

4. Resultados e Discussão

Várias pesquisas tem-se orientado na implementação de metodologias de pré-concentração que permitem a determinação da composição isotópica do C₁ em amostras com níveis traço (Poop e Sansone, 1995; Merritt *et al.*, 1995; Rice *et al.*, 2001, 2003; Miller *et al.*, 2002; Ferretti *et al.*, 2005; Sowers *et al.*, 2005; Fisher *et al.*, 2006; Behrens *et al.*, 2008; Melton *et al.*, 2011). Neste estudo foi usado um dispositivo pré-concentrador de metano (PreCon) para avaliar a sua aplicabilidade na análise isotópica dos n-alcanos C₁-C₅ em amostras de origem geológica. Para conhecer o funcionamento do pré-concentrador, foram feitas diluições de gás padrão e as razões isotópicas obtidas no PreCon foram comparadas com as razões obtidas pela técnica robusta convencional (CG-EMRI). Na análise dos C₂-C₅ foi necessário otimizar uma segunda unidade de combustão (interface Isolink), enquanto o C₁ foi oxidado eficientemente no reator do pré-concentrador. Para otimizar a coleta de gases foi inserida uma coluna tipo PLOT no pré-concentrador e foram testados dois banhos criogênicos que podem alterar a coleta de gases interferentes. Finalmente, amostras reais (gás confinado em um Isotube e *headspace* de sedimentos) foram analisadas para comprovar a aplicabilidade da estratégia analítica adotada. A Tabela 7 reporta as concentrações e composições isotópicas dos padrões usados neste estudo.

Tabela 7 Concentração e razão isotópica certificada para os padrões de gás natural usados (Lotes 626529E e 621989E)

Analito	Concentração %		$\delta^{13}\text{C PDB } \text{‰}$	
	Lote626529E	Lote621989E	Lote626529E	Lote621989E
C ₁	76.27	NR	-42.060	-42.520
C ₂	11.52	NR	-32.950	-32.850
C ₃	6.34	NR	-30.220	-29.96
i-C ₄	0.74	-	-30.100	-
n-C ₄	1.36	-	-26.910	-

*NR: Não Reportado

4.1.

Análises do padrão de gás natural pela técnica convencional CG-EMRI

Durante os testes iniciais a determinação isotópica do gás natural padrão foi otimizada através da injeção de padrões concentrados (10 réplicas) no sistema convencional de CG-EMRI (Ultra Trace acoplado ao Delta V Plus da Thermo Scientific). O gás referência CO₂ foi calibrado mediante um padrão secundário certificado e fornecido pelo Centro de Pesquisas da Petrobrás (CENPES). Na análise direta, foram injetados 50µL de padrão (no modo *split*, condições cromatográficas descritas na Tabela 2) e a mistura gasosa foi separada pela coluna Carbonplot mediante a programação de temperatura reportada na Tabela 2. O reator da interface Isolink foi re-oxidado (0.5 mL/min de O₂ por 12 horas) a cada 100 injeções ou quando o desvio padrão da razão isotópica de três padrões injetados superou o valor máximo permitido (0.5‰). A análise completa dos C₁-C₅, pela técnica convencional, levou aproximadamente 20 minutos. Na Figura 44 verifica-se a análise isotópica do gás concentrado no sistema CG-EMRI e na Tabela 8 estão reportadas as razões isotópicas correspondentes a 10 réplicas. Se os resultados dos padrões injetados diariamente apresentam um desvio padrão superior a 0.5‰, o sistema completo deve ser revisado e devem ser testados padrões adicionais até que os resultados estejam dentro da tolerância reportada pelo fabricante do equipamento.

Na Tabela 8 está ilustrado o teste estatístico de hipótese (t-Student) que compara as médias experimentais obtidas com os valores verdadeiros certificados. Este tipo de teste permite julgar se as diferenças numéricas são um resultado de erros aleatórios inevitáveis na medida ou o resultado de erros sistemáticos (Skoog *et al.* (2005)). Igualmente, este teste permite determinar se existe uma diferença significativa entre dois grupos de dados (Lauf *et al.*, 1998). O nível de confiança usado para aplicar o teste estatístico t foi de 99%.

$$t = (x - \mu) / (s / \sqrt{N})$$

Este teste comprovou a efetividade da técnica para analisar os gases analito C₁, C₂, C₃, i-C₄. As análises dos compostos de interesse C₁, C₂, C₃, i-C₄, n-C₄ e n-C₅ foram reprodutíveis e apresentaram desvios padrões menores do que 0.4‰. Devido ao baixo sinal analítico do i-C₅ não foi possível atingir uma melhor precisão sem comprometer a precisão dos C₁ e C₂ (sinal analítico superior ao sinal dos pulsos de referência). A determinação do n-C₄ apresentou um desvio padrão aceitável (<0.5‰), mas, no teste de comparação de médias foi

4.Resultados e Discussão

detectada uma diferença significativa entre o valor experimental e o valor certificado ($t < t_{\text{crit}} 99\% \text{ IC}$, $-9.33 < -3.25$, erro relativo 3.91%).

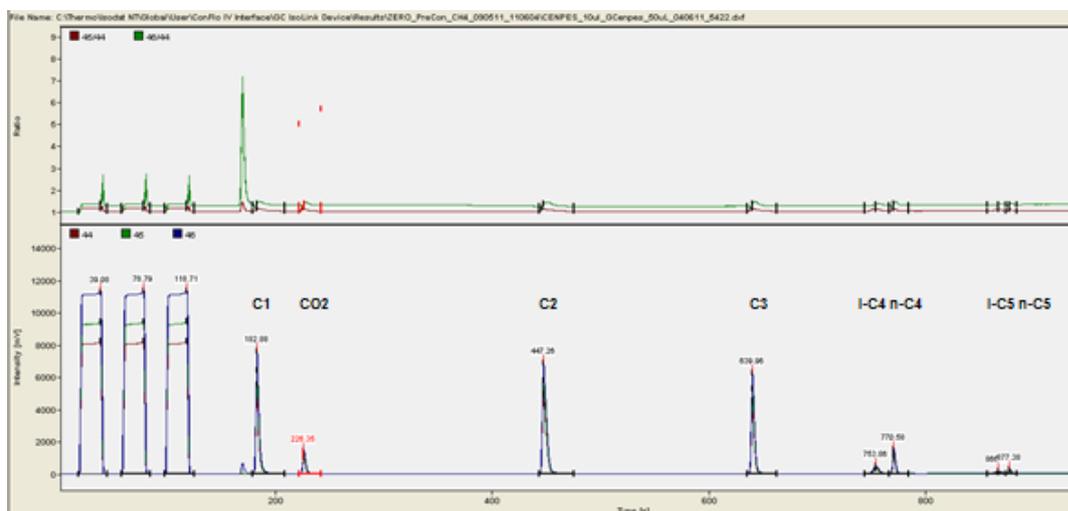


Figura 44 Determinação da composição isotópica do gás padrão (Lote 626529E) no CG-EMRI.

Tabela 8 Comparação das médias experimentais com os valores certificados para a determinação isotópica de gases C₁-C₅ por CG-EMRI.

Réplica	$\delta^{13}\text{C PDB, } \text{‰}$						
	C ₁	C ₂	C ₃	i-C ₄	n-C ₄	i-C ₅	n-C ₅
1	-42.281	-32.614	-30.031	-30.248	-27.329	-25.348	-25.500
2	-42.084	-32.540	-29.720	-29.709	-27.731	-25.141	-25.626
3	-41.769	-32.865	-30.279	-30.300	-27.970	-25.122	-25.147
4	-41.738	-32.705	-30.378	-30.491	-27.602	-25.133	-26.061
5	-42.239	-32.931	-30.557	-30.262	-28.095	-25.991	-25.857
6	-41.841	-32.725	-30.356	-30.110	-27.764	-25.248	-26.011
7	-42.060	-32.834	-30.384	-30.147	-28.113	-26.871	-26.292
8	-42.265	-33.008	-30.397	-30.878	-28.161	-25.133	-26.159
9	-42.319	-33.004	-30.585	-30.610	-28.387	-26.262	-25.349
10	-41.718	-32.788	-30.379	-30.968	-28.474	-26.113	-25.813
Valor certificado	-42.060	-32.950	-30.220	-30.100	-26.910	NR	NR
Média	-42.031	-32.801	-30.307	-30.372	-27.963	-25.636	-25.782
Desvio Padrão	0.24	0.16	0.26	0.38	0.36	0.63	0.37
t	0.37	2.98	-1.07	-2.29	-9.33	NA	NA
t_{crit} 99%IC	3.25	3.25	3.25	3.25	3.25	NA	NA
Erro relativo	-0.07	-0.45	0.29	0.90	3.91	NA	NA

4. Resultados e Discussão

A Figura 45 demonstra diferentes perfis correspondentes à determinação isotópica do gás padrão, analisado no CG-EMRI. Leves vazamentos podem ocasionar mudanças no sinal analítico, especialmente no sinal do metano. Nesta coluna (CarbonPlot) o sinal do C₁ foi alterado por interferências que foram maximizadas na presença de vazamentos (N₂, O₂ e CO eluem em um tempo de retenção próximo ao tempo do CH₄). Inicialmente, na etapa de otimização do acoplamento (PreCon-CG-EMRI) foram detectadas diferentes situações de vazamento especialmente no *splitter holder* e em outras conexões no cromatógrafo. Estes problemas de vazamento foram superados condicionando cones e peças consumíveis que podem sofrer dilatação por mudanças abruptas de temperatura e que são trocadas quando as conexões são refeitas.

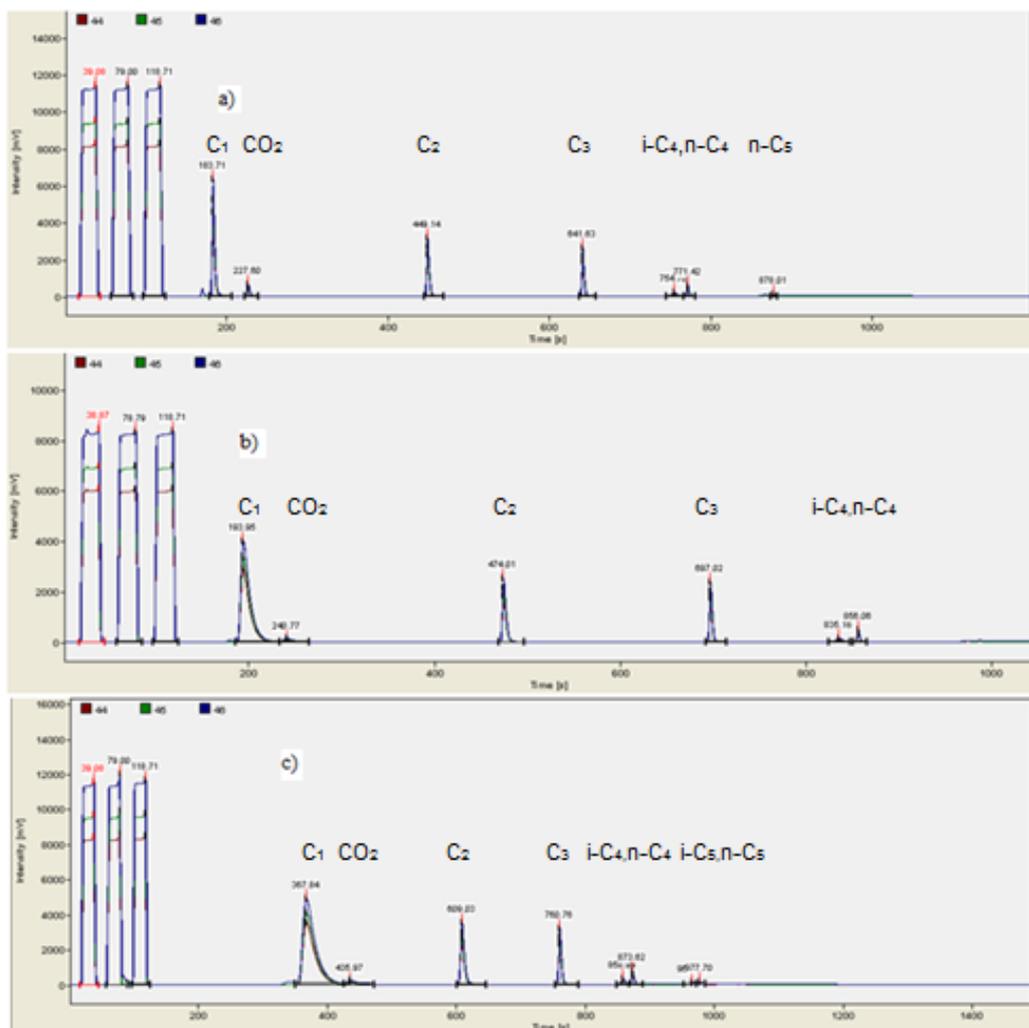


Figura 45 Análise isotópica do padrão pela técnica convencional (CG-EMRI), a) perfil cromatográfico em condições otimizadas, b), c) perfil cromatográfico em presença de vazamentos (picos mais largos e mudanças nos tempos de retenção).

4.2.

Análises de gás padrão diluído no PreCon

Para garantir a ausência de fracionamento no sistema de pré-concentração foram analisados padrões certificados diluídos à pressão atmosférica (50 μ L de gás em frascos de 40mL). O padrão diluído de gás natural foi analisado mediante o sistema CG-DIC-DCT para determinar a concentração dos compostos (C₁-C₅). A concentração obtida e a razão C₁/C_i estão reportadas na Tabela 9. Após a verificação da concentração foram injetados de 2-5 mL de gás no PreCon. O reator de combustão do PreCon foi re-oxidado após 100 injeções ou quando o desvio padrão da razão isotópica dos padrões superou o máximo valor permitido (0.5‰). O gás de interesse C₁ foi oxidado no PreCon e concentrado como CO₂ na armadilha T2, enquanto os C₂₊ foram concentrados no PreCon (armadilha T1) e oxidados no reator do sistema CG-EMRI (interface Isolink).

Tabela 9 Concentração do gás padrão diluído determinada pela técnica CG-DIC-DCT.

Analito	Concentração (ppm)	C ₁ /C _i
C ₁	163.0	1
C ₂	25.0	6.5
C ₃	13.0	12.5
i-C ₄	1.0	163
n-C ₄	2.0	81.5

Novamente foi aplicado um teste estatístico de hipótese para comparar as médias experimentais, obtidas no método de pré-concentração, com os valores verdadeiros certificados (Tabela 10).

De acordo com o desvio padrão obtido (0.43‰) e o resultado do teste de comparação realizado, é possível afirmar que o método de pré-concentração é efetivo na análise do C₁. Embora os resultados do teste não confirmem diferenças significativas entre a média e o valor verdadeiro dos gases C₂, C₃ e i-C₄, os desvios padrões obtidos para a determinação destes gases foram pouco satisfatórios (>0.5‰). O composto i-C₅ não foi concentrado adequadamente sem comprometer a precisão analítica dos C₂ e C₃, isto é, um maior volume de injeção melhora o sinal i-C₅ mais gera um sinal analítico dos C₂ e C₃ superior ao sinal dos pulsos do gás de referência (Figura 46b). A determinação do n-C₄ apresentou um desvio padrão insatisfatório (4.10 ‰) e no teste de comparação

4. Resultados e Discussão

de médias foi detectada uma diferença significativa entre o valor experimental e o valor certificado ($t < -t_{\text{crit } 99\% \text{ IC}}, -7.49 < -4.60$, erro relativo 50.97%). É presumível a coleta (na armadilha T1) de alguma interferência no n-C₄. A Figura 46 ilustra os cromatogramas obtidos na análise do C₁ no PreCon (Figura 46a) e dos C₂₊ (Figura 46b) concentrados no PreCon e oxidados na interface Isolink.

Tabela 10 Teste de comparação de médias com os valores verdadeiros para a determinação isotópica de gases C₁-C₅ pelo método de pré-concentração.

Réplica	$\delta^{13}\text{C PDB, ‰}$						
	C ₁	C ₂	C ₃	i-C ₄	n-C ₄	i-C ₅	n-C ₅
1	-42.959	-31.167	-29.040	-28.842	-43.164	ND	-25.023
2	-42.883	-31.657	-29.716	-29.302	-44.079	ND	-24.359
3	-42.200	-32.179	-30.154	-30.165	-43.291	ND	-24.898
4	-42.308	-32.897	-31.027	-30.233	-37.735	ND	-25.745
5	-42.922	-35.549	-30.656	-30.569	-34.857	ND	-26.127
6	-42.781						
7	-41.929						
8	-42.472						
9	-41.865						
Valor certificado	-42.060	-32.950	-30.220	-30.100	-26.910	NR	NR
Média	-42.480	-32.090	-30.119	-29.822	-40.625	NA	-25.230
Desvio Padrão	0.43	0.69	0.78	0.72	4.10	NA	0.70
t	-2.94	2.78	0.29	0.86	-7.49	NA	NA
t_{crit 99%IC}	3.36	4.60	4.60	4.60	4.60	NA	NA
Erro relativo	1.00	-2.61	-0.34	-0.92	50.97	NA	NA

Para avaliar se a diferença nas médias dos dois métodos analíticos (CG-EMRI vs. PreCon) é verdadeira ou se é resultado de erros aleatórios, foi feito um teste estatístico de comparação de médias. Este parâmetro estatístico conclui se os métodos fornecem os mesmos valores. A Tabela 11 demonstra os resultados do teste de comparação de médias. O teste estatístico t é determinado segundo a seguinte expressão (Skoog *et al.*, 2005).

$$t = (X_1 - X_2) / (s_{\text{combinado}} \sqrt{N_1 + N_2 / N_1 N_2})$$

A comparação dos métodos colocou em evidência a menor precisão da técnica de pré-concentração para a análise dos gases C₂₊ (desvio padrão superior ao desvio da técnica convencional e superior ao máximo valor permitido 0.5‰). Porém, o teste de comparação de médias somente revelou diferenças significativas para os gases C₂ e n-C₄. No caso do n-C₄, esta diferença já era

4.Resultados e Discussão

esperada devido à interferência inferida da análise no PreCon. O resultado para o C₂ pode sugerir um leve fracionamento ou perda de analito por oxidação durante a análise do metano (se existe coleta deficiente na armadilha T1, parte do gás C₂ escapa e é oxidada junto com o C₁). Segundo o teste estatístico aplicado, é possível afirmar que as duas técnicas fornecem os mesmos valores para os gases C₁, C₃, i-C₄ e n-C₅ sendo que o C₁ foi o único gás analito determinado com precisão e exatidão adequadas mediante as duas técnicas.

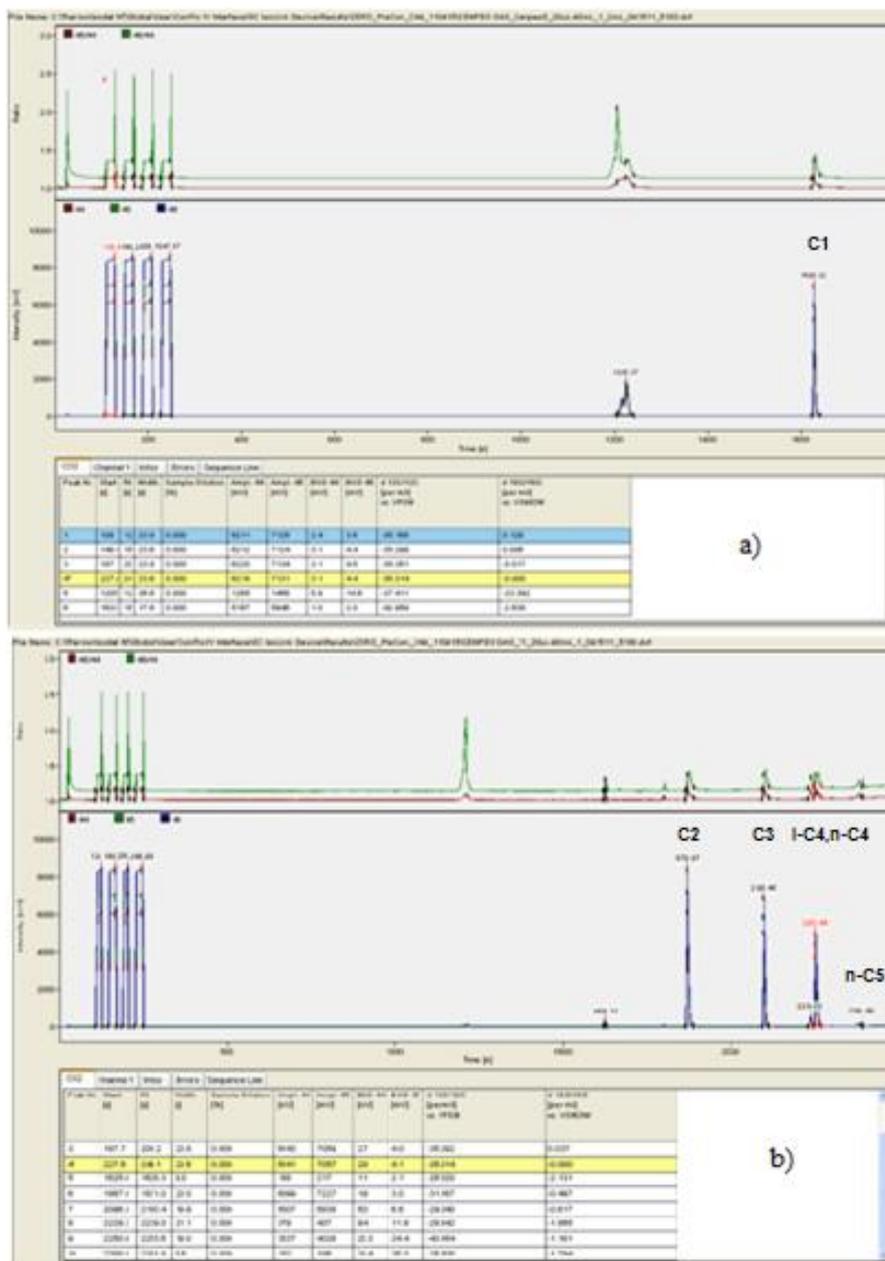


Figura 46 Determinação da composição isotópica do gás padrão diluído no PreCon, a) análise do C₁ pré-concentrado, b) análise dos C₂₊ pré-concentrados.

4.Resultados e Discussão

Tabela 11 Comparação estatística entre os métodos analíticos CG-EMRI e PreCon-CG-EMRI.

Analito	$\delta^{13}\text{C}_1, \text{‰}$		$\delta^{13}\text{C}_2, \text{‰}$		$\delta^{13}\text{C}_3, \text{‰}$		$\delta^{13}\text{i-C}_4, \text{‰}$		$\delta^{13}\text{n-C}_4, \text{‰}$		$\delta^{13}\text{n-C}_5, \text{‰}$		
	Réplica	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1		-42.281	-42.959	-32.614	-31.167	-30.031	-29.040	-30.248	-28.842	-27.329	-43.164	-25.500	-25.023
2		-42.084	-42.883	-32.540	-31.657	-29.720	-29.716	-29.709	-29.302	-27.731	-44.079	-25.626	-24.359
3		-41.769	-42.200	-32.865	-32.179	-30.279	-30.154	-30.300	-30.165	-27.970	-43.291	-25.147	-24.898
4		-41.738	-42.308	-32.705	-32.897	-30.378	-31.027	-30.491	-30.233	-27.602	-37.735	-26.061	-25.745
5		-42.239	-42.922	-32.931	-32.549	-30.557	-30.656	-30.262	-30.569	-28.095	-34.857	-25.857	-26.127
6		-41.841	-42.781	-32.725		-30.356		-30.110		-27.764		-26.011	
7		-42.060	-41.929	-32.834		-30.384		-30.147		-28.113		-26.292	
8		-42.265	-42.472	-33.008		-30.397		-30.878		-28.161		-26.159	
9		-42.319	-41.865	-33.004		-30.585		-30.610		-28.387		-25.349	
10		-41.718		-32.788		-30.379		-30.968		-28.474		-25.813	
Média		-42.031	-42.480	-32.801	-32.090	-30.307	-30.119	-30.372	-29.822	-27.963	-40.625	-25.782	-25.230
Des.Pad		0.24	0.43	0.16	0.69	0.26	0.78	0.38	0.72	0.36	4.10	0.37	0.70
S_{combinado}		0.34		0.41		0.48		0.51		2.29		0.50	
t		2.84		-3.21		-0.71		-1.98		10.09		-2.02	
tcrit		2.90		3.01		3.01		3.01		3.01		3.01	

- A. Método Convencional GC-IRMS
 B. Método PreCon-GC-IRMS

4.3.

Análises do padrão de gás natural diluído no PreCon modificado (armadilha T1 com coluna Rt-Q-Bond)

Devido à insuficiente precisão atingida durante as análises dos C_{2+} no PreCon, foi introduzida uma fase estacionária (100% divinilbenzeno) na armadilha T1 para otimizar a separação e coleta destes gases. Após a introdução da coluna na T1, foi testado o dispositivo de pré-concentração usando dois banhos criogênicos. O banho de $N_2(l)$ apresenta uma temperatura aproximada de $-196^\circ C$, e segundo a solubilidade do N_2 e O_2 , nesta temperatura estes gases podem ser parcialmente coletados. Para evitar esta coleta, pesquisadores (Rice *et al*, 2001, 2003; Sowers *et al.*, 2005; Huiban *et al.*, 2009) tem sugerido um banho 1:1 de nitrogênio líquido e n-pentano ($-140^\circ C$), entre outras misturas criogênicas (Poop e Sansone, 1995; Merritt *et al.*, 1995). Neste estudo foram testados o $N_2(l)$ e a mistura com n-pentano. A preparação da mistura foi feita de acordo com a técnica descrita por Rondeau (1965). Nesta configuração novamente o C_1 foi oxidado e pré-concentrado como CO_2 na armadilha T2, enquanto os C_{2+} foram coletados na armadilha T1 (modificada pela introdução de coluna R-t-Q-BOND) e, em uma sequência posterior, foram liberados e oxidados no sistema CG-EMRI.

Na configuração proposta, o metano foi retido na armadilha T1 (o sinal do C_1 foi eliminado, Figura 47a) e durante a liberação da T1 foi perdido pelo respiradouro do sistema de pré-concentração. Isto é, a coluna conseguiu coletar o C_1 , mas na etapa de liberação, o C_1 foi liberado (o C_1 não condensa em nitrogênio líquido na armadilha T2). Devido à retenção do metano, demonstrada nestes testes, foi vislumbrada a possibilidade de condensar o metano na armadilha T2 ($-196^\circ C$ ou $-140^\circ C$) por adsorção sobre a resina divinilbenzeno (da coluna Restek-Q-BOND). Em condições analíticas normais (PreCon sem modificar) o metano não pode ser coletado por congelamento, somente o CO_2 (produto da combustão do C_1) pode condensar na armadilha T2. Assim a introdução de coluna na armadilha T2 foi vislumbrada como uma estratégia para concentrar e transferir o C_1 até o sistema CG-EMRI, onde pode ocorrer a oxidação através da interface Isolink.

A respeito dos C_{2+} , as análises dos gases liberados apresentaram pouca reprodutibilidade, desvios padrões insatisfatórios e erros relativos altos. A Figura 47b ilustra a liberação dos C_{2+} obtida com o pré-concentrador modificado. Na Tabela 12 estão reportados os resultados do teste estatístico de comparação de médias experimentais com os valores verdadeiros.

4.Resultados e Discussão

Tabela 12 Comparação das médias experimentais com os valores certificados para o método com PreCon modificado (coluna em T1).

Réplica	$\delta^{13}\text{C}_2$, ‰	$\delta^{13}\text{C}_3$, ‰	$\delta^{13}\text{i-C}_4$, ‰	$\delta^{13}\text{n-C}_4$, ‰	$\delta^{13}\text{n-C}_5$, ‰
1	-29.699	-27.535	-28.413	-26.312	-24.349
2	-31.101	-28.875	-28.988	-27.816	-26.026
3	-31.065	-28.821	-29.116	-27.963	-25.113
4	-29.415	-27.514	-27.401	-27.663	-23.816
Valor certificado	-32.950	-30.220	-30.100	-26.910	NR
Média	-30.320	-28.186	-28.480	-27.439	-24.826
Desvio Padrão	0.89	0.76	0.78	0.76	0.96
t	5.92	5.32	4.15	-1.39	NA
t_{crit} 99%IC	5.84	5.84	5.84	5.84	NA
Erro relativo	12.02	9.83	9.85	-2.72	NA

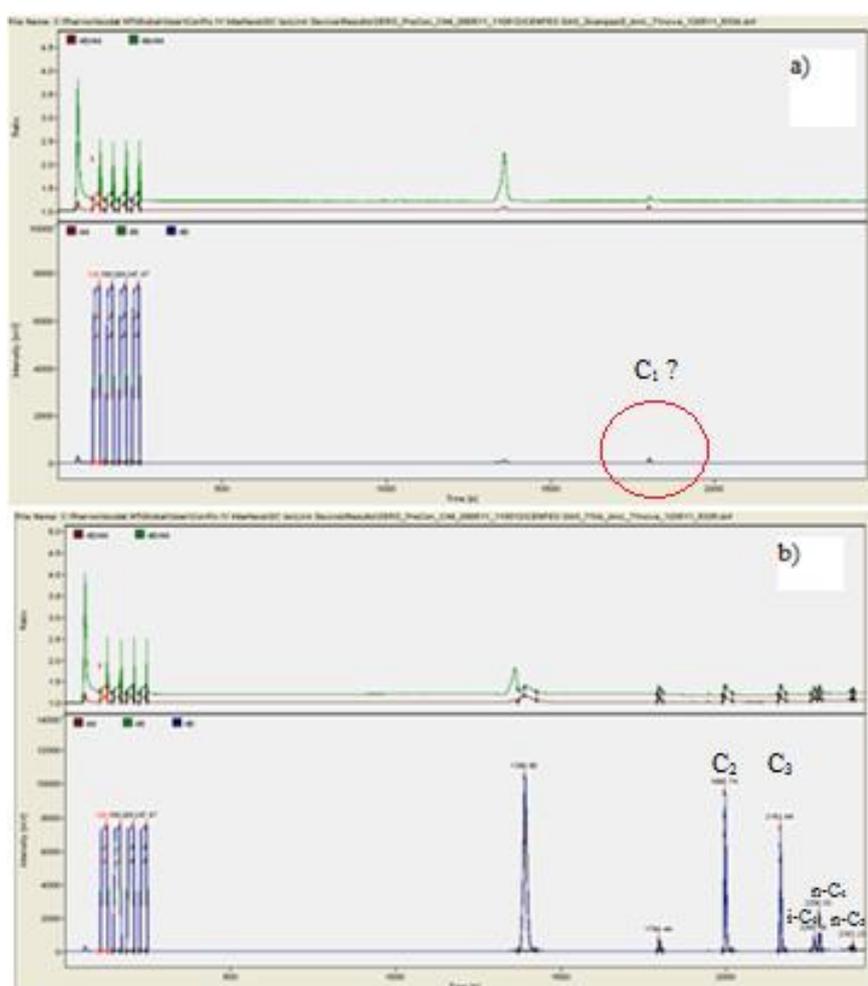


Figura 47 Gás Padrão diluído analisado no PreCon (coluna PLOT na armadilha T1), a) armadilha T1 em $\text{N}_2(\text{l})$ (análise do C_1), b) liberação da armadilha T1 com reator do PreCon a 200°C (análise dos C_{2+})

4. Resultados e Discussão

Na Figura 48 verifica-se a liberação da armadilha T1 modificada (com o reator do PreCon em 200°C) usando duas misturas criogênicas. A única diferença significativa detectada nos dois cromatogramas é o aumento do sinal de um pico desconhecido que elui aproximadamente a 1500s. Aparentemente a altura deste pico depende da mistura criogênica usada na pré-concentração. Na literatura é reportado que o uso da mistura criogênica com n-pentano diminui a retenção e coleta de N₂ e O₂ que podem interferir na análise do metano (por co-eluição e interferência na fonte iônica devido a sua alta concentração). A alta concentração de ar produz o alargamento do pico do N₂, o que gera um pulso de pressão na fonte iônica do espectrômetro de massas e a interferência com o pico do C₁ (Poop e Sansone, 1995; Merritt *et al.*, 1995). Possivelmente este pico desconhecido corresponde ao N₂ e O₂ coletados pelo nitrogênio líquido e a coluna (divinilbenzeno) inserida na armadilha T1. Contudo, este pico não interfere na determinação dos C₁-C₅, os quais começam a eluir somente após 1600 segundos (no PreCon). Para minimizar a interferência do N₂ e O₂, Merritt *et al.*, 1995, e Behrens *et al.*, 2008, sugerem, além do uso de uma temperatura de coleta superior (-130°C) à temperatura do N₂(l), a operação do sistema CG-EMRI em modo *backflush* pelos primeiros 5 minutos após a liberação da armadilha de crio-focalização. Outra possível interferência pode ser a água retida pela coluna e coletada criogenicamente. O aumento de água (m/z=18) pode influenciar o sinal da massa 45 pela protonação do CO₂ gerando HCO₂⁺ na fonte iônica (Sowers *et al.*, 2005). O sinal da água foi monitorado diariamente e nunca foi inferior a 5000 mV.

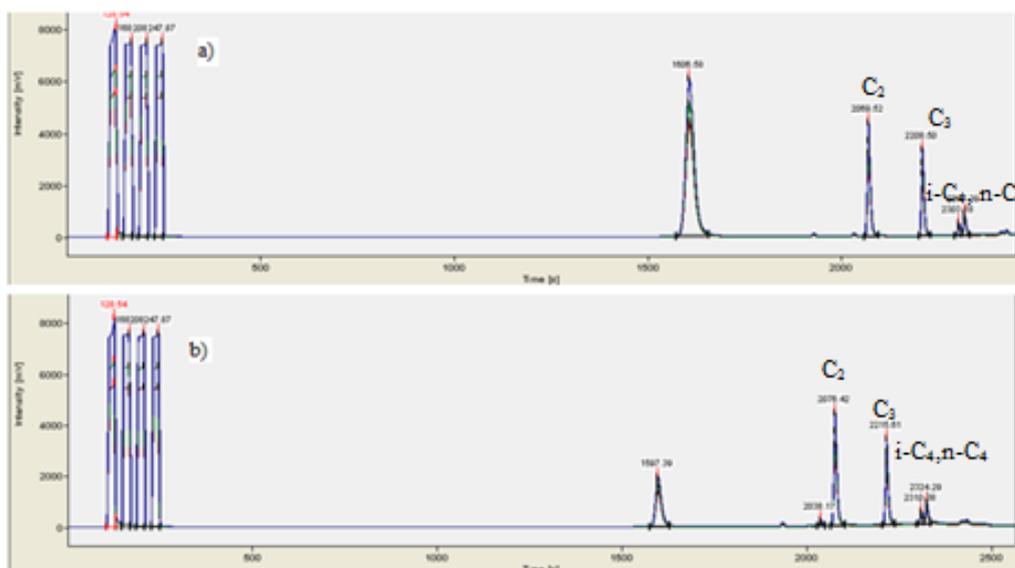


Figura 48 Liberação da armadilha T1 (análise dos C₂+) usando a) nitrogênio líquido, b) mistura nitrogênio líquido: n-pentano 1:1

4.4.

Análises do padrão de gás natural diluído no PreCon modificado (armadilha T2 com coluna Rt-Q-Bond)

A introdução da coluna tipo PLOT na armadilha T2 pretendia simular um sistema de coleta de C_1 similar aos sistemas reportados por vários pesquisadores, onde foi usada a resina HayeSep-D.

Após a modificação na armadilha T2, foi testado o dispositivo de pré-concentração usando dois banhos criogênicos (nitrogênio líquido e a mistura nitrogênio líquido: n-pentano 1:1). A Tabela 13 demonstra os resultados obtidos para a determinação dos C_1 - C_5 no PreCon modificado usando as duas misturas criogênicas. Esta tabela também reporta os resultados da comparação de médias para as duas metodologias (coleta em nitrogênio líquido vs. coleta na mistura nitrogênio líquido: n-pentano). Nesta configuração o C_1 foi oxidado e pré-concentrado no PreCon, enquanto os C_{2+} foram coletados no PreCon e oxidados no reator do sistema CG-EMRI.

De acordo com a comparação de médias reportada na Tabela 13 é evidente que o uso da mistura nitrogênio líquido:n-pentano altera levemente a precisão do método e que a coleta em nitrogênio líquido resultou mais eficiente (menor desvio padrão). Já que os valores obtidos com as duas metodologias são estatisticamente iguais (pelo teste-t de comparação de médias), o banho criogênico de nitrogênio líquido:n-pentano resulta pouco prático. A preparação da mistura com n-pentano consome mais nitrogênio líquido (pela evaporação) e produz cristais de solvente que formam uma fase sólida que dificulta a entrada e saída das armadilhas no PreCon. Para uso destas temperaturas (-120°C, -140°C), superiores à temperatura do $N_2(l)$ (-196°C), a literatura reporta um melhor desempenho usando armadilhas automáticas, que possuem termopares e resistências que regulam a temperatura do nitrogênio líquido (Melton *et al.*, 2011; Brass e Röckmann, 2010; Behrens *et al.*, 2008; Miller *et al.*, 2002).

4. Resultados e Discussão

Tabela 13 Comparação estatística entre banhos criogênicos usados na pré-concentração (*t_{crit 99%IC} = 4.60)

Analito	$\delta^{13}\text{C}_1, \text{‰}$		$\delta^{13}\text{C}_2, \text{‰}$		$\delta^{13}\text{C}_3, \text{‰}$		$\delta^{13}\text{i-C}_4, \text{‰}$		$\delta^{13}\text{n-C}_4, \text{‰}$		$\delta^{13}\text{n-C}_5, \text{‰}$	
	n-penta.	N ₂ (l)	n-penta.	N ₂ (l)	n-penta.	N ₂ (l)	n-penta.	N ₂ (l)	n-penta.	N ₂ (l)	n-penta.	N ₂ (l)
1	-41.686	-41.932	-32.586	-31.960	-30.704	-29.220	-26.896	-28.515	-31.405	-30.501	-28.350	-28.157
2	-42.243	-41.588	-32.426	-32.056	-29.969	-29.306	-27.447	-28.400	-30.504	-30.658	-27.852	-28.412
3	-41.814	-41.598	-32.756	-32.224	-31.066	-29.276	-28.001	-28.434	-30.429	-30.220	-27.516	-27.891
Média	-41.914	-41.706	-32.589	-32.080	-30.580	-29.267	-27.448	-28.450	-30.779	-30.460	-27.906	-28.153
Des. Pad.	0.29	0.20	0.16	0.13	0.56	0.04	0.55	0.06	0.54	0.22	0.42	0.26
S_{combinado}	0.25		0.15		0.40		0.39		0.41		0.35	
t*	1.02		4.15		4.05		-3.12		0.94		-0.87	

Tabela 14 Comparação estatística entre os métodos analíticos CG-EMRI e o PreCon modificado (coluna em T2) (*t_{crit 99%IC} = 3.36)

Analito	$\delta^{13}\text{C}_1, \text{‰}$		$\delta^{13}\text{C}_2, \text{‰}$		$\delta^{13}\text{C}_3, \text{‰}$		$\delta^{13}\text{i-C}_4, \text{‰}$		$\delta^{13}\text{n-C}_4, \text{‰}$	
	GC-IRMS	PreCon	GC-IRMS	PreCon	GC-IRMS	PreCon	GC-IRMS	PreCon	GC-IRMS	PreCon
1	-42.460	-40.191	-34.996	-34.987	-31.761	-33.150	-31.885	ND	-30.457	-32.329
2	-42.449	-40.405	-34.908	-34.517	-31.932	-31.558	-31.759	ND	-30.390	-31.713
3	-42.375	-41.043	-34.991	-34.620	-31.618	-31.650	-32.094	ND	-31.241	-31.286
4	-42.426	-41.641	-35.123	-34.802	-32.586	-31.618	-32.345	ND	-31.049	-30.501
5	-42.388	-41.199	-35.040	-35.116	-31.679	-32.278	-32.208	ND	-31.775	-30.658
Média	-42.420	-40.896	-35.012	-34.808	-31.915	-32.051	-32.058	ND	-30.982	-31.297
Desvio Padrão	0.04	0.59	0.08	0.25	0.39	0.68	0.24	NA	0.58	0.76
S_{combinado}	0.42		0.18		0.56		NA		0.67	
t*	-5.73		-1.74		0.39		NA		0.74	

4. Resultados e Discussão

Após uma perda de sinal no sistema foi detectado um entupimento no reator da interface Isolink. O reator novo foi condicionado (por re-oxidação com um fluxo de O₂ durante 12h a 1030°C) e padrões concentrados foram injetados diretamente no CG-EMRI para verificar o funcionamento do sistema. Após múltiplas injeções de padrão, verificou-se a combustão deficiente dos gases de interesse em injeções de mais de 20 µL. Esta combustão deficiente foi concluída ou detectada pelas seguintes observações, a) os desvios padrões do C₁ e C₂ demonstravam combustão deficiente dos gases mais concentrados (desvio padrão maior do que 2‰), b) o desvio padrão aceitável dos C₃-C₅ revelava combustão eficiente destes, c) o desvio padrão constante e aceitável do CO₂ durante todos os testes (desvio padrão menor do que 0.2‰), d) a ausência de vazamentos (verificada mediante a ferramenta *Leak Check* e o medidor de fluxos interno e externo), e e) a razão isotópica experimental do C₁, analisado no PreCon, coincidente com o valor certificado.

De acordo com estas observações, o padrão concentrado de gás foi analisado injetando 20µL no sistema CG-EMRI e as razões isotópicas experimentais apresentaram um desvio padrão e erros relativos aceitáveis. Igualmente, no PreCon, os volumes de injeção diminuíram para garantir a oxidação efetiva dos C₂-C₅, enquanto o C₁ foi oxidado normalmente no reator do PreCon. Esta diminuição no volume comprometeu a determinação do i-C₄ e dos isômeros C₅ já que os sinais analíticos destes gases foram inferiores a 200 mV (Figura 49b). Por este motivo nas experiências posteriores o i-C₄ e os C₅ não foram considerados. Este compromisso (uso de volume baixo) foi feito com o objetivo de continuar as experiências com o dispositivo modificado e não suspender as testes até a substituição do reator da interface Isolink. Contudo, deve ter-se em mente que o metano é particularmente suscetível à combustão incompleta (pela maior concentração), o que é refletido na precisão analítica da determinação. Lauf e Gebauer *et al.*, 1998, recomendam o monitoramento da massa 16 (CH₄) para obter informação sobre o processo de combustão. Brass e Röckmann, 2010, sugerem que traços de O₂ deixam a coluna do CG antes do metano e podem oxidar aleatoriamente o reator de combustão alterando a precisão da análise isotópica. A Figura 49 ilustra os cromatogramas obtidos na determinação dos C₁-C₅ com o PreCon modificado (C₁ oxidado no PreCon e C₂₊ oxidados na interface Isolink).

Segundo a Figura 49a, a introdução da coluna na armadilha T2 modificou o cromatograma do C₁ aumentando o sinal do pico desconhecido com tempo de retenção próximo dos 1210 s. Provavelmente algum composto não condensável,

4.Resultados e Discussão

presente no padrão diluído, foi retido pela resina polimérica da coluna (não foi expulso pelo respiradouro) e entrou no sistema CG-EMRI causando este pico. Na Figura 49b é evidente a perda de sensibilidade dos gases de interesse $i-C_4$, $i-C_5$ e $n-C_5$ por causa do baixo volume de injeção (necessário para garantir a combustão completa dos C_1 e C_2).

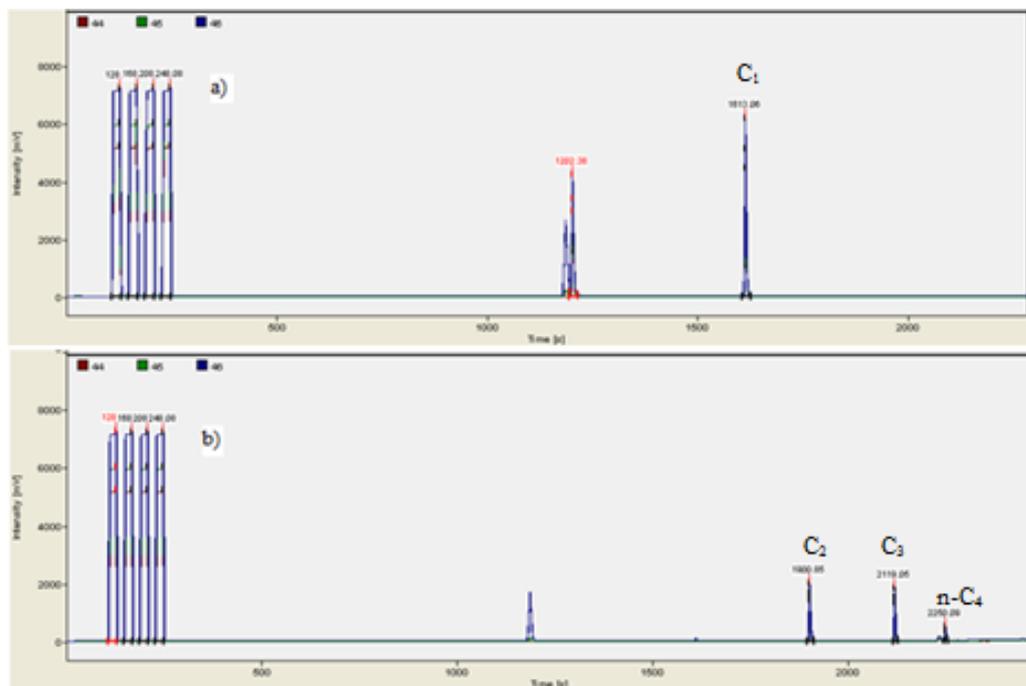


Figura 49 Determinação isotópica do padrão diluído no PreCon modificado (coluna em T2) a) análise do C_1 , b) análise dos C_{2+}

Na Tabela 14 estão reportados os resultados do teste da comparação entre as médias dos padrões analisados pela técnica convencional (CG-EMRI) e pela técnica de pré-concentração (PreCon modificado com coluna em T2). Os resultados reportados confirmam que o método de pré-concentração não atinge a precisão analítica da técnica convencional. O teste estatístico mostrou uma diferença significativa nas determinações de C_1 . Na técnica convencional o C_1 é oxidado no reator do sistema CG-EMRI, enquanto na técnica de pré-concentração o C_1 é oxidado no reator do PreCon, assim esta diferença significativa não detectada nos testes iniciais (PreCon sem modificar) também indica a combustão deficiente do reator instalado na interface Isolink. Os C_{2+} durante todas as estratégias analíticas foram oxidados na interface Isolink, portanto, se não existe fracionamento na etapa de pré-concentração não devem existir diferenças significativas nas razões isotópicas determinadas. Esta

4. Resultados e Discussão

inferência é confirmada pelos resultados obtidos para os gases C_{2+} no teste de comparação. É possível afirmar que as duas técnicas analíticas (CG-EMRI vs. PreCon modificado) fornecem os mesmos valores e, portanto, a determinação dos C_2-C_5 é satisfatória e pouco suscetível ao fracionamento. Embora a precisão analítica não seja muito próxima à precisão da técnica convencional, o desvio padrão dos C_{2+} foi menor que o desvio obtido nas análises feitas no pré-concentrador não modificado. Devido ao defeito detectado no forno de combustão do sistema CG-EMRI, o C_1 deve ser analisado no reator do PreCon até a substituição do reator da interface Isolink. Igualmente a calibração deve ser feita segundo a determinação do C_1 no PreCon.

A coluna tipo PLOT, introduzida na armadilha T2, apresenta alta retenção de hidrocarbonetos e de CO_2 . Esta alta retenção alterou a coleta de gases deixando o sistema mais eficiente e com melhor desvio padrão. No entanto, também foram coletados gases traço não identificados e ausentes nas análises prévias (no PreCon sem modificar). Esta situação foi contornada mediante a instalação de uma armadilha de limpeza do gás de arraste, antes da entrada no PreCon. Na Figura 50a é evidenciada a presença de gases traço desconhecidos coletados criogenicamente e liberados quando T1 é retirada do nitrogênio líquido. A implementação de uma armadilha de limpeza do gás, fora do PreCon, elimina estes sinais traço (Figura 50b).

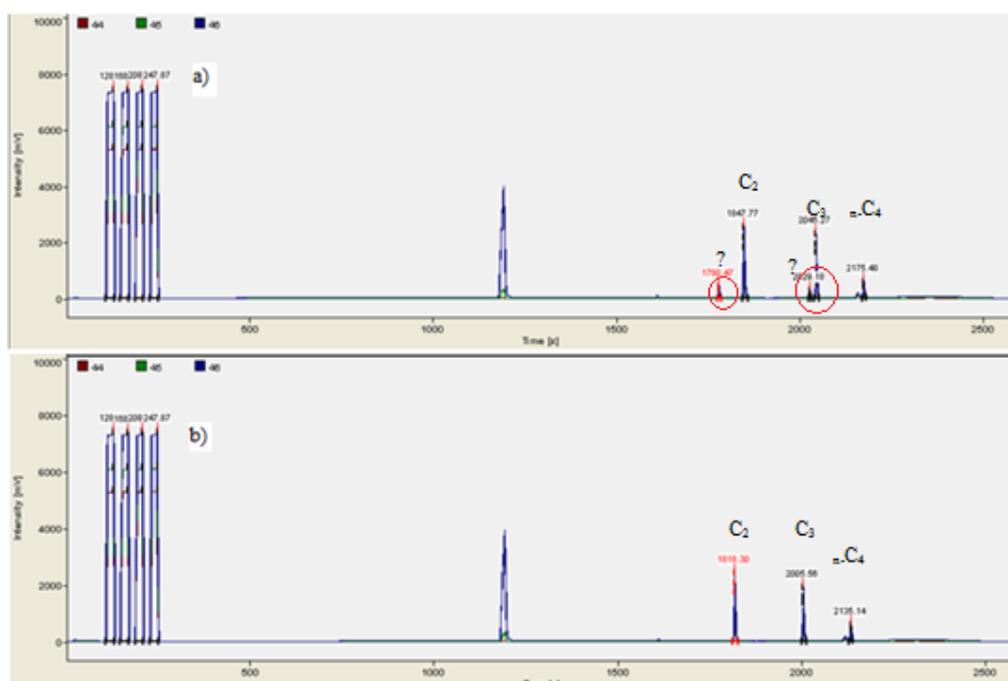


Figura 50 Liberação de T1 (análise dos C_{2+}), a) sem limpeza do gás de arraste, b) usando uma armadilha de N_2 (l) no gás de arraste.

4.Resultados e Discussão

A tentativa de analisar o C_1 fora do PreCon (pré-concentração no PreCon e oxidação no Isolink) não foi satisfatória devido à co-eluição do C_1 com interferências não identificadas. Já que o sinal destas interferências (~1210s) aumentou com a introdução da coluna na armadilha T2, é possível inferir que seja algum composto com alta afinidade pela coluna que foi adsorvido pela resina à baixa temperatura, e foi liberado à temperatura ambiente. Para evitar esta co-eluição é necessário modificar o sistema de crio-focalização testando diferentes diâmetros e comprimentos de coluna (na armadilha T3). Sowers *et al.*, 2005, sugerem o uso de coluna Poraplot (1m X 0.32cm) como armadilha T3 (em n-pentano: $N_2(l)$) para melhorar a separação cromatográfica posterior. A Figura 51 demonstra a determinação direta dos C_1 - C_5 e a interferência por co-eluição no pico do C_1 .

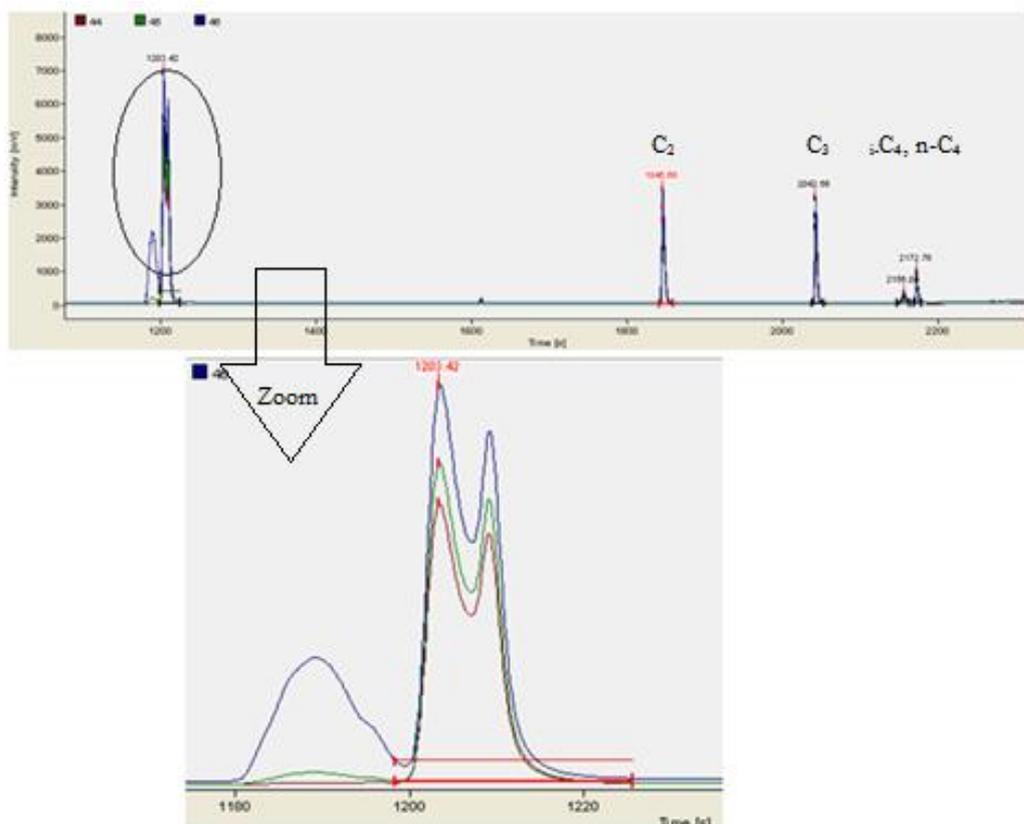


Figura 51 Análise isotópica dos C_1 - C_5 direta no PreCon modificado (200°C) demonstrando a co-eluição do metano.

4.5.

Análises de amostras: Isojar e Isotube

A aplicabilidade da metodologia para a determinação da composição isotópica ($\delta^{13}\text{C}$) de C_1 - C_5 em amostras com baixa concentração foi demonstrada analisando uma amostra gasosa (Isotube) e o *headspace* de amostras de sedimento fornecidas pelo Centro de Pesquisas da Petrobras.

O gás coletado no amostrador Isotube foi analisado no sistema CG-DIC-DCT para determinar o volume de injeção adequado para a análise no PreCon modificado (coluna na armadilha T2). A gasometria realizada, indicou a presença de olefinas e a possibilidade de analisar alguns componentes diretamente no sistema CG-EMRI (concentração do C_1 próxima a 1000 ppm). O gás coletado foi injetado no CG-EMRI e as razões isotópicas dos C_1 - C_3 foram determinadas (Tabela 15, Figura 52). Os C_4 e C_5 não foram detectáveis pela técnica de CG-EMRI.

Tabela 15 Determinação da composição isotópica da amostra gasosa (Isotube) pela técnica convencional CG-EMRI.

Analito	Concentração PPM	$\delta^{13}\text{C}$, ‰			Desvio Padrão
C₁	1171.0	-55.596	-58.813	-58.062	1.68
C₂	408.0	-37.098	-37.971	-37.505	0.44
C₃	110.0	-32.795	-32.227	-32.858	0.35
i-C₄	4.2	ND	ND	ND	NA
n-C₄	17.5	ND	ND	ND	NA
i-C₅	0.3	ND	ND	ND	NA
n-C₅	0.8	ND	ND	ND	NA

*ND: Não detectável pela técnica CG-EMRI

**NA Não aplica

A Figura 52 mostra o cromatograma correspondente à amostra do Isotube analisada no sistema CG-EMRI. Na figura é evidente o baixo sinal (<500mV) dos compostos de interesse e do eteno e propeno. No entanto, para o C_2 e C_3 , os desvios padrões da determinação (por triplicata) foram aceitáveis. Para testar o desempenho do dispositivo de pré-concentração, na análise do gás (Isotube), foram injetados 100 μL de gás no PreCon. A Figura 53 ilustra os cromatogramas obtidos na análise do C_1 e dos C_{2+} . Na análise no PreCon foram determinados os isômeros C_4 e o sinal dos compostos aumentou consideravelmente (>1000mV). Esta melhora na sensibilidade, atingida pelo uso do pré-concentrador, confirma a aplicabilidade da metodologia na determinação da composição isotópica deste tipo de amostras.

4.Resultados e Discussão

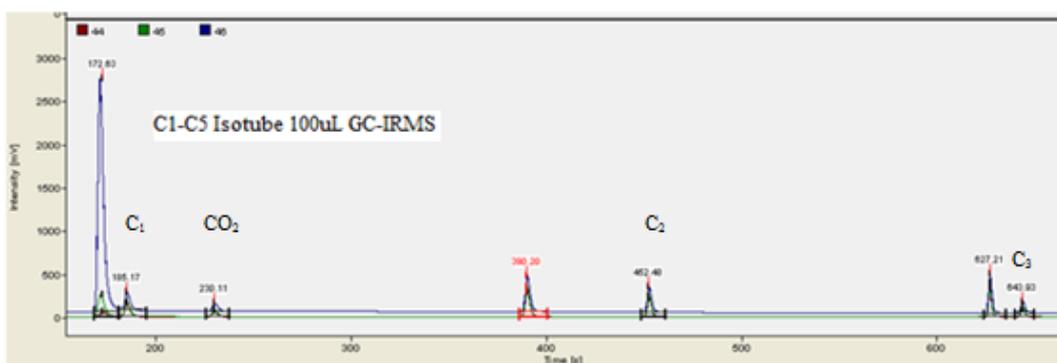


Figura 52 Determinação isotópica dos C_1 - C_5 em amostra gasosa com baixa concentração pela técnica convencional CG-EMRI.

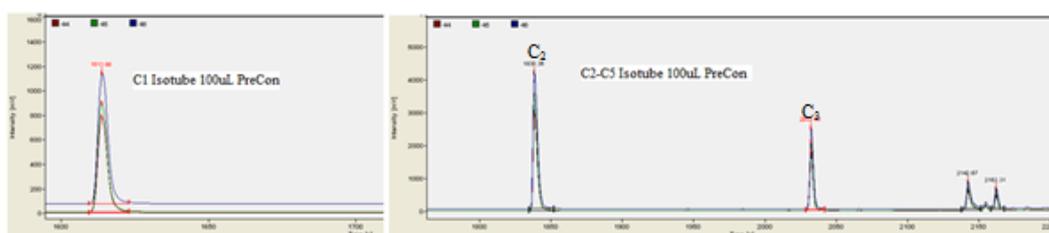


Figura 53 Determinação isotópica dos C_1 - C_5 em amostra gasosa com baixa concentração usando o PreCon modificado.

A precisão das duas técnicas analíticas, usadas na determinação da composição isotópica do gás (Isotube), pode ser comparada mediante um teste-t de comparação de médias. Este teste estatístico permite estimar se a diferença nas médias de dois conjuntos de dados é verdadeira, isto é, determina se as duas técnicas analíticas fornecem os mesmos valores. De acordo com este teste (Tabela 16) foi possível afirmar que as técnicas apresentaram valores diferentes para o C_1 e C_3 .

A partir dos dados da Tabela 16 também foi possível afirmar que a técnica de pré-concentração apresentou um melhor desvio padrão para todos os analitos e que a técnica convencional teve menor precisão e exatidão na determinação de metano. Esta menor precisão e exatidão foram devidas ao baixo sinal analítico e ao pico interferente que elui antes do C_1 (Figura 52). A interferência deste pico inicial desconhecido sobre o C_1 não foi observada na metodologia de pré-concentração, (C_1 elui sem interferências, Figura 53) assim, o cálculo da razão isotópica do C_1 foi mais preciso e exato.

4. Resultados e Discussão

Tabela 16 Comparação das técnicas analíticas usadas na determinação da composição isotópica da amostra gasosa (Isotube).

Analito	$\delta^{13}\text{C}_1$, ‰		$\delta^{13}\text{C}_2$, ‰		$\delta^{13}\text{C}_3$, ‰	
	GC-IRMS	PreCon	GC-IRMS	PreCon	GC-IRMS	PreCon
Réplica						
1	-55.596	-43.979	-37.098	-38.155	-32.795	-33.786
2	-58.813	-44.951	-37.971	-38.205	-32.227	-34.033
3	-58.062	-44.900	-37.505	-38.477	-32.858	-34.028
Média	-57.490	-44.610	-37.525	-38.279	-32.627	-33.949
Desvio Padrão	1.68	0.55	0.44	0.17	0.35	0.14
S_{combinado}	1.25		0.33		0.27	
t	-12.61		2.78		6.11	
t_{crit 99%IC}	4.60		4.60		4.60	

O *headspace* dos sedimentos foi analisado no cromatógrafo Ultra Trace modificado e de acordo com a composição determinada, foram estimados os volumes adequados para a injeção no dispositivo de pré-concentração. As amostras L1, L2 e L3 não foram incluídas nos testes de pré-concentração já que apresentaram concentrações elevadas (podem ser analisadas diretamente no sistema convencional de CG-EMRI). A Tabela 17 mostra a concentração e a composição isotópica (determinada no PreCon modificado) para o *headspace* das quatro amostras de sedimento.

Tabela 17 Resultados para sedimentos coletados no Isojar (em baixa concentração).

Amostra	L4 / 25 mL		L5 / 40 mL		L6 / 15 mL		L7 / 10 mL	
	[]ppm	$\delta^{13}\text{C}$						
C₁	119.84	-69.31	7.47	-49.80	49.4	-46.03	253.18	-82.12
C₂	ND	-35.02	0.09	-37.40	ND	-35.03	0.17	-38.80
C₃	0.06	-30.11	0.13	-32.40	0.03	-31.46	0.15	-33.38
i-C₄	ND	-30.90	ND	-32.60	ND	-32.47	ND	-32.29
n-C₄	ND	-42.55	0.02	-43.71	ND	-41.68	ND	-45.05
CO₂	27.2%	-24.13	19.6%	-25.59	21.8%	-25.73	41.9%	-23.92

^{*}500 µL analisados no CG-DIC-DCT

^{**}200 µL analisados no GC-DIC-DCT

Nas Figuras 54 e 55 estão ilustrados os perfis dos cromatogramas obtidos na determinação isotópica do C₁ e dos C₂₊ respectivamente para as amostras

4. Resultados e Discussão

L4, L5, L6 e L7. A concentração de C_1 nestas amostras variou entre 7.5 e 250 ppm aproximadamente, enquanto a concentração dos C_{2+} foi menor do que 0.2 ppm (concentrações determinadas no sistema CG-DIC-DCT). A razão isotópica $\delta^{13}C_1$ nestas amostras variou entre -82.123 e -46.026, enquanto as razões isotópicas dos C_{2+} e do CO_2 apresentaram valores similares nas quatro amostras (Figura 56, Tabela 17).

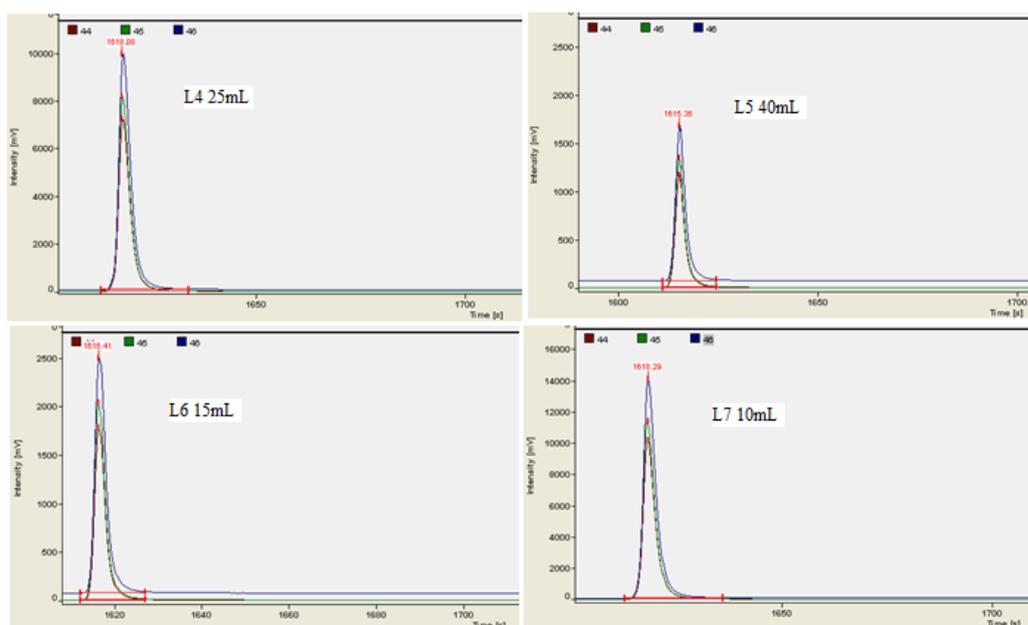


Figura 54 Determinação isotópica do C_1 em amostras de sedimento (Isojar)

A injeção de altos volumes de amostra (até 50 vezes o volume injetado no CG-DIC e até 800 vezes o volume injetado no CG-EMRI) no PreCon permitiu a determinação de componentes traço (C_{2+}) de difícil quantificação e determinação pela técnica CG-DIC-DCT. A maioria de isômeros C_4 não detectáveis na gasometria apresentaram um sinal adequado para o cálculo da razão isotópica no sistema PreCon-CG-EMRI modificado. Na Figura 55 aparecem alguns sinais menores correspondentes a olefinas traço não suprimidas pelo oxidante I_2O_5 (reagente Schüetze da armadilha química). Estas olefinas devem ser eliminadas antes da pré-concentração ou separadas adequadamente para evitar interferências na determinação da composição isotópica dos isômeros C_4 e C_5 .

Os gases *headspace* das amostras de sedimento apresentaram concentrações altas de CO_2 (~20%), nestes casos é necessário garantir a ação da armadilha química (evitar saturação do Ascarite) já que este CO_2 pode

4.Resultados e Discussão

interferir na análise dos C_{2+} quando a armadilha T1 é retirada do nitrogênio líquido.

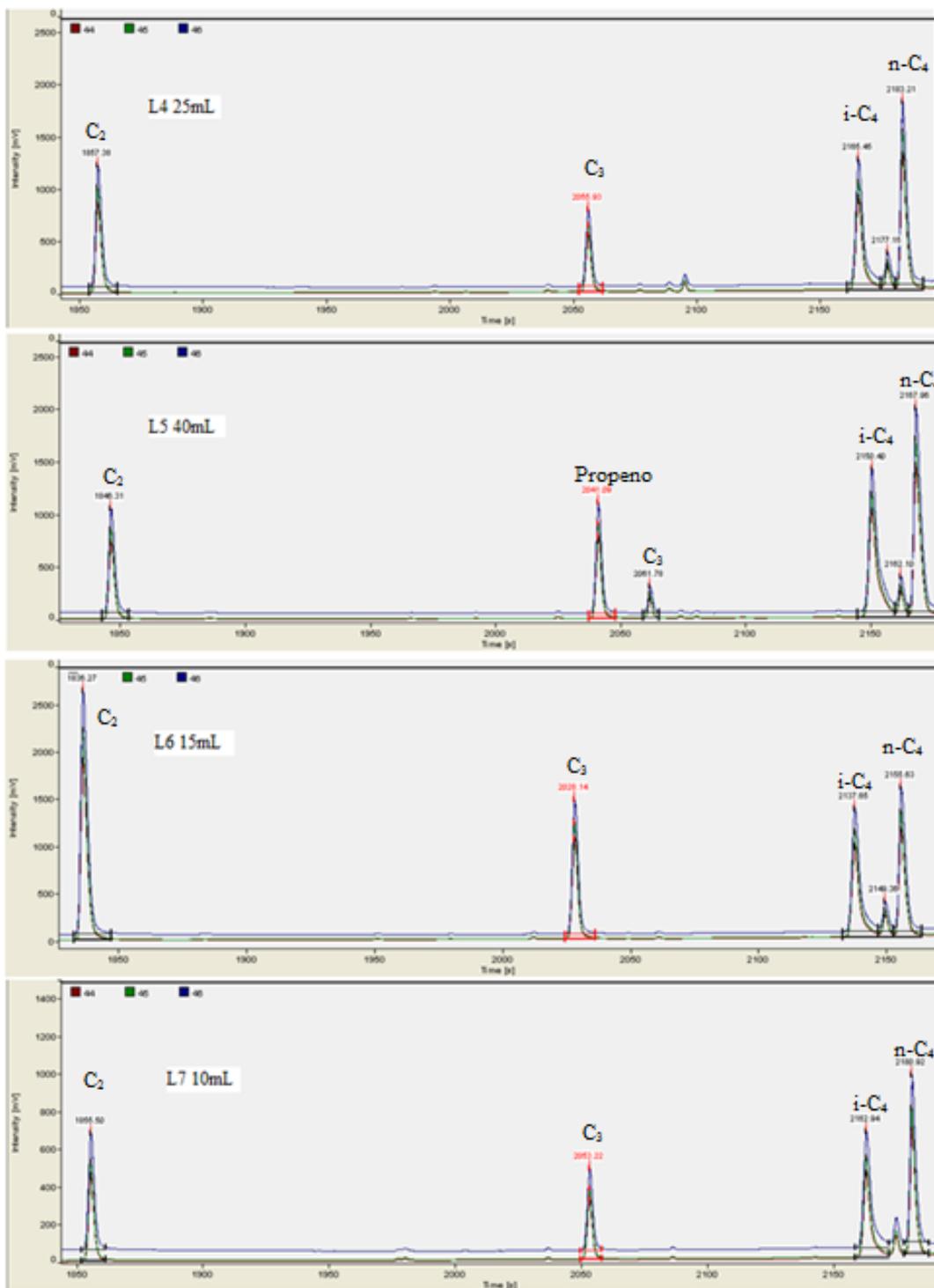


Figura 55 Determinação isotópica dos C_{2+} em amostras de sedimento (Isojar)

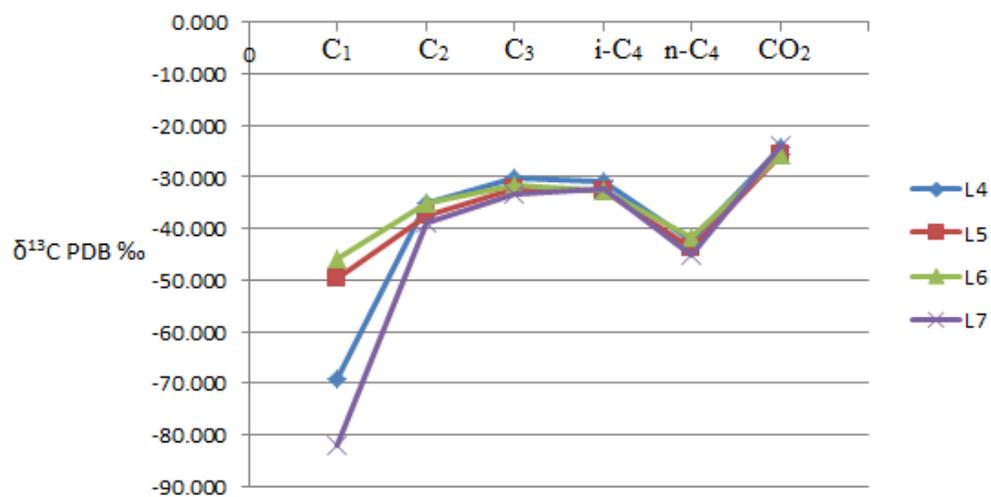


Figura 56 Composição isotópica $\delta^{13}\text{C}$ dos n-alcenos $\text{C}_1\text{-C}_5$ e do CO_2 em *headspace* de sedimentos (coletados no amostrador Isojar).