



17º Seminário de Iniciação Científica e 1º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 21 a 23 de agosto de 2013, Belém-PA

OTIMIZAÇÃO DE PROCEDIMENTOS DE COLETA DE N₂O e CH₄ DO SOLO NA AMAZÔNIA ORIENTAL PARA VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA MEDIÇÃO POR CROMATOGRAFIA GASOSA (GC)

Izabel Cristina Alves Batista¹, Juliana Feitosa Fellizzola², Gladys Beatriz Martínez², Cristiane Formigosa Gadelha da Costa³

¹ Bolsista Pibic Embrapa Amazônia Oriental, Universidade Federal Rural da Amazônia, izabel.alvs@hotmail.com

² Pesquisadora Embrapa Amazônia Oriental, julianafellizzola@gmail.com, gladys.martinez@embrapa.br, ³ Auxiliar de pesquisa Embrapa Amazônia Oriental, cristianeformigosa@yahoo.com.br

Resumo: Objetivou-se otimizar o método de armazenamento e transporte de coleta dos gases - N₂O; CH₄ - para melhor integridade das amostras visando dados analíticos de medições químicas por cromatografia gasosa de melhor qualidade. Os frascos foram pesados e o vácuo extremamente controlado para estabilização do peso dois tipos de septos para selagem dos frascos de borossilicato, septos de borracha siliconizada cinza de tubos vacutainer[®] e septos de borracha siliconizada convencional vermelha de tubos vacutainer[®]. O septo de borracha siliconizada cinza apresentou melhores resultados na retenção de vácuo nos frascos. E indica-se a sua reutilização em no máximo duas coletas para coleta de N₂O e CH₄ do solo coletados sob o método da câmara estática.

Palavras-chave: cromatografia gasosa, métodos analíticos, validação

Introdução

A técnica de separação por cromatografia gasosa (GC) se destaca na química analítica pela capacidade de realizar análises quantitativas e qualitativas das amostras, muito utilizada para determinação de emissão de gases do efeito estufa (CO₂; N₂O; CH₄ – GEE).

A necessidade de se mostrar a qualidade de medições químicas, através de sua comparabilidade e confiabilidade, está sendo cada vez mais reconhecida e exigida (Paula & Sena, 2007). Muitas técnicas deverão ser validadas quanto às medições químicas, para que seja possível o cálculo de fatores de emissão relativos às contribuições para o aquecimento global e, conseqüentemente, o efeito estufa. A partir dessas informações, serão possíveis modelagens para correlacionar de forma segura às possíveis causas das mudanças climáticas (Berdowski et al., 2001).

Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve passar por um processo de validação (USP 27, 2003). No entanto, tais procedimentos de validação precisam de métodos de amostragem confiáveis para apresentar respostas de qualidade analítica. A fim de eliminar ou minimizar erros de manipulações em amostragens experimentais de



17º Seminário de Iniciação Científica e 1º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 21 a 23 de agosto de 2013, Belém-PA

gases por câmara estática, objetivou-se otimizar o método de armazenamento e transporte de coleta dos gases - N_2O ; CH_4 - para melhor integridade das amostras visando dados analíticos de medições químicas por cromatografia gasosa de melhor qualidade, comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade.

Material e Métodos

Como procedimento de segurança, no laboratório de Análise de Sistemas Sustentáveis da EMBRAPA – Amazônia Oriental, foi feita lavagem e limpeza dos frascos de coleta (borossilicato -14 ml - resistência a 540 °C) em água ultra-pura (MILLI-Q) e calcinação em mufla à 490 °C por 6 h, para eliminação de possíveis componente orgânicos. Posteriormente, os frascos foram colocados em estufa 65°C com circulação de ar forçada em recipiente vedado.

Foram monitorados para estabilização de peso dois tipos de septos para selagem dos frascos de borossilicato. Septos de borracha siliconizada cinza de tubos (9 ml de aspiração) vacutainer® de coleta de sangue ISO 6710.2 (Becton & Dickinson, Brasil) e septos de borracha siliconizada convencional vermelha de tubos (9 ml de aspiração) vacutainer® de coleta de sangue ISO 6710.2 (Becton & Dickinson, Brasil). O monitoramento consistiu em baterias de pesagem sequenciais em diferentes horários em balança analítica, com 0,001 g de precisão.

A pesagem iniciou em tempo zero com o valor do peso (g) do frasco, posteriormente, com o auxílio de uma bomba de vácuo de alumínio com faixa de -100 a 200 Kpa / 0 a 30 inHg (Vacuum pump/ Nalgene hand operated / *Sigma-Aldrich*), foram feitas pesagens de 20 frascos selecionados (de forma aleatória) com relação ao número de furos e tipo de septo em diferentes tempos para verificação de entrada de ar no frasco, e conseqüentemente, integridade do septo com relação a diferentes números de perfurações (3, 6 e 9) com agulha ultra fina (0,45 x 13 mm - Becton & Dickinson, Brasil).

Os dados do monitoramento foram utilizados para selecionar os frascos com melhor vedação para armazenamento e transporte de amostras. Dessa forma, teores de concentração dos gases (N_2O ; CH_4) do solo foram quantificados em cromatógrafo gasoso GC Varian CP-3800, a partir de valores padrões conhecidos (N_2O - A=0,34; B=0,810; C=1,32 ppm/ CH_4 - A=1,96; B=0,984; C=3,07 ppm), e utilizado para cálculo de limite de detecção e limite de quantificação das amostras, parâmetros de desempenho analítico utilizados para validação de métodos químicos. Tais valores foram correlacionados com o resultado do monitoramento de estabilização de pesagem e integridade de septo.



Resultados e Discussão

No teste de controle de eficiência dos septos, foi possível identificar que o septo de borracha siliconizada cinza foi melhor, pois a estabilização do peso dos frascos evacuado ocorreu em tempo menor e com um valor de retirada de ar maior do que nos septos de borracha siliconizada convencional (Tabela 1). Percebe-se valores de menor entrada de ar em frascos com septos cinza com 3 furos, quando em comparação com septos vermelho com apenas 1 furo.

Os septos vermelho com 9 furos apresentaram maior entrada de ar em relação ao tempo total monitorado. Esses dados se confirmam com os valores de correlação positiva de 0,204 entre o tempo e o número de furos, ou seja, quanto maior o tempo, maior a entrada de ar. Não obstante, nos septos cinza ocorreu correlação inversa entre o tempo e o número de furos ($p = -0,11$; $p = -0,32$; $p = -0,23$) em septos com 3, 6 e 9 furos, respectivamente, e correlação direta entre os números de furos, quanto maior o número de furos maior a entrada de ar com $p = 0,99^{**}$ entre os furos 6 e 9, ou seja, a partir de 6 furos não é recomendado a reutilização dos septos cinza, devido a entrada de ar.

A repetibilidades de 3 injeções de padrões de 3 concentrações diferentes (menos concentrado para o mais concentrado) foi avaliada pelo desvio padrão com valores menores que 10%. A quantificação de uma amostra de gases no solo com o septo cinza apresenta valores de limite de detecção LD com concentração de $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ para o N_2O e de $0,62 \text{ mg.L}^{-1}$ para o CH_4 e limite de quantificação LQ com concentração de $0,16 \text{ mg.L}^{-1}$ para o N_2O e de $1,28 \text{ mg.L}^{-1}$ para o CH_4 .

Tabela 1. Controle de pesagens de frascos vedados com septo borracha siliconizada cinza em relação ao tempo e ao numero de furos

Septo	Tempo (min)	3 Furos	6 Furos	9 Furos	Ar evacuado 3F	Ar evacuado 6F	Ar evacuado 9F
cinza	0	11,5525	11,5799	11,5891			
cinza	10	11,5386	11,5667	11,5750	-0,014	-0,013	-0,014
cinza	245	11,5392	11,5678	11,5756	-0,013	-0,012	-0,014
cinza	1325	11,5391	11,5677	11,5769	-0,013	-0,012	-0,012
cinza	2751	11,4774	11,5684	11,5775	-0,075	-0,011	-0,012
cinza	2985	11,4744	11,5678	11,5771	-0,078	-0,012	-0,012
cinza	4412	11,5335	11,5677	11,5769	-0,019	-0,012	-0,012
cinza	4452	11,5335	11,5674	11,5769	-0,019	-0,012	-0,012
cinza	10470	11,5336	11,5675	11,5769	-0,019	-0,012	-0,012
	Desvio padrão	0,0283	0,0041	0,0042	0,0281	0,0005	0,0008
	Erro padrão	0,0141	0,0029	0,0021	0,0140	0,0002	0,0004
Entrada de ar	% (pf- pi)*100	-0,5025	0,08	0,1925	-0,502	0,080	0,192



Tabela 2. Controle de pesagens de frascos vedados com septo vermelho borracha siliconizada convencional em relação ao tempo e ao número de furos

Septo	Tempo (min)	1 Furo	3 Furos	6 Furos	9 Furos	Ar evacuado 1F	Ar evacuado 3F	Ar evacuado 6F	Ar evacuado 9F
Vermelho	0	12,6833	12,6109	12,5368	12,6708				
Vermelho	10	12,6685	12,5969	12,5224	12,6560	-0,015	-0,014	-0,014	-0,015
Vermelho	245	12,6691	12,5971	12,5227	12,6566	-0,014	-0,014	-0,014	-0,014
Vermelho	1325	12,6691	12,5967	12,5225	12,6564	-0,014	-0,014	-0,014	-0,014
Vermelho	2751	12,6698	12,5974	12,5232	12,6572	-0,014	-0,013	-0,014	-0,014
Vermelho	2985	12,6690	12,5971	12,5226	12,6566	-0,014	-0,014	-0,014	-0,014
Vermelho	4412	12,6689	12,5923	12,5223	12,6630	-0,014	-0,019	-0,015	-0,008
Vermelho	4452	12,6689	12,5986	12,5222	12,6631	-0,014	-0,012	-0,015	-0,008
Vermelho	10470	12,6690	12,5970	12,5224	12,6631	-0,014	-0,014	-0,014	-0,008
Desvio padrão		0,0048	0,0051	0,0048	0,0051	0,0003	0,0019	0,0003	0,0034
Erro padrão		0,0034	0,0036	0,0024	0,0036	0,0002	0,0013	0,0002	0,0024
Entrada de ar	% (pf-pi)*100	0,05	0,01	0,005	0,705	0,05	0,01	0,005	0,705

* N = 8

*Medidas estatísticas de posição - média;

*Dados não normais, foram desconsiderados os valores de variância e desvio padrão e considerados os valores de erro padrão.

Conclusões

O monitoramento para estabilização do peso foi eficiente para otimização de procedimentos de coleta de N₂O e CH₄ para validação de método e o septo de borracha siliconizada cinza apresentou melhores resultados na retenção de vácuo nos frascos em comparação com os septos de borracha convencional vermelha.

Os parâmetros de desempenho analítico (LD e LQ) utilizados para validação do método tiveram boas respostas a partir da otimização do procedimento de coleta.

De acordo com os procedimentos avaliados, a utilização dos septos de borracha cinza é indicada em até duas coletas, pois em uma coleta são realizados 3 furos (1/bomba de vácuo; 1 /passagem do gás; 1/retirada do gás/análise) e a partir da segunda coleta o septo fica inutilizado apresentando 7 furos (2/bomba de vácuo (monitoramento de peso em laboratório e vácuo no campo; 1 /passagem do gás; 1/retirada do gás/análise).

Agradecimentos

A Fundação Amazônia Paraense de Amparo à Pesquisa - FAPESPA pelo apoio financeiro via projeto: Rede de Mudanças Climáticas e Ambientais - PRONEX/FAPESPA/CNPq/Nº 014/2009 e pela



17º Seminário de Iniciação Científica e 1º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 21 a 23 de agosto de 2013, Belém-PA

bolsa concedida.

Referências Bibliográficas

BECTON DICKINSON AND COMPANY. Joseph Kleiner and the origins of the Vacutainer™. The Echo. **Becton Dickinson and Company**, Franklin Lakes, NJ: 1991 (Spring);11:3-5, 1991(September);11:5-7; 1996(December);16:1

BERDOWSKI, J.; GUICHERIT, R.; HEIJ, B. **The climate system**. Rotterdam: Balkema Publ., 2001. 177p.

INTERNATIONAL STANDARDS ORGANIZATION (ISO): **Singleuse containers for venous blood specimen collection**. 6710, 1996.

PAULA NK, SENA MM. Validação de metodologia analítica para o doseamento simultâneo de mebendazol e tiabendazol por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, 2007

UNITED STATE PHARMACOPEIA, USP 27 / NF 22, **Validation of compendial methods**, USP. p.1225, 2003.