JOSÉ FERRAZ NETO

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO POR ANÁLISE DE IMAGENS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência do Solo.

Orientador: Dra. Mari Lucia Campos

LAGES, SC
2015

F381d

Ferraz Neto, José

Desenvolvimento de metodologia para determinação de matéria orgânica do solo por análise de imagens / José Ferraz Neto. – Lages, 2015.

85 p.: il.; 21 cm

Orientador: Mari Lucia Campos

Bibliografia: p. 74-85

Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Lages, 2015.

1. Carbono orgânico total. 2. Método colorimétrico. 3. Intensidades RGB. I. Ferraz Neto, José. II. Campos, Mari Lucia. III. Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo. IV. Título

CDD: 631.41 – 20.ed.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Setorial do CAV/ UDESC

JOSÉ FERRAZ NETO

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO POR ANÁLISE DE IMAGENS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência do Solo.

Banca Examinadora

Orientador/Presidente:	Dr[a]. Mari Lucia Campos (UDESC – Lages-SC)
Co-orientador:	Dr. Marcelo Alves Moreira (UDESC – Lages-SC)
Membro externo:	Dr[a]. Giselle De Boit Nuernberg (UNIFACVEST – Lages-SC)
Membro interno:	Dr. Luciano Copo Gatiboni (UDESC – Lages-SC)

Lages, SC, 15/05/2015

Dedico esta Dissertação aos meus pais, a minha esposa e a minha filha,
pelo constante incentivo e apoio ao longo da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Augusto e Maristela por sempre acreditarem nos meus sonhos e terem me ajudado a conquista-los.

Á minha Esposa, Fernanda, por ser a companheira que sempre desejei ao meu lado e por sempre me incentivar a continuar buscando o melhor para nossa família.

Á minha filha, Rafaela a quem eu amo incondicionalmente.

Ao Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) que me acolheu como profissional e como acadêmico.

Á Prof[a]. Dra. Mari Lucia Campos por sempre ter acreditado no meu potencial enquanto profissional, por ter aceitado ser minha Orientadora e pela amizade cultivada.

Aos colegas de trabalho Daniel Bernardino, Henrique Germano e Matheus Machado pelos ensinamentos e pelos bons momentos compartilhados ao longo dos dias de trabalho.

Ao Prof. Dr. Hugo Gallardo do Departamento de Química da UFSC, por ter cedido o seu laboratório para utilização de equipamentos analíticos.

Aos colegas de pós-graduação, em especial a Ariane Andreola, pela amizade e sua disposição em me ajudar a ter acesso a importantes referências bibliográficas para elaboração do trabalho.

"Nossa maior fraqueza está em desistir. O caminho mais certo para vencer é tentar mais uma vez."
Thomas Edison

RESUMO

FERRAZ NETO, J. **Desenvolvimento de metodologia para determinação de matéria orgânica do solo por análise de imagens**. 2015, 85p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo – Área : Ciências Agrárias) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Lages, 2015.

A matéria orgânica do solo (MOS) é formada por um conjunto de compostos químicos que possuem diferentes taxas de decomposição, e os produtos desses processos resultam como fontes principais de enxofre, fósforo e nitrogênio para o solo. Devido a sua grande importância para o solo, é de extrema importância a quantificação do teor da MOS. Como a sua composição consiste em carbono (C), hidrogênio (H), oxigênio (O), nitrogênio (N), fósforo (P) e enxofre (S), dentre outros, torna-se difícil a determinação do seu teor. A maioria das técnicas analíticas mensuram apenas carbono e estimam a MOS por um fator de conversão. A pesquisa teve por objetivo o desenvolvimento de uma metodologia analítica para quantificação de matéria orgânica do solo por meio de um método colorimétrico baseado em análise de imagens. O método proposto utilizou o processo de oxidação de carbono da metodologia Walkley-Black e as soluções resultantes foram inseridas em celas espectrofotométricas para que um *smartphone* equipado com uma câmera digital, com um detector CCD (*charge coupled device)*, registre as imagens. Estas foram tratadas com o software ImageJ e na imagem de cada solução foi selecionado uma área de 100x100p no qual extraíram-se as intensidades RGB (*Red, Green e Blue*, modelos de cores, especialmente para dados de 8 bits). Analisou-se os valores RGB e suas relações com as concentrações de MOS, resultando que o canal *RED* apresentou a melhor relação com o teor de matéria orgânica. Os dados foram modelados por meio de uma regressão linear (A_{RED} = 0,1222 MOS – 0,1621; R^2 = 0,9934 e $p < 0,05$) e assim foi possível a construção de um modelo que relaciona a intensidade de cor com a concentração. O método prposto apresentou exatidão de aproximadamente 71% usando uma amostra de solo padronizada

(LUFA Speyer – tipo 2.2), similar ao resultado obtido com o método usado atualmente (Walkley-Black) que foi de 74%.

Palavras-chaves: Carbono orgânico total. Método colorimétrico. Intensidades RGB.

ABSTRACT

Ferraz Neto, J. **Development of methodology for determination of soil organic matter by image analysis**. 2015, 85p. Thesis (MS in Soil Science - Area: Agrarian Sciences) - University of the State of Santa Catarina. Postgraduate program in Soil Science, Lages, 2015.

The soil organic matter (SOM) is formed by a set of chemical compounds which have different decomposition rates and products of these processes result as the main source of sulfur, phosphorus and nitrogen into the soil. Because of its great importance to the ground, it is of utmost importance to quantify MOS content. Its composition consists of carbon (C), hydrogen (H), oxygen (O), nitrogen (N), phosphorus (P) and sulfur (S), among others, it is difficult to determine its content. Most analytical techniques measure only carbon and estimate the MOS by a conversion factor. The study aimed to develop an analytical method for quantification of soil organic matter by means of a colorimetric method based on image analysis. The proposed method used the carbon oxidation process of Walkley-Black methodology and the resulting solutions were inserted into spectrophotometer cells for a smart phone equipped with a digital camera with a CCD detector (charge coupled device) register the images. These were treated with ImageJ software and the image of each solution has been selected from an area in which 100x100p were extracted RGB intensities (Red, Green and Blue colors, designs, especially for 8-bit data). We analyzed the RGB values and its relations with the MOS concentrations, resulting that the RED channel showed the best relationship with the organic matter content. The data were modeled by a linear regression (ARED = 0.1222 MOS - 0.1621; R^2 = 0.9934 and $p < 0.05$) and it was possible to build a model that relates the color intensity with concentration. The proposed method showed accuracy of approximately 71% using a standard soil sample (LUFA Speyer - type 2.2), similar to the result obtained with the method currently used (Walkley-Black) which was 74%.

Key-words: Total organic carbon. Colorimetric method. RGB intensities

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Espectro eletromagnético destacando a fração que é visível ao olho humano 27

Figura 2 – Círculo cromático RGB (a) e círculo cromático CMY (b)... 28

Figura 3 – Esquema de funcionamento de um espectrofotômetro 29

Figura 4 – Principio de operação de um espectrofotômetro 30

Figura 5 – Espaço de cores do modelo RGB..... 31

Figura 6 – Espectros de absorção UV-Vis para $3x10^{-2}$M de Cr (III) 34

Figura 7 – Diagrama termogravimétrico de um Latossolo Vermelho com 1,98% de matéria orgânica no qual pode ser visualizado a progressiva perda de massa ao longo de uma ampla faixa de temperatura..... 41

Figura 8 – Imagem das soluções com concetrações crescentes de mos obtidas para os solos do Programa de Controle de Qualidade da ROLAS que abrangem concentrações de matéria orgânica entre 1,4 e 7,0% e o histograma rgb obtido pelo software imagej 60

Figura 9 – Correlação entre os canais RGB e a concentração de matéria orgânica para solos do programa ROLAS..... 58

Figura 10 – Gráficos de correlação entre as metodologias Walkley-Black com fotocolorimetria (WBC), Analisador de carbono orgânico total (COT) e Perda por ignição (PPF_{600}) versus Walkley-Black com análise de imagem digital (CID) 66

Figura 11 – Gráficos de correlação entre as metodologias termogravimetria (TGA_{600}) e Oxidação por peróxido de hidrogênio (OPH) versus Walkley-Black com quantificação por análise de imagem digital (CID)..... 68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização química e física dos solos Nitossolo Bruno Distrófico típico (PL), Cambissolo Húmico Alumínico (LG), o Neossolo Litólico Húmico (SJ) e Organossolo Fólico Sáprico típico (BJ)..... 50

Tabela 2 – Qualidade do ajuste do modelo por meio do índice de confiança 53

Tabela 3 – valores médios de RGB para os solos do Programa de Controle de Qualidade da ROLAS que abrangem concentrações de matéria orgânica entre 1,4 a 7,0 % 57

Tabela 4 – Modelos de regressão dos canais red e green e os respectivos testes de hipótese (H0: B0=0 / H1: B0≠ 0) E (H0: B1=1 / H1: B1 ≠ 1) 60

Tabela 5 – Valores médios e desvio padrão de carbono orgânico para o solo referência (LUFA) determinado por Walkley-Black com quantificação por analise de imagem digital (CID), Walkley-Black com quantificação fotocolorímetrica (WBC), Analisador de carbono orgânico 61

Tabela 6 – Valores médios, desvio padrão e coeficientes de variação para concentrações de MOS obtidas pelo método CID para os solos lufa, Nitossolo Bruno (PL), Cambissolo húmico (LG), o Neossolo Litólico e o Organossolo Fólico (BJ)..... 63

Tabela 7 – Concentrações de MOS para as amostras de solo com diferentes metodologias determinado pelos métodos CID, WBC, COT, PPI_{600}, TGA_{600} E OPH 64

Tabela 8 – Testes de hipótese para os coeficientes obtidos na análise de correlação entre as metodologias WBC, COT, PPI_{600}, TGA_{600} e OPH versus Walkley-Black com análise de imagem (CID)..... 68

Tabela 9 – parâmetros de Willmott para os modelos obtidos entre Walkley-Black com quantificação fotocolorímetrica (WBC), Analisador de carbono orgânico total (COT), Perda por ignição (PPI_{600}), Termogravimetria (TGA_{600}) e Oxidação por peróxido de hidrogênio (OPH) versus Walkley-Black com quantificação por análise de imagem digital (CID). 69

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 21

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 23

2.1 MATÉRIA ORGÂNICA 23
2.2 ANÁLISE DE IMAGEM DIGITAL EM QUÍMICA ANALÍTICA E CIÊNCIAS AGRÁRIAS 24
2.3 ANÁLISE DE IMAGENS DIGITAIS 26
2.3.1 Modelo de cores 26
2.3.2 Medição colorimétrica 28
2.4 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO 31
2.4.1 Métodos de oxidação via úmida 31
2.4.1.1 Walkley-Black (WB) 32
2.4.1.2 Peróxido de hidrogênio (OPH) 31
2.4.2 Métodos de oxidação a seco 38
2.4.2.1 Perda por ignição (PPI) 31
2.4.2.2 Termogravimetria (TGA) 40
2.4.2.3 Analisador de carbono orgânico total (COT) 42

3 HIPÓTESES 45

4 OBJETIVOS 47

4.1 OBJETIVO GERAL 47
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 47

5 MATERIAL E MÉTODOS 49

5.1 COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS 50
5.2 REAGENTES: 51
5.3 EQUIPAMENTOS: 51
5.4 ESTATÍSTICAS: 51
5.5 ANÁLISE COLORIMÉTRICA POR IMAGEM DIGITAL (CID) 53
5.6 WALKLEY-BLACK COLORIMÉTRICO (WB_C) 54
5.7 ANALISADOR DE CARBONO ORGÂNICO TOTAL (COT) 55
5.8 PERDA POR IGNIÇÃO (PPI) 55
5.9 OXIDAÇÃO POR PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (OPH) 55
5.10 ANÁLISE TERMOGRAVIMETRICA (TGA) 56

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO 57

6.1 COLORIMETRIA POR IMAGEM DIGITAL (CID) 57
6.2 CORRELAÇÃO ENTRE CID E OUTROS MÉTODOS 63

7 CONCLUSÃO 73

REFERÊNCIAS 74

1 INTRODUÇÃO

A matéria orgânica do solo (MOS) é formada por um conjunto de compostos orgânicos que possuem características contrastantes. Esses compostos possuem uma ampla faixa de peso molecular, variando desde pequenas a macromoléculas, característica essa que confere a MOS diferentes taxas de biodegradação no meio ambiente. A heterogeneidade de sua composição também influência a solubilidade de seus compostos e por consequência a sua biodisponibilidade. A composição elementar da MOS é prioritariamente de carbono, todavia, outros elementos também fazem parte da sua composição, tais como hidrogênio, nitrogênio, oxigênio, enxofre e fósforo.

A determinação analítica da matéria orgânica do solo sempre se mostrou um grande desafio aos pesquisadores. O grande entrave para a correta aferição do teor de MOS se dá devido a sua heterogeneidade composicional. A maioria das metodologias propostas baseiam-se em medições indiretas do seu teor, como é o caso do método Walkley-Black (1934) que consiste em uma oxidação parcial do carbono da MOS por meio de uma solução sulfocrômica e a partir de fatores de conversão infere-se o teor de matéria orgânica. Muitas outras abordagens foram propostas desde métodos gravimétricos, por meio da queima em mufla, por exemplo, a métodos mais sofisticados como os analisadores elementares.

O presente trabalho propõe-se a contribuir com uma nova abordagem metodológica para determinação da matéria orgânica do solo. O estudo visa a utilização de metodologias de análises de imagens digitais para fins quantitativos. O método proposto buscará estudar a correlação entre os canais RGB de uma imagem digital e o teor de matéria orgânica do solo, para construção de modelos matemáticos para predição de suas concentrações.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MATÉRIA ORGÂNICA

A matéria orgânica do solo (MOS) refere-se a todo o material orgânico em solos, incluindo biomassa microbiana, compostos orgânicos solúveis em água, bem como matéria orgânica estabilizada (húmus) (STEVENSON, 1994). O solo pode ser considerado como um ecossistema vivo e dinâmico e está em constante interação com a biota animal e vegetal ao seu redor. As plantas obtêm nutrientes de duas fontes naturais principais: matéria orgânica e minerais. Além disso, para prover nutrientes e um hábitat adequado aos organismos vivos que vivem no solo, a MOS une partículas do solo formando agregados e também melhora a capacidade de retenção de água do solo. A maioria dos solos contêm entre 2-10% de matéria orgânica (VAUGHAN, 1985). Entretanto, mesmo em pequenas quantidades, a matéria orgânica é muito importante.

A MOS é formada por um conjunto de compostos químicos que possuem diferentes taxas de decomposição, e os produtos desses processos resultam como fontes principais de enxofre, fósforo e nitrogênio para o solo. Além disso, devido à natureza transitória da MOS ela deve ser continuamente renovada através da adição de resíduos vegetais e animais ao solo (KUMADA, 1988). Pode-se ainda atribuir a MOS melhorias nos atributos químicos, físicos e biológicos do solo.

Devido a sua grande importância para o solo, é de extrema importância a quantificação do teor da MOS. Como a sua composição consiste em carbono (C), hidrogênio (H), oxigênio (O), nitrogênio (N), fósforo (P) e enxofre (S), torna-se difícil a determinação do seu teor (BOHN, 2001). A maioria das técnicas analíticas mensuram apenas carbono e estimam a MOS por um fator de conversão. Sabendo-se que a MOS é

constituída entre 50 a 58% de carbono, para uma análise em que é determinado o carbono orgânico do solo (COS) utiliza-se fatores de conversão que variam desde 1,724 (fator de Van Bemmlen) a 2,0 para obtenção do teor de MOS (SLEUTEL et. al., 2007). Todavia, devido heterogeneidade da composição do solo e de sua matéria orgânica alguns trabalhos mostram que não há fator universal de conversão. A pesquisa de Sleutel et al., (2007) em que investigou a quantificação de matéria orgânica em solos da Bélgica com diferentes metodologias obteve um fator de conversão de 1,911. De forma similar Wang et al., (2012) estudaram três metodologias para determinação de carbono orgânico e inorgânico em solos derivados de rocha calcária da China determinaram um fator de conversão de 2,71. Esses fatores podem ser ainda muito maiores a depender da metodologia utilizada na análise, bem como das características intrínsecas a cada tipo de solo, como mostram os trabalhos de Conceição et al., (1999) que obtiveram um valor de 3,18 para solos do Rio de Janeiro, enquanto que Miyazawa et. al., (2000) determinaram para alguns solos do estado do Paraná o valor de 3,72.

Existem métodos analíticos destrutivos e não destrutivos para determinação da MOS, de maneira que os primeiros são de longe os mais utilizados. Dentre os métodos destrutivos, existem metodologias que utilizam oxidação úmida, enquanto outras se baseiam em oxidações secas.

2.2 ANÁLISE DE IMAGEM DIGITAL EM QUÍMICA ANALÍTICA E CIÊNCIAS AGRÁRIAS

O uso de imagens digitais em métodos analíticos é um campo recente com menos de duas décadas de desenvolvimento. Um dos trabalhos pioneiros atribui-se ao estudo de Monemi et al. (1999) que ao utilizarem uma câmera com um dispositivo de carga acoplada (CCD - *charge coupled device*) determinaram um tipo de proteína por meio de reações

de quimiluminescência. A partir de então vários foram os trabalhos que se utilizaram de análise de imagens para fins analíticos, podendo-se citar o monitoramento do escurecimento de tecidos vegetais (LUPETTI et al., 2005), determinação de íons amônio (STRÖMBERG e HULTH, 2005), classificação de diferentes cervejas (ZHANG et al., 2006), determinação de alcalinidade em água (GAIÃO et al., 2006), determinação colorimétrica de pH (SAFAVI et al., 2007), quantificação colorimétrica de permanganato, glicose e proteínas (MINAMISAWA et al., 2008),

De forma pioneira o estudo de Lyra et al. (2009) propôs pela primeira vez o uso de um webcam para realizar uma análise quantitativa baseada em espectroscopia de emissão atômica. O trabalho demonstrou a possibilidade de determinação de lítio, sódio e cálcio em amostras de antidepressivos, soro fisiológico e água. A produção científica continuou consistente pelos próximos anos, destacando-se os trabalhos de Soldat et al. (2009) que utilizaram um método de análise de imagem digital por meio de um scanner para demonstrar a determinação colorimétrica de íons amônio, brometo, nitrato e fosfato em microplacas. Enquanto que o trabalho de Lopez-Molinero et al. (2010) utilizaram uma câmera digital de 2.0 M pixels de resolução para determinação colorimétrica de titânio em amostras plásticas,

Ainda merecem destaque os trabalhos de determinação de acidez total em vinhos (TÔRRES et al., 2011), quantificação de As(III) na ordem de partes por bilhão (IQBAL et al., 2011), determinação de dureza de água por cálcio (LOPEZ-MOLINERO et al., 2013), quantificação de Cr(VI) em amostras de solos (OLIVEIRA et al., 2013). Neste último, Oliveira et al. (2013) propuseram um método baseado na extração alcalina a quente de Cr (VI) de amostras de solo. Ao extrato é adicionado um reagente colorimétrico 1,5-difenilcarbazida que para então forma-se o um complexo violeta com Cr (VI). Os autores utilizaram um scanner

comercial para registrar imagens digitais do complexo de Cr (VI). Os autores utilizaram modelos de mínimos quadrados parciais construídos com parâmetros obtidos das imagens digitais. Os resultados da metodologia proposta foram consistentes com aquelas obtidos pelo método oficial que se utiliza de um espectrômetro a 540nm.

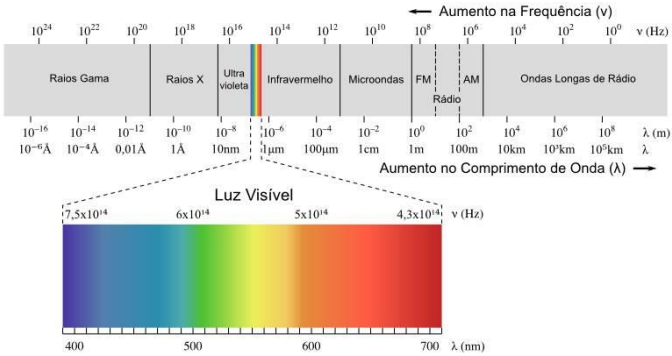
Entretanto, não foram encontrados relatos na literatura sobre o uso de analise de imagem digital para quantificação de MOS.

2.3 ANÁLISE DE IMAGENS DIGITAIS

2.3.1 Modelo de cores

A noção de cor é uma descrição de uma percepção visual relativa a uma sensibilidade dos olhos a diferentes componentes espectrais da luz (BRILL, 1980). A Figura 1 ilustra o espectro eletromagnético, no qual o olho humano é capaz de detectar apenas uma fração que é conhecida como luz visível.

Figura 1 - Espectro eletromagnético destacando a fração que é visível ao olho humano.

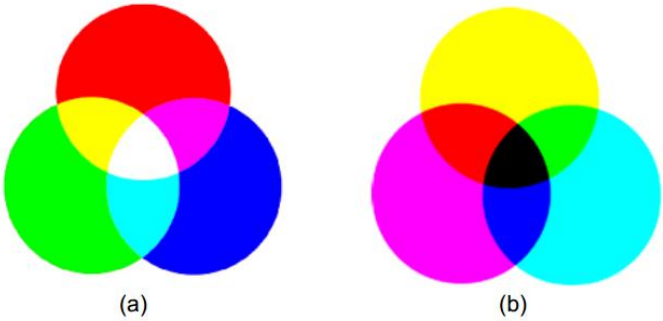


Fonte:<http://www.infoescola.com/fisica/espectro-eletromagnetico/>. Acessado em 26/02/15.

O modelo RGB (*RED-GREEN-BLUE*) determina três cores dominantes ou ditas primárias aditivas: vermelho (*RED*), verde (GREEN) e azul (*BLUE*) que ao se combinarem em níveis variados de intensidade formam todas as cores possíveis existentes no espectro visível. O modelo RGB é dito aditivo no sentido que três feixes de luz interagem aditivamente e o espectro de luz final é uma resultante derivada desse processo (ROCHA, 2010). Caso cada componente tenha uma intensidade mínima resultará em uma cor preta, enquanto uma intensidade máxima produzirá a cor branca

Há também os modelos ditos subtrativos, por exemplo o CMY (*Cyan-Magenta-Yellow*). As cores primárias subtrativas deste modelo são o ciano (*cyan*), magenta (*magenta*) e amarelo (*yellow*). Nesse sistema as cores são obtidas pela subtração do comprimento de onda da luz branca, por isso a cor resultante corresponde à luz que é refletida (ROCHA, 2010). Na Figura 2 pode ser visto o círculo cromático dos sistemas aditivos e subtrativos.

Figura 2 - Círculo cromático RGB (a) e Círculo cromático CMY (b).



Fonte: FÜLLGRAF, 2012.

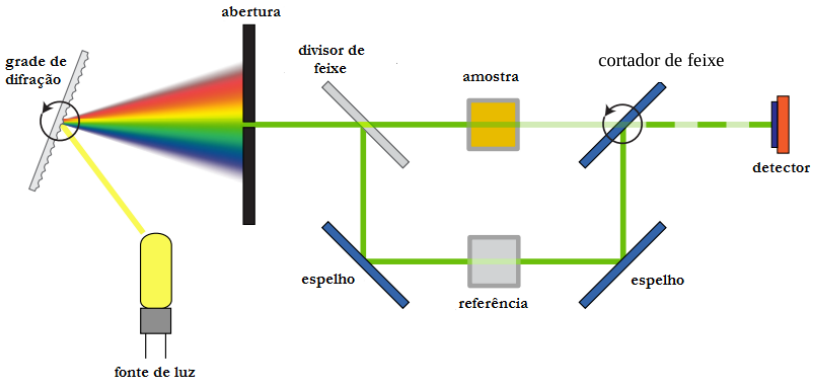
2.3.2 Medição colorimétrica

Embora o olho humano seja sensível a cor, fatores subjetivos tornam a medida de cor contaminada por vícios. Portanto, uma quantificação objetiva é alcançada pelo uso de dispositivos eletrônicos foto sensíveis, tais como fotodiodos, fotoresistores e fotomultiplicadoras (BERNS, 2000). Esses dispositivos podem ser divididos naqueles baseados em espectroscopia e colorimetria. Os primeiros têm seu funcionamento baseado na quantificação absoluta da intensidade da cor como função do comprimento de onda, enquanto os últimos descrevem a cor relativa em termos da intensidade de subcomponentes da cor, frequentemente em conexão com a resposta visual do olho humano.

A espectrofotometria descreve uma quantificação absoluta da cor em termos da intensidade da luz ao longo do espectro visível. Medidas espectrais podem ser realizadas tanto por um espectrofotômetro ou um espectrômetro. O primeiro funciona pela iluminação de uma amostra com uma fonte de luz monocromática variável e medindo a intensidade de luz

refletida ou transmitida como função do comprimento de onda. Um esquema de espectrofotômetro está representado na Figura 3.

Figura 3 - Esquema de funcionamento de um espectrofotômetro.



Fonte: Adaptado de Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy – Hewlett Packard.

Enquanto que o espectrômetro consiste na iluminação de uma amostra por uma fonte de luz branca, dispersando os componentes espectrais da luz refletida/transmitida utilizando um prisma ou grade e medindo a intensidade como função do comprimento de onda utilizando um arranjo de diodos, como mostra a ilustração da Figura 4.

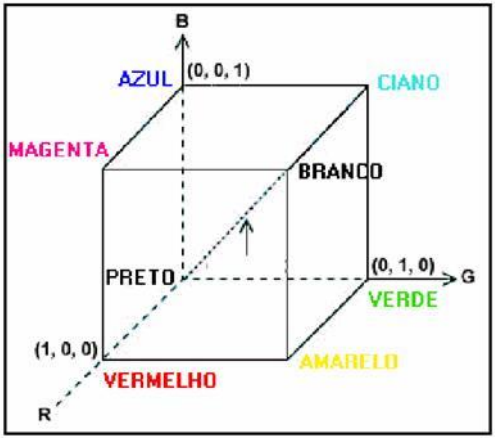
Figura 4 - Princípio de operação de um espectrômetro.

Fonte: Adaptado de Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy – Hewlett Packard.

A colorimetria consiste em um processo de quantificação relativa de cor em termos da intensidade de porções selecionadas do espectro visível. Uma das tecnologias colorimétricas mais difundidas são os sensores de imagem RGB encontrados na maioria das câmeras digitais. Esses sensores consistem em dispositivos de carga acoplada (CCD – *charge coupled device*) ou mesmo semicondutores metal-óxido complementar (CMOS – *complementary metal-oxide semiconductor*). Cada fotodiodo é coberto por filtros vermelhos, verdes e azuis, os quais atuam similarmente a resposta a iluminação dos três tipos de células cones do olho humano (UMBAUGH, 2005).

As cores e intensidades de uma imagem digital no sistema RGB normalmente são dados de 24 bit (8 bit para cada canal) formando um espaço geométrico, em forma de cubo, nos quais as luzes R, G, B são adicionadas conjuntamente para reproduzir uma ampla variedade de cores (FIRDAUS, 2014), que está ilustrado na Figura 5.

Figura 5 - Espaço de cores do modelo RGB.



Fonte:<http://www.ufrgs.br/engcart/PDASR/formcor.html>. Acessado em 26/02/15.

As intensidades de cada cor possuem 256 níveis, abrangendo de 0 a 255. Nesse sistema de cor, um total de 16.777.216 cores é possível se obter. A combinação R = 0, G = 0, B = 0 representará o preto puro, enquanto R = 255, G = 255, B = 255 corresponde ao puro branco. Os valores RGB dependem de muitos fatores, incluindo a luz da fonte de iluminação, a reflectância do objeto, efeitos de interpretação e de correção da câmera utilizada (FIRDAUS, 2014). Esses fatores em conjunto introduzem certo grau de erro e diferenças quando uma mesma cor é comparada em diferentes imagens.

2.4 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO

2.4.1 Métodos de oxidação via úmida

2.4.1.1 Walkley-Black (WB)

No Brasil, a metodologia mais utilizada na maioria dos laboratórios de análise de solos, consiste na determinação do COS através de uma oxidação úmida com um sal de dicromato (potássico ou sódico) com ácido sulfúrico concentrado, seguida de uma titulação do excesso de cromo com uma solução de sulfato ferroso amoniacal, metodologia essa conhecida por Walkley-Black (WB) (ESCOSTEGUY et al., 2007)

O método WB foi adotado amplamente devido a sua simplicidade, rapidez e pela necessidade mínima de equipamentos de laboratório, todavia, possui alguns inconvenientes do ponto de vista analítico, bem como de geração de resíduos tóxicos. Em relação ao primeiro ponto, diversos estudos têm mostrado que o método fornece uma oxidação incompleta do COS e principalmente de formas elementares de carbono presentes na MOS. Uma temperatura de 120°C é obtida no processo de diluição do ácido sulfúrico concentrado, essa condição é suficiente para oxidar formas orgânica de carbono ativas, mas não aquelas inertes e mais recalcitrantes (ALISSON, 1965). O trabalho de Walkley e Black (1934) resultou em uma recuperação entre 30 e 86% do carbono orgânico presentes nos solos estudados. Em relação ao segundo ponto, o método WB gera resíduos que possuem quantidades substanciais de Cromo (III) e (VI), que são tóxicos e tem regulamentada, a sua concentração máxima em efluentes pela legislação brasileira, por meio do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) na resolução nº 430 de 13 de maio de 2011 que estabelece em 1,0 e 0,10mg.L^{-1}, respectivamente.

A determinação da MOS pelo método WB é uma análise indireta. Inicialmente deve-se determinar a quantidade de íons cromo que reagiu com o carbono presente no solo e em sequência utilizar um fator de conversão para transformar o

carbono em matéria orgânica. As reações químicas que governam o método WB são apresentadas abaixo:

i. Reação do íon dicromato com carbono

$$2Cr_2O_7^{2-} + 3C^0 + 16H^+ \rightarrow 4Cr^{3+} + 3CO_2 + 8H_2O \quad (1)$$

No método original o excesso de dicromato é então retrotitulado com uma solução padrão de Fe^{2+} para então determinar a quantidade que reagiu de acordo com a reação a seguir:

ii. Reação do íon ferroso com $Cr_2O_7^{2-}$

$$6Fe^{2+} + Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ \rightarrow 2Cr^{3+} + 6Fe^{3+} + 7H_2O \quad (2)$$

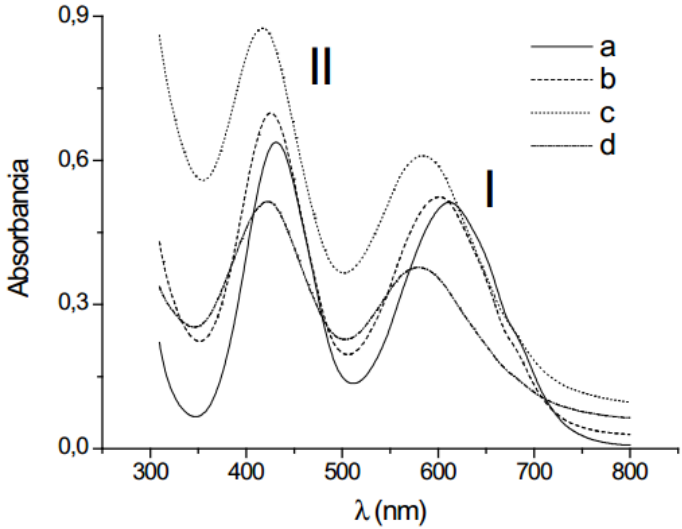
Foram realizadas diversas modificações da metodologia WB para superar as limitações digestivas do carbono, uma das quais foi proposta por Mebius (1960) que adicionou aquecimento externo de 150 °C por 30 min ao longo do período de digestão. A temperatura deve ser estritamente controlada, já que há decomposição da solução de dicromato em temperaturas superiores (ISLAM e WEIL, 1998). Com intuito de melhorar a eficiência do processo de aquecimento do método WB diversos grupos de pesquisa têm proposto diferentes configurações de aquecimento, tempo, reagentes, etc. Azam e Sajjad (2005) usaram o método WB colorimétrico juntamente com um forno de microondas como meio de aquecimento em substituição ao método original. A nova proposta mostrou-se adequada e pode ser usada como substituta já que oferece claras vantagens como tempo reduzido de aquecimento e de reagentes.

Outra variação do WB consiste no uso da técnica de espectroscopia de absorção molecular no visível (colorimetria). Essa variante baseia-se na determinação da quantidade de íons

dicromato utilizado na oxidação do COS por meio da sua absorção molecular (NELSON e SOMMERS, 1996).

Como as espécies Cr^{6+} a Cr^{3+} absorvem luz visível, o comprimento de onda utilizado é um parâmetro importante. O cromo (III) possui dois picos de absorção em 450 e 590 nm, e o cromo (VI) possui apenas em 450 nm (ISLAM e WEIL, 1998). Entretanto, no máximo de absorção do pico de Cr(III) em 590nm, não há absorção de luz interferente do íon Cr(VI). Uma vantagem de mensurar o íon Cr(III) é que existe um aquocomplexo estável $[Cr(H_2O)]^{+3}$ em meio ácido. A Figura 6 apresenta o espectro de absorção molecular do Cr (III) em diferentes valores de pH.

Figura 6 - Espectros de absorção UV-Vis para $3x10^{-2}$ M de Cr (III).



Legenda: (a) pH 2,0; (b) pH 3,0; (c) pH 4,0 e (d) pH 7,0.
Fonte: COSTA et. al., 2010.

Medidas espectrofotométricas de Cr (III) obtidas em 590nm em misturas de solo com solução ácida de cromato são diretamente proporcionais a quantidade de carbono orgânico oxidado. Bowman (1998) concluiu que a exatidão do método colorimétrico quando comparado a um analisador CN foi adequada para solos com menos de 1,3% de COT, enquanto que para aquelas amostras com mais de 1,3% a exatidão foi melhorada pela redução do tamanho das amostras. O método WB colorimétrico mostrou-se adequado para amostras até 3% de MOS e que sejam livres de carbonatos. CHACÓN et al., (2002) estudaram a eficiência do método WB titulométrico e uma de suas variações colorimétricas.

A metodologia WB é amplamente utilizada, principalmente, em países onde os laboratórios não possuem muitos recursos disponíveis para aquisição de instrumentos mais modernos, tais como analisadores elementares do tipo CHN ou CHN/S ou mesmo analisadores de carbono orgânico total. As variações da metodologia WB são consideradas como química clássica, tanto pelos aparatos laboratoriais serem simples e acessíveis para qualquer laboratório, bem como pelo uso de reagentes extremamente tóxicos. Dessa maneira, outras metodologias foram propostas visando contornar alguns desses inconvenientes.

2.4.1.2 Peróxido de hidrogênio (OPH)

Dentro dos métodos de oxidação úmida, pode-se citar a oxidação do COS com uma solução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) seguida de determinação gravimétrica (BORTOLIN e CASSOL, 2010). Esse método tem sido amplamente utilizado pela Rede de Laboratórios da Comissão Estadual de Laboratórios de Análise de Solo – CELA/PR.

O método consiste na adição de peróxido de hidrogênio concentrado (30 a 50%) a uma quantidade conhecida de solo. O conjunto é deixado reagir por um determinado período,

podendo ser aquecido ou não, e após o processo de oxidação ter-se completado, a amostra é levada a secagem a 105°C e pesada. O teor de matéria orgânica, em percentagem, é obtido de acordo com a seguinte equação:

$$MOS_{H2O2}(\%) = \frac{M_{INICIAL} - M_{H2O2}}{M_{INICIAL}} \text{ X } 100 \qquad (3)$$

Onde:

MOS_{H2O2}= Teor em percentagem de matéria orgânica.
$M_{INICIAL}$ = Massa do solo isento de umidade.
M_{H2O2}= Massa do solo após a reação com H_2O_2 e seco a 105°C.

O processo de oxidação da matéria orgânica por peróxido de hidrogênio possui algumas limitações, dentre das quais pode-se citar principalmente a sua capacidade oxidativa reduzida.

Vários são os mecanismos de oxidação do peróxido de hidrogênio em contato com o solo (PETIGARA et al., 2002). Um desses mecanismos está apresentado no conjunto de equações a seguir:

$$\text{—}Fe^{3+} + H_2O_2 \rightarrow \text{—}Fe^{2+}\ O_2^- + 2H^+ \quad (4)$$

$$O_2^- + \text{—}Fe^{3+} \rightarrow \text{—}Fe^{2+} + O_2 \quad (5)$$

$$O_2^- + \text{—}Fe^{2+} + 2H^+ \rightarrow \text{—}Fe^{3+} + H_2O_2 \quad (6)$$

$$\text{—}Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow \text{—}Fe^{3+} + OH + OH^- \quad (7)$$

Nas reações a espécie —Fe^{3+} representa o ferro na forma de um ligante ou ocupando um sítio na superfície de um óxido. As equações acima formam uma reação Haber-Weiss catalisada por Ferro.

$$O_2^- + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH + OH^- \quad (8)$$

Se o OH gerado na reação 7 reagir exclusivamente com o H_2O_2, teremos:

$$OH + H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2 + O_2^- + H^+ \quad (9)$$

Então, a reação global torna-se:

$$2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O \quad (10)$$

O radical hidroxila é um forte oxidante que reage com a maioria das substâncias orgânicas e inorgânicas (PETIGARA et al., 2002). Portanto, os compostos orgânicos constituintes da matéria orgânica do solo também estão presentes no ciclo de oxirredução do peróxido de hidrogênio.

Farine et al., (2011) realizaram um estudo comparativo de dois métodos para determinação do teor de carbono orgânico do solo. A pesquisa avaliou a metodologia Walkley-Black e a do peróxido de hidrogênio para um conjunto de 48 solos do estado do Paraná. Concluíram que a determinação por peróxido possui viabilidade de uso, pois, os teores não diferiram consideravelmente se comparados ao método padrão adotado.

Borges et al., (2013) avaliaram o uso do peróxido de hidrogênio para determinação de COS como uma alternativa mais simples e ecológica. O trabalhou selecionou 18 amostras de Latossolos oriundas do Cerrado. O método padrão para fins de comparação foi o Walkley-Black. A pesquisa mostrou uma correlação positiva e significativa (R^2=0,82), demonstrando o potencial de uso do peróxido de hidrogênio como agente oxidante em substituição ao dicromato.

2.4.2 Métodos de oxidação a seco

2.4.2.1 Perda por ignição (PPI)

O método de perda por ignição consiste na combustão de uma amostra de solo em altas temperaturas e a determinação da massa perdida após a queima. Considera-se que essa massa corresponda a matéria orgânica do solo e o resíduo da queima é atribuída a parcela mineral do solo. A amostra de solo antes de ser incinerada em forno, deve-se receber um tratamento prévio de aquecimento a 105°C de maneira a eliminar toda a umidade presente na amostra. O teor de matéria orgânica é calculado pela fórmula a seguir:

$$MOS_{PPI}(\%) = \frac{M_{INICIAL} - PPI_{600°C}}{M_{INICIAL}} \text{ X } 100 \qquad (11)$$

Onde:

MOS_{PPI}= Teor em percentagem de matéria orgânica
$M_{INICIAL}$ = Massa do solo isento de umidade.
$PPI_{600°C}$ = Massa do solo após a combustão a 600°C.

Diversos são os trabalhos que mostram a viabilidade do método na determinação da matéria orgânica do solo (SILVA et al., 1999; MIYAZAWA et al., 2000; SLEUTEL et al., 2007; ESCOSTEGUY et al., 2007; BIANCHI et al., 2008; KASOZI et al., 2009; WANG et al., 2012; TUFFOUR et al., 2014; HOOGSTEENet al., 2015). A técnica em questão pode ser considerada simples e mais barata quando comparada a técnicas automatizadas, como o caso de analisadores elementares e mesmo aos métodos químicos tradicionais, como o caso do Walkley-Black.

Silva et al., (1999) estudaram a eficiência de cinco métodos de quantificação do teor de MOS das cinco principais

classes de solos (três Latossolos, um Argissolo e um Organossolo) do Centro Sul de Minas Gerais. Testaram-se comparativamente cinco métodos: WB modificado; Pirofosfato; Análise Elementar; perda por ignição. O método PPI superestimou os teores de MOS; o método WB subestimou os teores de MOS; o método do pirofosfato se mostrou adequado para amostras com teores de matéria orgânica acima de 2,95 dag kg^{-1}.

Bianchi el al., (2008) coletaram quarenta e cinco solos do estado do Paraná possuindo uma grande variação no conteúdo de carbono orgânico (de 1,5 a 65 g kg^{-1}) e analisaram o conjunto de solos por meio da metodologia WB e por PPI. O parâmetro estimado pelo WB foi carbono orgânico do solo (COS) e a perda de massa foi assumida como perda de matéria orgânica do solo (MOS). O COS foi correlacionado positivamente com a MOS (R^2 = 0,912).

Mccarty et al., (2010) estudaram a eficácia na determinação do COS em amostras com baixo teor de carbono (menos de 5 g kg^{-1} solo) em vários solos do oeste africano. O trabalho avaliou a determinação por análise elementar, bem como por metodologias indiretas, tais como: oxidação via dicromato (WB), perda de massa por ignição (PPI) e por espectroscopia de infravermelho por reflectância difusa (DRIFT). Os resultados demonstraram que tanto o método WB como o PPI possuem limitações quando utilizados para analisar solos com baixo teor de carbono. Porém, a técnica DRIFT apresentou resultados melhores e considerados promissores, por ser considerada uma técnica simples, barata, rápida e não destrutiva.

Apesar da aparente simplicidade do método de perda por ignição, a otimização das temperaturas ótimas de combustão, bem como o tempo de duração do processo, ainda não foram padronizados em literatura. Ao longo de diversos trabalhos publicados o que se encontra são diversas temperaturas sugeridas que variam desde 360°C por 2h

(KONEN et al., 2002; BRUNETTO et al., 2006; ESCOSTEGUY et al., 2007), bem como 300, 400 e 600°C por 2h (ABELLA E ZIMMER, 2006). A pesquisa de Hoogsteen et al., (2015) avaliou temperaturas entre 350 e 600°C para solos holandeses e foi constatado que ao menos uma temperatura de 550°C é necessária para obter uma completa oxidação da matéria orgânica. Nos diversos trabalhos encontrados em literatura também se observa uma variedade de tempos de combustão como é o caso do trabalho de Wang et al., (2012) no qual o solo foi incinerado a 375°C por 17 horas. Bem como no estudo de Ghabbour et al., (2014) foi adotado temperaturas entre 350-650°C por um período de 12 horas.

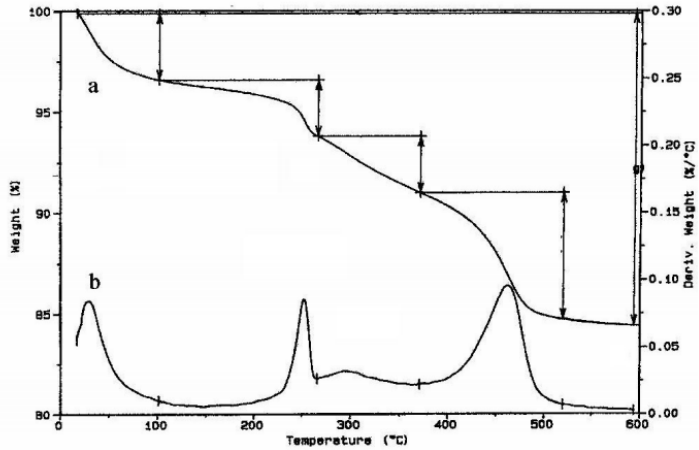
A correta determinação da temperatura de combustão aplicada ao método da perda de ignição tem sua importância não só pela combustão completa da matéria orgânica, mas também problemas de exatidão podem surgir devido a possíveis combustões derivadas de argilas e quando nenhum fator de correção é aplicado, têm-se uma superestimação do teor real de matéria orgânica do solo. Esse fenômeno pode ser explicado pela remoção de águas ligadas a sesquióxidos e outros elementos pertencentes a óxidos de argila. Altas temperaturas também podem colaborar pela liberação de água de carbonatos, bem como de sais hidratados. A desidratação de minerais de argila está relacionada a liberação de moléculas de água não ligadas, bem como aquelas entre camadas e em último caso haverá um processo de perda de hidroxila ligada aos minerais de argila conhecido por dehidroxilação (HOOGSTEEN et al., 2015)

2.4.2.2 Termogravimetria (TGA)

As metodologias gravimétricas também passaram por um avanço tecnológico e uma dessas representantes é a análise termogravimétrica (TGA). O seu princípio de operação consiste em registrar variações de massa, sejam perdas ou

ganhos, em função da temperatura ou tempo. A perda de massa associada a uma reação termal é medida entre pontos de inflexão de uma curva termogravimétrica (TG). Todavia, é mais simples de interpretar e resolver eventos termais pela plotagem da derivada da curva TG, como ser visto na Figura 7.

Figura 7 - Diagrama termogravimétrico de um Latossolo Vermelho com 1,98% de matéria orgânica, no qual pode ser visualizado a progressiva perda de massa ao longo de uma ampla faixa de temperatura.



Fonte: MIYAZAWA et al., 2000.

Plante et al., (2009) publicaram uma revisão sobre o uso das técnicas de análises térmicas em ciências do solo. No qual destacaram que o primeiro registro de uso em solos foi em 1935 no estudo de minerais de argila e que o estudo da parte orgânica por muitos anos foi negligenciado. Somente na década de 50 quando os primeiros equipamentos com atmosfera controlada surgiram é que os primeiros estudos da

parte orgânica do solo em análises térmicas começaram a ser publicados.

A técnica quando aplicada a análise de solos originalmente foi utilizada para estudar a parte mineral dos componentes do solo (argila e óxidos), geralmente após a retirada da matéria orgânica. Embora uma variedade de formas de carbono esteja presente nos solos, pode também variar em seu comportamento cinético, permitindo suas distinções e quantificações utilizando taxas controladas de aquecimento (PALASSER et al., 2013).

Miyazawa et al., (2000) avaliaram a viabilidade da técnica de TGA para determinação de matéria orgânica em uma variedade de solos brasileiros com diferentes características físicas e químicas. Em seu estudo foi escolhido como método referencial o tradicional Walkley-Black. Os dados obtidos mostraram uma correlação de 0,937 entre os resultados obtidos pelo TGA com uma temperatura de incineração de 300°C e o método referência adotado no estudo

2.4.2.3 Analisador de carbono orgânico total (COT)

As metodologias que utilizam combustão a seco automatizadas, consistem em queimar a amostra em um forno a altas temperaturas (>750°C) e o produto resultante da combustão (CO_2) é quantificado por um detector. Existem dois equipamentos possíveis de serem utilizados para essa finalidade: Analisadores Elementares ou Analisadores de Carbono Orgânico Total (COT – *Carbono Orgânico Total*). Apesar de sua grande eficácia analítica, esses equipamentos ainda não são amplamente adotados nos laboratórios brasileiros devido ao alto custo para aquisição dos instrumentos

Sleutel et. al., (2007) avaliaram cinco metodologias para determinação da MOS em 57 solos distintos da Bélgica. Foi adotado como método padrão a combustão seca por meio do analisador elementar vario MAX CNS, os demais métodos

estudados foram o Walkley-Black, Springer-Klee, perda de massa por ignição (PPI) e analisador de carbono orgânico total (COT). Foram encontradas ótimas correlações entre os métodos WB e o Springer-Klee, enquanto os resultados obtidos pelo COT subestimaram ligeiramente os valores de carbono orgânico.

Segnini et al., (2008) realizaram um estudo comparativo de métodos para determinação de carbono em solo com altos teores de Fe. As técnicas estudadas foram a Walkley-Black, analisadores COT e elementar. Os resultados mostraram que a metodologia com maior precisão foi a do analisador COT e os autores do trabalho atribuem essa diferença a maior massa de solo utilizada para análise quando comparada aquela realizada pelo analisador elementar.

K, et al., (2009) estudaram uma forma de quantificar o carbono do solo não detectado pelo método do Walkley-Black. Os autores utilizaram como método referência um analisador COT. Para os solos do Himalaia os dois métodos forneceram uma excelente correlação linear ($R^2 = 0,99$), enquanto para os solos da Índia houve uma menor correlação ($R^2 = 0,78$). Os autores sugerem que a maior dispersão apresentada para os solos indianos pode ser explicada por estes apresentarem uma maior fração de formas de carbono estáveis na fração mineral e pela estabilização da matéria orgânica devido a formação de complexos estáveis húmus-argila.

3. HIPÓTESES

- Os picos de absorção molecular do Cr (III) situam-se na região visível do espectro eletromagnético, portanto, é possível usar imagens de RGB de uma solução com cromo para estimar o teor de matéria orgânica do solo.

- Devido à existência de correlação entre o método Walkley-Black e outras metodologias, tais como analisador COT, perda por ignição, entre outros. Pode-se estabelecer modelos de regressão que correlacionem o método por análise de imagens e outras metodologias consagradas em literatura.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

- Desenvolver metodologia para quantificação de matéria orgânica do solo pela correlação entre a concentração de Cr (III) e os canais RGB de uma imagem digital.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a precisão de quantificação de MOS através da correlação entre a concentração de Cr (III) e os canais RGB de uma imagem digital.

- Propor modelos de correlação entre teor de MO obtido através da análise de imagem digital com aqueles obtidos pelos métodos Walkley-Black fotocolorímetrico, Analisador COT, Perda por ignição, Termogravimetria e Oxidação por Peróxido de Hidrogênio.

5. MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram conduzidas no laboratório de instrumentos do Departamento de Solos e Recursos Naturais (DSRN) do Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, com exceção da analise termogravimétrica que foi conduzida no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC.

Neste estudo foram utilizados seis métodos de determinação de MOS, sendo eles: Walkley-Black com quantificação por analise de imagem digital (metodologia proposta), Walkley-Black com quantificação fotocolorímetrica, Analisador COT, Perda por ignição, Termogravimetria e Oxidação por Peróxido de Hidrogênio.

Os solos utilizados neste estudo foram divididos em dois grupos. O primeiro grupo foi composto por sete solos pertencentes ao Programa de Controle de Qualidade da - Rede Oficial de Laboratórios de Análise de Solo e de Tecido Vegetal dos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina – ROLAS, que abrangem concentrações de matéria orgânica entre 1,4 a 7,0 % utilizados para o processo de calibração e escolha dos canais RGB. O segundo grupo utilizado para comparação entre métodos avaliados foi composto pelos solos LUFA (LF), Nitossolo Bruno Distrófico típico, Cambissolo Húmico Alumínico, Neossolo Litólico Húmico e Organossolo Fólico Sáprico Típico.

Neste estudo a conversão de carbono orgânico para matéria orgânica do solo (MOS) foi realizada através do uso do fator de Bemmelen (1,724), assumindo que a matéria orgânica possui 58% de carbono. A conversão foi realizada pela fórmula MOS (%) = COS (%) x 1,724 .

5.1 COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras de solo foram retiradas do horizonte A (0-10 cm) em perfis classificados por ALMEIDA (2013), sendo que o Nitossolo Bruno Distrófico típico foi coletado no município do Painel (PL), o Cambissolo Húmico Alumínico no município de Lages (LG), o Neossolo Litólico Húmico coletado em São Joaquim (SJ) e Organossolo Fólico Sáprico Típico em Bom Jardim da Serra (BJ). As características químicas e físicas dos solos estudados encontram-se na Tabela 1 e encontram-se publicados em ALMEIDA (2013) e EMBRAPA (2004).

Tabela 1 - Caracterização química e física dos solos Nitossolo Bruno Distrófico típico (PL), Cambissolo Húmico Alumínico (LG), Neossolo Litólico Húmico (SJ) e Organossolo Fólico Sáprico típico (BJ).

Solos	**Argila**	**Silte**	**Areia**	**pH H_2O**	**pH KCL**	**SB****	**Al^{+3}**	**T*****
		g kg^{-1}					$cmol_c$ kg^{-1}	
PL	663	256	81	5,0	4,3	2,8	2,5	15,5
LG	410	240	350	4,5	-	0,4	4,5	12,5
SJ	450	210	340	4,2	4,0	0,5	7,7	24
BJ	250	468	282	4,3	3,5	2,4	14,7	117

** Soma de Bases (SB) SB= Ca^{2+} + Mg^{2+} + K^{+} + Na^{+} + NH_4^{+}; *** T ou $CTC_{pH\ 7,0}$ = Ca^{2+} + Mg^{2+} + K^{+} + (H^{+} + Al^{3+}).
Fonte: Almeida (2013) e EMBRAPA (2004).

As amostras de solos foram secas a 60°C, moídas e tamizadas em peneira de 2 mm. Antes de cada análise as amostras foram condicionadas em dessecadores por um período de 24h.

A amostra de solo certificado utilizado foi o LUFA que possui valor de COS de 1,77% e foi utilizado para avaliar a exatidão das metodologias estudadas.

5.2 REAGENTES

Todas as soluções foram preparadas em água com resistividade 18 MΩ.cm obtidas no sistema Ultrapurificador de água Master System MS2000. O Dicromato de sódio P.A. utilizado é da Dinâmica Química Contemporânea. O ácido sulfúrico P.A. é da Vetec Química Fina, a Sacarose P.A da Fmaia. e o Peroxido de hidrogênio 30% v/v é da Biotec.

5.3 EQUIPAMENTOS

Foram utilizados um aparelho celular, modelo Samsung Galaxy S4, para obtenção das imagens digitais, um espectrofotômetro UV-VIS modelo SPEKOL ® 1300 da Analytik Jena AG, um analisador COT modelo multi/NC 2100, equipado com módulo para sólidos, fabricado pela Analytik Jena AG, um Forno Mufla da Quimis, uma estufa FANEM Modelo 315 SE e um TGA Shimadzu com módulo TGA-50, esse último instrumento pertence ao laboratório de Síntese de Cristais Líquidos e Materiais Moleculares do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

5.4 ESTATÍSTICAS

As determinações dos teores de MOS foram realizadas em triplicata e as respectivas médias e intervalos de confiança foram determinadas com um nível de confiança de 95%. A partir dos dados obtidos por diferentes metodologias, foram construídos modelos de correlação entre o método proposto (análise por imagem digital) e outros métodos já consagrados em literatura. As proposições dos modelos foram feitas pelo

método dos mínimos quadrados. De maneira genérica um modelo de regressão linear pode ser representado pela equação 12:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X + \varepsilon \qquad (12)$$

Onde:

$$Y = variável\ dependente$$
$$\beta_0 = coeficiente\ linear$$
$$\beta_1 = coeficiente\ angular$$
$$X = variável\ independente$$
$$\varepsilon = resíduo\ ou\ erro$$

Dois métodos que se correlacionem de maneira perfeita produzirão um modelo no qual os coeficientes assumirão os seguintes valores: $\beta_0 = 0$ e $\beta_1 = 1$. Portanto, é possível realizar um teste de hipótese com essas premissas de maneira a avaliar a significância estatísticas dos coeficientes do modelo. Um parâmetro indicador da qualidade de ajuste do modelo é o coeficiente determinação (R^2) e o seu valor quão mais próximo da unidade, melhor será o ajuste.

Uma segunda proposta para avaliar a qualidade dos ajustes dos modelos de regressão linear será testada por meio do teste de Willmott (1981) que propôs um coeficiente de concordância (d) (Equação 13) que se refere à exatidão dos dados preditos pelo modelo.

$$d = 1 - \left[\frac{\sum_{i=1}^{n}(Y_e - Y_0)^2}{\sum_{i=1}^{n}(|Y_e - \bar{Y}| + |Y_0 - \bar{Y}|)^2}\right] \qquad (13)$$

onde:

$$Y_e = valores\ estimados\ pelo\ modelo$$
$$Y_0 = valores\ observados$$
$$\bar{Y} = média\ dos\ valores\ observados.$$

Além disso, foi proposto um índice de confiança (c) (Equação 14) que une os parâmetros do coeficiente de concordância (d) e de correlação (r). Os valores desse índice variam de 0 para nenhuma confiança à 1 para um máximo de confiança.

$$c = d \, . r \qquad (14)$$

De acordo com CAMARGO & SENTELHAS (1997) o índice de confiança pode ser interpretado de acordo com os seguintes critérios apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Qualidade do ajuste do modelo por meio do índice de confiança.

Valores do índice de confiança	Desempenho do modelo
> 0,85	Ótimo
0,76 a 0,85	Muito Bom
0,66 a 0,75	Bom
0,61 a 0,65	Mediano
0,51 a 0,60	Sofrível
0,41 a 0,50	Mau
< 0,40	Péssimo

Fonte: Próprio autor.

5.5 ANÁLISE COLORIMÉTRICA POR IMAGEM DIGITAL (CID)

O protocolo utilizado foi uma modificação do Walkley-Black Dakota do Sul. Para tanto foi preparada uma solução de dicromato de sódio $Na_2Cr_2O_7 \cdot 2\ H_2O$ com concentração 0,5M em meio de ácido sulfúrico $10 mol.L^{-1}$. O procedimento consiste em pesar 0,5 g de solo em um erlenmeyer e adicionar 10mL da solução sulfocrômica. O conjunto foi levado a um banho-maria a uma temperatura de 80°C por 60 min. Após o

período de aquecimento foram adicionados mais 10mL de solução sulfocrômica e em seguida a solução foi deixada decantando de um dia para o outro. As soluções foram diluídas 2,25 vezes. O extrato da solução sulfocrômica, ao invés de ser analisado por um espectrômetro de absorção molecular UV-VIS, foi fotografado por uma câmera digital.

Com intuito de padronizar as condições fotográficas, as amostras foram colocadas em um anteparo com fundo branco, sob uma iluminação padrão fornecida por uma lâmpada fluorescente 20 watts. As fotografias foram captadas por um aparelho celular, modelo Samsung Galaxy S4, equipado com uma câmera CCD com resolução de 13MP. As amostras e padrões de calibração foram posicionados a 15 cm da câmera.

As imagens digitais obtidas foram analisadas por meio do software ImageJ (v. 1.48) de código aberto. Em cada amostra foi selecionado uma área de dimensão 100 x100 pixels no qual foi extraído os valores médios dos canais RGB. Os valores médios dos canais RGB podem ser convertidos em absorbância, por meio da seguinte expressão:

$$A = -\log\left({I_{R,G,B}}/{I_b}\right) \qquad (15)$$

No qual $I_{R,G,B}$ é o valor médio do canal R,G ou B e I_b é o valor de R,G ou B do branco, sendo estes valores obtidos da mesma imagem.

A calibração da metodologia foi realizada por meio de uma curva de calibração construída com solos pertencentes ao Programa de Controle de Qualidade da ROLAS que abrangem concentrações de matéria orgânica entre 1,8 a 7,0 %.

5.6 WALKLEY-BLACK COLORIMÉTRICO (WB_C)

Todo procedimento realizado foi idêntico ao descrito anteriormente para o método CID, com a exceção que os

extratos da digestão sulfocrômica após serem diluídos foram levados a um espectrofotômetro e a sua absorbância registrada em um comprimento de onda de 570 nm.

A calibração da metodologia foi realizada por meio de uma curva de calibração construída com solos pertencentes ao Programa de Controle de Qualidade da ROLAS que abrangem concentrações de matéria orgânica entre 1,4 a 7,0 %.

5.7 ANALISADOR DE CARBONO ORGÂNICO TOTAL (COT)

A calibração do equipamento para determinação de carbono orgânico foi realizada a partir de um padrão de sacarose. Para a determinação dos teores de COS, pesou-se massas de solo variando desde 6 a 135 mg. As amostras foram queimadas em um forno a 850 °C e quantificadas por meio do detector de infravermelho do Analisador COT que foi devidamente calibrado com o padrão de sacarose.

5.8 PERDA POR IGNIÇÃO (PPI)

Foram pesadas entre 0,15 e 0,75 g de amostras de solo previamente secas a 105°C por 2h. O material foi levado a um forno mufla a 600°C por um período de 24h. A massa perdida na queima até 600°C foi considerada como matéria orgânica do solo.

5.9 OXIDAÇÃO POR PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (OPH)

Foram pesadas em um béquer amostras de solo entre 0,25 e 1,0 g previamente secas a 105ºC por 2h. Foram adicionados 2mL de peróxido de hidrogênio 30% e o sistema foi deixado reagir por 1h em condição ambiente. Após o período de reação, o sistema foi levado a estufa a 110°C por 1h. Após o aquecimento, as amostras foram resfriadas em

dessecador e posteriormente pesadas. A diferença de massa obtida pela oxidação pelo peróxido de hidrogênio é considerada como matéria orgânica do solo.

5.10 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

As amostras de solo foram submetidas a um programa de aquecimento até 900°C em uma taxa de 10°C.min^{-1} sob um fluxo de ar sintético de 20mL.min^{-1}. Para fins de comparações metodológicas foi considerada a perda de massa registrada até a temperatura de 600ºC como matéria orgânica.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 COLORIMETRIA POR IMAGEM DIGITAL (CID)

A Tabela 3 apresenta as médias dos valores para as cores R, G, B para os referidos solos e a Figura 8 a imagem das soluções obtidas para os mesmos.

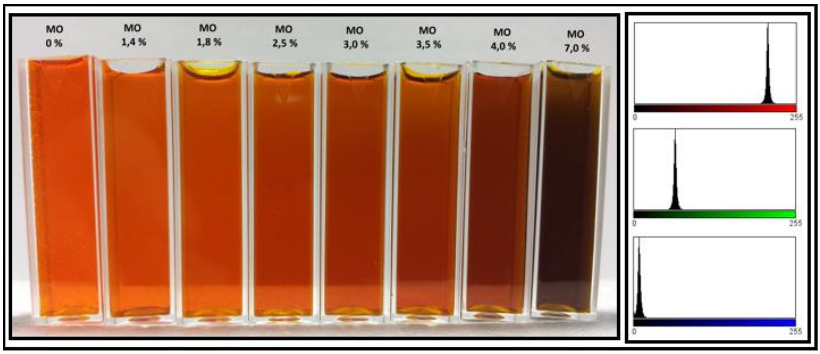
A análise de correlação apontou uma relação inversamente proporcional dos canais *RED* e *GREEN* com o teor de matéria orgânica (Figura 8), isto é, quanto maior o teor de matéria orgânica do solo menor a intensidade das cores *RED* e *GREEN*. Enquanto o canal *BLUE* é praticamente invariável ao longo da faixa de concentração estudada. Portanto, os únicos canais que apresentam informações analíticas são *RED* e *GREEN*.

Tabela 3 - Valores médios de RGB para os solos do Programa de Controle de Qualidade da ROLAS que abrangem concentrações de matéria orgânica entre 1,4 a 7,0 %.

M.O. (%)	R	G	B
0	235,32	70,258	7,5371
1,4	196,42	60,351	8,5202
1,8	181,17	51,792	1,7514
2,5	158,36	39,615	2,1473
3,0	142,48	35,731	3,2752
3,5	125,02	33,873	4,7691
4,0	110,25	26,016	9,0173
7,0	62,065	18,154	14,521

Fonte: Próprio autor.

Figura 8 - Imagem das soluções com concentrações crescentes de MOS obtidas para os solos do Programa de Controle de Qualidade da ROLAS que abrangem concentrações de matéria orgânica entre 1,4 a 7,0 % e o histograma RGB obtido pelo software ImageJ.

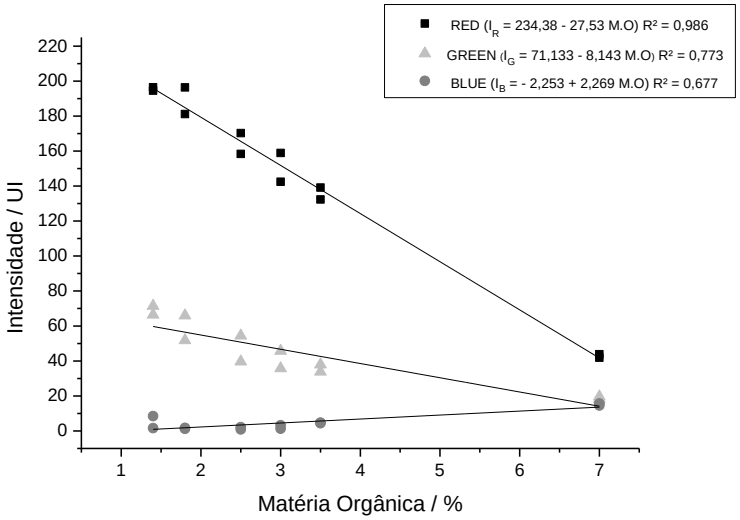


Fonte: Próprio autor.

A análise dos coeficientes angulares das equações de regressão (Figura 9) revelou que a inclinação do canal RED é maior que a do GREEN, fato esse que indica uma maior sensibilidade do primeiro canal em relação à mudança da concentração de matéria orgânica.

Como é mais usual a adoção de grandezas diretamente proporcionais em calibrações analíticas, às intensidades de cor foram transformadas em absorbância por meio da equação 1 apresentada no item material e métodos. Após a transformação matemática dos dados obteve-se então relação diretamente proporcional entre o sinal analítico (absorbância) e a concentração. Esse novo conjunto de dados foi submetido a analise de regressão linear que gerou os modelos A_{RED} = 0,0859 MO – 0,0284 (R^2 =0,992) e A_{GREEN} = 0,0907 MO – 0,0035 (R^2 =0,952).

Figura 9 - Correlação entre os canais RGB e a concentração de matéria orgânica para solos do programa ROLAS.



Fonte: Próprio autor.

Os coeficientes angulares e lineares das duas equações foram submetidos à análise de significância. Para o canal RED a hipótese nula foi rejeitada para ambos os coeficientes, isto é, p-valor < α, $\beta_0 \neq \beta_1 \neq$ pportanto, há significância estatística dos coeficientes para o modelo (Tabela 4). Dessa maneira opta-se pela manutenção de ambos os coeficientesβ_0 e β_1. Enquanto para o canal GREEN, o teste para o coeficiente linear apresentou p-valor > α, portanto, não é possível rejeitar H_0, tornando β_0 não significativo para o modelo. Dessa maneira, a equação de regressão linear resume-se a A_{GREEN} = 0,0907 MOS.

Tabela 4 - Modelos de regressão dos canais RED e GREEN e os respectivos testes de hipótese (H_0: $\beta_0=0$ / H_1: $\beta_0 \neq 0$) e (H_0: $\beta_1=1$ / H_1: $\beta_1 \neq 1$).

Coeficientes		**p-valor**	α
$A_{RED} = 0{,}0859\ MO - 0{,}0284$			
Linear	– 0,0284	0,038	0,05
Angular	0,0859	0,000	0,05
$A_{GREEN} = 0{,}0907\ MO - 0{,}0035$			
Linear	-0,0035	0,909	0,05
Angular	0,0907	0,000	0,05

Fonte: Próprio autor.

Como o modelo para o canal RED apresentou o melhor coeficiente de determinação ($R^2 = 0{,}992$) este foi utilizado para predição da concentração de MO nos solos LUFA, Nitossolo Bruno Distrófico típico (PL), Cambissolo Húmico Alumínico (LG), o Neossolo Litólico Húmico (SJ) e Organossolo Fólico Sáprico Típico (BJ) e para comparações entre métodos.

A Tabela 5 apresenta o valor certificado de concentração de COT do LUFA como 1,77 ± 0,20%, enquanto que o valor obtido pelo método CID foi de 1,25 ± 0,43% que corresponde a uma recuperação de 70,6%. O método proposto possui as mesmas características do método Walkley-Black, sendo, uma de suas desvantagens a incompleta digestão da matéria orgânica do solo.

Tabela 5 - Valores médios e desvio padrão de carbono orgânico para o solo referência (LUFA) determinado por Walkley-Black com quantificação por analise de imagem digital (CID), Walkley-Black com quantificação fotocolorímetrica (WBc), Analisador de carbono orgânico.

Método	**CO**	**Exatidão**
	%	
CID	1,25± 0,43	70,6
WB_c	1,30 ± 0,35	73,8
COT	1,65 ± 0,12	93,2
PPI_{600}	2,35 ± 0,27	132,7
TGA_{600}	2,04*	115,7
OPH	1,05 ± 0,35	59,3
Valor referência – LUFA (%)	1,77± 0,20	

* Análise realizada apenas com uma única replicada.
Fonte: Próprio autor.

O trabalho de Walkley e Black (1934) constatou que a recuperação do carbono orgânico pelo seu método está entre 60 a 86%, essa diferença é atribuída à heterogeneidade apresentada por diferentes solos. Como a recuperação de 70,6% está de acordo com o intervalo de recuperação esperado por uma digestão sulfocrômica, a metodologia pode ser considerada útil, dentro das suas conhecidas limitações.

A recuperação de COT da amostra LUFA variou de 59,3 a 132,7%. Essa amplitude de valores está relacionada com as características de cada metodologia. O método OPH registrou a menor recuperação (59,3%) dentro dos métodos avaliados, fato esse que pode ser atribuído ao menor poder oxidante do peróxido de hidrogênio, que atua predominantemente sobre as formas mais lábeis de carbono (BORTOLIN e CASSOL, 2010). Os métodos baseados na digestão sulfocrômica (CID e WBc) registraram recuperações

dentro da faixa esperada para esse tipo de análise (WALKLEY & BLACK, 1934). Enquanto que os resultados obtidos para os três métodos de combustão a seco apresentaram resultados superiores àqueles apresentados para as oxidações úmidas. O analisador COT obteve, dentre todos os métodos, a melhor recuperação (93,2%) devido à combinação de uma queima a alturas temperaturas (>750°C), fator este determinante para avaliação de formas mais recalcitrantes de carbono, e a seletividade ao carbono do detector de infravermelho utilizado no equipamento. Enquanto que as técnicas PPI_{600} e TGA_{600} registraram uma superestimação dos teores de COT do LUFA. Os altos teores de COT podem estar relacionados com a volatilização de substâncias não orgânicas, quando a amostra é aquecida a temperaturas superiores a 360°C. Além do COT, água de hidratação e certos compostos minerais também podem volatilizar nessa faixa de temperatura (ESCOSTEGUY, 2007). Diferentemente do Analisador COT que queima a amostra e possui um detector seletivo a carbono, os métodos PPI_{600} e TGA_{600} apenas registram uma perda de massa, sem distinguir a natureza química do material, dessa forma é possível inferir que em uma temperatura de 600°C a superestimação dos teores de COT se dá pela não seletividade do método.

Os teores de MOS obtidos pelo método CID para os solos coletados podem ser classificados como médio (2,6-5,0%) a alto (>5,0%) seguindo critérios do Manual de adubação e calagem (ROLAS, 2004). Dos quatro solos apenas o solo BJ excedeu a curva de calibração e precisou ser diluído. O baixo coeficiente de variação (<5%) obtido indica que o método proposto apresenta boa precisão (Tabela 6).

Tabela 6 - Valores médios, desvio padrão e coeficientes de variação para concentrações de MOS obtidas pelo método CID para os solos LUFA, Nitossolo Bruno (PL), Cambissolo Húmico (LG), Neossolo Litólico e Organossolo Fólico (BJ).

AMOSTRA	MO	Desvio Padrão	CV
	%		%
LF	2,15	0,02	0,985
LG	3,44	0,13	3,78
PL	3,18	0,09	2,83
SJ	5,98	0,03	0,501
BJ	27,7	0,45	1,64

Fonte: Próprio autor.

6.2 CORRELAÇÃO ENTRE CID E OUTROS MÉTODOS

A Tabela 7 apresenta os valores médios de MOS obtidos pelas seis metodologias estudadas para os solos Nitossolo Bruno Distrófico típico (PL), Cambissolo Húmico Alumínico (LG), o Neossolo Litólico Húmico (SJ) e Organossolo Fólico Sáprico Típico (BJ).

A predominância de altos teores de MOS chegando a valores de 20% para BJ obtido por WBc e 55% por PPI_{600} podem ser explicados pelo clima frio e a alta umidade relativa que favorece o acúmulo de MOS, no qual esses solos estão inseridos. Outra questão para tal acumulo é a baixa taxa de decomposição da MOS atribuída principalmente ao reduzido metabolismo microbiano (DIAS et al., 2003) e ao elevado teor de acidez trocável que possui efeito estabilizador com a formação de complexos metalorgânicos estáveis, resultando em compostos orgânicos resistentes à oxidação (SCHWESIG et al., 2003; SILVA et al., 2008, DICK et al., 2008).

Tabela 7 - Concentrações de MOS para as amostras de solo com diferentes metodologias determinado pelos métodos CID, WB_c, COT, PPI_{600}, TGA_{600} e OPH.

MÉTODO	**LG**	**PL**	**SJ**	**BJ**
		MO %		
CID	3,45 ± 0,13	3,18 ± 0,19	5,98 ± 0,15	27,69 ± 0,26
WB_C	4,50± 0,35	4,02± 0,12	6,84 ± 0,37	20,78 ± 0,28
COT	5,31 ± 0,21	5,41 ± 0,27	10,0 ± 0,23	44,0 ± 2,91
PPI_{600}	9,56 ± 0,39	14,7 ± 1,09	18,4 ± 1,10	55,6 ± 2,67
TGA_{600}	9,8*	14,7*	16,3*	52,9*
OPH	5,02 ± 0,41	4,23 ± 1,2	8,80 ± 1,92	16,2 ± 8,03

* Análises realizadas apenas com uma replicada.
Fonte: Próprio autor.

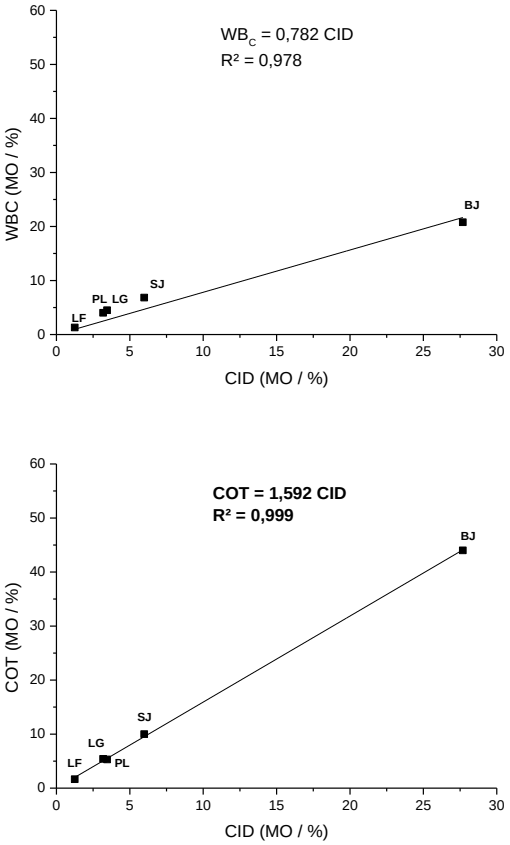
A Tabela 8 apresenta os testes de hipótese para os coeficientes obtidos na análise de correlação entre o método CID e os demais métodos. Não há evidencias significativas que apontem β_0 diferente de zero, portanto, o coeficiente linear não possui significância estatística para os modelos WBc x CID, COT x CID, PPI_{600} x CID e TGA_{600} x CID, com exceção do modelo OPH x CID. Para aqueles modelos que o coeficiente linear não foi significativo, a equação de regressão foi recalculada para que a reta cruze o intercepto x e y (Figuras 10 e 11).

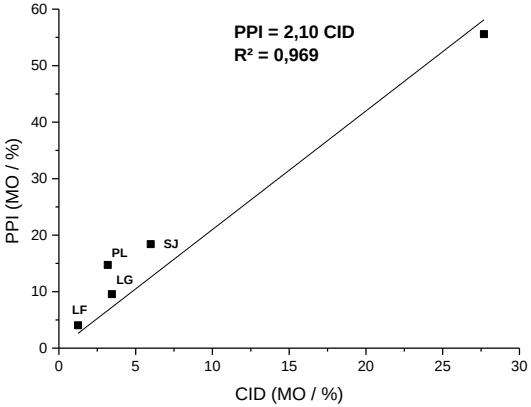
Tabela 8 - Testes de hipótese para os coeficientes obtidos na análise de correlação entre as metodologias WBc, COT, PPI_{600}, TGA_{600} e OPH versus Walkley-Black com análise de imagem (CID).

Coeficientes		**p-valor**	α
	WB_C = 1,70 + 0,697 CID		
Linear	1,70	0,057	0,05
Angular	0,697	0,001	0,05
	COT = 0,065 + 1,59 CID		
Linear	0,065	0,801	0,05
Angular	1,59	0,000	0,05
	PPI = 5,19 + 1,85 CID		
Linear	5,19	0,080	0,05
Angular	1,85	0,001	0,05
	TGA_{600} = 1,74 + 1,86 CID		
Linear	1,74	0,469	0,05
Angular	1,86	0,001	0,05
	OPH = 3,42 + 0,475 CID*		
Linear	3,42	0,043	0,05
Angular	0,475	0,009	0,05

Testes de Hipótese: (H_0: $\beta_0 = 0$ /H_1: $\beta_0 \neq 0$) e (H_0: $\beta_1 = 1$ / H_1: $\beta_1 \neq 1$).
Fonte: Próprio autor.

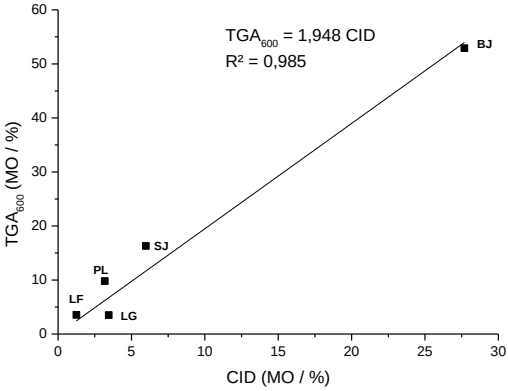
Figura 10 - Gráficos de correlação entre as metodologias Walkley-Black com fotocolorímetria (WBc), Analisador de carbono orgânico total (COT) e Perda por ignição (PPI_{600}) versus Walkley-Black com análise de imagem digital (CID).

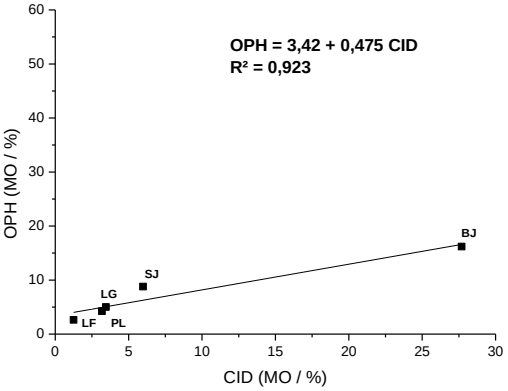




Fonte: Próprio autor.

Figura 11 - Gráficos de correlação entre as metodologias Termogravimetria (TGA_{600}) e Oxidação por Peróxido de Hidrogênio (OPH) versus Walkley-Black com quantificação por análise de imagem digital (CID).





Fonte: Próprio autor.

A Tabela 9 apresenta os parâmetros de Willmott para os modelos obtidos entre a metodologia CID e os demais métodos. O desempenho dos modelos foi considerado ótimo pelos critérios de avalição de Willmott, ou seja, é possível predizer as concentrações de MO que seriam obtidas pelos métodos através do método CID.

Pela análise da equação de regressão (Figura 11) pode-se concluir que o método CID superestimou os teores fornecidos pelo método $WB_{c,}$ todavia, em nada afeta o seu potencial como técnica analítica para determinação de matéria orgânica em solo. De forma similar ao presente trabalho, o estudo de CHACÓN et al., (2002) propôs um modelo que correlaciona os métodos Walkley-Black nas versões titulométrica e colorimétrica por espectrofotometria. Os autores propuseram a equação $OC_C = 0{,}492\ OC_{WB}$, no qual OC_C se refere ao método colorimétrico e OC_{WB} ao titulométrico. O coeficiente linear também foi considerado sem significância estatística, por isso foi retirado do modelo. Para os autores do trabalho esse resultado estatístico sugere uma ausência de efeitos residuais inerente ao conjunto de solos estudados (ex.,

conteúdo de argila, complexos organo-minerais, conteúdo de carbono), que poderiam afetar a relação entre os métodos.

Tabela 9 - Parâmetros de Willmott para os modelos obtidos entre Walkley-Black com quantificação fotocolorímetrica (WB_c), Analisador de carbono orgânico total (COT), Perda por ignição (PPI_{600}), Termogravimetria (TGA_{600}) e Oxidação por Peróxido de Hidrogênio (OPH) versus Walkley-Black com quantificação por análise de imagem digital (CID).

MODELO	*r	**d	***c	Desempenho
WB_c-CID	0,988	0,989	0,978	Ótimo
COT-CID	0,999	0,999	0,999	Ótimo
PPI_{600}-CID	0,984	0,985	0,969	Ótimo
TGA_{600}-CID	0,992	0,981	0,974	Ótimo
OPH-CID	0,961	0,980	0,942	Ótimo

***r**: coeficiente de correlação; ****d**: índice de concordância; *****c**: índice de confiança.
Fonte: Próprio autor.

Para o método COT o coeficiente de concordância (d) e o índice de confiança (c) encontram-se muito próxima a unidade, confirmando assim o bom ajuste do modelo proposto para as diferentes metodologias. O valor do coeficiente angular de 1,59 (Figura 11) obtido por este modelo está muito próximo a outros modelos em literatura. O trabalho de ISLAM e WEIL (1998) reportou equação baseada no método WB espectrofotométrico juntamente com um analisador elementar (combustão a seco) e resultou na equação LECO C = 1,32 C_{org}, no qual LECO C refere-se ao método de combustão a seco e C_{org} ao método espectrofotométrico. Enquanto que KRISHAN et al., (2009) ao estudar solos indianos estabeleceu uma relação entre os métodos WB e analisador COT descrita pela equação COT = 1,95 WB e também foi proposto um modelo para solos

do Himalaia: COT = 2,39 WB. De acordo com MIYAZAWA et al., (2000) um aumento no coeficiente angular pode estar relacionado com um maior grau de oxidação da matéria orgânica dos solos.

Os métodos PPI_{600} e TGA superestimaram os teores obtidos em relação ao método CID. Esse comportamento é justificável já que esses métodos não são seletivos a carbono, todo o material queimado a 600ºC é contabilizado como matéria orgânica, independente da natureza química, enquanto que a digestão sulfocrômica atua diretamente na oxidação do carbono do solo e o teor de matéria orgânica é obtido por um fator de conversão. Observa-se a mesma tendência de superestimação nos trabalhos de Bianchi et al. (2008) e Kasozi (2009).

O trabalho de Bianchi et al., (2008) estudou uma ampla variedade de solos do Paraná e produziu um modelo que correlacionou o método PPI com o método Walkley-Black, a equação obtida foi PPI = 2,52 + 3,08 WB. Enquanto que o trabalho de Kasozi et al., (2009) determinou para um conjunto de Histosols uma relação entre os métodos WB e PPI a 550°C que é expressa pela equação PPI = 1,75 WB. É interessante notar que os coeficientes angulares dos modelos diferem entre si, todavia, essa distinção é atribuída aos diferentes solos utilizados nos estudos, bem como as diferentes condições metodológicas adotadas.

O método de oxidação por peróxido de hidrogênio (OPH) subestima a MOS quando comparado ao CID. Isso se deve ao menor poder oxidante do peróxido de hidrogênio quando comparado ao da solução sulfocrômica.

Os modelos obtidos entre os métodos e o proposto e os e seus desempenhos indicam que o modelo CID é promissor. O método CID conserva as limitações oxidativas da solução sulfocrômica, bem como a geração de resíduos pesados (Crômio), todavia, dispensa o uso de um espectrofotômetro que é um equipamento de alto custo. Dessa maneira um laboratório

que ainda não dispõe de recursos para aquisição de um espectrofotômetro, poderá se beneficiar utilizando o método por análise de imagens.

Todavia, como maneira de aprimorar este estudo é sugerido que em trabalhos futuros uma maior quantidade de solos seja estudada para fornecer uma maior representatividade amostral a modelagem.

7. CONCLUSÕES

Uma relação inversamente proporcional foi obtida entre os canais *RED* e *GREEN* e a concentração de Cr (III). Com isso foi possível propor uma nova metodologia de determinação de matéria orgânica em solo com exatidão e precisão aceitáveis e comparáveis a outras metodologias já consagradas em literatura.

A metodologia proposta neste estudo foi capaz de recuperar 70,6% do carbono orgânico do solo certificado LUFA SPEYER 2.2. O valor dentro do esperado para a recuperação de carbono obtida por uma digestão sulfocrômica.

Os coeficientes de variação ficaram em um intervalo de 0,985 a 3,78%, valores esses que são aceitáveis para esse tipo de análise.

Cinco novos modelos correlacionando a metodologia proposta com outros métodos em literatura foram desenvolvidos.

A metodologia CID pode ser considerada mais econômica que a Walkley-Black espectrofotométrica. Enquanto a última necessita de um espectrofotômetro, a primeira requer apenas o uso de um dispositivo com detector CCD ou CMOS, podendo ser uma webcam, câmera digital ou mesmo um celular.

REFERÊNCIAS

ABELLA, S.R. & ZIMMER, B.W. Estimating organic carbon from loss-on-ignition in northern Arizona forest soils. **Soil Science Society of America Journal**,71, 545–550, 2007

ALISSON, L.E. Wet combustion apparatus and procedure for organic and inorganic carbon in soil. **Soil Sci. Soc. Am. Proc**. 24:36-40, 1960.

AZAM, F; SAJJAD, MH Colorimetric determination of organic carbon in soil by dichromate digestion in a microwave oven. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 2005.

BELTRÁN, V.; BLASCO, A.; ESCARDINO, A., NEGRE, F. Formation of black core during the fring of floor and wall tiles. **Interceram, Freiburg**, v.37, p.15- 21, 1988.

BERNS, R.S. **Principles of colour technology**. 3rd Ed., New York: Wiley, 2000.

BIANCHI, S. R., MIYAZAWA, M., OLIVEIRA, E. L. De, & PAVAN, M. A. Relationship between the Mass of Organic Matter and Carbon in Soil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 51(April), 263–269, 2008.

BOHN, H. L., MCNEAL, B. L., & O'COONOR, G. **A. *Soil Chemistry*** (3rd ed., p. 307). Danvers, MA: John Wiley & Sons, Ltd, 2001.

BORGES, P. H. C.; PASSOS, F. R.; PINTO, M. E. C.; ALMEIDA, W. L.; MENDES, F. Q.; CARVALHO, A. M. X. Peróxido de Hidrogênio na Determinação dos Teores de Carbono Orgânico do Solo - uma Alternativa Simples e de Menor Impacto Ambiental. **Resumos** do VIII Congresso Brasileiro de Agroecologia – Porto Alegre/RS, 2013.

BORTOLIN, M.A.; CASSOL, L.C. Determinação da matéria orgânica do solo usando peróxido de hidrogênio: Uma metodologia ecologicamente correta. Fertbio 2010. **Anais...** Guarapari, 2010.

BOWMAN, RA A reevaluation of the chromic acid colorimetric procedure for soil organic carbon. **Communications in Soil Science & Plant Analysis,** 1998.

BRILL, T.B. Why objects appear as they do? J. **Chem. Educ**., 57: 259,1980.

BRUNETTO, G., MELO, G. W., KAMINSKI, J., FURLANETTO, V. AND FIALHO, F. B. Evaluation of loss-on-ignition method in the organic matter analysis in soils of the Serra Gaucha of the Rio Grande do Sul**. Cienc. Rural.** 36(6): 1936–1939, 2006.

CAMARGO, A.P.; SENTELHAS, P.C. Avaliação do desempenho de diferentes métodos de estimativa da

evapotranspiração potencial no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 5, n. 1, p. 89-97, 1997.

COSTA, L.; PEREIRA, F.; FARIAS, R.; PEREIRA, F. Avaliação espectrofotométrica das formas CR+3, CRO4-2 e CR2O7-2.**Eclet. Quím.** *35*, 2010.

CHACÓN, N., DEZZEO, N., FOLSTER, H., & MOGOLLÓN, P. Comparison between colorimetric and titration methods for organic carbon determination in acidic soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 33(1-2), 203–211, 2002. doi: 10.1081/CSS-120002387

CHEN, F., KISSEL, D, E., WEST, L. T., ADKINS, W. Field-Scale Mapping of Surface Soil Organic Carbon Using Remotely Sensed Imagery. **Soil Science Society of American Journal,** 64: 764-753, 2000.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – CQFS RS/SC**. Manual de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina.** 10 ed. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2004. 400p.

CONAMA. Resolução 430, de 13 de maio de 2011. Disponível em:<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso: Junho, 2014.

CONCEIÇÃO,M. da, M; C.V., MARTIN NETO, L., SAAB, S.C., CUNHA, T.J.F.;FREIXO, A.A. Estudo comparativo de métodos para determinação do teor de matéria orgânica em solos orgânicos do Estado do Rio de Janeiro. **Comunicado Técnico**, Rio deJaneiro, n. 2, 1999. Disponível em <http://www.cnps.embrapa.br./search/pesqs/comtec/ComTec2.pdf>.

CZACHOR, H., AND LIPIEC, J. Quantification of soil macroporosity with image analysis. International Agrophysics, 18;217–223, 2004.

DIAS, H.C.T.; SCHAEFFER, C.E.G.R.; FERNANDES FILHO, E.I.; OLIVEIRA, A.P.; MICHEL, R.F.M. & LEMOS JR, J.B. Caracterização de solos altimontanos em dois transectos no Parque Estadual do Ibitipoca (MG). **R. Bras. Ci. Solo**, 27:469-481, 2003.

DICK, D.P.; SILVA L.B DA.; INDA, A.V.; HEIKE KNICKER, H. Estudo comparativo da matéria orgânica de diferentes classes de solos de altitude do sul do brasil por técnicas convencionais e espectroscópicas. R. Bras. Ci. Solo, 32:2289-2296, 2008.

EMPRESA. BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Solos do Estado de Santa Catarina. **Boletim técnico N. 46.** Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 2004. 745p.

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 Ciência Do Solo,** (1), 247–255, 2007.

FARINE, E. L.; MOREIRA, D. A.; NARDO, A. E.; CAMARGO, I. S. P. de; JORDÃO, L. T.; GERMANO, M. G.; KLEINET, J.J.; OLIVEIRA JUNIOR, A. Comparação de dois métodos para determinação do teor de carbono orgânico do solo. In: Jornada Acadêmica da EMBRAPA Soja, 6., 2011, Londrina. **Resumos expandidos**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. p. 28-30. (Embrapa Soja. Documentos 328).

FIRDAUS, M.; ALWI, W.; TRINOVELDI, F.; RAHAYU, I.; RAHMIDAR, L.; WARSITO, K. Determination of Chromium and Iron Using Digital Image-based Colorimetry. **Procedia Environmental Sciences**, 20, 2014.

FORRER, I., PAPRITZ, A., KASTEEL, R., FLÜHLER, H., LUCA, D., Quantifying dye tracers in soil profiles by image processing. **European Journal of Soil Science**, 2002, 51: 313–322.

FÜLLGRAF, R. P. **Espectrômetro portátil com LED RGB para análises químicas e biológicas.** Trabalho de conclusão de curso no programa de Pós Graduação em Desenvolvimento de Produtos Eletrônicos. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina, 2012.

GAIÃO, E. N. et al., Digital image-based titrations, **Analytica Chimica Acta**, 570: 283, 2006.

GHABBOUR, E.; DAVIES, G.; CUOZZO, N.; MILLER, R. Optimized conditions for determination of total soil organic matter in diverse samples by mass loss on ignition. *J.* **Plant Nutr. Soil Sci**. 2014, *177*, 914–919.

HOOGSTEEN, M.; LANTINGA, E.; BAKKER, E.; GROOT, J.; TITTONELL, P. Estimating soil organic carbon through loss on ignition: effects of ignition conditions and structural water loss. **European Journal of Soil Science** 2015.

HORIGUCHI H, WINAWER J, DOUGHERTY RF, WANDELL BA. Human trichromacy revisited. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.** 2013;110(3):E260-E269. doi:10.1073/pnas.1214240110.

HURVICH L.M, JAMESON D. Some quantitative aspects of an opponent-colors theory. II. Brightness, saturation, and hue in normal and dichromatic vision. **J Opt Soc Am**. 1955; 45(8):602–616.

IQBAL, Z.; ERIKSSON, M. Classification and quantitative optical analysis of liquid and solid samples using a mobile phone as illumination source and detector.**Sensors and Actuators B: Chemical**,185, 354362, 2013.

ISLAM, K.; WEIL, R. A rapid microwave digestion method for colorimetric measurement of soil organic carbon.**Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 29, 22692284.1998.

LOPEZ-MOLINERO, D. LINAN, D. SIPIERA, R. **Microchem.** J. 96, 380, 2010.

KASOZI, G.; NKEDI-KIZZA, P.; HARRIS, W. Varied Carbon Content of Organic Matter in Histosols, Spodosols, and Carbonatic Soils. **Soil Science Society of America Journal,** 73, 1313, 2009.

KIMURA, K.; KIKUCHI, S. & YAMASAKI, S. Accurate root length measurement by image analysis. **Plant Soil**, 216:117-127, 1999.

KONEN, M.E., JACOBS, P.M., BURRAS, C.L., TALAGA, B.J. & MASON, J.A. Equations for predicting soil organic carbon using loss-on-ignition for North Central U.S. soils. **Soil Science Society of America Journal**, 66, 1878–1881, 2002.
KUMADA, K. Chemistry of Soil Organic Matter (p. 241). Tokyo: **Japan Scientific Societies Press.** 1988.

LOPEZ-MOLINERO, A.; LIÑAN, D.; SIPIERA, D.; FALCON, R. Chemometric interpretation of digital image colorimetry. Application for titanium determination in plastics. **Microchemical Journal**, *96*, 380385.2010.

LOPEZ-MOLINERO, A.; CUBERO, V.; IRIGOYEN, R.; PIAZUELO, D. Feasibility of digital image colorimetry Application for water calcium hardness determination. **Talanta,** *103*, 236244.2013.

LUPETTI, K.; CARVALHO, L.; MOURA, A.; FATIBELLO-FILHO, O. Análise de imagem em química analítica: empregando metodologias simples e didáticas para entender e prevenir o escurecimento de tecidos vegetais. **Química Nova**, *28*, 548554.2005.

LYRA, W.; SANTOS, V.; DIONÍZIO, A.; MARTINS, V.; ALMEIDA, L.; GAIÃO, E.; DINIZ, P.; SILVA, E.; ARAÚJO, M. Digital image-based flame emission spectrometry. *Talanta* 2009, *77*, 1584–9.

MCCARTY, G. W., Iii, J. B. R., YOST, R., DORAISWAMY, P. C., & DOUMBIA, M. Evaluation of methods for measuring soil organic carbon in West African soils. *African Journal of Agricultural Research*, 2010, *5*(16), 2169–2177.

MEBIUS, L.J. A rapid method for the determination of organic carbon in soil. **Anal Chim. Acta**, 22:120-124.1960.

MINAMISAWA, R.; SANTOS, L.; PARADA, M.; DAGHASTANLI, K.; CIANCAGLINI, P.; ALMEIDA, A. Digital Image Analysis to Standardize a Photometric Method in Colorimetric Quantification. ***Instrumentation Science & Technology,*** *36*, 97104.2007.

MONEMI, N. et al, CCD-camera based capillary chemiluminescent detection of retinol binding protein, **Analytica Chimica Acta**, 387: 21, 1999.

MIYAZAWA, M., PAVAN, M. A., OLIVEIRA, E. L., IONASHIRO, M., and Silva, A. K. Gravimetric determination of soil organic matter, **Braz. arch. biol. Technol**, *43*.2000.

NELSON, D.W. & SOMMERS, L.E. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: SPARKS, D.L.; PAGA, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T. & SUMMER, M.E., eds. Methods of soil analysis: **Chemical methods. Part 3. Madison, Soil Science Society of America**. p.961-1010.1996.

PALLASSER, R.; MINASNY, B.; MCBRATNEY, A. Soil carbon determination by ther mogravimetrics. **Peer** *J* , *1*.2013.

PERSSON, M., Estimating surface soil moisture from soil color using image analysis. **Vadose Zone Journal**, 4: 1119–1122.2005.

PETIGARA, B.; BLOUGH*, N.; MIGNEREY, A. Mechanisms of Hydrogen Peroxide Decomposition in Soils. **Environ. Sci. Technol**. *36*, 639–645.2002.

PLANTE AF, FERNANDEZ JM, LEIFELD J. Application of thermal analysis techniques in soil science. **Geoderma**, 153:1–10 DOI 10.1016/j.geoderma.2009.08.016.2009.

ROCHA, J. C. Cor luz, cor pigmento e os sistemas RGB e CMY. Artigo. **Revista Belas Artes**, 2010.

SAFAVI, A.; MALEKI, N.; ROSTAMZADEH, A.; MAESUM, S. CCD camera full range pH sensor array. **Talanta**, *71*, 498–501.2007.

SEGNINI, A.; SANTOS, L.; SILVA, W.; MARTIN-NETO, L.; BORATO, C.; MELO, W.; BOLONHEZI, D. Estudo comparativo de métodos para a determinação da concentração de carbono em solos com altos teores de Fe (Latossolos). **Quím. Nova**, 31. 2008.

SILVA, A. C., TORRADO, P. V., & ABREU JUNIOR, J. S. Métodos de quantificação da matéria orgânica do solo. **R. Un. Alfenas**, 21–26. 1999.

SILVA. L.B.; DICK, D.P. & INDA JUNIOR, A.V. Solos subtropicais de altitude: Características químicas, teor de matéria orgânica e sua resistência à oxidação química. **Ci. Rural**, 38:1167-1171, 2008.

SLEUTEL, S., DE 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**, 38 (19-20), 2647–2657. 2007. DOI:10.1080/00103620701662877

SOLDAT, D.; BARAK, P.; LEPORE, B.Microscale Colorimetric Analysis Using a Desktop Scanner and Automated Digital Image Analysis. **J. Chem. Educ**, *86*, 617.2009.

STEVENSON, F. J. Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions, **Wiley & Sons,** New York, 1994.

STRÖMBERG, N; HULTH, S., Assessing an imaging ammonium sensor using time correlated pixel-by-pixel calibration, **Analytica Chimica Acta**, 550: 61, 2005.

TÔRRES, A.; LYRA, W.; ANDRADE, S.; ANDRADE, R.; SILVA, E.; ARAÚJO, M.; GAIÃO, E. A digital image-based method for determining of total acidity in RED wines using acid–base titration without indicator. **Talanta**, 84, 601606. 2011.

TUFFOUR, H.; YEBOAH, I.; BONSU, M.; ADJEI-GYAPONG, T.; KHALID, A.; ABUBAKAR, A.; MELENYA, C.; KPOTOR, P. Soil Organic Carbon: Relating the Walkley-Black Wet Oxidation Method to Loss on Ignition and Clay Content. **IJSRK**, *2*, 249256. 2014.

OLIVEIRA, L.; CANEVARI, N.; GUERRA, M.; PEREIRA, F.; SCHAEFER, C.; PEREIRA-FILHO, E. Proposition of a simple method for chromium (VI) determination in soils from remote places applying digital images: A case study from

Brazilian Antarctic Station. **Microchemical Journal**, 109, 165169. 2013.

UMBAUGH, S.E. Computer Imaging: Digital Image Analysis and Processing, **CRC Press**, 2005.

VAUGHAN, D., MALCOM, R. E. Soil Organic Matter and Biological Activity. **Springer Netherlands**. 1985.

WALKLEY, A.; I. A. BLACK. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Sci.** 37:29-37. 194.

WANG, X., WANG, J., e ZHANG, J. Comparisons of Three Methods for Organic and Inorganic Carbon in Calcareous Soils of Northwestern China, **PLoS** ONE 7. 2012.

WILLMOTT, C.J. On the validation of models. Physical Geography, **Silver Spring**, v.2, n.2, p.184-194. 1981.

ZHANG, C.; BAILEY, D.; SUSLICK, K. Colorimetric Sensor Arrays for the Analysis of Beers: A Feasibility Study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54, 49254931. 2006.