*, v. 123, n. 1-2, p. 1-22, **2004a**. ISSN 0016-7061.

LAL, R. Soil Carbon Sequestration Impacts on Global Climate Change and Food Security. *Science*, v. 304, p. 1623-1627, **2004b**. DOI: **10.1126/science.1097396**.

ŁOBIŇSKI, R.; MARCZENKO, Z.; Recent Advances in Ultraviolet-Visible Spectrophotometry, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, v. 23, n. 1-2, p. 55-111, **1992**.

MACHADO, P. L. O. A.; BERNARDI, A. C. C.; SANTOS, F. S. Métodos de preparo de amostras e de determinação de carbono em solos tropicais. *Embrapa Solos-Circular Técnica (INFOTECA-E)*, **2003**.

MATEJOVIC, I. Determination of carbon, hydrogen, and nitrogen in soils by automated elemental analysis (dry combustion method), *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 24, n. 17-18, p. 2213-2222, **1993**. DOI: **10.1080/00103629309368950**.

MATUS, F. J.; ESCUDEY, M.; FÖRSTER, J. E.; GUTIÉRREZ, M.; CHANG, A. C. Is the Walkley-Black Method Suitable for Organic Carbon Determination in Chilean Volcanic Soils? *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 40, n. 11-12, p. 1862-1872, **2009**. DOI:**10.1080/00103620902896746**.

McBEATH, S. T.; WILKINSON, D. P.; GRAHAM, N. J. D. Analytical quantification of aqueous permanganate: Direct and indirect spectrophotometric determination for water treatment processes, *Chemosphere*, v. 251, 126626, **2020**. ISSN 0045-6535. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126626>. Acessado em: 10 jan. 2023.

MEBIUS, L. J. A rapid method for the determination of organic carbon in soil, *Analytica Chimica Acta*, v. 22, p. 120-124, **1960**. ISSN 0003-2670. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)88254-9](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88254-9). Acessado em: 22 set. 2022.

MENDONÇA, E. D. S.; MATOS, E. D. S. *Matéria Orgânica do solo: métodos de análises*. Viçosa: UFV, **2005**.

METTLER TOLEDO. Análise Elementar de CHNSO – Preparação da Amostra. Disponível em: https://www.mt.com/br/pt/home/applications/Laboratory_weighing/chnso_elemental_analysis.html. Acessado em: 16 jan. 2023.

MIKHAILOVA, E. A.; NOBLE, R. R. P.; POST, C.J. Comparison of Soil Organic Carbon Recovery by Walkley-Black and Dry Combustion Methods in the Russian Chernozem, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 34, n. 13-14, 1853-1860, **2003**. DOI:10.1081/css-120023220.

MINASNY, B.; MCBRATNEY, A. B.; ALEXANDRE M. J. C.; WADOUX, E. N. A.; TENGKU, S. Precocious 19th century soil carbon science, *Geoderma Regional*, v. 22, **2020**. ISSN 2352-0094. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2020.e00306>. Acessado em: 30 mar. 2022.

MINITAB 2020. Suporte ao Minitab 20. Disponível em: <https://support.minitab.com/pt-br/minitab/20/>

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; OLIVEIRA, E. L.; IONASHIRO, M.; SILVA, A. K. Gravimetric Determination of Soil Organic Matter, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 43, p. 475-478, **2000**.

MIYAZAWA, M.; VIEIRA, K. M.; ARAUJO-JUNIOR, C. F.; Determinação espectrofotométrica do Cr^{3+} para estimar carbono orgânico do solo, Anais do XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo – Natal, **2015**.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. 2ª ed. Atualização ampliada, Lavras: Editora UFLA, **2006**, 729p.

NAYAK, A. K.; RAHMAN, M. M.; NAIDU, R.; DHAL, B.; SWAIN, C. K.; NAYAK, A. D.; TRIPATHI, R.; SHAHID, M.; ISLAM, M. R.; PATHAK, H. Current and emerging methodologies for estimating carbon sequestration in agricultural soils: A review, *Science of The Total Environment*, v. 665, p. 890-912, **2019**.

NELSON, D. W.; SOMMERS, L. E. A rapid and accurate procedure for estimation of organic carbon in soils. *Proceedings of the Indiana Academy of Science*, v. 84, p. 456-462, **1974**.

NELSON, D. W.; SOMMERS, L. E. Total Carbon, Organic Carbon, and Organic Matter ASA-SSSA, 677 S. Segoe Rd., Madison, WI 53711, USA. **Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties** - Agronomy Monograph nº 9 (2nd Edition). **1982**.

OLIVEIRA, F. C. C.; BACON, A.; FOX, T. R.; JOKELA, E. J.; KANE, M. B.; MARTIN, T. A.; NOORMETS, A.; ROSS, C. W.; VOGEL, J.; MARKEWITZ, D. A regional assessment of permanganate oxidizable carbon for potential use as a soil health indicator in managed pine plantations, *Forest Ecology and Management*, v. 521, p. 120423, **2022**. ISSN 0378-1127. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2022.120423>. Acesso em: 12 nov. 2022.

OSMAN, K. T. **Soils: Principles, Properties and Management**. **2013**. DOI: 10.1007/978-94-007-5663-2.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introduction to Spectroscopy**. Fifth Edition, Cengage Learning, USA, **2015**.

PEREIRA, M. G.; VALLADARES, G. S.; ANJOS, L. H. C.; BENITES, V. M.; ESPÍNDULA JR., A.; EBELING, A. G. Organic carbon determination in histosols and

soil horizons with high organic matter content from Brazil. *Scientia Agricola*, v. 63, n. 2, **2006**.

PRIBYL, D. W. A critical review of the conventional SOC to SOM conversion factor, *Geoderma*, v. 156, n. 3-4, p. 75-83, **2010**. ISSN 0016-7061. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2010.02.003>. Acessado em: 02 set. 2022.

PUBCHEM - NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Compound Summary for CID 23976, Chromium. **2022a**. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chromium>. Acessado em: 15 set. 2022.

PUBCHEM - NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Compound Summary for CID 1118, Sulfuric acid. **2022b**. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sulfuric-acid>. Acessado em: 15 set. 2022.

QUIMESP, Ficha de informação de segurança de produto químico. 2021. Disponível em: <https://www.quimesp.com.br/pdf/acido-sulfurico-98.pdf>. Acessado em: 31 jan 2023.

RAJENDRAPRASAD, N.; BASAVIAH, K. Determination of olanzapine by spectrophotometry using permanganate. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* [online], v. 45, n. 3, p. 539-550, **2009**. ISSN 2175-9790. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-82502009000300020>. Acesso em: 05 out. 2022.

RANGEL, O. J. P.; SILVA, C. A.; GUIMARÃES, P. T. G.; GUILHERME, L. R. G. Frações oxidáveis do carbono orgânico de latossolo cultivado com cafeeiro em diferentes espaçamentos de plantio. *Ciência e agrotecnologia*, v. 32, n. 2, p. 429-437. **2008**. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000200013>. Acessado em: 07 jan 2023.

RHEINHEIMER, D. S.; CAMPOS, B. C.; GIACOMINI, S. J.; CONCEIÇÃO, P. C.; BORTOLUZZI, E. C. Comparação de métodos de determinação de carbono orgânico total no solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 32, p. 435-440, **2008**.

ROSELL, R. A.; GASPARONI, J. C.; GALANTINI, J. A. **Assessment Methods for Soil Carbon**, Chapter: 21, p. 311-322, *In Soil Organic Matter Evaluation*, Publisher: Lewis Publishers Editors: LAL, R.; KIMBLE, J. M.; FOLLET, R. F.; STEWART, B. A. **2001**.

RUMPEL, C.; KÖGEL-KNABNER, I. Deep soil organic matter - a key but poorly understood component of terrestrial C cycle, *Plant and Soil*, v. 338, n. 1-2, p.143-158, **2010**. DOI:10.1007/s11104-010-0391-5.

SANTI, C.; CERTINI, G.; D'ACQUI, L. P. Direct Determination of Organic Carbon by Dry Combustion in Soils with Carbonates, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 37, n. 1-2, p. 155-162. **2006**. DOI:10.1080/00103620500403531.

SCHOLLENBERGER, C. J. A rapid approximate method for determining soil organic matter *Soil Science*, v. 24, p. 65-68, **1927**.

SCHULTE, E. E.; HOPKINS, B. G. **Estimation of Soil Organic Matter by Weight Loss-On-Ignition**. *In Soil Organic Matter: Analysis and Interpretation*, MAGDOFF, F. R.; TABATABAI, M. A.; HANLON, E. A. eds. **1996**. Disponível em: <https://doi.org/10.2136/sssaspecpub46.c3>. Acessado em: 31 ago. 2022.

SCHNITZER, M. Soil organic matter - the next 75 years. *Soil Science*, v. 151, n. 1, p. 41–58, **1991**. DOI:[10.1097/00010694-199101000-00008](https://doi.org/10.1097/00010694-199101000-00008).

SCHUMACHER, B. Methods for the determination of total organic carbon (TOC) in soils and sediments: ecological risk assessment support center. *Method NCEA-C-1282: United States Environmental Protection Agency*, p. 1-23, **2002**.

SCIENCEDIRECT, Base de Dados. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/>. Acessado em: 01 dez 2022.

SHAMRIKOVA, E. V.; KONDRATENOK, B. M.; TUMANOVA, E. A.; VANCHIKOVA, E. V.; LAPTEVA, E. M.; ZONOVA, T. V.; LU-LYAN-MIN, E. I.; DAVYDOVA, A. P.; LIBOHOVA, Z.; SUVANNANG, N. Transferability between soil organic matter measurement methods for database harmonization, *Geoderma*, v. 412, 115547, **2022**. ISSN 0016-7061. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2021.115547>. Acessado em: 05 dez. 2022.

SIGMA-ALDRICH. Ficha de informação de segurança de produto químico. **2021**. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/sds/mm/sx1248>. Acessado em: 10 jan. 2023.

SILVA, L. M.; RODRIGUES, M. J. M.; TAVARES, O. C. H.; SANTOS, O. A. Q.; WADT, P. G. S.; PEREIRA, M. G. **Determinação dos teores de carbono orgânico em solos do Acre, com diferentes procedimentos analíticos**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, **2021**. 13p.

SILVEIRA, M. V.; LOPES, T. J.; ROSA, G. R. N-arilação do imidazol via CuI: um tutorial para otimização de um sistema catalítico através do planejamento experimental, *Educación Química*, v. 28, n. 1, p. 44-50, 2017.

SLEUTEL, S; NEVE, S; SINGIER, B; HOFMAN, G. Quantification of Organic Carbon in Soils: A Comparison of Methodologies and Assessment of the Carbon Content of Organic Matter, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 38, n. 19-20, p. 2647-2657, **2007**. DOI: [10.1080/00103620701662877](https://doi.org/10.1080/00103620701662877).

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, **2006**.

SOIL SURVEY LABORATORY, **Methods Manual. Soil Survey Investigations Report No. 42**. U.S. Department of Agriculture, Washington, DC. 1992.

SOUZA, D. M.; MORAIS, P. A. O.; MATSUSHIGE, I.; ROSA, L. A. Development of Alternative Methods for Determining Soil Organic Matter. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 40:e0150150, **2016**.

TABATABAI, M. A. **Soil Organic Matter Testing: An Com ponto ou sem ponto**. In Soil Organic Matter: Analysis and Interpretation (eds F.R. MAGDOFF, M.A. TABATABAI AND E.A. HANLON). **1996**. Disponível em: <https://doi.org/10.2136/sssaspecpub46.c1>. Acessado em: 17 ago. 2022.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais (Boletim Técnico, 5)**. 2.ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, **1995**. 174p.

TEIXEIRA, D. R. C. Planejamento fatorial e estudos para escalonamento de um novo agonista parcial de PPAR γ , LPSF GQ-16. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica) - Centro De Biociências, Universidade Federal De Pernambuco, Recife, PE. **2018**. 107p.

VETTORI, L. Métodos de análise de solo. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura-EPFS, (Brasil. Ministério da Agricultura-EPFS. Boletim técnico, 7), **1969**. 24p.

VICENTINI, F. C.; FIGUEIREDO-FILHO, L. C. S.; JANEGITZ, B. C.; SANTIAGO, A.; PEREIRA-FILHO, E. R.; FATIBELLO-FILHO, O. Planejamento fatorial e superfície de resposta: otimização de um método voltamétrico para a determinação de Ag(I) empregando um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono. *Química Nova*, v. 34, n. 5, p. 825-830. **2011**

VICKERY, P. J.; LUTTON, J. J.; BERNETT, R. D. A simple procedure for colorimetric determination of organic carbon in soil, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 26, n. 5-6, p. 899-911, 1995. DOI: **10.1080/00103629509369342**.

VIEIRA, C. F. Avaliação da espectrometria no infravermelho próximo na determinação de C e N de solos da região Sul do Espírito Santo. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde - CCENS, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES. **2019**. 60p.

VITTI, C.; STELLACCI, A. M.; LEOGRANDE, R.; MASTRANGELO, M.; CAZZATO, E.; VENTRELLA, D. Assessment of organic carbon in soils: a comparison between the Springer–Klee wet digestion and the dry combustion methods in Mediterranean soils (Southern Italy), *CATENA*, v. 137, p. 113-119, **2016**. ISSN 0341-8162. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2015.09.001>. Acessado em: 09 set. 2022.

WALINGA, I.; KITHOME, M.; NOVOZAMSKY, I.; HOUBA, V. J. G.; van der Lee, J. J. Spectrophotometric determination of organic carbon in soil, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 23, n. 15-16, p. 1935-1944, **1992**. DOI: **10.1080/00103629209368715**

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 Science*, v. 63, p. 251-263, **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, n. 1, p. 29-38, **1934**

WANG, Q.; LI, Y.; WANG, Y. Optimizing the weight loss-on-ignition methodology to quantify organic and carbonate carbon of sediments from diverse sources. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 174, n. 1-4, p. 241-57, **2011**. DOI: **10.1007/s10661-010-1454-z**.

WESTMAN, C. J.; HYTNEN, J.; WALL, A. Loss-on-Ignition in the Determination of Pools of Organic Carbon in Soils of Forests and Afforested Arable Fields, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 37, n. 7-8, p. 1059-1075, **2006**. DOI: **10.1080/00103620600586292**.

WILBUR S.; ABADIN H.; FAY M.; YU, D.; TENCZA, B.; INGERMAN, L.; KLOTZBACH, J.; JAMES, S. Toxicological Profile for Chromium. Atlanta (GA): Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US); 2012 Sep. PEER REVIEW. **2012**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK158849>. Acessado em 21 jan 2023.

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**.

YEOMANS, J. C.; BREMNER, J. M. Carbon and nitrogen analysis of soils by automated combustion techniques, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 22, n. 9-10, p. 843-850, **1991**. DOI: **10.1080/00103629109368458**.

ZHAO, H.; WANG, L.; ZHANG, H.; WU, X.; ZHAO, B.; HAN, F. Effect of potassium permanganate dosing position on the performance of coagulation/ultrafiltration combined process, *Chinese Journal of Chemical Engineering*, v. 26, n. 1, p. 89-95, **2018**.

ZIMMERMAN, C. F.; KEEFE, C. W.; BASHE, J. **Method 440.0 Determination of Carbon and Nitrogen in Sediments and Particulates of Estuarine/Coastal Waters Using Elemental Analysis**. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/600/R-15/009, **1997**.