
LIGNITOS NACIONALES Y SU POSIBLE USO COMO ENMIENDA ORGÁNICA EN SUELOS AGRÍCOLAS

Lizcano¹ D., Camejo² A., Armado¹ A.

¹Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología (UC)

² Productos Minerales de Venezuela C.A.

Resumen

El objetivo de esta investigación es determinar las características físicas, químicas y microbiológicas de dos lignitos nacionales, con fines de uso como enmienda orgánica en suelos agrícolas. Los materiales a ser analizados provienen de Lobatera, estado Táchira; identificándose como lignito A (LA) y Lignito B (LB). A ambos se les realizaron los siguientes tipos de análisis: contenido de humedad, por el método gravimétrico (15,8% para LA y 9,8 para LB), contenido de carbono orgánico (% de CO), por el método de Walkley-Black (47% para LA y 38% para LB), capacidad de intercambio catiónico (CIC), por método de NH₄OAc, a pH 7 (51 y 35 Cmol/kg lignito en LA y LB, respectivamente), actividad microbiológica mediante respiración (3 y 2.9 mgCO₂/kg lignito/días). Se realizó el fraccionamiento de la materia orgánica usando NaOH como extractante. Los ácidos húmicos (AH) extraídos se purificaron y luego se caracterizaron, determinando el contenido de grupos carboxílicos y fenólicos; luego por espectroscopia infrarroja (IR) y ultravioleta visible (UV) se obtuvieron espectros IR y relación E4/E6. Se observó que los AH contienen menor carácter aromático en comparación con otros lignitos debido a que poseen una relación E4/E6 un poco alta, siendo 5,7 para el LA y 5,8 para LB. De acuerdo con los resultados obtenidos, el lignito A presentó mayor contenido de CO y una elevada CIC. Se concluye que dicho material puede ser utilizado como enmienda en el mejoramiento de la fertilidad natural de los suelos agrícolas en Venezuela

Palabras clave: lignitos, enmienda orgánica, suelos agrícolas.

Introducción

Los suelos agrícolas venezolanos en general poseen bajo contenido de materia orgánica, por lo que es necesario utilizar enmiendas orgánicas para incrementarla. El lignito es una roca de origen sedimentario formada en su mayor parte por materia orgánica de origen vegetal, siendo sus componentes principales los ácidos húmicos (Referencia bibliográfica).

El lignito además de aportar materia orgánica a los suelos pudiera proveerlos de otras características importantes, como aumento de la capacidad de retención de humedad, mejoramiento de la textura, aumento de la capacidad de intercambio catiónico, entre otras propiedades (Humitech, 2005).

Actualmente el lignito utilizado en Venezuela es importado de otros países lo cual acarrea altos costos de importación y traslado; no obstante, en el país existen yacimientos naturales de esta roca, localizados en el municipio Lobatera, estado Táchira.

Con el fin de dar uso al lignito venezolano, nace el interés de estudiar la composición de muestras extraídas de las canteras de Lobatera, estado Táchira. Por ello se propuso un proyecto donde se estudiará el uso de lignitos como enmiendas orgánicas en suelos agrícolas. Como primera etapa, se planteó este trabajo de investigación donde se realizó la caracterización de dos lignitos, posteriormente se realizará el estudio de los efectos de la aplicación de lignito en suelos agrícolas, evaluando propiedades químicas y bioquímicas.

La caracterización de lignitos, así como de otras rocas de origen vegetal como

las leonarditas, debe estar conformado al menos por un análisis básico, análisis elemental y un análisis estructural. Adicionalmente, se planteó en esta investigación el análisis estructural (mediante espectroscopía IR y UV-visible) y la determinación de parámetros claves para el posible uso de lignitos como enmiendas orgánicas, como lo son la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y la actividad microbiológica (mediante respiración). Esta investigación proporcionará información importante para el mejoramiento de suelos agrícolas, lo que se traduce a un avance en la agricultura venezolana.

Materiales y Métodos

Se analizaron dos lignitos identificados como lignito A (LA) y lignito B (LB), triturados y tamizados hasta 1 mm, ambos provenientes de Lobatera estado Táchira, Venezuela, suministrados por la empresa PROMIVECA.

Análisis Básico

Se realizaron según norma ASTM D3172. Se determinaron porcentajes de humedad residual (ASTM D-3173, 105°C, peso constante), cenizas (ASTM D-3174, 750°C, 6 h), materia volátil (ASTM D-3175, 950°C, 6 min) y carbono fijo (ASTM D-3172, por diferencia).

Análisis elemental

El carbono presente en las muestras de lignito Walinga et al., (1.992), se determinó mediante el método de oxidación vía húmeda planteado con ácido sulfúrico y dicromato de potasio (método Walkley y Black, 1936 modificado por Walinga et al., (1992).

Para la determinación de nitrógeno se utilizó el Método de Kjeldahl (siguiendo la norma ASTM 5373).

Análisis molecular

Se realizó la extracción y el fraccionamiento químico de las sustancias húmicas (SH) por medio del procedimiento descrito por Ciavatta (1991), utilizando hidróxido de sodio como extractante, obteniéndose las fracciones de ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF), sustancias no húmicas (SNH). A la fracción de AH se le estimó el contenido de grupos fenólicos y carboxílicos mediante el número de neutralización utilizando la metodología descrita por Ritchie y Perdue (2003) donde una solución de AH se le ajusta el pH a 3 y luego se realiza una titulación potenciométrica con hidróxido de sodio.

Análisis estructural

Para realizar el análisis estructural la fracción de AH fue previamente purificada, dializando con una membrana de PM (6000-8000) sumergida en agua, por último las soluciones de AH dializadas se sometieron a un proceso de liofilización para obtener los AH en estado sólido (con el menor cambio estructural posible).

El análisis estructural se realizó obteniendo los espectros UV-visible que se realizaron con porciones de AH en solución de NaHCO₃. Las relaciones E₄/E₆ se obtuvieron midiendo la absorbancia de las soluciones de ácidos húmicos en NaHCO₃ a 465 y 665nm (Kononova, 1966). Adicionalmente, se obtuvieron los espectros IR a través de pastillas de AH en KBr.

Parámetros para el posible uso del lignito en el mejoramiento de suelos

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) se determinó por el método del acetato de amonio (Schollenberger y Simon, 1945). La actividad microbiológica de los lignitos se determinó mediante la respiración basal durante un periodo de incubación de 34 días siguiendo el procedimiento descrito por Anderson (1982).

Resultados y Discusión

Los resultados del análisis básico (humedad, cenizas, materia volátil y carbono fijo) de las muestras de lignitos en estudio (LA y LB) se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Análisis básico de lignitos

Análisis	LignitoA(%)	LignitoB(%)	Método ASTM
HumedadResidual	15,8±0,2	9,8±0,1	D 3173-02
Cenizas (Base Seca)	22,2±0,1	16,7±0,1	D 3174-04
MateriaVolátil (Base Seca)	23,8±0,1	20,8±0,1	D 3175-04
CarbonoFijo(Base Seca)	54,0±0,1	62,6±0,1	D 3172-02

Ramos (2000) publicó un estudio que realizó con 10 tipos de lignitos comerciales de diferente origen y procedencia reportando intervalos de humedad de 14-35 %. Se observa que la humedad de LA (15,8%) se encuentra dentro de este intervalo. Por otro lado, LB presentó un porcentaje de humedad (9,8%) fuera de ese intervalo, lo que indica que pudiera ser un lignito de un origen de formación diferente al LA, aunque sean del mismo lugar de procedencia, y a los estudiados por el mismo autor, en su caso pudieron haber intervenido menores cantidades de agua en su formación. Las cenizas son un producto de la combustión, es decir un residuo de la calcinación de minerales y sales existentes en el lignito (ASTM). El LA contiene mayor cantidad de cenizas que LB, esto indica que el primero contendrá una cantidad mayor de materia inorgánica disponible que puede ser importante para la nutrición de las plantas. El siguiente parámetro estudiado fue la materia volátil. Este porcentaje representa el desprendimiento gaseoso de la materia orgánica durante el

calentamiento (ASTM). El LA contiene mayor porcentaje que el LB, esto indica que el LA debe contener mayor cantidad de materia orgánica. Adicionalmente, se calculó el carbono fijo, el cual representa la parte no volátil. Es de esperarse que este porcentaje sea mayor para LB, ya que los porcentajes de cenizas y materia volátil resultaron menores en este lignito que en LA. En general, puede decirse que los análisis básicos del lignito nos dan información acerca de la cantidad de materia orgánica (MO), inorgánica y humedad que contiene los materiales en estudio y nos demuestra que los lignitos estudiados, a pesar de proceder del mismo lugar, presentan características diferentes. Como análisis elemental del material se propuso determinar la cantidad de carbono y nitrógeno contenido en las muestras. En los resultados del porcentaje de carbono orgánico, se observó que LA contiene un valor de (47±1) % el cual es mayor al que presenta LB, siendo este de (38±2) %. Estos resultados muestran que A contiene mayor cantidad de MO disponible (Tabla 2).

Tabla 2. Análisis elemental de lignitos

Análisis	LignitoA(%)	LignitoB(%)
Carbono	47±1	38±2
Nitrógeno	0,93	0,93

Según la Fundación Americana de Carbón (ACF, 2005) el porcentaje de carbono en los lignitos se encuentra entre un 25-35%, sin embargo los lignitos estudiados están por encima del intervalo mencionado. Esto podría representar una

ventaja al aplicar estos lignitos en suelos agrícolas, como una enmienda orgánica, debido a que al proporcionar una mayor cantidad de MO, se puede optimizar la estructura y permeabilidad de un suelo y con ello se aumenta el desarrollo vegetal

(Varanini y Pinton, 1995). Los análisis de nitrógeno realizados en el Laboratorio de Carbón y Coque del Instituto Zuliano de Investigaciones Tecnológicas (INZIT), reportaron valores de 0,93 % de N (Tabla 2), evidenciándose que la cantidad presente en las muestras es alta, en comparación con los valores indicados para distintos tipos de lignitos (0,08- 0,26 % N) (Ramos, 2000). En

general, la baja cantidad de nitrógeno que poseen los lignitos se debe a que el proceso de humificación natural que sufren hace descender la concentración de N en su seno (Varanini y Pinton, 1995). Tras realizar el fraccionamiento se pudo calcular el % de carbono en cada fracción (SH, AH, AF y SNH) (Tabla 3).

Tabla 3. Fraccionamiento del carbono orgánico en los lignitos

Lignito	%SH	%AH	%AF	%SNH
LA*	33±1	30±2	1,7±0,1	0,9±0,1
LB*	29±2	28±1	1,3±0,1	0,5±0,1
Lignitos comerciales**		11-22,8	8,6-20,7	0,7-5,9

*Valores obtenidos en esta investigación;

**Reportados por Ramos (2000)

Se observó que ambos lignitos están formados fundamentalmente por AH, presentando niveles muy bajos de la fracción fulvica y la no húmica. El alto % de AH obtenido en los lignitos representa una ventaja de gran importancia para usos agrícolas, debido a que los AH son quienes cumplen las principales funciones, como lo es el aumento de la CIC y de la actividad microbiológica. Se observa que los AH son más abundantes en los lignitos de este estudio que en lignitos comerciales reportados (Ramos, 2003). El alto porcentaje de AH presente concuerda con lo reportado por Franco y Bañon (1998) y Stevenson (1994),

donde se explica que en materiales muy evolucionados como los lignitos, predominan los AH y prácticamente sin presencia de sustancias no húmicas como proteínas y mucopolisacáridos. Se estimó el número de grupos carboxílicos ($R-COOH$) y grupos fenólicos ($Ar-OH$) para ello se calculó la acidez aportada por el contenido de grupos carboxílicos (pH 8) y el contenido de grupos fenólicos (pH entre 8 y 10). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4, los cuales se encuentran entre los intervalos reportados por Ritchie y Perdue (2003), para ácidos húmicos de diferentes procedencias.

Tabla 4. Números de neutralización en lignitos

Lignito	Grupos carboxílicos (mmol/g)	Gruposfenólicos (mmol/g)
LA	7,10±0,02	3,30±0,03
LB	7,50±0,04	3,30±0,02
RitchieyPerdue(2003)	7,1-15,2	1,8-4,2

Las sustancias húmicas, en este caso los AH de los lignitos, influyen en el balance del pH de los suelos. En el caso de los suelos ácidos, los ácidos húmicos promueven la neutralización de los mismos, este aumento en el pH reduce el daño que causa el ácido en las raíces, también promueve la inmovilización de elementos nocivos para las plantas. De esta manera la toxicidad existente en los suelo se reduce. En los suelos alcalinos elementos nutritivos vitales y oligoelementos no están a disposición de las plantas. Por la formación de complejos, los ácidos húmicos amortiguan el alto pH y convierten estos elementos en formas disponibles para las plantas (Humitech, 2005). La caracterización espectroscópica fue realizada solo a los AH, debido a que los AF se encuentran en el lignito en un bajo porcentaje (1,5%), lo que hace difícil el aislamiento y purificación de los mismos. Para ello, los AH fueron previamente dializados en una membrana para eliminar las sales presentes y luego fueron liofilizados para obtenerlos en estado sólido (Rivero y col, 1998). La relación óptica E_4/E_6 se determinó midiendo la absorbancia de soluciones de AH en NaHCO_3 , a una longitud de 465nm y 665nm (Kononova, 1966). Como resultados se obtuvo una relación de $5,7 \pm 0,1$ para el lignito A y $5,8 \pm 0,2$ para el lignito B; valores que se encuentran cercanos, pero superiores al intervalo de 4-5,3% reportado para otros lignitos estudiados (Ramos, 2000). Es importante señalar que dicha relación sirve como índice de humificación, es decir, como medida de los tamaños y condensación molecular. Segundo Stevenson (1994)

valores de $E_4/E_6 < 5,0$ corresponden a AH, y entre 6-8,5 a AF. De esta manera, se puede decir que la relación E_4/E_6 desciende conforme aumenta el peso molecular y el grado de humificación del material correspondiente. Así, los materiales más evolucionados, y por tanto más condensados y con mayor carácter aromático, tendrán valores de esta relación óptica más pequeños. En el caso de los lignitos estudiados se observó que las relaciones para ambos, son un poco más altas en comparación con los valores reportados para AH provenientes de lignitos, esto nos indica que presentan un grado de aromaticidad y peso molecular no tan elevados como los reportados habitualmente para AH. La otra parte del análisis espectroscópico la constituyó el análisis de los espectros IR obtenidos de los AH (no mostrados), en los cuales se identificaron bandas de absorción cercanas a 3400 cm^{-1} atribuidas al enlace de hidrógeno del grupo $-\text{OH}$, 1725 cm^{-1} estiramiento del $\text{C}=\text{O}$ de los grupos COOH y 1630 cm^{-1} atribuidos a vibraciones de los dobles enlaces de $\text{C}=\text{C}$. También se identificaron bandas en la región de 2925 cm^{-1} que pueden ser atribuidas a vibraciones de flexión de los grupos alifáticos $\text{C}-\text{H}$, 1400 cm^{-1} vibraciones de flexión $\text{O}-\text{H}$ de los alcoholes o ácidos carboxílicos y 1050 cm^{-1} a la deformación de flexión OH de los grupos carboxilo (Agarwal y col, 2010). Para estudiar el posible uso del lignito en el mejoramiento de suelos se evaluaron dos parámetros, la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y la actividad microbiológica (mediante la determinación de la respiración basal). Los resultados obtenidos para estos

parámetros se observan en la Tabla 5.

Tabla 5. Parámetros determinados del uso de lignitos en el mejoramiento de suelos

Parámetro	LignitoA	LignitoB
Capacidad de intercambio catiónico (CIC) (cmol/kg lignito)	51±2	35±2
Respiración Basal (mgCO ₂ /kg lignito*días)	3±1	2.9±0,4

Está reportado que el intervalo de CIC óptimo que debe poseer un suelo de uso agrícola está entre 25 y 35 cmol/kg suelo (García, 2005). La CIC puede depender en más de un 80% de la MO presente (Stevenson, 1994) y como se puede observar en la Tabla 5, la CIC del LA es mayor en comparación con LB, concordando con los porcentajes de MO obtenidos (Tabla 3), donde el porcentaje de MO en LA es mayor que en LB. Los AH debido a que poseen un elevado peso molecular dan lugar a una CIC elevada (Gallardo, 1994), y es lógico entonces, que los lignitos al estar conformados en su mayoría por AH presenten la alta CIC obtenida.

El uso de los AH en suelos arenosos con muy poco humus, representaría beneficios para este, incrementando la CIC y la capacidad de retención de humedad y de elementos nutritivos (Humitech, 2005). Para la respiración basal los valores obtenidos (Tabla 5) fueron de (3±1) y (2.9±0,4) mgCO₂/kg suelo*días para LA y LB, respectivamente, los cuales son bajos comparados con valores reportados en suelos agrícolas venezolanos (13,68-98,64 mgCO₂/kg suelo*días) (Sánchez y col, 2005), además no hay diferencias significativas entre ambos lignitos.

Los valores bajos en la respiración basal, son característicos de materiales con un alto grado de madurez, como los lignitos, y eso constituye una característica deseada en cualquier enmienda orgánica a ser utilizada en suelos. La importancia de los microorganismos del suelo se debe que aparte de suministrarse una buena cantidad de biomasa al mismo, intervienen activa y directamente en ciclos geoquímicos como el del C, el del N, el del P y el del S (Jaramillo, 2002). Además, la adición de SH a los suelos como fuente de carbono puede ser utilizada para incrementar la población microbiana y por tanto la actividad enzimática asociada (Lizarazo, 2001). En términos generales, es de esperar que el uso del lignito, específicamente el lignito A, como enmienda orgánica para el mejoramiento de la fertilidad natural de los suelos agrícolas, se expresaría a través del incremento de su capacidad de retención de agua y de suministro de macronutrientes, disminuyendo la fijación o retención de cationes; así como en el mejoramiento de su estructura y de la activación de la flora microbiana, considerándose así como una excelente opción para mejorar un suelo que posteriormente podrá ser cultivado para obtener mayores rendimientos en las

cosechas. Otra ventaja que presentaría el uso de lignitos es su gran cantidad de AH y su baja cantidad de AF que por ser un material joven y poco humificado en el predominan las estructuras alifáticas que, si bien son altamente hidrofílicas y muy activas en cuanto a su interacción con los micronutrientes y su movilidad, tienen un tiempo de residencia en el suelo muy corto, debido a su rápida biodegradación por microorganismos; por el contrario, los AH son procedentes de materiales más carbonizados, con estructuras aromáticas policondensadas y pesos moleculares mayores, con ausencia de proteínas y mucopolisacáridos (Franco y Bañon, 1998), que cumplirán las funciones anteriormente nombradas, teniendo un tiempo de residencia en el suelo mayor.

Conclusiones

El Lignito A presenta mayores porcentajes de humedad, cenizas y materia volátil que el Lignito B esto refleja que estos parámetros variaran dependiendo del tipo de lignito que se estudie y que a pesar de que los lignitos estudiados proceden del mismo lugar, probablemente el material parental de origen fue diferente para ambos. El método de extracción empleado con hidróxido de sodio permitió separar la materia orgánica en diferentes fracciones (AH, AF y SNH) presentes en los lignitos estudiados. Los lignitos estudiados son aptos para ser empleados como enmiendas orgánicas con fines agrícolas. Tomando en consideración que la capacidad de intercambio catiónico para el lignito A es superior a los valores óptimos reportados para suelos agrícolas,

mientras que los valores para el lignito B se encuentran en el límite superior de estos valores óptimos portados. Los espectros UV-visible obtenidos de los lignitos no generaron aportes significativos al análisis estructural; sin embargo, se determinó que los AH presentes en los lignitos estudiados tienen menor carácter aromático comparando con AH de otros lignitos comerciales, mediante la relación óptica E_4/E_6 obtenida es un poco alta comparada con las relaciones que presentan algunos lignitos. La espectroscopia IR es una técnica viable para la confirmación de grupos funcionales presentes en la estructura de las moléculas de ácidos húmicos tales como los grupos OH y COOH. Podemos concluir que el uso del lignito (específicamente, el lignito A) como aditivo en el mejoramiento de suelos probablemente aumentará su capacidad de retención de agua, evitara la retención de los cationes del suelo disminuyendo su fijación, mejorara su estructura y activará la flora microbiana, considerándose así como una excelente opción para mejorar un suelo que posteriormente podrá ser cultivado y se obtendrán mejores rendimientos en las cosechas.

Agradecimiento

Esta investigación constituye una alianza entre la industria PROMIVECA con la Universidad de Carabobo, específicamente, el Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas, Departamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología.

Referencias Bibliográficas

- ACF. (2005). American Coal Fundation, [en línea]. <http://www.ket.org/trips/coal/agsmm/agsmmtypes.html>
- Agarwal, S.; Khalid, M.; Khanna, R.; Ali, A. y Sultana, Y. (2010). Humic acid from Shilajit – a physico-chemical and spectroscopic characterization. *J. Serb. Chem. Soc.* 75 (3) 413-422.
- Anderson, J. P. (1982). Soil respiration. En: Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. 2nd ed. (A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney eds.) Soil Science Society of America Number 9. SSSA, Madison, Wisconsin, USA. 831-871.
- ASTM. Análisis Próximos. Laboratorio del Centro de Investigaciones del Carbón. Universidad Nacional de Colombia, [en línea]. http://www.unalmed.edu.co/~ctcarbon/analisis_proximos.htm.
- Ciavatta, C.; Antisari, L. y Sequi, P. (1991). Humification Parameters of Organic Materials Applied to soil. Lectures notes in Earth Sciences. Springer Velarg, Berlin. 177-185.
- Franco, J. y Bañon, S. (1998). Posibilidades agrícolas de los ácidos húmicos comerciales. Horticultura, 69.
- Gallardo, J. (1994). Introducción a la química de las sustancias húmicas, el humus, la materia superficial del suelo, regulación y nutrición de los suelos. Ministerio de agricultura y pesca. *Investigación y ciencias*, 46: 8-16 España.
- García, N., A. (2005). Edafología. Ciencias Ambientales, [en línea]. <http://www1.unex.es/eweb/edafo/ECAP/ECAL5PFQReaccion.htm>
- Humitech. (2005). [en línea]. <http://www.humintech.com/pdf/imagebrochure.01.034.pdf>.
- Jaramillo, J. (2002). Introducción a la ciencia del suelo. Universidad Nacional de Colombia. 1^{ra} Edición.
- Kononova, M. (1966). Materia Orgánica de los suelos, su naturaleza, su papel en la formación del suelo y en la fertilidad. 2da Edición. London Pergamon Press.
- Lizarazo, L. (2001). Incidencias de sustancias húmicas comerciales sobre microorganismos en el suelo. Universidad de Alicante.
- Ramos, R. (2000). Aplicación de sustancias húmicas comerciales como productos de acción bioestimulantes. Efectos frente al estrés salino. Tesis doctoral. Universidad de Alicante. España.
- Ritchie, J. y Perdue E. (2003). Proton-binding study of standard and reference fulvic acids, humic acids, and natural organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Vol. 67, No. 1, 85-96.
- Rivero, C.; Senesi N.; Paolini J.; D'Orazio V. (1998). Characteristic of soil humic acid of some Venezuelan soils. *Geoderma*. 81:227-239.
- Sánchez, B.; Ruiz, M.; Rios, M.M. (2005). Materia orgánica y actividad biológica del suelo en relación con la altitud, en la cuenca del río Maracay, estado Aragua. Scielo. *Agronomía Trop.* 55 (4): 507-534.
- Schollenberger, C. y Simon, R. (1945). Determination of exchange capacity and exchangeable bases in soil- Amonium acetate method. *Soil Sci.*, 59: 13-24.
- Stevenson, F. (1994). Humus chemistry: genesis, composition and reaction. 2nd edition. Edit John Wiley & Sons, Inc.

- New York.
- Varanini, Z. y Pinton, R. (1995). Humic substances and plant nutrition. *Progress in Botany*, 56, 97-116.
- Walkley, A. y Black, I. (1934). An examination of the Degtjaeff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-38.
- Walinga, I.; Kithome, M.; Novozamsky, I.; Houba, V.J.G. y J.J.Vander Lee. (1992). Spectrophotometric determination of organic carbon in soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 23 (15-16): 1935-1944.