



Ministério da  
**Ciência, Tecnologia  
e Inovação**



sid.inpe.br/mtc-m19/2012/10.17.13.34-NTC

## PROTOCOLO PARA COLETA, ANÁLISE E DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE METANO DISSOLVIDO EM ÁGUAS NATURAIS

Luciano Marani  
Plínio Carlo Alvalá  
Marcelo Gomes da Silva

URL do documento original:  
<<http://urlib.net/8JMKD3MGP7W/3CR7MSS>>

INPE  
São José dos Campos  
2013

## **PUBLICADO POR:**

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais - INPE

Gabinete do Diretor (GB)

Serviço de Informação e Documentação (SID)

Caixa Postal 515 - CEP 12.245-970

São José dos Campos - SP - Brasil

Tel.:(012) 3208-6923/6921

Fax: (012) 3208-6919

E-mail: pubtc@sid.inpe.br

## **CONSELHO DE EDITORAÇÃO E PRESERVAÇÃO DA PRODUÇÃO INTELLECTUAL DO INPE (RE/DIR-204):**

### **Presidente:**

Dr. Gerald Jean Francis Banon - Coordenação Observação da Terra (OBT)

### **Membros:**

Dr<sup>a</sup> Inez Staciarini Batista - Coordenação Ciências Espaciais e Atmosféricas (CEA)

Dr<sup>a</sup> Maria do Carmo de Andrade Nono - Conselho de Pós-Graduação

Dr<sup>a</sup> Regina Célia dos Santos Alvalá - Centro de Ciência do Sistema Terrestre (CST)

Marciana Leite Ribeiro - Serviço de Informação e Documentação (SID)

Dr. Ralf Gielow - Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPT)

Dr. Wilson Yamaguti - Coordenação Engenharia e Tecnologia Espacial (ETE)

Dr. Horácio Hideki Yanasse - Centro de Tecnologias Especiais (CTE)

### **BIBLIOTECA DIGITAL:**

Dr. Gerald Jean Francis Banon - Coordenação de Observação da Terra (OBT)

Marciana Leite Ribeiro - Serviço de Informação e Documentação (SID)

Deicy Farabello - Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPT)

### **REVISÃO E NORMALIZAÇÃO DOCUMENTÁRIA:**

Marciana Leite Ribeiro - Serviço de Informação e Documentação (SID)

Yolanda Ribeiro da Silva Souza - Serviço de Informação e Documentação (SID)

### **EDITORAÇÃO ELETRÔNICA:**

Maria Tereza Smith de Brito - Serviço de Informação e Documentação (SID)

Luciana Manacero - Serviço de Informação e Documentação (SID)



Ministério da  
**Ciência, Tecnologia  
e Inovação**



sid.inpe.br/mtc-m19/2012/10.17.13.34-NTC

## PROTOCOLO PARA COLETA, ANÁLISE E DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE METANO DISSOLVIDO EM ÁGUAS NATURAIS

Luciano Marani  
Plínio Carlo Alvalá  
Marcelo Gomes da Silva

URL do documento original:  
<<http://urlib.net/8JMKD3MGP7W/3CR7MSS>>

INPE  
São José dos Campos  
2013



## RESUMO

A concentração de metano dissolvido na água (MD) e outros gases, como o  $\text{CO}_2$  e o  $\text{O}_2$ , se desviam do equilíbrio com a atmosfera sob a influência da atividade biológica (fotossíntese, respiração aeróbica e anaeróbica e metanogênese). A direção e intensidade destes desvios refletem a importância relativa dos vários processos biológicos que consomem ou produzem cada gás, e fornecem uma indicação da natureza geral do metabolismo aquático. Assim, a observação do metano dissolvido nas águas pode ser usada como indicativo das taxas de produção do gás nos sedimentos e do seu consumo por microrganismos metanotróficos que estariam presentes na coluna d'água. Uma das técnicas mais utilizadas para a obtenção do metano dissolvido, por sua facilidade, simplicidade e confiabilidade alta, é a chamada técnica de "headspace". Neste protocolo, descrevemos os procedimentos para a coleta das amostras, extração do metano dissolvido, análise laboratorial para determinação da quantidade de metano presente nas amostras e finalmente, a determinação da concentração do metano dissolvido em águas naturais.

# **PROTOCOL FOR SAMPLING, ANALISES AND DETERMINATION OF DISSOLVED METHANE CONCENTRATIONS IN NATURAL WATERS**

## **ABSTRACT**

Concentration of dissolved  $O_2$ ,  $CO_2$  and  $CH_4$  in waters deviate from atmospheric equilibrium under the influence of biotic activity, including photosynthesis, aerobic and anaerobic respiration, and methanogenesis. The direction and magnitude of these deviations reflect the relative importance of the various biotic processes that consume or produce gases, and provide an indication of the overall nature of the aquatic metabolism. The measurement of the dissolved methane in waters could be used as a indicator of rates of methane production on sediments and methane consumption on the water column. One of the techniques most used to the measurement of the dissolved methane is the headspace technique. In this protocol, we describe the proceedings for sampling, methane extraction, laboratorial analyses and determination of dissolved methane concentrations in natural waters.

## LISTA DE FIGURAS

	<u>Pág.</u>
Figura 1. (a) Garrafa de Van Dorn, para coletas em diversas profundidades. (b) coleta de água da garrafa de Van Dorn.....	2
Figura 2. Técnica de headspace. (a) coleta da amostra. (b e c) preparação da amostra para aplicação da técnica. (d) repouso para que o equilíbrio seja atingido.....	3
Figura 3. Preparação do frasco de amostragem em campo. (a) Posição da válvula de 3 vias para retirada de ar do frasco. (b) Posição para liberação para a atmosfera.....	4

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Å	Angstrom ( $10^{-10}$ metros)
CH <sub>4</sub>	metano
CO <sub>2</sub>	gás carbônico
FID	do ingles, Flame Ionization Detector (Detector de Ionização de Chama)
m <sub>CH<sub>4</sub></sub>	Massa de metano na amostra
M <sub>CH<sub>4</sub></sub>	Massa molar do metano (16,04 g/mol)
MD	Metano Dissolvido
ml	mililitros
n <sub>CH<sub>4</sub></sub>	número de moles de metano
n <sub>t</sub>	número de moles total na amostra
OH	radical hidroxila
p <sub>CH<sub>4</sub></sub>	pressão parcial de metano
ppbv	partes por bilhão por volume
T	temperatura (em Kelvin)
R	constante dos gases ( $R = 0,082 \text{ atm.l.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ ) e
V	volume
χ <sub>CH<sub>4</sub></sub>	razão de mistura do metano



## SUMÁRIO

	<u>Pág.</u>
<b>1 Introdução</b> .....	1
<b>2 Metodologia</b> .....	2
2.1 Amostragem .....	2
2.1.1 <i>Transferência entre fase líquida e gasosa - Técnica de head-space</i> .....	2
2.1.2 <i>Armazenagem de amostras</i> .....	4
2.2 Análise Laboratorial.....	5
2.3 Determinação do MD.....	5
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	8

## 1 INTRODUÇÃO

Este documento tem como objetivo uniformizar as diretrizes para coleta, análise e determinação das concentrações de metano dissolvido em águas naturais, servindo de orientação à pesquisadores, técnicos e alunos.

O metano (CH<sub>4</sub>) é o hidrocarboneto mais abundante na atmosfera, e assim como o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), é um dos mais abundantes gases do efeito estufa (Seinfeld and Pandis, 1998, Ramanathan et al., 1985). O metano tem importante papel no controle do OH troposférico e atua nos ciclos do O<sub>3</sub> e Cl estratosféricos (Webbles and Hayhoe, 2002).

A maior parte do metano atmosférico é produzido por microrganismos (arqueias) sob condições anaeróbicas, como as encontradas em ambientes tão diversos quanto tratores digestivos de ruminantes e cupins, áreas alagadas utilizadas na agricultura, aterros sanitários e lixões e áreas alagadas naturais ou de origem antrópica (Bartlett et al., 1988; Devol et al., 1988; Bartlett et al., 1990; Webbles e Hayhoe, 2002, Marani e Alvalá, 2007, Alvalá e Marani, 2009).

A maior fonte individual no balanço de metano atmosférico é representada pelas áreas alagadas. Áreas alagadas naturais têm sido largamente estudadas nos últimos anos, evidenciando seu grande potencial de emissão. Grandes represas, particularmente em áreas tropicais, podem constituir uma considerável fonte de metano para a atmosfera, devido à decomposição anaeróbica da vegetação original alagada (Ramos et al., 2006, Marani e Alvalá, 2007; Bambace et al., 2007). Represas têm grande importância no desenvolvimento de diversas nações, sendo responsáveis pelo abastecimento de água potável, controle de inundação/seca dos rios, irrigação de áreas agricultáveis e geração de energia hidrelétrica (Rosa et al., 2004), assim, faz-se necessário estudos do impacto que a formação destes lagos podem ter no conteúdo de metano atmosférico.

Uma ferramenta útil nestes estudos é a observação do metano dissolvido nas águas, que pode ser usado como indicativo das taxas de produção do gás nos sedimentos e do seu consumo por microrganismos metanotróficos que podem estar presentes na coluna d'água. Uma das técnicas mais utilizadas para a obtenção do metano dissolvido, por sua facilidade, simplicidade e confiabilidade alta, é a chamada técnica de "headspace" que será descrita neste protocolo.

Ressalta-se que a metodologia aqui descrita se refere a coletas realizadas em águas naturais, como de rios, lagos e represas, preferencialmente onde a interferência antrópica e os índices de poluição sejam baixos.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Amostragem

#### 2.1.1 Transferência entre fase líquida e gasosa - Técnica de headspace

As amostras de água para a determinação de metano dissolvido podem ser coletadas em diversas profundidades. Para as coletas que não sejam na superfície, recomenda-se a utilização de equipamentos próprios, como a garrafa de Van Dorn, mostrada na Figura 1a. A água deve ser coletada em seringas de poliuretano, de 60 ml, equipadas com válvula de 3 vias. O bico de uma seringa deve ser introduzido na saída de água da garrafa, e a seringa deve ser cheia de forma lenta para evitar que ocorra o aparecimento de bolhas (Figura 1b). Para as coletas de água da superfície, recomenda-se que seja feita diretamente em uma seringa de 60 ml, onde será realizada a extração do metano dissolvido. A ponta da seringa deve estar submersa na água, de forma que não permita a entrada de ar juntamente com a água.



Figura 1. (a) Garrafa de Van Dorn, para coletas em diversas profundidades. (b) coleta de água da garrafa de Van Dorn.

A extração do metano dissolvido da água é feita através da técnica de *headspace* descrita por IOFFE e VITENBERG (1984). Após o enchimento da seringa (Figura 2a), descarta-se água mantendo exatamente 30 ml na seringa (Figura 2b). Mais 30 ml de ar ambiente são acrescentados à seringa (Figura 2c). Esta mistura deve ser agitada continuamente por cerca de 2 minutos e então a mistura deve ser deixada em repouso, na horizontal, por mais 2 minutos (Figura 2d). Como o metano apresenta baixa solubilidade em água, o agitação com ar garante que a maior parte do metano dissolvido seja transferida da fase aquosa para a fase gasosa. Após 2 minutos de repouso, o ar presente na seringa deve ser transferido para um frasco de amostragem previamente preparado.

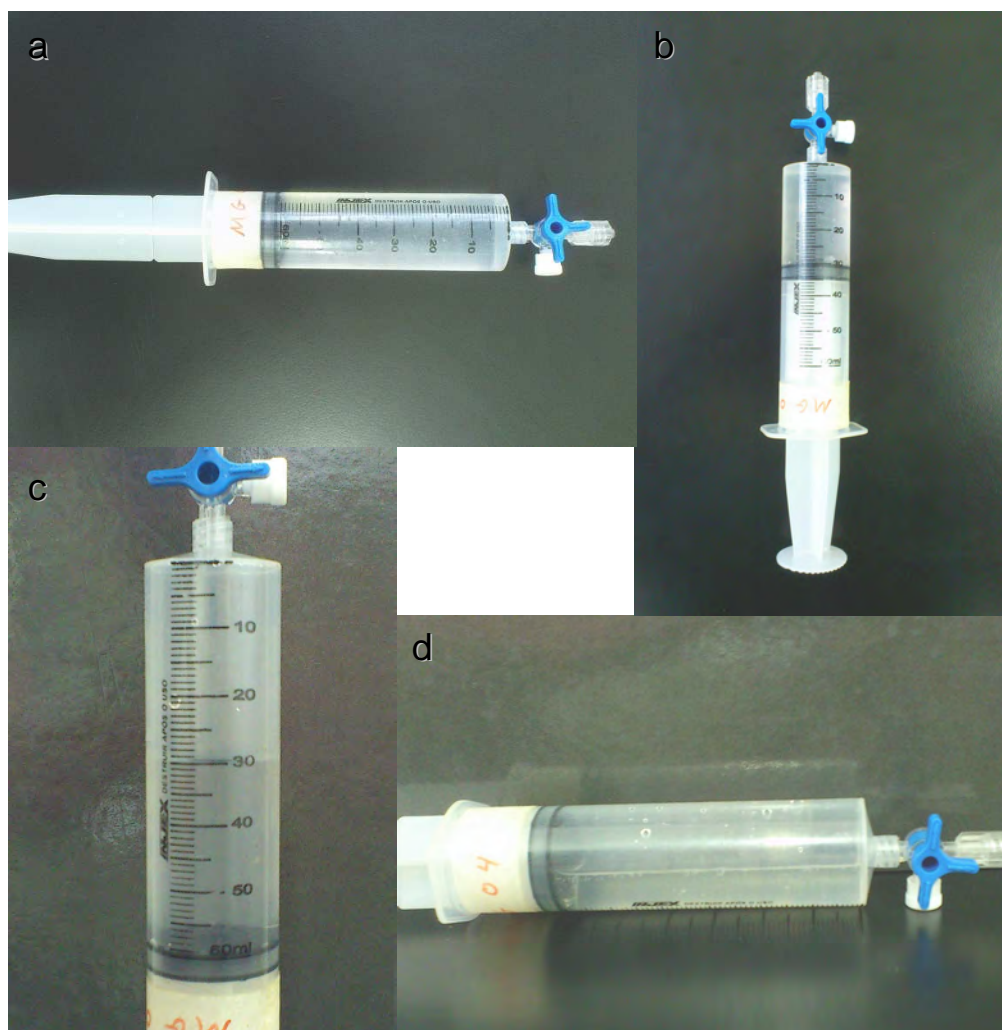


Figura 2. Técnica de headspace. (a) coleta da amostra, (b e c) preparação da amostra para aplicação da técnica, (d) repouso para que o equilíbrio seja atingido.

Também deve ser realizada a coleta de uma amostra de ar ambiente, que terá sua razão de mistura de metano medida. Este valor será utilizado posteriormente para a determinação da quantidade de metano extraída da água.

### 2.1.2 Armazenagem de amostras

Após o período de repouso, os 30 ml da parte gasosa devem ser transferidos para um frasco de vidro borosilicato de 20 ml lacrado com tampa de borracha e lacre de alumínio, afixados com o alicate de recrave, para proporcionar uma boa vedação e maior confiabilidade na amostra. A maior parte do ar interno deve ser retirada no momento da amostragem em campo. Para isso, pode-se utilizar uma seringa equipada com válvula de 3 vias. Insere-se a agulha no frasco lacrado, e com a válvula na posição 1 (Figura 3a) o êmbolo é puxado até o fim, mesmo contra a resistência oferecida, gira-se a válvula para a posição 2 (no sentido anti-horário, até a posição mostrada na Figura 3b) e então o êmbolo é empurrado até o fim, retirando o ar de dentro da seringa, então, girando a válvula no sentido horário, retorna-se à posição 1. O mesmo procedimento deve ser repetido por 10 vezes, quando o ar residual no frasco for mínimo.

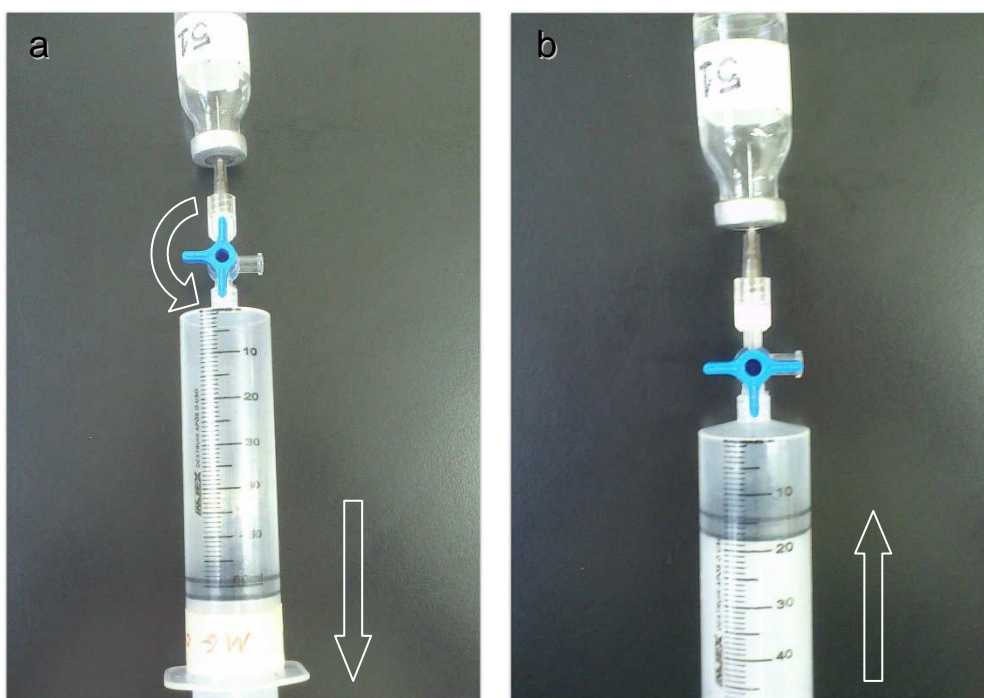


Figura 3. Preparação do frasco de amostragem em campo. (a) Posição da válvula de 3 vias para retirada de ar do frasco. (b) Posição para liberação para a atmosfera.

Os frascos devem ser armazenados ao abrigo do sol e calor da melhor forma possível. No momento da coleta, devem-se obter as temperaturas do ar, da água nas profundidades amostradas e a pressão atmosférica, dados utilizados nos cálculos do metano dissolvido. Testes de laboratório indicam que a análise deve ocorrer em no máximo uma semana após a coleta, para evitar que vazamentos contaminem as amostras.

## 2.2 Análise Laboratorial

No Laboratório de Biogeoquímica Ambiental do Centro de Ciência do Sistema Terrestre (CCST) do INPE, a razão de mistura de metano nas amostras é determinada com um cromatógrafo a gás (Shimadzu, GC-14A), equipado com um detector de ionização de chama (Flame Ionization Detector, FID), um *loop* de amostragem de 2,2 ml e duas colunas empacotadas otimizadas para a análise de metano. A primeira delas é uma coluna de sílica gel (com comprimento de 2,5 metros e 1/8" de diâmetro) e é utilizada para remover o vapor d'água, CO<sub>2</sub> e outros compostos orgânicos pesados das amostras, reduzindo assim o tempo total de análise. A coluna de análise (3 metros de comprimento e 1/8" de diâmetro) é preenchida com peneira molecular de zeolito de 5 Å. O gás padrão utilizado para a calibração tem concentração de 1804 ± 2 ppbv.

## 2.3 Determinação do Metano Dissolvido

O metano dissolvido nas amostras de água coletadas que foi separado do meio aquoso utilizando a técnica de *headspace* é analisado em laboratório através de cromatografia gasosa, obtendo a razão de mistura (ppbv) do metano. Utilizando a lei dos gases ideais, é possível determinar a concentração por litro do metano dissolvido.

Sabendo que:

$$\frac{p_{\text{CH}_4}}{p_t} = \frac{n_{\text{CH}_4}}{n_t} \Rightarrow p_{\text{CH}_4} = \frac{n_{\text{CH}_4}}{n_t} p_t \quad (1.1)$$

Onde  $p_{\text{CH}_4}$  é a pressão parcial do CH<sub>4</sub>,  $p_t$  é a pressão total no momento da análise (pressão atmosférica no laboratório),  $n_{\text{CH}_4}$  é o número de moles de CH<sub>4</sub> na amostra e  $n_t$  é o número total de moles da amostra. Além disso, com

$m_{\text{CH}_4}$  sendo a massa total do metano na amostra e  $M_{\text{CH}_4}$  ( $16,04 \text{ g mol}^{-1}$ ) sendo a massa molar do  $\text{CH}_4$ , temos:

$$n_{\text{CH}_4} = \frac{m_{\text{CH}_4}}{M_{\text{CH}_4}} \Rightarrow m_{\text{CH}_4} = n_{\text{CH}_4} \cdot M_{\text{CH}_4} \quad (1.2)$$

Considerando ainda que:

$$pV = nRT \Rightarrow p_{\text{CH}_4} V = \frac{m_{\text{CH}_4}}{M_{\text{CH}_4}} RT \quad (1.3)$$

Onde  $V$  é o volume da amostra (em litros),  $R$  é a constante dos gases ( $R = 0,082 \text{ atm.l.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ ) e  $T$  é a temperatura (em Kelvin) no momento da análise (temperatura do laboratório), pode-se obter:

$$m_{\text{CH}_4} = \frac{p_{\text{CH}_4} V M_{\text{CH}_4}}{RT} \quad (1.4)$$

$$m_{\text{CH}_4} = \frac{n_{\text{CH}_4}}{n_t} \frac{p_t V}{RT} M_{\text{CH}_4} \quad (1.5)$$

Lembrando que:

$$\chi_{\text{CH}_4} = \frac{n_{\text{CH}_4}}{n_t} \quad (1.6)$$

Temos que:

$$m_{\text{CH}_4} = \frac{p_t V}{RT} M_{\text{CH}_4} \chi_{\text{CH}_4} \quad (1.7)$$



Assim, a concentração (massa/volume) de metano na amostra de ar é:

$$\frac{m_{\text{CH}_4}}{V} = \frac{p_t M_{\text{CH}_4}}{RT} \chi_{\text{CH}_4} \quad (1.8)$$

Lembrando ainda que, na determinação do metano dissolvido na água,  $\chi_{\text{CH}_4}$  é a diferença entre a razão de mistura medida no frasco e a razão de mistura no ar ambiente adicionado à água no momento da coleta (ar ambiente). Como o volume de ar adicionado é igual ao volume de água utilizada (30 ml), a equação 1.8 nos dá diretamente a concentração de metano dissolvido na água.

Como exemplo de cálculo, consideremos um caso em que a razão de mistura obtida de uma amostra seja de 3.272,0 ppbv. Com a razão de mistura da amostra de ar ambiente (também coletado no momento da amostragem) de 2.100,0 ppbv, temos  $\chi_{\text{CH}_4} = 1.172,0$  ppbv (ou  $1.172,0 \times 10^{-9}$ ). Consideremos também a pressão atmosférica e a temperatura no laboratório como sendo 0,97 atm e 27°C (300 K), respectivamente, teremos, a partir da equação 1.8:

$$\frac{m_{\text{CH}_4}}{V} = \frac{(0,97\text{atm}) \times (16,04 \text{ g mol}^{-1})}{(0,082 \text{ atm L mol}^{-1}\text{K}^{-1}) \times (300 \text{ K})} \times (1,172 \times 10^{-9})$$
$$\frac{m_{\text{CH}_4}}{V} = 7,42 \times 10^{-7} \text{ g/L} = 7,42 \times 10^{-4} \text{ mg/L}$$



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVALÁ, P.C.; MARANI, L., Environmental parameters influencing the methane emissions in the Pantanal floodplain, Brazil. **Climate Change and Crops** (ed.S.N. Singh). New York: Springer, p. 133-146, 2009.

BAMBACE, L.A.W.; RAMOS, F.M.; LIMA, I.B.T.; ROSA, R.R., Mitigation and recovery of methane emissions from tropical hydroelectric dams. **Energy**, v. 32, p. 1038-1046, 2007.

BARTLETT, K.B.; CRILL, P.M.; SEBACHER, D.I.; HARRIS, R.C.; WILSON, J.O.; MELACK, J.M., Methane flux from the central Amazonian floodplain. **J. Geophys. Res.**, v. 93, p. 1571-1582, 1988.

BARTLETT, K.B.; CRILL, P.M.; BONASSI, J.A.; RICHEY, J.E.; HARRISS, R.C., Methane flux from the Amazon River floodplain: Emissions during rising water. **J. Geophys. Res.**, v. 95, n. D10, p. 16,773-16,788, 1990.

DEVOL, A.H.; RICHEY, J.E.; CLARK, W.A.; KING, S.L.; MARTINELLI, L.A., Methane emissions to the troposphere from the Amazon floodplain. **J. Geophys. Res.**, v. 93, n. D2, p. 1583-1592, 1988.

IOFFE, B.V.; VITENBERG, A.G., **Head-space analysis and related methods in gas chromatography**. New York: Ed. Wiley, 1984.

MARANI, L.; ALVALÁ, P.C., Methane emissions from lakes and floodplains in Pantanal, Brazil. **Atmospheric Environment**, v. 41, n. 8, p. 1627-1633, 2007.

RAMANATHAN, V.; CICERONE, R.J.; SING, H.B.; KIEHL, J.T., Trace gas trend and their potential role in climate change. **J. Geophys. Res.**, v. 90, p. 5547-5566, 1985.

RAMOS, F.M.; LIMA, I.B.T.; ROSA, R.R.; MAZZI, E.A.; CARVALHO, J.C.C.; RASERA, M.F.F.L.; OMETTO, J.P.H.B.; ASSIREU, A.T.; STECH, J.L., Extreme event dynamics in methane ebullition fluxes from tropical reservoirs. **Geophysical Research Letters**, v. 33, L21404, doi: 10.1029/2006GL027943, 2006.

ROSA, L.P.; SANTOS, M.A.; MATVIENKO, B; SANTOS, E.O.; SIKAR, E, Greenhouse gas emissions from hydroelectric reservoirs in tropical regions. **Climatic Change**, v. 66, p. 9-21, 2004.

SEINFELD, J.H.; PANDIS, S.N., **Atmospheric chemistry and physics**: from air pollution to climate change. New York: John Wiley & Sons, Inc, 1998.

WUEBBLES, D.J.; HAYHOE, K., Atmospheric methane and global change. **Earth-Science Reviews**, v. 57, p. 177-210, 2002.