



CONDICIONAMENTO, CALIBRAÇÃO E ANÁLISE DE AMOSTRAS NO ANALISADOR ELEMENTAR ACOPLADO A ESPECTRÔMETRO DE MASSAS DE RAZÃO ISOTÓPICA

Bruno Varella Motta da Costa, Gilvan Takeshi Yogui

Para fins de referência, este documento pode ser citado como:

Costa, B.V.M.; Yogui, G.T. 2017. Condicionamento, calibração e análise de amostras no analisador elementar acoplado a espectrômetro de massas de razão isotópica. Procedimento Operacional Padrão OrganoMAR-2017-02, Revisão nº 1. Laboratório de Compostos Orgânicos em Ecossistemas Costeiros e Marinhos, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, 25p.

Os protocolos do OrganoMAR estão disponíveis na internet através do site
www.ufpe.br/organomar (clique em Publicações → Protocolos)



1 PROPÓSITO

- 1.1 Este documento descreve procedimentos para condicionamento, calibração e análise de amostras no analisador elementar acoplado ao espectrômetro de massas de razão isotópica (EA-IRMS). Tais procedimentos são rotineiramente utilizados no âmbito do Laboratório de Compostos Orgânicos em Ecossistemas Costeiros e Marinhos (OrganoMAR) do Departamento de Oceanografia (DOCEAN) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

2 SUMÁRIO DO PROCEDIMENTO

- 2.1 As análises de isótopos estáveis são realizadas no sistema de análise elementar acoplado a espectrometria de massas de razão isotópica (EA-IRMS). O sistema EA-IRMS tem capacidade para analisar 39 amostras por lote analítico, devendo ser previamente condicionado e calibrado para garantir a qualidade das determinações isotópicas. O condicionamento do sistema visa ajustar os parâmetros eletrônicos do instrumento analítico, bem como remover o excesso de ar atmosférico e umidade dentro do mesmo. A calibração avalia figuras de mérito como exatidão, precisão e linearidade. O lote de análise é composto por branco, material de referência e amostras.

3 DESCRIÇÃO DO SISTEMA EA-IRMS

- 3.1 Especificações do analisador elementar (em inglês, *Elemental Analyzer* - EA)
- 3.1.1 Marca: EuroVector
 - 3.1.2 Modelo: EA3000 Single
 - 3.1.3 Reator: reator cônico para análise de CHN
 - 3.1.4 Coluna cromatográfica: coluna empacotada para análise CHN
 - 3.1.5 Armadilha de água (10 mL) preenchida com perclorato de magnésio
 - 3.1.6 Temperatura máxima da fornalha: 1100 °C
 - 3.1.7 Temperatura máxima do forno da coluna cromatográfica: 190 °C
 - 3.1.8 Capacidade por lote de análise: 39 amostras
 - 3.1.9 Análise elementar: carbono e nitrogênio
- 3.2 Especificações do espectrômetro de massas de razão isotópica (em inglês, *Isotope Ratio Mass Spectrometer* - IRMS)



- 3.2.1 Marca: Thermo Scientific
- 3.2.2 Modelo: Delta V Advantage
- 3.2.3 Interface de fluxo contínuo, modelo ConFlo IV (em inglês, *Continuous Flow* - ConFlo)
- 3.2.4 Análise elementar e isotópica: carbono e nitrogênio
- 3.3 Especificações do nobreak
 - 3.3.1 Marca: CM Comandos
 - 3.3.2 Modelo: Dominion SP 8000
 - 3.3.3 Capacidade: 8 kVA
- 3.4 Especificações do compressor de ar
 - 3.4.1 Marca: Schulz
 - 3.4.2 Modelo: MSV 6/30

4 GASES, PADRÕES, SOLVENTES E MATERIAIS

- 4.1 Gases especiais e industriais
 - 4.1.1 Hélio 5.0
 - 4.1.2 Nitrogênio 5.0
 - 4.1.3 Dióxido de carbono 5.0
 - 4.1.4 Oxigênio 6.0
 - 4.1.5 Argônio 5.0
 - 4.1.6 Nitrogênio comercial/industrial (2.5 ou superior)
- 4.2 Materiais de referência e solventes
 - 4.2.1 Sedimento certificado para análises isotópicas de carbono e nitrogênio (IVA Analysentechnik; *sediment - high organic*; cód. IVA33802151)
 - 4.2.2 Sedimento certificado para análises elementares de carbono e nitrogênio (IVA Analysentechnik; *sediment - certified*; cód. IVA33802150)



- 4.2.3 Microalga certificada para análises elementares de carbono e nitrogênio (IVA Analysentechnik; *algae - Spirulina*; cód. IVA33802162)
- 4.2.4 Folha de vegetal superior certificada para análises elementares de carbono e nitrogênio (IVA Analysentechnik; *birch leaf*; cód. IVA33802166)
- 4.2.5 n-Hexano (CAS: 110-54-3; qualidade: UltimAR ou equivalente; Hexanes 95% n-hexane, Mallinckrodt Chemicals cód. H487 ou equivalente)
- 4.3 Listagem de materiais
 - 4.3.1 Lenço de papel macio
 - 4.3.2 Papel alumínio
 - 4.3.3 Placa multipoços
 - 4.3.4 Placa metálica com quatro poços
 - 4.3.5 Cápsula de estanho - 5 mm de diâmetro e 8 mm de altura (Elemental Microanalysis, cód. D1008 ou equivalente)
 - 4.3.6 Cápsula de estanho - 6 mm de diâmetro e 12 mm de altura (Elemental Microanalysis, cód. D1012 ou equivalente)
 - 4.3.7 Cápsula de prata - 5 mm de diâmetro e 8 mm de altura (Elemental Microanalysis, cód. D2030 ou equivalente)
 - 4.3.8 Pinça de ponta curva
 - 4.3.9 Microespátula (para destro e para canhoto)
 - 4.3.10 Pinça de ponta fina

5 CONDICIONAMENTO DOS EQUIPAMENTOS

5.1 Abertura das válvulas dos cilindros de gases especiais

- 5.1.1 Os cilindros utilizados nas análises no EA-IRMS estão localizados na casa de gases ao lado do LOQUIM (Laboratório de Oceanografia Química).
- 5.1.2 Abra a válvula dos cilindros de N₂, CO₂, O₂ e He conforme descrito no protocolo OrganoMAR-2013-01.



- 5.1.3 Para os cilindros de N₂ e CO₂, ajuste o manômetro de baixa pressão da central de gás para 5×10^2 kPa.
- 5.1.4 Em seguida, ajuste a pressão do regulador de posto (dentro do laboratório) para 4×10^2 kPa. Este segundo manômetro de baixa pressão encontra-se na sala onde está instalado o IRMS.
- 5.1.5 Para os cilindros de He e O₂, ajuste a pressão do regulador de posto (dentro do laboratório) para 4×10^2 kPa.
- 5.1.6 Verifique os manômetros localizados no ConFlo IV. As pressões de N₂, CO₂ e He devem ser 2, 1,8 e 1,2 bar, respectivamente.

5.2 Ligando o IRMS

- 5.2.1 Ligue o nobreak apertando o botão verde localizado em seu painel frontal.
- 5.2.2 Ligue o IRMS girando em $\frac{1}{4}$ de volta (no sentido horário) a chave de força (vermelha) localizada na parte traseira do equipamento.
- 5.2.3 Ligue as bombas principal e secundária apertando no botão "Pumps" localizado na parte superior do painel de controle do IRMS. Após ligá-las, monitore a cor das luzes da bomba secundária e do vácuo localizados na parte superior do painel de controle.
 - 5.2.3.1 A luz da bomba secundária inicialmente estará laranja, indicando que a bomba está funcionando, porém ainda não alcançou o estado de operação plena.
 - 5.2.3.2 A luz da bomba secundária ficará verde quando alcançar o estado de operação plena, que ocorre após cerca de 10 min. Se após este período a luz ficar vermelha algum problema técnico, defeito ou erro pode ter ocorrido. Consulte o manual do equipamento e, caso necessário, a assistência técnica especializada.
 - 5.2.3.3 A luz do vácuo monitora a intensidade do vácuo após início de operação das bombas. Quando a luz ficar verde, a intensidade do vácuo alcançou o valor definido na configuração (da ordem de 10^{-7} mbar).

5.3 Condicionamento do EA

- 5.3.1 Após ligar o IRMS, comece os procedimentos para condicionamento do EA.
- 5.3.2 Antes de ligar o EA, certifique-se que o reator e o perclorato de magnésio estão em boas condições para as análises.
- 5.3.3 Ligue o EA na parte traseira do equipamento.



- 5.3.4** O EA é controlado pelo programa Callidus (versão 5.1) instalado no computador. Este programa permite o condicionamento do equipamento e a aquisição e processamento dos resultados.
- 5.3.5** Ligue o computador e abra o programa Callidus. Na aba de monitoramento do instrumento, clique em "Operator" e, logo após, clique em "Log In". Digite na caixa "User Name" a expressão "EVR" e aperte OK. Este procedimento habilitará o programa.
- 5.3.6** Na aba de monitoramento do instrumento, clique em "Instrument" e, logo após, clique em "Settings". Clique na aba "Gas off - Leak Test – PM". Em seguida clique em "Set GAS ON". Após este comando, os componentes do EA serão pressurizados com He e a pressão interna será de 11 kPa.
- 5.3.7** Após pressurizar o EA, clique na aba "Instrument Set". Nesta aba é possível criar um método de análise ou escolher um método de análise salvo anteriormente. Para escolher um método previamente salvo clique em "Open". Inicialmente escolha o método intitulado "Limpeza CG" para condicionar a coluna cromatográfica. Após a seleção do método, clique em "Send" para que o EA seja condicionado conforme as definições deste método.
- 5.3.7.1** Os parâmetros definidos no método "Limpeza CG" são: pressão do gás de arraste (He) de 93 kPa; fluxo na purga de 80 mL min⁻¹; volume de oxigênio de 15 mL; diferença de pressão de oxigênio (ΔP_{O_2}) de 35 kPa; tempo de oxidação de 6,6 s; intervalo após término da corrida (sample delay) de 5 s; tempo da corrida de 160 s; temperatura da fornalha frontal de 980 °C; e temperatura do forno cromatográfico de 100 °C.
- 5.3.8** Na aba de monitoramento do instrumento, monitore a condição do EA. Durante o condicionamento, esta aba exibirá a mensagem "Conditioning". Ao final do período de condicionamento, a condição do equipamento será "Special". Esta condição indica que todos os parâmetros do método foram alcançados, porém o detector de condutividade térmica (TCD) está desligado.
- 5.3.8.1** Deixe o EA condicionando com o método "Limpeza CG" durante 24 h.
- 5.3.9** Após condicionamento do EA, escolha o método "IRMS" conforme procedimento descrito no item 5.3.7.
- 5.3.9.1** Os parâmetros definidos no método "IRMS" são: pressão do gás de arraste (He) de 93 kPa; fluxo na purga de 80 mL min⁻¹; volume de oxigênio de 15 mL; diferença de pressão de oxigênio (ΔP_{O_2}) de 35 kPa; tempo de oxidação de 6,6 s; intervalo após término da corrida (sample delay) de 5 s; tempo da corrida de 160 s; temperatura da fornalha frontal de 980 °C e temperatura do forno cromatográfico de 70 °C.

5.4 Abertura da válvula do IRMS



- 5.4.1** Ligue o computador que contém o programa para operação do IRMS. O IRMS é controlado pelo programa Isodat (versão 3.0). O Isodat permite o controle do IRMS através do módulo "Instrument Control", a aquisição de dados através do módulo "Acquisition" e a manipulação dos resultados através do módulo "Workspace".
- 5.4.2** Clique no ícone "Instrument Control" localizado na área de trabalho. Este ícone abrirá a área de comando do IRMS, que permite ao usuário condicionar o equipamento e escolher o tipo de análise a ser feita (isótopos de N ou C).
- 5.4.3** Após abrir o "Instrument Control", monitore a cor da luz "Connection", que está localizada na linha superior do painel de controle do IRMS. Esta luz estará inicialmente laranja, porém ficará verde após abertura do "Instrument Control".
- 5.4.4** Monitore o vácuo na área "MS", localizada na coluna "Accessories". Esta coluna localiza-se no lado esquerdo da janela e pode ser movimentada através da barra de rolamento. Com a válvula agulha fechada, o vácuo do sistema interno do IRMS deve estar na ordem de 10^{-8} mbar.
- 5.4.5** Durante o condicionamento do EA com o método "Limpeza CG", mantenha fechada a válvula agulha do IRMS para evitar a entrada de resíduos. Após 24 h de condicionamento do EA, prossiga para fazer o condicionamento do IRMS.
- 5.4.6** Posicione a seta do mouse sobre o valor reportado para o vácuo. Dessa forma, esse valor será exibido em tamanho maior. Mantenha a seta do mouse sobre o valor do vácuo.
- 5.4.7** Abra a válvula agulha girando delicadamente em $\frac{1}{4}$ de volta (no sentido anti-horário) o botão localizado na parte inferior do painel de controle do IRMS. Este botão abre e fecha a válvula agulha, controlando a entrada do gás de arraste na fonte de íons do IRMS.
- 5.4.7.1** Atenção! Enquanto gira o botão, monitore a intensidade do vácuo. Após abertura da válvula agulha, a intensidade do vácuo será reduzida para a ordem de 10^{-7} mbar.
- 5.4.8** Defina a diluição do fluxo que vem do EA para 98%. Nessa diluição de fluxo, uma parte do fluxo é desviada para a saída da interface (ConFlo IV) e a outra parte flui para o interior do IRMS misturada com He.
- 5.4.8.1** A diluição do fluxo do EA é feita na área "ConFlo IV Interface", localizada na coluna "Accessories". Para encontrar a área "ConFlo IV Interface" deslize a barra de rolamento para baixo.
- 5.4.8.2** Na área "ConFlo IV Interface", clique com o botão direito do mouse na caixa "Sample Dilution" e selecione "Edit". Apague o percentual exibido na tela e digite "98%", apertando a tecla "Enter" em seguida. Espere alguns segundos até que a intensidade elétrica reportada no coletor 3 seja estabilizada.



- 5.4.8.3** Se a intensidade no coletor 3 for maior que 1000 mV espere mais alguns minutos para redução do excesso de ar atmosférico no IRMS.
- 5.4.9** Após redução da intensidade medida no coletor 3, ligue a fonte de íons pressionando o ícone "Source On". Este ícone é representado por um círculo vermelho localizado na parte superior da coluna "Accessories".
- 5.4.10** Após ligar a fonte de íons, monitore a cor das luzes "Voltage" e "Emission" localizadas na linha intermediária do painel de controle do IRMS. Inicialmente essas luzes estarão na cor laranja, porém, após ligar a fonte de íons elas luzes deverão mudar para a cor verde.
- 5.4.11** Após as luzes mudarem para verde, observe a luz "Heater" localizada na linha intermediária do painel de controle do IRMS. Se esta luz estiver apagada, ligue os aquecedores da fonte de íons e do analisador de massas. Ligue-os na área "MS State", localizada na coluna "Accessories". Para ligar os aquecedores, clique com o mouse nos botões cinza ao lado de "Analyzer Heater" e "Src Heater". Esses botões deverão ficar na cor verde.
- 5.4.12** Após ligar os aquecedores, a luz "Heater" deverá ficar verde. Se esta luz permanecer apagada após clicar no botão "Src Heater", a lâmpada de halogênio deverá ser trocada.
- 5.4.13** Após 48 h de funcionamento, o "Analyzer Heater" será desligado e o correspondente botão localizado na área "MS State" mudará para cinza.
- 5.4.14** Os valores exibidos na área "MS" para a alta voltagem (High Voltage [kV]) e para o campo magnético (Magnet [Steps]) dependem do gás que será analisado (N₂ ou CO₂).
- 5.4.15** Os valores exibidos nas caixas "Box" e "Trap", localizadas na área "MS", equivalem a correntes elétricas (em mA) aplicadas para emissão e captura de elétrons na fonte de íons, respectivamente. A proporção entre a corrente aplicada no "Box" e no "Trap" deve ser menor ou igual a 1. Desvios nessa razão indicam problemas no filamento.
- 5.4.16** Após esta sequência de procedimentos, o IRMS está pronto para a realização do seu condicionamento.

5.5 Monitoramento de background no IRMS

- 5.5.1** O monitoramento do background deve ser realizado para avaliar possível entrada de ar atmosférico e umidade presentes no sistema EA-IRMS. Os locais mais prováveis para entrada de ar atmosférico encontram-se no EA. Por isso, testes devem ser conduzidos para encontrar esses locais em caso de vazamento.



- 5.5.2** O monitoramento de background no IRMS utiliza três massas como indicadoras de entrada de ar atmosférico e umidade no sistema. A massa 18 equivale à molécula de água (H_2O) e indica umidade presente no sistema. As massas 32 e 40 equivalem às moléculas de oxigênio (O_2) e argônio (Ar), respectivamente.
- 5.5.3** A intensidade elétrica produzida pela massa 18 deve estar entre 3000 e 6000 mV. A intensidade elétrica produzida pela massa 32 deve ser menor que 6000 mV. A intensidade elétrica produzida pela massa 40 deve ser menor que 180 mV. Dessa forma, deve ser feito o monitoramento da intensidade elétrica das massas 18, 32 e 40, nesta ordem.
- 5.5.4** Na área "MS", localizada na coluna "Accessories", clique com o botão direito do mouse na massa que representa o coletor intermediário no IRMS. Escolha a opção "Jump to Mass" e insira na caixa "Set Mass" a massa cuja intensidade elétrica necessita ser monitorada.
- 5.5.5** Faça o *peak center* clicando no ícone "Center Scan", localizado na parte superior da coluna "Accessories". O ícone "Center Scan" é representado por uma curva gaussiana com uma seta vermelha na vertical. O "Center Scan" definirá o valor da alta voltagem (High Voltage [kV]) que deve ser aplicado para obtenção da máxima intensidade elétrica (mV) no coletor intermediário.
- 5.5.6** Após fazer o *peak center*, zere a diluição com He do fluxo proveniente do EA. A diluição do fluxo do EA é feita na área "ConFlo IV Interface", que se localiza na coluna "Accessories". Para encontrar a área "ConFlo IV Interface" deslize a barra de rolamento para baixo.
- 5.5.7** Na área "ConFlo IV Interface", clique com o botão direito do mouse na caixa "Sample Dilution" e selecione "Edit". Apague o percentual apresentado e digite "0%", pressionando a tecla "Enter" em seguida. Espere alguns segundos até que a intensidade elétrica reportada no coletor 3 seja estabilizada.
- 5.5.8** Registre a intensidade elétrica para a respectiva massa no livro "Registros de Operação e Manutenção do EA-IRMS".
- 5.5.9** Após registrar a intensidade elétrica para a primeira massa, repita o procedimento descrito no item 5.5.4 e escolha a nova massa a ser monitorada. Repita os procedimentos descritos entre os itens 5.5.5 e 5.5.8 até finalizar o monitoramento do background.
- 5.5.10** Se a intensidade elétrica para a massa 40 for menor que 180 mV prossiga com o condicionamento do IRMS.
- 5.5.11** Se a intensidade elétrica para a massa 40 for maior que 180 mV procure os prováveis locais de entrada de ar atmosférico no sistema segundo as instruções descritas no item 5.6.



5.6 Localização de vazamento (entrada de ar atmosférico)

- 5.6.1 Os prováveis locais no EA para entrada de ar atmosférico estão ilustrados no Apêndice deste protocolo (ver item 10).
- 5.6.2 Para identificar o local da entrada de ar atmosférico, defina a massa 40 no coletor intermediário de acordo com as instruções descritas nos itens 5.5.4 e 5.5.5.
- 5.6.3 No menu do "Instrument Control", clique em "Scan" e depois em "Start". Este comando possibilitará o monitoramento e registro da intensidade elétrica da massa 40 em tempo real.
- 5.6.4 Em cada local ilustrado no apêndice deste protocolo, borrife um pequeno volume de argônio e espere cerca de 70 s, acompanhando nesse período de tempo a intensidade elétrica da massa 40 no painel de monitoramento do "Instrument Control".
- 5.6.5 Após borrifar o argônio, no local onde houver entrada de ar atmosférico será registrado um pico de intensidade elétrica no painel de monitoramento do "Instrument Control".
- 5.6.6 Quando localizar o local de entrada de ar atmosférico, clique em "Stop" para interromper o monitoramento da intensidade elétrica.
- 5.6.7 Faça a limpeza necessária ou aperte os encaixes e roscas para impedir a entrada de ar atmosférico no sistema. Registre esses procedimentos no livro "Registros de Operação e Manutenção do EA-IRMS" juntamente com o monitoramento do background.
- 5.6.8 Após efetuar a(s) medida(s) corretiva(s), espere alguns minutos e repita o monitoramento da intensidade elétrica para a massa 40 conforme as instruções descritas nos itens 5.5.4 e 5.5.5.
- 5.6.9 Se a intensidade elétrica da massa 40 for menor que 180 mV prossiga com o condicionamento do IRMS.

5.7 Autofocalização

- 5.7.1 A focalização das lentes do IRMS permite o melhor ajuste das voltagens das mesmas de forma a se obter a maior intensidade elétrica das massas de N₂ e CO₂ nos coletores. Esse procedimento é necessário para manter a linearidade do IRMS, de forma que a razão isotópica não varie em função da intensidade elétrica.
- 5.7.2 A focalização das lentes é realizada utilizando o comando "Autofocus", que automaticamente ajusta os potenciais das lentes de forma a se obter a maior intensidade elétrica possível. Os potenciais das lentes estão apresentados na área "Focus Delta", localizada na coluna "Accessories".



- 5.7.3** Na barra de condição do "Instrument Control", escolha o gás de interesse (N_2 ou CO_2). A barra de condição está localizada na parte inferior do "Instrument Control".
- 5.7.4** Faça o *peak center* conforme descrito no item 5.5.5.
- 5.7.5** Na área "ConFlo IV Interface", clique com o botão direito do mouse na caixa "Reference Dilution" e selecione "Edit". Apague o percentual apresentado e digite "0%", pressionando a tecla "Enter" em seguida.
- 5.7.6** Clique com o botão direito do mouse na área "Focus Delta" e selecione "Autofocus". Esse comando abrirá a caixa "Isodat Object – Auto Focus Delta". Na seção "Variable Potentials", observe se as variáveis "Accelerating Voltage", "Electron Energy", "Emission" e "Trap" estão desabilitadas. Caso não estejam, desmarque-as clicando na caixa ao lado dessas variáveis.
- 5.7.7** Confira se as variáveis "X-Deflection", "Focus Voltage", "Extraction Voltage", "Y-Defl. Voltage", "Focus Symmetry", "Extraction Symmetry" e "Y-Defl. Symmetry" estão selecionadas. Caso não estejam, selecione-as.
- 5.7.8** Aperte "OK". Esse comando iniciará a focalização automática das lentes.
- 5.7.9** Na barra de condição do "Instrument Control" acompanhe o progresso da focalização das lentes. A focalização foi bem sucedida quando o ganho na intensidade elétrica ("Intensity Improvement") for menor que 200 mV.
- 5.7.10** Após focalização satisfatória, clique com o botão direito do mouse na área "Focus Delta" e selecione "Pass to Gasconfiguration". Este comando gravará os potenciais aplicados em cada lente para as futuras análises.
- 5.7.11** Se o ganho na intensidade for maior que 200 mV faça o *peak center* conforme descrito no item 5.5.5 e, posteriormente, refaça a focalização até que o ganho seja menor que 200 mV.
- 5.7.12** A focalização das lentes deve ser feita após quedas de energia e desligamento do IRMS.

5.8 Calibração do ConFlo IV

- 5.8.1** A calibração do ConFlo IV permite analisar a intensidade elétrica (mV) dos gases de referência (N_2 e CO_2) e a redução da intensidade proporcionalmente à diluição com He para uma determinada pressão no ConFlo (por exemplo, pressão de 2 bar para N_2 e CO_2).
- 5.8.2** Na área "ConFlo IV Interface", clique com o botão direito do mouse e selecione "Determine Reference Gas Dilution". Clique em "Yes" para confirmar esse comando e acompanhe o progresso da calibração na barra de condição do "Instrument Control". A calibração dura aproximadamente 12 minutos.



5.8.3 Após finalizar a calibração do ConFlo IV, clique com o botão direito do mouse na área "ConFlo IV Interface" e selecione "Show Reference Gas Dilution". Esse comando exibirá as diluições no fluxo do respectivo gás de referência e a redução proporcional da intensidade elétrica.

5.8.4 A calibração do ConFlo IV deve ser feita nos seguintes casos: (1) após a focalização das lentes do IRMS; (2) após alteração da pressão nos manômetros localizados no ConFlo; ou (3) quando houver variação no sinal durante as análises.

5.9 Corridas de zero

5.9.1 As corridas de zero condicionam o IRMS para posterior análise de amostras. Essas corridas retiram o excesso de ar atmosférico e umidade de dentro do IRMS.

5.9.2 Na área de trabalho, clique no ícone "Acquisition". Através desse programa é possível criar métodos e sequências de análise para as amostras.

5.9.3 Na barra de condição do "Acquisition" escolha primeiramente o gás de referência N₂ e faça o *peak center* conforme descrito no item 5.5.5.

5.9.4 Na área "File Browser", localizada na coluna "Accessories", escolha a aba "Sequences". Nesta aba estão gravados vários arquivos com sequências de análise pré-estabelecidas.

5.9.5 Escolha o arquivo "ZERO_N2.seq" para fazer as corridas de zero com N₂. Abra o arquivo clicando duas vezes com o botão esquerdo do mouse sobre o mesmo.

5.9.6 Após abrir o arquivo, será exposta a tabela de sequência das análises das corridas de zero. Clique no ícone "Start", localizado na parte superior da tabela. Após clicar nesse ícone será aberta a caixa "Start Sequence".

5.9.7 Na seção "Results", clique no ícone "Choose File" para escolher o local no qual serão armazenados os resultados. O ícone "Choose File" é representado por uma pasta amarela.

5.9.8 Escolha a pasta "Análise_ZERO_N2" e pressione "OK".

5.9.9 Na caixa "File Name", nomeie os arquivos com os resultados de cada corrida. O nome do arquivo deve ser "ZERO_N2_ddmm", onde "dd" é o dia e "mm" é o mês da análise.

5.9.10 Certifique-se que a caixa "Auto Enum" (numeração automática dos arquivos) está selecionada. Caso não esteja, selecione-a.

5.9.11 Pressione "OK" e este comando iniciará as corridas de zero. Serão realizadas 10 corridas de zero, cada qual com 10 pulsos de N₂ provenientes do cilindro de referência.



5.9.12 Após finalizar as corridas de zero com N_2 , escolha o gás de referência CO_2 na barra de condição do IRMS e faça o *peak center* conforme descrito no item 5.5.5.

5.9.13 Faça as corridas de zero com o CO_2 conforme instruções descritas entre os itens 5.9.4 e 5.9.11, porém escolha o arquivo "ZERO_CO2.seq" para fazer essas corridas. Utilize a pasta "Análise_ZERO_CO2" para salvar os arquivos e nomeie-os da seguinte forma: "ZERO_CO2_ddmm", onde "dd" é o dia e "mm" é o mês da análise.

5.10 Análise dos resultados das corridas de zero

5.10.1 Para analisar os resultados das corridas de zero clique no ícone "Workspace", localizado na área de trabalho. Neste programa será realizada a análise da precisão das corridas de zero.

5.10.2 Na área "File Browser", localizada na coluna "Accessories", selecione a aba "Results". Abra a pasta "Análise_ZERO_CO2" para analisar as corridas com CO_2 ou a pasta "Análise_ZERO_N2" para analisar as corridas com N_2 .

5.10.3 Abra os arquivos com os resultados das corridas realizadas no dia da análise. Devem ser abertos 10 arquivos para cada gás de referência, cada arquivo equivalendo ao resultado de uma corrida com 10 pulsos do gás de referência.

5.10.4 Em cada arquivo aberto, clique com o botão esquerdo do mouse sobre a coluna de resultados "d13C/12C [per mil] vs. VPDB" para analisar as corridas com CO_2 ou "d15N/14N [per mil] vs. Air-N2" para analisar as corridas com N_2 . Todos os valores contidos na coluna selecionada devem ser destacados em azul após essa seleção.

5.10.5 Após seleção da coluna, clique com o botão direito do mouse sobre a mesma e selecione "Calculate". Este comando apresentará a estatística descritiva do conjunto de valores selecionados.

5.10.6 Analise em cada arquivo o desvio padrão dos valores delta. Ao longo das 10 corridas de zero o desvio padrão deve reduzir. Na décima corrida, o desvio padrão dos valores de delta deve ser menor que 0,06%.

5.10.7 Se na décima corrida o desvio padrão para um determinado gás de referência não for menor que 0,06%, refaça as corridas de zero para o respectivo gás conforme descrito no item 5.9.

5.11 Teste de linearidade

5.11.1 A linearidade do IRMS é a manutenção da razão isotópica com variações na intensidade elétrica obtida para cada isótopo.

5.11.2 Para fazer o teste da linearidade abra o programa "Acquisition".



- 5.11.3** Na barra de condição do "Acquisition", selecione o CO₂ como primeiro gás de referência a ser analisado e faça o *peak center* conforme descrito no item 5.5.5.
- 5.11.4** Na área "File Browser", escolha a aba "Sequences" e, logo após, abra o arquivo "LINEARIDADE_CO2.seq". Este comando abrirá a tabela de sequência para a análise da linearidade do CO₂.
- 5.11.5** Na tabela de sequência, procure a coluna "Identifier 2" na qual se encontra digitado "ddmm". Substitua as letras "dd" pelo dia da análise e as letras "mm" pelo mês da análise.
- 5.11.6** Após substituir as letras, clique em "Start". Este comando abrirá a caixa "Start Sequence".
- 5.11.7** Na seção "Results", clique no ícone "Choose File" para escolher a pasta em que serão armazenados os resultados. Esse ícone é representado por uma pasta amarela.
- 5.11.8** Escolha a pasta "Linearidade" e pressione "OK".
- 5.11.9** Ainda na seção "Results", clique em "Pre" e selecione a caixa "Identifier 1", pressionando "OK" em seguida. Logo após, clique em "Pos" e selecione a caixa "Identifier 2", pressionando "OK" em seguida. Delete o nome "Acquisition" na caixa "File Name".
- 5.11.10** Pressione "OK" e será iniciado o teste de linearidade do CO₂. Após finalizar o teste de linearidade do CO₂, faça o teste de linearidade do N₂.
- 5.11.11** Na barra de condição do "Acquisition", selecione o N₂ e faça o *peak center* conforme descrito no item 5.5.5.
- 5.11.12** Repita o procedimento descrito no item 5.11.4 escolhendo, entretanto, o arquivo "LINEARIDADE_N2.seq".
- 5.11.13** Repita os procedimentos descritos entre os itens 5.11.5 e 5.11.10 e espere o término do teste de linearidade do N₂.

5.12 Análise dos resultados do teste de linearidade

- 5.12.1** Para analisar os resultados dos testes de linearidade clique no ícone "Workspace" localizado na área de trabalho.
- 5.12.2** Na área "File Browser", localizada na coluna "Accessories", selecione a aba "Results". Abra a pasta "Linearidade".



- 5.12.3** Clique com o botão direito do mouse sobre o arquivo com os resultados do teste de linearidade do CO₂ (ou N₂) no dia desejado e selecione "Re-Process". Esse comando abrirá a caixa "Re-Process" e permitirá escolher o modelo para exportar os resultados para o Excel.
- 5.12.4** Na caixa "File Name" nomeie o arquivo do Excel conforme a seguir: "Linearidade_CO2_ddmm.xls" ou "Linearidade_N2_ddmm.xls", substituindo as letras "dd" pelo dia do teste e as letras "mm" pelo mês do teste.
- 5.12.5** Clique em "Add" para escolher o modelo para exportação dos resultados. Esse comando abrirá a caixa "Open". Escolha o arquivo "Linearidade.wke" e clique em "Open". Clique em seguida em "OK". No caso da linearidade do CO₂, as seguintes informações serão exportadas para o arquivo Excel: número do pico (Peak Nr), intensidade elétrica da massa 44 em mV (Ampl 44) e valor delta (d13C/12C). No caso da linearidade do N₂, as seguintes informações serão exportadas para o arquivo Excel: número do pico (Peak Nr), intensidade elétrica da massa 28 em mV (Ampl 28) e valor delta (d15N/14N).
- 5.12.6** O arquivo Excel será armazenado na pasta "Linearidade". O caminho especificado para essa pasta é "C:\Thermo\Isodat NT\Global\User\Conflo IV Interface\TC EA Device\Results".
- 5.12.7** Abra o arquivo Excel. Transforme a intensidade elétrica das massas 28 (ou 44) de mV para V. Após essa transformação, faça uma análise de regressão linear da razão isotópica (variável dependente) em função da intensidade elétrica (variável independente). Analise o coeficiente de inclinação da reta (b) contido na equação da reta ($y = a + bx$).
- 5.12.8** Se os coeficientes de inclinação da reta para cada gás de referência forem menores que 0,06‰/V, os testes de linearidade apresentaram resultados satisfatórios. Se esses coeficientes forem maiores que 0,06‰/V, então os testes de linearidade devem ser refeitos.
- 5.12.9** Antes de refazer o teste de linearidade faça novas corridas de zero conforme descrito no item 5.9 e faça novamente a autofocalização das lentes conforme descrito no item 5.7.

6 CALIBRAÇÃO DOS GASES DE REFERÊNCIA

6.1 Limpeza dos materiais

- 6.1.1** Limpe a bancada com um lenço de papel macio e cubra-a com uma folha de papel alumínio. Todos os procedimentos posteriores devem ser feitos sobre essa folha de papel alumínio.



- 6.1.2** Lave com solvente orgânico (por exemplo, n-hexano) as microespátulas e as pinças metálicas. Essa limpeza é necessária para que nenhuma massa residual seja inserida nas cápsulas de estanho. Após limpá-las, coloque-as sobre a folha de papel alumínio.
- 6.1.3** Limpe a placa multipoços, a placa metálica e o carrossel do EA com um jato de N₂ comercial. Após essa limpeza, coloque a placa multipoços sobre o papel alumínio e o carrossel de volta no EA.

6.2 Pesagem dos materiais de referência

- 6.2.1** O material de referência *Sediment (High Organic)* é utilizado para calibração dos gases de referência (CO₂ e N₂). Seus valores certificados são $\delta^{13}\text{C} = -26\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = +4,5\text{‰}$.
- 6.2.2** Utilizando a pinça de ponta curva, coloque 10 cápsulas de estanho (5 mm de diâmetro e 9 mm de altura) na placa multipoços.
- 6.2.3** Coloque uma cápsula sobre o prato da balança microanalítica e tare-a.
- 6.2.4** Utilizando a microespátula, pese na cápsula aproximadamente 6 mg do material de referência - *Sediment (High Organic)*.
- 6.2.5** Retire a cápsula da balança com a pinça de ponta curva e embrulhe-a utilizando duas pinças de ponta fina. Em seguida, coloque-a novamente na balança para conferir o peso da amostra.
- 6.2.5.1** Caso ache necessário, utilize a placa metálica para apoiar a cápsula de estanho antes de embrulhá-la.
- 6.2.6** Após conferência, registre a massa da amostra no devido lote de análise do livro "Calibração de Cilindros de Gases Especiais". Atribua à amostra um código de identificação (CQXXXXX) retirado do livro de identidades "Controle de Qualidade".
- 6.2.7** Repita os procedimentos descritos entre os itens 6.2.3 e 6.2.6 para pesagem das demais amostras do material de referência certificado.

6.3 Análise dos materiais de referência

- 6.3.1** Antes de iniciar a análise dos materiais de referência, certifique-se que os cilindros estão abertos e faça o condicionamento do EA conforme descrito no item 5.3.
- 6.3.2** Após condicionamento do EA, abra o sistema do IRMS conforme descrito no item 5.4.
- 6.3.3** Monitore o background no IRMS conforme descrito no item 5.5 e após isso faça as corridas de zero conforme descrito no item 5.9.



- 6.3.4** Abra o "Acquisition". Na coluna "Accessories", procure a área "File Browser" deslizando a barra de rolamento para baixo. Na aba "Sequence", abra o arquivo "CILINDRO_CALIBRAÇÃO.seq" clicando duas vezes com o botão esquerdo do mouse sobre o arquivo. Esse comando abrirá a tabela de sequência para as corridas de calibração dos gases de referência.
- 6.3.5** Na coluna "Identifier 1", escreva o código de identificação (CQXXXXX) atribuído a cada amostra de material de referência.
- 6.3.6** Com auxílio da pinça de ponta curva, coloque as 10 amostras encapsuladas no carrossel do EA conforme a ordem estabelecida na tabela de sequência da análise.
- 6.3.7** Clique no ícone "Start", localizado na parte superior da tabela de sequência. Esse comando abrirá a caixa "Start Sequence".
- 6.3.8** Na caixa "Folder Name", digite o nome da pasta na qual ficarão armazenados os resultados das corridas. O nome da pasta equivale ao número do lote de análise contido no livro de registro "Calibração de Cilindros de Gases Especiais". O nome da pasta será "CC-XXX", onde "XXX" representa o número do lote de análise.
- 6.3.9** Na caixa "File Name", clique em "Pre" e selecione "Identifier 1" clicando com o botão esquerdo do mouse sobre a caixa ao lado dessa expressão. Delete qualquer nome que estiver escrito na caixa "File Name". Pressione "OK" após selecionar a caixa. Certifique-se que a caixa "Auto Enum" está selecionada. Pressione "OK" e as corridas de calibração dos cilindros serão iniciadas.

6.4 Processamento dos resultados da análise dos materiais de referência

- 6.4.1** Após término da análise dos materiais de referência, abra o "Workspace" para processar os resultados das corridas. Na área "File Browser", localizada na coluna "Accessories", clique na aba "Results" e localize a pasta criada no item 6.3.8. Abra a pasta clicando duas vezes com o botão esquerdo do mouse sobre seu nome.
- 6.4.2** Abra os arquivos contendo os resultados das análises dos materiais de referência das amostras 4 a 8 (total de 5 arquivos). Em cada arquivo o procedimento descrito a seguir deve ser feito para processar os resultados e obter o $\delta^{13}\text{C}$ médio do gás de referência CO_2 e o $\delta^{15}\text{N}$ médio do gás de referência N_2 .
- 6.4.2.1** As três primeiras amostras do material de referência não devem ser utilizadas para obtenção dos valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ dos gases de referência. Essas amostras iniciais devem ser utilizadas para condicionar o reator do EA, removendo resíduos orgânicos presentes no mesmo.
- 6.4.3** Em cada arquivo aberto clique em "Edit Method", cujo ícone está localizado na parte superior do menu do "Workspace". Esse ícone abrirá a caixa "Evaluation Parameter", onde estão registrados os parâmetros utilizados no método de análise.



- 6.4.4** Clique primeiramente na aba "Evaluation@N2" e localize a caixa com informações sobre o tempo de retenção (em inglês *Retention Time*, Rt[s]) e o valor delta ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$). Na caixa do tempo de retenção ("Ref. Time") digite o tempo de retenção do N_2 proveniente do EA. Na caixa " $\delta^{15}\text{N}$ " digite o valor delta do nitrogênio especificado no certificado do material de referência ($\delta^{15}\text{N} = +4,5\%$).
- 6.4.4.1** O Rt[s] do N_2 proveniente do EA está localizado na aba "N2", que está inserida na caixa de resultados. A caixa de resultados está localizada abaixo do cromatograma.
- 6.4.5** Após fazer esse processamento para o N_2 , clique na aba "Evaluation@CO2" e localize a caixa com informações sobre o tempo de retenção e o valor delta ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$). Na caixa "Ref. Time" digite o tempo de retenção do CO_2 proveniente do EA. Na caixa " $\delta^{13}\text{C}$ " digite o valor delta do carbono especificado no certificado do material de referência ($\delta^{13}\text{C} = -26\%$).
- 6.4.5.1** O Rt[s] do CO_2 proveniente do EA está localizado na aba "CO2", que está inserida na caixa de resultados. A caixa de resultados está localizada abaixo do cromatograma.
- 6.4.6** Clique em "OK" após terminar esse processamento. No menu do "Workspace", clique em "Start Re-Evaluation", cujo ícone é uma bandeira amarela. Esse comando calculará os deltas dos picos dos gases de referência relativamente ao valor especificado para o pico do padrão.
- 6.4.7** Repita os procedimentos descritos entre os itens 6.4.2 e 6.4.6 para reprocessar os demais arquivos das análises dos materiais de referência.
- 6.4.8** Selecione os 5 arquivos com os resultados das análises do material de referência. Para selecioná-los, clique com o botão direito do mouse sobre o primeiro arquivo para destacá-lo em azul. No teclado do computador, aperte a tecla "Shift" e com a seta para baixo selecione todos os arquivos restantes.
- 6.4.9** Após selecionar todos os arquivos, clique com o botão esquerdo do mouse sobre a coluna em destaque e selecione "Re-Process". Esse comando abrirá a caixa "Re-Process" e permitirá escolher o formato para exportação dos resultados (por exemplo, para o Excel utiliza-se a extensão .xls).
- 6.4.10** Na caixa "File Name", especifique o nome do arquivo Excel com o código de identificação do lote de análise (isto é, CC-XXX). Após definir o nome do arquivo, clique em "Add" para escolher o modelo de exportação dos resultados. Selecione o modelo com nome "CALIBRAÇÃO" e clique em "Open". Na caixa "Export Template" aparecerá o arquivo "Calibração.wke". Clique em "OK" para iniciar a exportação dos resultados no modelo do Excel.



- 6.4.11** O arquivo Excel será armazenado na pasta definida no item 6.3.8. O caminho especificado para esta pasta é "C:\Thermo\Isodat NT\Global\User\Conflo IV Interface\TC EA Device\Results\CC-XXX", onde "XXX" corresponde ao número do lote analítico.
- 6.4.12** Abra o arquivo exportado no item 6.4.10 e localize as colunas com os resultados de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$. Destaque os resultados reportados para o segundo pulso de referência de N_2 e CO_2 .
- 6.4.13** Calcule a média e o desvio padrão para o conjunto de valores $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$. Se o desvio padrão desses conjuntos de dados for menor que 0,5%, as análises do material de referência apresentaram resultados satisfatórios. As razões isotópicas dos gases de referência serão as médias reportadas para o $\delta^{15}\text{N}$ e para o $\delta^{13}\text{C}$.
- 6.4.13.1** Caso o desvio padrão dos valores delta seja maior que 0,5%, insira os resultados obtidos nas análises das duas últimas amostras do material de referência, após reprocessamento dos resultados conforme descrito entre os itens 6.4.2 e 6.4.6. Dessa forma, serão analisados os resultados dos materiais de referências inseridos entre a quarta e a décima posição.
- 6.4.13.2** Caso venha a utilizar os resultados obtidos nas análises dessas duas últimas amostras do material de referência, pese em cápsulas de estanho mais duas amostras desse material de referência conforme descrito no item 6.2.
- 6.4.14** Após o cálculo das médias, no menu do "Workspace" clique no ícone "Editors" (representado por um lápis) e selecione "Standard Editors". Esse comando abrirá uma tabela com valores delta definidos para diferentes gases de referência.
- 6.4.15** Procure as linhas nas quais estão definidos os valores delta para os cilindros de N_2 e CO_2 . Na coluna "Value", digite as médias calculadas para cada um dos gases. Após digitar esses valores, clique em "Save & Close".
- 6.4.16** Após inserir os valores delta médios nas configurações do Isodat, faça a confirmação dos valores delta reportados para os gases de referência. Essa conferência será feita utilizando os resultados das duas últimas amostras analisadas (isto é, amostras 9 e 10).
- 6.4.17** Em cada arquivo repita o procedimento descrito no item 6.4.3. Na aba "Evaluation@N2" localize a coluna "Ref. Name", que define a referência a ser utilizada no cálculo do valor delta. Selecione como referência o cilindro de N_2 por meio da escolha da expressão "N2 Lab. Tank". Repita esse mesmo procedimento para o CO_2 na aba "Evaluation@CO2". Clique em "OK" após terminar esse processamento e logo após clique em "Start Re-Evaluation".



- 6.4.18** Após repetir o procedimento descrito no item 7.2.3.17 para os dois arquivos, selecione-os e exporte os resultados para o Excel conforme descrito entre os itens 6.4.9 e 6.4.11. Calcule os valores delta médios e os desvios padrão para o conjunto de dados do $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ conforme descrito nos itens 6.4.12 e 6.4.13. Calcule a exatidão desse valor médio conforme descrito no protocolo OrganoMAR-2017-03, bem como seu respectivo desvio padrão. Se a exatidão da análise estiver entre 90 e 110% e o desvio padrão for menor que 0,5‰, então o resultado médio das análises dos materiais de referência foi satisfatório.
- 6.4.19** Caso o resultado médio da análise de confirmação não seja satisfatório, analise mais duas amostras com material de referência conforme descrito no item 6.3 e recalcule a exatidão e precisão do valor médio conforme descrito no item 6.4.18.

7 ANÁLISE DE AMOSTRAS

7.1 Preparação do lote de análise de amostras

- 7.1.1** Um lote de análise consiste de 39 cápsulas, sendo: 1 branco, 4 réplicas do material de referência e 34 amostras.
- 7.1.1.1** O material de referência é escolhido em função do tipo de amostra a ser analisada no lote analítico. Para escolha do material de referência consulte o protocolo OrganoMAR-2017-03.
- 7.1.2** Para cada lote de análise será atribuído um código proveniente do livro de registros "Análise Elementar e Razão Isotópica". Esse código é formado por EA-XXXX, onde "XXXX" é o número do lote de análise.
- 7.1.3** Antes de pesar as amostras do lote de análise, limpe os materiais a serem utilizados conforme descrito no item 6.1.
- 7.1.4** Embrulhe a cápsula do branco conforme descrito no item 6.2.5. Pese o material de referência conforme descrito no item 6.2.
- 7.1.5** Após embrulhar a cápsula do branco e as cápsulas com o material de referência, coloque cada uma delas em um poço da placa multipoços. Atribua a cada uma dessas cápsulas um código identificador do controle de qualidade (CQXXXXX), registrando-o na linha apropriada da página do lote analítico no livro de registros "Análise Elementar e Razão Isotópica". Para atribuir o código de identificação da amostra, consulte o livro de identidades "Controle de Qualidade".
- 7.1.6** Após encapsular as amostras coloque cada uma delas em um poço da placa multipoços. Na página do lote analítico no livro de registros "Análise Elementar e Razão Isotópica", insira o código de identificação de cada amostra armazenada na placa multipoços.



7.2 Corridas do lote de análise

- 7.2.1** Antes de fazer as corridas do lote de análise, certifique-se que os cilindros estão abertos e faça o condicionamento do EA conforme descrito no item 5.3.
- 7.2.2** Após condicionamento do EA, abra o sistema do IRMS conforme descrito no item 5.4.
- 7.2.3** Monitore o background no IRMS conforme descrito no item 5.5 e após isso faça as corridas de zero conforme descrito no item 5.9. Registre o monitoramento do background no livro “Registros de Operação e Manutenção do EA-IRMS”.
- 7.2.4** Abra o "Acquisition". Na coluna "Accessories" procure a área "File Browser" deslizando a barra de rolamento para baixo. Na aba "Sequence", abra o arquivo "LOTE_ANALISE.seq" clicando duas vezes com o botão esquerdo do mouse sobre o arquivo. Esse comando abrirá a tabela de sequência para a corrida de amostras.
- 7.2.5** Na tabela de sequência, localize a coluna "Identifier 1" que identifica cada uma das amostras inseridas no carrossel do EA. Insira o código identificador de cada material de referência (CQXXXXX) e amostra a ser analisada (OMXXXXX).
- 7.2.6** Na coluna "Method", selecione o método a ser utilizado na análise de cada material de referência e amostra. Para selecionar o método, clique com o mouse na seta localizada em cada caixa da coluna "Method".
- 7.2.6.1** O primeiro material de referência inserido na tabela de sequência deve ser classificado como "Reference". Para definir essa classificação, clique com o mouse na seta localizada na coluna "Sample" e selecione o item "Reference".
- 7.2.6.2** Para escolha do método de análise de amostras ambientais, consulte o protocolo OrganoMAR-2017-03.
- 7.2.7** Após inserir os devidos códigos identificadores (OMXXXXX e CQXXXXX) e escolher os métodos de análise, clique no ícone "Start" localizado na parte superior da tabela de sequência. Esse comando abrirá a caixa "Start Sequence".
- 7.2.8** Na caixa "Folder Name", digite o nome da pasta na qual ficarão registrados os resultados das corridas. O nome da pasta equivale ao número do lote de análise contido no livro de registro “Análise Elementar e Razão Isotópica”. O nome da pasta será EA-XXXX, onde "XXXX" representa o número do lote de análise.
- 7.2.9** Na caixa "File Name", clique em "Pre" e selecione "Identifier 1" clicando com o botão esquerdo do mouse sobre a caixa ao lado dessa expressão. Delete qualquer nome que estiver escrito na caixa "File Name". Pressione "OK" após selecionar a caixa. Certifique-se que a caixa "Auto Enum" está selecionada. Clique em "OK" e as corridas do lote de análise serão iniciadas.



7.2.10 Após término das corridas do lote de análise, exporte os resultados conforme descrito nos itens 6.4.8 e 6.4.9.

7.2.10.1 O arquivo contendo os resultados do lote de análise deve ser nomeado com a identificação do mesmo (ex.: EA-XXXX).

7.2.10.2 O modelo de exportação dos resultados de um lote de análise está registrado no arquivo "Lote de Análise.wke". Para selecionar esse modelo de exportação siga os procedimentos descritos no item 6.4.10.

7.2.10.3 Para cálculo dos parâmetros do controle de qualidade do lote analítico consulte o protocolo OrganoMAR-2017-03.

7.3 Término das análises

7.3.1 Após o término das corridas de um lote de análise, defina a diluição do fluxo que vem do EA para 98%, conforme descrito no item 5.4.8.

7.3.2 No EA, selecione o método "Stand-by IRMS" conforme descrito no item 5.3.7.

7.3.2.1 Os parâmetros definidos no método "Stand-by IRMS" são: pressão do gás de arraste (He) de 10 kPa; fluxo na purga de 80 mL min⁻¹; volume de oxigênio de 15 mL; diferença de pressão de oxigênio (ΔP_{O_2}) de 35 kPa; tempo de oxidação de 6,6 s; intervalo após término da corrida (sample delay) de 5 s; tempo da corrida de 160 s; temperatura da fornalha frontal de 980 °C; e temperatura do forno cromatográfico de 70 °C.

7.3.3 Caso o reator do EA ainda esteja em condições de analisar outro lote analítico, selecione no EA o método "IRMS" conforme descrito no item 5.3.9.

7.3.4 Caso novas análises não venham a ser feitas no EA-IRMS, selecione no EA o método "Método 0" conforme descrito no item 5.3.7. Esse método resfria a fornalha do reator e o forno da coluna cromatográfica.

7.3.4.1 Os parâmetros definidos no método "Método 0" são: pressão do gás de arraste (He) de 10 kPa; fluxo na purga de 80 mL min⁻¹; volume de oxigênio de 15 mL; diferença de pressão de oxigênio (ΔP_{O_2}) de 35 kPa; tempo de oxidação de 6,6 s; intervalo após término da corrida (sample delay) de 5 s; tempo da corrida de 160 s; temperatura da fornalha frontal desligada (OFF); e temperatura do forno cromatográfico desligada (OFF).

7.3.5 Após condicionamento do EA no método "Método 0", despressurize-o conforme descrito no item 5.3.6. Após despressurização, desligue o EA.

7.3.6 Desligue a fonte de íons clicando no ícone "Source OFF", localizado na parte superior da coluna "Accessories". O ícone "Source OFF" é representado por um círculo cinza.



- 7.3.7** Feche a válvula agulha do IRMS girando delicadamente em $\frac{1}{4}$ de volta (no sentido horário) o botão localizado na parte inferior do painel de controle do IRMS, conforme descrito no item 5.4.7.

8 CUIDADOS COM O EQUIPAMENTO

8.1 Queda de energia

- 8.1.1** Caso haja interrupção no fornecimento de energia durante as análises no IRMS, pare as corridas clicando no ícone "Stop" localizado na parte superior da tabela de sequência. O ícone "Stop" é representado por um círculo vermelho contendo um X em seu interior.
- 8.1.2** Após parar as corridas, desligue a fonte de íons clicando no ícone "Source Off", localizado na parte superior da coluna "Accessories". O ícone "Source Off" é representado por um círculo cinza.
- 8.1.3** Após desligar a fonte de íons, feche a válvula agulha girando delicadamente em $\frac{1}{4}$ de volta (no sentido horário) o botão localizado na parte inferior do painel de controle do IRMS.
- 8.1.4** Se o fornecimento de energia for restabelecido em um curto período de tempo, reabra o sistema conforme descrito nos itens 5.4.6 e 5.4.7.
- 8.1.5** Se a interrupção do fornecimento de energia for muito longa (superior a 1 h), a bateria do nobreak provavelmente descarregará e desligará o sistema EA-IRMS. Nessa situação, certifique-se primeiramente que a válvula agulha está fechada. Caso não esteja, feche-a.
- 8.1.6** Desligue as bombas principal e secundária pressionando o botão "Pumps", localizado na parte superior do painel de controle do IRMS.
- 8.1.7** Desligue o IRMS girando $\frac{1}{4}$ de volta (no sentido anti-horário) a chave de força vermelha localizada na parte traseira do equipamento.

9 LITERATURA RELEVANTE

- 9.1** Callidus software interface – Instruction manual (version 5.1). 2009. EuroVector, 113p.
- 9.2** ConFlo IV Operating Manual. Revision B – 1224730. 2010. Thermo Fisher Scientific, 195p.



- 9.3** Costa, B.V.M.; Yogui, G.T. 2017. Elaboração de lote analítico, edição de método e processamento de amostra no software Isodat. Procedimento Operacional Padrão OrganoMAR-2017-03, Revisão nº 1. Laboratório de Compostos Orgânicos em Ecossistemas Costeiros e Marinhos, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, 12p.
- 9.4** Delta V Advantage Operating Manual. Revision B – 1174000. 2011. Thermo Fisher Scientific, 273p.
- 9.5** EuroEA3000 – Instruction manual (v.3.0 - Single). 2007. EuroVector, 86p.
- 9.6** Moura, J.A.S.; Yogui, G.T. 2013. Substituição de cilindros de gases especiais. Procedimento Operacional Padrão OrganoMAR-2013-01, Revisão nº 1. Laboratório de Compostos Orgânicos em Ecossistemas Costeiros e Marinhos, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, 10p.

10 APÊNDICE

10.1 Fotos dos locais prováveis de vazamento e entrada de ar atmosférico no EA.

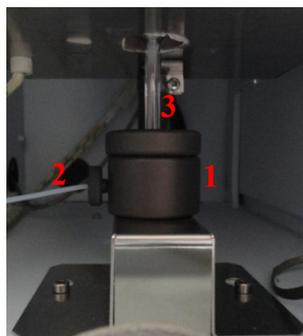
- 10.1.1** Conexões entre o reator e o removedor de cinzas. Nessas conexões existem anéis de borracha (*o-rings*) que fazem a vedação do sistema. Caso os *o-rings* estejam sujos, mal encaixados ou velhos, vazamentos e entrada de ar atmosférico podem acontecer. Para vedar o sistema, analise primeiramente os *o-rings* para ver se estão limpos e em bom estado de conservação. Caso estejam, então apenas aperte as conexões.



- 10.1.2** Conexão da purga do EA e do fluxo do gás de arraste. Essas conexões estão localizadas na parte superior do EA e podem ser desatarraxadas para facilitar a remoção do carrossel de amostragem e do reator. Caso estejam folgadas, pode ocorrer vazamento ou entrada de ar atmosférico. Para vedar o sistema aperte as conexões com as ferramentas apropriadas.



- 10.1.3** Base na qual se insere o reator (1) e que direciona o fluxo proveniente da combustão da amostra para a coluna cromatográfica. Essa base está localizada na parte interna do EA. Para visualizá-la, abra o EA e remova a tampa protetora. O fluxo é direcionado através da conexão 2. Se houver folga nessa conexão, pode ocorrer vazamento ou entrada de ar atmosférico. Para vedar o sistema aperte a conexão. Base afilada do reator (3). No local onde o reator se encaixa pode acumular sujeira durante a troca do mesmo. Para vedar o sistema, retire a peça 1 e limpe o local onde o reator se encaixa com um jato de N₂ comercial.



11 LISTA DE REVISÕES

Revisão	Data	Descrição
1	07/09/2017	Publicação inicial do protocolo