

Métodos Kjeldahl, elementar e o potencial da espectroscopia do infravermelho próximo para determinação de nitrogênio em solos da bacia do Acre

Gleiciane Ad Vincula Almeida¹, Lucieli Manoel da Silva², Robélio Leandro Marchão³, Paulo Guilherme Salvador Wadt⁴, André Marcelo de Souza⁵, Luis Cláudio de Oliveira⁶

1. Bióloga (União Educacional do Norte). Mestre em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia (Universidade Federal do Acre, Brasil).

2. Engenheiro Agrônomo (Universidade Federal Rural de Pernambuco). Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas (Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz). Analista de Pesquisa na Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias, Brasil.

3. Engenheiro Agrônomo e Doutor em Agronomia (Universidade Federal de Goiás). Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias, Brasil.

4. Engenheiro Agrônomo (Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro). Doutor em Agronomia (Universidade Federal de Viçosa). Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias, Brasil.

5. Químico e Doutor em Química (Universidade Estadual de Campinas). Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias, Brasil.

6. Engenheiro Florestal (Universidade Federal de Lavras). Mestre em Ciências de Florestas Tropicais (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia). Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias, Brasil.

*Autor para correspondência: gleicianeadd@hotmail.com

RESUMO. A bacia do Acre compreende um ambiente geológico distinto da maioria das condições encontradas no bioma amazônico, resultando em solos com características mineralógicas e propriedades químicas distintas dos demais solos deste bioma. Para estes solos não existem avaliações quanto a exatidão e precisão dos métodos da análise elementar, digestão micro Kjeldahl e espectroscopia do infravermelho próximo (NIR) na quantificação do nitrogênio nos solos. O objetivo da pesquisa foi testar e comparar dois métodos convencionais e a espectroscopia do infravermelho próximo na determinação do teor de nitrogênio nos solos da bacia do Acre. Foram utilizadas 176 amostras de solos representativas da bacia do Acre das quais determinou-se os teores de N pelos métodos convencionais de Kjeldahl e o método elementar. Para avaliação da aplicabilidade do NIR adotou-se como referência os teores determinados pelo método elementar, sendo utilizados os espectros NIR da faixa de 1100 a 2500 nm e com resolução de 2,0 nm por refletância difusa. Quando comparadas as médias de nitrogênio pelos métodos Kjeldahl e elementar não foram observadas diferenças entre os procedimentos e ambos os métodos apresentaram coeficiente de variação inferior a 5%, indicando boa precisão para ambos os métodos, com boa exatidão na determinação dos teores de nitrogênio em amostras de solos da bacia do Acre. Adotando-se os teores determinados pela análise elementar para calibrar e depois validar as estimativas do nitrogênio no solo pela espectroscopia do infravermelho próximo, obteve-se o erro padrão de calibração de 0,28 g kg⁻¹ e coeficiente de determinação de 84%, enquanto que na validação do modelo o erro padrão de validação foi de 0,35 g kg⁻¹ e o coeficiente de determinação de 77%, que foi interpretado como havendo potencial da espectroscopia do infravermelho próximo para ser usado apenas na quantificação do teor de nitrogênio no solo em estudos expedidos que demandam grande volume de processamento de dados.

Palavras-chave: análise de solos, combustão seca, Amazônia, química verde.

Kjeldahl, dry combustion and near infrared spectroscopy methods for nitrogen analysis in Acre basin soils

ABSTRACT. The Acre basin comprises a distinct geological environment with different environments in relation to Amazon biome, which results in soils with mineralogical and chemical properties different of other soils of this biome. For these environment there are no evaluations regarding the accuracy and precision of analysis methods for nitrogen: Kjeldahl, dry combustion and NIR spectroscopy. The objective of the research was to assess and compare two conventional methods and near infrared spectroscopy to determine the nitrogen content in the Acre basin soil. To evaluate these three methods, were used 176 representative soil samples of Acre basin. To evaluate the applicability of NIR was adopted as reference the levels determined by the elementary method, the NIR spectra are used in the range 1100-2500 nm and 2.0 nm resolution by diffuse reflectance. The Kjeldahl and dry combustion methods showed no differences in determining the nitrogen content in the soil, and both methods showed coefficient of variation of less than 5%, indicating the same accuracy of the two methods for determining the nitrogen contents in the Acre Basin soil. Adopting the elemental analysis to calibrate and validate the estimates of nitrogen in the soil by near infrared spectroscopy, there was obtained the standard error of calibration 0.28 g kg⁻¹ and coefficient of determination of 84%; and the standard validation error model was 0.35 g kg⁻¹ with the coefficient of determination of 77%. This has been interpreted as NIR spectroscopy has potential to be used in the quantification of the nitrogen content in the soil in research that require high-volume data processing.

Keywords: soil testing; elemental analysis; Amazon; green chemistry.

1. Introdução

Diversas técnicas de análise químicas são utilizadas para avaliar o teor de N presente no solo. Porém, no Brasil a grande maioria dos laboratórios ainda utilizam métodos de análises baseados na digestão via úmida, destilação da matéria orgânica e titulação na presença de meio intensamente ácido (SILVA et al., 2009). Entretanto, os resíduos deste tipo de análise são tóxicos e agressivos ao meio ambiente e a saúde humana, demandando tratamento adequado para o descarte incorporando, assim, um custo adicional às análises.

A determinação de nitrogênio no solo por digestão via

úmida e titulação após destilação pelo método Kjeldahl (SILVA et al., 2009), embora demandando maior quantidades de reagentes e de pessoal qualificado e produzindo grandes quantidades de resíduos no procedimento analítico, normalmente é adotado em laboratórios não equipados com analisador elementar (DIECKOW et al., 2007).

A determinação do nitrogênio pode também ser feita pelo método de análise elementar (AE). Esse método baseia-se na combustão completa da amostra, por via seca, à temperatura de 900 a 1200°C, na presença em excesso de oxigênio, produzindo os gases CO₂, H₂O, NO_x

e SO_4 , os quais são então homogeneizados e carregados por um gás inerte (hélio ou argônio) por uma coluna de separação, para finalmente serem analisados por um detector de condutividade térmica (REZENDE, 2011) Esse método também demanda reagentes e gera resíduos, embora em menor quantidade quando comparado o método Kjeldahl, mas requer altos investimentos para a aquisição de equipamentos e pessoal bem treinado para o manuseio do mesmo

Em estudo para a determinação de nitrogênio em amostras de um Argissolo sob plantio direto, o método da AE apresentou alta correlação com o método de Kjeldahl (GATTO et al., 2009).

Chatterjee et al. (2009) destacam, entretanto, que o método da AE apresenta como desvantagens o tamanho diminuto da amostra, dificultando tanto a homogeneização do material a ser analisado, como também a sua representatividade frente ao material a ser caracterizado. Observam ainda que aumentar o tamanho da amostra somente é possível dentro de um limite, dado o risco de ocorrer a combustão incompleta com o aumento da massa da amostra.

Entretanto, as duas técnicas convencionais descritas acima, apesar de serem amplamente utilizadas, geram resíduos com potencial poluidor, motivo pela qual não podem ser consideradas limpas, não atendendo, portanto, aos princípios da química verde (LENARDÃO et al., 2003).

Uma alternativa consiste na análise por meio da espectroscopia no infravermelho próximo (NIR - *near infrared spectroscopy*). A técnica NIR possibilita a determinação de diversos atributos químicos, físicos e microbiológicos simultaneamente, sem a geração de resíduos e com o tempo da análise reduzido, além de não destruir a amostra. Tem sido arguido ser essa técnica rápida, de boa precisão nos resultados, de baixo custo operacional, além de ser livre de resíduos indesejáveis por não usar reagentes químicos (GONTIJO NETO et al., 2012).

Para a análise de carbono em solos, vários autores têm apontado a adequabilidade do uso da espectroscopia NIR como alternativa complementar ou substituta aos métodos analíticos convencionais (FERNANDES et al., 2010; GONTIJO NETO et al., 2012). Contudo, Fuentes et al. (2012) chamam a atenção que a aplicação da espectroscopia NIR, tanto para análise de carbono total como de nitrogênio total em solos, mesmo que resultando em resultados analiticamente comparáveis aqueles obtidos com os métodos tradicionais, requer estudos complementares para confirmar se os modelos de calibração mantem-se independentes dos locais de estudo e das especificações instrumentais.

A bacia do Acre compreende um ambiente geológico distinto da maioria das condições encontradas no bioma amazônico. Nesta bacia, as ordens de solo com maior abrangência territorial são Argissolos, Luvisolos e Cambissolos, com diferenças na mineralogia quando comparadas aos solos de mesma ordem de outras regiões tropicais ou mesmo da Amazônia, devido a ocorrência de

argilominerais do tipo 2:1 e 2:2 nestes solos. Entre essas características destacam-se elevados teores de Ca^{2+} e Mg^{2+} , quase sempre em associação com altos teores de Al^{3+} , bem como maior relação silte/argila (ANJOS et al., 2013).

Espera-se também que essas diferenças mineralógicas possam afetar a dinâmica do nitrogênio no solo, especialmente quanto a presença das formas amoniacais e nítricas (ARAÚJO et al., 2005). Contudo, para esses solos, faltam estudos relacionados a acurácia dos métodos tradicionais para a determinação de nitrogênio nos solos, bem como inexistente trabalho com o uso da espectroscopia NIR para a determinação de nitrogênio nos solos desta região.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar comparativamente o método da Análises Elementar, o método Kjeldahl e o método da espectroscopia NIR na quantificação do teor de nitrogênio em solos da Bacia do Acre.

2. Material e Métodos

Para obter amostras de solos representativas dos solos da Bacia do Acre, foram utilizadas amostras do banco de solos da Embrapa Acre. As amostras utilizadas foram todas originárias de coletas realizadas em diferentes trabalhos de pesquisa e armazenadas no banco de amostras de solos. O clima da região de coleta é, de acordo com a Classificação de Köppen, do tipo equatorial, quente e úmido, com temperaturas médias anuais de $24,5^\circ\text{C}$ e com médias máximas de 32°C ao longo do ano. A precipitação varia de 1600 mm e 2750 mm (ACRE, 2010).

O processo de seleção amostral foi semi-aleatório: inicialmente, agruparam-se as amostras em função do local de coleta e da ordem de solos e mineralogia (quando disponíveis essas informações) e da textura expedida classificada em textura arenosa, textura média e textura argilosa. A seguir, foram amostradas ao acaso um conjunto de 176 amostras.

Essas amostras, já tomadas como terra fina seca ao ar, foram depois submetidas a diferentes procedimentos analíticos para a determinação do teor total de nitrogênio no solo.

O teor de N pelo método de destilação micro Kjeldahl (DK) foi determinado seguindo a metodologia descrita Silva et al., (2009) sendo a análise realizada em triplicata.

Após resfriamento dos tubos, foram adicionados aproximadamente 10 ml de água destilada com auxílio de uma peseta, em seguida agitada levemente (reação exotérmica). As amostras foram levadas para a homogeneização e dissolução dos precipitados. Em seguida, adicionou-se 25 ml da solução de hidróxido de sódio concentrado e procedeu-se a destilação, coletando-se cerca de 40 ml do destilado em erlenmayer de 125 ml contendo 10 ml da solução de ácido bórico/indicador misto. Em seguida, a amostra foi titulada com solução padronizada de ácido clorídrico a $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

A análise elementar foi realizada em analisador CHNS, analisando-se de cada amostra uma subamostra de 25 mg,

em duplicata. As amostras foram submetidas à combustão em uma atmosfera de oxigênio puro, e os gases resultantes dessa combustão foram quantificados em um detector de condutividade térmica (REZENDE, 2011).

Para a determinação do nitrogênio por espectroscopia NIR, os espectros foram obtidos em duplicatas com a média de 64 varreduras para compor um espectro em um equipamento da marca FOSS NIRS DS2500 (Hillerød, DK, Dinamarca), com refletância difusa. Os espectros foram obtidos na faixa na faixa de 1100 a 2500 nm e com resolução espectral de 2 nm; os quais foram posteriormente convertidos em absorvância (A) pela expressão $A = \log [1/R]$, onde R= é a refletância em cada comprimento de onda.

Na análise dos dados obtidos, para comparação entre os métodos convencionais usou-se a análise de regressão linear, teste t de médias ao nível de 5% de significância e estatística descritiva usando o software SAS versão 9.2.

Para a construção do modelo de calibração e validação para os dados de Espectroscopia NIR, os espectrais foram armazenados no ISIsCan 4.5 e a seguir exportados e analisados no software Unscrambler® Versão 10.2. Visando analisar a homogeneidade dos dados e detectar possíveis outliers, aplicou-se a análise de componentes principais (ACP) utilizando a elipse de Hotelling e um intervalo de confiança de 95% para a matriz de espectros das 176 amostras.

Para a construção do modelo de calibração utilizou-se um subconjunto de amostras obtidas aleatoriamente, para a obtenção da regressão por quadrados mínimos parciais (PLS) com pré-tratamento espectral usando a combinação dos métodos SNV+detrend 1.

Finalmente, o procedimento de validação cruzada foi utilizado para a predição dos teores de nitrogênio do subconjunto de amostras não utilizadas na construção do modelo.

O desempenho do modelo de calibração foi expresso pelo erro padrão da calibração (EPC), coeficiente de calibração (R^2_{cal}), coeficiente de validação (R^2_{val}) e erro padrão da validação cruzada (EPV).

3. Resultados e Discussão

O teor de nitrogênio nas 176 amostras oriundas da bacia do Acre, apresentaram, pelo método de digestão micro Kjeldahl variação de 0,16 a 3,69 g kg⁻¹, com média de 0,93 g kg⁻¹. O coeficiente de variação (CV) médio foi de 4,49%. Para as mesmas amostras, pelo método da análise elementar, o teor médio de nitrogênio foi de 0,94 g kg⁻¹, variando de 0,15 a 4,15 g kg⁻¹, com o CV médio de 4,08% (Tabela 1).

O coeficiente de variação abaixo de 5% indica boa precisão para os resultados analíticos obtidos pelos dois métodos, por outro lado, uma vez considerado o método da análise elementar como aquele de referência para a determinação do teor de N no solo, pode-se também afirmar que o método de digestão micro Kjeldahl também apresentou boa exatidão para os resultados analíticos, tanto pela igualdade nos teores médios, mas também pela

boa correspondência entre os valores extremos, principalmente, nas menores faixas de teores de N no solo (Tabela 1).

Embora o método da análise elementar identifique formas de N não detectáveis pelo método de digestão micro Kjeldahl, como as formas de nitrato e nitrito presentes em solos tropicais, por serem essas frações muito pequenas e em ínfima proporção em relação as demais formas de N presente no solo (N orgânico e N amoniacal) (SANTOS et al., 2010), a igualdade entre os teores determinados é razoável e dentro das expectativas (BODDEY et al., 2010).

Essa concordância se corrobora pela alta correspondência entre os teores de N detectados por cada um dos métodos em todas as classes de teores de N no solo (Figura 1), bem como uma correlação estreita entre os dois métodos (Figura 2). Esse mesmo comportamento entre os dois métodos foi observado por Dieckow et al. (2007), que constaram correlação de 0,96 em estudos avaliando o teor de nitrogênio em amostras de solos provenientes de m Argissolo sob manejo de plantio direto com diferentes coberturas vegetais.

Tabela 1. Valores médios, mínimos, máximos, desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) dos teores de nitrogênio avaliados pelos métodos Kjeldahl e elementar. / **Table 1.** Mean values, minimum, maximum, standard deviation and variation coefficient of nitrogen contents evaluated by the Kjeldahl and dry combustion methods.

Métodos	Média	Valor Mínimo	Valor Máximo	DP	CV
	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹		%
Kjeldahl	0,93a	0,16	3,69	0,04	4,49
Elementar	0,94a	0,15	4,15	0,04	4,08

Médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna, não diferente entre si pelo teste de t ao nível de 5% de significância.

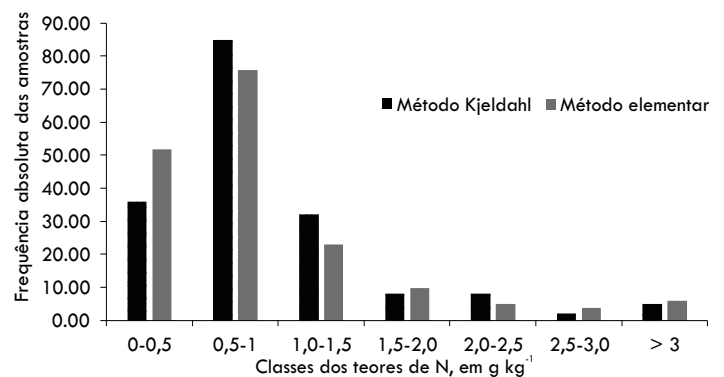


Figura 1. Número de amostras por classes de teores de nitrogênio quantificados em 176 amostras representativas da bacia do Acre pelos métodos elementar e Kjeldahl. / **Figure 1.** Number of samples per nitrogen contents class quantified in 176 representative samples of Acre basin by dry combustion and Kjeldahl methods.

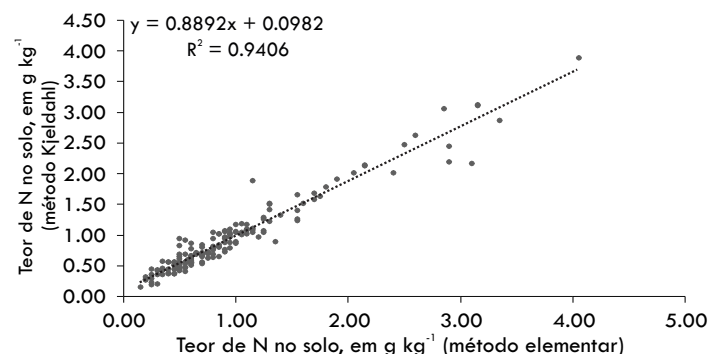


Figura 1. Número de amostras por classes de teores de nitrogênio quantificados em 176 amostras representativas da bacia do Acre pelos métodos elementar e Kjeldahl. / **Figure 1.** Number of samples per nitrogen contents class quantified in 176 representative samples of Acre basin by dry combustion and Kjeldahl methods.

Dada a alta correspondência entre os métodos convencionais de determinação de N no solo, e considerando que o método da análise elemental tem sido crescentemente indicado como método de referência para a determinação do teor de N em solos (FERNANDES et al., 2010; GONTIJO NETO et al., 2012), a calibração e a validação do modelo para avaliação do potencial de técnica espectroscopia NIR para a quantificação do teor de N em solos foi feita apenas com os teores de nitrogênio determinados pelo método da análise elemental.

A análise de componentes principais (ACP), aplicada sobre os dados, permitiu identificar oito amostras tidas como *outliers* (Figura 3) as quais foram descartadas do processo de calibração. Em ambos os casos, ou seja, com ou sem as amostras *outliers*, os dois primeiros componentes canônicos explicaram 87% da variação dos espectros (Figura 3 e 4).

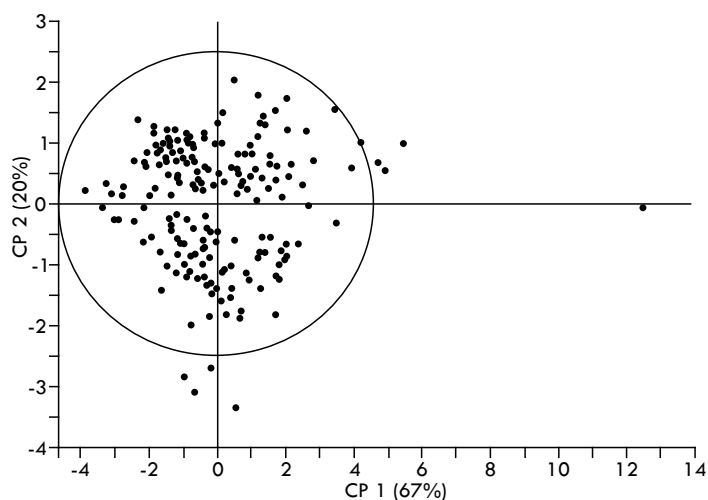


Figura 3. Resultante da análise de componentes principais (ACP) com as 176 amostras indicando os *outliers* espectrais. / **Figure 3.** Resulting from the principal component analysis (PCA) with 176 samples indicating the spectral outliers.

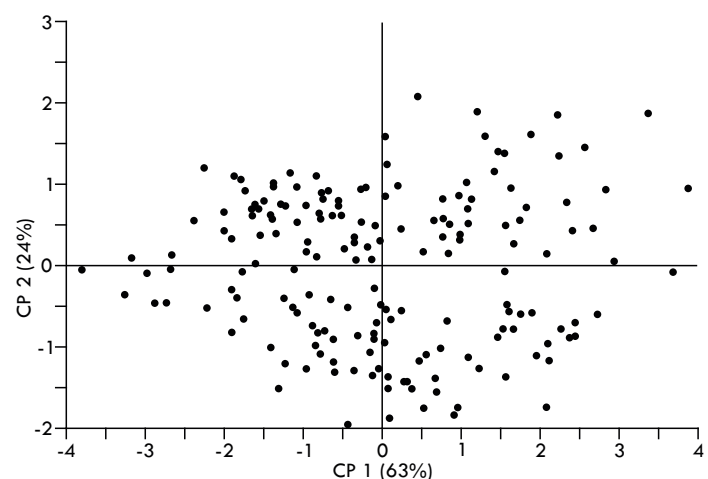


Figura 4. Resultante da análise de componentes principais (ACP) com as 168 amostras (sem as amostras com os *outliers* espectrais). / **Figure 4.** Resulting from the principal component analysis (PCA) with 168 samples (no samples with spectral outliers).

O pré-tratamento aplicado foi uma combinação de SNV+detrend 1 visando diminuir ruídos e não linearidades existentes nos espectros. Esse modelo tem sido amplamente empregado no tratamento de dados espectrais, conforme proposto por VISCARRA ROSSEL et al. (2009). Nas figuras 5 e 6 foram apresentados os espectros originais e os espectros após tratamentos.

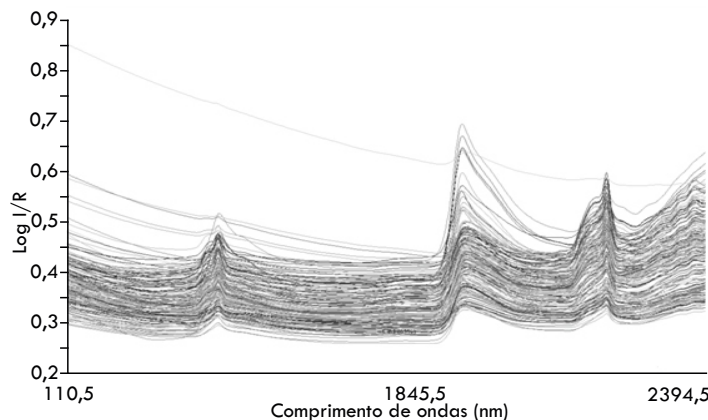


Figura 5. Espectros originais das amostras sem tratamento prévio. / **Figure 5.** Original spectra before sample treatments.

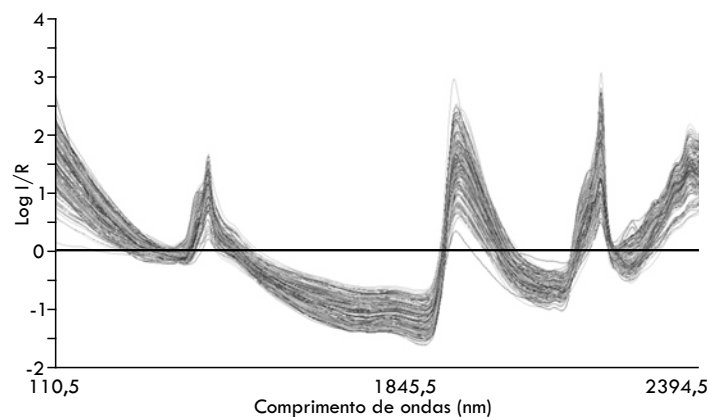


Figura 6. Espectros pré-tratados pelo método combinado de SNV+detrend-1. / **Figure 6.** pretreated spectra by the combined method of SNV + detrend-1.

Das 168 amostras remanescentes (após retirar os 8 *outliers*), destas, 134 foram utilizadas na calibração do modelo e 34 na validação. A seleção das amostras para calibração e validação foi realizada de forma aleatória pelo programa utilizado na calibração e validação dos modelos.

Na calibração, o erro padrão de calibração (EPC) foi de 0,28 g kg⁻¹ e o coeficiente de determinação foi de 0,84 (Figura 7).

Por sua vez, na etapa de validação do modelo, o erro padrão de validação foi de 0,35 g kg⁻¹ e o coeficiente de determinação foi de 0,77 (Figura 8).

Verifica-se que na validação o modelo apresentou um erro maior e coeficiente de determinação menor quando comparados com a etapa da calibração (Figuras 7 e 8). Este resultado também foi observado por Marchão et al. (2011), em estudo com solos do cerrado para avaliar a espectroscopia NIR para determinação de N, no qual obteve um coeficiente de calibração de 0,94 e um coeficiente de validação de 0,58. Comparativamente aos resultados atuais, no trabalho de Marchão et al. (2011), mesmo o coeficiente de calibração tendo sido maior, o coeficiente de validação foi menor.

Segundo Fuentes et al. (2012), verifica-se que os coeficientes de correlação com os dados obtidos no presente trabalho foram próximos, porém, os erros de calibração e validação foram maiores no atual trabalho. Dado que no trabalho de Fuentes et al. (2012) foram utilizadas 301 amostras, e no presente trabalho foram utilizadas somente

176 amostras, a menor representatividade amostral, associada as diferenças nas propriedades dos solos da bacia do Acre, podem explicar as diferenças nos resultados entre os dois trabalhos.

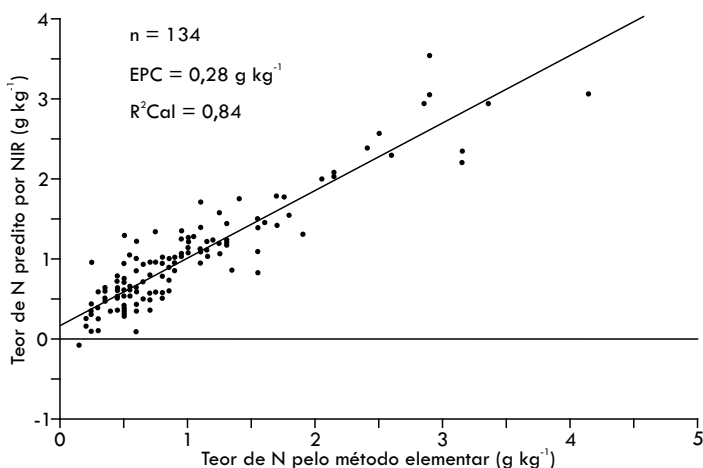


Figura 7. Teores de Nitrogênio em amostras da bacia do Acre pelo método da análise elementar e os teores preditos gerados a partir da técnica NIR. Calibração do modelo. / **Figure 7.** Nitrogen in soil samples of Acre basin by dry combustion method and the predicted levels generated from the NIR spectrometry. Model calibration.

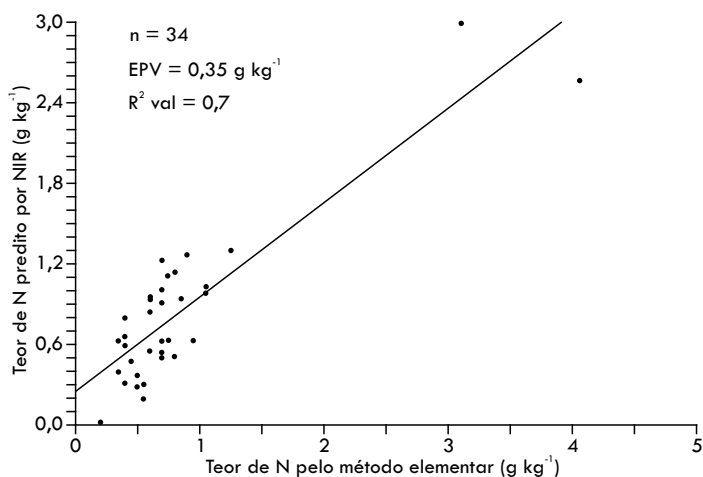


Figura 8. Nitrogênio em amostras de solos da bacia do Acre pelo método da análise elementar e os teores preditos gerados a partir da espectroscopia NIR. Validação do modelo. / **Figure 8.** Nitrogen in soil samples from the basin of Acre by dry combustion method and the predicted levels generated from the NIR spectrometry. Model Validation.

A espectroscopia NIR é uma das técnicas mais promissoras no campo das análises não destrutivas (PASQUINI, 2003). Sua utilização possibilita determinações diretas (sem pré-tratamento) na amostra, obtendo-se resultados rapidamente, em intervalos de tempo da ordem de segundos (PANONTIN, 2007). Além de apresentar bons resultados em análise na quantificação de atributos químicos, físicos e biológicos (CEZAR et al., 2013) e poder atender a grande demanda de dados de forma rápida, limpa, eficientes e de baixo custo operacional (SOUZA et al., 2013).

Os resultados obtidos no presente trabalho comprovam potencialidade para o uso da técnica de espectroscopia NIR, no caso presente, para a determinação do teor de nitrogênio em amostras de solos da bacia do Acre, atendendo a crescente necessidade de se substituir gradativamente os métodos analíticos convencionais por processos mais rápidos, de baixo custo e de boa precisão (GONTIJO NETO et al., 2012).

Deve-se atentar, entretanto, para a menor precisão do

método de espectroscopia NIR. O erro padrão encontrado na validação, $0,35 \text{ g kg}^{-1}$, pode dificultar o monitoramento do N no solo em função de processos ecológicos ou agrônômicos. Assim, para estudos que exigem maior exatidão dos resultados, o método da análise elementar, por apresentar maior exatidão e boa precisão, deve ser preferencialmente recomendado (GATTO et al., 2009; COSER et al., 2012).

4. Conclusões

Os métodos de digestão micro Kjeldahl e de análise elementar foram equivalentes na determinação dos teores de nitrogênio em amostras de solos da bacia do Acre, ambos com possibilidades de serem utilizados para os mesmos propósitos.

O método de espectroscopia NIR apresentou boa precisão e boa correlação com o método de análise elementar, porém, com baixa exatidão, sendo recomendado para estudos expeditos que demandam grande volume de processamento de dados.

5. Referências Bibliográficas

- ACRE. Governo do Estado do Acre. **Programa Estadual de Zoneamento Ecológico-Econômico do Estado do Acre. Zoneamento Ecológico-Econômico do Acre Fase II:** documento Síntese – Escala 1:250.000. Rio Branco: SEMA, 2006. 354p. Acre.
- ANJOS, L. H. C.; JACOMINE, P. K. T.; OLIVEIRA, V. A.; BARDALES, N. G.; ARAÚJO, E. A.; FRANCELINO, M. R.; CALDERANO, S. B. Caracterização morfológica, química, física e classificação dos solos estudados na IX Reunião Brasileira de Classificação e Correlação de Solos. In: ANJOS, L. H. C.; SILVA, L. M.; WADT, P. G. S.; LUMBRERAS, J. F.; PEREIRA, M. G. **Guia de Campo da IX Reunião Brasileira de Classificação e Correlação de Solos.** 1. ed. Rio Branco: Embrapa / SBCS, 2013. p. 147-194.
- ARAÚJO, E. A. de; AMARAL, E.F.; WADT, P. G. S.; LANI, J.L. Aspectos gerais dos solos do Acre com ênfase no manejo sustentável. In: Wadt, P.G.S. (Ed.). **Manejo do solo e recomendação de adubação para o Estado do Acre.** Rio Branco: Embrapa Acre, v. 1, p. 27-62, 2005.
- BODDEY, R. M.; FERNANDEZ-AHUMADA, E.; PALAGOS, B.; ROGER, J.M. Carbon accumulation at depth in Ferrosols under zero-till subtropical agriculture. **Global Change Biology**, v. 16, p. 784-795, 2010.
- CEZAR, E.; NANNI, M. R.; DEMATTÊ, J.A. M.; CHICAT, M. L.; OLIVEIRA, R. B. Estimativa de atributos do solo por meio de espectrorradiometria difusa. **Revista Brasileira de Ciência do Solo.** v. 37, p. 858-868, 2013.
- CHATTERJEE, A.; LAL R.; WIELOPOLSKI, L.; MARTIN, M.Z.; EBINGER, M.H. Evaluation of different soil carbon determination methods. **Critical Reviews in Plant Science**, v. 28, p. 164-178, 2009.
- COSER, T. R.; FIGUEIREDO, C. C.; RAMOS, M. L. G.; JANNUZZI, H.; MARCHÃO, R. L. Carbon recovery obtained by three methods in organic matter fractions of Latosol under maize-grass intercropping in the cerrado. **Bioscience Journal**, v.28, p. 91-97, 2012.
- DIECKOW, J.; MIELNICZUK, J.; KNICKER, H.; BAYER, C.; DICK, D.P.; KÖGEL-KNABNER, I. Comparison of carbon and nitrogen determination methods for samples of a Paleudult subjected to no-till cropping systems. *Sci. Agric.*, v. 64, n 5, p.532-540, 2007.
- FERNANDES, F.A.; FERNANDES, A.H.B.M.; BUENO SOBRINHO, A.A.; MONTEIRO, H. de C.; SILVA, A.C.G. **Uso de espectrometria de refletância no infravermelho próximo (NIRS) na análise de carbono de Neossolos do Pantanal.** Comunicado Técnico, dezembro 2010. Disponível em <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/COT86.pdf> (Acessada em 17/02/2015).
- FLUENTES, HIDALGO, C.; GONZALEZ-MARTIN, I.; HERNANDEZ-HIERRO, J. M.; GOVAERTS, B.; SAYRE, K. D.; ETHEVERS, J. NIR spectrometry: An alternative for soil analysis. **Communications in soil Science and plant analysis**, v. 43, p.346-356, 2012.
- GATTO, A.; BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F.; SILVA, I.R.; SÁ MENDONÇA, E.; VILLANI, E.M.A. Comparação de métodos de determinação do carbono orgânico em solos cultivados com eucalipto. **Revista Brasileira Ciências do Solo**, v. 33, n 3, p. 735-740, 2009.

- GONTIJO NETO, M. M.; SIMEONE, M. L. F.; GUIMARÃES C. C.; ANDRADE, H. M.; QUEIROZ, L. R. SIMÃO, E. P. **Predição do teor de carbono total em solos de áreas experimentais de integração de lavouras-pecuária por meio da espectroscopia NIR.** Minas Gerais. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2012, 6 p. (Comunicado Técnico).
- LENARDÃO, E.J.; FREITAG, R.A.; DABDOUB, M.J.; BATISTA, A.C.F. "Green Chemistry" - Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. *Química Nova*, v. 26, n 1, p. 123-129, 2003.
- MARCHÃO, R.L.; BECQUER, T.; BRUNET, D. **Predição dos teores de carbono e nitrogênio do solo utilizando espectroscopia de infravermelho próximo.** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2011, 21 p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento).
- PANONTIN, F. **Determinação de volume de poro de sílicas para CLAE utilizando espectroscopia no infravermelho próximo.** 2007. 93 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas/ UNICAMP, Campinas, 2007.
- PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 14, n 2, p. 198-219, 2003.
- REZENDE, V. M. **Certificação de Beta-N-Metil-amino-anina: um modelo para produção de materiais de referência de substâncias orgânicas obtidas in-house.** 2011. 105p. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Análise Toxicológicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de, São Paulo, 2011.
- RIBEIRO, P. E. de A. Implementação de análise de nitrogênio total em solo pelo método de Dumas. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 26 p. (Documentos).
- SANDER, A. P. O.; OLIVEIRA, S. G.; BERCHIELLI, T. T. Application of Kjeldahl and dumas combustion methods for nitrogen analysis. *Archives of Veterinary Science*, v. 9, p. 73-79, 2004.
- SANTOS, G. A.; PEREIRA, A. B.; KORNDÖRFER, G. H. Uso do Sistema de análises por infravermelho próximo (NIR) para análises de matéria orgânica e fração argila em solos e teores foliares de silício e nitrogênio em cana-de-açúcar. *Bioscience Journal*, v. 26, n. 1, p. 100-108, 2010.
- SAS®9.2 Language Reference: Dictionary, Second Edition. Copyright © 2009, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. ISBN 978-1-60764-189-6.
- SILVA, F. C. da. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes.** 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 627 p.
- SOUZA, A. M.; COELHO, M. R.; FILGUEIRAS, P. R.; COSTA, L. A. A.; NOVOTNY, E. H.; POPPI, R. J. Determinação atributos físicos do solo por espectroscopia no infravermelho próximo e regressão por quadrados mínimos parciais. In: **Congresso Brasileiro De Ciência Do Solo**, 34. 2013, Florianópolis. Anais... Florianópolis, SC: Sociedade Brasileira do Solo, 2013.
- VISCARRA, R.A.; CATTLE, S.R.; ORTEGA, A.; FOUAD, Y. In situ measurements of soil colour, mineral composition and clay content by Vis-NIR spectroscopy. *Geoderma*, v.150, p. 253-266, 2009.
- WATSON M.E. AND GALLIHER T.L. Comparison of Dumas and Kjeldahl methods with automatic analyzers on agricultural samples under routine rapid analysis conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. v. 32, n 13-14, p. 2007-2019, 2001.