

CARBONO ORGÁNICO (Método de WALKLEY & BLACK)
Ing. Agr. Daniel Carreira – INTA Castelar

INTRODUCCIÓN

Desde que Ames y Gaither (1916) demostraron que el carbono orgánico del suelo podía cuantificarse por oxidación con mezcla sulfocrómica, los métodos basados en la “combustión húmeda” se generalizaron rápidamente.

Sobre esta base, Shollenberger, en 1926, desarrolla una técnica rápida adaptada al análisis rutinario donde aplica calefacción externa a los tubos de reacción, a una temperatura de 175°C, e incorpora al método la valoración del C a través de la titulación del exceso de Cr⁶⁺ con una sal ferrosa. En 1930, Degtjareff, utiliza peróxido de hidrógeno previo al agregado de la mezcla sulfocrómica, afirmando que se produce una mejora en el nivel de oxidación del CO. Cuatro años más tarde Allan Walkley y Armstrong Black demuestran el error de esa conclusión y desestiman el procedimiento. Sin embargo rescatan el hecho de que la disolución del ácido sulfúrico, en la solución de peróxido, generaba suficiente calor como para lograr un nivel de oxidación aceptable del CO. Sobre esta observación presentan una simple pero novedosa modificación a los métodos utilizados hasta ese momento, reemplazando la calefacción externa de la mezcla sulfocrómica por el calor de disolución del ácido sulfúrico. Un año después este método recibió fuertes críticas por parte de la Internacional Society of Soil Science debido a que arrojaba resultados sensiblemente menores de oxidación del carbono orgánico, y variables según el tipo de suelo, en comparación con aquellos que utilizaban calefacción externa.

En 1947, Walkley, publica un análisis crítico del método, basado en la amplia aceptación que había tenido, defendiendo la estabilidad del ensayo cuando se respetan las condiciones del procedimiento y reconociendo la necesidad de usar un factor de recuperación para estimar el CO.

Este método, adoptado masivamente por su simplicidad, ha sufrido a lo largo del tiempo innumerables modificaciones. Las principales variaciones se orientaron a reducir el consumo de reactivos y a mejorar el punto final en la titulación, respetándose la proporción dicromato/sulfúrico y el tiempo de reacción. En cuanto a las modificaciones introducidas para mejorar el nivel de recuperación del CO se propusieron nuevamente el uso de fuentes externas de calor, a riesgo de perder la simplicidad del método. A ello también se sumaron las modificaciones operativas propias de cada laboratorio, que contribuyeron a aumentar la variabilidad observada en los resultados.

Con el objetivo de abordar la normalización del método en el año 1991, a través de PROMAR-AACS, se publicaron dos variantes del método original, una respetando la escala macro y otra a nivel reducido o escala micro, las que más tarde fueron reeditadas por el SAMLA (2004).

En la actualidad la escala macro se desestimó por el excesivo consumo de reactivos y generación de residuos, principalmente Cr IV, adoptándose las escalas reducidas, entre la que se encuentra próxima a publicarse como norma IRAM-SAGPyA una variante del método propuesto por Grewelin y Peech en 1960. (Norma 29571-2 “determinación de carbono oxidable por mezcla oxidante fuerte, a escala semi-micro”).

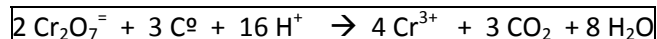
ALGUNOS PUNTOS CRÍTICOS DEL PROCEDIMIENTO

Las mayores variaciones observadas en el porcentaje de recuperación del carbono orgánico, cuando se aplica este método, se deben a las características del suelo y a calidad de la materia orgánica analizada. Sin embargo hay aspectos metodológicos que también inciden en la dispersión de los resultados analíticos. Para el primer caso es necesario definir un factor de recuperación específico para cada tipo de suelo, utilizándose para ello un método referencial tal como el de la combustión seca. En cuanto a lo metodológico es necesario comprender los factores críticos que están involucrados en el proceso de determinación y aplicar una técnica normalizada en todos los laboratorios.

Estado de oxidación inicial del C

Tanto el C, que se encuentra en distintos niveles de oxidación dentro de la MO del suelo, como el O e H constitutivos de la misma, pueden reaccionar con el dicromato en diferente sentido y proporciones. Pero experimentalmente se determinó una relación proporcional entre la cantidad de CO₂ desprendido en la oxidación por vía húmeda y la cantidad de ácido crómico reducido, sugiriéndose una compensación de las reacciones del H y O orgánicos. Por ello se asume que, cada átomo de carbono es oxidado desde un

estado de oxidación 0 a un nivel +4, reflejando de esta manera todo el intercambio de electrones en la reacción.



En resumen la aceptación de que el C se encuentra en la materia orgánica del suelo en un estado de oxidación "0" es básicamente empírica, con poco sustento estequiométrico.

Potencial redox

El potencial redox del sistema está fuertemente asociado a la concentración de H_2SO_4 y a la temperatura de reacción, por lo que un aumento en la concentración del ácido incrementaría la fuerza oxidante del sistema pero reduciría la temperatura alcanzada en la disolución. Por otra parte la concentración de dicromato, empleada en la mezcla, debe asegurar una intensidad oxidativa constante, por lo que la muestra no debería consumir más del 80% del dicromato añadido (Walkley, 1947).

Temperatura de reacción

La relación 2:1 de ácido:dicromato, indicada originalmente por Walkley y Black (1934) resulta ser la óptima para alcanzar temperaturas cercanas a los 120-140 °C, y para ello es conveniente una rápida disolución del ácido, lograda a través de la agitación orbital del recipiente de reacción (tubo o erlenmeyer), evitando que queden partículas de suelo adheridas a las paredes del mismo y fuera del alcance de la mezcla oxidante

El nivel de oxidación dependerá no sólo de la temperatura máxima alcanzada, sino también de la persistencia del calor generado. Por ello tanto el recipiente utilizado en la reacción como el grado de aislamiento del medio son factores determinantes que regulan el control de la temperatura y que necesariamente deben ser normalizados.

El empleo de calefacción externa permite lograr valores más altos de recuperación del C, para una gran gama de suelos. Así, temperaturas entre los 125 a 150 °C mejoran el nivel de oxidación del C, pero debe tenerse presente que con temperaturas cercanas o superiores a los 150°C se produce una rápida descomposición térmica del dicromato, catalizada por el propio Cr^{3+} , dando en algunos casos valores superiores al 100% de recuperación.

Interferencias químicas

Estos tipos de métodos están sujetos a interferencias provocadas por algunos constituyentes del suelo siempre y cuando se encuentren en cantidades elevadas. La presencia significativa de iones cloruros o iones ferrosos sobreestimarían el CO mientras que los nitratos provocarían el efecto inverso dando valores bajos de CO.

La interferencia del cloruro es significativa sólo en suelos salinos, dado que consume dicromato con una relación estequiométrica de 4:1 (Cl:C). Esta puede impedirse por lavado del suelo antes del análisis o por precipitación como AgCl agregando Ag_2SO_4 en el ácido sulfúrico. Sin embargo, en el primer caso puede producirse pérdida de compuestos orgánicos solubles y precipitación de cromato de plata o descomposición del dicromato cuando se agrega sulfato de plata.

En cuanto al nitrato sólo interfieren cuando la concentración excede el 5 % del contenido de carbono.

Con respecto al ión ferroso, éste puede eliminarse fácilmente con el secado del suelo al aire.

Por otro lado, la presencia de calcáreo en los suelos podría neutralizar la acidez del medio pero algunos ensayos con contenidos de carbonatos de hasta el 50% p/p no afectaron la determinación (Kalra y Maynard, 1991)

Grado de molienda del suelo.

Es muy probable que el contenido de materiales finos, principalmente arcillas silicatadas, como vermiculita y montmorillonita, y materiales alofánicos afecten el nivel de oxidación del C debido a la formación de microagregados estables que protegen la MO. La mayoría de los autores recomiendan un grado de molienda del suelo tal que pase por un tamiz de 0.5 mm para asegurar una mayor recuperación del CO y evitar errores de submuestreo.

Reactivos

Sulfato amónico ferroso (sal de Mohr): este compuesto reduce notablemente su potencial reductor en presencia del oxígeno atmosférico, por lo que es imprescindible valorar la solución inmediatamente antes de su uso.

Dicromato de potasio: Se emplea como patrón primario y sus soluciones son muy estables pudiéndose conservar indefinidamente.

Ácido Sulfúrico: Su concentración no debe ser menor de 96 % p/p ya que dentro del rango del 90 al 99% existe un incremento casi lineal de recuperación del CO del 1% por cada % de incremento en la concentración del ácido (Walkley,1947).

Indicadores redox:

Actualmente se utilizan distintos indicadores.

La disolución de difenilamina en ácido sulfúrico concentrado fue el primer indicador utilizado para las titulaciones del exceso de dicromato con una sal ferrosa. El agregado de H_3PO_4 , NaF o HF antes de la titulación mejora notablemente la definición del punto final al eliminar los iones férricos del sistema.

En cuanto a la sal bájica del ácido difenilaminosulfónico, en combinación con H_3PO_4 , resultó ser más efectiva y más estable que la difenilamina.

La O-fenantrolina, con un mayor potencial de oxidación que los sulfonatos de difenilamina, permite mejorar la nitidez del punto final, pudiéndose utilizar sin el agregado de H_3PO_4 , siempre y cuando se asegure una concentración de sulfúrico 12 N durante la titulación. Sin embargo, tiene el inconveniente de ser adsorbido por coloides del suelo, por lo que se recomienda agregarla justo antes de la titulación.

Factor de conversión de C oxidable a C orgánico

En su trabajo publicado en 1934, Walkley y Black, encuentran que, para los veinte suelos ensayados, el porcentaje de C recuperado promediaba el 77 %, proponiendo el uso de un factor de 1.3 para expresar los resultados en porcentaje de carbono orgánico. Trabajos posteriores confirman en general ese valor medio pero ponen de relieve la gran variabilidad para los diferentes tipos de suelos.

NITRÓGENO (Método KJELDAHL)

INTRODUCCIÓN

Para cuantificar el nitrógeno en muestras de suelo se utilizan actualmente dos métodos muy antiguos, pero que han tenido una amplia aceptación: el propuesto por Dumas en el año 1831 y el desarrollado por Kjeldahl 50 años más tarde. El primero se basa en una combustión de la muestra en una corriente de oxígeno con posterior cuantificación del nitrógeno que se desprende. En el método de Kjeldahl la reacción ocurre en medio ácido (sulfúrico concentrado) a temperaturas elevadas (400°C), donde el nitrógeno orgánico es transformado a ion amonio, el cual es cuantificado a través de una destilación alcalina y su posterior titulación.

En el método de Kjeldahl se cuantifican las formas orgánica y amónica, y con ciertas modificaciones se pueden incluir los nitratos. Éstos deberían incluirse cuando se los encuentra en cantidades apreciables, dado que una concentración en el suelo de 500 ppm de nitratos sólo representa un 0.01% del N total.

Los principales cambios introducidos al método original, consistieron en reducir la escala del ensayo y lograr la automatización del mismo.

PUNTOS CRÍTICOS DEL MÉTODO KJELDAHL

Etapas I: Digestión de la muestra

Característica de la muestra.

No hay evidencias de un efecto significativo de la finura del material sobre el porcentaje de recuperación de N. Algunos autores recomiendan un grado de molienda acorde a la escala del método, siendo adecuado un tamaño de 0.5 para las escalas macro y semimicro, y algo menor para el nivel micro, especialmente para obtener una submuestra homogénea.

La abundancia de materiales finos, principalmente arcillas, podrían retener entre sus láminas una apreciable cantidad de amonio. En estos casos la hidratación previa o el tratamiento con HF aumentarían el nivel de recuperación de N, pero sólo de manera significativa cuando la cantidad de amonio representa más del 30% del N total.

Por otra parte la digestión de muestras con niveles elevados de materia orgánica u óxidos de Fe o Al consumen un mayor volumen de ácido sulfúrico.

Temperatura de digestión

Varios estudios demostraron que la temperatura de digestión es el factor que más incide en la determinación del N por el método Kjeldahl, dado que si ésta es demasiado baja, inferior a 360 °C, la digestión es lenta o incompleta y si es superior a 410 °C, pueden producirse pérdidas de amonio.

El control de la temperatura se realiza con un bloque calefactor y mediante el agregado de sulfato de sodio o de potasio, que permite aumentar el punto de ebullición del sulfúrico. Generalmente se prefiere la sal de potasio a la de sodio, ya que esta última incrementa las proyecciones del digesto sobre las paredes del tubo o balón, donde la temperatura es sustancialmente más elevada.

Otro aspecto importante a considerar es la concentración de estas sales en el ácido sulfúrico, ya que con niveles bajos (menores o iguales a 0.3 g/ml) se requiere de un tiempo de digestión prolongado, y, por el contrario, una alta concentración (1 g/ml o más) reduce significativamente el tiempo de digestión y podría prescindirse del uso de catalizadores (Bremner, 1960). Sin embargo la alta concentración de sulfato de sodio o de potasio (por encima de 0.8g/ml) presenta el inconveniente de la solidificación del digesto cuando éste se enfría, debiéndose destilar la muestra antes de que esto ocurra o bien calentarla previo a su destilación. También se corre el riesgo de aumentar demasiado la temperatura durante la digestión, con posibles pérdidas de amonio y también de sulfúrico, lo cual consecuentemente llevaría a un nuevo aumento de la concentración salina.

Catalizadores

Los de mayor eficiencia son aquellos que contienen selenio o mercurio, siguiendo los compuestos de titanio y cobre, pero dado que en el mismo orden decrece su toxicidad se recomiendan estos últimos.

Etapa II: Destilación

En esta etapa debe prestarse atención a la correcta conexión del tubo o balón en el destilador para evitar fugas en el sistema.

El amonio que se desprende al alcalinizar el medio se recoge sobre una solución de ácido bórico, cuyo volumen o concentración no es necesario conocer con exactitud, ya que el borato de amonio que se forma se vuelve a transformar en ácido en el transcurso de la valoración con solución de sulfúrico. Sin embargo, es imprescindible ajustar el pH de la solución de ácido bórico a valores de 4.5-5.0.

Finalmente, como en cualquier titulación, debe prestarse especial atención al título de la solución de ácido sulfúrico utilizada para valorar el amonio proveniente de la destilación.