
DETERMINACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO EN MUESTRAS DE SUELOS MEDIANTE DOS PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS.

Determination of organic carbon in soils samples using two analytical methods.

Arrieche Isabel y Pacheco Yudila¹

¹ Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias del Estado Yaracuy. bibliciaey@softhome.net.

Resumen

Se compararon dos procedimientos analíticos para la determinación del contenido de carbono orgánico, con el objeto de sustituir la valoración por la técnica colorimétrica, en el método de combustión húmeda de Walkley-Black. La valoración está sujeta a errores operacionales debido a la dificultad en la detección del punto final. Por su parte la técnica colorimétrica tiene la ventaja de un menor consumo de reactivos y de reducir las fuentes de error. Se escogieron tres muestras de suelo con contenido de materia orgánica bajo, medio y alto. Se efectuaron tres repeticiones diarias por muestra, durante treinta días no continuos. Los parámetros estadísticos: media, coeficiente de variación, coeficiente de correlación y prueba de media, aplicados a los resultados obtenidos, permitieron detectar que no existen diferencias significativas entre procedimientos. Estos resultados permiten concluir que el método de la valoración puede sustituirse por el método colorimétrico.

Palabras Claves: Materia orgánica, análisis cuantitativo, colorimetría, valoración.

Abstract

Two analytical procedures to determine the soil organic carbon content were compared in order to decide whether the titration technique could be changed by the colorimetric one in the wet combustion method of Walkley-Black. The titration is always dependent on the final point of the indicator. On the other hand the colorimetric technique consumes less reactive and comprises fewer error sources than the titration. Three soil samples were taken with high, medium and low organic matter content. Three daily repetitions for sample were performed for thirty no continuous days. The statistical parameters: mean, variation coefficient, correlation coefficient and mean test were applied to the final results. There was no significant difference between techniques. In conclusion, the titration technique can be changed for the colorimeter technique.

Key Words: Organic matter, quantitative analysis, colorimetry, titration.

INTRODUCCIÓN

La importancia de la cuantificación del carbono orgánico de los suelos, e indirectamente de la materia orgánica, se fundamenta en la influencia que ésta tiene sobre muchas de las características del mismo, como son: el color, formación de

agregados, plasticidad, cohesión, capacidad de retención de humedad, intercambio catiónico y aniónico, disponibilidad de N, P y S, producción de sustancias inhibidoras y activadoras del crecimiento de microorganismos del suelo, participación en los procesos pedogenéticos, por sus propiedades de peptización, coagulación y formación de quelatos (Fassbender, 1980).

En la caracterización de perfiles de suelos se requiere determinar el contenido de carbono orgánico, para definir el tipo de suelo de interés para uso agrícola. Su valor permite el conocimiento de las relaciones C/N, C/P y C/S de los suelos, parámetros muy importantes en la caracterización de la materia orgánica.

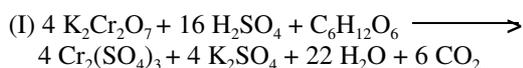
Asimismo, conociendo el contenido de carbono orgánico se puede determinar la cantidad de materia orgánica, multiplicando por el factor convencional de Vammelen (1,724), el cual ha sido obtenido de la consideración de que la materia orgánica de los suelos contiene 58% de carbono, aunque otros autores establecen la necesidad de mejores estudios para su comprobación en suelos tropicales (Broadbent, 1965).

En la estimación del carbono orgánico se utilizan principalmente dos métodos:

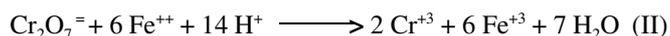
Combustión seca del carbono, en la cual se analiza el CO₂ desprendido.

Combustión húmeda del carbono basada en la reducción del anión dicromato (Cr₂O₇⁼) y posterior evaluación de dicromato no reducido (Fassbender, 1980).

El método más ampliamente utilizado, es el de combustión húmeda de Walkley-Black, descrito por Allison (1965 a), el cual se fundamenta en la siguiente ecuación de óxido-reducción:



La determinación consiste en la oxidación del carbono orgánico por una mezcla oxidante de dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇) y ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄), acelerada por el calor de dilución del H₂SO₄ en agua. El carbono orgánico reduce los iones Cr⁺⁶ amarillo-naranja del dicromato inicial a iones Cr⁺³ de color verde. Walkley y Black (1934) encontraron que por este método, sólo el 75% del carbono orgánico es oxidado. Estequiométricamente, en la ecuación (I), puede determinarse la cantidad de dicromato en exceso que no interviene en la reacción, mediante la técnica de valoración. Normalmente, con esta técnica se utiliza una solución de sulfato ferroso (FeSO₄ o Sal de Mohr), de concentración conocida, y la difenilamina como sustancia indicadora del punto de equivalencia o punto final, esto de acuerdo a la reacción de óxido-reducción siguiente (Kolthoff *et al.*, 1969):



En el procedimiento se deben agregar ciertas sustancias químicas con la finalidad de precisar ese punto de equivalencia. En este sentido, Schollenberger (1927 y 1945), y Allison (1965b), usaron difenilamina en ácido sulfúrico como indicador; Jackson (1958), usó el ácido fosfórico para lograr mayor nitidez en el cambio del color de azul a verde. Por otro lado, cuando en los suelos existen elementos fácilmente oxidables como el cloruro (Cl⁻¹), hierro ferroso (Fe⁺²) y manganeso

(Mn⁺²), se deben tomar las precauciones necesarias para eliminar las interferencias. La literatura señala el uso del nitrato de plata para eliminar los cloruros, secar suficientemente al aire para reducir el hierro, y en cuanto a la presencia de manganeso es muy pequeña en casi todos los suelos (Walkley, 1946). En lo referente al indicador, Knop (1924) fue el primero en proponer el uso de la difenilamina en la titulación del hierro ferroso con dicromato de potasio; establece que la velocidad de oxidación de la difenilamina por el dicromato en medio ácido es relativamente lenta, aunque se cataliza con la reacción entre el hierro ferroso y el agente oxidante. Sin embargo, la poca solubilidad de la difenilamina dificulta su aplicación en presencia de tungstato, así como el exceso que pueda agregarse del mismo, conlleva en ocasiones a resultados irregulares cuando se aplica este indicador (Kolthoff y Sandell, 1965). Uno de los inconvenientes de la técnica de valoración radica precisamente, en el uso del indicador, debido a la dependencia operador-punto final de la valoración, además del tiempo que el proceso consume.

El método de Walkley-Black, por su parte, ha sufrido diversas modificaciones, siempre con la finalidad de mejorar la precisión de los valores obtenidos. Graham (1948), fue el primero en sustituir la valoración por la técnica colorimétrica para los análisis rutinarios, usando el verde del ión Cr⁺³ reducido como una medida directa de la cantidad de carbono oxidado.

En esta investigación se empleó un colorímetro con filtro rojo cercano a una longitud de onda de 620 µm. De igual forma, Carolan (1948), también usó la colorimetría, pero determinando el color amarillo del dicromato no reducido y obteniendo en forma indirecta el carbono medido, al igual que Graham, utilizó un filtro rojo para su cuantificación. Posteriormente, Metson (1956), estudió ambas técnicas ampliamente e indicó preferencia por la modificación de Graham en el método de Walkley-Black, debido a la obtención de datos más reproducibles. Heanes (1984), comparó varios métodos para la determinación del carbono orgánico de los suelos, pero variando el procedimiento colorimétrico para hacerlo más preciso. Introduce la modalidad del calor externo para digerir las muestras y lee la intensidad de los iones Cr⁺³ en un Spectronic 1001, a la longitud de onda de 600 µm. En relación a la longitud de onda, Arrieche y Pacheco (datos no publicados) determinaron en 1992 a nivel experimental, mediante el espectro de absorción, que el máximo de absorbancia del complejo formado por los iones cromo (Cr⁺³), se encuentra a 590 µm. Por otro lado, en los talleres de uniformización de procedimientos analíticos para caracterizar perfiles, llevados a cabo por varias instituciones del país: FONAIAP, CENIAP, FUSAGRI, UCV, MAR-NR, EDAFOFINCA (1992), en la verificación cruzada de datos de muestras de suelos referenciales, los valores correspondientes a la determinación de carbono orgánico presentaron mucha variabilidad entre laboratorios. (FONA-IAP, 1992).

Estos laboratorios usaron la digestión húmeda del método de Walkley-Black, con la técnica de valoración para determinar el contenido de carbono orgánico de esas muestras. Aún cuando existían algunas variantes en la metodología apli-

cada en cada uno de los laboratorios, el denominador común manifestado por los operadores estuvo en la dificultad para lograr determinar el punto final de la valoración. Dada esta problemática, surgió la posibilidad de implementar la técnica colorimétrica como alternativa, pero previo a una comprobación experimental entre procedimientos. El procedimiento colorimétrico, por ser espectrofotométrico, proporciona precisión, exactitud, comodidad y rapidez (Soon *et al.*, 1991). En éste se mide la intensidad del color verde de los iones Cr^{+3} , empleando curvas de calibración, donde se requiere como mínimo cinco soluciones patrones de concentración conocida, preparadas a partir de patrones primarios de sacarosa o glucosa. Siempre y cuando el instrumento de medición (fotocolorímetro), esté en buenas condiciones de operabilidad y cumpla con los rangos de concentración establecidos por la ley de Beer (Skoog y West, 1975), la técnica estará sujeta a menos errores operacionales que el procedimiento de titulación, por lo que se esperarían resultados reproducibles y mas confiables.

El objetivo del presente estudio fue comparar ambos procedimientos analíticos: Valoración y colorimétrico, para determinar el porcentaje de carbono orgánico en muestras de suelos, con la finalidad de sustituir la valoración por el método colorimétrico, en aquellos laboratorios donde se analizan muestras de suelos para caracterizar perfiles.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el estudio se seleccionaron tres muestras de suelo, con contenidos de materia orgánica catalogadas como bajo, medio y alto, según el Manual de Procedimientos de Análisis de Suelos con Fines de Fertilidad (Brito *et al.*, 1990). Estas muestras se tomaron de suelos ubicados en el municipio Libertad del estado Barinas, municipio Carache del estado Trujillo y en el municipio Andrés Eloy Blanco del estado Lara, tomadas a la profundidad de 0–20 cm.

Las muestras de suelo, cuyas propiedades físico-químicas se muestran en el cuadro 1, fueron secadas al aire, trituradas en mortero y pasadas a través de un tamiz de 2 mm de diámetro.

El método aplicado fue el de combustión húmeda de Walkley-Black (Brito *et al.*, 1990), las técnicas se detallan en cada uno de los procedimientos descritos a continuación:

Procedimiento 1 (P1): Pesar 0,5 a 1,0 gramos de suelo, después de cernido con el tamiz de 2 mm de diámetro; agregar 10 ml de dicromato de potasio 1 N; agregar 20 ml de ácido sulfúrico al 97-98 %; agitar suavemente por un minuto y dejar reposar por 30 minutos. Diluir la suspensión a 150 ml con agua destilada. Agregar 10 ml de ácido fosfórico al 85 % y 0,2 gramos de fluoruro de sodio. Valorar el exceso de dicromato de potasio con una solución de sulfato ferroso 0,5 N; usar 30 gotas de difenilamina como indicador. El porcentaje de carbono orgánico (CO), se calcula mediante la fórmula (Martínez, 1974):

$$\% \text{ CO} = \frac{(V_1 N_1 - V_2 N_2)}{\text{Peso de muestra (g)}} \times 0,399$$

V_1 = Volumen de dicromato de potasio (ml)

N_1 = Normalidad del dicromato de potasio (eq.l⁻¹)

V_2 = Volumen del sulfato ferroso gastado en titulación (ml)

N_2 = Normalidad del sulfato ferroso (eq.l⁻¹)

0,399 = Factor de conversión.

Cuadro 1. Propiedades físico-químicas de los suelos Libertad, Carache y Andrés Eloy Blanco.

Propiedades	Suelo		
	Libertad	Carache	Andrés Eloy Blanco
pH (Relación 1:2,5)	5,8	7,1	5,2
Conductividad Eléctrica (ds.m ⁻¹)	0,09	0,08	0,14
Materia Orgánica (%)	2,39	1,55	5,3
Arena (%)	31,6	66,4	60,4
Arcilla (%)	16,2	20,4	14,4
Limo (%)	52,2	13,2	25,2
Calcio (mg.kg ⁻¹)	630	1100	640
Potasio (mg.kg ⁻¹)	158	36	36
Fósforo (mg.kg ⁻¹)	42	11	8

Fuente: Laboratorio de Suelos. FONAIAP. Yaracuy. 1995.

Procedimiento 2 (P2): Pesar 0,5 a 1,0 gramos de suelo, después de cernido por un tamiz de 2 mm de diámetro; agregar 5 ml de dicromato de potasio 1 N y rotar suavemente; agregar 10 ml de ácido sulfúrico al 97-98 % y agitar por 5 a 10 segundos. Dejar reposar por 30 minutos y agregar 50 ml de agua destilada, mezclar y dejar reposar durante toda la noche. Trasvasar la solución sobrenadante a celdas fotocolorimétricas y leer el porcentaje de transmitancia en un fotocolorímetro, a la longitud de onda de 590 μm . El porcentaje de carbono orgánico se determina por la ecuación de regresión de la curva de calibración, determinada previamente, a partir de los patrones primarios de glucosa o sacarosa, preparados en un rango de concentración de 0,00 a 0,04 % de carbono, sometidos al mismo proceso de las muestras, y leídos a la misma longitud de onda. El porcentaje de carbono orgánico se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Carbono Orgánico} = \text{Absorbancia} \times \text{factor de dilución}$$

Se efectuaron tres repeticiones diarias a cada uno de los suelos por los procedimientos señalados, durante un lapso de treinta días no continuos, para un total de noventa determinaciones analíticas para cada muestra y procedimiento. A los valores obtenidos para cada determinación de carbono orgánico, se les determinó la media, el coeficiente de correlación, prueba de media entre procedimientos para cada uno de los suelos se-

leccionados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El porcentaje de carbono orgánico promedio de tres repeticiones, así como el límite superior e inferior de los valores medidos diariamente, están dados en el cuadro 2. De acuerdo a estos valores, la cantidad de carbono orgánico promedio del suelo Andrés Eloy Blanco, es mayor que los suelos Libertad y Carache, y a su vez el suelo Libertad presenta mayor contenido de carbono orgánico que el suelo Carache, lo cual fue estadísticamente significativo al 95 % de probabilidad ($P < 0,05$).

Cuadro 2. Límite superior (Ls), límite inferior (Li) y valores promedio (Media) de carbono orgánico.

Suelo	Procedimiento	Carbono orgánico (%)		
		Ls	Li	Media
Libertad	Valoración	1,63	1,17	1,42 b
	Colorimetría	1,62	1,28	1,45 b
Carache	Valoración	1,01	0,68	0,84 c
	Colorimetría	1,10	0,84	0,92 c
Andrés Eloy Blanco	Valoración	3,45	2,98	3,23 a
	Colorimetría	3,54	3,09	3,38 a

Cuadro 3. Coeficiente de variación (CV) y Coeficiente de correlación (R) obtenidos entre suelos y procedimientos.

Suelo	Procedimiento	CV	R
Libertad	Valoración	12,7	0,69
	Colorimétrico	6,2	
Carache	Valoración	10,7	0,76
	Colorimétrico	8,7	
Andrés Eloy Blanco	Valoración	4,33	0,96
	Colorimétrico	4,14	

En el cuadro 3 se presentan los datos correspondientes al coeficiente de variación (CV), coeficiente de correlación (r), existentes entre procedimientos y muestras de suelos.

Al analizar estos resultados se tiene que el coeficiente de variación fue mayor en los tres suelos bajo estudio con el procedimiento de valoración, que con el procedimiento colorimétrico.

Cuando se estableció la correlación entre procedimientos, para una misma muestra, el coeficiente de correlación (r) fue mas alto para el suelo Andrés Eloy Blanco que para los otros dos suelos, debido probablemente, que al contener los suelos Libertad y Carache menor cantidad de carbono orgánico que el suelo Andrés Eloy Blanco, la variabilidad analítica por la magnitud de la pesada es menor para este último, ya que en este estudio el peso fue uniforme para todas las muestras, 0,5

gramos.

En cuanto al coeficiente de variación (CV), se mantuvo alto con el suelo Carache con ambos procedimientos, siendo esta muestra la de menor contenido de carbono orgánico, lo que implica que el error por el tamaño de muestra (peso), se magnifica por cualquiera de los dos procedimientos, esto determina que cuando la muestra de suelo, tiene un contenido de carbono orgánico menor al 1%, el peso de muestra para el análisis debe ser mayor a 0,5 gramos.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir que el procedimiento colorimétrico para evaluar el carbono orgánico de los suelos puede sustituir al procedimiento de titulación en el método de combustión húmeda de Walkley Black, ya que no existen diferencias significativas entre los procedimientos, excepto para la muestra Carache, que presenta menor contenido de carbono orgánico, por lo que se deben tomar las precauciones para minimizar el error de la determinación por efecto de pesada.

Finalmente, en este estudio se recomienda adoptar la técnica colorimétrica, por resultar más eficiente, económica y rápida, manteniendo a la vez la reproducibilidad de los resultados con menor variabilidad entre ellos, en aquellos laboratorios en los que se emplea la titulación para evaluar el carbono orgánico en muestras de suelos para caracterizar perfiles.

LITERATURA CITADA

- Allison, L.** 1965a. Organic soil carbon by reduction of chromic acid. *Soil Science*. 40:311-320.
- Allison, L.** 1965b Organic carbon, **In:** *Methods of Soil Analysis part 2*. Amer. Soc. of Agronomy. N. 9. pp. 1367-1378.
- Brito, J., I. Rojas y R. Roberti.** 1990. Análisis de suelos para diagnóstico de fertilidad. Manual de métodos y procedimientos de referencias. FONAIAP-CENIAP-MARACAY. 164 p.
- Broadbent, F.** 1965. Organic matter, in: *Methods of Soil Analysis. Part. 2*. Amer. Soc. of Agron. N.9. Madison Wisconsin. pp. 1397-1400.
- Carolan, R.** 1948. Modification of Graham's method for determining soil organic matter by colorimetric analysis. *Soil Science*. 66:241-247.
- Fassbender, H.** 1980. Química de Suelos con énfasis en suelos de América Latina. San José, Costa Rica, I.I.C.A. 398 p.
- FONAIAP** 1992. 7º Taller de Uniformización de procedimientos analíticos con fines de caracterización de perfiles. Reunión de trabajo con los laboratorios de FONAIAP, CE-

- NIAP, FUSAGRI, UCV, MARNR, EDAFOFINCA celebrado en la sede MARNR-Barquisimeto. Cabudare, Edo. Lara.
- Graham, E.** 1948. Determination of soil organic matter by means of photoelectric colorimeter. *Soil Science*. 65:181-183.
- Heanes, D.** 1984. Determination of total organic C in Soils by an improved chromic acid digestion and spectrophotometric procedure. *Comun. in Soil Sci. Plant Anal.* 15 (10):1191-1213.
- Jackson, M.** 1958. *Soil Chemical Analysis*. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N. J.
- Knop, J.** 1924. Oxidations-Reductions Potential. *Journal Chemical Society*. V.46: 263-266.
- Kolthoff, I. y E. Sandell.** 1965. *Tratado de Química Analítica Cuantitativa*. Editorial NIGAR S.R.L. Buenos Aires. 917 p.
- Martínez, B.** 1974. *Compendio de Métodos para Análisis de calicatas*. Guanare. 82p.
- Metson, A.** 1956. *Methods of chemical analysis for soil Survey Samples*. New Zealand. Dept. Sci. Ind. Res. Bur. Bull. 12.
- Schollenberger, C.** 1927. A rapid approximate method for determining soil organic matter. *Soil Science*. 24:65-68.
- Schollenberger, C.** 1945. Determination of soil organic matter. *Soil Science*. 59:53-56.
- Skoog, D. y D. West.** 1975. *Análisis Instrumental*. Editorial Interamericana. S.A. de C.V. México. 717p.
- Soon, Y. y S. Abboud.** 1991. Comparison of some methods for soil organic carbon determination. *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.* 22:943-954.
- Walkley, A.** 1946. A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils effect of variations in digestion conditions and of inorganic constituents. *Soil Sci.* 63:251-263.
- Walkley, A y I. Black.** 1946. A examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37:29-38.
-