

Técnica do gás traçador SF₆ para medição de campo do metano ruminal em bovinos: adaptações para o Brasil

Odo Primavesi
Rosa T.S. Frighetto
Márcio S. Pedreira
Magda A. Lima
Telma T. Berchielli
João J.A.A. Demarchi
Marcelo Q. Manella
Pedro Franklin Barbosa
Kristen A. Johnson
Hal H. Westberg

Resumo

Este documento tem o objetivo de descrever a técnica do gás traçador SF₆, desde a adaptação e o manejo dos animais, e a construção dos equipamentos até as determinações cromatográficas e os cálculos necessários para se determinar os fluxos das emissões de CH₄ ruminal. Contudo, desenvolvimento e adaptações podem ser necessários em diferentes condições de uso. Essas modificações não deverão comprometer os resultados, desde que respeitados os princípios em que se fundamenta a técnica. Inclui-se a listagem dos materiais necessários e os potenciais fornecedores no Brasil. Os autores deste manual estão interessados em obter retorno sobre sucessos, problemas e soluções que os usuários da técnica possam encontrar.

SF₆-tracer technique for bovine ruminal methane field measurements: adaptations to Brazilian conditions

Abstract

The goal of this handbook is to describe the SF₆-tracer technique, from animal adaptation and management, and construction of equipments to chromatographic analysis and calculations needed to perform accurate measurement of ruminal methane emissions under field conditions. However, improvements and modifications may be necessary and will occur with continued use. These changes will not compromise measurements, as long as the basic principles which support the technique are followed. A list of materials needed and some sources found in Brazil are included. The authors of this manual are interested in knowing about successes, problems and solutions that users will find with this technique.

1. Introdução

O metano (CH₄) é um gás de efeito estufa cuja concentração na atmosfera vem aumentando intensamente nas últimas décadas. O metano é o segundo maior contribuinte para o aquecimento da terra, logo após o dióxido de carbono (CO₂). O aumento na concentração do metano na troposfera se correlaciona diretamente com a expansão mundial da população humana. Portanto, acredita-se que aproximadamente 70% das emissões de metano estão relacionadas com as atividades humanas. Aterros sanitários, uso de combustíveis fósseis e práticas agrícolas geram e liberam metano para a atmosfera em quantidades que aumentam com o crescimento da população humana. Os ruminantes são considerados importante fonte de metano em escala global (Johnson e Johnson, 1995). Em virtude do compromisso assumido pelo Brasil no protocolo de Quioto de controlar a emissão de gases de efeito estufa (Miguez, 2001), as maiores fontes de emissão de CH₄ necessitam ser caracterizadas, com o objetivo de aprimorar o inventário nacional de emissão bem como de estabelecer estratégias de redução.

A emissão de CH₄ por bovinos e ovinos representa perda de parte da energia ingerida, resultando em redução na produtividade animal. Quando houver redução nas perdas de energia ingerida na forma de CH₄, a energia correspondente poderá ser utilizada em ganho de peso ou em produção de leite, p. ex., trazendo vantagens econômicas ao produtor, em razão do melhor aproveitamento do alimento, e ao mesmo tempo reduzirá as emissões de CH₄ para a atmosfera e o agravamento do aquecimento global. Estudos com ruminantes demonstram que a emissão de CH₄ depende da quantidade do alimento ingerido e da qualidade da dieta (USEPA, 1990a,b; Tamminga, 1992; Holter e

Young, 1992). Geralmente, alimentos de elevada digestibilidade produzem menor emissão de CH₄ por unidade de produto do que dietas de baixa qualidade, mais fibrosas e com baixos teores de proteína bruta. Assim, animais em confinamento, com alta proporção de grãos na dieta, com alta energia por unidade de matéria seca e com baixa fibra (fibra em detergente neutro – FDN e/ou fibra em detergente ácido – FDA), podem perder somente 2% da energia ingerida na forma de CH₄, enquanto aproximadamente 12% da energia bruta ingerida pode ser perdida na forma de CH₄ por animais que recebam alimento de baixa qualidade (Johnson e Johnson, 1995), ou por bovinos em pastejo em ambientes tropicais.

Para possibilitar o desenvolvimento de estratégias que reduzam a emissão de CH₄ pelo rebanho bovino, é necessário quantificar a emissão das várias categorias animais sob as mais diferentes condições de manejo alimentar. Existem muitas técnicas para quantificar a emissão individual ou em grupo de CH₄ ruminal. A técnica de mensuração em câmaras fechadas (p. ex., de calorimetria respiratória) é precisa (Westberg et al., 1998), porém, requer animais treinados, reduz o movimento dos animais, exige muito trabalho e dispêndios altos, o que limita o número de animais avaliados e, também, não representa as condições normais de pastagens. Os modelos de previsão de emissão com base no balanço de fermentação de componentes dos alimentos foram utilizados para estimar a produção de CH₄. Essas equações são úteis, porém, as suposições e as condições que necessitam ser atingidas para cada equação limitam sua capacidade de predição de emissão de CH₄, em especial sob condições de produção. Técnicas de traçador isotópico também foram desenvolvidas e são úteis em condições controladas, mas são limitadas em condições de produção. Mais recentemente, foi desenvolvida uma nova

técnica para a medição da emissão de CH₄ por ruminantes em condições de produção, utilizando um gás traçador inerte, o hexafluoreto de enxofre (SF₆), sem as limitações encontradas em outras técnicas, o que possibilita realizar as aferições com animais em situação normal de pastejo.

A técnica, desenvolvida na Washington State University, consiste no uso de pequena cápsula de permeação com SF₆, com taxa de liberação conhecida, que é inserida no rúmen do animal. A seguir, um cabresto equipado com tubo capilar é ajustado na cabeça do animal e conectado a uma canga amostradora submetida previamente a uma bomba de vácuo (Figura 1). A válvula fixada na canga é aberta, para iniciar a coleta do ar em torno do focinho e das narinas do animal, a uma taxa constante de aspiração. O sistema amostrador é calibrado, para completar metade da capacidade de armazenamento da canga amostradora, aproximadamente 51 kPa (0,5 atm.), no período de coleta predeterminado (normalmente 24 h). A regulagem do tempo de amostragem é realizada variando-se o comprimento ou o diâmetro do tubo capilar. Após a amostragem, a pressão na canga é medida precisamente, com medidor digital, e a canga é pressurizada com nitrogênio de alta pureza para uma pressão aproximada de 122 kPa (1,2 atm.). Essa pressurização é necessária para a diluição das amostras coletadas e sua injeção no equipamento de análise. As concentrações de CH₄ e de SF₆ são determinadas por cromatografia gasosa. A taxa de emissão de CH₄ é o produto da taxa de emissão da cápsula de permeação, localizada no rúmen, pela razão das concentrações de CH₄ e de SF₆ na amostra. Essa técnica elimina a necessidade de confinar os animais em gaiolas ou câmaras barométricas e permite que eles se desloquem e pastem normalmente. Também não é necessário realizar amostragem no rúmen ou na faringe do animal, porque o traçador acompanha as

mudanças na diluição associadas ao movimento da cabeça do animal ou do ar. Como os ruminantes eructam e respiram a maior parte do CH₄, a coleta de ar em torno do focinho e das narinas deve resultar em estimativa precisa da produção de CH₄ pelo animal. Grande parte do CH₄ presente no intestino posterior é absorvida pela corrente sanguínea e expirada, sendo, portanto, também medida pela técnica do SF₆ (Westberg et al., 1998).

2. Validação da técnica

A validação do método foi conduzida pela Washington State University (Pullman, WA, EUA). Os requisitos-chave associados à técnica do SF₆ serão examinados a seguir. Para que o traçador seja eficiente na medição da emissão de CH₄, ele deve preencher algumas condições: 1) a taxa de liberação da cápsula de permeação necessita ser constante e previsível; 2) o traçador não pode influir na fermentação ruminal; 3) o traçador precisa ser detectado em concentrações baixas; 4) o traçador necessita ser inerte e não pode ser tóxico. O hexafluoreto de enxofre atende a essas exigências, porque é um gás inodoro e incolor, usado em testes de funções pulmonares, detectável em concentração de 1 mg/m³ (ppt). Para testar a suposição de que a taxa de liberação do SF₆ pela cápsula de permeação é constante e previsível, foram preparadas cápsulas de permeação, cuja emissão de SF₆ foi medida gravimetricamente durante vários meses. A seguir, as cápsulas foram colocados em banho-maria a 39°C e também em meios de cultura mantidos em fermentadores contínuos com microrganismos ruminais. As taxas de liberação de SF₆ foram medidas em ambas as condições e verificou-se que foram constantes e previsíveis.

O pré-requisito seguinte era de que o SF₆ não influísse nas atividades dos microrganismos ruminais, alterando os processos de fermentação. Existem diversos relatos na literatura sobre o uso de halocarbonos inibidores de CH₄. Para examinar os efeitos do SF₆, Westberg et al. (1998) utilizaram fermentadores contínuos, com microrganismos ruminais. Após o estabelecimento da população de bactérias e protozoários (determinado por monitoramento da produção de ácidos graxos voláteis e do pH ruminal, e por meio de microscopia), a determinação de produção de CH₄ foi realizada durante os dois dias seguintes. Após essas determinações da emissão de CH₄, cápsulas de permeação com SF₆ foram colocadas nos fermentadores, e esperou-se três dias para que ocorresse a estabilização das culturas. Foi realizado monitoramento diário das culturas durante esse período, e a produção de CH₄ foi medida nos dois dias subseqüentes. Não ocorreram diferenças significativas na produção de ácidos graxos voláteis - AGV, no pH, na produção de CH₄ ou na população de bactérias e protozoários em consequência da introdução da cápsula de permeação na cultura. Após esse estudo em laboratório, foi realizado estudo "in vivo", sobre o impacto do SF₆ introduzido no rúmen de duas vacas com fístula ruminal. Novamente, não ocorreu efeito significativo sobre a composição de AGV e o pH ruminal em virtude da presença do gás SF₆.

Após concluir que o SF₆ não influenciava a fermentação ruminal, foram realizados estudos para comparar as estimativas de produção de CH₄ pela técnica do gás traçador, com as medidas realizadas por calorimetria respiratória indireta em circuito aberto (Westberg et al., 1998). As emissões de CH₄ de onze bovinos de corte alimentados com diferentes dietas e sob diferentes taxas de ingestão foram medidas utilizando ambas as técnicas. Na maioria dos casos, a técnica do traçador foi subseqüentemente seguida

por dois dias de medidas em câmaras metabólicas. Após as medidas nas câmaras, os animais retornavam aos piquetes para nova medições pelo método do traçador. Após 55 medições com o método do traçador e 25 medições em câmaras, não se verificou diferença significativa ($P > 0,10$) entre os dois métodos. As medidas com traçador resultaram na estimativa de $11,53 \pm 0,41$ L/h de CH₄ (6,7% menos), enquanto as medições em câmara metabólica resultaram na média de $12,36 \pm 0,33$ L/h (dividindo L/h por 1,401 resulta o valor em g/h).

3. Materiais e procedimentos de calibração

3.1. Cápsula de permeação de hexafluoreto de enxofre (SF₆)

3.1.1. Peças e ferramentas necessárias

Corpo de latão da cápsula de permeação, com 11,1 mm de diâmetro externo - DE (7/16"), 31,75 mm de comprimento (1,25"), cavidade de 25,4 mm (1") com 4,76 mm de diâmetro interno - DI (3/16"), 1 cm de rosca para porca de conexão em latão (*brass nut*) de 6,35 mm (1/4") de DI no lado aberto, seguido de 2 planos paralelos (Figura 2c) para encaixe de chave de boca de 10 mm;

Disco de película de politetrafluoretileno (PTFE – Teflon®), leitoso, com 10 mm de DE e 0,2 mm de espessura, podendo ser de 0,3 mm, conforme a porosidade do PTFE;

Pastilha de aço inoxidável poroso (*stainless steel frit* ou "frita") com 9,53 mm (3/8") de DE e 1,6 mm (1/16") de espessura, com poros de 2 µm;

Porca de conexão (Swagelok® *nut* 1/4") em latão com 6,35 mm de DI;

Chave de boca de 14,3 mm (9/16"), para porca de 1/4";

Chave de boca de 10 mm, para prender o corpo da cápsula nos rebaixos abaixo da rosca;

Alicate;

Gás SF₆, com pureza de 99,9%, em cilindro do tipo G, equipado com regulador de pressão, RGE modelo GPS-SPL-270-15-4F-4F, com manômetro de entrada de 0-4000 psig e de saída de 2-80 psig;

Duas seringas descartáveis de 60 mL, com agulha nº 16;

Nitrogênio líquido, contido em caixa de poliestireno (Isopor®);

Suporte de telado metálico, para facilitar imersão e retirada de cada cápsula de permeação mergulhada em N₂;

Pinça para cadinho de tamanho médio;

Base de madeira, com cavidade de 12 a 13 mm de DI e 20 mm de profundidade, para apoiar a cápsula de permeação a ser carregada com SF₆;

Béquer de 500 mL, para acondicionar as cápsulas no banho-maria;

Banho-maria com termostato (T = 39°C);

Balança analítica, com precisão de 0,00001 ou 0,0001 g.

No final do documento encontra-se lista de possíveis fornecedores.

3.1.2. Confeção

O corpo da cápsula de permeação é confeccionado a partir de uma barra cilíndrica de latão, com DE de 11,1 mm, cortada em segmentos de 31,75 mm. A cavidade para alojar o gás SF₆ é torneada, numa das pontas do segmento da barra, com broca de 4,76 mm até uma profundidade de 25,4 mm. Nessa abertura é preparada uma rosca externa de 10 mm, na qual deverá ser rosqueada uma porca de conexão de 6,35 mm de DI, utilizada para

fixar o disco de PTFE apoiado sobre pastilha porosa de aço inoxidável, comumente utilizada em colunas para cromatografia líquida (Figura 2). A espessura e o tipo de PTFE irá determinar a taxa de permeação do gás traçador. O PTFE rígido bem como a pastilha de aço inoxidável normalmente permite a taxa de permeação de SF₆ entre 1 e 2 µg/min a 39°C. Abaixo da rosca, é conveniente preparar dois planos opostos no corpo do cilindro, que permitam o encaixe adequado de chave de boca ou alicate, a fim de facilitar a fixação e o aperto da porca de conexão. Deve-se amenizar todos as bordas vivas da cápsula, bem como da porca e da rosca, com a finalidade de evitar a irritação da mucosa ruminal, em especial quando a cápsula ficar por muito tempo no rúmen (2 a 3 anos). O peso da cápsula completa (aproximadamente 30 g) dificulta sua expulsão pelo trato digestivo anterior ou posterior. Quando todas as partes estiverem prontas e limpas, a cápsula é montada. Na base de cada cápsula deve-se gravar um número seqüencial, utilizando-se broca de dentista ou outra ferramenta disponível.



Figura 1. Animal com cabresto coletor e canga armazenadora.



Figura 2. Etapas de preparação da cápsula de permeação: a) estampando discos de PTFE; b) acima: cápsula de permeação montada, de pé e deitada; abaixo: porca de conexão, pastilha porosa (frita), disco de PTFE e corpo da cápsula de permeação; c) número na cápsula de permeação.

3.1.3. Carga com SF₆

Determinar o peso da cápsula completa vazia (tara) com precisão de cinco ou no mínimo quatro casas decimais. Para carregar a cápsula com o gás SF₆, remover a porca de conexão com a pastilha porosa e o disco de PTFE, colocando-a em local identificado para posterior recolocação no mesmo corpo de metal, e imergir o corpo da cápsula em nitrogênio líquido, até atingir temperatura criogênica (quando cessar o borbulhamento de nitrogênio, a -196°C). A seguir, retirar o corpo imerso no nitrogênio líquido com a ajuda de pinça para cadinho, eliminar o excesso de líquido em seu interior e alojar o corpo da cápsula de permeação em base de apoio, previamente preparada, para facilitar o preenchimento com o gás. A base de apoio pode ser de madeira com cavidade de 12 a 13 mm de diâmetro e 20 mm de profundidade.

Carregar a cavidade da cápsula rapidamente com SF₆. No procedimento de carga, esvaziar duas seringas de plástico descartáveis de 60 mL, equipadas com agulha nº 16, previamente preenchidas com SF₆ no estado gasoso, retirado diretamente do cilindro G de gás, equipado com válvula de entrada marcando 1.777 kPa (250 psi ou 17 atm.) e válvula de saída marcando 35 kPa (5 psi ou 0,35 atm.), num espaço de tempo total aproximado de 20 a 25 segundos. Encostar a ponta da agulha no fundo da cápsula, porém não em suas paredes laterais (para evitar que fique presa por cristais de gelo que podem se formar). A seguir, colocar rapidamente a porca correspondente à cápsula, rosqueando-a até o final, e por fim dar um último aperto com a chave de boca de 14,3 mm, segurando o corpo da cápsula pelo encaixe previamente preparado abaixo da rosca, com alicate ou chave de boca de 10 mm (Figura 3). Após deixar a cápsula atingir a temperatura ambiente e secar naturalmente, pesá-la para verificar se atingiu a carga desejada, de preferência acima de 500 mg de SF₆. Refazer a carga quando esta for menor do que 400 mg. Evitar gotas de água na cápsula, pois podem alterar seu peso. Procurar realizar o enchimento das cápsulas em capela de exaustão de gases em laboratório, evitando-se alta temperatura (acima de 25°C) e elevada umidade relativa do ar (acima de 70%). Evitar que as cangas em uso sejam mantidas no ambiente de manipulação do SF₆, porque elas podem ser contaminadas, alterando os resultados de determinação dos gases ruminais.



Figura 3. Carga e calibração da cápsula de permeação: a) eliminação do N₂ residual da cápsula; b) carga da seringa com SF₆ (esquerda) e descarga na cápsula (meio), ao lado caixa de poliestireno com N₂ (direita), telado com cápsulas resfriadas e pinça; c) aperto final da porca da cápsula carregada; d) pesagem da cápsula carregada e seca, após atingir temperatura ambiente; e) manutenção das cápsulas em banho-maria a 39°C, para posterior determinação da taxa de emissão de SF₆.

3.1.4. Determinação da taxa de emissão de SF₆

A seguir, colocar a cápsula seca em béquer de 500 mL, imergir em banho-maria, com água a 39°C. Pode ser estabelecido fluxo contínuo de nitrogênio dentro do béquer para eliminar SF₆ emitido (purgar o ambiente). Pesar a cápsula semanalmente, para determinar a taxa de emissão de SF₆. São necessárias 4 a 6 semanas para conhecer a taxa de liberação do SF₆, geralmente descartando o valor da primeira semana. Considerar carga residual

de 0,1 g de SF₆ na cápsula, que deve ser descontada da carga total, para o cálculo da vida útil da cápsula.

A seguir, encontra-se um exemplo de cálculo de vida útil da cápsula, em seqüência de planilha eletrônica Excel (Microsoft®):

Cápsula de permeação, nº: 102

Coluna A - massa da cápsula vazia, em g: = 30,1551;

B - massa da cápsula carregada, em g: = 30,7789;

C - data e hora de pesagem da cápsula logo após o carregamento (descartar cápsulas com carga menor do que 400 mg): = 1/1/03 7:30, podendo ser com formato de célula geral;

D - massa da carga de SF₆, em g: = B - A = 0,6238;

E - data e hora de pesagem, 1 semana após o carregamento: = 8/1/03 8:00;

F - massa da cápsula, 1 semana após, em g: = 30,7588;

G - 1ª taxa de emissão de SF₆, em ng/min: = (1000000000 x (B - F)) / ((E - C) x 24 x 60) = 1988,1;

H - data e hora de pesagem, 2 semanas após carregamento: = 15/1/03 8:00;

I - massa da cápsula 2 semanas após, em g: = 30,7488;

J - 2ª taxa de emissão de SF₆, em ng/min: = [1000000000 x (F - I)] / [(H - E) x 24 x 60] = 992,1;

K - data e hora de pesagem, 3 semanas após carregamento: = 22/1/03 8:00;

L - massa da cápsula, 3 semanas após, em g: = 30,7376;

M - 3ª taxa de emissão de SF₆, em ng/min: = [1000000000 x (I - L)] / [(K - H) x 24 x 60] = 1111,1;

N - vida útil da cápsula, em meses, a partir da carga da cápsula em g - 0,1 / média da taxa de emissão SF₆, em g/dia: = [(L - A) - 0,1] / {[(J + M + ...) / (2 + ...)] x 60 x 24 x 0,000000001} / 30 = 10,6 = 10 meses.

Obs.: Transformações utilizadas: 60 = minutos/h; 24 = horas/dia; 0,000000001 = ng em g; 30 = dias/mês.

Monitorar as cápsulas tantas semanas quantas forem necessárias para encontrar a variabilidade das taxas de emissão de SF₆ menor do que ou igual a 5%.

Quando ocorrer estiramento freqüente do disco de PTFE, decorrente do excesso de força por ocasião do aperto final da porca de conexão, e verificado pela taxa de permeação de SF₆ muito alta, sugere-se utilizar arruela de PTFE ou náilon de 0,2 ou 0,3 mm de espessura, entre o disco de PTFE e o corpo da cápsula, conforme descrito por Lassey et al. (2001). Até o momento, não houve necessidade desse artifício em nossas condições.

Quando a cápsula calibrada não for utilizada imediatamente, conservar em congelador comum (-10°C) por algumas semanas, sem perda significativa de sua carga. Recomenda-se pesar antes de sua utilização, para verificar a carga efetiva.

Quando a taxa de emissão de SF₆ for menor do que 1 µg/min, e não houver tempo para calibrar novas cápsulas, pode-se utilizar duas cápsulas cuja soma de liberação de gás SF₆ esteja entre 1 e 2 µg/min. A cápsula de permeação pode ser reutilizada após sua retirada do rúmen de animais fistulados ou abatidos. Em geral, é necessário substituir somente o disco de PTFE para o preparo de nova cápsula de permeação.

Quando se dispõe de poucos animais e houver necessidade de utilizar animais com cápsulas de permeação em final de carga útil, ou já liberando a carga residual, sugere-se conduzir, a partir da data do alojamento da cápsula no rúmen animal, de 2 a 3 cápsulas de permeação do mesmo lote e com similar taxa média de liberação de SF₆ em banho-maria a 39°C, para corrigir a estimativa da taxa de liberação da carga residual de SF₆ da cápsula de

permeação que se encontra no rúmen do animal. O valor estimado da taxa de liberação residual deve ser acrescentado ao valor da taxa de emissão da cápsula nova.

Nota: O SF₆ também é um gás de efeito estufa, portanto deve-se evitar a liberação de grandes quantidades para a atmosfera.

3.2. Câmara coletora (canga de PVC) de ar ruminal

3.2.1. Peças e ferramentas necessárias

- 2 peças de PVC marrom classe 20, de 51 cm (20") com 60 mm de DE, espessura de 4,9 mm, com resistência preferencial para 1.378 kPa (13,6 atm. ou 200 psi ou 10.336 mm Hg);
- 2 tampas (*caps*) de PVC marrom, classe 15, com 60 mm de DI;
- 1 cotovelo de PVC marrom, classe 15, com 60 mm de DI;
- 1 galão de cola para PVC;
- Lixa para ferro número 100;
- 1 válvula para gás, de agulha, em latão, com rosca macho NPT de 6,4 mm de DE (1/4") x 6,4 mm de DE (1/4") conexão para tubo, com porca de conexão com 6,4 mm de DI (1/4") e conjunto de anilhas de 6,4 mm (1/4") em latão;
- 1 peça (10 cm) de tubo de PTFE de 6,4 mm de DE (1/4") e 1,2 mm de espessura (dependendo da rigidez do PTFE contra dobradura, necessita ter 1,4 mm de espessura);
- 1 corpo para engate rápido em aço inoxidável de 6,4 mm (1/4"), com porca de conexão com 6,4 mm de DI (1/4") e conjunto de anilhas de 6,4 mm (1/4") em latão;
- Fita adesiva transparente de empacotador de 45 mm;
- Fita veda-rosca ou pasta de silicone;
- Caneta identificadora de brinco;

Caixa-tanque para testes de vazamento da canga, de aproximadamente 60 x 40 x 25 cm;
Chave inglesa de boca de 14,3 mm (9/16");
Estufa com regulagem entre 120 e 135°C;
Compressor de ar comprimido;
Bomba de alto vácuo com 2 estágios, monofásica;
Manômetro digital portátil, faixa de operação de -1 a 1 atm.;
Adaptador constituído de parte de engate rápido para conectar canga à bomba de vácuo, com possibilidade de adaptar válvula de pneu de caminhão, na ponta oposta, a fim de permitir conexão de mangueira do compressor e do manômetro manual (Figura 4g).

3.2.2. Confecção

O aparato coletor-armazenador, chamado canga, consiste de um tubo fechado de PVC moldado no formato que permita a adaptação e a fixação ao pescoço do animal, na sua porção cranial, e o acoplamento ao cabresto coletor. Um tubo de PVC de 60 mm de DE, classe 20, com DI de 51 mm, é suficiente para construir a canga. São utilizados duas tampas de PVC de 60 mm de DI, para fechar o tubo, e um cotovelo de 90 graus de PVC de 60 mm de DI, para unir as duas peças que formam o coletor. Cortar duas peças de 51 cm do tubo de PVC de 60 mm, lavá-las com sabão e água morna, e também lavar a parte interna do cotovelo e das tampas. Tornar ásperas (lixa) as extremidades externas, com lixa para ferro nº 100, e, utilizando adesivo para PVC, colar as extremidades das duas peças no cotovelo e as tampas na extremidade aberta das peças, procurando encaixar o máximo possível (testar o encaixe antes de passar o adesivo) (Figura 4a). Retirar o excesso de adesivo. Após secagem do adesivo (12 a 24 h), colocar a canga inteira numa estufa com temperatura entre 120 e 135°C, durante 5 a 10 minutos. Verificar após 3 minutos de aquecimento se o PVC está ficando maleável

(Figura 4b). Quando isso ocorrer, retirar da estufa a canga, usando um par de luvas de couro cru seco, colocar sobre uma mesa ou balcão e, apoiando o cotovelo de PVC numa parede ou suporte de madeira, moldar a canga em formato inicial de “L” (Figura 4c) e ir arredondando de maneira que ela se ajuste ao pescoço do animal, mantendo a distância de aproximadamente 20 cm entre as extremidades (Figura 4d). Alcançado o arredondamento da canga, sem a perda da forma cilíndrica do tubo de PVC, esfria-se a canga em tanque com água fria para enrijecer o PVC e estabilizar o formato (Figura 4e). Evitar o umedecimento da luva de couro, a fim de manter sua capacidade de isolamento térmico. Quando não for possível moldar a forma desejada, reaquecer a canga e refazer todo o processo. Se as paredes da canga perderem a forma cilíndrica durante o processo de moldagem, em geral, a causa é o aquecimento insuficiente ou o vazamento do ar interno, talvez por falha na colagem das peças. A canga deve estar hermeticamente fechada, para que o ar interno aquecido possa exercer pressão e permitir a moldagem da canga sem perder a forma cilíndrica do tubo de PVC. Pode acontecer de a estufa estar com áreas de menor aquecimento, devendo-se, portanto, tomar o cuidado no posicionamento da canga para que ela seja submetida a aquecimento uniforme.

Após confecção e obtenção da forma desejada da canga, instalar a válvula de coleta de gás (Figura 4f). Para instalar a válvula, preparar uma rosca cônica com broca de tarraxa de 6,4 mm (1/4”) num dos braços do cotovelo. Rosquear a válvula com cuidado no furo. Pode-se utilizar fita veda-rosca ou, de preferência, pasta de silicone, para vedação, a fim de evitar a entrada de ar. Um tubo de PTFE, de 10 cm de comprimento e 6,4 mm de DE, é fixado à válvula por um dos extremos e pelo outro extremo fixado ao

engate rápido de 6,4 mm (parte fêmea do engate rápido original importado). Esse engate se encaixa na outra parte do engate rápido (parte macho) fixado na extremidade terminal do sistema de



Figura 4. Construção da canga: a) peças coladas de tubo, tampas e cotovelo de PVC; b) verificação do ponto de maleabilidade do PVC na estufa; c-d) moldagem da canga; e) esfriamento da canga, para estabilizar a forma; f) válvula de coleta + engate rápido americano (acima) e nacional (abaixo) montado na canga; g) detalhe de válvula de câmara de ar de pneu de caminhão conectado por engate rápido à canga, para teste de vazamento ou borbulhamento; h) teste de vazamento da canga completa com ar comprimido; i) identificação.

coleta de ar, preso ao cabresto. Pode-se envolver os braços da canga com uma fita isolante ou fita crepe, com a finalidade de reduzir possível risco de acidente, por estilhaços gerados na quebra decorrente da explosão da canga durante o teste de vazamento por pressão. Não se verificou essa necessidade de reforço no Brasil, utilizando-se as pressões de teste recomendadas.

3.2.3. Testes de vazamento

Após montagem final, a canga necessita ser testada contra vazamentos, estabelecendo-se a pressão de 203 kPa (2 atm. ou 30 psi - lb/pol² ou 1.520 mm Hg), utilizando compressor de ar, fechando a válvula e submergindo a canga em água para verificar algum borbulhamento indicativo de vazamento grosseiro (Figuras 4g e 4h). Para reforçar o teste, a canga pode ser submetida ao vácuo, devendo chegar à pressão de aproximadamente -13,14 psi no manômetro digital, e manter essa pressão. Se houver microvazamento, de difícil verificação no teste de pressão positiva, verifica-se queda gradativa da pressão negativa. Identificar o local de vazamento com novo teste de pressão positiva, aplicando pressão de até 276 kPa (2,72 atm. ou 40 psi ou 2.067 mm Hg). Normalmente, os vazamentos ocorrem no encaixe do tubo de PVC ao cotovelo, devendo ser corrigidos com aplicação, p. ex., de Araldite[®] de secagem lenta, aplicada em todo o contorno do encaixe. A canga deve ser esvaziada nesse procedimento, evitando-se que o ar interno sob pressão positiva impeça o fluxo da cola para dentro da fresta a ser vedada. Quando o vazamento ocorrer nas roscas, a solução é o seu reaperto, eventualmente colocando pasta de silicone.

Finalmente, a canga é numerada (Figura 4i) na região do cotovelo oposta à válvula e, do lado da válvula, nas duas extremidades da canga, para facilitar a identificação no campo. Cola-se etiqueta

numerada a prova d'água, ou escreve-se o número com caneta identificadora de brincos para animais, e sobre esse número cola-se fita adesiva transparente, para proteção adicional.

3.3. Cabresto, tubo capilar e sistema amostrador de ar ruminal

3.3.1. Peças e ferramentas necessárias

- 1 cabresto de náilon para touro, com três correias com 10 furos, espaçados de 2 ou 3 cm e reforçados com ilhós, e fivela de ajuste, sendo uma no queixo, uma na base da cabeça e outra na nuca. Dispõe também de uma aba de couro, com quatro furos pareados dois a dois, para fixar o filtro, parte inicial do sistema amostrador de ar ruminal (Figura 5g);
- 4 cm de tubo de silicone com 8 mm de DI, espessura de 1,9 mm;
- 1,5 cm de tubo de PTFE com 3,2 mm de DE (1/8") e 0,9 mm de espessura;
- 1 filtro com rosca em latão de 3,2 mm de DE (1/8") e porosidade entre 15 e 50 μm , com porcas para conexões e anilhas correspondentes, sendo o DE da porca de 8 mm (5/16");
- 1 conexão de redução em latão (*reducing union*), com rosca de 1,6 mm de DE (1/16") x 3,2 mm de DE (1/8"), ponta lisa, com porcas de conexão (Swagelok® *nuts*) e anilhas (*ferrules*) correspondentes;
- 1 união de redução de latão (*brass reducer*), com rosca de 3,2 mm de DE (1/8") x 1,6 mm de DE (1/16");
- 1 pedaço de tubo capilar de aço inoxidável, com 1,6 mm de DE (1/16") e 0,127 mm de DI (0,005"), que, para 24 h, pode ter comprimento de 50 a 150 cm, conforme fornecedor e lote, podendo ser de 14 cm quando apresentar DI de 0,0762 mm (0,003");

- 1 cortador de tubo capilar de 1/32" a 1/8" ou lima fina e suporte de madeira com canaleta para alojar tubo capilar;
- 1 pedaço de aproximadamente 75 cm (com 30 cm de saída do cabresto), de tubo de PTFE com 3,2 mm de DE (1/8") e 0,9 mm de espessura;
- 1 parte do conjunto de engate rápido em aço inoxidável (*quickconnect*);
- 1 anel elástico externo E12 de 6,4 mm de DI (1/4"), a ser colado na parte fêmea do engate rápido nacional, para melhorar posicionamento da parte macho;
- 1 alicate de anéis curvo externo, 5,5", tipo 1 mm, para colocar o anel elástico ou de trava;
- 80 a 90 cm de mangueira lonada de 9 mm de DE, para reforçar a proteção ao tubo capilar, porcas e anilhas, e também ao tubo de PTFE até o engate rápido, antes de envolver com fita isolante;
- 1 m de tira de Velcro® com 50 mm de largura, para fixação de canga ao cabresto;
- 1 fita isolante de 20 mm largura, para fixação ao cabresto e proteção do tubo capilar;
- 6 braçadeiras plásticas de 5 x 175 mm, para fixar o tubo de silicone ao filtro e este à aba de couro sobre as narinas, e a mangueira lonada ao cabresto e ao engate rápido;
- 2 chaves de boca de 11,15 mm (7/16"), para as porcas de 1/8";
- 2 chaves de boca de 8 mm (5/16"), para as porcas de 1/16";
- 1 chave inglesa;
- 1 alicate;
- 1 faca;
- 1 tesoura;
- Compressor de ar comprimido;
- Bomba de alto vácuo com 2 estágios, monofásica;
- Manômetro digital portátil, faixa de -1 a 1 atm.;

Adaptador constituído de parte de engate rápido para conectar a canga à bomba de vácuo, com possibilidade de adaptar válvula de pneu de caminhão, na ponta oposta, para conectar mangueira do compressor e do manômetro manual.

3.3.2. Confeccção

O aparato para amostragem e armazenamento de ar ruminal consiste de recipiente armazenador (canga em PVC) e cabresto de náilon para bovinos equipado com sistema amostrador de ar (Figura 5i). É importante considerar o tamanho do cabresto, para haver posicionamento correto do bico aspirador de ar sobre as narinas e para que a amostragem seja bem sucedida. Recomendam-se cabrestos maiores, com diversas possibilidades de ajuste por meio de três correias com fivelas, para assegurar o contato firme também da correia transversal às narinas dos animais pequenos ou daqueles com cabeça pequena. Prender, por meio de rebites ou costura dupla, uma aba de couro sobre a tira transversal, que ficará imediatamente acima das narinas, para dar suporte ao bico aspirador ligado ao tubo capilar (Figura 5g).

Após selecionar e testar o comprimento dos tubos capilares (Figuras 5b e 5c), afixar um filtro com 3,2 mm de DE no início do tubo (sobre as narinas) (Figuras 1 e 5). Isso exige conexão de redução de 1,6 mm x 3,2 mm, ponta lisa, porcas de conexão e anilhas apropriadas. A finalidade do filtro é proteger o tubo capilar contra poeira e resíduos. Para evitar que a água obstrua o filtro e o tubo capilar, fixa-se um pedaço (1,5 cm) de tubo de PTFE de 3,2 mm de DE preso à entrada do filtro com porca e anilha. A seguir, deslizar um pedaço (4 cm) de tubo de silicone de 8 mm de DI sobre a porca de 8 mm de DE, que pode ser fixada com braçadeira plástica. Fixar o filtro à aba de couro com duas braçadeiras plásticas de 5 x 175 mm (Figura 5g), de maneira que o tubo de

silicone fique posicionado sobre a linha de encontro da parte com pêlo do focinho com a parte sem pêlo das narinas (*nostrils*; Figura 1).

Na outra extremidade do tubo capilar, fixar união de redução de 3,2 mm x 1,6 mm. Nessa extremidade, fixar 75 cm de tubo de PTFE com 3,2 mm de DE. Em continuidade, fixar uma das partes do conjunto de um engate rápido para tubulação de gás (Figura 6). Se for o engate rápido nacional, será a parte fêmea, na qual se deve fixar um anel elástico (Figura 5h), para melhorar o engate da parte macho e resultar em perfeita abertura do conjunto para o fluxo do ar. O comprimento do tubo de PTFE é variável e depende do comprimento do tubo capilar, devendo ser suficiente para permitir a conexão das partes do engate rápido do cabresto e da canga, normalmente com projeção para além do cabresto, em torno de 30 cm. Se os animais se encontrarem em baias individuais, para controle de ingestão de matéria seca e outras análises, pode-se utilizar prolongamento do tubo de PTFE, normalmente em torno de 200 cm, dispondo de engate rápido em suas extremidades. Verificar o sistema contra vazamentos e conferir se o tamanho do tubo capilar é adequado para o período de coleta desejado. Fixar o sistema contendo o tubo capilar ao cabresto com fita isolante, de modo que possa reduzir possíveis rompimentos causados por trauma mecânico ocasionado por movimento brusco dos animais. Pode-se reforçar a proteção envolvendo previamente o sistema com o tubo capilar, do filtro até o engate rápido, com mangueira lonada de 9 mm de DE, presa nas extremidades às partes metálicas por meio de braçadeiras plásticas, antes de fixar com fita isolante, garantindo maior proteção (Figuras 5e e 5f). Se, por acaso, o tubo capilar for muito comprido, deve-se moldá-lo ao cabresto, em forma espiralada (Figura 5d), e só depois fixá-lo.

3.3.3. Calibração do comprimento do tubo capilar

O comprimento do tubo capilar regula a taxa de amostragem do ar sobre as narinas ou o período de coleta de gases. Um tubo capilar de aço inoxidável com DI de 0,127 mm e DE de 1,6 mm serve para restringir o fluxo da linha de transferência do ar ruminal coletado por meio do filtro e armazenado na canga. Integração de período curto de amostragem (p. ex., 1 h) pode exigir um pedaço muito curto de tubo, enquanto períodos longos (p. ex., 24 h, o mais recomendado para amostragens de campo) requerem pedaço maior de tubo. Para determinar a taxa de amostragem de um pedaço de tubo capilar, deve-se conectá-lo a uma canga evacuada (esvaziada com bomba de vácuo), permitindo que seja preenchida ao longo de diversas horas, enquanto ocorre a verificação periódica da pressão (Figura 5c). Calcula-se a taxa de preenchimento e compara-se com o período de tempo desejado. A canga necessita ser preenchida a aproximadamente 50,65 kPa (0,5 atm. ou 7,35 psi - lb/pol² ou 380 mm Hg), durante o período de coleta de amostragem de ar. Até 50 kPa (escala 0 a 2 atm., ou aproximadamente -7,3 psi numa escala de -1 a 1 atm.) tem-se a garantia de que a taxa de preenchimento é constante. Pode-se testar inicialmente o comprimento de 50 e 150 cm, em tubos com DI de 0,127 mm, ou 14 cm, quando o DI for de 0,0762 mm, durante 2 a 3 h (normalmente com redução de 0,24 psi/h na leitura do manômetro digital), sem conectar o filtro. Após chegar ao comprimento desejado, testar todos os cabrestos durante 24 h sem filtro e finalmente com filtro. Não se deve cortar os tubos com alicate, para evitar obstrução do tubo capilar, mas com cortador específico de tubos ou limando um sulco circular em volta do tubo, apoiado sobre suporte de madeira, quebrando a seguir o pedaço desejado (Figura 5a).

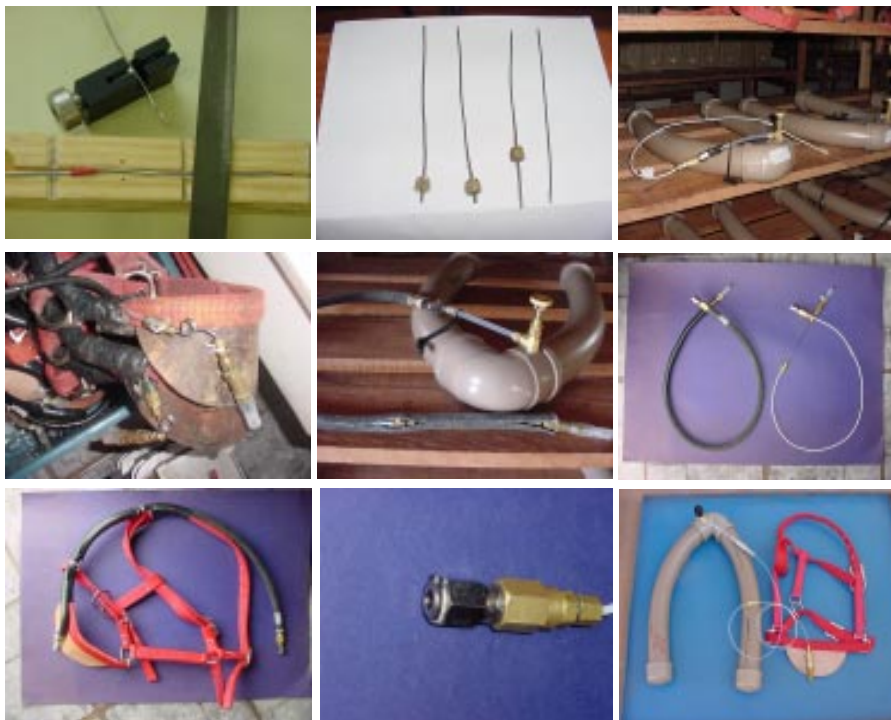


Figura 5. Confecção de cabresto equipado: a) corte do tubo capilar com cortador específico ou com uso de lima; b) tubo capilar; c) calibrando tubo capilar, utilizando canga submetida a vácuo; d) enrolando tubo capilar, quando necessário; e) ajustando proteção de mangueira lonada ao sistema amostrador; f) mangueira lonada protegendo sistema (a esquerda); g) fixando sistema amostrador ao cabresto; h) posicionamento do anel elástico, na ponta do engate rápido fêmea nacional; i) cabresto com sistema amostrador (sem mangueira lonada) conectado à canga.

3.3.4. Teste de vazamento do sistema amostrador de ar ruminal

Após a montagem final, o sistema amostrador de ar necessita ser testado contra vazamentos, utilizando compressor de ar ou canga submetida à pressão de 203 kPa (30 psi) no lado do engate rápido, submergindo o sistema amostrador em água para verificar se ocorre algum borbulhamento, que é indicativo de vazamento, em especial nas emendas entre o engate rápido e o tubo capilar, que não deve ser submergido ou molhado. Reapertar as emendas, até parar o borbulhamento.

3.4. Sistema de diluição e bomba de vácuo

3.4.1. Equipamentos necessários

3.4.1.1. Equipamentos para evacuação (esvaziamento com bomba de vácuo) da canga

1 bomba de alto vácuo com 2 estágios;

1 manômetro digital com escala de 0 a 203 kPa (2 atm. ou 29,4 psi - lb/pol² ou 1.520 mm Hg; na escala 0 a 2 atm.; ver Tabela 1), para medir a pressão inicial, a pressão ao final do período de coleta, e a pressão final após diluição com N₂.

3.4.1.2. Equipamentos para diluição ou pressurização com N₂

1 cilindro com N₂ de alta pureza (5,0 FID), em cilindro tipo T, acoplado ao regulador de pressão na central de gases;

1 regulador de pressão com manômetro de entrada e saída de N₂;

1 válvula de três vias (cilindro de N₂, canga e manômetro)

1 manômetro digital portátil, calibrado para 0 a 203 kPa ou -1 a 1 atm.



Figura 6. Peças componentes da válvula da canga, do sistema de tubo capilar e do engate rápido (da esquerda para a direita e de cima para baixo): a) válvula + parte fêmea do engate rápido *Swagelok*[®]; b) peças completas da parte macho do engate rápido *Swagelok*[®], união de redução, conexão de redução e filtro com ponteira de tubo de PTFE e pedaço de tubo de silicone, além de tubo de PTFE de 1/8" e rolo de tubo capilar em aço de 1/16"; c) peças individualizadas do filtro, conexão de redução, união de redução, parte macho do engate rápido *Swagelok*[®], com destaque para as anilhas e porcas de conexão; d) sistema completo desde filtro até válvula da canga; e) válvula + parte macho do engate rápido na versão nacional; f) peças completas da parte fêmea do engate rápido nacional, luva de redução, conector macho; união de redução; conexão de redução, filtro e tubo de silicone, além de tubo de PTFE de 1/8" e tubo capilar em aço de 1/16"; g) sistema completo, mais barato, desde filtro até válvula da canga; h) engate rápido nacional (acima), e *Swagelok*[®] (abaixo).

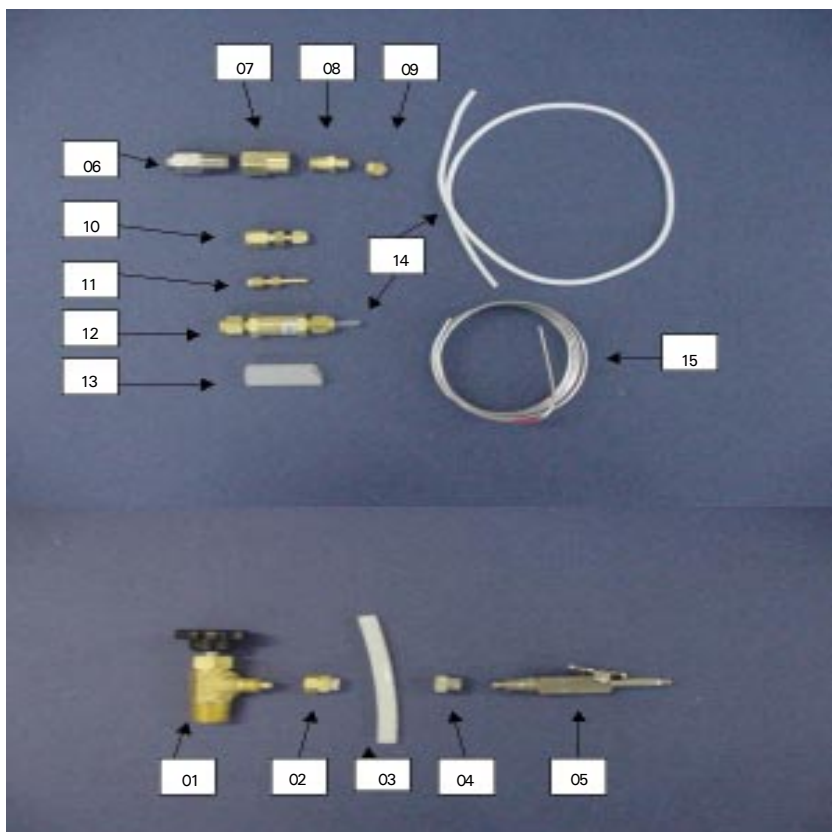


Figura 7. Peças e códigos de conjuntos parcialmente nacionais. 01 e 02 = conexão em latão 1/4" x 1/4" (= válvula) com porca e anilha (02), código 0912L; 03 = tubo de náilon 12 1/4" de DE (mais barato), mas preferência para tubo de PTFE de 1/4"; 04 e 05 = parte engate rápido macho com porca de diversos códigos 298PD 1/4" x 1/4"; 06 = parte engate rápido fêmea de diversos códigos 298PD 1/4" x 1/4"; 07 = luva de redução em latão 1/4" x 1/8", código 517; 08 e 09 = conector macho em latão 1/8" x 1/8" com porca e anilha (09), código 668; 10 = união de redução em latão 1/16" de DE x 1/8" de DE com porcas e anilhas, código B-200-6-1; 11 = conexão de redução em latão, 1/8" de DE x 1/16" de DE com porca e anilha, código B-100-R2; 12 = filtro de gás em latão de 1/8" de DE, 15 µm com porcas e anilhas em latão, código B-2F-15; 13 = tubo de silicone de 11,5 x 8,0 mm de DI; 14 = tubo de PTFE puro de 1/8", com 3,2 mm de DE x 1,6 mm de DI; 15 = tubo capilar de aço inoxidável de 0.005" de DI x 1/16" de DE, código LN4-U-158.

3.4.1.3. Equipamentos para alimentar o cromatógrafo a gás

1 engate rápido;

1 tubulação de PTFE de 6,4 mm de DE (1/4");

opcionais:

1 bomba de vácuo manual com manômetro, equipado com agulha descartável nº 6;

Seringas descartáveis de 60 mL, equipadas com agulha nº 6;

Frascos do tipo penicilina de 30 mL, com tampa de borracha presa por lacre de alumínio;

Tampa de borracha com rosca de Vacutainer® de 19 mm.

3.4.2. Procedimentos

3.4.2.1. Evacuação de canga e armazenamento de ar ruminal

Antes da coleta de gás ruminal, a canga necessita ser evacuada com bomba de vácuo para, p. ex., -13,15 psi (na escala -1 a 1 atm.), sendo aceitável a pressão residual em torno de 10,5 kPa (ou menor do que 80 mm Hg) (Tabela 1). Após fechar a válvula, que deve ficar voltada para a parte caudal do animal, a fim de se evitar enroscamento em cerca de arame em pastagens, a canga está pronta para uso.

Nota: a escala normal do manômetro pode ser de 0 a 203 kPa (ou 0 a 2 atm.), porém, pode-se calibrar o manômetro para a escala -1, 0 e 1 atm., no qual -1 equivale a 0. A Tabela 1 apresenta os valores das unidades de pressão mais utilizados.

3.4.2.2. Pressurização da canga

Após transcorrer o período de coleta, a canga é desconectada do cabresto, podendo ser substituída por outra evacuada. A seguir, conectar a canga ao sistema de diluição com N₂ comprimido (Figura 8), medir a pressão na canga, e adicionar lentamente N₂ para atingir a pressão final de aproximadamente 122 kPa (1,2 atm.; 17,63 psi ou 2,94 psi na escala -1 a 1). Deve-se medir a pressão exata antes e após a adição do N₂, a fim de determinar o fator de diluição. Com o conteúdo da canga sob pressão positiva, torna-se fácil transferir a alíquota de amostra do gás ruminal diluído para o sistema de cromatografia gasosa. Acopla-se a canga diretamente ao sistema de cromatografia gasosa, por meio de

Tabela 1. Valores de pressão utilizados, expressos em diferentes unidades e duas escalas de calibração do manômetro.

Escala 0, 1, 2 atm. de pressão				Escala -1, 0, 1 atm. de pressão			
mm Hg	atm.	kPa	Psi	mm Hg	atm.	kPa	psi
0	0	0	0	-760	-1	-101,3	-14,69
10	0,01	1,33	0,19	-750	-0,987	-99,97	-14,50
80	0,11	10,66	1,55	-680	-0,895	-90,64	-13,14
100	0,13	13,33	1,93	-660	-0,868	-87,97	-12,76
360	0,47	47,98	6,96	-400	-0,526	-53,32	-7,73
380	0,50	50,65	7,35	-380	-0,500	-50,65	-7,35
400	0,53	53,32	7,73	-360	-0,474	-47,98	-6,96
500	0,66	66,64	9,66	-260	-0,342	-34,66	-5,03
750	0,99	99,97	14,50	-10	-0,013	-1,33	-0,19
760	1	101,30	14,69	0	0	0	0
800	1,05	106,63	15,46	40	0,053	5,33	0,77
850	1,12	113,30	16,43	90	0,118	12,00	1,74
912	1,20	121,56	17,63	152	0,200	20,26	2,94
1520	2	202,60	29,38	760	1	101,30	14,69

Obs.: psi = psig; mm Hg = Torr. Em negrito, os valores aproximados de trabalho.

engate rápido (Figura 10), e a simples abertura da válvula da canga permite a transferência da amostra de ar ruminal para o *loop* volumétrico (0,5 mL ou cm³) do cromatógrafo a gás.

Em uma situação opcional, quando a coleta é feita em local afastado do laboratório (acima de 200 km), pode-se proceder a diluição do conteúdo da canga com N₂ e transferir as amostras, com seringa de plástico de 60 mL, para 1 ou 2 frascos de 30 mL identificados (disponíveis no mercado em capacidades de 2,5 mL a 100 mL) com tampa e lacre do tipo penicilina, previamente evacuados com bomba de vácuo manual com manômetro marcando 66,6 kPa (500 mm Hg ou 50 cm Hg) (Figura 9), pressionando bem até sentir o travamento do êmbolo da seringa.

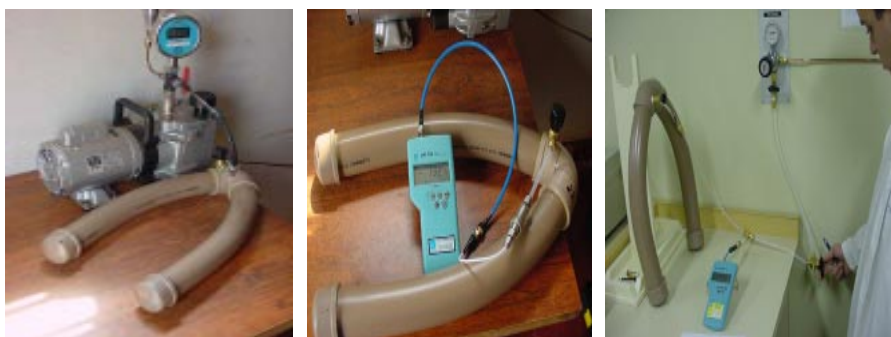


Figura 8. Sistema de vácuo e diluição: a) esvaziamento da canga com bomba de vácuo; b) manômetro digital portátil, conectado à canga por meio de engate rápido; c) pressurização da canga com N₂.

Enviar as amostras ao laboratório. Transferir amostra de ar diluída ao cromatógrafo a gás com seringa tipo *gastight* e analisar CH₄ e SF₆. As pressões, final de coleta e de diluição, necessitam ser medidas exatamente. Os frascos necessitam ser preenchidos (“lavados”) com ar ruminal e evacuados por duas vezes antes do

preenchimento final com nova amostra. A utilização desses frascos permite, além do transporte a longa distância, armazenamento da amostra por período mais longo do que nas cangas, facilitando a pauta de atividades do cromatógrafo a gás.

3.5. Análise do gás ruminal

3.5.1. Equipamentos e gases

Misturas-padrão de 34 ± 9 , 91 ± 9 e 978 ± 98 (~ 1000) $\mu\text{g/L}$ (ppt) de SF₆,

+ Nitrogênio para balanço,

em cilindro tipo ALC, com capacidade de 0,1 m³,

com Válvula CGA 180,

e regulador de pressão, modelo RCA-MV (41/2x4x51/4);

Mistura-padrão de 20 mg/L (ppm) de CH₄,

+ ar sintético para balanço,

em cilindro tipo G, com capacidade de 1 m³.

Regulador de pressão Victor GPS 270 – 80, modelo GPS-270-SPL-580, com manômetro de entrada 0-3000 psig e de saída 2-80 psig.

Cromatógrafo a gás HP6890 plus,

com detetor de ionização de chama (FID) e coluna megabore 0,53 mm, 30 m, 15,0 μm , Plot HP-A1/M (para CH₄),

e detetor de captura de elétrons (μ -ECD) e coluna megabore 0,53 mm, 30 m, 25,0 μm , HP-MoISiv (para SF₆),

com 2 *loops* de 0,5 mL acoplados a 2 válvulas de 6 vias.

Nitrogênio 5,0 FID, com 99,999% de pureza, gás de arraste,

Hidrogênio 5,0 FID, com 99,999% de pureza, para ionização de chama.

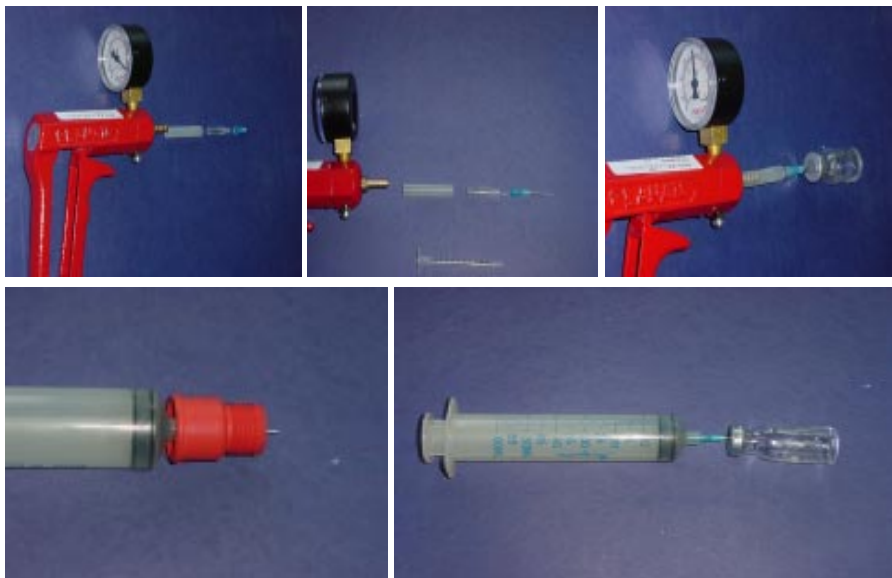


Figura 9. Alternativa para transporte de amostras a longa distância: a-b) bomba de vácuo manual; c) evacuando frasco do tipo penicilina; d) tampa de borracha de Vacutainer[®] com rosca, a ser acoplada no engate rápido da canga pressurizada para retirada de amostra de ar ruminal, e também no engate rápido do cromatógrafo a gás; e) injetando amostra de ar ruminal no frasco do tipo penicilina de 12 mL, para exemplificar.

3.5.2. Análise de CH₄

A concentração de CH₄ na canga é determinada por cromatografia gasosa. O sistema de cromatografia gasosa consiste de um *loop* de aço inoxidável amostrador de 0,5 mL, fixo a uma válvula injetora de gás de seis vias (com controle eletrônico de pressão – EPC, acionada automaticamente quando é dado o início (*start*) na análise), um injetor tipo *split-splitless* (utilizado no modo *split* 4:1) a 200°C, uma coluna megabore 0,53 mm x 30 m x 15,0 µm, Plot HP-AI/M, e um detetor de ionização de chama (FID) a 280°C. O

forno do cromatógrafo a gás é mantido a 50°C durante as análises, e aquecido a 150°C por aproximadamente 15 minutos para a limpeza da coluna; a seguir retornar à temperatura de análise e o aparelho estará pronto para o próximo período de análises. Cada determinação pode ser realizada em menos de 3 minutos. A análise é feita em duplicata ou triplicata e é aceito erro < 3%. A calibração do cromatógrafo a gás é realizada com material de referência padrão (National Institute of Standards – NIST) para CH₄ (Standard Reference Material - SRM), na concentração de 20 mg/L (ppm) (Figura 11). Pode-se utilizar um padrão certificado menos caro disponibilizado por alguns fornecedores (em nosso trabalho, foram utilizados padrões certificados pelo laboratório de desenvolvimento da “White Martins”) para controle de rotina, na concentração também de 20 mg/L em ar sintético para balanço, no cilindro tipo G acoplado ao regulador de pressão Victor GPS 270 - 80. O gás de arraste e o de *make-up* é o N₂ de alta pureza (*combined flow* 30 mL/min).



Figura 10. Análise do ar ruminal: alimentação do cromatógrafo com amostra de ar da canga pressurizada.

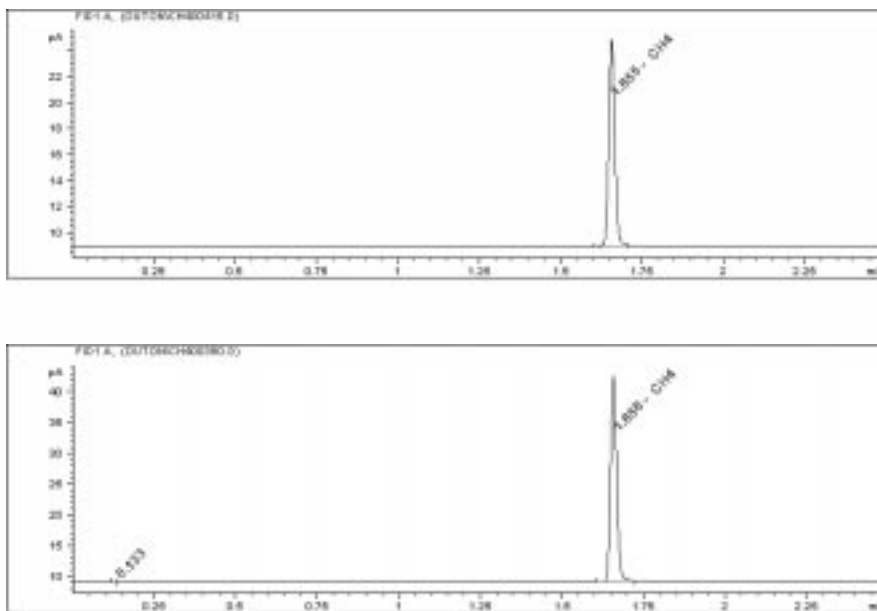


Figura 11. a) cromatograma que mostra análise do CH₄ padrão (20 ppm; 1,655 min), b) cromatograma que mostra pico de CH₄ na canga (1,656 min).

3.5.3. Análise de SF₆

O hexafluoreto de enxofre é medido em cromatógrafo a gás equipado com detetor de captura de elétrons (ECD) a 300°C. A amostra é injetada na coluna do cromatógrafo (megabore 0,53 mm x 30 m x 25,0 µm, HP-MoSiSiv) por meio da válvula injetora de gás de seis vias, injetor do tipo *split-splitless* (utilizado no modo *split* 4:1) a 250°C e um *loop* de aço inoxidável de 0,5 mL. No cromatograma a seguir, é apresentada uma análise de SF₆ (91 ± 9 µg/L ou pptv). O pico em 1,570 min corresponde ao SF₆ e o pico em 1,763, ao oxigênio (Figura 12). Assim, uma análise em triplicata pode ser completada em menos de 10 minutos. É

necessário alcançar alta precisão na determinação do SF₆. O sistema é calibrado utilizando-se padrões certificados de 34 ± 9, 91 ± 9 e 978 ± 98 (~ 1000) µg/L (ppt) de SF₆ em nitrogênio como balanço, contido em cilindro do tipo ALC acoplado ao regulador de pressão, modelo RCA-MV. A concentração de 91 ± 9 (~ 100) µg/L é adequada para verificação de rotina. O gás de arraste e o de *make-up* é o N₂ de alta pureza (5,0; *combined flow* 40 mL/min). Quando a concentração for muito baixa, a base do pico deve ser localizada manualmente, pois no controle automático pode haver grandes desvios, o que não foi necessário em nosso equipamento, evitando-se assim o erro do operador.

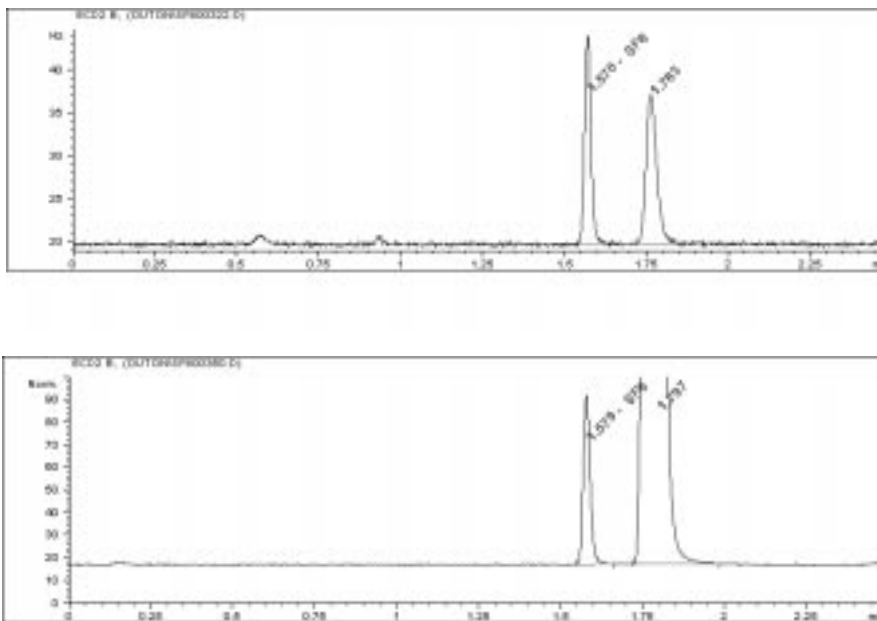


Figura 12. a) Cromatograma que mostra o pico de SF₆ padrão (91 ppt; 1,570 min) e o pico de oxigênio (1,763 min), b) Cromatograma que mostra o pico de SF₆ (1,579 min) e o de oxigênio (1,797 min) na canga. Observar sempre a variação < 3,0% entre as duplicatas.

3.5.4. Cálculos para estimar a emissão de CH₄ ruminal

O método do traçador utiliza SF₆ para quantificar gases diluídos que saem da boca e das narinas do animal misturados ao ar ambiente. Pressupõe-se que a emissão de SF₆ simula exatamente a emissão de CH₄. Assim, as taxas de diluição de SF₆ e de CH₄ são idênticas. A mistura oriunda da difusão turbulenta é muito mais importante do que a difusão molecular na atmosfera. De maneira similar, o transporte de gás do rúmen para a atmosfera, pela boca, é dominada por contrações e eructações, de modo que a difusão molecular se torna componente pouco expressivo no processo de emissão. A taxa de emissão de CH₄ (Q_{CH₄}) pode ser calculada a partir das concentrações de CH₄ e de SF₆ medidas e da taxa conhecida de emissão de SF₆ (Q_{SF₆}):

$$Q_{\text{CH}_4} = Q_{\text{SF}_6} \times [\text{CH}_4]/[\text{SF}_6].$$

As concentrações basais de CH₄ e de SF₆ devem ser subtraídos de suas concentrações nas cangas amostradoras. As concentrações basais de SF₆ normalmente são muito baixas, podendo ser desprezadas. Porém, as de CH₄ (aproximadamente 2 mg/L (ppm); [CH₄]_b) necessitam ser subtraídas das concentrações determinadas na canga dos animais em estudo ([CH₄]_y), e para isso utiliza-se uma canga que coleta ar ambiente próximo aos animais monitorados.

$$Q_{\text{CH}_4} = Q_{\text{SF}_6} \times ([\text{CH}_4]_y - [\text{CH}_4]_b)/[\text{SF}_6].$$

A seguir, é mostrado um exemplo de cálculo de taxa de emissão de CH₄, em seqüência de planilha eletrônica Excel (Microsoft®). É considerada a pressão em psi ocorrente no laboratório (em Jaguariúna, SP), e com a escala do manômetro variando de -1 a 1 atm.

Canga, nº: 19;

Animal, nº: 2005;

Cápsula de permeação, nº: 57;

A - Taxa de emissão de SF₆ da cápsula de permeação, em ng/min:
= 1500;

B - Pressão final de coleta: = -8,17 psi (6,52 psi na escala 0 a 2) -
Nota: deve-se utilizar a pressão atmosférica local para os cálculos, que em altitude, p. ex., de 500 m pode estar em torno de 95,2 kPa (13,8 psi), em vez dos 101,3 kPa (14,69 psi; veja Tabela 2) ao nível do mar; o método originalmente utiliza a unidade psi (libra/pol²) na escala -1 a 1, para facilitar os cálculos;

C - Pressão após a diluição: = 1,54 psi (16,23 psi na escala 0 a 2);

D - Fator de diluição: = (13,8 + C)/(13,8 + B) = 2,725 - Nota: quando a escala utilizada é de 0 a 2 atm., no nível do mar, como originalmente utilizado pelos autores que desenvolveram o método, o cálculo do fator de diluição seria simplesmente: = B / A = 2,489;

E - Concentração de CH₄ padrão, em ppm: = 20;

F - Leitura no cromatógrafo a gás da área de CH₄ padrão: = 20,7;

G - Leitura no cromatógrafo a gás, em área, de CH₄ na canga: = 15,9;

H - Concentração de CH₄ na canga, em ppm: = (E/F) x G x D = 41,858;

I - Concentração de CH₄ na canga, em µg/m³: = H x 40,9 x PM_{CH₄}
= 41,858 x 40,9 x 16 = 27391,88;

J - Concentração de CH₄ basal, branco, em µg/m³: = 1445,9; os mesmos cálculos anteriores, porém para canga do controle;

K - Leitura no cromatógrafo a gás, em área, de SF₆ na canga: = 15,912; cujo valor já é o corrigido em relação à resposta do padrão (curva de calibração);

L - Concentração de SF₆ na canga, em ppt: = K x D = 43,355;

M - Concentração de SF₆ na canga, em µg/m³: = (L x 0,000001) x 40,9 x PM_{SF6} = (43,356 x 0,000001) x 40,9 x 146 = 0,259;

N - Taxa de emissão de SF₆ pela cápsula de permeação, em g/min: = A x 0,000000001 = 0,0000015;

O - Taxa de emissão de CH₄ ruminal, em g/h: = [(N x (I - J)) / M] x 60 = 9,02.

Para conversão de concentrações (em 1 atm., a 25°C), dos itens I e M, considerar que:

$$PV = nRT$$

de modo que:

$$\mu\text{g}/\text{m}^3 = (\text{ppm} \times 1000 \times \text{PM}) / (R \times T);$$

em que:

$$R = 0,0821 \text{ atm. L} / \text{mole } ^\circ\text{K};$$

$$T = (273 + 25) = 298^\circ\text{K};$$

$$40,9 = 1000 / (0,0821 \times 298);$$

resultando:

$$\mu\text{g}/\text{m}^3 = \text{ppm} \times 40,9 \times \text{PM};$$

em que:

PM = peso molecular;

$$\text{PM}_{\text{SF6}} = 146;$$

$$\text{PM}_{\text{CH4}} = 16.$$

Nota: Na Tabela 2 é apresentada a pressão atmosférica de diferentes altitudes, sendo utilizado o valor aproximado de 13,8 psi (na célula D da planilha mencionada anteriormente), pelo fato de o laboratório de análise cromatográfica gasosa da Embrapa Meio Ambiente estar a aproximadamente 500 m de altitude.

Tabela 2. Pressão atmosférica em função de altitude, a 25°C.

Altitude m	Pressão				
	mb	mm Hg	Psi	kPa	atm.
0	1013	760	14,69	101,30	1,000
50	1007	756	14,61	100,72	0,994
100	1001	751	14,52	100,14	0,989
200	990	743	14,36	99,00	0,977
300	979	734	14,19	97,86	0,966
400	967	726	14,03	96,74	0,955
500	956	717	13,87	95,63	0,944
600	945	709	13,71	94,52	0,933
700	934	701	13,55	93,43	0,922
800	923	693	13,39	92,35	0,912
850	918	689	13,31	91,81	0,906
900	913	685	13,24	91,27	0,901
1000	902	677	13,08	90,21	0,891
1200	881	661	12,78	88,12	0,870
1400	861	646	12,48	86,06	0,850
1600	840	631	12,19	84,04	0,830

Obs.: A fórmula para cálculo de pressão, em milibare (mb), em função de altitude, em metros (m), é: $1013 \times \left\{ \left[\frac{1 - (0,0065 \times m)}{25 + 273} \right]^5 \times 2568 \right\}$, em que m é a altitude, 25 é a temperatura de referência e 273 é a temperatura absoluta.

4. Método e protocolo de amostragem

4.1. Considerações sobre pré-amostragem

O primeiro passo é submeter o projeto de pesquisa com animais ao Comitê de Bem-Estar Animal, quando existir e for necessário, como nos EUA, ou quando for submetido projeto para captação de recursos no exterior, como nos EUA. Após a aprovação, proceder como descrito a seguir.

1) O fator mais importante na quantidade emitida de CH₄ ruminal é a dieta do animal, considerando tipo, qualidade e consumo do alimento. Esses fatores determinam o tipo de microrganismos, bem

como a atividade microbiana durante o processo de fermentação ruminal, incluindo a produção de CH₄. Dessa maneira, torna-se importante a adaptação do animal à dieta em pelo menos 10 dias antes da amostragem, bem como a caracterização da composição do alimento utilizado. Esse período de adaptação permite a estabilização da população microbiana.

2) Durante o período de adaptação, é recomendável condicionar os animais ao monitoramento. Alguns bovinos ou ovinos recusam-se a comer enquanto estiverem com o cabresto e a canga coletora, outros ficam arredios ao manuseio, constituindo perigo para o operador e risco de dano para o equipamento de coleta de gás. Dessa forma, é recomendado que os animais a serem monitorados sejam adaptados ao manuseio e ao uso dos aparatos de coleta (canga + cabresto). No caso de bovinos de leite, submetidos a um contato mais intenso com o ser humano, esse condicionamento pode ser de 2 a 3 semanas, mas no caso de bovinos de corte zebuínos, recomenda-se trabalhar com animais mais jovens, submetendo-os a um condicionamento de 60 a 90 dias. Durante esse período, é aconselhável o manuseio diário dos animais.

3) Existe grande variabilidade na produção de CH₄ entre animais alimentados com a mesma dieta, sendo aconselhável o uso de diversos animais por tratamento. Quando se utilizam diferentes tratamentos, o delineamento experimental pode ser o quadrado latino, no qual cada animal passa por todos os tratamentos, porém, deve-se respeitar o tempo mínimo necessário para adaptação da população microbiana à nova dieta. Avaliações da variação de CH₄ em condições similares descritos na literatura, aliadas a fórmulas estatísticas apropriadas, podem gerar estimativas precisas do número de animais necessários para os experimentos.

4) São requeridas diversas semanas para o preparo das cápsulas de permeação, antes de iniciar as medições. Em geral, são necessárias de 6 a 8 (mínimo de 4) semanas para se obter estimativas precisas da taxa de emissão de SF₆ pela cápsula de permeação antes de introduzi-la no rúmen do animal.

5) Os cabrestos necessitam ser preparados e o tubo capilar, do sistema amostrador, deve ser testado quanto ao tempo de amostragem. Foram observadas grandes variações entre lotes da mesma marca, e maiores ainda entre marcas. Assim, cada pedaço de tubo capilar precisa ser testado. Aconselha-se preparar cabrestos equipados sobressalentes, bem como peças testadas de tubos capilares, para eventuais reparos emergenciais, o que significa a necessidade de muitas peças sobressalentes, em especial porcas de conexão e anilhas de 1/16" e 1/8". Deve ser preparado um sistema de tubo capilar acoplado à canga, para coleta de ar do ambiente, o branco (para determinação da concentração de CH₄ basal).

4.2. Amostragem

Cápsulas de permeação com taxa de permeação conhecida de SF₆ são introduzidas no rúmen por meio de cânula, de sonda oroesofágica ou de deglutição forçada, até dois dias antes das amostragens. Podem ser alojadas duas cápsulas de uma só vez, para se atingir a taxa de emissão de SF₆ total mínima entre 1 e 2 µg/min no período experimental. Pode-se confirmar a perfeita deglutição deixando os animais ingerir alimento concentrado, observando possível regurgitação da cápsula. Em geral, a cápsula de permeação aloja-se no retículo. Esse período de tempo vai assegurar que o ar do rúmen entre em equilíbrio e permita a verificação da concentração de SF₆ no ambiente ruminal. Antes de

iniciar as amostragens, os animais são equipados com canga e cabresto, sendo submetidos a algumas horas de pré-coleta para verificar se ocorrem níveis detectáveis de SF₆. Isso é importante quando o animal possuir uma cápsula de permeação de medições anteriores, estando sua carga próxima ao final de sua vida útil. Essa pré-amostragem serve para a calibração e a correta operação do cromatógrafo a gás e verificar se existem padrões SF₆ em quantidade suficiente.

A seguir é mostrado um exemplo de seqüência de amostragem:

Dia -2: A cápsula de permeação calibrada é introduzida no rúmen dos animais. Verificar, com alimento no cocho, se a cápsula, eventualmente mal posicionada, não é regurgitada.

Dia -1: Verificar os animais quanto à emissão de valores detectáveis de SF₆ e se tudo está em ordem. Animais são pesados para futuros cálculos.

Dia 1: Com os animais no local de coleta, iniciar as amostragens, por exemplo, às 7:00 h, com os animais equipados com cabresto, que dá suporte ao tubo capilar para 24 h (período de amostragem razoável), e cangas evacuadas. O cabresto deve estar preso à cabeça do animal de maneira que o filtro fique posicionado acima das narinas, para evitar que encha de água quando o animal for ao bebedouro. Verificar se as cangas foram evacuadas de forma adequada, utilizando-se vacuômetro portátil. Prender a canga com fita Velcro[®] esticada transversalmente, unindo os 2/3 inferiores dos 2 braços, e nas laterais do cabresto para estabilizar a canga, e fixar com mais um cordão de segurança com nós movediços, unindo os 2 braços, rente às tampas. Fazer a conexão das duas partes do engate rápido. Fixar com fita crepe ou adesiva o tubo de

PTFE que liga o engate rápido ao tubo capilar, ou envolver previamente com mangueira lonada, para evitar que ocorra enroscamento, estiramento e mesmo rompimento. Prender o fecho do engate rápido com fita adesiva, para evitar sua abertura accidental. A seguir, abrir a válvula da canga, iniciando o período de coleta (Obs.: Verificar novamente se a válvula foi aberta, para evitar a perda de um período de trabalho). Colocar outra canga evacuada equipada com tubo capilar de 24 h na área freqüentada pelos animais, a fim de medir a concentração de CH₄ e SF₆ no ambiente, e abrir sua válvula para início de amostragem. Anotar o tempo do início da coleta.

Nota: Outra possibilidade, mais trabalhosa e arriscada, para medir as concentrações de CH₄ e de SF₆ basais (brancos), quando muitos animais estão reunidos, é equipar um dos animais, sem cápsula de permeação de SF₆, com canga e um cabresto modificado em que o filtro fica no topo da cabeça, não coletando o ar expirado pelo animal, mas o ar do ambiente.

Às 7:00 h do dia seguinte (coleta a cada 24 h), trocar a canga amostradora por uma canga evacuada. Para a troca de cangas, fechar a válvula da canga sobre o animal, retirar o cordão abrindo seus dois nós, abrir e retirar a fita Velcro[®], e abrir o engate rápido. Colocar nova canga sobre o pescoço do animal, conectar as duas partes do engate rápido, fixar o Velcro[®] e o cordão. Verificar o cabresto quanto a possíveis necessidades de ajustes. Abrir a válvula e iniciar a coleta de gases ruminais. Anotar o tempo inicial e final de coleta. Anotar o número da canga e do animal que a carrega.

Esse procedimento deve ocorrer de forma consecutiva ao longo de 5 dias no mínimo. No caso em que os animais permanecem por mais de 5 dias na mesma pastagem, pode-se realizar as amostragens de 5 dias consecutivos e mais 2 dias antes da saída

dos animais, para avaliar a produção de CH₄ e sua relação com a qualidade da forragem na entrada e na saída dos animais do piquete.

A seguir, as cangas utilizadas podem sofrer três procedimentos:

1. Após a anotação da pressão final de amostragem, as cangas são enviadas diretamente ao laboratório, onde serão conectadas ao sistema de diluição com nitrogênio. Isso deve ser realizado imediatamente, porque pode ser o primeiro indicador de algum problema de amostragem. A pressão final necessita de aproximadamente 51 kPa (0,5 atm.). A seguir, a canga é pressurizada para aproximadamente 122 kPa (1,2 atm.) com nitrogênio de alta pureza, diluindo-se a amostra. A pressão de diluição é anotada e a canga estará pronta para análise do CH₄ e do SF₆. Embora tenha sido verificado que é possível armazenar as cangas pressurizadas por 10 dias antes da análise, recomenda-se executar a análise o mais rápido possível. Isso evita a possibilidade de perda de amostra e permite a análise rápida dos resultados e a correção de falhas ou mesmo a repetição da amostragem com o mesmo animal, que porventura esteja em rodízio no delineamento de quadrado latino, com mudança de dieta. Os dados são tabulados numa planilha eletrônica e a produção de CH₄ é calculada.

2. As cangas são armazenadas por 2 a 3 dias, mesmo sem pressurização, para posterior envio ao laboratório de análise, quando este se situar a mais de 100 km de distância. Porém, deve-se medir a pressão final de amostragem para determinar algum problema, como obstrução do filtro ou do tubo capilar, ou vazamento da canga.

3. Quando o laboratório de análise se situar a mais de 200 km e a amostra necessita ser enviada por correio rápido, determina-se e anota-se a pressão final de amostragem, pressuriza-se a canga para 122 kPa, retira-se a amostra de ar com seringa descartável e agulha fina (p. ex., número 6) com capacidade aproximada de 60 mL, e injeta-se, até gerar pressão positiva, o ar ruminal em frasco do tipo penicilina de 30 mL, com tampa de borracha e lacre de alumínio, evacuada previamente com bomba de vácuo manual. De preferência, preparar 2 frascos de amostra para cada canga. Identifica-se os frascos adequadamente com numeração corrida, anotando o número na planilha, com os números da vaca, da cápsula de permeação e da canga. Enviam-se os frascos, adequadamente embalados.

Do 2º ao 5º dia: repete-se a mesma seqüência do 1º dia. A amostra de ar do ambiente, referência, é coletada simultaneamente com as cangas com ar ruminal e deve sofrer o mesmo processo de tratamento antes da análise cromatográfica. Amostras de alimento ou de pastagem são coletadas diversas vezes ao longo do período de coleta e armazenadas para futura análise laboratorial. Durante esse período, o monitoramento da ingestão de matéria seca e a determinação do tipo de dieta também deve ser realizado.

4.3. Pós-amostragem de gás ruminal

Após encerrar o período de amostragem, procede-se à limpeza dos filtros, passando-se um fluxo de nitrogênio ou de ar comprimido, com a finalidade de retirar pequenas partículas ou pó que eventualmente tenham aí se acumulado e que podem obstruir o filtro e o tubo capilar. Os filtros podem ser desmontados, lavados e secados quando necessário. Quando entrar água no tubo capilar, secá-lo em estufa.

5. Plano de garantia de qualidade

5.1. Introdução

As emissões de CH₄ do rebanho de ruminantes constituem objeto de interesse de pesquisadores que procuram entender as mudanças climáticas globais. A produção de CH₄ e sua liberação para a atmosfera representam um mecanismo de perda de energia dos animais. Cientistas de fisiologia e nutrição de ruminantes desejam encontrar caminhos para desviar a perda de carbono associada à produção de CH₄ em favor do ganho de peso vivo e/ou produção de leite. Como o CH₄ é um importante gás de efeito estufa, a redução na emissão de CH₄ por ruminantes pode contribuir para a redução do crescimento dos níveis desse gás na atmosfera e, com isso, para maior estabilidade térmica e menor perda de água evapotranspirada.

Os procedimentos para medir a taxa de emissão de CH₄ por animais em pastejo estão desenvolvidos. Este manual oferece uma descrição detalhada, passo a passo, da técnica de medição e resume os objetivos da garantia de qualidade associados à amostragem e à análise.

5.2. Descrição do plano de trabalho

Descreve-se a maneira pela qual determinar a produção e a emissão de CH₄ usando técnica do traçador SF₆. Uma cápsula de permeação que libera SF₆ a uma taxa conhecida é alojada no rúmen do animal. O animal é equipado com um sistema de amostragem que possa coletar ar em torno da boca e das narinas durante determinado período de tempo. A seguir, a amostra de ar é analisada quanto aos conteúdos de CH₄ e de SF₆. As

concentrações dessas substâncias junto com a taxa conhecida de emissão de SF₆ permite o cálculo da taxa de emissão de CH₄. Os componentes do sistema compreendem a cápsula de permeação, o cabresto ajustado à cabeça do animal, o sistema de tubo capilar que permite a coleta de ar e o transfere à canga de PVC que se ajusta ao pescoço do animal e que succiona e armazena a amostra de ar, os sistemas de diluição e o cromatógrafo a gás para determinação de CH₄ e de SF₆.

5.3. Objetivos da garantia de qualidade pela medição de dados

A Tabela 3 lista os objetivos da garantia de qualidade de acordo com a precisão, a exatidão e a perfeição para o programa de amostragem de CH₄. Todos os dados deverão ser coletados de forma que assegurem sua representatividade das condições reais do local ou do ambiente. As taxas de emissão de CH₄ serão relatadas na unidade de grama/hora.

A precisão da concentração dos gases das amostras ambientais (brancos) deverá ser determinada a partir de análises de rotina em duplicata das amostras e das misturas-padrão de gases. A exatidão absoluta da análise de CH₄ e de SF₆ depende do certificado de exatidão dos gases para calibração. Quando possível, os padrões deverão ser comparados em análise interlaboratorial.

Os resultados de precisão e de exatidão devem ser tabulados de forma adequada nos livros de registro dos resultados de análise. Os resultados devem ser comparados com os objetivos de garantia de qualidade, realizando calibração em intervalos curtos de tempo, para conferir o desempenho do sistema e para assegurar que os objetivos da garantia de qualidade estão sendo cumpridos.

Tabela 3. Objetivos da garantia de qualidade.

Método	Parâmetro	Perfeição	Precisão	Exatidão
			----- % -----	
CG/FID	Concentração de CH ₄	100	± 2	± 10
CG/ECD	Concentração de SF ₆	100	± 2	± 10
Gravimétrico	Concentração de SF ₆	100	± 0,2	± 1

CG = cromatógrafo a gás. FID = detetor de ionização de chama. ECD = detetor de captura de elétrons.

5.4. Procedimentos para amostragem e análise

5.4.1. Coleta de amostra

O aparato de amostragem consiste de uma canga de PVC, que é moldado para se ajustar ao pescoço do animal. No cotovelo da canga é fixada uma válvula de amostragem de gás, conectada ao conjunto de engate rápido por um tubo de PTFE e este ao tubo capilar, de modo que permita formar um duto que se estende da canga coletora-armazenadora até acima das narinas. É utilizado um filtro na parte de admissão dos gases, acima das narinas, para manter o duto livre de entupimento. Imediatamente antes da amostragem, a canga é evacuada, utilizando-se bomba de alto vácuo, até a pressão aproximada de -680 mm Hg ou -13,15 psi.

A seguir, a canga é posicionada sobre o pescoço do animal, presa ao cabresto por meio de Velcro[®], e conectada ao tubo de admissão de gases. Para iniciar a coleta de amostra, abre-se a válvula posicionada no cotovelo da canga. A canga evacuada deverá ser preenchida a uma taxa constante, até atingir aproximadamente 51 kPa (0,5 atm.), ocasião em que deve expirar o período programado de coleta, e fecha-se a válvula. Logo após o período de coleta, e antes da determinação da concentração de CH₄ e de SF₆, a canga

deve ser pressurizada lentamente com nitrogênio (gás), até aproximadamente 122 kPa (1,2 atm.). As leituras da pressão inicial e final, após diluição, necessitam ser tabuladas, para se calcular o fator de diluição. A canga pode ser conectada diretamente à válvula amostradora do cromatógrafo a gás por meio de engate rápido.

5.4.2. Análise de CH₄

A concentração de CH₄ na canga é determinada pela análise em cromatógrafo a gás equipado com detetor de ionização de chama (FID). Devem ser realizadas em duplicata ou triplicata, para se obter reprodutibilidade com erro menor do que 3%. A calibração do cromatógrafo a gás deve ser realizada com o uso de material de referência (padrão) certificado (SRM) para CH₄ (NIST). Poderá ser utilizado o padrão certificado para os controles de resposta do equipamento e de rotina analítica.

5.4.3. Análise do SF₆

A concentração de SF₆ é determinada por meio de um cromatógrafo a gás equipado com detetor de captura de elétrons. O sistema é calibrado utilizando-se uma série de padrões de SF₆ (certificados pela empresa fabricante) na faixa de concentrações entre 30 e 1000 µg/L (ppt). A concentração de 100 µg/L é apropriada para controles de rotina.

5.5. Procedimentos de calibração e freqüência

A calibração do cromatógrafo a gás para CH₄ é realizada medindo-se a resposta do instrumento a uma concentração conhecida de CH₄ (5 e 20 µg/L ou ppm) em ar (Scott Environmental

Technology). Esse padrão laboratorial deve ter sido comparado a um padrão de CH₄ NIST. Vários controles deverão ser realizados por período de análise.

A calibração de SF₆ é realizada utilizando-se uma série de padrões certificados. O padrão de SF₆ na concentração de 100 µg/L é utilizado nos controles de rotina.

A calibração da microbalança utilizada para medir a massa das cápsulas de permeação vazias e carregadas deve ser realizada regularmente por técnico autorizado.

5.6. Transformação de dados, validação e relatório

As saídas de dados dos cromatógrafos a gás são processadas pelo sistema de aquisição de dados computadorizado associado a cada cromatógrafo. De cada cromatograma resulta uma área integrada do pico correspondente ao CH₄ ou ao SF₆. Os picos são identificados por comparação com cromatograma construído com padrões de CH₄ e de SF₆. Em ambos os casos, a validade dos dados é baseada no exame completo de cada cromatograma. Qualquer anormalidade deve ser marcada e a razão de sua ocorrência esclarecida. Decisão sobre a rejeição ou a aceitação de dados deve ocorrer com base em recomendações do pesquisador principal.

As concentrações de CH₄ e de SF₆, bem como as informações pertinentes à amostragem, devem ser tabuladas em planilha eletrônica. Conferência visual de todos os dados digitados deve ser realizada. Qualquer erro deve ser marcado, determinando-se sua fonte. As taxas de emissão de CH₄ são calculadas por meio das

concentrações medidas de CH₄ e de SF₆ e a taxa de emissão conhecida de SF₆, subtraindo-se sempre a concentração de CH₄ medida na canga controle, utilizando a seguinte razão:

$$\text{CH}_4 \text{ (g/h)} = \text{taxa de emissão SF}_6 \text{ (g/h)} \times \{[\text{CH}_4 \text{ (}\mu\text{g/m}^3\text{)}] - [\text{CH}_4 \text{ (}\mu\text{g/m}^3\text{)}]_b\} / [\text{SF}_6 \text{ (}\mu\text{g/m}^3\text{)}]$$

5.7. Controles de qualidade internos

No campo devem ser realizados controles de qualidade diários. O controle de qualidade envolve verificação de tubo de admissão de gases (deve estar desobstruído) e exame cuidadoso de todas as partes de coleta do sistema. Controles de rotina na resposta dos cromatógrafos devem ser realizados todos os dias de trabalho, ou sempre que algum evento (p. ex., queda de energia elétrica) ocorrer durante as análises. Os cromatogramas devem ser examinados quanto a ruídos basais excessivos, picos estranhos ou artefatos. A pressão nas cangas, no final do período de coleta, constitui excelente indicador de problemas de coleta. A pressão final de coleta deve ser de aproximadamente 51 kPa (0,5 atm.). Pressão muito baixa indica obstrução do sistema de admissão de gases, especialmente do filtro ou do tubo capilar, enquanto pressões aproximando de 101 kPa (1 atm.) significam vazamento no sistema.

5.8. Procedimentos específicos de rotina utilizados para verificar precisão, exatidão e perfeição dos dados

A precisão do sistema é medida em termos de desvio padrão do resultado das duplicatas obtido durante as calibrações. A precisão das medidas do cromatógrafo a gás é determinada comparando a

reprodutibilidade dos resultados de análise dos padrões ou referências. Como os padrões de CH₄ e de SF₆ devem ser analisados diariamente, haverá grande número de dados para a determinação estatística (desvio padrão) da precisão. Comparações interlaboratoriais e/ou auditorias devem ser utilizados para garantir a exatidão das análises em cromatógrafo a gás.

5.9. Ações corretivas

Inspeções dos sistemas de coleta e controles de rotina dos cromatógrafos devem ser utilizados para identificar problemas nos sistemas específicos. Decisões em relação a reposição, reparo, limpeza ou recalibração devem ter como base os testes de controle de qualidade e os objetivos da garantia de qualidade determinados previamente.

5.10. Relatórios de garantia de qualidade

Os resultados de garantia de qualidade devem ser resumidos quanto a calibração, controles iniciais e de rotina e em termos de precisão, exatidão e perfeição dos dados de coleta para o período estudado. Esses resultados de garantia de qualidade devem ser incorporados nos trabalhos publicados. Os dados finais de garantia de qualidade devem ser apresentados no relatório final.

6. Tabela de Problemas e soluções

Problema	Possível solução
Taxa de enchimento da canga muito rápida.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Verificar quebras ou rachaduras no PVC ou pontos de colagem. Pressurizar cangas, e submergir em água para observar se há formação de bolhas. 2. Verificar as juntas quanto ao vazamento. 3. Aumentar o comprimento do tubo capilar.
Taxa de enchimento da canga muito lenta.	<p>Verificar entupimento do filtro e/ou do tubo capilar.</p> <p>Verificar as conexões quanto a possíveis bloqueios.</p> <p>Verificar se a válvula da canga está completamente aberta.</p> <p>Reduzir o comprimento do tubo capilar.</p>
A pressão da canga é igual à pressão atmosférica	<ol style="list-style-type: none"> 1. Verificar as conexões quanto ao vazamento. 2. Verificar a canga quanto ao vazamento. 3. Tubo capilar muito curto.
Não houve mudança de pressão ou não ocorre redução de pressão na canga após período de coleta.	<ol style="list-style-type: none"> 1. A válvula estava aberta? 2. Verificar entupimentos do filtro e/ou tubo capilar. Limpar com ar comprimido. 3. Verificar todas as conexões quanto a obstruções.
Não há picos de CH ₄ ou de SF ₆ no cromatógrafo a gás	<ol style="list-style-type: none"> 1. Verificar se todos os componentes necessários às análises estão corretamente ligados, inclusive os gases. 2. Verificar a resposta do equipamento aos padrões. Se o problema persistir, consultar o manual do cromatógrafo a gás.

7. Informações úteis

7.1. Períodos de coleta

Normalmente, realizam-se coletas de 24 h e no mínimo durante 5 dias consecutivos.

7.2. Animais

Devem ser utilizados animais pré-condicionados ao equipamento e o período de condicionamento varia de 3 semanas a 3 meses, para evitar o estresse do animal e conseqüentes problemas de ingestão de matéria seca.

7.3. Ingestão de matéria seca

A maior dificuldade (para melhor utilizar os dados gerados) está na estimativa correta de ingestão de matéria seca, com animais em sistema de pastejo, sem controle direto de ingestão. Esse controle pode ser possível com animais alimentados em baias individuais. Para trabalhos mais específicos, aconselha-se realizar as medições de CH₄ em condições de ingestão controlada de matéria seca. Marcadores, como óxido de cromo e n-alcanos, podem ser utilizados isoladamente ou em conjunto, para estimar o consumo de animais em pastejo, apesar de serem medidas não muito exatas.

7.4. Utilização dos resultados primários

O dado obtido de CH₄ emitido, por minuto ou por dia, deve ser utilizado para fins nutricionais, ou seja, verificar a produção por quilograma de peso vivo animal, porcentagem por quilograma de matéria seca ingerida ou porcentagem de energia digestiva

ingerida, com o objetivo de obter melhor eficiência de conversão alimentar. Para fins de inventário, deve-se calcular a emissão por diferentes categorias animais durante um ano. Dessa forma, torna-se necessário realizar medições em diferentes categorias animais (peso vivo de 100 a 600 kg, além de bezerros, touros e vacas em lactação), para diferentes tipos de alimentos mais utilizados e potencialmente úteis para reduzir a produção de CH₄. Deve-se procurar gerar equações de resposta por tipo de alimento, com base no tamanho do animal ou no escore animal, dentro de cada grupo genético, utilizando a emissão diária de CH₄, em gramas por quilograma de peso vivo.

7.5. Escolha de alimentos

Na escolha dos alimentos puros ou combinados (p. ex., doses crescentes de concentrado de grãos em: silagem de milho, de capim, ou de cana picada), deve-se considerar a digestibilidade da matéria seca, o teor de fibra (FDN e/ou FDA, lignificação da fibra) e de proteína bruta, e a concentração de energia digerível por quilograma de matéria seca, o que permitiria menor ingestão de volume de matéria seca para atender as exigências nutricionais diárias. A qualidade do alimento vai influir na ingestão, no tempo de permanência no rúmen ou na taxa de passagem. Numa possível ordem decrescente de potencial de emissão de CH₄, tem-se: capim tropical fibroso seco com baixa proteína bruta (abaixo de 6%) > que capim tropical novo com elevada proteína bruta > gramínea de baixa fibra ou fibra mais digestiva > silagem de milho ou sorgo > cana picada + concentrado de grãos > leguminosas fibrosas > leguminosas herbáceas > raízes contendo amido (mandioca) e grãos, como sugerido em Kurihara et al. (1999). Grãos ou sementes de oleaginosas concentram elevada energia por unidade

aparece como um alimento que reúne praticamente os dois extremos, devendo ser corrigida com grãos (amido e proteína bruta). A estação do ano e o tipo de manejo da área de pastejo, ou a complementação alimentar dos animais no período seco do ano, deverão condicionar variações nas combinações dessa seqüência de alimentos.

Em condições tropicais chuvosas, o uso de gramíneas forrageiras é uma possibilidade estratégica para produção de leite e de carne de forma barata e competitiva, em 42% do ano agrícola, correspondendo aos cinco meses de chuva, devendo sua substituição por dieta com grãos ser vista com cautela, embora permita reduzir substancialmente a produção de CH₄ por unidade de produto animal, por porcentagem de energia bruta ingerida ou por quilograma de matéria seca ingerida. No período seco do ano, as gramíneas forrageiras tropicais podem ser substituídas vantajosamente por cana-de-açúcar picada + concentrado (devendo ser verificada a porcentagem mais adequada, somente para estimular a ingestão da cana, pois a fibra da cana é de qualidade e digestibilidade muito baixas, porém ela contém alto teor de sacarose), o que permite reduzir significativamente a emissão de CH₄ por quilograma de matéria seca ou energia ingerida. A substituição da matéria seca ingerida por doses crescentes de grãos mostrou que o ponto de máxima resposta quadrática de produção de CH₄ ocorre em torno de 40% de grãos, sugerindo que se deve evitar esse percentual de substituição de matéria seca de gramíneas tropicais quando o objetivo é reduzir a emissão de CH₄ por animal, embora seja normalmente utilizado na alimentação de bovinos especializados na produção de leite, considerando o custo de grãos.

7.6. Interpretação de resultados

Valores elevados de CH₄ podem ser gerados com elevada ingestão de matéria seca rica em fibra e baixa energia digestiva, estimulada com pequena quantidade de grãos. Ou, no caso anterior, o baixo teor de proteína bruta na matéria seca leva a um período de retenção ruminal maior do alimento e digestão de maior quantidade de celulose. Esse fenômeno pode destacar-se no caso de animais com maior tamanho ruminal em relação ao peso vivo, como nos zebuínos jovens ingerindo forragem de gramíneas. Material fibroso de baixa qualidade pode gerar baixo teor de CH₄, motivado por pequena ingestão de matéria seca. Animais que passam períodos de fome, produzem menor quantidade de CH₄ por dia, aumentando a produção à medida que ingerem mais alimento, sendo que esse aumento é menor quando a participação de grãos ou outros materiais com baixa fibra e altamente energéticos é superior a 40% da matéria seca ingerida. Embora animais bem alimentados gerem mais CH₄ do que animais em pastejo com baixa oferta de forragem de qualidade, a produção desse gás de efeito estufa por quilograma de carne e/ou de leite diminui, pois aumenta a produtividade animal, o que é desejável. E essa vantagem é maior quando se utilizam animais com elevado potencial de produção. A comparação entre animais de grupos genéticos diferentes deve considerar o mesmo grau de maturidade e a composição de carcaça, e não a idade ou o peso.

7.7. Outras avaliações

Avaliações de outros parâmetros ruminais são interessantes, como a mensuração de pH e de ácidos graxos voláteis, facilitando as interpretações da produção de metano para cada tipo de dieta, além de permitir a elaboração de modelos matemáticos para estimar a produção do gás.

Outro ponto a ser considerado são os alimentos (pasto adubado, silagem de milho, cana-de-açúcar, grãos de milho e soja, caroço de algodão e outros) produzidos com adubação de forma inadequada, e que podem se constituir em simples transferidores de problemas ambientais, isto é: podem reduzir CH₄ ruminal, mas aumentar a emissão de CO₂, CH₄ ou N₂O nas áreas de produção do alimento, o que deverá ser verificado quando se considera o sistema de produção como um todo. Sugere-se a medição de emissão de gases de efeito estufa nesses sistemas de produção.

7.8. Quebra de equipamentos

Verificou-se que há necessidade de manter estoque de algumas peças de reposição ou emenda, apresentados na lista de peças e ferramentas. Os itens sobressalentes mais comuns são: 2.15 a 2.19, além de cangas sem ferragens, já que elas podem quebrar com animais menos dóceis. O item 2.15 serve para conectar as partes do tubo de PTFE de 1/8", que une o tubo capilar à canga. Providenciar grande número sobressalente de anilhas de 1/16" e 1/8". Grande quantidade de porcas de conexão e anilhas 1/16" é perdida durante a calibração dos tubos capilares.

7.9. Valores de referência de emissão (fatores de emissão ou *emission factor* - EF) de metano

Podem ser encontrados na *home page* do Intergovernmental Panel on Climate Change - IPCC:

<<http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/EFDB/main.php>>

clicar em *find EF*, acionar a segunda opção *Fulltext search using*

O artigo de Kurihara et al. (1999) constitui referência de valores de emissão de metano ruminal por zebuínos que ingerem gramíneas tropicais.

No caso de se desejar outras informações a respeito de gases de efeito estufa, procurar em:

< <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/gp/english/> > Good Practice Guidance, chapter 4, agriculture: < http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/gp/english/4_Agriculture.pdf >
< <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/gl/invs1.htm> >
< <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/gp/gpgaum.htm> > .

No caso de publicações eletrônicas de suporte técnico, procurar em:

< <http://www.ipcc.ch/pub/online.htm> >
< <http://www.ipcc.ch/pub/guide.htm> >
< <http://www.ipcc.ch/pub/reports.htm> >
< <http://www.ipcc.ch/pub/gloss.htm> >
< <http://www.ipcc.ch/pub/support.htm> > .

8. Referências

HOLTER, J. B.; YOUNG, A. J. Nutrition, feeding and calves: methane prediction in dry and lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.75, p.2165-2175, 1992.

JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, 73, p. 2483-2492, 1995.

KURIHARA, M.; MAGNER, T.; HUNTER, R. A.; McCRABB, G. J. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v.81, n.3, p.227-234, 1999.

LASSEY, K. R.; WALKER, C. F.; McMILLAN, A. M. S.; ULYATT, M.J. On the performance of SF₆ permeation tubes used in determining methane emissions from grazing livestock. **Chemosphere-Global Change Science**, 3, p.367-376, 2001.

MIGUEZ, J. D. G. A Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre mudanças do clima e o Protocolo de Quioto. In: LIMA, M. A.; CABRAL, O. M. R.; MIGUEZ, J. D. G. (Ed.) **Mudanças climáticas globais e a agropecuária brasileira**, 2001. p.17-30.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (N.R.C.). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 8. ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 381p.

TAMMINGA, S. Nutritional management of dairy cows as a contribution to pollution control. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.75, n.1, p.345-357, 1992.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Greenhouse gas emissions from agricultural systems: Summary Report. In: PROCEEDINGS OF THE WORKSHOP ON GREENHOUSE GAS EMISSIONS FROM AGRICULTURE. Washington, 1990a.

US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Methane emissions and opportunities for control. In: PROCEEDINGS OF THE WORKSHOP RESULTS OF INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. Washington, 1990b.

WESTBERG, H. H.; JOHNSON, K. A.; COSSALMAN, M.W.; MICHAL, J. J. **A SF₆ tracer technique: methane measurement from ruminants.** 2. rev. Relatório. Pullman-Washington: Washington State University, 1998. 40p.

9. Apêndice

Lista de peças e ferramentas

Item	Descrição	Possível fonte ou Fornecedor	Referência	Contato
VÁCUO				
1.1	Bomba de alto vácuo com 2 estágios, monofásica		S-10	www.symbdbombas.com.br
1.2	Óleo p/ bomba de vácuo	Shell, Mobil, Ipiranga, Texaco	Tellus-68, Turbo-68, Vitrea-68, Talpa-30, Vacuum oil 76, Ipitur-68, Regal-68.	Posto de combustível.
1.3	Manômetro digital portátil, -1 a 1 bar, certificado	Druck do Brasil	DPI 700, display 4 dígitos	www.druck.com.br
APARATO DE DILUIÇÃO				
1.4	Válvula de 3 vias			White Martins
1.5	Regulador pressão de N ₂ , mod. GPS 270-40 (um estágio) c/ manômetro de entrada e de saída, conexão SAWM n.1			White Martins www.praxair.com
1.6	Tubulação de cobre para gases de alta pureza			White Martins
1.7	Nitrogênio 5,0 FID, 99,999% de pureza mínima.			White Martins Air Liquide www.airliquide.com
1.8	Cilindro tipo T de 9 m ³			White Martins
ANÁLISE DE CH ₄ E DE SF ₆				
1.9	Misturas-padrão de 30, 100 e 1.000 ppt SF ₆ + nitrogênio para balanço, cilindro tipo ALC, cap. 0,1 m ³ , válvula CGA 180, 3 reguladores de pressão RCA-MV (41/2x4x51/4).		Por não ser produto de linha, há a necessidade de ser encomenda específica, com certificação	White Martins
1.10	Misturas-padrão de 20 ppm CH ₄ + ar sintético para balanço, em cilindro tipo G com 1 m ³		Idem ao anterior	White Martins
1.11	Regulador de Pressão, RGE mod. GPS-SPL-270-15-4F-4F, c/ manômetro de entrada 0-4000 psig e de saída 2-80 psig			White Martins
1.12	Cromatógrafo a gás HP6890 plus, c/ detetor de ionização de chama (FID) e coluna megabore (0,53 m, 30 mm) Plot HP-AI/M (para CH ₄) e detetor de captura de elétrons (μ-ECD) e coluna megabore HP-MolSiv (para SF ₆), com dois loops de 0,5 mL acoplados a duas válvulas de seis vias	Agilent Technologies	6890 plus, configurado para análise de gases	Agilent Technologies Brasil Ltda. www.worldchempages.com

1.13	Nitrogênio 5,0; 99,999 % de pureza, gás de arraste			White Martins Air Liquide
1.14	Ar sintético 5,0; 99,999% de pureza, para ionização de chama			White Martins Air Liquide
1.15	Hidrogênio 5,0; 99,999% de pureza, para ionização de chama			White Martins Air Liquide
CARGA DA CÁPSULA DE PERMEACÃO				
1.16	Hexafluoreto de enxofre 3,0, Cilindro G (7,7 kg), 99,9% de pureza mínima		5.815.991	White Martins
1.17	Cilindro tipo G medicinal		0986.569	White Martins
1.18	Conexão de saída SAWM n.12 (CR) CGA 590		3.658.392	White Martins
1.19	Regulador de Pressão, RGE mod. GPS-SPL-270-15-4F-4F, c/ manômetro de entrada 0-4000 psig e de saída 2-80 psig		5.515.700	White Martins
CABRESTO AMOSTRADOR				
2.1	Cabresto de náilon p/ touro com 3 fivelas de ajuste + aba de couro			Fabricante de arreios
2.2	Tubo de silicone 8 mm DI; 4 cm			Casa da Borracha
2.3	Tubo PTFE 1/8" (3,2 mm) espessura de 0,9 mm; 1 cm		TB 3216 LN4-T-10201	www.tecnoflon.com.br www.labtron.com.br
2.4	Filtro em latão, em linha, com poros de 15 µm, 1/8", conexão p/ tubo, c/ porcas e anilhas	Swagelok®	B-2F-15	www.tecflux.com.br
2.5	Conexão de redução em latão 1/16" x 1/8" ponta lisa, c/ porcas e anilhas	Swagelok®	B-100-R-2	www.tecflux.com.br; Torneiro de precisão
2.6	União de redução em latão 1/8" x 1/16" (1,6 mm)	Swagelok®	B-200-6-1	www.tecflux.com.br; Torneiro de precisão
2.7	Tubo capilar aço inoxidável 1/16" de DE e 0.005" de DI (0,127 mm); 47 a 150 cm Ou com 0.003" de DI = 14 cm	Alltech Supelco	LN4-V-158 56712-U	www.labtron.com.br www.sovnet.com
2.3	Tubo PTFE 1/8" de DE, espessura 0,9 mm; 75 cm		TB 3216	www.tecnoflon.com.br www.labtron.com.br
2.8	Engate rápido (espiga), aço inoxidável, 1/4" (6,4 mm) x 1/8", sem retenção	Swagelok®	SS-QC4-S-200	www.tecflux.com.br
2.9	Mangueira lonada 9 mm de DE; 190 cm			Casa da Borracha
2.10	Fita isolante 20 mm x 15 m			Comercial elétrica
2.11	Fita Velcro 50 mm x 1 m			Comercial de armários
2.12	Corda náilon 7 mm x 1 m			Comercial agrícola
2.13	Abrçadora Hell, plástica		T-50R	Comercial elétrica

2.14	Cortador de tubo capilar de 1/32" a 1/8"	Alltech	N. 3165, L(45)19	
	Sobressalentes:			
2.15	União em latão 1/8" x 1/8", c/ porcas e anilhas			Torneiro de precisão
2.5	Conexão de redução em latão 1/8" x 1/16" ponta lisa, c/ porcas e anilhas	Swagelok®	B-100-R-2	www.tecflux.com.br; Torneiro de precisão
2.16	Porca em latão, 1/8" de DE	Swagelok®	B-202-1	www.tecflux.com.br; Torneiro de precisão
2.17	Conjunto de anilhas em latão, 1/8" de DE	Swagelok®	B-200-set	www.tecflux.com.br; www.chp.com.br Torneiro de precisão
2.18	Porca em latão, 1/16" de DE	Swagelok®	B-102-1	www.tecflux.com.br; Torneiro de precisão
2.19	Conjunto de anilhas em latão, 1/16" de DE	Swagelok®	B-100-set	www.tecflux.com.br; Torneiro de precisão
		CANGA AMOSTRADORA-ARMAZENADORA		
3.1	Tubo PVC marrom c/ 60 mm de DE, classe 20; 51 cm 2 x	Cardinale, Tigre		Casa do encanador
3.2	Cotovelo de PVC marrom, 60 mm de DI, classe 15 (1x)	Cardinale, Tigre		Casa do encanador
3.3	Cap PVC marrom 60 mm de DI, classe 15 (2 x)	Cardinale, Tigre		Casa do encanador
3.4	Adesivo p/ PVC	Tigre	SD34	Casa do encanador
3.5	Lixa para ferro n.100			Casa do encanador
3.6	Pincel 815 x 18			
3.7	Araldite®, secagem 24 h			
3.8	Válvula de agulha em aço inoxidável c/ obturador não-rotativo, em ângulo, 1/4" rosca macho NPT x 1/4" conexão p/ tubo, c/ porca e anilha	Swagelok®	B-14DKM4-S4-A	www.tecflux.com.br
3.9	Tubo PTFE 1/4" de DE e espessura de 1,2 mm, 10 cm			www.tecnoflon.com.br www.labtron.com.br www.tecflux.com.br
3.10	Corpo p/ engate rápido, fêmea, aço inoxidável, 1/4" x 1/4", c/ porca e anilha	Swagelok®	SS-QC4-B-400	www.tecflux.com.br
3.11	Fita adesiva transparente de empacotador 45 mm x 50 m			Papelaria
3.12	Caneta identificadora de brinco de animais	Focking		Comercial veterinária
	Alternativa para 2.8+3.10			
x.1	Engate rápido 1/4" DI x 1/4" NPT + lado macho		298-PD 0404	www.chp.com.br

x.2	Luva de redução de latão 1/4" x 1/8"		517	www.chp.com.br
x.3	Conector macho latão 1/8" x 1/8" c/ porca e anilha		668	www.chp.com.br
x.4	Anel elástico E12, 1/4"			Casa de parafusos
	Alternativa para 3.8			
x.5	Válvula agulha em latão 1/4" x 1/4" de DE, c/ porca e anilha		912L	www.chp.com.br
x.6	Anilha plástica de 1/4"		660	www.chp.com.br
		CÁPSULA DE PERMEACÃO		
4.1	"Frita" de aço inoxidável, 3/8" de DE (9,53 mm) x 1/16" espessura, 2 µm porosidade	Alltech	LN4-C-414	www.incotech.com.br; www.labtron.com.br www.sovnet.com
4.2	Película PTFE 0,2 mm de espessura			www.tecnoflon.com.br
4.3	Porca em latão 1/4" de DI	Swagelok®	B-402-1	www.teclflux.com.br; Torneiro de precisão
4.4	Corpo em latão, 7/16" (11,1 mm de DE), comprimento de 1,25" (31,75 mm), cavidade com DI = 3/16" (4,76 mm) e profundidade de 25,4 mm, rosca de 10 mm para porca de 1/4" de DI			Torneiro de precisão
		ALTERNATIVA PARA TRANSPORTE DE AMOSTRAS		
5.1	Bomba de vácuo manual com manômetro para -76 cm Hg	Plana	BVM-5000	Material para evacuar fluido de freio
5.2	Mangueira de silicone de 6,4 mm, 8 cm			Casa de mangueiras
5.3	Ponteira de seringa de insulina de 1 mL			Farmácia, Casa de material para laboratórios
5.4	Agulha descartável 25 x 6		n ^o 6	Farmácia
5.5	Seringa descartável de 60 mL			Farmácia, Casa de material para laboratórios
5.6	Frasco tipo penicilina (30 mL) com tampa de borracha e lacre de alumínio			Farmácia, Casa de material para laboratórios
5.7	Tampa de borracha com rosca de 19,1 mm (3/4") , de Vacutainer® grande			Casa de vidraria para laboratório

Agradecimentos

Aos autores Hal. Westberg e Kristen A. Johnson, pelo treinamento técnico e pela autorização de uso de seu manual como base para este documento, em especial a parte que descreve o desenvolvimento da técnica e a sua validação. Ao pesquisador Sérgio P. Braz, da Embrapa Agrobiologia, pelo fornecimento da descrição do método alternativo de acondicionamento de amostras de ar que necessitam ser transportadas até o laboratório situado longe do local de coleta. A Dagmar N. dos Santos Oliveira, Melissa Baccan e Irene D. Schio, pelo apoio técnico no laboratório.



*Pecuária Sudeste
Meio Ambiente*

Parceiros:



Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

