

A importância do software na análise dos resultados em GC×GC: estudo comparativo dos softwares GCImage™ e ChromaTOF™

The software importance in analysis by GC×GC: comparative study of software GCImage™ and ChromaTOF™

Jaderson K. Schneider¹

Michele E. da Cunha¹

Márcia C. Brasil¹

Maria E. Machado¹

Rosângela A. Jacques¹

Elina B. Caramão^{1,2,3*}

¹Instituto de Química —UFRGS,
Av. Bento Gonçalves, 9500, 91501-960
Porto Alegre, RS, Brasil

²INCT-EA—Instituto Nacional de Ciência
e Tecnologia em Meio Ambiente,
Salvador, BA, Brasil

³UNIT-PBI – Programa de Pós Graduação
em Biotecnologia Industrial,
Universidade Tiradentes,
Aracaju, SE, Brasil

*elina@ufrgs.br

Recebido: 09-03-2016

Aceito: 12-04-2016

Resumo

A cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) é uma técnica que permite a separação e identificação de compostos com desempenho superior à cromatografia gasosa monodimensional (1D-GC). A GC×GC gera um número considerável de dados, os quais precisam de uma potente ferramenta computacional para a correta identificação dos compostos. Neste contexto, o uso de softwares adequados e altamente especializados se torna o coração da análise. Este trabalho objetivou comparar a eficiência de dois diferentes softwares, ChromaTOF™ e GCImage™ na identificação de compostos presentes em uma amostra de bio-óleo de palha de cana-de-açúcar analisado em um sistema GC×GC/TOFMS. O tratamento de dados no ChromaTOF™ foi realizado fornecendo as seguintes condições, largura de pico na ¹D: 10 s; largura de pico na ²D: 0,2 s; razão sinal/ruído: 3 e intervalo de massas: 40-550 u.m.a. Para o tratamento da mesma amostra no GCImage™, foi necessário informar apenas o período de modulação, que foi 10 s. Em ambos os softwares empregou-se a biblioteca NIST MS Search versão 2.0. O total de compostos tentativamente identificados foi de 324 aplicando o ChromaTOF™ e de 271 aplicando o GCImage™. A diferença de 53 compostos pode ser atribuída principalmente à ferramenta de deconvolução espectral presente no software ChromaTOF™, a qual é realizada automaticamente no processamento com este software e, manualmente, por opção do operador, no GCImage™. O ChromaTOF™ identificou um número maior de compostos pertencentes às classes de cetonas e açúcares, em grande parte, identificados por deconvolução espectral. A partir do estudo comparativo pode-se concluir que a identificação de dados obtidos em um GC×GC/TOFMS deve ser realizada no software ChromaTOF™ para um resultado mais preciso, entretanto, quando o objetivo do trabalho for uma caracterização geral da amostra, pode-se empregar o GCImage™.

Palavras chave: ChromaTOF™, GCImage™, tratamento de dados, comparação de softwares.

Abstract

Comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC) is a technique that allows the separation and identification of compounds with higher performance than the one-dimensional gas chromatography (GC-1D). The GCxGC generates a considerable amount of data, which need a powerful computational tool for the identification of compounds. In this context, the use of suitable software and highly specialized becomes the heart of the analysis. This study aimed to compare the efficiency of two different software, GCImage™ and ChromaTOF™ in the identification of compounds present in a sample of bio-oil of sugarcane straw analyzed in a GCxGC/TOFMS system. The data processing was performed in ChromaTOF™ using the following conditions, peak width in 1D: 10 s; peak width in 2D: 0.2 s; signal / noise ratio: 3 and mass range: 40-550 Daltons. For the treatment of the same sample GCImage™, it was only necessary to inform the modulation period, which was 10 s. In both softwares, the library used was NIST MS Search version 2.0. The total amount of compounds tentatively identified applying ChromaTOF™ was 324 while using GCImage™, only 271 peaks were identified. The difference of 53 compounds can be mainly attributed to spectral deconvolution present in ChromaTOF™ software tool, which is automatically performed in this software and manually, at the option of the operator, in the GCImage™. The ChromaTOF™ identified a higher number of compounds belonging to the classes of ketones and sugars, in large part, identified by spectral deconvolution. The ChromaTOF™ identified a higher number of compounds belonging to the classes of ketones and sugars, in large part, identified by spectral deconvolution. From the comparative study it can be concluded that the data identification obtained in a GCxGC/TOFMS must be held in ChromaTOF™ software for a more precise result. However, when the research aims a general characterization of the sample, it can employing the GCImage™ with good results.

Keywords: ChromaTOF™, GCImage™, data processing, software comparison.

1. Introdução

A cromatografia em fase gasosa bidimensional abrangente (GCxGC) gera uma quantidade considerável de dados e necessita de uma ferramenta computacional muito poderosa para fazer o processamento desses dados, de modo a se obter resultados confiáveis. Com esta finalidade existem softwares como o ChromaTOF™ (Leco Company), desenvolvido para o processamento e tratamento de dados obtidos exclusivamente pelo equipamento GCxGC/TOFMS da Leco, e softwares ditos “universais”, como GCImage™ (Zoex, Houston, TX, USA), aplicado no processamento e tratamento de dados originados de equipamentos de diversas marcas. Estes dois softwares citados possuem recursos como a ferramenta de deconvolução espectral, que auxilia na identificação de analitos que coeluíram durante a análise cromatográfica, proporcionando maior exatidão na identificação de compostos.

A coeluição é bastante observada em análises de amostras como o bio-óleo, uma mistura complexa com mais de quatrocentos compostos orgânicos oxigenados, como aldeídos, cetonas, açúcares, furanos, ácidos carboxílicos, fenóis, entre outros. Este óleo

apresenta potencial para ser empregado como fonte de comodites químicos, na geração de energia, na produção de compostos químicos e resinas e na manufatura de adesivos^[1-6].

Assim, a compreensão da composição química do bio-óleo possibilita a seleção e manuseio correto do mesmo, assim como a condição adequada para sua utilização e estocagem^[7-16].

Frequentemente as análises, a separação e identificação de bio-óleos são desenvolvidas através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC/qMS)^[17-27].

Dependendo da biomassa original, o perfil cromatográfico do bio-óleo pode mostrar uma complexidade ainda mais elevada, sendo indicado o uso da cromatografia em fase gasosa bidimensional abrangente, uma técnica relativamente nova e amplamente aplicada a amostras petroquímicas nos últimos anos^[8,28-31].

Existem diversos estudos que utilizam a cromatografia gasosa bidimensional abrangente com detector

de espectrometria de massas com analisador por tempo de voo - Time-of-Flight Mass Spectrometry (GC×GC/TOFMS) e analisador quadrupolar (GC×GC/qMS) para a análise de bio-óleo, relatando resultados satisfatórios^[32-35].

Moraes^[10] e colaboradores identificaram em uma amostra de bio-óleo de palha de cana-de-açúcar, ácidos, éteres, aldeídos, cetonas e fenóis por GC×GC/TOFMS utilizando o software exclusivo ChromaTOFTM. Em outro trabalho, Moraes^[36] empregou a GC×GC/TOFMS e o software ChromaTOFTM na análise qualitativa de amostras de bio-óleos de casca de arroz e caroço de pêssego, identificando 106 compostos no bio-óleo de casca de arroz e 223 compostos no bio-óleo de caroço de pêssego. Entre os compostos identificados para as duas amostras foram encontrados fenóis, ácidos, cetonas, aldeídos e éteres entre outros oxigenados.

Também foi relatada a aplicação da GC×GC/qMS utilizando o software universal GCImageTM na análise qualitativa de bio-óleo de palha de cana-de-açúcar, identificando tentativamente 331 compostos e confirmando 166 destes por índice de retenção. Entre estes compostos foram encontradas cetonas, fenóis, açúcares, ácidos, aldeídos e éteres^[32].

Em outro estudo Schneider^[35] relatou a identificação de 130 compostos no bio-óleo da serragem, aplicando o GCImageTM para o tratamento de dados obtidos por GC×GC/qMS. Os compostos identificados pertencem majoritariamente às classes de fenóis e cetonas, mas foram encontrados também ácidos, ésteres, éteres, álcoois e hidrocarbonetos.

A técnica 2D-GC proporciona vantagens em relação à 1D-GC, entre elas se destaca um aumento da capacidade dos picos, o que gera uma melhor separação entre analitos e aumento na detectabilidade, devido ao estreitamento das bandas cromatográficas decorrente da modulação. Apesar do ganho da técnica, em amostras complexas pode-se observar a ocorrência de co-eluições tanto na primeira quanto na segunda dimensão. Para acompanhar essa evolução, é fundamental a utilização

de softwares capacitados, que podem resolver problemas como a coeluição, além de oferecerem um processamento de dados efetivo, possibilitando a extração de todas as informações disponíveis das amostras analisadas^[28,37-39].

Neste trabalho foram aplicados os softwares ChromaTOFTM e GCImageTM para o processamento de dados de uma amostra de bio-óleo de palha de cana-de-açúcar, analisada por um equipamento GC×GC/TOFMS - Pegasus/Leco, para comparar o potencial de cada um com relação a número de compostos processados e identificados e também suas capacidades em relação a deconvolução espectral, que resolve coeluições.

2. Experimental

2.1. Amostra

A amostra empregada neste trabalho foi uma solução de bio-óleo de palha de cana-de-açúcar, com concentração de 1000 mg L⁻¹ em diclorometano (JT Baker e Sigma Aldrich). O bio-óleo foi obtido por processo de pirólise rápida de biomassa de palha de cana-de-açúcar da região de São Paulo (cedido pela empresa Petrobras).

2.2. Análise por GC × GC/TOF-MS

O bio-óleo foi analisado em um GC×GC Agilent 6890N (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA) equipado com um detector de espectrometria de massas por tempo de voo (TOFMS - Pegasus IV, (LECO, St. Joseph, USA) e um amostrador automático Combi PAL (CTC Analytics AG, Zwingen, Suíça). O cromatógrafo é equipado com um forno secundário e modulador térmico de quatro jatos (quad-jet, LECO, St. Joseph, MI, EUA). As seguintes colunas foram empregadas na primeira e segunda dimensão, respectivamente, uma coluna DB-5 (60 m x 0.25 mm d.i. x 0.10 µm de e.f.) e uma DB-17 (2.15 m x 0.18 mm d.i. x 0.18 µm de e.f.), ambas Agilent Technologies (J&W Scientific, Agilent, Folsom, CA, USA). A programação de temperatura foi de 60 °C por 1 min e então uma taxa de aquecimento de 4 °C min⁻¹ até 280 °C onde permaneceu por 15 min. A diferença de temperatura entre o primeiro e do segundo forno (ΔT) foi de 10 °C. O injetor foi operado no modo

splitless, a uma temperatura de 280 °C. As temperaturas do detector e da interface foram de 280 °C, mantendo o fluxo He 99,999% (Linde Gases, Canoas, RS, Brasil) em 1 mL min⁻¹. A faixa de varredura de massas foi de 40 a 550 Daltons. e a velocidade de aquisição de dados foi de 100 Hz. O período de modulação (P_M) utilizado foi de 10s.

2.3. Processamento de dados

O processamento dos dados foi realizado nos softwares ChromaTOF™ (Leco company) e GCImage™ (Zoex, US). Em ambos a identificação dos compostos foi executada empregando-se a biblioteca NIST MS Search versão 2.0. Foram considerados tentativamente identificados aqueles compostos com similaridade entre o espectro de massas obtido na análise e o espectro de massas da biblioteca superior a 700.

2.3.1. Processamento de dados no software ChromaTOF™

O processamento da amostra no software ChromaTOF™ foi realizado conforme a Figura 1. Inicialmente selecionou-se a opção process data (a), após

selecionou-se a amostra a ser processada (b), e então selecionou-se o método de processamento previamente definido (c).

Os parâmetros de processamento usados no ChromaTOF™, após otimização, foram largura do pico na ¹D de 10 s, e na ²D de 0,2 s, razão sinal/ruído de 3 e faixa de massa de 40 a 550 u.m.a, número de picos detectados igual a 1000. A largura da base do pico é o que limita o processamento dos dados, quanto menor a área aplicada, maior o número de picos processados. A identificação dos picos, após processamento é identificada por um ponto preto no diagrama de cores.

2.3.2. Processamento de dados por GCImage™

O processamento de dados no software GCImage™ foi realizado seguindo os passos apresentados na Figura 2. Primeiro selecionou-se a opção *import*, Figura 2a, selecionou-se a amostra desejada, Figura 2b, e na sequência informou-se o período de modulação de 10 s, Figura 2c.

Após selecionar a amostra, partiu-se para a etapa de processamento. As etapas empregadas estão

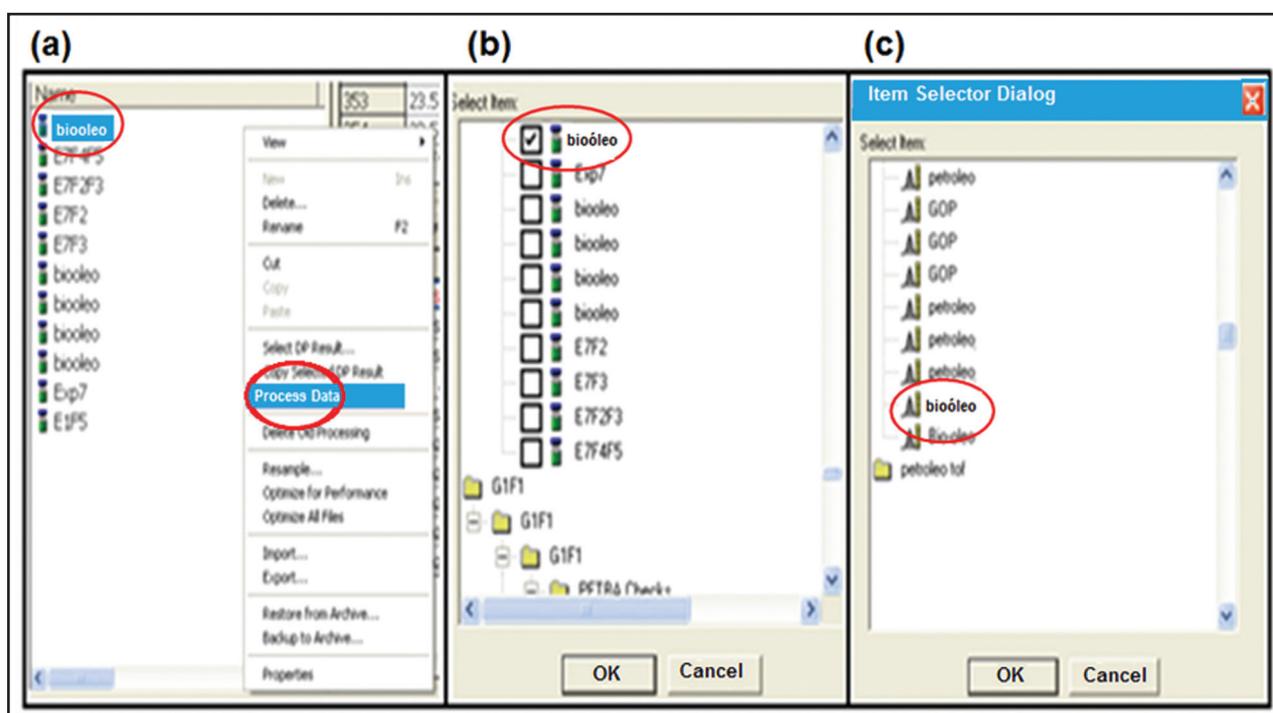


Figura 1. Etapas do processamento da amostra no software ChromaTOF™.

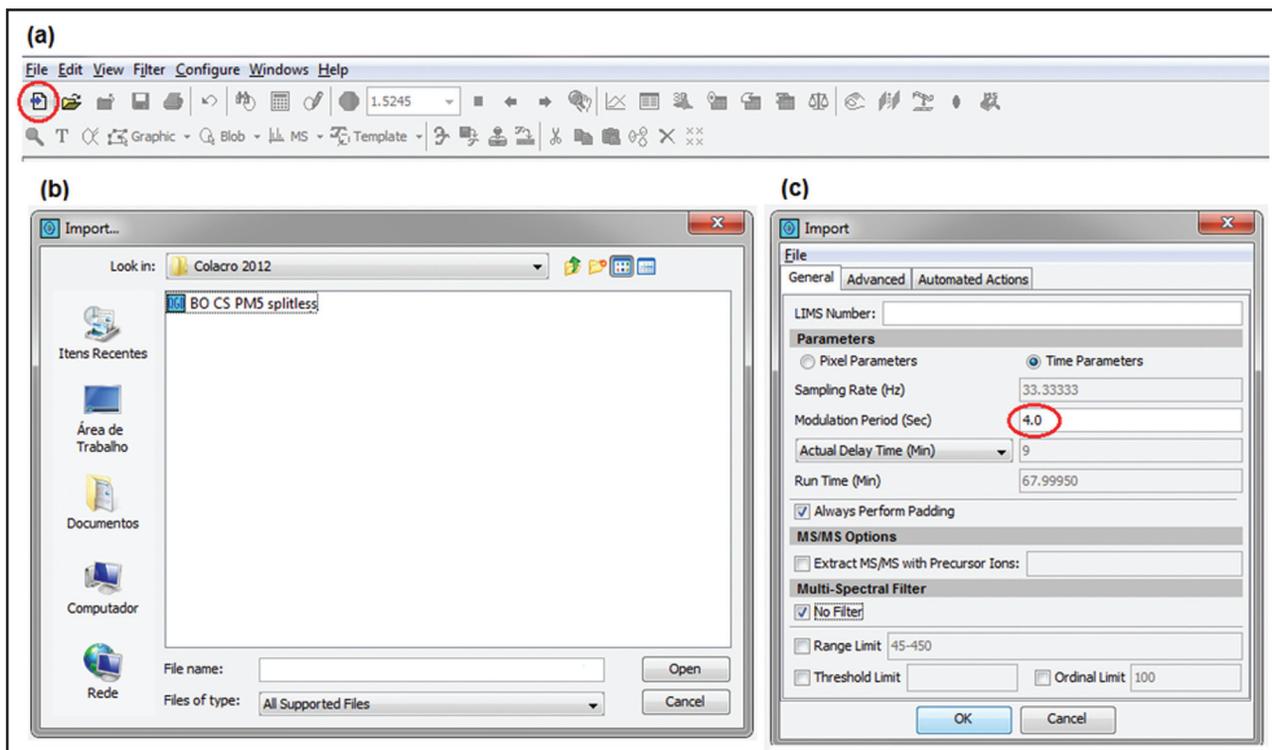


Figura 2. Etapa de seleção da amostra no software GCImage™.

demonstradas na Figura 3. Primeiramente, selecionou-se a opção configure, opção settings e, em seguida blob detection conforme Figura 3a. Informou-se a área mínima de 15, o volume mínimo de 15 e a altura mínima do pico igual a 10, Figura 3b. Com estas informações, o software realiza o processamento. Ainda, há uma última etapa que é a integração dos picos, chamados “blobs” (região de pixels dos pontos de dados referentes aos analitos) Figura 3c.

2.3.3. Tratamento de dados no software ChromaTOF™

Após a etapa de processamento, o software ChromaTOF™ gera uma tabela de picos, Peak Table, Figura 4a, onde são mostrados os picos detectados pelo software e informações como o tempo de retenção na primeira e na segunda dimensão, similaridade entre o espectro de massas obtido no processamento da amostra, o espectro de massas da biblioteca NIST, área do pico, massa molar do composto, entre outras informações. Os picos detectados são indicados por pontos pretos no diagrama de cores (Figura 4b). Outras informações

empregadas na identificação dos compostos foram a Hit Table, Library Hit e fórmula do composto, Figura 4c, 4d e 4e, respectivamente, que informam as possibilidades de compostos para o pico selecionado.

2.3.4. Tratamento de dados GCImage™

Para o tratamento de dados no GCImage™, selecionou-se uma Blob e abriu-se o seu espectro de massas, Figuras 5a e 5b. Pesquisou-se na biblioteca selecionando a opção Search Library, Figura 5b, e comparou-se o espectro do analito com os espectros da biblioteca a fim de obter a maior similaridade na identificação tentativa dos compostos. Outras ferramentas que auxiliaram nesta identificação foram a fórmula estrutural, o peso molecular e a intensidade dos fragmentos do espectro de massas, Figura 5c.

Após a identificação tentativa de cada composto, o mesmo foi enviado para a Blob Table, Figura 6, que consiste em uma tabela que contém informações de cada composto como nome, tempos de retenção na primeira e segunda dimensão, similaridade, volume do pico, peso e fórmula molecular, número da blob, dentre outras.

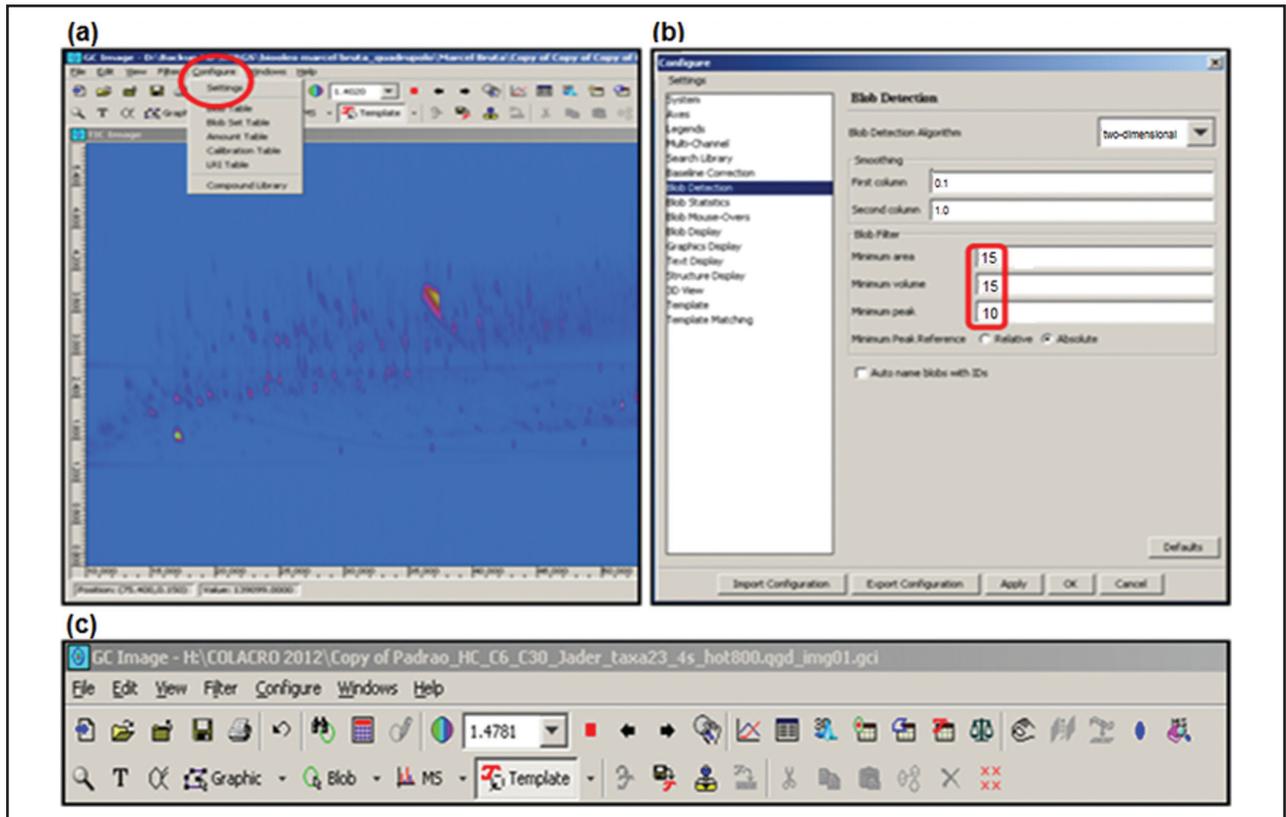


Figura 3. Etapas do processamento da amostra no software GClmage™.

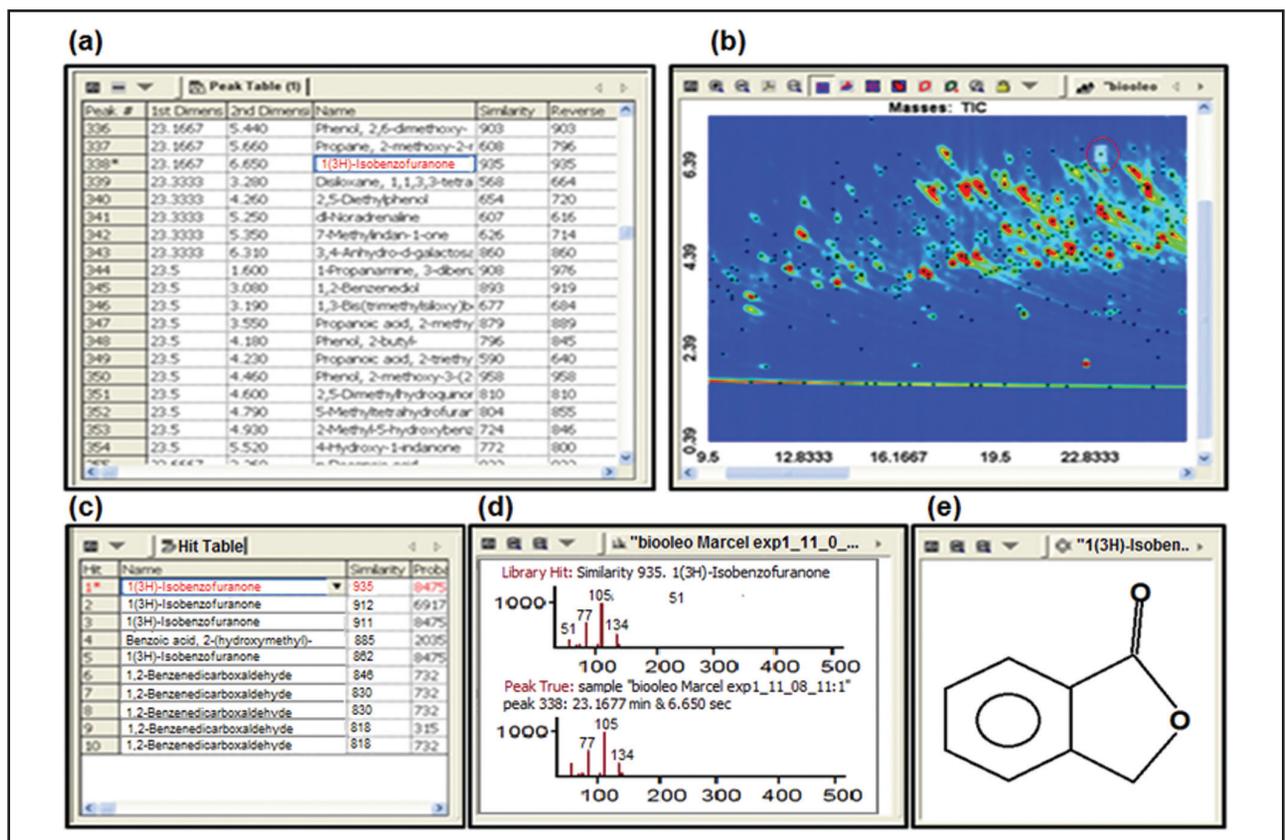


Figura 4. Sequência ilustrativa do tratamento de dados no ChromaTOF™.

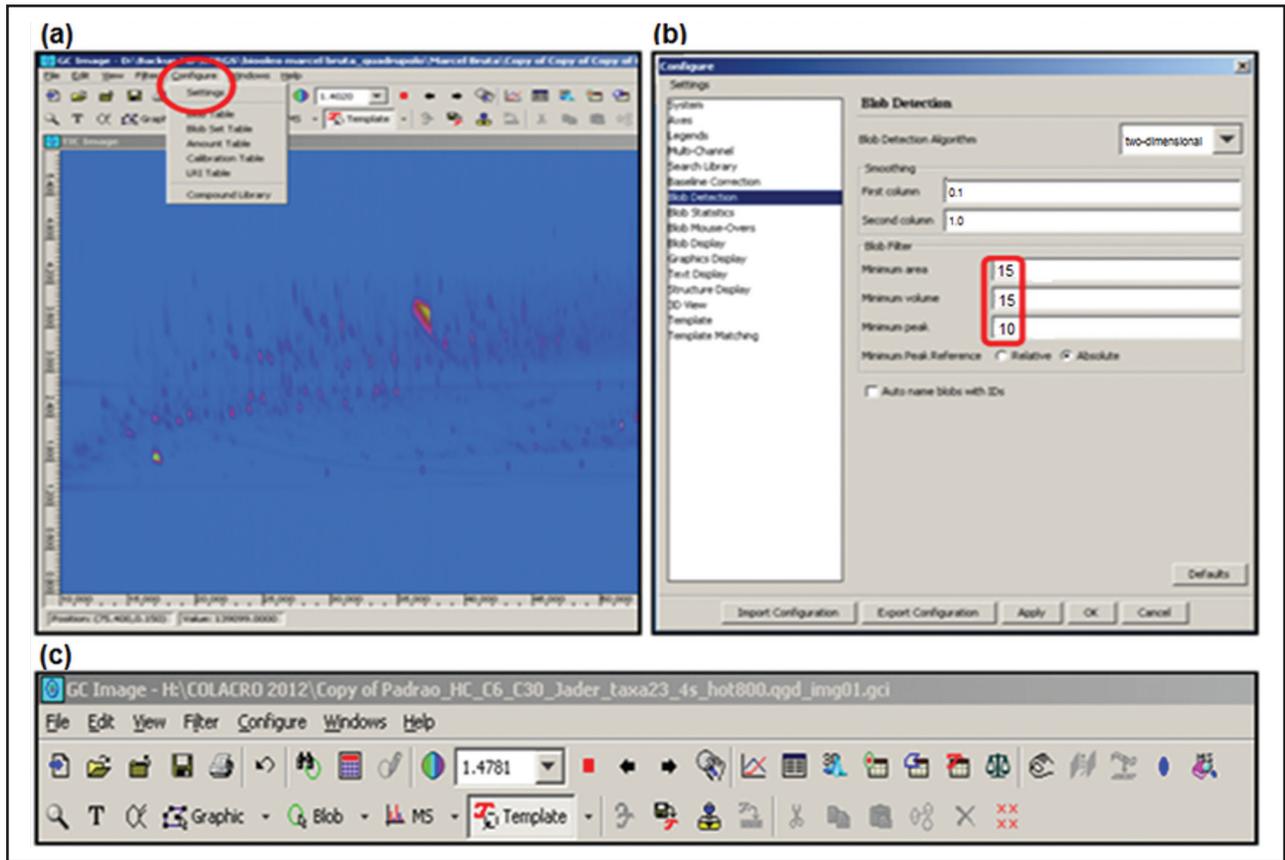


Figura 5. Sequência ilustrativa do tratamento de dados no software GCImage™.

BlobID	Compound Name	Group Name	Inclusion	Peak I (min)	Peak II (sec)	Library Formula	Library Reverse Match Factor	Area	Peak Value	Volume
20	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	fenol	✓	27.70	2.52	C9H12O2	869	68,6331,478...	38,964,578.00	
34	Benzaldehyde, 4-hydroxy-	aldeido	✓	42.90	3.48	C9H10O4	783	70,4744,991...	43,678,137.00	
112	Methoxy-4-vinylphenol	fenol	✓	29.20	2.70	C9H10O2	871	66,6990,412...	46,803,268.00	
194	Phenol, 4-(2-propenyl)-	fenol	✓	26.50	2.58	C9H10O	833	18,1286,749...	8,398,776.00	
9	Vanillin	oxigenado	✓	32.90	3.12	C8H8O3	828	50,7493,230...	44,986,459.00	
84	Acetophenone, 4'-hydroxy-	fenol	✓	34.50	3.18	C8H8O2	783	26,2815,444...	14,959,532.00	
466	l-Gala-l-ido-otose	acucar	✓	30.80	3.12	C8H16O8	833	24,690,641.00	7,090,712.00	
213	2,4-Dimethoxyphenol	fenol	✓	31.20	2.76	C8H10O3	736	33,1215,923...	11,001,030.00	
18	Phenol, 2,6-dimethoxy-	fenol	✓	30.80	3.60	C8H10O3	823	195,5620,419...	99,808,214.00	
59	Phenol, 3,4-dimethoxy-	fenol	✓	30.80	2.97	C8H10O3	809	30,3618,630...	16,686,390.00	
354	2,3-Dimethylhydroquinone	fenol	✓	30.80	2.73	C8H10O2	827	18,833,836.00	6,099,998.00	
23	2-Methoxy-5-methylphenol	fenol	✓	24.00	2.49	C8H10O2	878	88,6164,152...	54,283,042.00	
101	4-Ethylcatechol	alcool	✓	32.10	2.73	C8H10O2	833	93,2522,853...	33,827,081.00	
7	Phenol, 3-ethyl-	fenol	✓	22.70	2.43	C8H10O	865	60,8715,257...	67,131,014.00	
108	1,2-Benzenediol, 3-metho...	alcool	✓	26.90	2.85	C7H8O3	873	42,2102,948...	18,748,696.00	
82	1,2-Benzenediol, 3-methyl-	alcool	✓	26.80	2.70	C7H8O2	888	46,2904,968...	27,364,020.00	
47	1,2-Benzenediol, 4-methyl-	alcool	✓	28.10	2.73	C7H8O2	925	55,4247,950...	34,165,923.00	
179	1,3-Benzenediol, 2-methyl-	alcool	✓	30.40	3.06	C7H8O2	845	48,1390,560...	14,733,828.00	
189	1,4-Benzenediol, 2-methyl-	alcool	✓	30.40	4.05	C7H8O2	912	128,1198,664...	22,622,269.00	
144	Phenol, 2-methyl-	fenol	✓	17.90	2.28	C7H8O	786	102,1753,898...	33,645,377.00	
39	Phenol, 4-methyl-	fenol	✓	18.70	2.34	C7H8O	885	75,4815,508...	51,812,086.00	
42	Benzaldehyde, 4-hydroxy-	aldeido	✓	31.20	3.12	C7H6O2	863	66,4441,722...	38,699,490.00	
14	1-Methoxy-1-methyl-1-sil...	siloxano	✓	33.40	2.73	C7H16O5Si	716	46,6417,086...	47,749,553.00	
97	d-Glicero-d-ido-heptose	acucar	✓	26.50	2.85	C7H14O7	718	45,2410,270...	28,248,465.00	
130	2-Cyclopenten-1-one, 3-e...	cetona	✓	20.70	2.43	C7H10O2	912	59,2018,604...	22,720,956.00	
25	1,4:3,6-Dianhydro-d-glu...	acucar	✓	24.80	3.21	C6H8O4	848	121,5637,615...	63,427,693.00	
50	3,4-Anhidro-d-galactosano	acucar	✓	25.60	3.15	C6H8O4	822	54,3980,314...	38,224,776.00	
26	1,2-Cyclopentanedione, 3...	cetona	✓	16.90	2.37	C6H8O2	866	107,5859,579...	80,617,128.00	
10	1,2-Benzenediol	alcool	✓	24.10	2.67	C6H6O2	846	65,7969,600...	57,460,570.00	
173	Hydroquinone	fenol	✓	27.40	3.03	C6H6O2	871	38,1438,773...	14,499,542.00	
99	Resorcinol	alcool	✓	27.30	4.08	C6H6O2	870	162,2257,076...	38,242,232.00	
58	Phenol	fenol	✓	15.00	2.16	C6H6O	853	101,3663,911...	63,251,881.00	
1066	2-Hexanone, 6-hydroxy-	oxigenado	✓	13.50	2.19	C6H12O2	748	49,375,295.00	11,851,644.00	
5	1,6-Anhidro-8-D-glicopyr...	acucar	✓	37.20	3.81	C6H10O5	870	452,9902,670...	1,015,727,831...	
1181	Docosanoic acid, 1,2,3-pr...	✓	✓	99.10	4.08	C69H134O6	750	89,305,116.00	10,450,398.00	
77	(S)-(+)-2',3'-Dideoxyribon...	furano	✓	23.90	3.54	C5H8O3	932	98,2875,207...	37,279,562.00	
120	Pentanoic acid, 4-oxo-	cetona	✓	17.80	2.52	C5H8O3	818	65,2044,757...	35,854,073.00	
146	2(5H)-Furanone	furano	✓	13.10	2.58	C4H4O2	790	121,1627,539...	34,947,738.00	
32	1-Heptacosanol	alcool	✓	82.30	3.72	C27H56O	874	172,4768,436...	70,629,312.00	
525	1-Heptacosanol	alcool	✓	46.40	1.95	C27H56O	846	54,708,425.00	14,349,411.00	

Figura 6. Figura ilustrativa da tabela de picos (Blob Table) identificadas após tratamento da amostra.

3. Resultados e Discussão

3.1. Comparação dos dados obtidos no software ChromaTOF™ e GCImage™

Os diagramas de cores gerados após o processamento de dados em ambos os softwares, ChromaTOF™ e GCImage™ podem ser visualizados, respectivamente, na Figura 7a e 7b. Pode-se observar uma grande similaridade visual entre os dois diagramas. As classes de compostos fenóis, cetonas e hidrocarbonetos foram identificadas em ambos os softwares, confirmando a eficiência do GCImage™ como uma possível opção de softwares de tratamento de dados.

Com relação ao número de compostos tentativamente identificados, verificou-se que o ChromaTOF™ foi mais eficiente, com 324 compostos, no GCImage™ foram 271 compostos. No total, observou-se uma diferença de 53 compostos entre os softwares. Este resultado pode ser explicado por se tratar de uma amostra que foi analisada no GCxGC/TOFMS, sendo o ChromaTOF™ o software padrão indicado para tal tratamento. Entretanto, o custo associado a este programa é alto quando comparado ao GCImage™, sendo importante a busca por softwares alternativos com eficiência similar ao padrão.

3.2. Comparação detalhada de acordo com as classes químicas de compostos entre os softwares

Os compostos foram classificados de acordo com as seguintes classes químicas: hidrocarbonetos, fenóis, cetonas, aldeídos, álcoois, éteres, ésteres, derivados de açúcares e ácidos (Tabela 1). As funções mistas foram consideradas, de acordo com o nome oficial do composto: Por exemplo, hidróxi benzaldeído, classificado com aldeído; hidróxi hexanona, classificada como cetona, metóxi furano, classificado com éter.

Resultados semelhantes, com relação a perfil cromatográfico, número de compostos e classes químicas, foram relatados em trabalhos que utilizaram o GCxGC/TOFMS – Pegasus para análise de bio-óleo e o software ChromaTOF™ para o tratamento de dados^[10]. Da mesma forma, são relatados resultados similares quando o bio-óleo foi analisado por GCxGC/qMS e os dados obtidos tratados com o software GCImage™^[32,35].

Conforme pode ser observado na Tabela 1, para ambos os softwares, os compostos majoritários foram cetonas, derivados de açúcares e hidrocarbonetos.

De acordo com a Tabela 1, pode-se observar que nas classes de ácidos, álcoois, ésteres e hidrocarbonetos

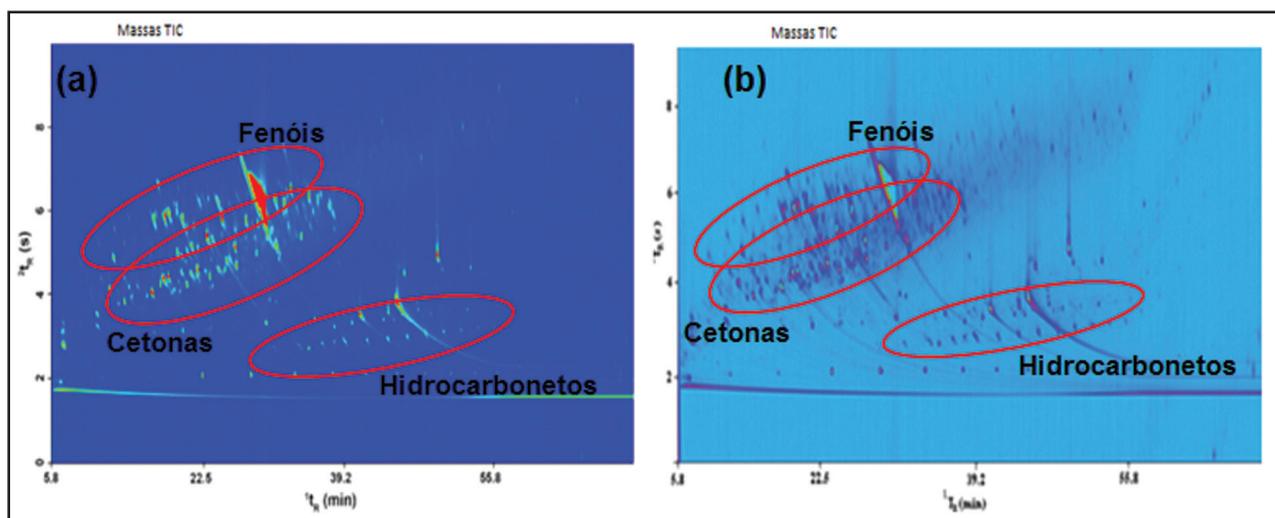


Figura 7. Diagrama bidimensionais da amostra analisada no (a) ChromaTOF™ e no (b) GCImage™.

Tabela 1. Comparação entre o número de compostos tentativamente identificados por classe química no software ChromaTOFTM e GCImageTM.

Classes Químicas	ChromaTOF TM	GCImage TM	Diferenç�
�cidos	29	30	1
Derivados de Aç�cures	65	29	36
�lcoois	30	30	0
Aldeídos	15	13	2
Cetonas	70	54	16
�steres	29	30	1
�teres	20	25	5
Fenóis	40	31	9
Hidrocarbonetos	35	36	1
Total	324	271	

Tabela 2. Número de compostos identificados segundo as classes químicas, apenas pelo ChromaTOFTM, apenas pelo GCImageTM e por ambos os softwares.

Classe química	ChromaTOF TM	GCImage TM	GCImage TM e ChromaTOF TM
�cidos	10	11	19
Derivados de a�c�cures	48	12	17
�lcoois	16	16	14
Aldeídos	4	2	11
Cetonas	31	15	39
�steres	7	8	22
�teres	4	9	16
Fenóis	18	9	22
Hidrocarbonetos	11	12	24
Somatório	144	91	180

a quantidade de compostos identificados entre os dois softwares foi muito similar (diferenç  de 1 composto). Já para os aldeídos a diferenç  foi de 2 compostos e para os éteres a diferenç  foi de 5 compostos. Entretanto, para os derivados de a c cures, cetonas e fenóis houve uma diferenç  de 36, 16 e 9 compostos, respectivamente, com melhores resultados obtidos via ChromaTOF.

Na Tabela 2 pode-se verificar as classes de compostos identificadas individualmente em cada software e também os compostos identificados em ambos os softwares. No total 180 compostos foram identificados por ambos os softwares, 144 foram identificados apenas pelo ChromaTOFTM e 91 compostos identificados apenas pelo GCImageTM.

A classe das cetonas foi a que apresentou maior semelhança na identificação entre os softwares, 39 compostos (Tabela 2). Na Figura 8 pode-se observar o gráfico de dispersão para as cetonas, comparando-se os dados obtidos em ambos os softwares para esta classe, onde se pode visualizar a sobreposição da maioria dos picos para os compostos identificados apenas pelo GCImageTM (15 compostos) e os identificados apenas pelo ChromaTOFTM (31 compostos).

Para os hidrocarbonetos, em geral, foram identificados compostos lineares e ramificados em sua maioria saturados, contendo entre 12 e 30 carbonos em sua cadeia, conforme Figura 9. A classe dos hidrocarbonetos situa-se em uma região bem característica no gráfico de dispersão. Isto   devido   sua relativa baixa polaridade

e alto peso molecular, que é característico destes compostos. Pode-se verificar a sobreposição da maioria dos hidrocarbonetos, indicando a identificação de 24 compostos no total por ambos os softwares. Com o

GCImage™ foram identificados 12 compostos, e somente com o ChromaTOF™ foram identificados 11 compostos.

A Figura 10 mostra o gráfico de dispersão para a classe química dos fenóis. Foram identificados

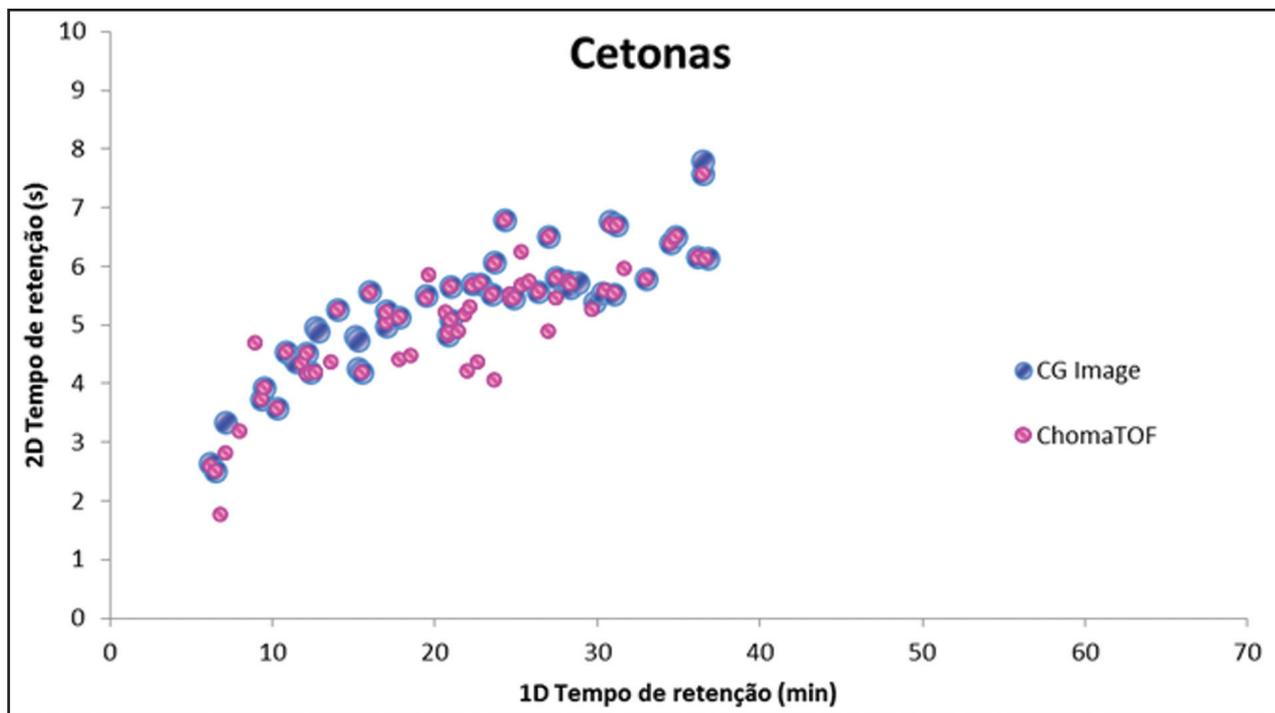


Figura 8. Gráfico de dispersão com sobreposição dos compostos da classe das cetonas identificados em GCImage™ e ChromaTOF™.

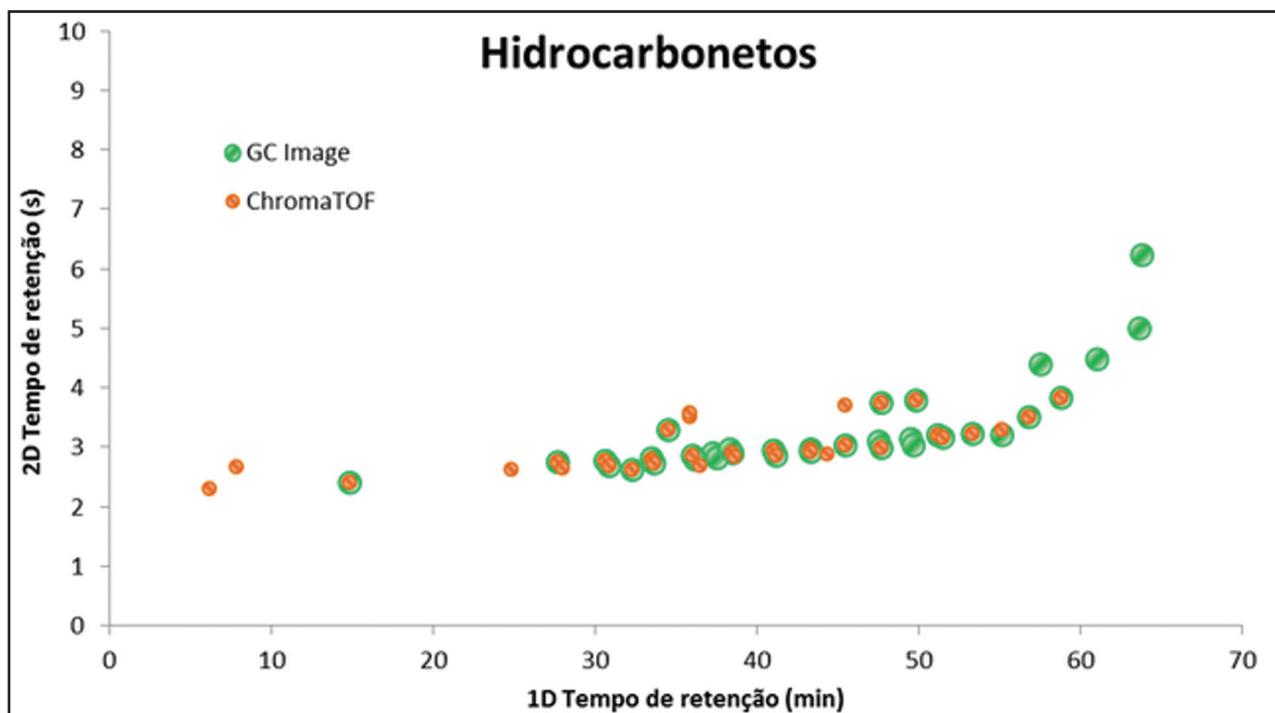


Figura 9. Gráfico de dispersão com sobreposição dos compostos da classe dos hidrocarbonetos identificados com GCImage™ e ChromaTOF™.

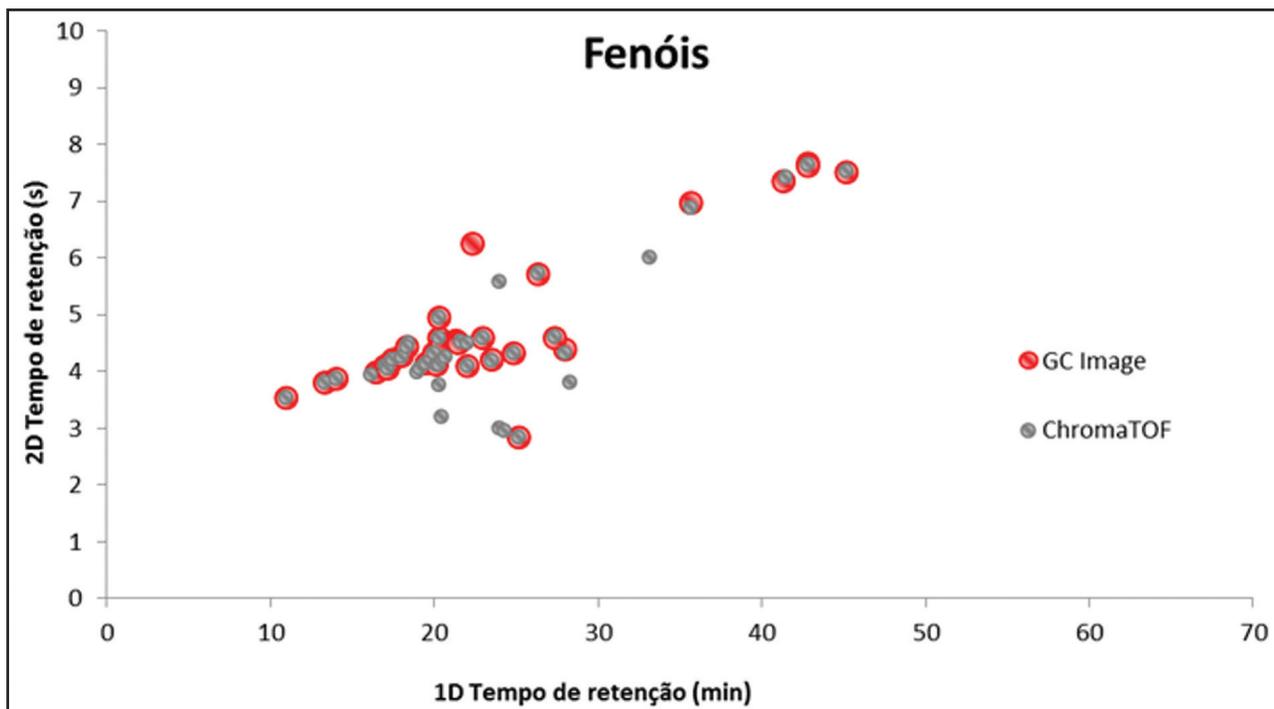


Figura 10. Gráfico de dispersão com sobreposição dos compostos da classe dos Fenóis identificados em GCImage™ e ChromaTOF™.

fenóis, fenóis substituídos por grupos alquil e metóxi, e benzenodióis. A identificação coincidente para os dois softwares foi de 22 compostos, e pode ser visualizada pela sobreposição dos compostos na Figura 10.

Nesta análise por GC×GC, utilizando este jogo de colunas, todos os fenóis localizam-se em uma região característica, e pelo gráfico de dispersão podemos visualizar os fenóis identificados somente pelo GCImage™ (9 compostos) e somente pelo ChromaTOF™ (19 compostos). A localização espacial dos fenóis foi bastante similar a das cetonas, o que pode ser explicado pela similaridade em termos de ponto de ebulição e polaridade de suas estruturas moleculares, sendo em geral compostos polares e com baixo ou médio peso molecular.

3.3. Deconvolução espectral

Neste estudo observou-se para algumas classes químicas a ocorrência de co-eluições, sendo necessária a aplicação da ferramenta de deconvolução dos dois softwares. Para o ChromaTOF™ a deconvolução espectral é aplicada automaticamente, quando este

detecta a coeluição tanto na primeira quanto na segunda dimensão, já para o GCImage™ a deconvolução é realizada manualmente, podendo ser também aplicada na primeira e segunda dimensão.

Um exemplo de deconvolução obtida após o processamento no ChromaTOF™ pode ser visualizada na Figura 11, onde foi possível a identificação de dois compostos que co-eluíram na ¹D e ²D. Os picos identificados como 436 e 437, correspondem aos compostos 2-metoxi 4-(1-propenil) fenol e 3-alil-4-hidroxiacetofenona e foram identificados com base no espectro de massas característico de cada composto, Fig. 12b e 12c, respectivamente. Importante destacar que a deconvolução espectral é realizada com base na diferença dos fragmentos presentes no espectro de massas, sendo sensível a pequenas alterações.

A fim de comparar a deconvolução espectral, selecionou-se a mesma região do diagrama de cores no software GCImage™ e o resultado pode ser visualizado na Figura 12a. O blob selecionado apresentou um espectro de massas com pico base 164, semelhante

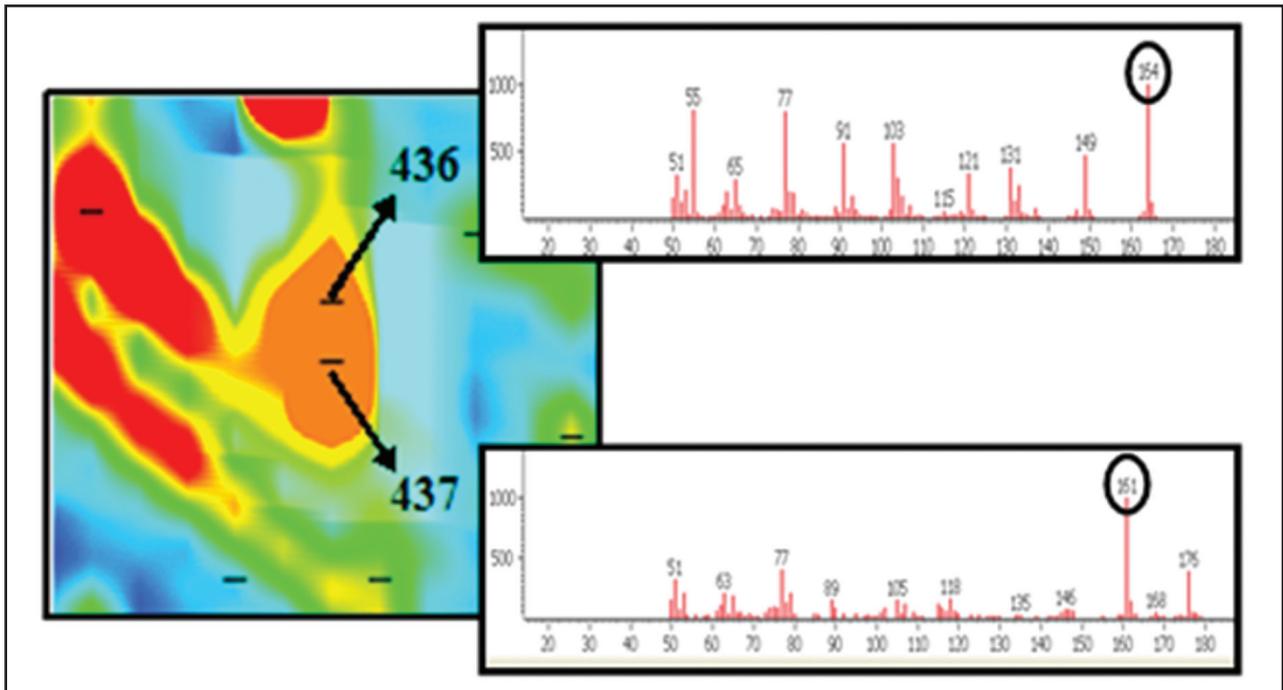


Figura 11. Região selecionada para realizar a deconvolução espectral.

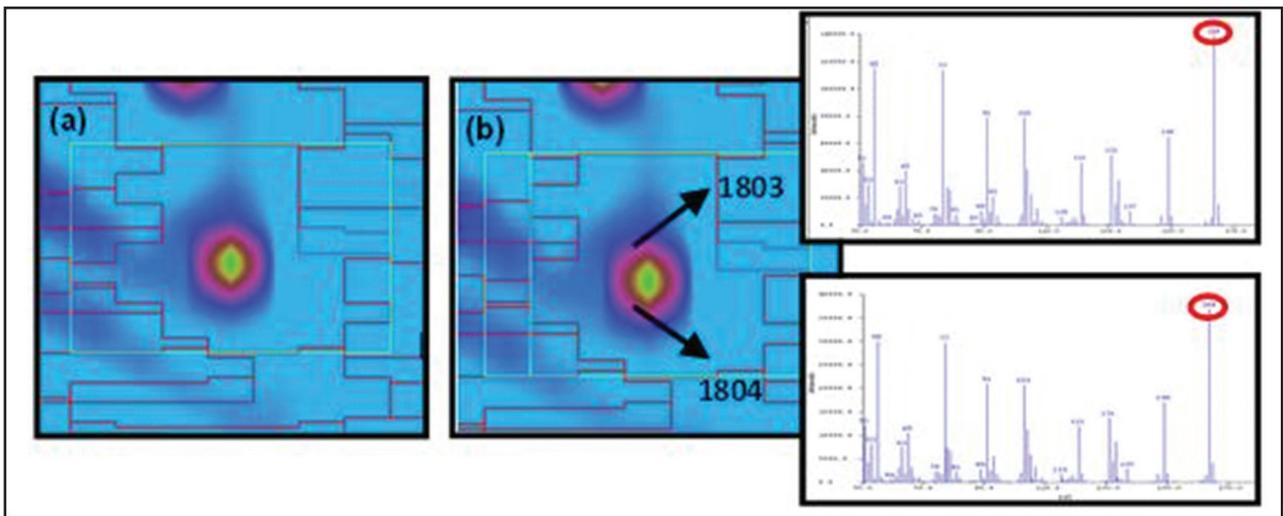


Figura 12. Ampliação da região selecionada para realizar a deconvolução espectral.

ao espectro do fenol identificado pelo ChromaTOF™ na mesma região. Após a seleção do blob, aplicou-se a deconvolução (manual) gerando dois novos blobs, Figura 12b.

Pode-se observar que os dois blobs gerados apresentaram espectros de massas iguais entre si e também verificou-se que não houve diferença entre os espectros gerado e o blob de origem. O emprego da deconvolução manual disponível no software

GCImage™ não foi eficiente para a identificação da 3-alil-4-hidroxiacetofenona, a qual foi identificada quando empregou-se a deconvolução no ChromaTOF™.

A diferença entre o número de compostos nos dois softwares pode ser explicada, principalmente, pela forma em que a deconvolução é realizada em cada um deles. Para algumas classes químicas a possibilidade de ocorrerem co-eluições entre os picos é maior, devido à semelhanças como estrutura química e massa molecular,

além de propriedades como polaridade. Esta explicação pode ser aplicada para as classes químicas das cetonas, fenóis e derivados de açúcares, com maior número de compostos identificados pelo software ChromaTOF™.

4. Comentários finais

A amostra de bio-óleo injetada no GC×GC/TOFMS e processada no software GCImage™ não produziu os mesmos resultados produzidos no processamento pelo software ChromaTOF™. Resultados semelhantes entre os dois softwares foram obtidos para o processamento de compostos das classes de ácidos, aldeídos, ésteres e hidrocarbonetos, o que pode estar associado à maior separação dos compostos por polaridade no espaço bidimensional.

O processamento no ChromaTOF™, identificou um maior número de compostos para as classes de

cetonas, fenóis e derivados de açúcares, o que pode estar relacionado a maior efetividade do sistema de deconvolução espectral automático deste software.

A partir deste estudo pode-se concluir que o tratamento de dados gerados pelo GC×GC/TOFMS da marca Leco fornece resultados mais exatos quando executado pelo software da mesma marca, ChromaTOF™. Entretanto, é possível o emprego de um software universal como o GCImage™, que apresenta precisão e possibilita o tratamento de dados de amostras analisadas por diferentes equipamentos, de diferentes marcas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao suporte financeiro do CNPq, FINEP e Petrobrás.

Referências

- [1] Morali U, Sensoz S. Pyrolysis of hornbeam shell (*Carpinus betulus* L.) in a fixed bed reactor: Characterization of bio-oil and bio-char. *Fuel*. 2015; 150: 672-678.
- [2] Mota CJA, Monteiro RS. Química e sustentabilidade: novas fronteiras em biocombustíveis. *Química Nova*. 2013; 36 (10): 1483-1490.
- [3] Goyal, H.B.; Seal, D.; Saxena, R.C. Bio-fuels from thermochemical conversion of renewable resources: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2008; 12: 504-517.
- [4] Acikgoz C, Kochar OM. Characterization of slow pyrolysis oil obtained from linseed (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2009; 85: 151-154.
- [5] Stephanidis S, Nitsos C, Kalogiannis EF, Lappas AA, Triantafyllidis KS. Catalytic upgrading of lignocellulosic biomass pyrolysis vapours: Effect of hydrothermal pre-treatment of biomass. *Catalysis Today*. 2011; 167: 37-45.
- [6] Shen DK, Luo KH, Wang SR, Fang MX. The pyrolytic degradation of wood-derived lignin from pulping process. *Bioresource Technology*. 2010; 101: 6136-6146.
- [7] Mushtaq F, Abdulah TAT, Mat R, Ani FN. Optimization and characterization of bio-oil produced by microwave assisted pyrolysis of oil palm shell waste biomass with microwave absorber. *Bioresource Technology*. 2015; 190: 442-450
- [8] Yang Z, Kumar A, Huhnke RL. Review of recent developments to improve storage and transportation stability of bio-oil. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2015; 50: 859-870.
- [9] Stedile T, Ender L, Meier HF, Simionatto EL, Wiggers VR. Comparison between physical properties and chemical composition of bio-oils derived from lignocellulose and triglyceride sources. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2015; 50: 92-108.
- [10] Moraes MSA, Georges F, Almeida SR, Damasceno FC, Maciel GPS, Zini CA, Jacques RA, Caramão EB. Analysis of products from pyrolysis of Brazilian sugar cane straw. *Fuel Processing Technology*. 2012; 101: 35-43.
- [11] Oasmaa A, Kuoppala E, Solantausta Y. Fast Pyrolysis of Forestry Residue. 2. Physicochemical composition of product liquid. *Energy and Fuel*. 2003; 17: 433-443.
- [12] Özbay N, Apaydın-Varol E, Uzun EB, Pütün AE. Characterization of bio-oil obtained from fruit pulp pyrolysis. *Energy*. 2008; 33: 1233-1240.
- [13] Cao JP, Xiao XB, Zhang SY, Zhao XY, Sato K, Ogawa Y, Wei, XY, Takarada T. *Bioresource Technology*. 2011; 102: 2009-2015.
- [14] Czernik S, Bridgwater AV. Overview of Applications of Biomass Fast Pyrolysis Oil. *Energy & Fuels*. 2004; 18: 590-598.

- [15] Busetto L, Fabbri D, Mazzoni R, Salmi M, Torri C, Zanotti, V. Application of the Shvo Catalyst in Homogeneous Hydrogenation of Bio-oil Obtained from Pyrolysis of white Poplar: New Mild Upgrading Conditions. *Fuel*. 2011; 90: 1197-1207.
- [16] Garcia-Perez M, Chaala A, Pakdel H, Kretschmer D, Roy C. Characterization of Bio-oils in Chemical Families. *Biomass and Bioenergy*. 2007; 31: 222-242.
- [17] Undri A, Aboud-Zaid M, Briens C, Berruti F, Rosi L, Bartoli M, Frediani M, Frediani P. A simple procedure for chromatographic analysis of bio-oils from pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2015; 114: 208-221.
- [18] Wang G, Li W, Li BQ, Chen HK. TG study on pyrolysis of biomass and its three components under syngas. *Fuel*. 2008; 87: 552-558.
- [19] Lu R, Sheng G, Hu Y, Zheng P, Jiang H, Tang Y, Yu H. Fractional characterization of a bio-oil derived from rice husk. *Biomass and Bioenergy*. 2011; 35: 671-678.
- [20] Wisniewski AJ, Wiggers VR, Simionato EL, Meier HF, Barros AAC, Madureira LAS. Biofuels from waste fish oil pyrolysis: Chemical composition. *Fuel*. 2010; 89: 563-568.
- [21] Cao J, Zhao X, Morishita K, Wei X, Takarada T. Fractionation and identification of organic nitrogen species from bio-oil produced by fast pyrolysis of sewage sludge. *Bioresource Technology*. 2010; 101: 7648-7652.
- [22] Miranda R, Bustos-Martinez D, Blanco CS, Villarreal MHG, Cantú MER, Pyrolysis of sweet orange (*Citrus sinensis*) dry peel. *Journal of Analytical Applied Pyrolysis* 2009; 86: 245-251.
- [23] Patel RN, Bandyopadhyay S, Ganesh A. Extraction of cardanol and phenol from bio-oils obtained through vacuum pyrolysis of biomass using supercritical fluid extraction. *Energy*. 2011; 36: 1535-1542.
- [24] Mahinpey N, Murugan P, Mani T, Raina R. Analysis of bio-oil, biogas, and biochar from pressurized pyrolysis of wheat straw using a tubular reactor. *Energy & Fuels*. 2009; 23: 2736-2742.
- [25] Guo X, Wang S, Guo Z, Liu Q, Luo Z, Cen K. Pyrolysis characteristics of bio-oil fractions separated by molecular distillation. *Applied Energy*. 2010; 87: 2892-2898.
- [26] Li J, Wang C, Yang Z. Production and separation of phenols from biomass-derived bio-petroleum. *Journal of Analytical Applied Pyrolysis*. 2010; 89: 218-224.
- [27] Özçimen D, Ersoy-Meriçboyu A. Characterization of biochar and bio-oil samples obtained from carbonization of various biomass materials. *Renewable Energy*. 2010; 35: 1319-1324.
- [28] von Muhlen C, Zini CA, Caramão EB, Marriot PJ. Caracterização de amostras petroquímicas e derivados utilizando cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC). *Química Nova*. 2006; 29 (4): 765-775.
- [29] Trevisan MG, Poppi RJ, Química Analítica de processos. *Química Nova*. 2006; 29 (5): 1065-1071.
- [30] Liu ZY, Phillips J. Comprehensive two-dimensional gas chromatography using an on-column thermal modulator interface. *Journal of Chromatographic Science*. 1991; 29: 227-231.
- [31] Murray JA. Qualitative and quantitative approaches in comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2012; 1261: 58-68.
- [32] da Cunha ME, Schneider JK, Brasil MC, Cardoso CA, Monteiro LR, Mendes FL, Pinho A, Jacques RA, Machado ME, Freitas LS, Caramão EB. Analysis of fractions and bio-oil of sugar cane straw by one-dimensional and two-dimensional gas chromatography with quadrupole mass spectrometry (GC × GC/qMS). *Microchemical Journal*. 2013; 110: 113-119.
- [33] Marsman JH, Wildschut J, Mahfud F, Heerers HJ. Identification of components in fast pyrolysis oil and upgraded products by comprehensive two-dimensional gas chromatography and flame ionisation detection. *Journal of Chromatography A*. 2007; 1150: 21-27.
- [34] Marsman JH, Wildschut J, Evers P, de Koning S, Heerers HJ. Identification and classification of components in flash pyrolysis oil and hydrodeoxygenated oils by two-dimensional gas chromatography and time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2008; 1188: 17-25.
- [35] Schneider JK, da Cunha ME, dos Santos AL, Maciel GPS, Brasil MC, Pinho AR, Mendes FL, Jacques RA, Caramão EB. Comprehensive two dimensional gas chromatography with fast-quadrupole mass spectrometry detector analysis of polar compounds extracted from the bio-oil from the pyrolysis of sawdust. *Journal of Chromatography A*. 2014; 1356: 236-240.
- [36] Moraes MSA, Zini CA, Gomes CB, Bortoluzzi JH, von Mühlen C, Caramão EB. Uso da cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) na caracterização de misturas biodiesel/diesel: aplicação ao biodiesel de sebo bovino. *Química Nova*. 2011; 34 (7): 1188-1192.
- [37] Wang Y, Chen Q, Norwood DL, McCaffrey J. Recent Development in the Applications of Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2010; 33: 1082-1115.
- [38] Dallüge J, Beens J, Brinkman UAT. Comprehensive Two-dimensional Gas Chromatography: a Powerful and Versatile Analytical Tool, *Journal of Chromatography A*. 2003; 1000: 69-108.
- [39] Cortes HJ, Winniford B, Luong J, Pursch M. Comprehensive Two Dimensional Gas Chromatography Review. *Journal of Separation Sciences*. 2009; 32: 883-904.