

DETERMINAÇÃO DAS ESPÉCIES INORGÂNICAS TROCÁVEIS DE NITROGÊNIO EM AMOSTRAS DE ROCHA PETROLÍFERA

Sérgio de Souza Henrique Júnior

Bolsista de Iniciação Científica, Licenciatura em Química, UFRJ

Maria Inês Couto Monteiro

Orientadora, Química Analítica, D. Sc.

Lílian Irene Dias da Silva

Co-orientadora, Físico-Química, M. Sc.

Manuel Castro Carneiro

Co-orientador, Química Analítica, D. Sc.

RESUMO

As espécies inorgânicas trocáveis de nitrogênio (NH_4^+ _{trocável}, NO_3^- e NO_2^-) foram determinadas em amostras de rocha petrolífera e em materiais de referência certificados de solo. As espécies foram previamente extraídas com uma solução de KCl 0,4 mol L⁻¹. Em seguida, o extrato foi submetido à destilação com arraste

de vapor. Foram realizados estudos para seleção dos melhores tempo de extração e do extrator. Os resultados obtidos mostraram que a maior parte do $\text{N}_{\text{trocável}}$ nas amostras de rocha petrolífera 7 e 9 está presente na forma de N-NH_4^+ _{trocável} (100 e 65% , respectivamente).

1. INTRODUÇÃO

Nitrogênio geológico, um termo que se refere ao nitrogênio incorporado na matriz da rocha durante a diagênese ou através de alteração secundária (HOLLOWAY et al. 2001), e aquele presente nos solos e sedimentos, apresenta diferentes formas, quais sejam: NH_3 , NH_4^+ , NO_x ou N ligado quimicamente a moléculas orgânicas ou inorgânicas (BISHOP et al. 2002).

Nas rochas sedimentares, o nitrogênio é originado principalmente da decomposição da matéria orgânica. Durante o processo de diagênese, a matéria orgânica se degrada termicamente, e amônio se forma na decomposição. Devido às semelhanças das cargas e tamanhos dos raios iônicos do NH_4^+ e K^+ (i.e., NH_4^+ 1,66 Å e K^+ 1,59 Å dependendo da coordenação atômica), NH_4^+ pode substituir o íon K^+ em minerais, tais como

ilita, muscovita, biotita e feldspato (MINGRAM e BRÄUER 2001). A quantidade de amônio fixo depende da disponibilidade do amônio durante a formação dos minerais argilosos e da capacidade de fixação desses minerais. A espécie N-NH_4^+ que pode ser oxidada subsequente aos íons nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-). As espécies envolvidas no equilíbrio dependem de muitos fatores, tais como: concentração de N_{total} , atividade bacteriana, condições redox e a qualidade da fase aquosa associada (HATTON et al. 1990).

A determinação das espécies trocáveis de nitrogênio (N-NO_3^- , N-NO_2^- e N-NH_4^+ trocável) em solos, rochas e sedimentos consiste geralmente de duas etapas: (a) extração das espécies em fase aquosa e (b) análise do extrato (BREMNER e KEENEY 1966, HATTON et al. 1992). O deslocamento das espécies da amostra é geralmente obtido através da suspensão da amostra em uma solução eletrolítica (HATTON et al. 1992). Um método de extração satisfatório precisa extrair quantitativamente a espécie a ser analisada, sendo que o procedimento ideal depende de variáveis, tais como: composição e concentração da solução salina, número de extrações necessárias e o tempo de extração (HATTON et al. 1992). O método mais vantajoso consiste na extração de todas as espécies trocáveis com um único extrator (BREMNER e KEENEY 1966).

Na literatura, são apresentados diferentes extratores para as espécies N-NO_3^- , N-NO_2^- e N-NH_4^+ trocável presentes nos solos (BREMNER e KEENEY 1966, TABATABAI 1974), rochas (STEVENSON 1962) e sedimentos (BLACKBURN e HENRIKSEN 1983, HATTON et al. 1990, HATTON et al. 1992). Entretanto, o íon mais favorável para a troca com NH_4^+ é o K^+ (HATTON et al. 1990), e conseqüentemente, a solução extratora de KCl tem sido muito utilizada para a extração de todas as espécies de N -(nitrato, nitrito e amônio trocável) (STEVENSON 1959, BREMNER e KEENEY 1966, TABATABAI 1974, BLACKBURN and HENRIKSEN 1983, HATTON et al. 1990).

O extrato pode ser analisado por técnicas colorimétricas (SIMS e JACKSON 1971, BLACKBURN e HENRIKSEN 1983, HABY 1989, VENDRELL e ZUPANCIC 1990), de destilação com arraste de vapor (STEVENSON 1962, BREMNER e KEENEY 1966), eletrodo íon seletivo (BREMNER et al. 1968, TABATABAI 1974, STEWART 1987, HATTON et al. 1990) e outras.

A determinação direta de N-NO_3^- e N-NO_2^- em extratos de solo por colorimetria apresenta problemas porque geralmente os extratos são coloridos e turvos e apresentam substâncias que interferem nas medidas de absorvância, como por exemplo, o cloreto. De acordo com Bremner (1965), a determinação das espécies N-NH_4^+ _{trocável}, N-NO_3^- e N-NO_2^- em extratos de solo tem sido simplificada pelo desenvolvimento de métodos de destilação com arraste de vapor, baseados no método original de Kjeldahl de 1883. O autor descreve três métodos: dois métodos utilizam MgO e liga de Devarda (métodos de MgO-liga de Devarda) e um utiliza MgO e sulfato titanoso (método de MgO-sulfato titanoso). Em um dos procedimentos que utiliza MgO e liga de Devarda, as espécies trocáveis são previamente extraídas, e o extrato é analisado por métodos de destilação com arraste de vapor. No outro procedimento, a amostra de solo é analisada diretamente pelos mesmos métodos de destilação. De acordo com o autor, esses métodos são rápidos acurados e precisos, têm alta especificidade, e são aplicáveis a extratos de solo turvos, coloridos e não filtrados e fornecem recuperação quantitativa das espécies adicionadas aos extratos de solo.

Nos métodos de destilação com arraste de vapor para determinação de N-NH_4^+ _{trocável}, a utilização do MgO promove a eliminação de interferências da glucosamina e de compostos de N-orgânicos lábeis em soluções alcalinas (BREMNER 1965). A liga de Devarda é utilizada para a redução de N-NO_3^- e N-NO_2^- à N-NH_4^+ (BREMNER e KEENEY et al. 1966).

2. OBJETIVO

O trabalho é continuação daqueles apresentados por Ferreira et al. (2004) e Pontes et al. (2004), e teve como objetivo implementar métodos para a determinação das espécies inorgânicas trocáveis de nitrogênio (N-NO_3^- e N-NO_2^- , N-NH_4^+ _{trocável}) em amostras de rocha petrolífera, para fornecer subsídios para a elucidação dos mecanismos de reação entre os metabólitos produzidos pelas bactérias e os componentes da rocha reservatório.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. EQUIPAMENTO

No procedimento de extração das espécies de nitrogênio, foi utilizada uma mesa agitadora orbital Marconi MA 141, na velocidade máxima e uma centrífuga CELM, modelo LS-3 plus, na velocidade de 3200 r.p.m. Para a destilação da amônia foi utilizado um destilador modelo TE 036/1 Tecnal, semi-automático, acoplado a um banho termostatzado, alimentado com água Milli-Q, com a finalidade de estabilizar a temperatura do condensador, garantindo a condensação total da amônia, e de fornecer água para a caldeira, isenta de contaminação, para a diminuição do branco. Para a determinação das espécies $\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$ foi construído um tubo com um sistema de abertura para introdução da liga de Devarda (figura 1), com a finalidade de evitar perda de amônia. Para as determinações colorimétricas da espécie N-NH_4^+ foi utilizado um espectrofotômetro Perkin-Elmer Lambda 12/1.0 nm (1.3) UV-Vis. Foram utilizadas celas de 1 cm de caminho óptico.

3.2. REAGENTES, SOLUÇÕES E AMOSTRAS

Todas as soluções foram preparadas utilizando reagentes de grau analítico (P.A.). Água destilada e deionizada foi purificada em um sistema Milli-Q. Foram utilizados ácido sulfúrico, hidróxido de sódio, cloreto de sódio, fornecidos pela Vetec Química Fina Ltda.; cloreto de potássio, óxido de magnésio, liga de Devarda, cloreto de amônio, fenol e nitroprussiato de sódio fornecidos pela Merck e hipoclorito de sódio da Isofar. Foram utilizados três materiais de referência certificados de solo, NCS DC 73319, 73321, 73326, fornecidos pelo China National Analysis Center for Iron and Steel (Beijing - China). Foram analisadas duas amostras de arenito 7 e 9.

Foram preparadas as seguintes soluções padrão para a construção da curva analítica:

Solução - padrão estoque de amônio $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ N-NH}_4^+$: dissolveram-se $0,382 \text{ g}$ de NH_4Cl anidro, previamente seco a 100°C , em água e diluiu-se para 1000 mL .

Solução - padrão intermediária de amônio $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ N-NH}_4^+$: foram pipetados 5 mL da solução estoque de amônio e diluídos para 50 mL com água em balão volumétrico. A solução foi utilizada imediatamente após a sua preparação.

Soluções - padrão de amônio 0,1 a 0,5 mg L⁻¹ N-NH₄⁺: foram preparadas soluções - padrão com concentrações finais de N na faixa de 0,1 a 0,5 mg L⁻¹ em H₂SO₄ 0,036 mM, diluindo-se adequadamente os padrões intermediários. A solução foi utilizada imediatamente após a sua preparação. Quando as soluções - padrão foram submetidas às etapas de digestão e destilação, foram utilizadas massas iniciais de NH₄Cl de 5 a 25 mg N. Na etapa de extração das espécies trocáveis foram utilizadas as seguintes soluções: Cloreto de potássio 0,2 mol L⁻¹, 0,4 mol L⁻¹ e cloreto de sódio 0,4 mol L⁻¹: Todas as soluções foram acidificadas com HCl até pH 2,5, a fim de promover um maior desprendimento de NH₄⁺ trocável, de acordo com a recomendação de Hatton et al. (1990).

Na etapa de destilação foram utilizadas as seguintes soluções:

Solução de hidróxido de sódio 10 mol L⁻¹: foram pesados 400 g de NaOH e dissolvidos em água. A solução foi avolumada com água a 1000 mL.

Solução de ácido sulfúrico 0,9 mmol L⁻¹: adicionaram-se 25 mL de H₂SO₄ concentrado em cerca de 500 mL de água. Após arrefecimento da solução à temperatura ambiente, completou-se o volume com água para 1000 mL. Pipetaram-se 2 mL desta solução e diluiu-se novamente com água para 1000 mL.

Na determinação colorimétrica foram utilizadas as seguintes soluções:

Solução de fenol e nitroprussiato de sódio - foram pesados 5 g de fenol e 0,025 g de nitroprussiato de sódio, dissolvidos em água e misturados. O volume da solução foi completado com água a 100 mL.

Solução de hipoclorito de sódio e hidróxido de sódio - foram dissolvidos 2,5 g de NaOH em um pouco de água e misturados com uma solução de hipoclorito de sódio contendo aproximadamente 0,21% de cloro ativo. A solução foi avolumada para 100 mL com água.

3.3 MÉTODOS

3.3.1. Pré-tratamento da amostra de Rocha Petrolífera com óleo

O procedimento foi idêntico àquele utilizado por Ferreira et al. (2004).

3.3.2. Extração das espécies trocáveis de nitrogênio (N-NH₄⁺ trocável + NO₃⁻ + NO₂⁻)

Foram testados os seguintes extratores: KCl 0,2 mol L⁻¹, KCl 0,4 mol L⁻¹ e NaCl 0,4 mol L⁻¹. Cerca de 2g de amostra foram transferidas para um frasco de polipropileno de 250 mL. Foram adicionados 120 mL de extrator, e a mistura foi agitada mecanicamente por 30 min, mantendo-se o frasco fechado e em posição vertical. Ao término da agitação, a mistura foi mantida em repouso por 30 min, e em seguida, as fases foram separadas através de centrifugação por 30 min. Foram retiradas três alíquotas de 20 mL do sobrenadante, com uma pipeta, para determinação do N-NH₄⁺ trocável por destilação com arraste de vapor (determinações em triplicata). Para cada extrator, foi preparado um teste em branco. Em alguns casos, quando as concentrações de N-NO₃⁻ + N-NO₂⁻ foram muito baixas (abaixo do limite de detecção do método), foram utilizados 5g de amostra e 140 mL de extrator.

3.3.3. Determinação de N trocável total pelo método de destilação com arraste de vapor

Foram adicionados 0,2 g de MgO e 0,2 g de liga de Devarda ao tubo de destilação. Uma alíquota de 20 mL do extrato (este obtido a partir de 5g de amostra e 120 mL de extrator) foi transferida para o tubo de destilação através do funil de adição do sistema original, e o sistema de destilação, foi imediatamente fechado. Foi utilizado, como receptor do destilado, um frasco Erlenmeyer de 125 mL contendo 20 mL de H₂SO₄ 0,9 mmol L⁻¹. Em seguida, foi ligado o aquecimento da caldeira de vapor, já previamente aquecida, até a ebulição. O destilado foi recolhido até o volume próximo de 50 mL (o tempo total de destilação foi aproximadamente de 3 min), e utilizado para a determinação espectrofotométrica do amônio.

3.3.4. Determinação de N-NH₄⁺ trocável pelo método de destilação com arraste de vapor

Foram adicionados 0,2 g de MgO ao tubo de destilação modificado (Figura 1). Uma alíquota de 20 mL do extrato foi transferida para o tubo de destilação através do funil de adição do sistema original, e o sistema de destilação, sendo imediatamente fechado. Foi utilizado, como receptor do destilado, um frasco Erlenmeyer de 125 mL contendo 20 mL de H₂SO₄ 0,9 mmol L⁻¹. Em seguida, foi ligado o aquecimento da caldeira de vapor, já previamente aquecida, até a ebulição. O destilado foi recolhido até o volume próximo a 50 mL (o tempo total de destilação foi aproximadamente de 3 min), e utilizado

para a determinação espectrofotométrica do amônio. A solução no tubo de destilação foi reservada para a determinação das espécies $\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$.



Figura 1. Tubo de destilação modificado para adição da Liga de Devarda

3.3.5. Determinação de $\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$ pelo método de destilação com arraste de vapor

À solução restante no tubo de destilação modificado, após a destilação de amônia (item 3.3.4), foram adicionados 0,2 g de liga de Devarda, através do sistema de abertura especialmente construído para adição de sólidos e concomitantemente manter o sistema fechado para evitar perda de amônia nessa etapa (Figura 1). Após a adição da liga, o procedimento foi idêntico ao descrito no item 3.3.3.

3.3.6. Determinação espectrofotométrica da espécie N-NH_4^+

O procedimento foi idêntico àquele utilizado por Pontes et al. (2004).

4. Resultados e Discussão

4.1. Efeito do tempo de extração com solução de KCl $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ na concentração de N-NH_4^+ trocável

Foram testados diferentes tempos de extração ($t = \text{zero}$, $t = 30 \text{ min}$ e $t = 1 \text{ h}$) da espécie N-NH_4^+ trocável, utilizando a solução de KCl $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (Tabela 1). Foram obtidas baixas concentrações de N-NH_4^+ trocável quando a separação das fases sólida/líquida foi realizada imediatamente após a mistura do extrator com a amostra ($t = \text{zero}$). A maior concentração de N-NH_4^+ trocável para a amostra certificada de solo foi obtida com o tempo de extração de 30 min. Para a amostra de arenito 9, não houve diferença significativa, para um nível de confiança de 95%, das concentrações de N-NH_4^+ trocável nos tempos de 30 min e 1h. Portanto, o tempo recomendado para a extração da espécie é de 30 min.

Tabela 1. Efeito do tempo de extração na concentração de N-NH_4^+ trocável utilizando o extrator KCl $0,2 \text{ mol L}^{-1}$

Amostra	Concentração de N-NH_4^+ trocável ($\mu\text{g g}^{-1}$)			
	Tempo	zero	30 min	1h
73319		n.d.	$43,1 \pm 14,8$ (n=3)	n.d.
73321		$1,5 \pm 0,1$ (n=3)	$12,5 \pm 1,2$ (n=3)	$6,9 \pm 0,9$ (n=3)
73326		n.d.	$15,4 \pm 0,5$ (n=3)	n.d.
7		n.d.	$24,0 \pm 4,0$ (n=3)	n.d.
9		$1,3 \pm 0,5$ (n=3)	$10,5 \pm 1,9$ (n=4)	n.d.

n.d. – não determinado

4.2. Efeito da concentração do extrator de KCl na concentração de N-NH_4^+ trocável

Foram testadas duas concentrações do extrator KCl, quais sejam $0,2$ e $0,4 \text{ mol L}^{-1}$, para a extração da espécie N-NH_4^+ trocável, no tempo de extração de 30 min (Tabela 2). Para a maioria das amostras não houve diferença significativa entre os resultados obtidos com os dois extratores, exceto para as amostra 73326 e amostra 9, que apresentaram maiores concentrações nos extratos em KCl $0,4 \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 2. Efeito da concentração do extrator KCl na concentração de N-NH_4^+ trocável (tempo de extração = 30 min)

Amostra	Concentração de N-NH_4^+ trocável ($\mu\text{g g}^{-1}$)		
	Concentração de KCl	$0,2 \text{ mol L}^{-1}$	$0,4 \text{ mol L}^{-1}$
73319		$43,1 \pm 14,8$ (n=3)	$52,7 \pm 2,9$ (n=3)
73321		$12,5 \pm 1,2$ (n=3)	$17,4 \pm 2,2$ (n=3)
73326		$15,4 \pm 0,5$ (n=3)	$18,3 \pm 0,7$ (n=3)
7		$24,0 \pm 4,0$ (n=3)	$29,6 \pm 1,7$ (n=4)
9		$10,5 \pm 1,9$ (n=4)	$15,0 \pm 0,5$ (n=3)

4.3. Efeito do tipo de cátion do extrator na determinação de N-NH_4^+ trocável

Foram testados os extratores KCl $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ e NaCl $0,4 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando um tempo de extração de 30 min. Maiores concentrações de N-NH_4^+ trocável foram obtidas com os extratos em NaCl $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ em todas as amostras

com exceção da amostra de referência certificada de solo 73321. De acordo com Stevenson (1959), o íon sódio expande o espaçamento d (001) dos minerais silicatos, permitindo os íons NH_4^+ fixo escaparem, enquanto que o íon potássio contrai o espaçamento d (001), prevenindo a saída das espécies fixas. Portanto, o extrator recomendável para a extração da espécie trocável é a de solução de KCl.

Tabela 3. Efeito do tipo de cátion do extrator na concentração de N-NH_4^+ trocável (tempo de extração = 30 min)

Amostra Extrator	Concentração de N-NH_4^+ trocável ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
	NaCl 0,4 mol L ⁻¹	KCl 0,4 mol L ⁻¹
73319	69,9 ± 5,3 (n=3)	52,7 ± 2,9 (n=3)
73321	11,5 ± 2,2 (n=3)	17,4 ± 2,2 (n=3)
73326	24,3 ± 2,7 (n=3)	18,3 ± 0,7 (n=3)
7	38,3 ± 1,9 (n=3)	29,6 ± 1,7 (n=4)
9	22,5 ± 2,7 (n=2)	15,0 ± 0,5 (n=3)

4.4. Determinação de $\text{N}_{\text{trocável total}}$, $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ e NH_4^+ trocável

A Tabela 4 apresenta as concentrações de $\text{N}_{\text{trocável total}}$, $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ e NH_4^+ trocável, determinadas por destilação. Para efeito de comparação, foi avaliado o somatório das concentrações das espécies trocáveis ($\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-) + \text{NH}_4^+$ trocável) com o resultados das concentrações de $\text{N}_{\text{trocável total}}$ determinado por destilação e considerado como 100%. Apesar das concentrações de $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ serem muito baixas (4,9 a 11,1 mg g^{-1}), foram obtidas recuperações satisfatórias (94 a 120%). A maior parte do $\text{N}_{\text{trocável}}$ nas amostras 7 e 9, está presente na forma de N-NH_4^+ trocável (100 a 65%, respectivamente).

Tabela 4. Concentração de $\text{N}_{\text{trocável total}}$, $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ e N-NH_4^+ trocável

Amostra	Concentração das espécies trocáveis de nitrogênio ($\mu\text{g g}^{-1}$)			$\text{N}_{\text{trocável total}}$ (soma)	Recuperação de $\text{N}_{\text{trocável total}}$ (%)
	$\text{N}_{\text{trocável total}}$	$\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$	N-NH_4^+ trocável		
73319	62,8 ± 2,0 (n=3)	9,1 ± 0,8 (n=3)	52,7 ± 2,9 (n=3)	61,8	98
73321	23,8 ± 3,9 (n=3)	11,1 ± 1,9 (n=3)	17,4 ± 2,2 (n=3)	28,5	120
73326	23,6 ± 3,0 (n=3)	10,0 ± 0,6 (n=3)	18,3 ± 0,7 (n=3)	28,3	120
7	29,4 ± 1,6 (n=3)	4,9 ± 0,2 (n=4)	29,6 ± 1,7 (n=4)	34,5	117
9	23,2 ± 7,0 (n=3)	6,7 ± 1,3 (n=4)	15,0 ± 0,5 (n=3)	21,7	94

$\text{N}_{\text{trocável total}} = \text{N-(NH}_4^+ + \text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$

Extrator utilizado – KCl 0,4 mol L⁻¹

Tempo de extração – 30 min

5. Conclusões

- O melhor tempo de extração da espécie $\text{N-NH}_4^{+\text{trocável}}$ foi de 30 min.
- O extrator mais eficiente para a extração de $\text{N-NH}_4^{+\text{trocável}}$ foi a solução de $\text{KCl } 0,4 \text{ mol L}^{-1}$.
- O extrator de $\text{NaCl } 0,4 \text{ mol L}^{-1}$ extraiu também a espécie $\text{N-NH}_4^{+\text{fixo}}$, e portanto não é adequado para a extração da espécie $\text{N-NH}_4^{+\text{trocável}}$.
- A maior parte do $\text{N}_{\text{trocável}}$ nas amostras 7 e 9 está presente na forma de $\text{N-NH}_4^{+\text{trocável}}$ (100 e 65%, respectivamente).

6. Agradecimentos

Agradecemos à FINEP e PETROBRAS pelo suporte financeiro, ao CNPq pela bolsa concedida ao aluno Sérgio de Souza Henrique Júnior .

7. Bibliografia

- Ader M., Boudou J.-P., Roux J., Daniels E., Javoy M. (2000). Nitrogen isotopic composition of fixed ammonium in rocks: evidence for a possible ammonia stability in fluids? Goldschmidt Conference. Journal of Conference Abstracts 5, 117-118.
- Bishop J.L., Banin A., Mancinelli R.L., Klovstad M.R. (2002). Detection of soluble and fixed NH_4^+ in clay minerals by DTA and IR reflectance spectroscopy: a potential tool for planetary surface exploration. Planetary and Space Science, 50, 11-19.
- Blackburn T.H., Henriksen K. (1983). Nitrogen cycling in different types of sediments from Danish waters. Limnology and Oceanography, 28 (3), 477-493.
- Bremner J.M. (1965). Total nitrogen. methods of soil analysis Part 2- Chemical and Microbiological Properties, number 9 in the series Agronomy, American Society of Agronomy, Inc., Publisher USA, p. 1149-1178.
- Bremner J.M., Bundy L.G., Agarwal A.S. (1968). Use of a selective ion electrode for determination of nitrate in soils. Analytical Letters, 1 (13), 837-844.
- Bremner J.M., Keeney D.R. (1966). Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: 3. exchangeable ammonium, nitrate and nitrite by extraction-distillation methods. Soil Science Society of American Proceedings, 30, 577-582.
- Brodrick S, Cullen P., Maher W. (1987). Determination of exchangeable inorganic nitrogen species in Wetland soils. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 38, 377-380.
- Dhariwal A .P.S., Stevenson F.J. (1958). Determination of fixed ammonium in soils. Soil Science, 86, 343-349. Nitrogen Chap.35 -Chemical Methods of Rock Analysis, Pergamon Press, Ltd., Oxford, p.359 – 360.

- Ferreira F.N. (2004). Determinação de Nitrogênio Total em amostras de Rocha Petrolífera pelo Método Kjeldahl/Indofenol. Jornada de Iniciação Científica, CETEM/RJ.
- Hatton D., Pilarski J., Pickering W.F. (1990). Modified procedure for the determination of exchangeable ammonium ions in lake sediments. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 2 (4), 139-147.
- Hatton D., Pilarski J., Pickering W.F. (1992). Errors in the determination of low levels of nitrate in lake sediments. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 4 (2), 53-58.
- Holloway J.M., Dahlgren R.A., Casey W.H. (2001). Nitrogen release from rock and soil under simulated field conditions. *Chemical Geology*, 174, 403-414.
- Mingram B. and Bräuer K. (2001). Ammonium concentration and nitrogen isotope composition in metasedimentary rocks from different tectonometamorphic units of the European Variscan Belt. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65 (2), 273-287.
- Monteiro M.I.C., da Silva, L.I.D., Carneiro M.C. (2003). Especificação de nitrogênio em amostras de rocha petrolífera – Utilização do método clássico de Kjeldahl. Relatório Interno nE 2003-088-00 Centro de Tecnologia Mineral / CETEM.
- Pontes F.V.M. (2004). Método do Indofenol para Determinação de Nitrogênio em Amostras de Rocha Petrolífera.
- Sahrawat K.L. (1979). Evaluation of some chemical extractants for determination of exchangeable ammonium in tropical rice soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 10 (7), 1005-1013.
- Sims J.R., Jackson D. (1971). Rapid analysis of soil nitrate with chromotropic acid. *Soil Science Society of American Proceedings*, 35, 603-606.
- Stevenson F.J. (1959). On the presence of fixed ammonium in rocks. *Science*, 130 (3369), 221-222.
- Stevenson F.J. (1962). Chemical state of the nitrogen in rocks. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 26, 797-809.
- Stewart B.M. (1987). Ion chromatographic determination of nitrate in 2M KCl soil extracts. *Journal of Soil Science*, 38, 415-419.
- Tabatabai M.A. (1974). Determination of nitrite in soil extracts and water samples by a nitrogen oxide electrode. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 5 (6), 569-578.