

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

CARIN VON MÜHLEN

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE COMPOSTOS
NITROGENADOS DO PETRÓLEO BRASILEIRO E DE
ÓLEOS VOLÁTEIS DE PLANTAS BRASILEIRAS USANDO
CROMATOGRAFIA GASOSA BIDIMENSIONAL
ABRANGENTE**

Tese apresentada como requisito parcial para a
obtenção do grau de Doutor em Química

Profa. Dra. Elina Bastos Caramão
Orientadora

Profa. Dra. Cláudia Alcaraz Zini
Co-orientadora

Prof. Dr. Philip John Marriott
Co-orientador

Porto Alegre, janeiro de 2007.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

CARIN VON MÜHLEN

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE COMPOSTOS
NITROGENADOS DO PETRÓLEO BRASILEIRO E DE
ÓLEOS VOLÁTEIS DE PLANTAS BRASILEIRAS USANDO
CROMATOGRAFIA GASOSA BIDIMENSIONAL
ABRANGENTE**

Tese de Doutorado

Profa. Dra. Elina Bastos Caramão
Orientadora

Profa. Dra. Cláudia Alcaraz Zini
Co-orientadora

Prof. Dr. Philip John Marriott
Co-orientador

Porto Alegre, janeiro de 2007.

A presente tese foi realizada inteiramente pela autora, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre novembro de 2003 e dezembro de 2006, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e na Royal Melbourne University sob Orientação da Professora Doutora Elina Bastos Caramão, Co-orientação da Professora Doutora Cláudia Alcaraz Zini e do Professor Doutor Philip John Marriott. A tese foi julgada adequada para a obtenção do título de Doutor em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Marco Diogo Richter Gomes da Silva

Prof. Dr. Francisco Radler de Aquino Neto

Prof. Dr. Fabio Augusto

Profa. Dra. Maria Regina Alves Rodrigues

Profa. Dra. Elina Bastos Caramão
(orientadora)

Profa. Dra. Cláudia Alcaraz Zini
(co-orientadora)

Prof. Dr. Philip John Marriott
(co-orientador)

Prof. Dr. Adriano Lisboa Monteiro
(coordenador do PPGQ)

Doutoranda Carin von Mühlen

*Dedico este trabalho ao meu marido Eduardo
Nicolodi, familiares, e aos meus orientadores
Elina, Cláudia e Philip.*

AGRADECIMENTOS

Aos três grandes orientadores que me guiaram por caminhos que levam muito além da Tese de Doutorado: Elina Bastos Caramão, pelo apoio e incentivo, pela tranquilidade, espírito de grupo, conhecimento e outras tantas qualidades que nortearam a minha formação profissional além da orientação do trabalho; Cláudia Alcaraz Zini, pela valiosa orientação criteriosa, paixão científica, por acreditar que esse trabalho poderia se tornar realidade, e por acompanhar cada passo com objetividade, conhecimento e perseverança; Philip Marriott, por seu inspirador entusiasmo e paixão por GC×GC, orientação e apoio e por possibilitar o primeiro contato com a técnica, abrindo as portas de seu laboratório e grandioso grupo de pesquisa.

Aos colegas do LAAO, que dividiram conhecimentos e experiências tanto científicas quanto de vida, dando significado as palavras grupo, espírito de equipe e amizade, desde o início da minha formação. Em especial, gostaria de destacar os colegas, Andréia L. da Silva, Eniz C. de Oliveira, Fernanda C. Abad, Irajá do Nascimento Filho, Laiza C. Krause, Lisiane dos S. Freitas, Mara de Araújo, Maria Cecília V. de Campos, Maria Inês S. Mellechi, Maria Regina A. Rodrigues, Pedro José Sanches Filho, Rosângela de A. Jacques e Tales K. Alcalde. A Ana Quézia Stobbe, por participar dos momentos finais. A Eniz e Maria Cecília por compartilharem suas experiências e suas Teses.

Aos queridos colegas e amigos da RMIT, pelas inúmeras trocas de experiências sobre GC×GC e sobre a vida, especialmente no Oxford! Em especial Britta Drevermann, James Harynuk, Marco G. da Silva, Michael Dunn, Paul Morrisson, Tin C. Tran, Zenilda de L. Cardeal, Xin Miin Son, e Weeraya Khummueng.

Ao IQ-UFRGS, RMIT, CAPES e CNPq pelo apoio institucional e financeiro. Em especial, Adriano L. Monteiro, coordenador do PPG-QUI. Aos professores que contribuíram para a minha formação. Ao CENPES, FEPAGRO e ARACRUZ por fornecerem as amostras.

Ao meu querido e amado marido Eduardo Nicolodi, que assumiu essa empreitada como parte de sua vida, largando tudo para acompanhar-me na Austrália. Agradeço especialmente por compreender minha ausência, apoiando-me

nos momentos bons e nos difíceis, mesmo quando também passava por momentos complicados.

Aos meus pais Rosa Maria e Arcilo G. von Mühlen, meu irmão Gastão von Mühlen, cunhados Maria Odila S. de Menezes, Leda V. Buonfiglio, Dilma Pozzetti, Alexandre Nicolodi e João L. Nicolodi, sogros queridos Vera Maria e Carlos Nicolodi, pelo apoio, incentivo, e por compreenderem a ausência. A querida avó Erika Kauer, minhas desculpas por não ter me despedido. A querida avó Ilga von Mühlen, por compreender a ausência.

As grandes amigas Kátia Heckler e Parvin Ahadi, por sua sensibilidade e amizade. A Deise Veras, pelo apoio inicial na Austrália.

A todos os queridos amigos e colegas, que por falha da minha memória nesse momento final, não foram aqui incluídos.

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	xiv
SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	xvii
RESUMO.....	xxi
ABSTRACT.....	xxii
1 INTRODUÇÃO	2
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
2.1 PRINCÍPIOS BÁSICOS DA GC×GC	8
2.1.1 Moduladores	10
2.1.2 Detectores.....	13
2.1.2.1 Detector por Ionização em Chama – FID	15
2.1.2.2 Detector Seletivo de Nitrogênio e Fósforo – NPD	17
2.1.2.3 Detector por Espectrometria de Massas - MS.....	19
2.1.3 Processamento dos cromatogramas obtidos	21
2.2 CARACTERIZAÇÃO DE FRAÇÕES DO PETRÓLEO POR GC×GC	23
2.2.1 Estudos de compostos nitrogenados por GC×GC	26
2.3 CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS VOLÁTEIS POR GC×GC.....	28
2.4 AMOSTRAS DE INTERESSE NESTE TRABALHO.....	33
2.4.1 Amostras Petroquímicas.....	33
2.4.1.1 Compostos nitrogenados	34
2.4.1.2 Isolamento dos compostos de interesse das frações de petróleo.....	35
2.4.2 Óleos voláteis	36
2.4.2.1 Escolhas dos óleos estudados.....	37
2.4.2.2 Eucalipto	37
2.4.2.3 Goiabeira.....	38
2.5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
3 PARTE EXPERIMENTAL	41
3.1 EXTRAÇÃO DOS ANALITOS	41
3.1.1 Frações pesadas de petróleo de águas profundas	41
3.1.1.1 Reagentes e materiais	41
3.1.1.2 Pré-fractionamento dos compostos nitrogenados	42

3.1.1.2.1	Pré-fracionamento com alumina neutra.....	42
3.1.1.2.2	Método A: Fracionamento com resinas de troca iônica.....	43
3.1.1.2.3	Método B: Fracionamento com sílica modificada	44
3.1.2	Óleos voláteis	45
3.1.2.1	Índices de retenção.....	46
3.2	CARACTERIZAÇÃO CROMATOGRÁFICA.....	47
3.2.1	Colunas cromatográficas.....	48
3.2.2	Condições cromatográficas	49
3.2.3	Tratamento dos dados.....	52
3.2.4	Modificações do NPD	52
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4.1	FRAÇÕES PESADAS DE PETRÓLEO DE ÁGUAS PROFUNDAS	55
4.1.1	Análise de compostos nitrogenados por GC×GC–NPD.....	55
4.1.1.1	Introdução da amostra	55
4.1.1.2	Conjuntos de colunas.....	56
4.1.1.3	Modificações do NPD.....	60
4.1.1.3.1	Otimização da vazão dos gases do detector.....	60
4.1.1.3.2	Otimização da geometria do detector.....	62
4.1.1.4	Validação do método	66
4.1.1.5	Aplicação a amostras reais	67
4.1.1.5.1	Quantificação dos compostos nitrogenados presentes no GOP e no RAT	71
4.1.2	Análise de compostos nitrogenados por GC×GC/TOFMS.....	74
4.1.2.1	Gasóleo Pesado – GOP.....	76
4.1.2.1.1	Fração neutra	76
4.1.2.1.2	Fração básica.....	84
4.1.2.2	Resíduo da destilação à pressão atmosférica – RAT	92
4.1.2.2.1	Fração neutra	92
4.1.2.2.2	Fração básica.....	99
4.1.3	Resumo dos resultados obtidos para amostras petroquímicas	104
4.2	ÓLEOS VOLÁTEIS.....	108
4.2.1	Caracterização inicial dos óleos voláteis.....	108
4.2.2	Eucalyptus dunnii.....	109
4.2.2.1	Identificação tentativa de compostos do óleo volátil de E. dunnii por 1D-GC	109
4.2.2.2	Otimização da separação dos componentes do óleo volátil de E. dunnii por GC×GC.....	113
4.2.2.3	Identificação tentativa dos compostos do óleo volátil de E. dunnii por GC×GC.....	116
4.2.2.3.1	Índices de retenção	117
4.2.2.3.2	Identificação espectral.....	126
4.2.3	Psidium guajava.....	135
4.2.3.1	Identificação tentativa dos compostos do óleo volátil de P. guajava por 1D-GC.....	135
4.2.3.2	Identificação tentativa dos compostos do óleo volátil de P. guajava por GC×GC.....	138
4.2.4	Resumo dos resultados obtidos para os óleos voláteis	147
5	CONCLUSÕES	149

6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	152
7	ANEXOS	165
	ANEXO 1 - ESPECTROS DE MASSAS DE COMPOSTOS TENTATIVAMENTE IDENTIFICADOS NA FRAÇÃO NEUTRA DO GOP.....	165
	ANEXO 2 - ESPECTROS DE MASSAS DE COMPOSTOS TENTATIVAMENTE IDENTIFICADOS NA FRAÇÃO BÁSICA DO GOP.....	179
	ANEXO 3 - PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA.....	184

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Possíveis configurações para o acoplamento de sistemas GC. A – uma dimensão; B – sistema multicanais com colunas acopladas paralelamente; C – sistema multicanais com detectores em paralelo; D – sistema em uma dimensão, com um canal e colunas acopladas em série; E – sistema multidimensional e multicanais. Este sistema apresenta *heart-cut* da primeira coluna (C1), onde frações do eluente podem ser transferidas para o *trap* (T) e subseqüentemente para a segunda coluna (C2). As temperaturas, velocidades lineares, e direções do fluxo da fase móvel podem ser ajustados independentemente para cada coluna, detector e injetor. S – amostra; I – injetor; D – detector; LP – peça de acoplamento.⁷ 7
- Figura 2.** Esquema geral de um sistema GC-GC bidimensional de *heart-cut* com o respectivo cromatograma obtido. 7
- Figura 3.** Desenho esquemático de um sistema GC×GC. Onde: I – injetor; M – modulador; D – detector; ¹D – coluna cromatográfica da primeira dimensão; e ²D – coluna cromatográfica da segunda dimensão. 9
- Figura 4.** Esquema geral de funcionamento de um modulador genérico, abrangendo as três etapas: acumulação da banda cromatográfica da primeira dimensão; foco e liberação da banda para a segunda dimensão..... 11
- Figura 5.** Foto do Sistema Criogênico Longitudinalmente Modulado – LMCS (à esquerda); e esquema das duas posições do modulador (A) abaixo e (B) acima.... 12
- Figura 6.** Desenho esquemático de um detector termiônico de chama (TID). Modificação do desenho fornecido por Agilent Technologies..... 17
- Figura 7.** Ilustração das contribuições do tempo de varredura (V) e de ajuste (A) para o tempo de ciclo de varredura de um qMS..... 20
- Figura 8.** Parte dos cromatogramas obtidos por 1D-GC (A) e GC×GC (B) na análise cromatográfica de uma amostra de óleo volátil de *E. dunnii*. 22
- Figura 9.** Ilustração do processo de transformação do cromatograma em imagem. A – Cromatograma mono-dimensional; B – divisão do cromatograma inicial em fatias; C – Agrupamento das fatias em uma matriz; D – transformação da matriz em imagem. Modificado de Harynyuk e colaboradores⁸⁶. 23

- Figura 10.** Diagrama de contorno obtido por GC×GC–FID para a separação de uma amostra de solvente não aromático derivado de petróleo. 1. C₁₀ saturados ramificados; 2. C₁₀ lineares; 3. C₁₁ saturados ramificados; 4. C₁₁ lineares; 5. C₁₂ ramificados; 6. C₁₂ lineares; 7. C₁₃ ramificados; 8. C₁₃ lineares; 9. C₁₄ saturados ramificados; 10. C₁₄ lineares; 11. C₁₅ saturados ramificados; 12. C₁₅ lineares; 13. C₁₆ saturados ramificados; 14. desconhecidos; 15. *trans*-decalina; 16. *cis*-decalina; 17. *trans*-metil-decalinas; 18. *cis*-metil-decalinas; 19. C₂-decalinas. De A a E. monoaftenos entre C₁₀ e C₁₄, onde as setas amarelas indicam os n-alkilciclopentanos, e as setas pretas os n-alkilciclohexanos; de F a J. dinaftenos entre C₁₀ e C₁₄. Modificado de Beens e colaboradores¹⁰³ 25
- Figura 11.** Análise de compostos nitrogenados em uma amostra típica de óleo diesel: (A) cromatograma de GC-NCD tradicional, (B) cromatograma GC×GC -NCD; (C) diagrama de contorno processado de GC×GC-NCD. Modificado de Wang e colaboradores⁴⁴ 27
- Figura 12.** Diagramas de cores obtidos por Zhu e colaboradores⁵⁶ na análise de óleo essencial de tabaco, utilizando um conjunto de colunas convencional (A) e um conjunto inverso (B). (a-d) estruturação das classes de compostos ésteres, álcoois, cetonas e piridinas, respectivamente. 32
- Figura 13.** Desenho esquemático da evolução da profundidade das plataformas marítimas da Petrobrás¹⁶¹ 33
- Figura 14.** Desenho esquemático das torres de destilação para a obtenção das frações estudadas. Modificada de Hunt e colaboradores¹⁶² 34
- Figura 15.** Organograma ilustrativo do fracionamento do GOP para o isolamento dos compostos nitrogenados, utilizando alumina. 43
- Figura 16.** Fotografia dos jatos (abaixo) e coletores (acima) utilizados na otimização do detector NPD. As letras representam as 4 combinações de peças testadas: jato e coletor convencionais (A), jato convencional e coletor menor (B), jato estendido e coletor convencional (C), e jato estendido e coletor menor (D). Fotografias cedidas por Agilent Technologies..... 53
- Figura 17.** Picos modulados de indol e carbazol utilizando os conjuntos de colunas 5 (em azul) e 6 (em vermelho), **Tabela V**..... 57
- Figura 18.** Diagrama de cores (escala de cinza) obtido para uma fração neutra de GOP extraída pelo método B, utilizando o conjunto de colunas 6 apresentado na

Tabela V: ¹ D - BPX5 30m x 0,25mm x 0,50µm e ² D - BPX50 1,0m x 0,10mm x 0,10µm.....	58
Figura 19. Diagrama de cores (escala de cinza) obtido para uma fração neutra de GOP extraída pelo método B, utilizando o conjunto de colunas 7 apresentado na Tabela V: ¹ D - BPX5 30m x 0,25mm x 0,50µm e ² D - BPX50 1,0m x 0,15mm x 0,15µm.....	59
Figura 20. Diagrama de cores (escala de cinza) obtido para uma fração neutra de GOP extraída pelo método B, utilizando o conjunto de colunas 8 apresentado na Tabela V: ¹ D - BPX5 30m x 0,25mm x 0,50µm e ² D - BPX50 0,5m x 0,15mm x 0,15µm.....	59
Figura 21. Picos modulados obtidos para indol e carbazol com o detector não otimizado (1, linha preta), com a otimização da vazão dos gases (2, linha vermelha), e após a otimização da geometria e dos gases (3, linha azul), utilizando o jato estendido.....	64
Figura 22. Diagramas de cores obtidos para as amostras de GOP e RAT extraídas pelos métodos A e B. Onde: 1 – frações neutras de GOP; 2 – frações básicas de GOP; 3 – frações neutras de RAT; 4 – frações básicas de RAT.....	68
Figura 23. Diagrama de cores obtido por GC×GC-NPD para uma fração neutra de GOP extraída pelo método A.....	69
Figura 24. Diagrama de cores obtido por GC×GC-NPD para uma fração neutra de RAT extraída pelo método A.	69
Figura 25. Diagrama de cores obtido por GC×GC-NPD para uma fração básica de GOP extraída pelo método A. 1- quinolina; 2 – 7,8-benzoquinolina; 3 – 5,6-benzoquinolina.	70
Figura 26. Diagrama de cores obtido por GC×GC-NPD para uma fração básica de RAT extraída pelo método A. 1- quinolina; 2 – 7,8-benzoquinolina; 3 – 5,6-benzoquinolina.	70
Figura 27. Diagrama de cores obtido para a mistura de compostos padrão por GC×GC/TOFMS (números correspondentes na Tabela XIV).	76
Figura 28. TID obtido para a fração neutra de GOP (A), indicando os alquil-indóis entre C ₀ e C ₃ , alquil-carbazóis entre C ₀ e C ₁₂ , e os alquil-benzocarbazóis entre C ₀ e C ₆ (B).....	77

- Figura 29.** Diagrama de cores de íons selecionados obtidos para uma amostra da fração neutra de GOP. A – alquil-indóis; B – alquil-carbazóis, C – alquil-benzocarbazóis. 78
- Figura 30.** (A) TID obtido para a fração básica de GOP, (B) TID idêntico ao mostrado em (A), mas com identificação das classes estruturadas no espaço bidimensional: alquil-quinolinas C_2 e C_3 (em amarelo), alquil-indeno-piridinas C_0 e C_1 (em laranja), alquil-benzoquinolinas de C_0 à C_5 , (em azul) e alquil-dibenzoquinolinas de C_0 à C_5 (em rosa). 85
- Figura 31.** Diagrama de cores de íons selecionados obtido para a fração básica de GOP, com identificação das classes estruturadas alquil-quinolinas (A), indeno piridinas (B), alquil-benzoquinolinas (B), e alquil-dibenzoquinolinas (C). 86
- Figura 32.** Espectros de massas experimental (A) e obtido da biblioteca NIST para uma dietil-dibenzoquinolina (B). 91
- Figura 33.** (A) TID obtido para a fração neutra de RAT, (B) TID idêntico ao mostrado em (A), mas com identificação das classes estruturadas no espaço bidimensional: alquil-indóis entre C_0 e C_3 , alquil-carbazóis entre C_0 e C_{12} , e alquil-benzocarbazóis entre C_0 e C_6 93
- Figura 34.** Diagramas de cores de íons selecionados obtidos para uma amostra da fração neutra de RAT: A – alquil-indóis; B – alquil-carbazóis, C – alquil-benzocarbazóis. 94
- Figura 35.** (A) Diagrama de cores obtido para a fração básica de RAT, (B) Diagrama de cores apresentado em (A) com indicação das regiões de compostos nitrogenados: alquil-quinolinas entre C_0 e C_3 (vermelho), indeno-piridinas C_0 e C_1 (verde), alquil-benzoquinolinas entre C_0 e C_5 (amarelo), e alquil-dibenzoquinolinas entre C_0 e C_5 (azul). 100
- Figura 36.** Diagramas de íons selecionados representando as classes encontradas para a fração básica de RAT, (A) alquil-quinolinas, (B) alquil-indeno-piridinas e alquil-benzoquinolinas; (C) alquil-dibenzoquinolinas. 101
- Figura 37.** Cromatograma resultante da análise por GC-FID para a separação do óleo volátil de *E. dunnii* obtido por hidrodestilação. As condições cromatográficas constam da **Tabela VII**, e a identificação tentativa dos compostos está apresentada na **Tabela XXVIII**. 109
- Figura 38.** Primeira parte do cromatograma apresentado na **Figura 37**, expandida. 110

Figura 39.	Segunda parte do cromatograma apresentado na Figura 37 , expandida.....	110
Figura 40.	Cromatograma 1D (A) e diagramas de cores obtidos para o óleo volátil de <i>E. dunnii</i> utilizando-se os conjuntos de colunas 1 (B), 2 (C), e 4(D), apresentados na Tabela V	114
Figura 41.	Relação entre os LTPRI de referência ¹⁹³ e os LTPRI obtidos experimentalmente por 1D-GC-FID e GC×GC-FID, para o óleo de <i>E. dunnii</i>	123
Figura 42.	Relação entre os LTPRI de referência ¹⁹³ e os LTPRI obtidos experimentalmente por GC×GC/TOFMS, para o óleo de <i>E. dunnii</i> e para uma mistura de padrões.....	124
Figura 43.	Picos 110 e 111 (Tabela XXIX) tentativamente identificados como intermedeol e carvacrol, respectivamente, por GC×GC/qMS utilizando-se um conjunto de colunas inverso (conjunto 3, Tabela V). A – cromatogramas GC×GC, B – espectros de massas experimentais; C – espectros de massas de referência ¹⁹³ . As setas indicam os picos modulados do composto de interesse.....	128
Figura 44.	TIC e íons selecionados para o pico identificado como alo- aromadendreno por 1D-GC.....	130
Figura 45.	TIC e íons selecionados para o pico identificado como dehidro- aromadendreno por GC×GC/qMS.....	130
Figura 46.	Representações da separação obtida por GC×GC/TOFMS para o óleo de <i>E. dunnii</i> , onde: A – diagrama de cores do TID; B – cromatograma GC×GC; C e D – cromatogramas reconstruídos da primeira e da segunda dimensões, respectivamente.	131
Figura 47.	Separação obtida para os compostos <i>p</i> -cimeno, limoneno e 1,8-cineol por GC×GC/TOFMS.....	132
Figura 48.	Diagrama de máximos obtido para os picos tentativamente identificados por GC×GC/TOFMS para o óleo de <i>E. dunnii</i> , com apresentação de agrupamentos de compostos conforme as classes químicas. Identificação tentativa dos picos numerados está na Tabela XXIX . A – álcoois lineares; B – aldeídos; C- acetatos; D – hidrocarbonetos monoterpênicos; E – álcoois monoterpênicos; F – acetatos monoterpênicos; G – hidrocarbonetos sesquiterpênicos; H – sesquiterpenos oxigenados.....	133

Figura 49. Seleção de íons característicos de terpenos (m/z 93), sesquiterpenos (m/z 161), e sesquiterpenos oxigenados (m/z 222), de diagramas de cores obtidos por GC×GC/TOFMS para o óleo de <i>E. dunnii</i>	134
Figura 50. Cromatograma obtido por GC-FID para os compostos do óleo volátil de <i>P. guajava</i> , obtido por hidrodestilação. Condições cromatográficas apresentadas na Tabela VII . Identificação tentativa dos compostos está apresentada na Tabela XXXI	135
Figura 51. Primeira parte do cromatograma apresentado na Figura 50 , expandida.	135
Figura 52. Segunda parte do cromatograma apresentado na Figura 50 , expandida.	136
Figura 53. Diagrama de íons total (TID) GC×GC/TOFMS e diagramas de íons selecionados característicos de sesquiterpenos (m/z 161), e sesquiterpenos oxigenados (m/z 222), para o óleo de <i>P. guajava</i>	140
Figura 54. Relação existente entre LTPRI de referência ¹⁹³ e os LTPRI obtidos por GC×GC/TOFMS, para o óleo volátil de <i>P. guajava</i>	144
Figura 55. Região do diagrama de cores do óleo de <i>P. guajava</i> obtido por GC×GC/TOFMS, correspondente à região do 5-epi-7-epi- α -eudesmol em 1D-GC. Identificação tentativa dos picos está apresentada na Tabela XXXII	145
Figura 56. Espectros de massas dos picos cromatográficos 125, 126 e 127, obtidos por GC×GC/TOFMS apresentados na Tabela XXXII	146
Figura 57. TIC e íons selecionados para o pico 52 obtido por 1D-GC/qMS (Tabela XXXI), e abaixo, espectro de massas obtido experimentalmente para a região central desse pico.	146

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Aplicações de detectores seletivos em GC×GC.....	14
Tabela II. Aplicações da GC×GC a amostras petroquímicas.....	26
Tabela III. Aplicações da GC×GC aos óleos voláteis.....	30
Tabela IV. Colunas cromatográficas utilizadas em 1D-GC.	48
Tabela V. Conjuntos de colunas utilizados nos sistemas GC×GC.....	49
Tabela VI. Parâmetros cromatográficos utilizados para análise dos compostos nitrogenados.....	50
Tabela VII. Parâmetros cromatográficos utilizados nos sistemas GC×GC para análise dos óleos voláteis.....	51
Tabela VIII. Diversas vazões de gases testadas no NPD (ar e nitrogênio) e respostas obtidas, utilizando-se indol como referência e a combinação A da Figura 16	61
Tabela IX. Diversas vazões de gases testadas no NPD (ar e nitrogênio) e respostas obtidas utilizando-se indol como composto referência e, a combinação C da Figura 16	63
Tabela X. Comparação entre as condições de vazão de gases no NPD convencionais e otimizadas para a combinação jato-coletor convencional (A), e na condição de vazão otimizada com o jato estendido (C).	65
Tabela XI. Figuras de mérito do método desenvolvido para a análise de compostos nitrogenados por GC×GG-NPD.....	66
Tabela XII. Resultados quantitativos para os compostos nitrogenados separados nas frações neutras e básicas do GOP, utilizando-se as duas metodologias de extração (A e B).	72
Tabela XIII. Resultados quantitativos para os compostos nitrogenados separados nas frações neutras e básicas do RAT, utilizando-se a metodologia de extração A.	73
Tabela XIV. Confirmação da identidade dos compostos padrão por GC×GC/TOFMS.	76
Tabela XV. Valores de m/z característicos selecionados para as classes de compostos nitrogenados presentes na fração neutra.....	79

Tabela XVI. Compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração neutra de GOP utilizando-se a comparação com espectros de massas da biblioteca NISTMS.....	80
Tabela XVII. Tempos de retenção dos compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração neutra de GOP com base na estruturação dos diagramas e nos espectros de massas típicos.....	83
Tabela XVIII. Valores de m/z característicos selecionados para as classes de compostos nitrogenados presentes na fração básica.....	87
Tabela XIX. Compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração básica do GOP.....	89
Tabela XX. Compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração básica de GOP com base na estruturação dos diagramas e nos espectros de massas característicos de benzoquinolinas e dibenzoquinolinas.....	92
Tabela XXI. Compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração neutra do RAT.	95
Tabela XXII. Compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração neutra de RAT com base na estruturação dos diagramas e nos espectros de massas característicos destas classes químicas.....	98
Tabela XXIII. Compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração básica do RAT.	102
Tabela XXIV. Compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração básica do RAT, com base na estruturação dos diagramas e nos espectros de massas característicos destas classes químicas.....	104
Tabela XXV. Resumo dos resultados obtidos com a análise quantitativa de compostos nitrogenados presentes nas amostras de GOP e RAT.	105
Tabela XXVI. Número de compostos tentativamente identificados nas principais classes nitrogenadas nas amostras de GOP e RAT.	106
Tabela XXVII. Massa de folhas frescas (m), volume de óleo volátil obtido para cada hidrodestilação (V) e rendimento (η) em mL de óleo por kg de folhas frescas (η_f) ou folhas secas (η_s).....	108
Tabela XXVIII. Identificação tentativa dos compostos presentes no óleo volátil de <i>E. dunnii</i> obtido por hidrodestilação. * Compostos co-injetados com padrões ³ ; t_R – tempo de retenção no GC-FID.	111

Tabela XXIX. Identificação tentativa dos compostos presentes no óleo volátil de <i>E. dunnii</i> , utilizando-se 1D-GC e GC×GC.	119
Tabela XXX. LTPRI obtidos experimentalmente por GC×GC/TOFMS e da literatura (1D-GC) ¹⁹³ para uma mistura contendo 30 padrões analíticos.....	125
Tabela XXXI. Identificação tentativa por GC/qMS dos compostos presentes no óleo volátil de <i>P. guajava</i> obtido por hidrodestilação. t_R – tempo de retenção no GC-FID.	136
Tabela XXXII. Identificação tentativa dos compostos presentes no óleo volátil de <i>P. guajava</i> utilizando-se GC×GC/TOFMS.....	141

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

A	tempo de ajuste
A-D	analógico-digital
AED	<i>atomic emission detector</i> , detector de emissão atômica
ANOVA	análise de variância
As	simetria
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
C ₁ , C ₂ , C ₃ , etc.	número de carbonos em cadeias alquílicas
CBs	<i>chlorinated biphenyls</i> , bifenilas cloradas
CENPES	Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo Américo Miguez de Mello
PLC	<i>preparative liquid chromatography</i> , cromatografia líquida preparativa
C _{n+}	composto contendo mais de n carbonos em cadeias alquílicas
CV	ciclo de varredura
DCM	diclorometano
1D	monodimensional
¹ D	primeira dimensão
1D-GC	cromatografia gasosa monodimensional
² D	segunda dimensão
<i>fast</i> -GC	cromatografia gasosa rápida
<i>fast</i> -qMS	espectrômetro de massas com quadrupolo rápido
FID	<i>flame ionization detector</i> , detector por ionização em chama
GC	<i>gas chromatography</i> , cromatografia gasosa
GC/qMS	cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas do tipo quadrupolar.
GC×GC	<i>comprehensive two-dimensional gas chromatography</i> , cromatografia gasosa bidimensional abrangente
GC×GC/qMS	cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à espectrometria de massas do tipo quadrupolar.
GC×GC/TOFMS	cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à

	espectrometria de massas por tempo de voo.
GC×GC-FID	cromatografia gasosa bidimensional abrangente com detecção por ionização em chama
GC-GC	cromatografia gasosa bidimensional
GOL	gasóleo leve
GOP	gasóleo pesado
GOR	gasóleo residual
HDN	hidrodesnitrogenação
HS-SPME	<i>headspace-solid phase microextraction</i> , microextração em fase sólida do <i>head-space</i>
IM	intervalo de massas atômicas
LC	<i>liquid chromatography</i> , cromatografia líquida
LCCCO	óleo leve de ciclo catalíticamente craqueado
LC-GC	cromatografia líquida acoplada com cromatografia gasosa
LC-GC-NPD	cromatografia líquida acoplada com cromatografia gasosa com detector seletivo de nitrogênio e fósforo
LC/MS	cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas
<LD	valor abaixo do limite de detecção
LLE	<i>liquid-liquid extraction</i> , extração líquido-líquido
LMCS	<i>longitudinally modulated cryogenic system</i> , sistema criogênico longitudinalmente modulado
LOD	<i>limit of detection</i> , limite de detecção
LOQ	<i>limit of quantitation</i> , limite de quantificação
LTPRI	<i>linear temperature programmed retention index</i> – índice de retenção com programação linear de temperatura
m	massa
ms	milisegundos
m/z	razão massa carga
M _R	<i>modulation ratio</i> , razão de modulação
MS	<i>mass spectrometry</i> , espectrometria de massas
MTBDMS	<i>N</i> -metil- <i>n</i> -(<i>terc.</i> -butildimetilsilil) trifluoracetamida
μ-ECD	<i>micro-electron capture detector</i> , micro detector por captura de elétrons

NCD	<i>nitrogen chemiluminescence detector</i> , detector de quimiluminescência de nitrogênio
ni	composto não identificado
NPD	<i>nitrogen phosphorus detector</i> , detector seletivo de nitrogênio e fósforo
η_f	rendimento do volume de hidrodestilado em relação à massa de folhas frescas
η_s	Rendimento do volume de hidrodestilado em relação à massa de folhas secas
P	probabilidade
P.A.	para análise
PCBs	<i>polychlorinated biphenyls</i> , bifenilas policloradas
PCDDs	<i>polychlorinated dibenzodioxines</i> , dibenzo-p-dioxinas policloradas
PCDFs	<i>polychlorinated dibenzofuranes</i> , dibenzofuranos policlorados
P_M	<i>modulation period</i> , período de modulação
PTV	<i>programmed temperature vaporizing injection</i> , injeção com vaporização por programação de temperatura
qMS	<i>quadrupole mass spectrometer</i> , espectrômetro de massas do tipo quadrupolar
R	reverso
r^2	fator de determinação
RAT	resíduo de destilação à pressão atmosférica
RV	resíduo de vácuo
S	similaridade
S/N	<i>signal to noise ratio</i> , razão sinal ruído
SCD	<i>sulfur chemiluminescence detector</i> , detector de quimiluminescência de enxofre
SFE	<i>supercritical fluid extraction</i> , extração com fluido supercrítico
split	com divisão de fluxo
splitless	sem divisão de fluxo
TA	tempo de ajuste eletrônico
TAN	<i>total acid number</i> , número de acidez total

TIC	<i>total ion chromatogram</i> , cromatograma total de íons
TID	<i>thermionic detector</i> , detector termiônico
TID	<i>total ion diagram</i> , diagrama total de íons
TOFMS	<i>time-of-flight mass spectrometer</i> , detector de espectrometria de massas por tempo de voo
1t_R	tempo de retenção na primeira dimensão
2t_R	tempo de retenção na segunda dimensão
t_R	tempo de retenção
t_{R_x}	tempo de retenção do alcano linear menos retido que o composto
$t_{R_{x+1}}$	tempo de retenção do alcano linear mais retido que o composto
T_v	taxa de varredura do equipamento em Da s ⁻¹ (unidades de massa atômica por segundo);
UCM	<i>unresolved complex mixture</i> – mistura complexa não resolvida
V	tempo de varredura de uma determinada faixa de massas atômicas
V	volume
x	número de carbonos do alcano linear menos retido que o composto

RESUMO

Neste trabalho empregou-se a técnica de cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) na análise de compostos nitrogenados presentes em frações pesadas de amostras de petróleo de águas profundas: gasóleo pesado (GOP) e resíduo de destilação à pressão atmosférica (RAT); e na análise de óleos voláteis de *Eucalyptus dunnii* e *Psidium guajava*.

O detector seletivo de nitrogênio e fósforo (NPD) foi aprimorado para ser utilizado em GC×GC e aplicado às amostras de petróleo. O método desenvolvido com esse sistema (GC×GC-NPD) permitiu a análise quantitativa de compostos nitrogenados presentes no GOP e no RAT. A alta resolução e a estruturação obtida no espaço de separação para a chamada mistura complexa não resolvida (UCM – *unresolved complex mixture*) levaram à obtenção de resultados inéditos na identificação e quantificação destes compostos utilizando-se GC×GC-NPD e GC×GC/TOFMS (cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à espectrometria de massas por tempo de voo). Por GC×GC-NPD foi possível quantificar o indol, alquil-carbazóis entre C₀ e C₆₊, alquil-benzocarbazóis entre C₀ e C₄₊, alquil-quinolinas, isoquinolinas e alquil-benzoquinolinas; com limites de detecção entre 0,16 e 8,49 pg. Por GC×GC/TOFMS foi possível identificar tentativamente alquil-indóis entre C₀ e C₃, alquil-carbazóis entre C₀ e C₈, alquil-benzocarbazóis entre C₀ e C₆, alquil-quinolinas entre C₀ e C₅, alquil-indeno-piridinas C₀ e C₁, alquil-indeno-quinolinas C₀ e C₂, alquil-benzoquinolinas entre C₀ e C₅, alquil-dibenzoquinolinas entre C₀ e C₄₊, e alquil-tribenzoquinolinas C₀.

Na aplicação das técnicas cromatográficas aos óleos voláteis, foram utilizados os sistemas 1D-GC (cromatografia gasosa monodimensional) com detectores FID (detector por ionização em chama) e qMS (espectrômetro de massas com quadrupolo), e GC×GC com os detectores FID, qMS e TOFMS. Além da otimização da separação bidimensional com diversos conjuntos de colunas e condições cromatográficas, foram realizados estudos comparativos utilizando índices de retenção e espectros de massas obtidos por 1D-GC e GC×GC. No óleo de *E. dunnii* foram tentativamente identificados 34 compostos por 1D-GC e 112 compostos por GC×GC. Para o óleo de *P. guajava*, foram tentativamente identificados 43 compostos por 1D-GC e 147 compostos por GC×GC.

ABSTRACT

In the present work, comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC) was applied to analyse nitrogen containing compounds in heavy fractions from deep water petroleum samples: heavy gasoil (HGO) and atmospheric pressure distillation residue (AR); and also to analyse volatile oils from *Eucalyptus dunnii* and *Psidium guajava*.

Nitrogen-phosphorus selective detector (NPD) was improved to be used in GC×GC and it was also applied to petrochemical samples. The developed method (GC×GC-NPD) was able to quantify nitrogen-containing compounds in HGO and AR. Well-structured and high resolved 2D-plots obtained from these unresolved complex mixtures (UCM) by 1D-GC, provided new analytical information when GC×GC–NPD and GC×GC/TOFMS (comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometer) were applied. GC×GC-NPD was able to quantify indol, alkyl-carbazoles ranging from C₀ to C₆₊, alkyl-benzocarbazoles from C₀ to C₄₊, alkyl-quinolines, isoquinoline, and alkyl-benzoquinolines. LODs of 0.16 to 8.49 pg for individual compounds were achieved. GC×GC/TOFMS provided tentative identification of alkyl-indols ranging from C₀ to C₃, alkyl-carbazoles ranging from C₀ and C₈, alkyl-benzocarbazoles from C₀ to C₆, alkyl-quinolines from C₀ to C₅, alkyl-indene-pyridines C₀ and C₁, alkyl-indene-quinolines C₀ and C₂, alkyl-benzoquinolines from C₀ to C₅, alkyl-dibenzoquinolines from C₀ to C₄₊, and alkyl-tribenzoquinolines C₀.

The application of chromatographic techniques to volatile oils were performed with 1D-GC (one-dimensional gas chromatography) using FID (flame ionization detector) and qMS (quadrupole mass spectrometer), and also with GC×GC using FID, qMS, and TOFMS. Bidimensional separations were optimized through the use of several column sets and different chromatographic conditions. Comparative studies of retention indices and mass spectra obtained under 1D-GC and GC×GC were performed. Thirty four compounds were tentatively identified on *E. dunnii* volatile oil under 1D-GC conditions, and 112 compounds when GC×GC was employed. On the *P. guajava* volatile oil, it was possible to tentatively identified 43 compounds by 1D-GC, and 147 compounds by GC×GC.

1. INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC, *comprehensive two-dimensional gas chromatography*) é uma técnica nova no país, entretanto seu potencial já vem sendo explorado pela comunidade científica internacional desde a década de 90. A GC×GC é uma poderosa ferramenta analítica caracterizada pela utilização seqüencial de duas colunas cromatográficas, uma coluna convencional e a outra curta (do tipo de coluna usada para *fast-GC*), de forma que todo o efluente da primeira coluna ou uma parte representativa do mesmo é conduzido para a segunda coluna através de um modulador. O sistema de modulação entre as duas colunas causa uma compressão da banda cromatográfica que elui da primeira coluna, e esta banda é direcionada para a coluna curta, de maneira que a separação na segunda coluna é extremamente rápida. Em relação à cromatografia gasosa monodimensional (1D-GC, *one-dimensional gas chromatography*), GC×GC apresenta sensibilidade superior e a resolução aumenta de forma expressiva. A combinação de duas colunas cromatográficas com mecanismos de separação ortogonais entre si (ou quase-ortogonais), leva a um significativo aumento de seletividade, além de favorecer a estruturação dos picos no espaço de separação. Especialmente para amostras petroquímicas, esta estruturação apresenta o chamado efeito telhado (*roof-tile effect*), que representa uma informação analítica adicional para a identificação dos compostos.

Da modulação da banda cromatográfica à apresentação dos dados, organização experimental e até à terminologia, o analista que realiza GC×GC se depara com um novo paradigma, e precisa negociar seu novo caminho através dos sistemas de colunas acopladas, que rotineiramente realizam separações muito rápidas, interpretando seus resultados sob um novo ponto de vista, e otimizando o experimento com uma lógica diferente da usual, porém, tendo como ponto de partida os experimentos clássicos monodimensionais.

Através da interação com o grupo do Prof. Dr. Philip John Marriott, ocorrida através de uma bolsa de doutorado sanduíche em seu laboratório, na Royal Melbourne Institute of Technology (RMIT), em Melbourne na Austrália, foi possível

conhecer e utilizar esta nova ferramenta para solucionar problemas analíticos impossíveis de serem solucionados com técnicas monodimensionais.

Os problemas analíticos selecionados para este desafio foram amostras de frações pesadas do petróleo e óleos voláteis de plantas brasileiras. Das frações pesadas do petróleo foram escolhidos os compostos nitrogenados, por serem problemáticos para o processo petroquímico e de difícil caracterização devido à baixa concentração dos mesmos, aliada à grande complexidade de matriz. Os compostos nitrogenados usualmente formam uma mistura complexa não resolvida (UCM – *unresolved complex mixture*), onde a separação da UCM formada não pode ser realizada por 1D-GC, mesmo após várias etapas de fracionamento, além de outras dificuldades de caracterização, tais como ausência de padrões comercialmente disponíveis e espectros de massas característicos em bibliotecas comerciais^{1,2}. Apesar dos métodos de separação desenvolvidos^{1,2} terem sido eficientes no isolamento desta classe de interesse, a separação cromatográfica não permitiu a identificação de cada composto individualmente, devido ao elevado número de isômeros e compostos presentes.

No presente trabalho, a GC×GC foi aplicada às mesmas frações pesadas de petróleo Marlin (Bacia de Campos – Brasil) para o estudo de compostos nitrogenados em resíduo de destilação à pressão atmosférica (RAT) e gásóleo pesado (GOP) utilizadas para o desenvolvimento de uma tese de doutorado¹. Para o estudo dessas amostras por GC×GC, várias etapas de otimização foram realizadas, tais como escolha dos conjuntos de colunas a serem empregados e a adequação do detector seletivo para nitrogênio e fósforo (NPD, *nitrogen phosphorus detector*) à técnica GC×GC para a análise quantitativa dos compostos nitrogenados. A caracterização final das amostras foi realizada por GC×GC/TOFMS (GC×GC acoplada à espectrometria de massas por tempo de voo, *time-of-flight mass spectrometry*).

As plantas aromáticas foram selecionadas levando-se em consideração a complexidade do óleo volátil, a importância econômica regional e nacional, as aplicações atuais do óleo, a ausência ou escassez de estudos científicos sobre os óleos voláteis destas plantas, e a disponibilidade e acessibilidade da planta. A partir destes critérios, duas plantas foram inicialmente selecionadas: eucalipto (*Eucalyptus dunnii*) e goiabeira (*Psidium guajava*). A espécie de eucalipto selecionada foi *E. dunnii* por ser uma espécie utilizada pela empresa Aracruz Celulose nos seus

estudos sobre melhoramento genético, por apresentar bom rendimento em óleo e também porque seu óleo é rico tanto em monoterpenos quanto em sesquiterpenos, representando, portanto, tanto os óleos ricos em monoterpenos quanto aqueles que contêm majoritariamente sesquiterpenos³. O óleo de folhas de goiabeira foi escolhido por ser um óleo de elevada complexidade e por haver poucos estudos científicos sobre sua composição⁴⁻⁶.

A GC×GC foi aplicada para a identificação tentativa de compostos presentes nos óleos voláteis de *Eucalyptus dunnii* e *Psidium guajava*, e comparada à tradicional identificação por 1D-GC. A identificação tentativa foi realizada com base nos espectros de massas, índices de retenção, e comparação com compostos padrões. Para tal estudo, foram utilizadas as técnicas de 1D-GC com detecção por ionização em chama (FID, *flame ionization detector*), acoplada à espectrometria de massas do tipo quadrupolar (qMS, *quadrupole mass spectrometry*), GC×GC-FID, GC×GC/qMS e GC×GC/TOFMS.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nos últimos anos, a importância de análises em variados níveis de concentração de misturas complexas como amostras petroquímicas, alimentos, sedimentos, óleos ou biota contaminada com micropoluentes orgânicos tem aumentado sensivelmente^{7,8}. A cromatografia gasosa convencional, que usa colunas capilares, apresenta alta eficiência na análise deste tipo de amostras, porém, não é suficiente para separar todos os constituintes individualmente de várias matrizes complexas⁸. Buscando melhores resoluções para estas matrizes, uma abordagem diferenciada para as separações cromatográficas vem sendo explorada desde a década de 50^{9,10}: a cromatografia multidimensional. Análise multidimensional em cromatografia pode ser considerada como qualquer técnica que combine duas ou mais separações distintas, ou etapas analíticas, onde pelo menos um dos passos envolva uma separação cromatográfica. Desta forma, LC-GC, GC-GC e GC/MS são métodos tipicamente multidimensionais¹¹.

Ao focarmos a atenção em métodos que envolvam duas dimensões, observamos que a LC-GC é uma técnica que busca simplificar a mistura de compostos para a separação em GC, pela redução da sobreposição de classes de compostos. Logicamente, isso aumenta significativamente o tempo de análise, uma vez que cada fração eluída do sistema LC é direcionada para o GC, onde é analisada individualmente. Da mesma forma, na GC-GC do tipo *heart-cut*, onde pequenas frações da primeira coluna são transferidas para uma segunda coluna, a seletividade diferenciada da segunda coluna fornece um aumento da resolução dos picos cromatográficos da zona de *heart-cut*. Este procedimento aumenta em algumas horas o tempo de análise, uma vez que cada fração separada da primeira coluna é separada na segunda coluna durante o mesmo período de tempo de uma corrida cromatográfica convencional⁷. A **Figura 1** apresenta desenhos esquemáticos da cromatografia convencional (A) e alguns sistemas multidimensionais já desenvolvidos (B – E)⁷. A **Figura 2** esquematiza o processo de cromatografia gasosa bidimensional de acordo com a abordagem *heart-cut*. O cromatograma apresentado na **Figura 2** ilustra uma separação *heart-cut* onde apenas algumas

zonas cromatográficas da primeira dimensão são transferidas para a segunda coluna, obtendo-se o cromatograma da segunda dimensão, separadamente.

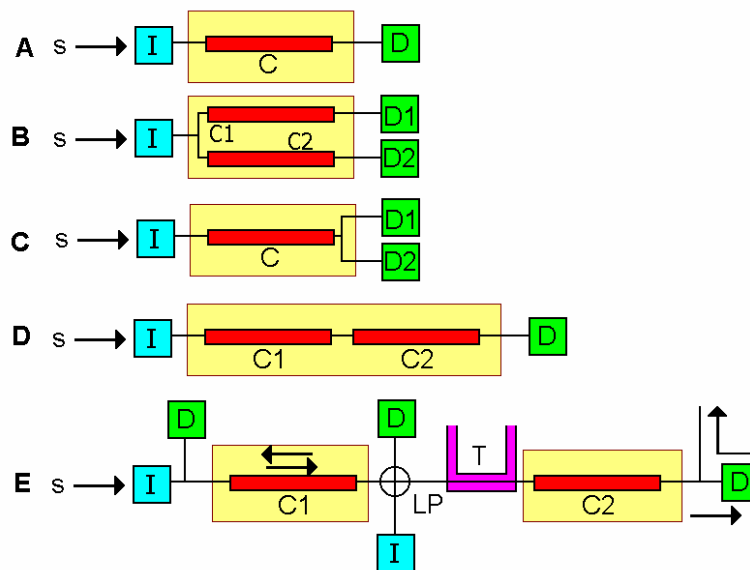


Figura 1. Possíveis configurações para o acoplamento de sistemas GC. A – uma dimensão; B – sistema multicanais com colunas acopladas paralelamente; C – sistema multicanais com detectores em paralelo; D – sistema em uma dimensão, com um canal e colunas acopladas em série; E – sistema multidimensional e multicanais. Este sistema apresenta *heart-cut* da primeira coluna (C1), onde frações do eluente podem ser transferidas para o *trap* (T) e subseqüentemente para a segunda coluna (C2). As temperaturas, velocidades lineares, e direções do fluxo da fase móvel podem ser ajustados independentemente para cada coluna, detector e injetor. S – amostra; I – injetor; D – detector; LP – peça de acoplamento.⁷

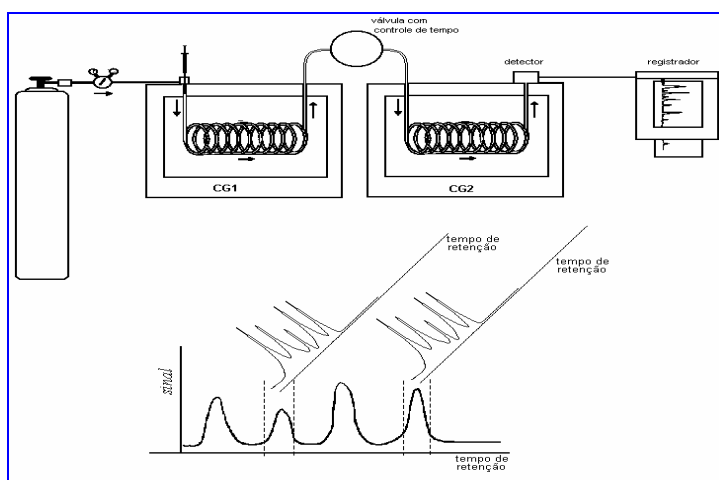


Figura 2. Esquema geral de um sistema GC-GC bidimensional de *heart-cut* com o respectivo cromatograma obtido.

Uma nova abordagem para a cromatografia gasosa bidimensional foi introduzida em 1991 por Liu e Phillips¹²: a cromatografia gasosa bidimensional abrangente. Desde os primeiros trabalhos demonstrando a aplicação da GC×GC¹², já conceitualmente delineada por Giddings¹³, foi possível perceber o potencial desta técnica para a obtenção de novas informações analíticas, que as técnicas monodimensionais não permitem obter, especialmente para amostras de elevada complexidade, ou de difícil resolução cromatográfica. Os próximos capítulos apresentarão de forma detalhada os princípios desta técnica, especialmente as características que são diferenciadas da cromatografia gasosa monodimensional.

2.1 PRINCÍPIOS BÁSICOS DA GC×GC

A GC×GC é caracterizada pela utilização seqüencial de duas colunas cromatográficas, uma coluna convencional e a outra curta (do tipo de coluna usada para *fast-GC*), de forma que todo o efluente da primeira coluna ou uma parte representativa do mesmo é conduzido para a segunda coluna através de um modulador, conforme ilustrado na **Figura 3**. O sistema de modulação entre as duas colunas causa uma compressão da banda cromatográfica que elui da primeira coluna, e esta banda é direcionada para a coluna curta, de forma que a separação na segunda coluna é extremamente rápida. Os períodos de modulação devem ser ajustados a fim de que sejam compatíveis com o tempo de separação na segunda coluna, minimizando o alargamento da banda comprimida. Desta maneira, a sensibilidade é significativamente incrementada^{8,11} e a resolução aumenta de forma expressiva, se comparada à 1D-GC. Uma discussão mais detalhada sobre os moduladores será apresentada no próximo capítulo (**item 2.1.1**). A combinação de duas colunas cromatográficas com mecanismos de separação ortogonais (ou quase-ortogonais) entre si, leva a um significativo aumento de seletividade. Além disso, em muitos casos, pode ser observada uma estruturação por classe química nos diagramas de contorno. Tais características tornam esta técnica extremamente útil para a análise de amostras complexas, ou amostras que apresentem outras características que limitam a sua caracterização por 1D-GC, como no caso das separações enantioméricas^{8,11}.

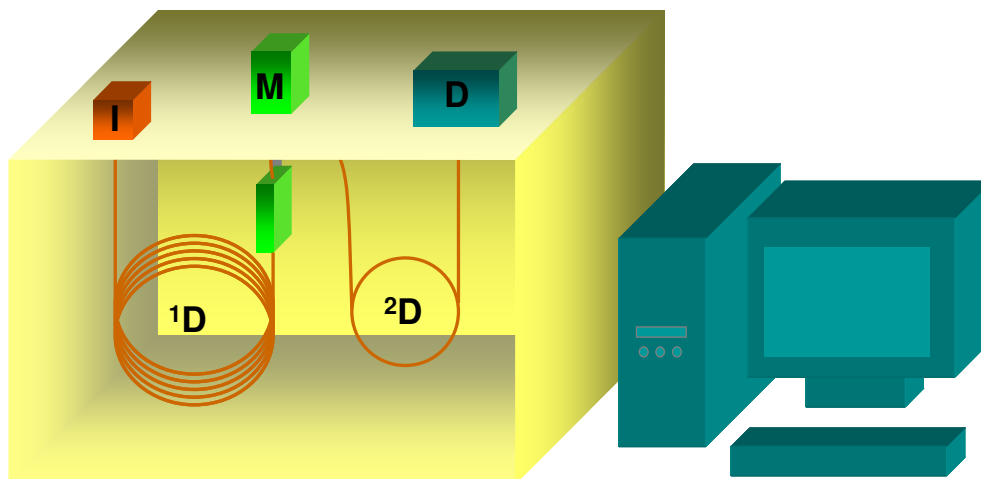


Figura 3. Desenho esquemático de um sistema GCxGC. Onde: I – injetor; M – modulador; D – detector; ¹D – coluna cromatográfica da primeira dimensão; e ²D – coluna cromatográfica da segunda dimensão.

Os picos modulados que eluem da coluna da segunda dimensão em GCxGC são cerca de 10 a 50 vezes mais estreitos do que os picos obtidos por 1D-GC¹⁴. Por esta razão, a velocidade de aquisição de sinal dos detectores passa a ser um fator fundamental para a escolha de um detector (**item 2.1.2**). Outra característica específica da GCxGC se apresenta após a aquisição do sinal: o processamento dos dados. Além da obtenção de picos mais estreitos com uma taxa de aquisição de sinal mais alta (gerando maior volume de dados armazenados por cromatograma), cada pico obtido convencionalmente por 1D-GC é repartido em várias fatias, resultando em um cromatograma muitas vezes mais complexo. Para converter estes dados em informação útil, os mesmos são transformados para a obtenção de diagramas tridimensionais, conforme será discutido no **item 2.1.3**.

A terminologia adotada na língua inglesa para a cromatografia multidimensional abrangente foi discutida por pesquisadores da área em uma seção do Primeiro Simpósio em Cromatografia Gasosa Multidimensional Abrangente (*First International Symposium on Comprehensive Multidimensional Gas Chromatography*) na Holanda, em 2003¹⁵. Tal terminologia originou-se a partir da linguagem corrente empregada entre pesquisadores que atuam no campo da cromatografia gasosa bidimensional abrangente, entretanto, pode também ser aplicada para outras técnicas multidimensionais de cromatografia. Mesmo assim, esta terminologia não tem sido aplicada de maneira uniforme pelos vários autores. Na língua portuguesa, buscou-se

definir uma terminologia básica para a técnica em um artigo publicado na Química Nova¹⁶. Este trabalho serviu como guia para a nomenclatura utilizada na presente Tese, entretanto essa nomenclatura não será detalhada de forma específica.

2.1.1 Moduladores

Embora a GC×GC tenha apenas 13 anos, vários moduladores já foram desenvolvidos¹⁷⁻²⁴, cada um com mecanismos diferentes para efetuar a modulação: aquecimento, resfriamento, modificação das condições de fluxo e/ou pressão. Entretanto, todos os moduladores apresentam três funções principais^{8,25,26}:

1. acumular continuamente pequenas frações adjacentes do efluente da primeira coluna;
2. focalizar as frações acumuladas, no tempo ou no espaço;
3. liberar as estreitas frações coletadas da primeira dimensão como pulsos estreitos para a segunda dimensão.

Dependendo da configuração do modulador, estas etapas podem ocorrer de várias maneiras distintas: em uma única região da coluna, em regiões diferentes na coluna da primeira dimensão, ou na coluna da segunda dimensão. As etapas de modulação estão ilustradas em um sistema genérico apresentado na **Figura 4**.

Os primeiros moduladores desenvolvidos para GC×GC utilizavam sorção em filmes espessos e dessorção térmica, empregando a razão de fase como efeito de focalização, tais como o modulador de dois estágios aquecidos¹² e o modulador de varredura térmica²⁴ (*thermal sweeper*). Apesar do grande uso inicial desta geração de moduladores^{8,25}, estes apresentavam limitações quanto à faixa de temperatura de operação, uma vez que o modulador deveria operar a 100 °C acima da temperatura da coluna, e para evitar o super-aquecimento da fase estacionária da coluna na região de modulação, a temperatura máxima do forno deveria ficar limitada a 100 °C abaixo da temperatura máxima de operação da coluna. Além disso, estes sistemas apresentavam uma maior complexidade operacional, devido à presença de várias partes móveis, além de dificuldades para a fabricação^{8,27}.

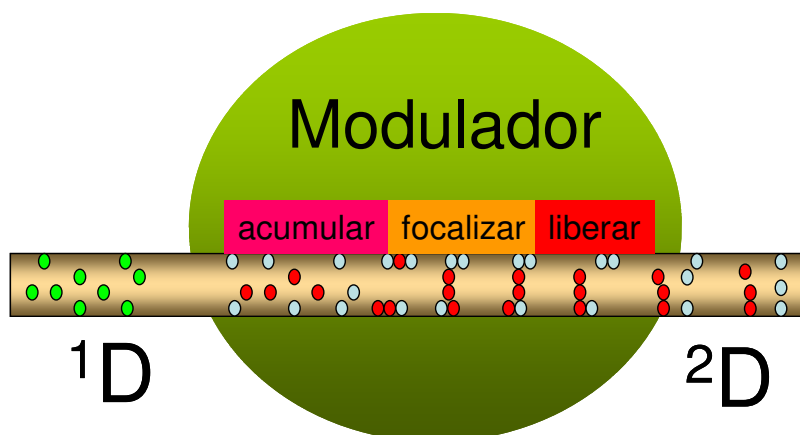


Figura 4. Esquema geral de funcionamento de um modulador genérico, abrangendo as três etapas: acumulação da banda cromatográfica da primeira dimensão; focalização e liberação da banda para a segunda dimensão.

A geração seguinte de moduladores também utilizou a temperatura para a modulação, entretanto através do resfriamento, com a criação dos moduladores criogênicos. Estes moduladores mostraram-se mais robustos devido à simplificação das partes móveis, além de propiciarem a ampliação da faixa de temperatura de trabalho.

O primeiro sistema modulador criogênico foi descrito por Marriott e Kinghorn²³, e é chamado de Sistema Criogênico Longitudinalmente Modulado (LMCS, *Longitudinally Modulated Cryogenic System*). Neste sistema, o resfriamento é realizado por uma armadilha criogênica que se move longitudinalmente, contendo CO₂ gaseificado, resfriado pelo efeito de expansão de um fluxo de CO₂ líquido adicionado constantemente a esta armadilha criogênica¹¹. Uma foto ilustrativa deste sistema consta da **Figura 5**. A ilustração à direita da foto (**Figura 5**) apresenta as duas posições de modulação. Na primeira posição (A), os analitos são imobilizados na coluna pela armadilha criogênica, ocorrendo o evento de acumulação da banda. Na segunda posição (B) os analitos são mobilizados pelo aquecimento da região (temperatura do forno do cromatógrafo), e focados novamente na região da armadilha. Quando o modulador volta para a posição A, estes analitos são re-mobilizados pelo aquecimento da região (temperatura do forno do cromatógrafo), e uma nova zona de eluente da primeira coluna é aprisionada pelo modulador na posição (A). Sendo assim, esta modulação ocorre em 3 etapas (acumulação, focalização e liberação), em duas zonas diferentes da coluna.

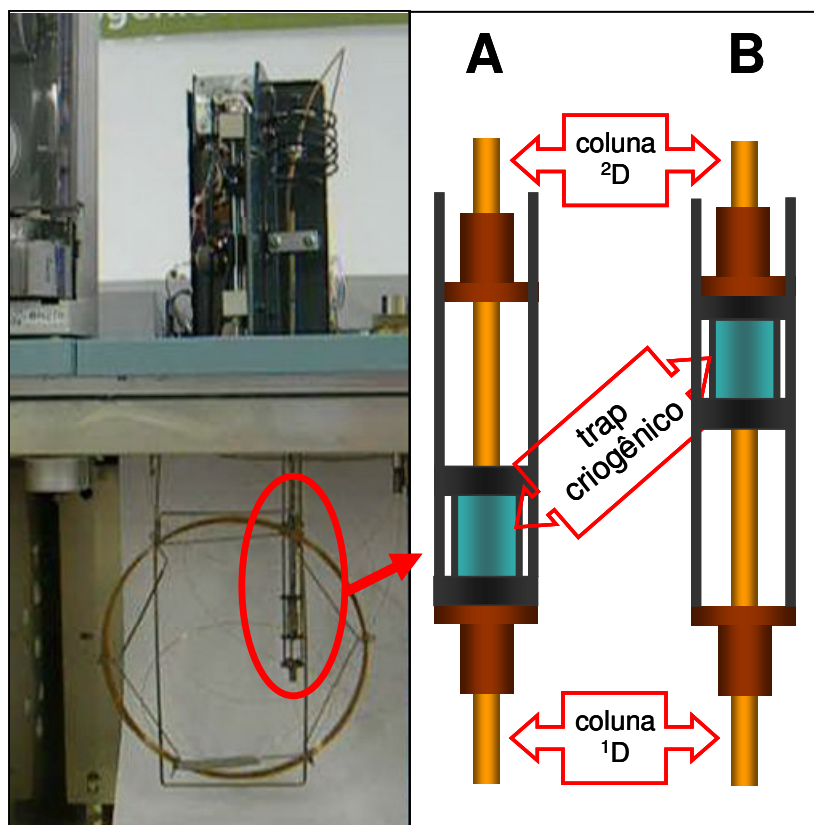


Figura 5. Foto do Sistema Criogênico Longitudinalmente Modulador – LMCS (à esquerda); e esquema das duas posições do modulador (A) abaixo e (B) acima.

Outra família de moduladores criogênicos utiliza jatos criogênicos a fim de focalizar os compostos em duas regiões próximas da coluna capilar, utilizando uma temperatura mais baixa, devido ao contato direto do gás refrigerante com a coluna. Estes jatos podem ser empregados de diferentes formas, tais como no sistema de dois estágios desenvolvido por Ledford e colaboradores²⁸, que contém um jato simples de CO₂; o modulador criogênico móvel (*moving cryogenic modulator*) de Beens e colaboradores¹⁷, que utiliza uma zona de aquecimento elétrico, seguida de uma zona de resfriamento com um jato de CO₂ no interior de uma câmara, apresentando movimentos similares ao LMCS; ou o sistema de Hyötyläinen e colaboradores²¹, composto por dois estágios de aquecimento elétrico e outros dois estágios de resfriamento com jatos de CO₂ em zonas diferenciadas. Desta família de moduladores criogênicos com jatos também surgiram várias outras possibilidades. Entretanto, Adahchour e colaboradores apresentaram uma vasta revisão sobre a técnica, dividida em quatro artigos^{25,29-31}, e reportam a ausência de um consenso

quanto ao melhor design: jato simples, dois jatos ou quatro jatos²⁵. Além disso, estes autores também constataram a introdução de aproximadamente 10 novos moduladores na literatura científica entre 2003 e 2004, em um intervalo de apenas 12 meses.

Uma terceira família de moduladores apresenta como base operacional a utilização de válvulas. Estes moduladores geralmente apresentam uma temperatura limite de operação bastante baixa (cerca de 175 °C)^{25,32} ou outras condicionantes, tais como trocas de alças de amostragem a cada período de modulação ou restrições quanto às condições de fluxo utilizadas³³, o que resulta em uma limitada utilização destes moduladores no presente momento^{8,25}.

2.1.2 Detectores

O detector é uma parte importante integrante de qualquer sistema cromatográfico. Entretanto, o perfil dos picos cromatográficos (isto é, a separação dos picos) não deveria ser, idealmente, afetado pelo detector – este deveria apenas fornecer a capacidade de sensor requerida ao final do processo de separação. A GC×GC melhora o desempenho da GC em vários sentidos, porém com um preço: partes dos sistemas 1D-GC existentes podem não apresentar as características necessárias para suprir as necessidades da GC×GC, especialmente os detectores. Os detectores devem ter a capacidade de medir precisamente picos extremamente rápidos, com largura de base de cerca de 50 ms para serem adequados à GC×GC. Um dos aspectos menos considerados nos experimentos de GC×GC tem sido a detecção. Isso pode ter ocorrido devido a vários fatores, tais como o desempenho superior de separação oferecida pela GC×GC (o que reduz a necessidade de detectores seletivos), ou a robustez e praticidade do FID, ou ainda a crença de que existem dificuldades experimentais com a maioria dos detectores seletivos. Talvez a combinação destes fatores explique a ausência de um número maior de trabalhos envolvendo detectores seletivos para GC×GC. Os trabalhos encontrados na literatura, que apresentam aplicações de detectores seletivos a GC×GC estão listados na **Tabela I**.

Tabela I. Aplicações de detectores seletivos em GC×GC.

detector	analitos	conjuntos de colunas	T detector (°C)	taxa de aquisição (Hz)	ref.
NPD	metoxipirazinas em vinho	¹ D- BPX5 30m x 0,25mm x 0,25µm ² D- BP20 1m x 0,1mm x 0,1µm	300	100	34
µECD	CBs, PCDDs, PCDFs	1. ¹ D- HP-1 30m x 0,25mm x 0,25µm ² D- HT-8 1m x 0,1mm x 0,1µm 2. ¹ D- HP-1 30m x 0,25mm x 0,25µm ² D- SupelcoWax-10 1m x 0,1mm x 0,1µm	300	50	35
µECD	toxafeno	¹ D- HP-1 30m x 0,25mm x 0,25µm ² D- HT-8 1m x 0,1mm x 0,1µm	300	50	36
µECD	PCDDs, PCDFs e PCBs 2,3,7,8,-substituídos	¹ D- DB-XLB 30m x 0,25mm x 0,25µm ² D- LC-50 0,9m x 0,18mm x 0,1µm	300	50	37,38
µECD	PCBs quirais	¹ D- BGB-176SE 30m x 0,25mm x 0,25µm D- SupelcoWax-10 2m x 0,18mm x 0,1µm	300	50	39
µECD	PCBs atropisoméricos	D- Chirasil-DexCB 10m x 0,1mm x 0,1µm ² D- LC-50 1,0m x 0,1mm x 0,15µm	260	50	40
SCD	Compostos sulfurados	5 conjuntos de colunas	800	100	41
SCD	Compostos sulfurados em misturas de GOP e LCCCO	¹ D- DB-1 10m x 0,25mm x 0,25µm ² D- BPX-50 17,5m x 0,1mm x 0,05µm	800	50	42
SCD	Compostos sulfurados em óleo bruto	¹ D- VB-5 6m x 0,18mm x 3,5µm ² D- 007-17 2m x 0,1mm x 0,1µm	800	50	43
NCD	Compostos nitrogenados em diesel	¹ D- SPB-5 30m x 0,25mm x 0,1µm ² D- BPX-50 3m x 0,25mm x 0,25µm		100	44
AED	Compostos sulfurados em óleo bruto	¹ D- DB1 15m x 0,25mm x 0,25µm ² D- BPX50 0,6m x 0,1mm x 0,1µm	Cavidade 300	10	45

Obs. Definição das siglas na lista de abreviações.

A primeira questão a ser levantada na adaptação de um detector para o uso em GC×GC é a velocidade de aquisição. Os picos gerados por GC×GC no final da segunda coluna apresentam largura na linha base de cerca de 100 ms ou menos, o que representa uma diminuição de 10 e 50 vezes na largura do pico tradicionalmente obtido por 1D-GC. A capacidade de um detector de rastrear a mudança rápida de um perfil cromatográfico depende de vários fatores, desde o

design dos caminhos do fluxo e introdução de gases de *make-up*, do mecanismo de resposta do detector até a cinética química da resposta. Outro fator importante é o processamento eletrônico da saída do transdutor (conversão A-D) para o sinal de entrada no sistema de dados. Durante este projeto de pesquisa, foi produzido um artigo científico de revisão¹⁴ em parceria com Weeraya Khummeng, aluna de doutorado da RMIT – Melbourne, Austrália que trata dos detectores seletivos e do FID utilizados em GC×GC, apresentando os mecanismos de funcionamento dos mesmos, bem como uma discussão das aplicações e potencialidades de cada detector para sua utilização em GC×GC. Neste trabalho, serão abordados apenas os detectores empregados nos experimentos realizados.

2.1.2.1 Detector por Ionização em Chama – FID

O FID (*flame ionization detector*, detector por ionização em chama) é mais utilizado em cromatografia gasosa do que qualquer outra técnica para detecção de sinal cromatográfico^{46,47}. O FID também foi o primeiro detector a ser aplicado em GC×GC¹², especificamente porque ele é o único detector universal de custo relativamente baixo, que permite uma taxa de aquisição de até 200 Hz, o que o torna suficientemente rápido para a detecção apropriada dos picos rápidos ao final da segunda coluna^{11,48}. Como o próprio nome diz, o FID funciona pela queima de compostos contendo carbono, os quais produzem íons em uma chama. O FID é freqüentemente rotulado como um sistema para a “contagem de carbonos”, porque os hidrocarbonetos apresentam uma resposta proporcional ao número de átomos de carbono⁴⁶, embora heteroátomos e outros grupos funcionais afetem a magnitude da resposta.

O mecanismo de detecção do FID pode ser representado pela equação:



Desta forma, ocorre um rápido processo de geração de íons, que resulta em uma corrente proporcional à quantidade de carbonos presentes nos compostos. Entretanto, a natureza química das moléculas da amostra irá influenciar na resposta gerada⁴⁹, o que pode ser observado pela variação dos fatores de resposta

encontrados para compostos diferentes. Na maioria dos casos, o fator de resposta é aproximadamente o mesmo dentro de uma determinada classe de compostos.

A utilização do FID como um detector universal em GC×GC tem apresentado resultados impressionantes em termos de sensibilidade, resolução e capacidade de quantificação, quando comparados com o sistema 1D-GC. Análises onde tradicionalmente seria necessário utilizar MS devido à demanda de quantificação de picos não resolvidos, tornam-se possíveis com o uso do FID, uma vez que os picos são completamente resolvidos, permitindo sua quantificação. A grande velocidade dos processos de ionização e aquisição, e o pequeno volume interno⁸ minimizam a contribuição deste detector para o alargamento da banda cromatográfica. Por essa razão, o FID produz picos mais estreitos do que outros detectores, o que se torna muito importante em GC×GC, especialmente quando colunas curtas são utilizadas na 2D e a limitada capacidade de picos demanda uma eficiência máxima nesta coluna. Outro aspecto positivo do FID inclui a ampla faixa de linearidade – 10^6 ou 10^7 – dependendo do equipamento⁵⁰⁻⁵³, além dos limites de detecção estarem entre 2 e 5 pg carbono/s, dependendo do composto a ser detectado. O FID também é um detector extremamente robusto e estável, e requer pouca experiência do operador. Devido a estas características, as informações disponíveis sobre as condições de detecção são geralmente escassas na literatura sobre GC×GC-FID, sendo muitas vezes apenas mencionado que este detector foi utilizado. Entretanto, geralmente esta informação é suficiente para a obtenção de resultados reprodutíveis, se os outros parâmetros analíticos forem fornecidos corretamente.

Em GC×GC, o FID não é utilizado apenas como uma ferramenta para quantificação⁵⁴, associada ou não às técnicas espectrométricas, como GC×GC/qMS⁵⁵ ou GC×GC/TOFMS⁵⁶, mas os resultados obtidos com FID podem ser utilizados para identificação de compostos, devido à relação existente entre a estrutura química e a retenção dos compostos no espaço de separação bidimensional. Este efeito tem sido chamado de “efeito telhado”. O potencial de identificação e diagnóstico do sistema GC×GC-FID tem sido aplicado para problemas ambientais⁵⁷⁻⁵⁹, avaliação de processos industriais^{60,61} e outros problemas analíticos que não poderiam ser solucionados antes da implementação da GC×GC, nem mesmo utilizando GC/MS⁶².

Para exemplificar aplicações típicas de GC×GC-FID e a natureza clara e simples da informação fornecida por esta técnica para a identificação de compostos

individuais, especialmente quando o efeito telhado está presente, vários trabalhos realizados com amostras petroquímicas podem ser citados, e serão abordados no **item 2.2.**

2.1.2.2 Detector Seletivo de Nitrogênio e Fósforo – NPD

O termo detector de nitrogênio e fósforo (NPD, *nitrogen phosphorus detector*) só pode ser utilizado quando o detector termiônico de chama (TID, *thermionic detector*) for utilizado no modo específico para a detecção de compostos nitrogenados e fosforados⁶³. O NPD, assim como todos os TID, está relacionado à natureza do processo de ionização, pois as moléculas da amostra são convertidas em íons negativos no detector pela extração de elétrons emitidos da superfície sólida quente de uma pérola⁶⁴. A diferença básica entre um TID e um FID está na presença da pérola no topo da chama, que é composta de um sal de um metal alcalino em uma matriz cerâmica inorgânica, que funciona como uma fonte termiônica eletricamente aquecida⁶⁴. A **Figura 6** apresenta um desenho esquemático de um TID. Os princípios de operação do TID e o mecanismo do processo de ionização específico ainda não foram completamente estabelecidos e compreendidos⁶³⁻⁶⁵. O mecanismo mais aceito atualmente, é a teoria da ionização catalítica superficial^{66,67}.

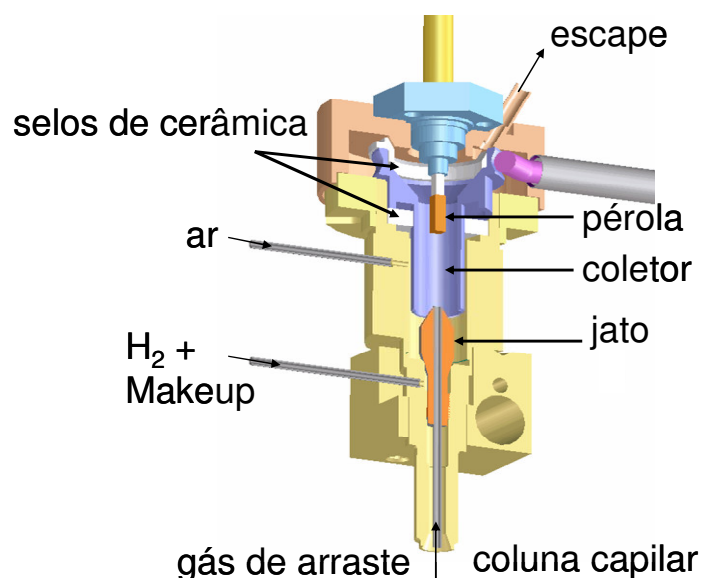


Figura 6. Desenho esquemático de um detector termiônico de chama (TID). Modificação do desenho fornecido por Agilent Technologies.

De acordo com essa teoria, os átomos do metal alcalino não deixam a superfície da pérola (que não pode ser chamada de “fonte”, nesse caso), mas catalisam a transferência de elétrons na superfície da pérola⁶⁶. Desde o desenvolvimento das pérolas de cerâmica, Patterson e Howe⁶⁸ estudaram os efeitos da composição das pérolas, temperatura da superfície, voltagem, e da composição do ambiente gasoso que circunda a superfície da pérola na resposta do detector. Patterson⁶⁶ concluiu que a temperatura na superfície da pérola e a composição do ambiente gasoso que circunda a pérola determinam os produtos gasosos formados da decomposição dos compostos presentes na amostra, afetando a seletividade do detector. Os resultados apresentados por Patterson⁶³, demonstraram o efeito do ambiente gasoso na forma dos picos, apesar desta observação não ter sido apresentada e discutida. Além disso, este mesmo autor discutiu relações de sensibilidade e especificidade para vários compostos.

O processo de detecção do TID tem sido erroneamente considerado como muito lento para atingir as altas frequências de aquisição necessárias à GC×GC, uma vez que esta técnica produz picos muito mais estreitos do que os picos obtidos por 1D-GC (<1s)⁶⁵. Como já foi mencionado anteriormente, efeitos de tempo de resposta do detector e perda de simetria de pico causados pelo detector são extremamente importantes em GC×GC. Apesar de conhecer esta possível limitação, Ryan e colaboradores³⁴ apresentaram a primeira aplicação de um NPD à GC×GC, estudando metoxipirazinas em vinhos, com uma frequência de aquisição de 100 Hz. Neste trabalho, foi possível realizar a quantificação de 2-metoxi-3-(2-metilpropil)pirazina, atingindo-se limite de detecção de 0,5 ng L⁻¹, o qual foi superior ao limite de detecção obtido utilizando-se GC×GC/TOFMS (1,95 ng L⁻¹). O desempenho do NPD foi aprimorado pela modificação das vazões de hidrogênio, ar e nitrogênio do mesmo, o que melhorou a resposta do detector em termos de magnitude e simetria dos picos. A utilização deste detector em GC×GC permitiu a simplificação do cromatograma obtido do *headspace* de amostras de vinho. Em outro estudo do mesmo grupo⁶⁵, o desempenho do NPD foi correlacionado à resposta dos picos. Os valores de simetria dos picos melhoram, indo de 8,0 a 1,6 (o valor da simetria é considerado ideal quanto mais próximo de um, o que seria a simetria de uma gaussiana), através da otimização dos fluxos dos gases do detector. Estes autores também concluíram que as condições de fluxo responsáveis pela

melhor simetria de pico não necessariamente fornecem a melhor magnitude de resposta.

2.1.2.3 Detector por Espectrometria de Massas - MS

Para que um determinado detector possa ser aplicado à GC×GC, este deve possuir uma taxa de aquisição de sinal compatível com os estreitos picos gerados por GC×GC. Até o momento, autores divergem quanto ao número mínimo teórico de pontos por pico necessário para um estudo quantitativo, variando de 4 a 6 pontos por pico, ou até de 15 ou 20 pontos por pico⁶⁹⁻⁷³. O único detector de espectrometria de massas que permite alta frequência de aquisição de sinal (500 Hz) é o detector de espectrometria de massas por tempo de voo (TOFMS)⁷⁴⁻⁷⁶. Devido ao seu alto custo e baixa disponibilidade nos laboratórios, um outro MS tem sido estudado: o quadrupolo. Para contornar a questão da baixa taxa de aquisição dos espectrômetros de massas do tipo quadrupolar (qMS), duas estratégias diferentes estão registradas na literatura: (1) alargamento dos picos cromatográficos obtidos por GC×GC e (2) aumento da taxa de aquisição pela limitação do intervalo de varredura. Frysinger e Gaines⁷⁷ adotaram a primeira estratégia para adaptar um equipamento com taxa de aquisição de apenas 2,43 varreduras/s para GC×GC, aumentando a largura de base dos picos da segunda dimensão de 0,2 s para 1,0 s, pelo aumento do tempo de corrida para até 7 horas. Mesmo assim, foi possível realizar apenas três varreduras por pico, tornando o sistema inviável para propósitos quantitativos. Limitações claras desta estratégia são o aumento do tempo de análise e a diminuição da resolução e sensibilidade adquiridas pela GC×GC. Shellie e colaboradores^{48,78} adotaram a segunda estratégia, utilizando um qMS HP5973 (Agilent, USA). Nestes trabalhos, Shellie e colaboradores buscaram restringir a faixa de massa atômica varrida até o limite da faixa de massa dos analitos, buscando aumentar a taxa de aquisição de sinal. Os fatores que contribuem para a definição da taxa de aquisição de sinal de um detector qMS são: o número de unidades de massa atômica varridas por segundo, que determina o tempo de varredura (V) de uma determinada faixa de massas atômicas; e o tempo de ajuste do equipamento entre uma varredura e outra (A), conforme ilustrado na **Figura 7**. Estes parâmetros são fundamentais para estabelecer o intervalo de massas atômicas (IM) mais

adequado para a obtenção de uma taxa de aquisição apropriada à determinada aplicação⁷⁹.

Sistemas qMS de diferentes fabricantes possuem diferentes condições de operação. Alguns equipamentos iniciam a varredura pelo valor de massa atômica mais alta, enquanto outros equipamentos iniciam pela massa atômica mais baixa. A **Figura 7** ilustra a varredura iniciando pelo valor mais alto, referente ao qMS HP5973 utilizado por Shellie e colaboradores^{48,78} e por outros autores^{55,80,81}.

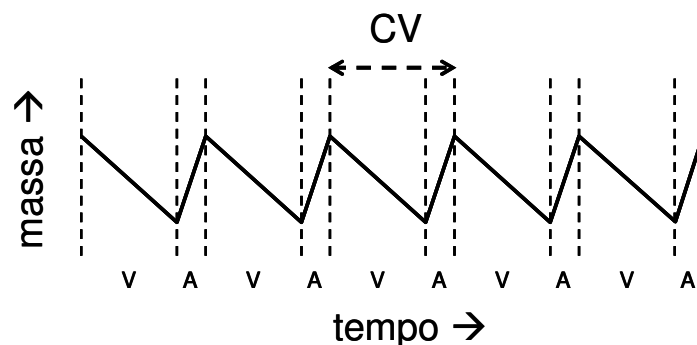


Figura 7. Ilustração das contribuições do tempo de varredura (V) e de ajuste (A) para o tempo de ciclo de varredura (CV) de um qMS.

Para calcular a duração de cada ciclo de varredura (CV) e, conseqüentemente, a freqüência de aquisição de sinal ($1(s)/CV(s)$ =freqüência de aquisição em Hz) pode-se utilizar a equação 1⁷⁹:

$$CV = \left(\frac{IM}{TV} \right) + TA \quad \text{eq. 1}$$

Onde: IM – intervalo de massas atômicas; TV – taxa de varredura do equipamento em Da s^{-1} (unidades de massa atômica por segundo); TA – tempo de ajuste eletrônico.

O qMS HP5973 possui uma taxa de varredura de 10.000 Da s^{-1} , e para análises no modo de varredura (*scan mode*), o tempo de ajuste eletrônico (TA) é de 20,49 ms. Sendo assim, aplicando a equação 1 para um intervalo de massas atômicas de 129 Da, o ciclo de varredura será de 33,39 ms, resultando em uma freqüência de 29,95 Hz, e se o intervalo de massas atômicas for ainda mais amplo, como 200 Da, por exemplo, a freqüência de aquisição de sinal cairá para 24,70 Hz. Se o intervalo de massas atômicas for mais amplo do que este valor, a freqüência de aquisição torna-se muito restrita para aplicações em GC×GC^{48,55}. Em instrumentos

mais modernos onde TA é menor, a taxa de aquisição de sinal pode ser maior para o mesmo intervalo de varredura^{82,83}.

2.1.3 Processamento dos cromatogramas obtidos

O processo de tratamento de dados, por si só, já é uma das linhas de pesquisa da GC×GC, o que abrange desde o desenvolvimento de programas específicos para o tratamento do sinal gerado, até tratamentos quimiométricos da informação analítica final obtida^{54,73,84-100}. Juntamente com todas as vantagens já citadas da GC×GC, tem-se também um novo paradigma de tratamento de dados, em virtude do aumento de volume e complexidade de informação analítica. Cromatogramas que não eram resolvidos por 1D-GC, agora podem apresentar mais de 10.000 picos, com informação de retenção na primeira e na segunda dimensão. Um exemplo disso são amostras complexas provenientes de petróleo e derivados. Ainda não se tem um consenso na literatura sobre a melhor forma de abordar este grande volume de informação analítica obtida, entretanto, há concordância quanto à inviabilidade de manter-se a abordagem utilizada para 1D-GC^{86,101}. A maioria dos grupos de pesquisa nesta área tem desenvolvido seus próprios softwares para o processamento dos dados⁸⁶.

A primeira diferença entre os dados gerados por 1D-GC e GC×GC é o cromatograma produzido. Enquanto que na 1D-GC cada pico representa um composto, ou mais de um composto, nos casos de co-eluição, em GC×GC cada pico primário obtido por 1D-GC será dividido em vários segmentos (picos modulados)¹⁶. Se levarmos em consideração apenas este efeito, a complexidade do cromatograma aumentaria em 3, 4, ou mais vezes, dependendo do número de modulações realizadas por pico primário conforme ilustrado na **Figura 8**. Esta figura apresenta uma região dos cromatogramas obtidos para a mesma amostra de *Eucalyptus dunnii*, realizando-se uma corrida com o modulador desligado (A – 1D-GC), seguida de outra corrida com o modulador ligado (B – GC×GC), no mesmo sistema cromatográfico. Nesta figura (**Figura 8**) também se pode perceber, além do aumento da complexidade de cromatograma, o aumento da intensidade da resposta obtida quando o modulador é ativado (B). Para converter o cromatograma obtido em GC×GC em outro tipo de imagem, o primeiro passo é a conversão do sinal linear detectado em matrizes de dados.

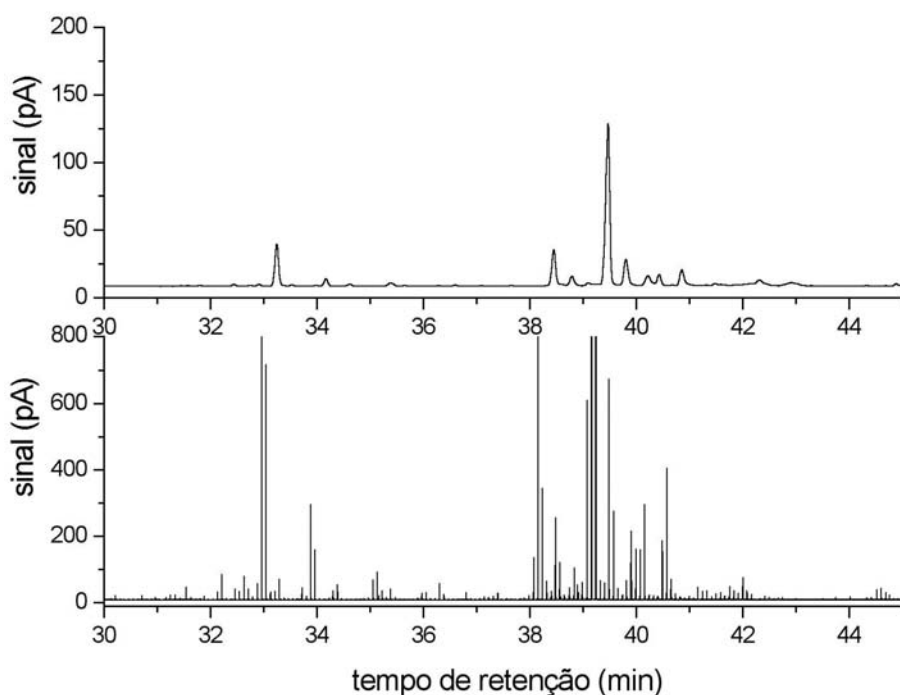


Figura 8. Parte dos cromatogramas obtidos por 1D-GC (A) e GCxGC (B) na análise cromatográfica de uma amostra de óleo volátil de *E. dunni*.

Para isso, faixas de tempo de retenção de tamanho igual ao período de modulação (P_M - *Modulation time* ou *modulation period*)^{15,16} são agrupadas em colunas, juntamente com o sinal registrado para esta janela de tempo, formando matrizes (o P_M é definido como a duração de um ciclo completo de modulação, e é igual ao tempo entre duas injeções sucessivas na segunda dimensão^{15,16}). Essas matrizes de dados são então convertidas em imagem. A **Figura 9** ilustra graficamente as etapas deste processo. A transformação do sinal analítico em imagem pode ser realizada por softwares específicos desenvolvidos por diferentes grupos de pesquisa⁸⁶, ou mais recentemente, por outros softwares comercialmente disponíveis. Essa imagem, representativa do espaço de separação (*separation space*, região no gráfico bidimensional de cromatografia multidimensional abrangente onde os compostos devem estar distribuídos) pode ser apresentada de diversas maneiras, tais como diagramas tridimensionais, diagramas de cores, diagramas de contorno, ou diagramas de bolhas¹⁶. Nessas representações do espaço de separação, picos que apresentem tempo de eluição na segunda dimensão (2t_R) superior ao P_M são denominados picos fora do ciclo^{15,16} (*wrap-*

around). Esses picos aparecerão em regiões do diagrama pertencentes ao próximo ciclo de modulação, na posição relativa ao seu ${}^2t_R - P_M$, se ${}^2t_R < 2P_M$. Se 2t_R for superior a $2P_M$, esse pico poderá estar fora do ciclo por mais de um ciclo de modulação.

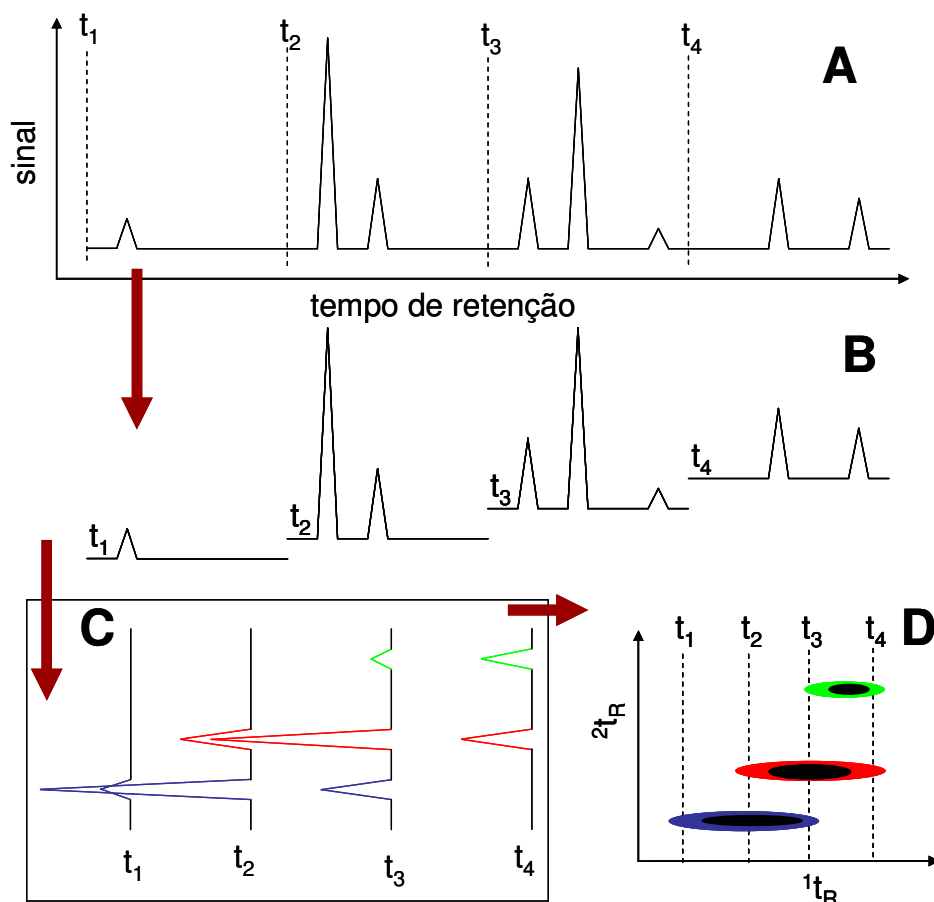


Figura 9. Ilustração do processo de transformação do cromatograma em imagem. A – Cromatograma mono-dimensional; B – divisão do cromatograma inicial em fatias; C – Agrupamento das fatias em uma matriz; D – transformação da matriz em imagem. Modificado de Harynuk e colaboradores⁸⁶.

2.2 CARACTERIZAÇÃO DE FRAÇÕES DO PETRÓLEO POR GC×GC

Desde o seu surgimento, a GC×GC vem sendo aplicada à caracterização de amostras petroquímicas, por um motivo simples: estas amostras são conhecidas como as mais complexas em Química Analítica. Estima-se que o número de compostos, somente no destilado intermediário, esteja acima de um milhão¹⁰². Por este motivo, é praticamente impossível realizar uma caracterização cromatográfica

de todos os compostos de uma amostra de petróleo bruto em uma única separação cromatográfica por 1D-GC, fazendo-se, geralmente, a identificação dos compostos apenas por classes químicas. As classes tipicamente identificadas incluem os n-alcenos ou parafinas, alcanos ramificados ou iso-parafinas, alcenos ou olefinas, alcenos ramificados ou iso-olefinas, alcanos cíclicos ou naftenos, alcenos cíclicos, aromáticos, aromáticos monocíclicos, aromáticos bicíclicos, aromáticos tricíclicos, compostos contendo heteroátomos, entre outras¹⁰³. Para este tipo de amostras, a estruturação apresentada no espaço de separação de GC×GC é uma característica fundamental, por permitir a clara separação e identificação dos compostos por classe química^{102,104}. As primeiras aplicações da GC×GC a amostras petroquímicas resultaram na caracterização de grupos de compostos através da observação deste tipo de distribuição espacial característica no espaço de separação. Para ilustrar esta distribuição espacial característica, a **Figura 10** apresenta um diagrama de cores obtido por GC×GC–FID para a separação de uma amostra de solvente não aromático, onde o eixo das ordenadas representa a separação na primeira dimensão (primeira coluna) e o eixo das abscissas, a separação na segunda dimensão (segunda coluna). Nesta figura, é possível observar a separação espacial detalhada por classes químicas, em naftenos, parafinas, mono e dinaftenos. Outra característica que pode ser verificada no espaço de separação para este tipo de amostra é o efeito telhado^{16,103,105}: perfil relativo ao agrupamento dos picos de uma classe de compostos quimicamente relacionados em um espaço de separação, o qual se repete quando o número de carbonos destes compostos aumenta ou diminui, de forma a causar uma impressão visual de “telhado” no gráfico bidimensional, sendo que cada conjunto alinhado de “telhas” corresponde a um grupo de compostos pertencentes a uma classe química que apresenta um determinado número de carbonos^{16,103}. Esta distribuição espacial de “telhas” em seqüência no diagrama de contorno auxilia na identificação dos compostos e pode ser observada especialmente em amostras petroquímicas.

Vários trabalhos envolvendo a caracterização geral de frações do petróleo e a identificação de classes químicas específicas presentes em amostras de petróleo e seus derivados por GC×GC já foram realizados. A **Tabela II** apresenta referências bibliográficas das principais aplicações da GC×GC a amostras petroquímicas e derivados. Uma discussão mais detalhada sobre aplicações da GC×GC a este tipo de amostras foi publicada em dois artigos de revisão^{105,106}.

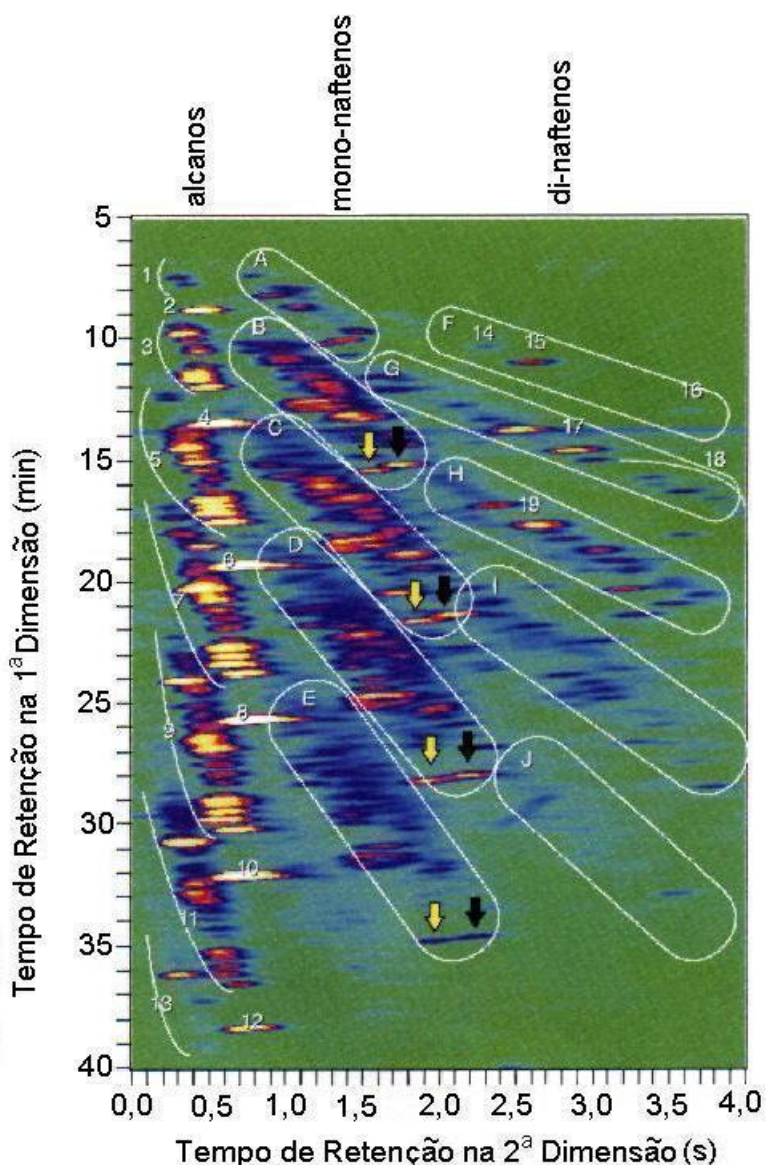


Figura 10. Diagrama de cores obtido por GCxGC-FID para a separação de uma amostra de solvente não aromático derivado de petróleo. 1. C₁₀ saturados ramificados; 2. C₁₀ lineares; 3. C₁₁ saturados ramificados; 4. C₁₁ lineares; 5. C₁₂ ramificados; 6. C₁₂ lineares; 7. C₁₃ ramificados; 8. C₁₃ lineares; 9. C₁₄ saturados ramificados; 10. C₁₄ lineares; 11. C₁₅ saturados ramificados; 12. C₁₅ lineares; 13. C₁₆ saturados ramificados; 14. desconhecidos; 15. *trans*-decalina; 16. *cis*-decalina; 17. *trans*-metil-decalinas; 18. *cis*-metil-decalinas; 19. C₂-decalinas. De A a E. mononaftenos entre C₁₀ e C₁₄, onde as setas amarelas indicam os n-alkilciclopentanos, e as setas pretas os n-alkilciclohexanos; de F a J. dinaftenos entre C₁₀ e C₁₄. Modificado de Beens e colaboradores¹⁰³.

Tabela II. Aplicações da GC×GC a amostras petroquímicas.

Aplicações	Referências
Gasolina	19,24,41,84,85,95,107-119
Combustíveis para jatos	85,88,90
Gasóleo leve	102,120
Óleo Diesel	33,41,44,77,121-129
Óleo bruto	43,45,103,130-132
Solventes hidrocarbonetos não aromáticos	103
Querosene	20,103,114,120,133,13412;23;33;43-45
Óleos de lavagem	135
Caracterização de etapas de processamento	60,102
Biomarcadores	43,57,136,137
Poluentes ambientais em ar, água e solo	21,55,57,58,110,137-146

2.2.1 Estudos de compostos nitrogenados por GC×GC

Apenas um trabalho de aplicação da GC×GC, especificamente na análise de compostos nitrogenados foi encontrado na literatura.

Wang e colaboradores⁴⁴ demonstraram a utilização da GC×GC com detector por quimiluminescência de nitrogênio (NCD, *nitrogen chemiluminescence detector*) para a “especificação” de compostos nitrogenados em óleo diesel, com faixa de ebulição entre 150 °C e 430 °C, e número de carbonos entre C₈ e C₂₈. Neste trabalho foi utilizado um conjunto de colunas composto por uma SBP-5 de 30 m x 0,25 mm i.d. x 1,0 µm de espessura de filme, na primeira dimensão, e uma BPX-50 de 3 m x 0,25 mm i.d. x 0,25 µm de espessura de filme, na segunda dimensão. O modulador utilizado foi um modulador térmico de duplo jato (Zoex Corp. Lincoln, NE), com sistema de resfriamento por nitrogênio líquido.

A **Figura 11** ilustra um cromatograma obtido por GC-NCD convencional (**A**), um cromatograma GC×GC-NCD (**B**), e um diagrama de cores obtido por GC×GC-NCD (**C**) para uma amostra de óleo diesel. A sensibilidade e resolução dos compostos aumentou drasticamente do cromatograma apresentado para 1D-GC (**A**) para o cromatograma GC×GC (**B**), mas a identificação dos componentes ficou muito

prejudicada pela grande quantidade de picos presentes no cromatograma, sem qualquer ordenamento. A conversão deste cromatograma em um diagrama de cores (C) permitiu uma observação mais clara dos agrupamentos por classes químicas, além de facilitar a identificação dos compostos.

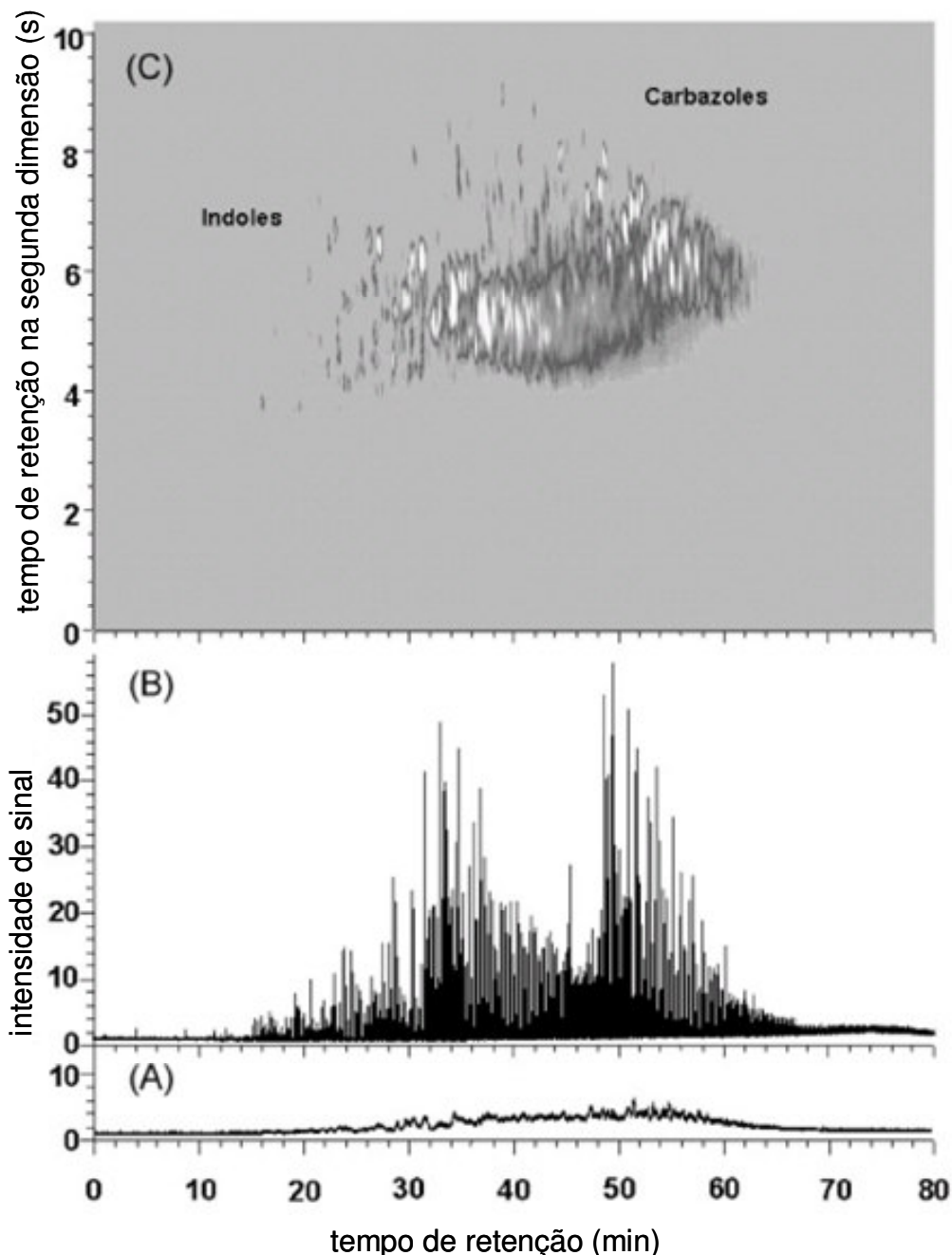


Figura 11. Análise de compostos nitrogenados em uma amostra típica de óleo diesel: (A) cromatograma de GC-NCD tradicional, (B) cromatograma GCxGC -NCD; (C) diagrama de cores processado de GCxGC-NCD. Modificado de Wang e colaboradores⁴⁴.

Neste trabalho⁴⁴, também foram realizados estudos quantitativos para alguns compostos, e a identificação de dois componentes pertencentes a cada uma das bandas com o auxílio de dois padrões externos (indol e carbazol), além da identificação de outros compostos por outras técnicas, permitiu acompanhar um processo de Hidrodesnitrogenação (HDN, *Hydrodenitrogenation*). Comparando-se os diagramas de cores obtidos antes e após a HDN, observou-se que praticamente todos os picos da região que contém compostos nitrogenados básicos desapareceram. Após um outro processo de desnitrogenação, quase toda a provável classe dos indóis foi removida. Entretanto, a especificação sugerida no título do artigo não foi realizada, uma vez que a separação e estruturação dos picos no espaço de separação apresentadas (**Figura 11**) não permitem uma análise neste nível de detalhamento, além dos autores terem utilizado apenas dois padrões externos (não ilustrados na **Figura 11**). Entretanto, esse estudo permitiu uma análise das potencialidades da técnica para esta classe de compostos.

2.3 CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS VOLÁTEIS POR GC×GC

Tal como para amostras petroquímicas, os óleos voláteis apresentam uma grande gama de compostos de várias classes químicas, tornando-se uma área de igual importância para estudos de GC×GC¹¹. A fragrância de óleos voláteis muitas vezes é definida por compostos que estão presentes em nível de traços. A obtenção de maior sensibilidade e melhor separação para estes compostos aroma-ativos fornece uma análise de qualidade superior para estes óleos. Em um livro editado em 1987 por Sandra e Bicchi¹⁴⁷ sobre cromatografia gasosa capilar aplicada a análises de óleos voláteis, já foram discutidas as possibilidades da cromatografia multidimensional, em um capítulo exclusivo, porém a técnica abrangente ainda não tinha sido descoberta nessa época. Dimandja e colaboradores¹⁴⁸ apresentaram o potencial da técnica na análise dos óleos voláteis de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) e hortelã (*Mentha spicata*), comparando os resultados obtidos por GC×GC-FID e por GC/qMS. O óleo de hortelã-pimenta apresentou 89 picos identificáveis na GC×GC, enquanto que no GC/qMS, apresentou apenas 30. No óleo volátil de hortelã, foram detectados 68 picos por GC×GC e 28 picos por GC/qMS.

A **Tabela III** apresenta as aplicações da GC×GC aos óleos voláteis, encontradas na literatura. Por esta tabela, é possível verificar a variedade de colunas cromatográficas empregadas na primeira e na segunda dimensões. A maioria dos trabalhos utilizaram conjunto de colunas convencional (apolar-polar)^{48,78,148-153}, porém com dimensões diferenciadas. Mondello e colaboradores¹⁵⁴ utilizaram um conjunto inverso de colunas (polar-apolar) para a análise de óleo cítrico de limão, obtendo clara estruturação dos compostos no espaço de separação. Zhu e colaboradores^{56,155} apresentaram estudos comparativos entre as duas configurações para a análise de óleo volátil de tabaco, obtendo uma melhor resolução quando da utilização de um conjunto inverso e, a estruturação dos compostos no espaço de separação foi observada somente com o conjunto convencional, conforme ilustrado na **Figura 12**. Shellie e colaboradores¹⁴⁹ reportaram a presença de estruturação no espaço de separação para monoterpenos e sesquiterpenos, utilizando um conjunto de colunas convencional, na separação cromatográfica do óleo de lavanda. Mondello e colaboradores¹⁵⁴ também observaram estruturação no espaço de separação, porém utilizando um conjunto de colunas inverso.

Shellie e colaboradores^{156,157} apresentaram o emprego da GC×GC para a separação enantiosseletiva de compostos naturais, utilizando colunas quirais na primeira ou na segunda dimensão. A análise enantiosseletiva de óleos voláteis é importante por várias razões, pois permite obter informações sobre as vias biossintéticas de um ou mais componentes do óleo, detectar adulteração pela adição de materiais sintéticos, ou obter detalhes sobre a origem natural do óleo. O primeiro trabalho¹⁵⁶ reportou a aplicação da GC×GC na separação enantiosseletiva de óleo volátil da árvore de chá australiana (*Melaleuca alternifolia*). Os resultados apresentados confirmam o aumento na eficiência da análise enantiosseletiva do óleo volátil. Em outro trabalho do mesmo grupo¹⁵⁷, foi apresentada a distribuição enantiomérica de vários compostos monoterpênicos do óleo volátil de bergamota, em apenas 8,5 minutos de análise. Comparando-se a GC×GC com a GC/qMS percebe-se que o aumento da sensibilidade e resolução, leva a uma identificação mais fácil dos componentes individuais da amostra, e também a uma melhor quantificação dos compostos.

Tabela III. Aplicações da GC×GC aos óleos voláteis.

Óleo volátil	Extração	Equipamentos	Conjuntos de colunas	Objetivos GC×GC	Comparação 1D-GC	Ref.
<i>Mentha piperita</i> <i>Mentha spicata</i>	-	GC×GC-FID com modulador de varredura térmica GC/qMS	GC/MS DB-1 30m x 0,25mm x 0,25µm GC×GC-FID ¹ D- DB-1 1m x 0,1mm x 3,5µm ² D- OV-1701 2m x 0,1mm x 0,5µm	89 picos detectados 68 picos detectados 52 picos em comum	30 picos detectados 28 picos detectados 18 picos em comum	148
<i>Melaleuca alternifolia</i>	destilação por arraste de vapor	GC×GC-FID com LMCS GC/qMS	GC/MS HP-5ms 30m x 0,25mm x 0,25µm GC×GC-FID ¹ D- EtTBS-βCD 25m x 0,25mm x 0,25µm ² D- BP20 0,8m x 0,1mm x 0,1µm	separação de 10 pares enantioméricos	composição enantiomérica do sabineno não foi caracterizada, co- eluição de outros	156
9 óleos de lavanda	-	GC×GC-FID GC×GC/qMS com LMCS GC-FID, GC/qMS	GC-FID e GC/MS Rtx-5ms 30m x 0,25mm x 0,25µm Rtx-wax 30m x 0,25mm x 0,25µm GC×GC-FID ¹ D- BPX5 30m x 0,25mm x 0,25µm ² D- BP20 1m x 0,1mm x 0,1µm	índices de retenção, identificação e semi- quantificação (GC×GC- FID) de 85 picos, estruturação de álcoois e acetatos	identificação de cerca de 30 compostos a menos do que por GC×GC/qMS	149
<i>Melaleuca alternifolia</i>	-	GC×GC-FID	¹ D- BPX5 30m x 0,25mm x 0,25µm ² D- BP20 1m x 0,1mm x 0,1µm	estudo interlaboratorial do LMCS	-	150
Bergamota	-	GC×GC-FID GC×GC/qMS com LMCS GC-FID, GC/qMS	EtTBS-βCD 1m x 0,1mm x 0,1µm EtTBS-βCD 1m x 0,25mm x 0,25µm DB-5 10m x 0,1mm x 0,1µm	estudo de separações enantioméricas com coluna quiral na ¹ D e na ² D	-	157
<i>Pelargonium graveolens</i>	-	GC×GC/qMS com LMCS	¹ D- HP-5 30m x 0,25mm x 0,25µm ² D- BP20 0,5m x 0,32mm x 0,25µm	índices de retenção, identificação fácil de 65 compostos	-	78
<i>Raízes de Panax quinquefolium</i> <i>Panax ginseng</i> <i>Panax notoginseng</i>	soxhlet hexano, acetona, dietil éter	GC×GC-FID GC×GC/qMS com LMCS	¹ D- BPX5 30m x 0,25mm x 0,25µm ² D- BP20 1,2m x 0,1mm x 0,1µm	comparação entre GC×GC-FID e GC×GC/qMS	-	48
<i>Eucalyptus dunnii</i> <i>Eucalyptus saligna</i>	hidrodes- tilação HS-SPME	GC/ITMS GC×GC-FID com modulador térmico de dois	GC/ITMS HP-5ms 30m x 0,25mm x 0,25µm GC×GC-FID ¹ D- DB-1 4m x 0,1mm x 3,5µm	580 picos detectados no <i>E. dunnii</i> . Distribuição de picos diferentes entre os dois	~60 picos detectados no <i>E. dunnii</i>	151

		estágios	² D- DB-1701 0,5m x 0,1mm x 0,1µm	óleos		
<i>P. quinquefolius</i> <i>R. angelicae sinensis</i> <i>R. astragali</i> <i>R. rehmanniae preparata</i>	HS-SPME	GC×GC-FID com LMCS GC-FID	GC×GC-FID e GC-FID ¹ D- HP-5 30m x 0,32mm x 0,25µm ² D- BP20 1m x 0,1mm x 0,1µm	150 picos detectados Controle de qualidade do ginseng (<i>P. quinquefolius</i>)	80 picos detectados	152
<i>Coriandrum sativum</i> <i>Eryngium foetidum</i>	destilação por arraste de vapor	GCO GC×GC/TOFMS com LMCS	GCO BPX5 25m x 0,32mm x 0,5µm GC×GC/TOFMS ¹ D- BPX5 30m x 0,25mm x 0,25µm ² D- BP20 0,8m x 0,1mm x 0,1µm	índices de retenção, identificação de 98 picos, dos quais 42 são odoríficos (20 novos odoríficos)	vários compostos não foram identificados por 1D- GC/MS na literatura	153
Limão	-	GC×GC-FID com LMCS GC/qMS	GC/MS Supelcowax-10 30m x 0,25mm x 0,25µm GC×GC-FID ¹ D- Supelcowax-10 30m x 0,25mm x 0,25µm ² D- SPB-5 1m x 0,1mm x 0,1µm	separação por grupos de monoterpenos (álcoois, aldeídos e ésteres) e hidrocarbonetos sesquiterpênicos	alguns picos de interesse coeluíram	154
Tabaco	-	GC×GC-FID GC×GC/TOFMS com modulador de jatos – N ₂ GC/qMS	GC/MS HP-5ms 50m x 0,2mm x 0,33µm GC×GC-FID e GC×GC/TOFMS ¹ D- DB-petro 50m x 0,2mm x 0,5µm ² D- DB-17ht 2,5m x 0,1mm x 0,1µm e ¹ D- DB-wax 60m x 0,25mm x 0,25µm ² D- DB-1701 3m x 0,1mm x 0,4µm	identificação de 172 compostos e quantificação de 61 compostos, separação de classes com o primeiro conjunto de colunas: ésteres, álcoois, cetonas e piridinas	identificação e quantificação de 29 compostos	56
Tabaco	-	GC×GC-FID GC×GC/TOFMS com modulador de jatos – N ₂ GC/qMS	GC/MS HP-INNOWAX 30m x 0,25mm x 0,25µm HP-1 30m x 0,25mm x 0,25µm Supelcowax -10 30m x 0,32mm x 0,25µm HP-5 30m x 0,32mm x 0,25µm GC×GC-FID e GC×GC/TOFMS ¹ D- DB-wax 60m x 0,25mm x 0,25µm ² D- DB-1701 3m x 0,1mm x 0,4µm e ¹ D- DB-petro 50m x 0,2mm x 0,5µm ² D- DB-17ht 2,5m x 0,1mm x 0,1µm	48 compostos identificados e quantificados, mesma separação por classes observada do outro trabalho do mesmo grupo ⁵⁶	15 e 17 compostos tentativamente identificados, dependendo do acoplamento de colunas	155
Tabaco	-	GC×GC-FID GC×GC/TOFMS GC/qMS	informação não disponível	84 compostos identificados e quantificados	21 compostos identificados	158

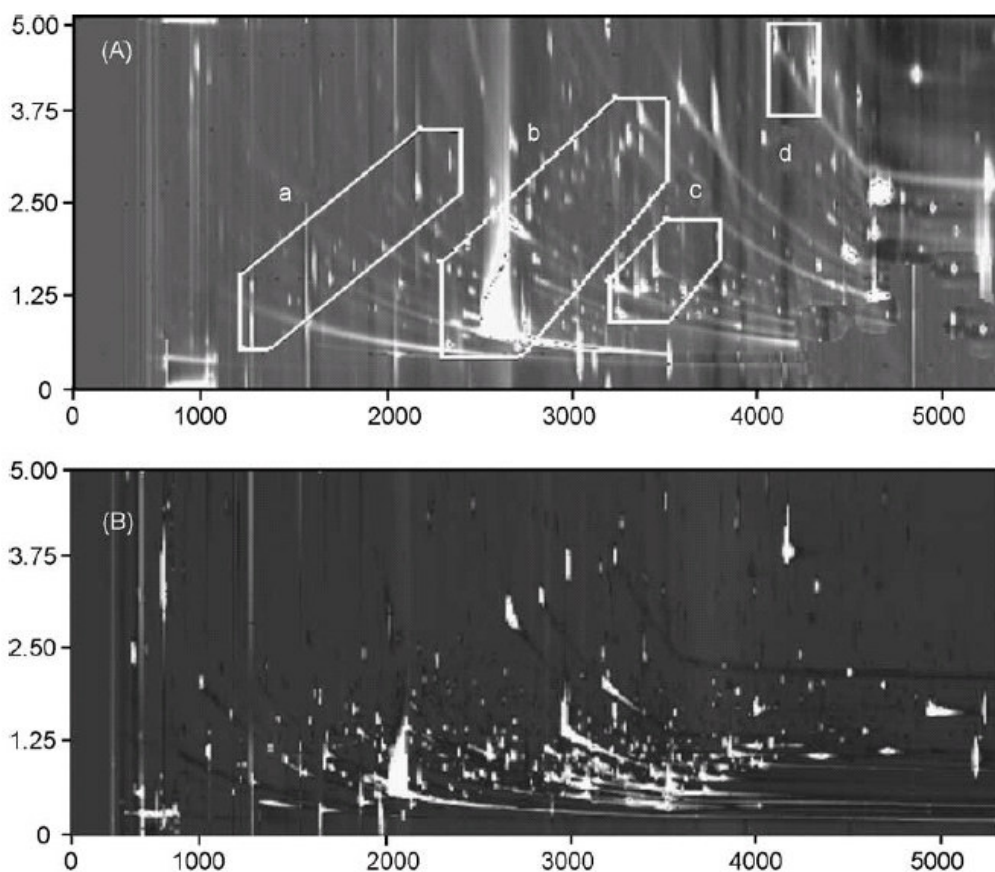


Figura 12. Diagramas de cores obtidos por Zhu e colaboradores⁵⁶ na análise de óleo essencial de tabaco, utilizando um conjunto de colunas convencional (A) e um conjunto inverso (B). (a-d) estruturação das classes de compostos ésteres, álcoois, cetonas e piridinas, respectivamente.

As primeiras aplicações da GC×GC aos óleos voláteis foram realizadas especialmente utilizando FID para a detecção dos compostos^{148-150,156}. Esta abordagem foi muito importante para avaliação do potencial da técnica, e para controle da qualidade. Posteriormente, esforços preliminares na identificação de compostos utilizaram GC×GC acoplado a qMS^{48,78,149,157}. Mesmo sabendo das limitações quanto à quantificação dos picos, essas aplicações demonstraram um grande aumento do número de compostos identificados em comparação com 1D-GC/qMS, oriundo do aumento de resolução e sensibilidade na separação cromatográfica. Apenas em 2005 surgiram os primeiros trabalhos de aplicação do TOFMS acoplado a GC×GC^{56,153,155} para a identificação dos compostos presentes em óleos voláteis. A obtenção de índices de retenção específicos para GC×GC também tem sido um dos focos de estudo apresentados na literatura^{93,159,160}, o que permitirá explorar ainda mais as informações de retenção obtidas nas duas

dimensões, aumentando a credibilidade na confirmação da identidade dos compostos dos óleos voláteis.

2.4 AMOSTRAS DE INTERESSE NESTE TRABALHO

2.4.1 Amostras Petroquímicas

A **Figura 13** ilustra a evolução histórica da profundidade dos Campos petrolíferos da Petrobras. As frações de petróleo cedidas pela Petrobras foram retiradas do Campo Marlim (Bacia de Campos, RJ). Este campo foi perfurado em 2004 e está situado em uma região de águas profundas¹⁶¹(1.027 m), conforme ilustrado na **Figura 13**.

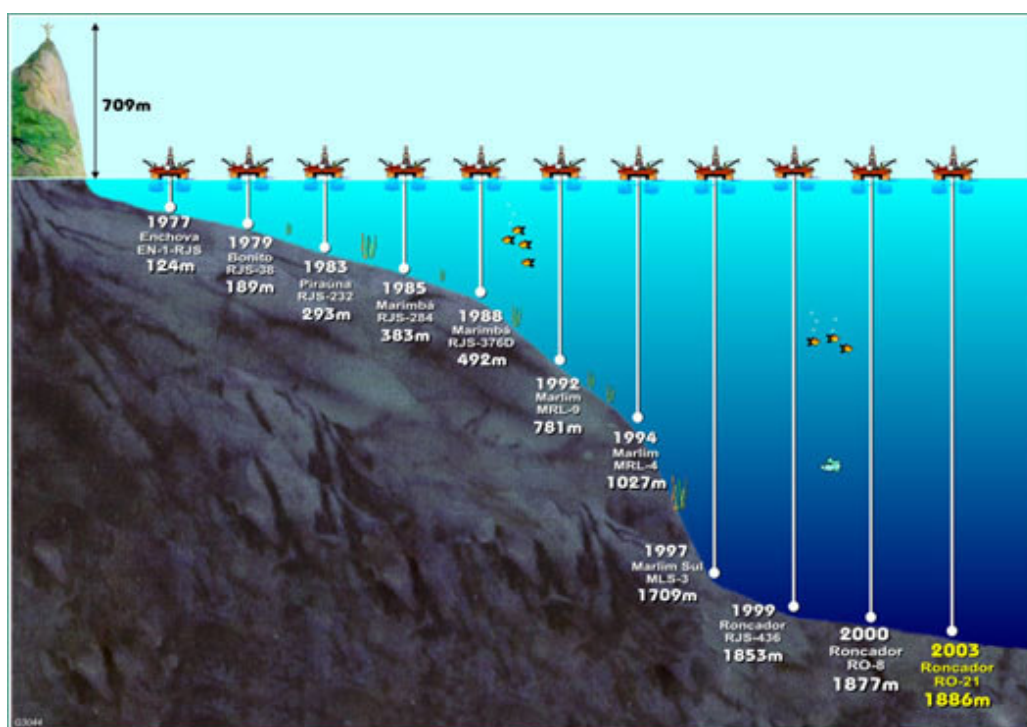


Figura 13. Desenho esquemático da evolução da profundidade das plataformas marítimas da Petrobras¹⁶¹.

A separação dos componentes do petróleo é realizada por grupos de componentes dentro de uma faixa de destilação. Este conjunto de componentes misturados numa única faixa recebe o nome de fração¹. Os processos de fracionamento à pressão atmosférica e a vácuo estão ilustrados na **Figura 14**. O

resíduo da destilação atmosférica (RAT) é rico em compostos pesados, e serve de carga para a unidade de fracionamento a vácuo. Esta destilação a vácuo permite a separação de outras frações comercialmente interessantes, tais como Gasóleo Leve (GOL), Gasóleo Pesado (GOP) e Gasóleo Residual (GOR). O resíduo da destilação à vácuo se constitui em uma fração denominada Resíduo de Vácuo (RV)¹.

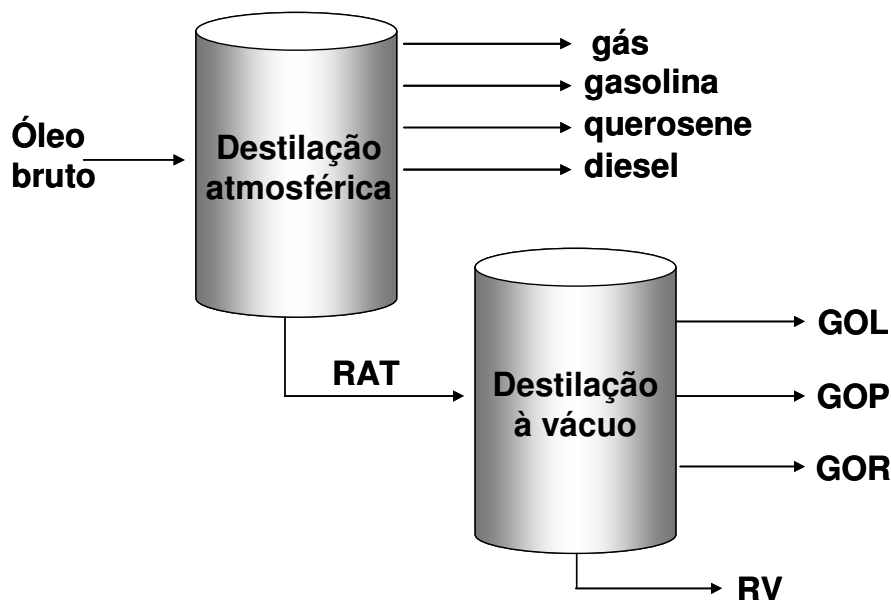


Figura 14. Desenho esquemático das torres de destilação para a obtenção das frações estudadas. Modificada de Hunt e colaboradores¹⁶².

Existem várias classificações para o petróleo, dependendo do objetivo e das propriedades de interesse^{163,164}. Quanto aos constituintes das frações do petróleo, a classificação pode ser feita em dois grandes grupos: hidrocarbonetos, e compostos contendo heteroátomos¹⁶⁵. Os compostos contendo heteroátomos podem ser sulfurados, nitrogenados, oxigenados, ou compostos contendo metais (vanádio, níquel, ferro, entre outros).

2.4.1.1 Compostos nitrogenados

Os compostos nitrogenados são responsáveis por problemas como desativação de catalisadores de craqueamento, formação de gomas, depósitos de resíduos e alteração de cor em frações do petróleo, além de poluição ambiental^{2,166,167}. No óleo diesel, estes compostos causam envenenamento de

catalisadores, atuam como pró-oxidantes formando gomas e causando mau cheiro, além de contribuírem para as emissões gasosas, causando poluição atmosférica.

Os compostos nitrogenados podem ser subdivididos em¹⁶⁸:

- compostos básicos, tais como piridinas, quinolinas, benzoquinolinas e azacarbazóis;
- compostos neutros ou fracamente básicos (não tituláveis) como os pirróis, indóis, carbazóis, amidas e compostos do tipo porfirinas;
- compostos ácidos, como as hidróxi-piridinas e ácidos indol-carboxílicos.

2.4.1.2 Isolamento dos compostos de interesse das frações de petróleo

A literatura registra vários trabalhos que utilizam material adsorvente para fracionar os compostos de petróleo e seus derivados^{2,169-173}. A sílica tem sido usada, na sua composição original, tanto em colunas de cromatografia líquida preparativa (PLC, *Preparative Liquid Chromatography*), quanto em batelada¹⁷⁴. Também tem sido empregada na forma modificada, como no trabalho de Qian e Robbins¹⁷⁵ que utilizaram aminopropilsílica para o fracionamento de derivados do petróleo. Entre outras aplicações, a sílica também foi usada como material adsorvente, após ter sido modificada com KOH, em um sistema semelhante a um Soxhlet, para obtenção de frações de diferentes polaridades¹⁷⁶. A alumina neutra é outro material adsorvente muito utilizado neste tipo de fracionamento¹⁷⁷⁻¹⁸⁰.

Vários trabalhos relatam a caracterização de compostos nitrogenados em combustíveis^{177,178,181-189}, utilizando métodos de extração líquido-líquido (LLE, *Liquid-Liquid Extraction*)¹⁷⁸, PLC, entre outros. Dentre os métodos que empregam adsorventes sólidos, destacam-se os que utilizam alumina neutra ou sílica modificada para realizar a separação entre compostos nitrogenados básicos e neutros^{177,183,184,187}. Estes trabalhos apresentam um consenso quanto à dificuldade de separação dos compostos nitrogenados de amostras complexas.

Oliveira¹ desenvolveu vários métodos para o isolamento das frações nitrogenadas básica e neutra para amostras de RAT e GOP. Nestes processos foram realizadas etapas de pré-fracionamento com alumina neutra, e para o isolamento dos compostos nitrogenados, foram utilizadas resinas de troca iônica, sílica modificada com KOH e HCl, e adsorvente Chromosorb W com cloreto férrico.

Tanto as etapas de pré-fracionamento para a obtenção de uma fração rica em compostos polares, quanto as etapas de isolamento dos compostos de interesse desta fração, foram realizadas em coluna e em batelada com posterior dessorção das frações por ultra-som.

2.4.2 Óleos voláteis

As plantas sintetizam óleos voláteis e os armazenam em estruturas especializadas em secreção, tais como glândulas e dutos. A síntese pode ocorrer nas flores, frutos, folhas, raízes, cascas e madeira¹⁹⁰. Os óleos voláteis são misturas complexas extraídas tradicionalmente por processos de arraste a vapor¹⁹⁰. Seus constituintes são extensivamente utilizados devido ao seu uso como aromas e fragrâncias, propriedades anti-microbianas, e medicinais^{191,192}. Em óleos voláteis de plantas já foram identificados cerca de 2.000 compostos¹⁹³, incluindo terpenos e seus aldeídos correspondentes, cetonas, álcoois, fenilpropanóides, hidrocarbonetos, ésteres, óxidos, e compostos sulfurados^{191,194}.

A hidrodestilação^{4,6,195-198} é uma técnica tradicionalmente empregada para a extração de óleos voláteis, embora outras técnicas também sejam empregadas, como por exemplo, extração com fluido supercrítico (SFE)^{196,199,200}, extração empregando solventes²⁰¹, extração assistida por microondas²⁰²⁻²⁰⁴, entre outras.

Segundo Boland e colaboradores²⁰⁵, variações qualitativas e quantitativas na composição característica de óleos da mesma espécie, podem ser atribuídas à três fatores principais: genética, tipo e idade das folhas, e ambiente; além de um quarto fator, o qual se refere a erros no processo de extração e análise. Outra fonte de variação qualitativa pode ser oriunda de uma separação cromatográfica pobre, além da grande similaridade entre os espectros de massas, especialmente dentro da mesma classe de compostos, tais como monoterpenos e sesquiterpenos²⁰⁶. Mesmo utilizando informações adicionais obtidas através de índices de retenção em duas colunas cromatográficas com diferentes polaridades^{149,207}, tais como Van den Dool and Kratz (LTPRI – *linear temperature programmed retention index*)²⁰⁸, a identificação de vários compostos não está completa¹⁴⁷. A equação empregada para a determinação do LTPRI está apresentada abaixo²⁰⁹:

$$LTPRI = \frac{(t_R - t_{R_x}) \times 100}{t_{R_{x+1}} - t_{R_x}} + 100x \quad \text{eq.2}$$

Onde: t_R - tempo de retenção do composto; t_{R_x} - tempo de retenção do alcano linear menos retido que o composto; $t_{R_{x+1}}$ - tempo de retenção do alcano linear mais retido que o composto; x - número de carbonos do alcano linear menos retido que o composto.

A complexidade das formas isoméricas e as várias classes de componentes dentro de uma ampla faixa de terpenos, indicam que uma separação completa dos compostos, muitas vezes não pode ser obtida por 1D-GC. Como exemplo, uma coluna apolar pode não ser adequada para separar octanol e α -felandreno. Uma coluna polar pode atingir melhor resolução para hidrocarbonetos monoterpênicos e seus compostos oxigenados, mas não ser eficiente na separação de álcoois e ésteres monoterpênicos dos hidrocarbonetos sesquiterpênicos²¹⁰. A grande similaridade entre os espectros de massas também é um obstáculo na percepção de co-eluições¹⁴⁷.

2.4.2.1 Escolhas dos óleos estudados

As plantas aromáticas foram selecionadas levando-se em consideração a complexidade do óleo volátil, a importância econômica regional e nacional, as aplicações atuais do óleo, a ausência ou escassez de estudos científicos sobre os óleos voláteis destas plantas, e a disponibilidade e acessibilidade da planta. Levando-se em consideração estes critérios, duas plantas foram selecionadas: eucalipto (*Eucalyptus dunnii*), e goiabeira (*Psidium guajava*).

2.4.2.2 Eucalipto

Eucalyptus é um dos gêneros mais plantados e mais importantes no mundo²¹¹. Entre suas principais aplicações está a produção de óleos voláteis, que são empregados tanto para fins farmacêuticos quanto para fins medicinais. A espécie de eucalipto selecionada foi *E. dunnii* por ser uma espécie utilizada pela empresa Aracruz Celulose nos seus estudos sobre melhoramento genético, por

apresentar bom rendimento em óleo e também porque seu óleo é rico tanto em monoterpenos quanto em sesquiterpenos, representando portanto, tanto os óleos ricos em monoterpenos quanto aqueles que contêm majoritariamente sesquiterpenos³.

Vários estudos da composição do óleo volátil obtido das folhas de *E. dunnii*^{205,212-214} de diferentes países apresentam diferenças consideráveis em termos de composição do óleo. Bignell e colaboradores²¹² identificaram e quantificaram 45 compostos no óleo das folhas de *E. dunnii* Maiden, e os três compostos majoritários desse óleo foram aromadendreno (15,9%), *trans*-pinocarveol (7,4%) e α -pineno(7%). Boland e colaboradores²⁰⁵ identificaram e quantificaram 34 compostos, sendo que mais de 56 compostos foram detectados em quantidades superiores a 0,01%. Neste trabalho, o constituinte encontrado em maior quantidade foi 1,8-cineol (30-50%), seguido do α -pineno (7-22%), e do γ -terpineno (1-16%). Zini e colaboradores²¹³ identificaram 36 compostos, e Mizrahi e colaboradores²¹⁴ quantificaram 29 compostos entre clones diferentes, encontrando como principais constituintes 1,8-cineol (47,8-57,6%), seguido do α -pineno (10-16,5%), e do α -terpineol (2,9-8,2%). Nesse último trabalho, outros 25 compostos minoritários foram também identificados.

2.4.2.3 Goiabeira

Goiaba, *Psidium guajava* é uma palavra de origem tupi, advinda de coyhab, que significa o que tem sementes aglomeradas. Pertence à família *Myrtaceae*, é uma fruta perene, de porte arbustivo ou semi-arbóreo, com 3 a 7 metros de altura. Originário de alguma parte da América Tropical, situada entre o México e o Brasil, encontrada em todo mundo tropical, é uma planta nativa do Brasil²¹⁵.

O óleo de folhas de *P. guajava* é um óleo de elevada complexidade e os estudos científicos sobre sua composição em diferentes países são bastante divergentes^{4-6,216}. Na composição do óleo volátil de plantas cubanas²¹⁶, foram identificados 57 compostos, sendo os maiores constituintes β -cariofileno (21,6%), (*E*)-nerolidol (19,2%) e selin-11-en-4 α -ol (13,4%). Em um estudo com plantas argentinas⁴, foram identificados e quantificados 39 compostos, sendo que os principais compostos encontrados no óleo foram α -pineno (23,9%), 1,8-cineol (21,4%) e β -bisabolol (9,2%). Já no óleo de plantas do Equador⁵, também foram quantificados 39 compostos, dentre os quais α -pineno (29,5%), limoneno (33,3%) e

β -cariofileno (6,17%) foram os principais constituintes. Não foram encontrados na literatura estudos da composição do óleo das folhas desta planta no Brasil, apenas relatos da utilização da folha na medicina popular da Amazônia²¹⁷ e de Minas Gerais²¹⁸, contra diarreia.

2.5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Tendo por base a fundamentação teórica apresentada na Revisão Bibliográfica, os objetivos específicos do presente trabalho foram:

- Aprimorar o detector NPD da Agilent para aplicação em GC×GC para compostos nitrogenados.
- Estudar a separação obtida por GC×GC para compostos nitrogenados presentes em frações de RAT e GOP.
- Desenvolver uma metodologia analítica para a análise quantitativa de compostos nitrogenados presentes nessas amostras utilizando GC×GC-NPD.
- Identificar tentativamente os compostos nitrogenados presentes nessas amostras por GC×GC/TOFMS, estudando a estruturação das classes químicas no espaço de separação.
- Estudar a separação obtida por GC×GC para amostras de óleo volátil de *E. dunnii* e *P. guajava*, utilizando diversos conjuntos de colunas.
- Realizar um estudo comparativo entre a informação analítica obtida por 1D-GC e GC×GC, utilizando GC-FID, GC/qMS, GC×GC-FID, GC×GC/qMS e GC×GC/TOFMS.
- Identificar tentativamente os compostos presentes nessas amostras de óleos voláteis utilizando as diversas técnicas cromatográficas estudadas, índices de retenção dos compostos e comparação com padrões analíticos.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3 PARTE EXPERIMENTAL

Neste trabalho foram estudados compostos nitrogenados de frações de RAT (resíduo da destilação atmosférica do petróleo) e GOP (gasóleo pesado) do petróleo Marlim, além de óleos voláteis de folhas de *E. dunnii* e *P. guajava*. Os solventes empregados em todas as etapas do trabalho são grau P. A. (Quimex, São Paulo, Brasil), tendo sido também bidestilados em laboratório. Na análise dos extratos obtidos foram empregadas as técnicas analíticas GC-FID, GC/qMS, GC×GC-FID, GC×GC-NPD, GC×GC/qMS e GC×GC /TOFMS, conforme as especificidades de cada amostra.

3.1 EXTRAÇÃO DOS ANALITOS

3.1.1 Frações pesadas de petróleo de águas profundas

O petróleo Marlim (Bacia de Campos, RJ) foi destilado em faixas de temperatura que se aproximam das usadas no craqueamento do petróleo em nível industrial, a fim de gerar as frações de RAT e GOP. Estas amostras de RAT e GOP foram cedidas pela Petrobrás. A amostra de GOP foi previamente caracterizada nos laboratórios do CENPES/Petrobrás, apresentando número de acidez total (TAN) igual a 0,15 mg KOH g⁻¹.

3.1.1.1 Reagentes e materiais

As resinas Amberlyst A15, A21 e A27, foram adquiridas da Sigma Aldrich (Saintt Louiz, USA). A alumina neutra e o hidróxido de potássio (KOH) foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha), e o sulfato de sódio anidro, da Quimex (São Paulo, Brasil).

Os padrões de compostos nitrogenados foram adquiridos da AccuStandard Inc. (New Haven, USA): quinolina (96,5%), isoquinolina (99%), 5,6-benzoquinolina (100%), 7,8-benzoquinolina (100%), indol (99%), carbazol (98,4%), e 7H-

dibenzo(c,g)carbazol (100%). O padrão 7H-dibenzo(c,g)carbazol foi adquirido em solução em tolueno 50,15 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

3.1.1.2 Pré-fracionamento dos compostos nitrogenados

O isolamento da fração rica em compostos nitrogenados presentes no RAT e no GOP foi realizado por fracionamento em coluna de alumina. Para a separação dos compostos nitrogenados desta fração entre ácidos, básicos e neutros, foram aplicados dois dos métodos analíticos de fracionamento desenvolvidos por Oliveira¹ que apresentaram melhores resultados.

3.1.1.2.1 Pré-fracionamento com alumina neutra

O pré-fracionamento foi realizado utilizando-se o método desenvolvido por Shiraishi¹⁷⁷ com algumas modificações realizadas por Oliveira¹. A alumina neutra foi previamente ativada a 400°C por 12 horas em forno (Modelo Especial, Sanches, Porto Alegre, Brasil). Uma coluna de vidro foi preenchida com 30 g desta alumina suspensa em *n*-hexano. Dois gramas de GOP foram dissolvidos em uma quantidade mínima de diclorometano (DCM) e depositados no topo da coluna. Para as amostras de RAT foram utilizados 1,5 g de amostra e 45,0 g de alumina neutra. A primeira fração (F1), correspondente aos hidrocarbonetos saturados, foi eluída com 50 mL de *n*-hexano. A segunda fração (F2), onde estão presentes os compostos aromáticos e sulfurados, foi eluída com 50 mL da mistura *n*-hexano/DCM na proporção 60:40 (v/v). A terceira fração (F3), rica em compostos nitrogenados, foi eluída com 50 mL de DCM, e a última fração (F4), onde estão presentes os compostos mais polares, foi eluída com 50 mL de metanol. O organograma apresentado na **Figura 15** esquematiza este fracionamento para o GOP. Para o RAT, apenas as massas de amostra e de alumina neutra foram modificadas, como apresentado anteriormente.

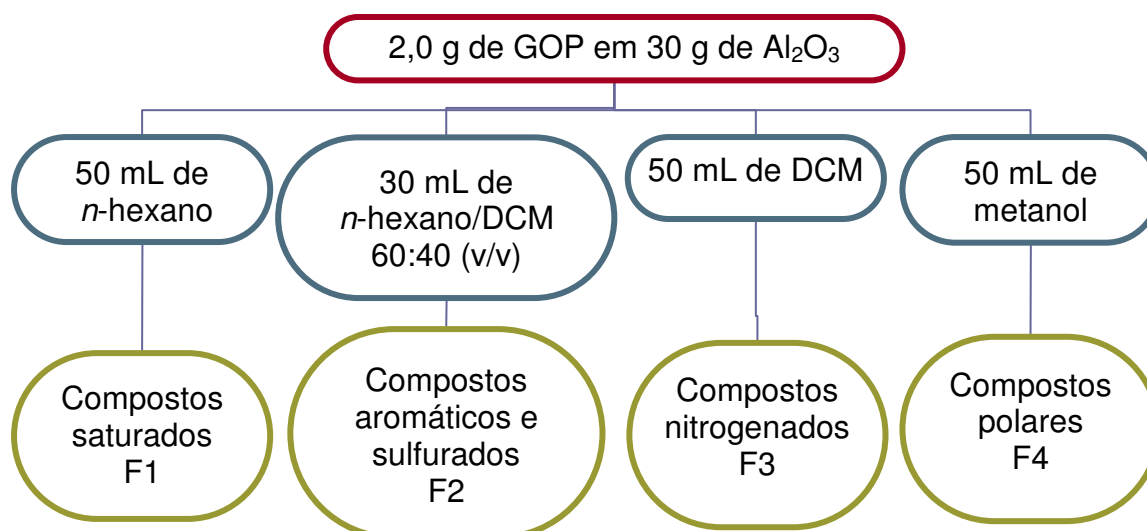


Figura 15. Organograma ilustrativo do fracionamento do GOP para o isolamento dos compostos nitrogenados, utilizando alumina.

3.1.1.2.2 Método A: Fracionamento com Resinas de troca iônica

Para a separação entre compostos neutros e básicos foram utilizadas resinas de troca iônica e extração em batelada assistida por ultra-som. O método utilizado foi desenvolvido por Oliveira¹. A ativação destas resinas foi realizada conforme descrito a seguir. Cinco gramas de resina A15 (resina ácida) foram lavadas com 50 mL de ácido clorídrico em metanol (1:10) sob agitação por 5 minutos. Após esse período, a resina foi lavada com a seguinte seqüência de solventes: 25 mL de etanol; água destilada até pH 7; 25 mL de acetona; e por fim, 25 mL de *n*-hexano. Cinco gramas da resina A 27 (resina básica) foram lavadas com 50 mL de solução de hidróxido de amônio em metanol (1:10) sob agitação por 5 minutos. Posteriormente, a resina foi lavada com a mesma seqüência de solventes empregada para a A15.

Para a extração dos compostos de interesse, cinco gramas da resina A27 (resina básica), previamente ativada, foram colocadas em um erlenmeyer de 250 mL. A fração F3 foi solubilizada em uma pequena quantidade de diclorometano (DCM) e adicionada à resina. Os compostos básicos e neutros (B+N) foram dessorvidos com 50 mL de DCM por sonicação durante 30 minutos em um equipamento do tipo banho (Thorton, T-14), na potência de 100 W. Esta fração foi isolada por filtração e o extrato evaporado no evaporador rotatório (*rotaevaporator*

802, Fisatom, São Paulo, Brasil), sendo posteriormente seco e levado a peso constante. A fração ácida retida na resina foi descartada.

Cinco gramas da resina A15 (resina ácida), previamente ativada, foram então colocadas em um erlenmeyer de 250 mL. A fração obtida no processo anterior (B+N) foi solubilizada em uma pequena quantidade de DCM e adicionada à resina A15. A fração neutra (N1) foi dessorvida com 50 mL de diclorometano por sonicação durante 30 minutos. A fração básica (B1) foi dessorvida com 50 mL de isopropilamina em *n*-hexano (5:45) por sonicação durante 30 minutos. As frações N1 e B1 foram filtradas e os extratos foram concentrados no evaporador rotatório e passados em uma coluna de sulfato de sódio anidro, previamente seco no forno por 4h à 150 °C, para a retirada de umidade. O extrato seco foi concentrado sob atmosfera de nitrogênio e levado a peso constante. Para as análises cromatográficas foram adicionados 1mL de DCM para solubilizar o extrato seco.

3.1.1.2.3 Método B: Fracionamento com sílica modificada

O método utilizado foi desenvolvido por Caramão e colaboradores^{172,219-220}, tendo por base o método apresentado por McCarthy e Duthie²²¹, com algumas modificações realizadas por Oliveira¹.

Para a separação prévia dos compostos ácidos da F3 foi utilizada sílica modificada com KOH. Para preparar a sílica modificada, foram empregados 10 g de sílica gel previamente ativada a 140 °C por 4 h. A esta sílica foram adicionados 40 mL de uma solução de KOH em isopropanol (2,5 g de KOH para 40 mL de isopropanol) e 40 mL de éter etílico. Esta mistura permaneceu em agitação (agitador magnético, Fisatom, São Paulo, Brasil) por 10 minutos, e em repouso pelo mesmo tempo. Após este tempo, esta sílica modificada foi colocada em um funil de Büchner acoplado a um frasco de kitasato, e lavada com duas alíquotas de 40 mL de DCM. A sílica foi então colocada em um erlenmeyer de 250 mL, juntamente com a fração F3 da etapa de pré-fracionamento (**Figura 15**). Para a dessorção dos compostos básicos e neutros (B2 + N2), foram utilizados 100 mL de DCM e sonicação (*ultrasonic cleaner*, frequência 40 kHz e potência 120 watts, Unique, Brasil) durante 30 minutos. A fração obtida foi filtrada e o extrato foi concentrado no evaporador rotatório até 1 mL. Os compostos ácidos ficaram retidos na sílica.

Para a separação entre os compostos básicos e neutros provenientes da fração obtida, foi empregada sílica modificada com HCl. Para preparar a sílica modificada com HCl foram utilizados 10 g de sílica gel previamente ativada a 140 °C por 4 h. A esta sílica foi adicionada uma solução contendo 5,5 mL de HCl concentrado em 40 mL de isopropanol e 40 mL de éter etílico. Esta mistura permaneceu em agitação por 10 minutos, e em repouso pelo mesmo tempo. Logo após, a sílica modificada foi colocada em um funil de Büchner acoplado a um frasco de Kitasato e lavada com duas alíquotas de 40 mL de éter etílico e uma alíquota de 40 mL de DCM. Esta sílica com HCl foi então colocada em um erlenmeyer de 250 mL, juntamente com a fração (B2 + N2) da etapa anterior. A fração dos compostos neutros (N2) foi extraída por sonicação durante 30 minutos com 100 mL de DCM, e a fração dos compostos básicos (B2) com 50 mL de uma solução 10% de isopropilamina em *n*-hexano, também por sonicação durante 30 minutos. As frações N2 e básica B2 foram filtradas e os extratos foram concentrados no evaporador rotatório. A seguir, estes extratos foram eluídos através de coluna de sulfato de sódio anidro, previamente seco no forno por 4h à 150 °C, para a retirada de umidade. Os extratos secos foram concentrados sob atmosfera de nitrogênio e levados a peso constante. Para as análises cromatográficas foram adicionados 1mL de DCM para solubilizar os extratos secos.

3.1.2 Óleos voláteis

As folhas adultas de um clone de *E. dunnii* foram cedidas pela Aracruz Celulose, e foram coletadas da copa de uma única árvore. Para a hidrodestilação foram utilizadas folhas frescas, completamente expandidas e inteiras.

A *P. Guajava* é cultivada de uma forma controlada em uma estação experimental pela FEPAGRO (Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária) e este material vegetal foi usado na extração dos óleos voláteis. As folhas adultas de *P. guajava* foram coletadas de uma única árvore e utilizadas frescas e inteiras para a hidrodestilação.

Para a determinação da massa seca das folhas, uma pequena quantidade de folhas frescas de *P. guajava* ou *E. dunnii* foi pesada em balança de quatro casas decimais (AY 220, Shimadzu, Japão), e seca em estufa (315SE, Fanem, São Paulo,

Brasil) à $70\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ até peso constante. As folhas de *E. dunnii* apresentaram 54,70% de umidade e as folhas de *P. guajava* 63,40% de umidade²²².

As hidrodestilações das folhas de eucalipto e goiabeira foram realizadas em triplicata. Para as hidrodestilações foi utilizado um destilador do tipo Clevenger²²³ e 1200 mL de água destilada e deionizada para cada hidrodestilação. Antes da hidrodestilação, o material vegetal foi pesado em uma balança AM 5500 Automarte (São Paulo, Brasil). Todas as hidrodestilações tiveram duração de 5 horas a partir do início da ebulição. O sistema de refrigeração dos vapores foi mantido entre -5 e $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, utilizando-se uma mistura de 15% de etilenoglicol e 85% de água como líquido refrigerante. A umidade presente nos óleos obtidos foi retirada em uma coluna de sulfato de sódio anidro (Quimex, São Paulo, Brasil) previamente seco no forno por 4 h à $150\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Para os estudos com GC×GC/TOFMS foi utilizada uma mistura contendo 30 compostos padrão em concentrações desconhecidas, fornecidos pela Aldrich ou grau GC (pureza superior à 98%), com exceção do padrão de α -felandreno, que possui pureza desconhecida. A identidade desses compostos está apresentada na discussão dos resultados.

3.1.2.1 Índices de retenção

Para a identificação tentativa dos compostos presentes no óleo de *E. dunnii* por 1D-GC, foram levados em consideração dois critérios:

(a) Similaridade superior a 80%, quando da comparação dos espectros de massas obtidos com os da biblioteca Wiley 229, que acompanha o software do GC/qMS QP 5050A Shimadzu, utilizando o algoritmo deste software, onde similaridade igual a 100 indica espectros de massas idênticos. Em alguns casos, houve dificuldade de obter-se similaridades superiores a 80 %, o que deve-se, provavelmente, à co-eluição dos compostos dos óleos.

(b) Comparação dos índices de retenção com programação linear de temperatura experimentais (LTPRI, *Linear Temperature-Programmed Retention Index*) com aqueles da literatura. Os LTPRI²⁰⁷ são também conhecidos como índices de van den Dool e Kratz^{174,208}, e foram obtidos pela análise por GC-FID de uma solução hexânica contendo os alcanos lineares entre 10 e 24 átomos de carbono ($0,5\text{ }\mu\text{L}$ da solução hexânica de 1000 mg L^{-1}), juntamente com a análise dos óleos

hidrodestilados (0,2 µL da solução hexânica de 1%) em estudo, nas mesmas condições cromatográficas. Todas as análises foram realizadas em triplicata, sendo que as diferenças entre os tempos de retenção dos picos das triplicatas foi inferior a 0,02 minutos.

3.2 CARACTERIZAÇÃO CROMATOGRÁFICA

A caracterização inicial dos compostos nitrogenados presentes no RAT e GOP foi feita por GC/qMS em um equipamento Shimadzu QP 5050A. Para os óleos voláteis, a caracterização foi feita por GC/qMS no mesmo equipamento, e por GC-FID em um equipamento Shimadzu GC-FID 17 A.

A caracterização por GC×GC dos óleos voláteis e dos compostos nitrogenados das frações do petróleo brasileiro foram realizadas no Departamento de Química Aplicada do *Australian Centre for Research on Separation Science*, na *Royal Melbourne University (RMIT)*, em Melbourne, na Austrália.

Todos os equipamentos GC×GC utilizados são constituídos por cromatógrafos Agilent 6890 (Agilent Technologies, Burwood, Australia), acoplados à moduladores LMCS Everest (Chromatography Concepts, Doncaster, Australia). Hidrogênio foi utilizado como gás de arraste nos sistemas, cujos detectores eram FID e NPD, e hélio foi utilizado nos sistemas, onde os detectores eram qMS e TOFMS. As características de cada sistema estão apresentadas abaixo.

GC×GC-FID - injetor convencional split/splitless, amostrador automático HP 6873 (Agilent Technologies, Burwood, Australia), controle pelo software Chemstation (Agilent Technologies, Burwood, Australia) e detector FID com taxa de aquisição de sinal de até 200 Hz.

GC×GC-NPD - Amostrador automático CombiPAL Focus system (CTC Analytics AG, Zwingen, Switzerland), conectado em série com um injetor de alto desempenho Optic 3 (ATAS GL International, Veldhoven, The Netherlands). O sistema CombiPAL Focus e o injetor Optic 3 foram controlados pelos softwares Cycle Composer versão 1.5.2 e ATAS Evolution Workstation versão 1.2.

GC×GC/qMS - injetor convencional split/splitless, amostrador automático HP 6873 (Agilent Technologies, Burwood, Australia), controle pelo software Chemstation (Agilent Technologies, Burwood, Australia), e detector qMS 5973 (Agilent Technologies, Burwood, Australia).

GC×GC/TOFMS - injetor convencional split/splitless, amostrador automático HP 6873 (Agilent Technologies, Burwood, Australia), controle pelo software ChromaTOF® II, e detector TOFMS Pegasus III (LECO Corporation, St. Joseph, MI, USA).

3.2.1 Colunas cromatográficas

Nos sistemas 1D-GC foram utilizadas as colunas listadas na **Tabela IV**. A coluna OV-5 (5% fenil metil silicone) foi adquirida da Alltech (Deerfield, IL, USA), e a coluna DB-5, com o mesmo tipo de fase, foi fornecida por Agilent Technologies Brasil (Barueri, SP, Brasil).

Tabela IV. Colunas cromatográficas utilizadas em 1D-GC.

Coluna	Fase	Dimensões
A	OV-5	60m x 0,25mm x 0,25µm
B	DB-5	30m x 0,25mm x 0,25µm

Para os sistemas GC×GC foram empregados os conjuntos de colunas listados na **Tabela V**. As colunas BPX5 (5% fenil metil silicone), BP 20 (polietileno glicol), BPX 50 (50% fenil metil silicone), SolGel-Wax (polietileno glicol) e BP1 (100% polidimetilsiloxano), foram fornecidas pela SGE International (Ringwood, Australia). A coluna quiral MEGA é composta por 30% de heptaquis-(2,3-di-/O/-etil-6-/O/-terc/-butildimetilsilil)-beta-ciclodextrina, e 70% de PS-086 (copolímero de (85–88%)-dimetil-(15–12%)-bifenilsiloxano com terminação silanol), e foi fornecida por MEGA Capillary Columns Laboratory (Legnano, MI, Itália).

Tabela V. Conjuntos de colunas utilizados nos sistemas GC×GC.

Conjuncto	¹ D		² D	
	Fase	Dimensões	Fase	Dimensões
1	BPX5	30m x 0,25mm x 0,25µm	BP 20	1,5m x 0,10mm x 0,10µm
2	BPX5	30m x 0,25mm x 0,25µm	BP 20	1,0m x 0,10mm x 0,10µm
3	MEGA	20m x 0,25mm x 0,25µm	BP 20	1,0m x 0,10mm x 0,10µm
4	SolGel-Wax	30m x 0,25mm x 0,5µm	BP 1	1,0m x 0,50mm x 0,25µm
5	BPX5	30m x 0,25mm x 0,25µm	BPX50	1,0m x 0,10mm x 0,10µm
6	BPX5	30m x 0,25mm x 0,50µm	BPX50	1,0m x 0,10mm x 0,10µm
7	BPX5	30m x 0,25mm x 0,50µm	BPX50	1,0m x 0,15mm x 0,15µm
8	BPX5	30m x 0,25mm x 0,50µm	BPX50	0,5m x 0,15mm x 0,15µm

3.2.2 Condições cromatográficas

As **Tabelas VI, VII e VIII** apresentam os parâmetros cromatográficos adotados para as análises por 1D-GC e GC×GC dos compostos nitrogenados e dos óleos voláteis, respectivamente.

Tabela VI. Parâmetros cromatográficos utilizados para análise dos compostos nitrogenados.

Parâmetros	GC/qMS	GC×GC-NPD	GC×GC/TOFMS
injetor	split/splitless	PTV- pulse-splitless	pulse-splitless
- temperatura do injetor	280 °C	35 °C - 16 °C s ⁻¹ - 280 °C	300 °C
- fase móvel	He	H ₂	He
- vazão da fase móvel	1,0 mL min ⁻¹	3,0 mL min ⁻¹ /1 min - 1,0 mL min ⁻¹	purga de 50 mL min ⁻¹ /1min - 1,0 mL min ⁻¹
- razão de split	1:50	splitless/1 min - 1:100/2min, depois 1:20	splitless/1 min - 1:50/1min, depois 1:20
rampa de temperatura do forno	170 °C/5 min – 2 °C/ min – 280 °C/20 min	35 °C/1 min - 20 °C/ min - 170 °C/5 min - 2 °C/ min - 290 °C/20 min.	60 °C/0,2 min – 20 °C/ min – 170 °C/5 min – 2 °C/ min – 290 °C/20 min
temperatura de modulação	-	40 °C	40 °C
período de modulação	-	4 s	6 s
resfriamento da armadilha criogênica	-	de 3,5 min ao final da corrida	4,0 min - 85 min
faixas moduladas	-	de 4,0 min ao final da corrida	4,0 min - 89 min
detector		linha de base ajustada em 30 pA	corte de solvente em 4 min
- modo de ionização	impacto eletrônico 70 eV		impacto eletrônico 70 eV
- temperatura da interface	280 °C	325 °C	350 °C
- temperatura da fonte de íons	280 °C		200 °C
- faixa de m/z	45 – 400 Da		45 – 415 Da
- energia	1,65 kV		1,90 kV
- taxa de aquisição de sinal		50 Hz	100 Hz

Tabela VII. Parâmetros cromatográficos utilizados nos sistemas GC×GC para análise dos óleos voláteis.

Parâmetros	GC-FID	GC/qMS	GC×GC-FID	GC×GC/qMS	GC×GC/TOFMS
injetor	split	split	split	splitless	splitless
- temperatura do injetor	250 °C	250 °C	250 °C	250 °C	250 °C
- fase móvel	H ₂	He	H ₂	He	He
- vazão da fase móvel	1,1 mL min ⁻¹	0,8 mL min ⁻¹	1,0 mL min ⁻¹	0,8 mL min ⁻¹	1,0 mL min ⁻¹
- velocidade linear	31,9 cm s ⁻¹	31,9 cm s ⁻¹	31,9 cm s ⁻¹	31,9 cm s ⁻¹	31,9 cm s ⁻¹
- razão de split	1:10	1:10	1:10	splitless/1 min - split 1:100/3 min, depois 1:20	Splitless/1 min - split 1:100/3 min, depois 1:20
rampa de temperatura do forno	60 °C – 3 °C/ min – 240 °C	60 °C – 3 °C/ min – 240 °C	60 °C – 3 °C/min – 240 °C	60 °C – 3 °C/ min – 240 °C/10 min	60 °C/1 min – 3 °C/ min – 240 °C/10 min
temperatura de modulação	-	-	-20 °C	-20 °C, 0 °C	-20 °C
período de modulação	-	-	3, 4 , 5 , 7,5 e 10 s	5 e 7,5 s	5 s
resfriamento do trap	-	-	à partir de 1,0 min	à partir de 3,5 min	5,0 min – 65 min
faixas moduladas	-	-	à partir de 1,0 min	à partir de 3,5 min	5,0 min – 70 min
detector				corte de solvente em 3,4 min	corte de solvente em 5,0 min
- modo de ionização	-	impacto eletrônico 70 eV		impacto eletrônico 70 eV	Impacto eletrônico 70 eV
- temperatura da interface	250 °C	270 °C	250 °C	260 °C	260 °C
- temperatura da fonte de íons	-	270 °C		230 °C	200 °C
- temperatura do quadrupolo	-			150 °C	
- faixa de m/z	-	45 – 400 Da		41,0 – 228,5 Da	45 – 415 Da
- energia	-	1,65kV		1,424 kV	1,732 kV
- taxa de aquisição de sinal			100 Hz	25,81 Hz	100 Hz

3.2.3 Tratamento dos dados

O sinal registrado no software ChemStation foi exportado no formato ASCII, na forma de dados separados por vírgulas. Esses dados foram convertidos em matrizes conforme o período de modulação e a taxa de aquisição de sinal, utilizando o software 2D Conversion elaborado no laboratório do Prof. Dr. Philip Marriott. Os diagramas de contorno e diagramas de cores foram gerados a partir dessas matrizes, utilizando o software Transform (Fortner Research, Boulder, CO, USA). O sinal registrado no software ChromaTOF® II foi diretamente convertido pelo próprio programa.

3.2.4 Modificações do NPD

Para melhorar a resposta dos compostos nitrogenados neste detector para operação no modo GC×GC, várias condições de vazão dos gases do plasma foram estudadas, além de diferentes combinações de peças no detector. Este detector está ilustrado na **Figura 7**, apresentada na **Revisão Bibliográfica**.

Foram testados dois tipos de jatos, um convencional e outro estendido, além de dois coletores com diâmetros internos diferentes, sendo um convencional (~7mm i.d.), e outro com diâmetro interno reduzido (~5 mm i.d.), que será chamado de “coletor menor”, apesar de apenas o diâmetro interno ter sido reduzido. Todas essas peças foram adquiridas da Agilent Technologies. A **Figura 16** apresenta as fotografias dessas peças, bem como todas as 4 combinações possíveis testadas, sendo elas designadas pelas letras A, B, C e D.

As quatro combinações de coletor e jatos apresentadas na **Figura 16** foram testadas sob diversas combinações de vazão dos gases do detector. Este estudo foi realizado utilizando-se o conjunto de colunas 6 (**Tabela V**), e a rampa de temperatura de 35 °C/1 min - 20 °C/ min - 260 °C (tempo total de corrida:12,25 min), com a mistura indol e carbazol (10 µg mL⁻¹).

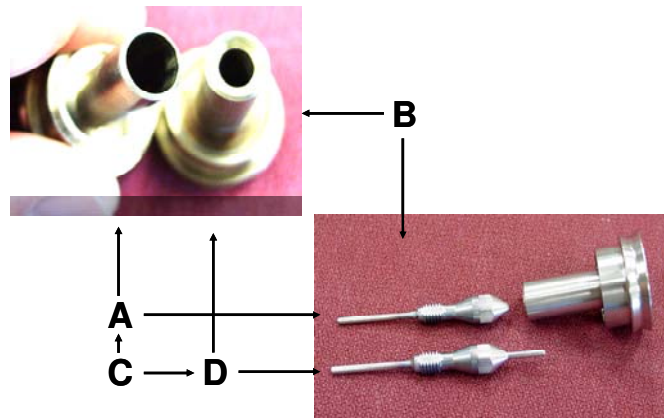


Figura 16. Fotografia dos jatos (abaixo) e coletores (acima) utilizados na otimização do detector NPD. As letras representam as 4 combinações de peças testadas: jato e coletor convencionais (A), jato convencional e coletor menor (B), jato estendido e coletor convencional (C), e jato estendido e coletor menor (D). Fotografias cedidas por Agilent Technologies.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 FRAÇÕES PESADAS DE PETRÓLEO DE ÁGUAS PROFUNDAS

4.1.1 Análise de compostos nitrogenados por GC×GC–NPD

Para a análise eficiente e reprodutível por GC×GC–NPD dos compostos nitrogenados isolados das amostras de RAT e GOP, foram necessárias várias etapas de otimização do sistema cromatográfico, iniciando pela introdução da amostra, seguido do detector, do conjunto de colunas a ser utilizado, e finalmente, das demais condições analíticas a serem empregadas. Alguns dos compostos estudados ficaram extremamente retidos no sistema cromatográfico, causando efeitos de memória, devido à retenção no injetor, diminuição significativa do sinal pela interação com sítios ativos das colunas cromatográficas empregadas, além de outros efeitos como picos com caudas, ou até desaparecimento dos mesmos, possivelmente porque estes compostos interagiram com partes internas do detector. Todas essas interações foram isoladas e estudadas separadamente, visando à otimização e um desempenho reprodutível do sistema.

4.1.1.1 Introdução da amostra

Neste trabalho, a etapa de introdução da amostra foi crucial para a obtenção de resultados reprodutíveis, devido à grande interação dos compostos de interesse com sítios ativos presentes em qualquer etapa do processo. A temperatura inicial a ser utilizada no injetor PTV foi testada desde 40 °C a 260 °C, em intervalos de 30 °C, assim como a taxa de aquecimento, que variou de 5°C s⁻¹ até o limite de 16 °C s⁻¹. Variações nestes parâmetros não resultaram em alterações significativas na resposta e em sua reprodutibilidade, quando o teste ANOVA foi empregado para avaliação dos resultados. Nesse injetor, não foi possível utilizar temperatura fixa (isotérmico), devido ao fornecimento de ar comprimido para o resfriamento do injetor e para o detector estarem na mesma linha, o que impediu a estabilização do sinal. Futuras modificações nesse sistema foram sugeridas.

A temperatura inicial escolhida para a injeção foi 140 °C, e essa rampa de aquecimento foi comparada com uma rampa que iniciou abaixo do ponto de ebulição do solvente da amostra (DCM), 35 °C. Embora a variação das áreas obtidas não tenha sido significativa, a utilização de uma temperatura abaixo do ponto de ebulição do solvente permite que o mesmo seja vaporizado no injetor, e não na agulha da seringa, tornando o processo de vaporização mais uniforme²²⁴. Outro parâmetro otimizado foi a pressão no injetor. A utilização de pressões maiores durante a injeção permite uma compressão da banda que entra na coluna, além de diminuir o contato dos compostos com as paredes do *liner* e do injetor²²⁴. Para esse propósito, foi utilizada uma vazão de 3 mL min⁻¹ durante a injeção (1 min), e uma razão de *split* alta após esse processo (1:100, durante 2 min), e posteriormente uma razão de *split* de 1:20, para economia de fase móvel. Mesmo adotando essa estratégia, o método de injeção não apresentou resultados reprodutíveis.

O fator mais importante para a obtenção de resultados reprodutíveis foi o *liner* utilizado. Devido à grande interação dos compostos com sítios ativos nas diversas superfícies do sistema cromatográfico, não foi possível utilizar lã de quartzo para melhorar a vaporização. Entretanto, um *liner* vazio não permitiu uma transferência de calor uniforme entre o injetor e a amostra²²⁴, mesmo quando o menor volume possível de amostra foi injetado. Para solucionar essa questão, foi utilizado um *liner* com *frit* de vidro sinterizado, que permitiu uma troca de calor reprodutível, sem interagir quimicamente com os compostos de interesse.

4.1.1.2 Conjuntos de colunas

Buscando melhorar a separação cromatográfica obtida nas duas dimensões, vários conjuntos de colunas foram testados. Inicialmente, a coluna utilizada na primeira dimensão (BPX5) foi substituída por outra com o mesmo tipo de fase, entretanto, com o dobro da espessura de filme (conjuntos 5 e 6, **Tabela V** da Parte Experimental, **item 3.2.1**). Conforme discutido por Zhu e colaboradores²²⁵, o uso de um filme mais espesso na coluna da primeira dimensão pode aumentar a resolução no caso de sobrecarga na primeira dimensão, mas alargar os picos, o que contribui para o aumento do número de frações do pico primário na segunda dimensão, diminuindo a possibilidade de sobrecarga na segunda coluna. Na **Figura 17** estão dois cromatogramas obtidos para uma solução de indol e carbazol, ambos na

mesma concentração, utilizando-se os conjuntos de colunas 5 e 6. A soma das áreas dos picos modulados do indol aumentou 17 vezes, e do carbazol, 34 vezes, quando o conjunto de colunas 6 foi empregado. A simetria dos picos também foi aumentada em mais de 0,4 para ambos os compostos. Essa diferença significativa pode ser resultante da presença de sítios ativos na superfície capilar menos encoberto pelo filme mais fino de fase estacionária (conjunto 5), que foram cobertos quando o filme mais espesso foi empregado. A seletividade na segunda dimensão foi afetada pelo aumento da temperatura de eluição dos compostos da primeira dimensão, devido a maior retenção na fase estacionária com filme mais espesso. Entretanto, esse efeito não foi significativo, pois a diferença da temperatura de eluição dos compostos entre a coluna ¹D com filme mais fino (0,25 μm), e a coluna ¹D com filme mais espesso (0,50 μm) não foi superior a 10 °C.

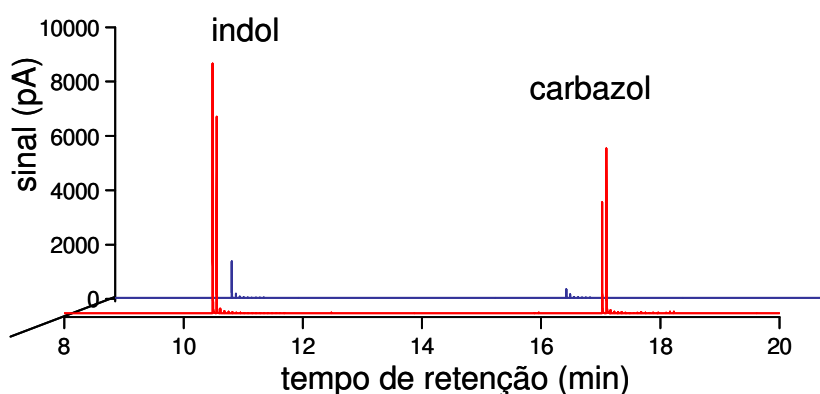


Figura 17. Picos modulados de indol e carbazol utilizando os conjuntos de colunas 5 (em azul) e 6 (em vermelho), **Tabela V**.

O uso de filme mais espesso na segunda dimensão também foi estudado com o objetivo de verificar os efeitos na resposta da segunda dimensão. As **Figuras 18, 19 e 20** apresentam diagramas de cores obtidos para uma fração neutra de GOP extraída pelo método B (item **3.1.1.2.3** da Parte Experimental), utilizando-se os conjuntos de colunas 6, 7 e 8 da **Tabela VI**, respectivamente. A utilização de um filme mais espesso na segunda dimensão (0,10 μm para 0,15 μm) não aumentou a resposta obtida para a mistura padrão (resultados não apresentados), mas melhorou a resolução dos picos na segunda dimensão, especialmente na região dos benzocarbazóis (**Figura 19**), devido ao aumento da retenção nessa fase e conseqüente aumento do 2t_R . Para o período de modulação utilizado (4s), os

carbazóis e benzocarbazóis apresentam picos fora do ciclo, $4 < {}^2t_R < 8$ s. Se um maior período de modulação for utilizado para evitar os picos fora de ciclo, o número de modulações por pico para o indol, por exemplo, será inferior ao recomendado (4 ou mais modulações por pico, conforme discutido no item **2.1.2.3** na Revisão Bibliográfica) resultando também em bandas mais concentradas na segunda dimensão, o que favorece a sobrecarga da coluna na região de maior concentração dos compostos. Os picos fora de ciclo podem ser evitados se uma coluna mais curta for utilizada na segunda dimensão, o que também poderá reduzir o alargamento dos picos e a formação de cauda na segunda dimensão. A **Figura 20** apresenta o diagrama de cores obtido com uma coluna mais curta na segunda dimensão (conjunto 8). Apesar dos picos fora de ciclo, que causavam uma pequena sobreposição das regiões de alquil-carbazóis e benzocarbazóis abaixo de $1s$ (2t_R) terem sido eliminados, e da redução da cauda dos picos na segunda dimensão, o desempenho da separação também foi reduzido, resultando em sobreposição dos picos da região dos alquil-carbazóis, e entre as duas classes na região de ${}^2t_R = 2s$ e perda do efeito telhado dentro das classes. Com base nesses resultados, o conjunto de colunas 7 foi escolhido para o desenvolvimento e aplicação do método.

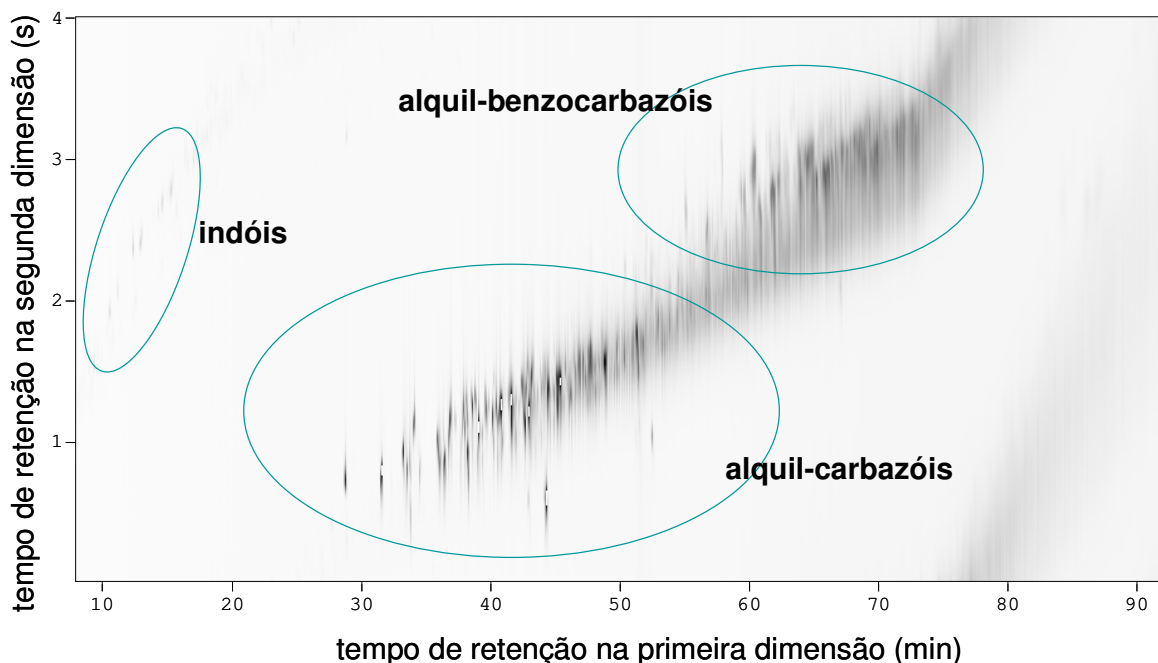


Figura 18. Diagrama de cores (escala de cinza) obtido para uma fração neutra de GOP extraída pelo método B, utilizando o conjunto de colunas 6 apresentado na **Tabela V**: 1D - BPX5 30m x 0,25mm x 0,50 μ m e 2D - BPX50 1,0m x 0,10mm x 0,10 μ m.

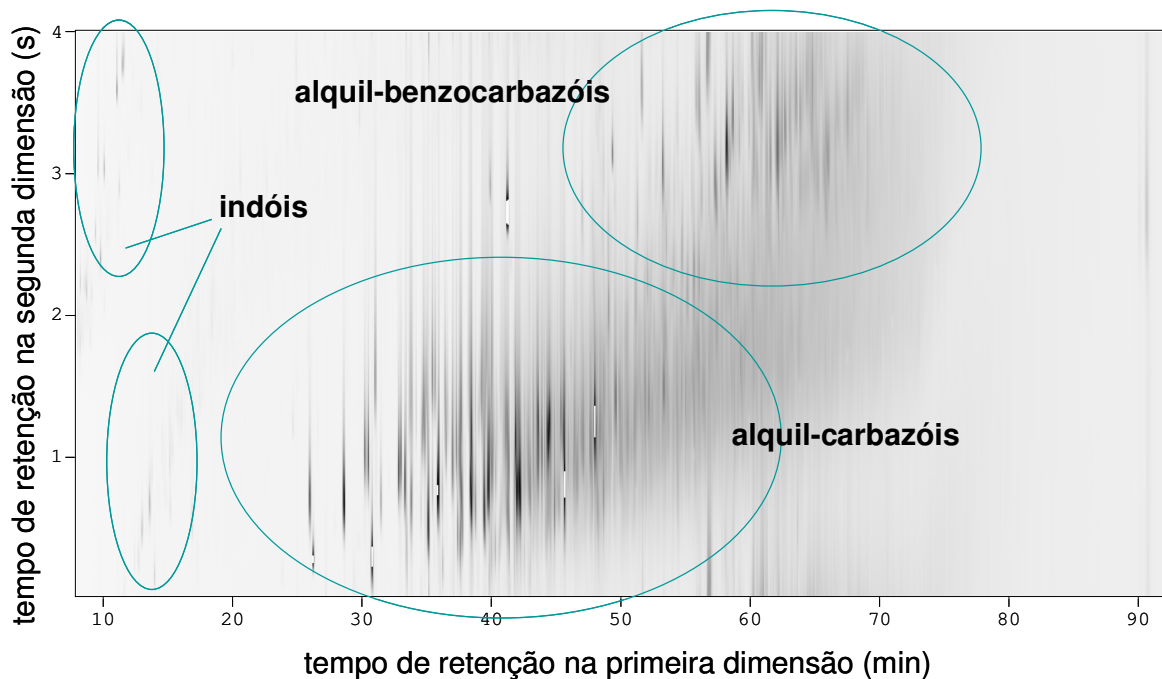


Figura 19. Diagrama de cores (escala de cinza) obtido para uma fração neutra de GOP extraída pelo método B, utilizando o conjunto de colunas 7 apresentado na **Tabela V**: ¹D - BPX5 30m x 0,25mm x 0,50 μ m e ²D - BPX50 1,0m x 0,15mm x 0,15 μ m.

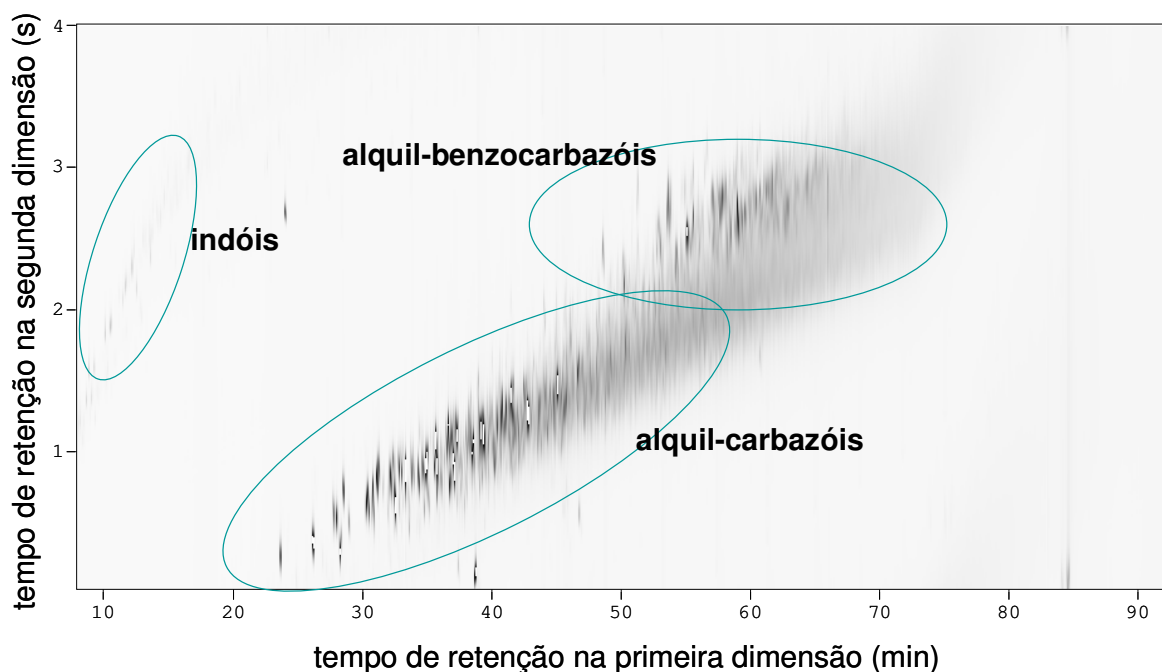


Figura 20. Diagrama de cores (escala de cinza) obtido para uma fração neutra de GOP extraída pelo método B, utilizando o conjunto de colunas 8 apresentado na **Tabela V**: ¹D - BPX5 30m x 0,25mm x 0,50 μ m e ²D - BPX50 0,5m x 0,15mm x 0,15 μ m.

4.1.1.3 Modificações do NPD

4.1.1.3.1 Otimização da vazão dos gases do detector

Ryan e colaboradores^{34,65} aprimoraram o desempenho do NPD para aplicação em GC×GC pela modificação dos fluxos de hidrogênio, ar e nitrogênio do detector, o que melhorou a resposta do detector em termos de magnitude e simetria dos picos, conforme discutido no item **2.1.2.2**. No presente trabalho, esses parâmetros também foram avaliados a fim de obter o máximo desempenho desse detector para os compostos de interesse.

Patterson⁶⁶ apresentou uma relação entre a corrente aplicada à pérola e a corrente de íons gerada para compostos nitrogenados e sulfurados. Maiores correntes iônicas foram obtidas quando maiores valores de corrente foram aplicados à pérola, para ambas as classes de compostos. Neste trabalho, Patterson também concluiu que a seletividade do NPD não é afetada pela temperatura da pérola, entretanto a resposta absoluta é influenciada por este parâmetro. Com base em seus estudos, a estratégia adotada para a otimização dos gases no NPD foi a determinação da menor voltagem da pérola que resultaria em maiores valores de área e altura dos picos, ajustando-se para isto, as vazões de hidrogênio e ar. Posteriormente, foi empregado o maior fluxo possível de gás de *make-up*, para obter um valor máximo de voltagem (o nitrogênio diminui a temperatura do plasma e, conseqüentemente, o sistema aplica maiores voltagens para compensar esse efeito). Maiores vazões de nitrogênio também foram utilizadas, entretanto, o efeito de diluição se sobrepôs ao aumento de ionização, resultando em uma diminuição da resposta do detector. A combinação desses dois efeitos (diluição e aumento da ionização) não apresentou uma resposta linear. Outros fatores tais como, pequenas modificações na temperatura da superfície da pérola, e a velocidade linear dos compostos, também podem afetar a resposta.

Para o estudo do efeito da vazão dos gases do NPD, foi utilizado indol como composto de referência ($33,3 \mu\text{g mL}^{-1}$), para todas as condições de vazão de gases do detector apresentadas na **Tabela VIII**, seguindo-se as condições cromatográficas indicadas na **Tabela VI**, com o conjunto de colunas 5 da **Tabela V**. A única alteração das condições apresentadas na **Tabela VI** foi a rampa de temperatura do forno do cromatógrafo, buscando-se acelerar a eluição destes compostos durante este

estudo: 35 °C/0,5 min - 20 °C/ min - 160 °C - 10 °C/ min - 220 °C (tempo total de corrida:12,75 min). Para este experimento, a vazão de hidrogênio no detector foi fixada em 3 mL min⁻¹, e o ruído obtido foi relativamente constante para todos os experimentos. Segundo Patterson ⁶⁸, modificações na vazão de hidrogênio não afetam significativamente a temperatura da superfície da pérola. Entretanto, podem causar alterações significativas na concentração de espécies radicalares na camada gasosa próxima à pérola. Em seu trabalho, Patterson observou que ocorre uma diminuição da especificidade tanto para nitrogênio quanto para fósforo, em relação a hidrocarbonetos, quando vazões maiores de hidrogênio são utilizadas. Apesar de não ser objetivo do presente trabalho realizar estudos de seletividade, fluxos reduzidos de hidrogênio foram considerados para a obtenção de maior especificidade para nitrogênio. Vazões maiores e menores do que 3 mL min⁻¹ de hidrogênio foram testadas, mas a resposta obtida foi inferior em ambos os casos (resultados não apresentados).

Tabela VIII. Diversas vazões de gases testadas no NPD (ar e nitrogênio) e respostas obtidas, utilizando-se indol como referência e a combinação A da **Figura 16**.

condição	ar (mL min ⁻¹)	nitrogênio (mL min ⁻¹)	área ^{a)}	altura ^{a)}	largura ^{b)} (min)	As ^{b)}
1	90	21	260	1192	0,30	1,25
2	70	21	287	1307	0,30	1,20
3	90	20	287	1316	0,31	1,21
4	70	20	293	1253	0,35	1,26
5	80	20	308	1442	0,29	1,14
6	80	10	318	993	0,38	1,49
7	55	22	423	1767	0,29	1,26
8	50	25	443	1829	0,42	1,20
9	60	2	478	1555	0,38	1,25
10	50	21	482	2024	0,27	1,27
11	60	21	495	2105	0,31	1,31

a) Soma dos valores obtidos para os picos modulados.

b) Média dos valores obtidos para os picos modulados.

Comparando-se os resultados apresentados na **Tabela VIII**, a condição que apresentou maiores valores de área de pico e altura média foi a condição **11**. A condição **9** representa a combinação sugerida como ideal pelo fabricante do cromatógrafo. Em comparação à condição **9**, os picos modulados ficaram mais estreitos, entretanto, a simetria (**As**) do pico foi prejudicada. Uma possível explicação para esse aumento da assimetria dos picos modulados pode ser a interação entre o composto e o interior do detector utilizado, ou interação entre o composto e a coluna da segunda dimensão. Estes efeitos de cauda ficaram mais evidentes quando picos mais estreitos foram obtidos, tendo sido gerados após a modulação, pois a assimetria nos picos modulados é produzida após a modulação, enquanto que assimetria no perfil do pico primário é originada antes do evento de modulação.

4.1.1.3.2 Otimização da geometria do detector

As quatro combinações apresentadas na **Figura 16** do **item 3.2.4** da Parte Experimental foram testadas nas condições apresentadas naquele item. Empregando-se a combinação do coletor menor e o jato convencional (B), nenhum pico foi detectado, mesmo utilizando-se altas concentrações de indol e carbazol (até 100 ng de cada composto). Quando o jato estendido foi utilizado em conjunto com o coletor menor (D), picos foram detectados somente em concentrações relativamente altas (50 ng de indol e carbazol). Melhores resultados foram obtidos quando o coletor convencional foi utilizado, tanto com o jato convencional (A), quanto com o jato estendido (C). Os resultados da otimização dos gases do detector para a combinação A foram apresentadas anteriormente (**Tabela VIII**), e para a combinação C, estão apresentados na **Tabela IX**. Estas duas tabelas não podem ser diretamente comparadas, uma vez que o conjunto de colunas e a concentração da solução padrão foram alterados entre estes dois grupos de experimentos. Além destes fatores, algumas modificações foram realizadas no sistema cromatográfico entre esses dois estudos, o que não invalida os estudos realizados antes dessas modificações.

Tabela IX. Diversas vazões de gases testadas no NPD (ar e nitrogênio) e respostas obtidas utilizando-se indol como composto referência e, a combinação C da **Figura 16**.

condição	hidrogênio (mL min ⁻¹)	ar (mL min ⁻¹)	nitrogênio (mL min ⁻¹)	área ^{a)}	altura ^{a)}	largura ^{b)} (min)	As ^{b)}
1	3	80	5	5,85	6,38	0,902	1,06
2	3	60	5	5,87	6,07	0,897	1,12
3	3	80	10	6,13	6,53	0,903	1,07
4	3	60	13	6,20	6,60	0,930	1,08
5	3	90	15	6,20	6,53	0,896	1,07
6	2	40	10	7,85	8,25	0,865	1,09
7	1	20	9	8,23	8,58	0,888	1,13
8	1,3	90	2,5	8,27	8,73	0,897	1,08
9	1,3	80	5	8,43	9,13	0,883	1,06
10	1,5	30	10	8,93	9,00	0,888	1,12
11	1,2	70	5	9,37	9,90	0,880	1,07

a) Soma dos valores obtidos para os picos modulados

b) Média dos valores obtidos para os picos modulados.

Segundo a **Tabela IX**, a composição de vazões sugerida pelo fabricante seria aquela designada pela condição **2**, ao passo que a condição **11** apresentou valores de área e altura de pico significativamente maiores, com picos mais estreitos e melhores valores para a simetria. Esta composição dos gases (**11**) foi escolhida para os estudos comparativos de desempenho do detector.

A **Figura 21** ilustra os picos modulados obtidos para os padrões indol e carbazol (1 µg mL⁻¹), sob condições cromatográficas idênticas, com exceção da vazão de gases no detector, e o tipo de jato empregado no NPD. Os dois segmentos do cromatograma 1 apresentam os picos modulados obtidos com o detector convencional na vazão de gases recomendada pelo fabricante (condição 2, **Tabela IX**). No cromatograma 2, foi utilizada uma vazão de gases otimizada (condição 11, **Tabela VIII**) para essa configuração (A), enquanto que no cromatograma 3 foi empregado o jato estendido, na vazão de gases que apresentou melhores resultados nessa configuração (C), a composição **11** da **Tabela IX**. Esta Figura ilustra a melhora da resposta absoluta e a diminuição das caudas dos picos obtidos,

quando a vazão de gases foi otimizada para essa aplicação, usando-se o jato estendido.

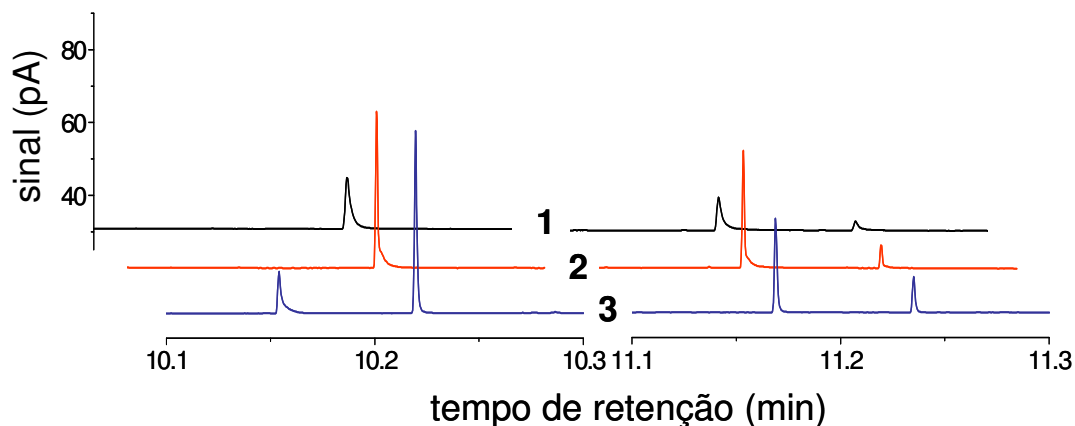


Figura 21. Picos modulados obtidos para indol e carbazol com o detector não otimizado (1, linha preta), com a otimização da vazão dos gases (2, linha vermelha), e após a otimização da geometria e dos gases (3, linha azul), utilizando o jato estendido.

Esta comparação também é apresentada em termos numéricos na **Tabela X**. O ruído foi calculado como o desvio padrão da resposta do ruído (7 regiões do cromatograma com 3 replicatas), e o sinal foi calculado como a soma da altura dos picos modulados. Os valores para simetria (A_s) foram calculados a partir da simetria média dos picos modulados. Patterson⁶⁶ concluiu que quanto maior for a corrente aplicada à pérola, maior será a resposta, mas também, maior será o ruído. Para a combinação jato-coletor A, o ruído apresentou um valor ligeiramente superior com a vazão de gases otimizada devido à maior voltagem da pérola, entretanto, a relação sinal-ruído (S/N) para o indol e o carbazol foram maiores do que o dobro dos obtidos na condição recomendada, com melhora na simetria dos picos (A_s). O pequeno aumento na voltagem da pérola não deve ser significativo para afetar a vida útil da mesma.

Tabela X. Comparação entre as condições de vazão de gases no NPD convencionais e otimizadas para a combinação jato-coletor convencional (A), e na condição de vazão otimizada com o jato estendido (C).

	Combinação A	Combinação A ^{a)}	Combinação C ^{a)}
Voltagem da Pérola (V)	3,773	3,977	3,940
ruído (pA)	0,093	0,121	0,098
S/N (indol)	133	296	464
S/N (carbazol)	113	263	261
As (indol)	1,489	1,360	1,308
As (carbazol)	1,736	1,354	1,123

a) Composição dos gases otimizada para cada combinação de coletor-jato.

Apesar do S/N para o carbazol nas duas condições de vazão otimizadas (A e C) serem semelhantes, ocorreu um aumento significativo do S/N para o indol (57%) quando o jato estendido foi empregado (C). Os valores de simetria dos picos foram melhores para os dois compostos. Essas diferenças podem ser resultantes de um menor grau de exposição ou contato dos analitos com as paredes do coletor antes de atingirem a pérola. A utilização do jato estendido pode minimizar esse contato (C e D). Essa hipótese também foi reforçada pelos resultados obtidos com o coletor menor, quando os dois jatos foram utilizados (B e D). Quando o jato convencional foi empregado não houve resposta, ao passo que a utilização do jato estendido permitiu que os compostos fossem detectados em altas concentrações. Além disso, o coletor menor favoreceu o aumento do contato dos analitos com as paredes, o que diminuiu drasticamente a resposta obtida. Esse efeito também pode ser confirmado pelos melhores valores de simetria obtidos para os dois compostos, quando o jato estendido foi usado, sugerindo que o contato com as paredes do detector pode ter sido a causa das caudas obtidas nos picos modulados quando do emprego do jato convencional.

Com base nesses resultados, futuras modificações no NPD podem ser sugeridas, tais como diminuição do volume da câmara, sem ter como foco a

miniaturização da secção transversal do mesmo, mas considerando as interações dos analitos com as paredes do coletor.

4.1.1.4 Validação do método

Na **Tabela XI** estão apresentadas as figuras de mérito obtidas para o método desenvolvido, utilizando-se 7 compostos padrão, pertencentes às diversas classes estudadas. Os compostos padrão característicos das frações neutras ou básicas não co-eluíram e, por essa razão, a validação foi realizada para todos os compostos nas mesmas corridas cromatográficas. Nesta etapa, foi utilizado o jato estendido e o coletor convencional (combinação C, **Figura 16**), na vazão de gases otimizada (condição 11, **Tabela IX**), com o conjunto de colunas 7 (**Tabela V**), e as condições cromatográficas apresentadas na **Tabela VI** para GC×GG-NPD.

Tabela XI. Figuras de mérito do método desenvolvido para a análise de compostos nitrogenados por GC×GG-NPD.

	s (%) ^{a)}	LOD ^{a)} (pg)	LOQ ^{a)} (pg)	faixa de linearidade (pg)	equação	r ²
quinolina	4,3	1,19	3,58	10 – 10.000	y = 46,8 x - 4,27	0,99917
isoquinolina	3,9	1,06	3,17	10 – 10.000	y = 20,9 x - 1,10	0,99930
indol	3,0	1,86	5,58	10 – 10.000	y = 13,0 x - 0,208	0,99901
7,8-benzoquinolina	3,2	0,16	0,491	1 – 10.000	y = 151x + 2,23	0,99995
5,6-benzoquinolina	3,9	0,29	0,860	1 – 10.000	y = 195x + 9,87	0,99996
carbazol	4,2	2,99	8,99	10 – 10.000	y = 11,4 x + 0,429	0,99990
7-H-dibenzo-c,g- carbazol	2,5	8,49	25,5	100 – 10.000	y = 10,9 x + 1,21	0,99948

^{a)} limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) obtidos considerando-se a estimativa do desvio padrão do S/N maior do que 3 e 10, respectivamente, usando-se 5 replicatas de injeção na mesma concentração (n=5).

s - desvio padrão relativo

Os resultados apresentados na **Tabela XI** foram obtidos com 5 replicatas de cada ponto, considerando-se um mínimo de 5 concentrações diferentes para cada curva de calibração, com concentração da solução padrão entre 1 ng mL⁻¹ e 10 µg mL⁻¹ (injeção de 1 µL). A área total de cada pico foi calculada pela soma das áreas dos picos modulados, utilizando-se um programa desenvolvido em Matlab. Os

valores de precisão e fatores de determinação (r^2) obtidos foram considerados aceitáveis para quantificação. Os limites de detecção para os carbazóis foram semelhantes aos encontrados por um método desenvolvido para monitorar exposições pessoais, utilizando-se LC-GC-NPD²²⁶ (1-3 pg). No referido trabalho, as amostras não apresentavam complexidade elevada.

4.1.1.5 Aplicação a amostras reais

A **Figura 22** ilustra os diagramas de cores obtidos para todas as frações de GOP e RAT extraídas pelos métodos A e B, respectivamente. Através da comparação visual dos diagramas de cores obtidos para o GOP, tanto para as frações neutras (A1 e B1), quanto para as frações básicas (A2 e B2), é possível perceber que compostos pertencentes à fração neutra foram também extraídos na fração básica, quando o método B foi utilizado, assim como compostos característicos da fração básica, foram também extraídos na fração neutra, por este mesmo método. A mesma observação pode ser feita para os diagramas obtidos para o RAT. Comparando-se as frações básicas obtidas para as amostras de GOP e RAT (GOP - A2 e B2; RAT - A4 e B4), é possível verificar que vários picos presentes nos diagramas A, não são visíveis nos diagramas B, para as duas amostras. Com essa observação visual, é possível comparar previamente a eficiência de métodos de extração (avaliação de perfis), sem a necessidade de laboriosos estudos quantitativos.

As **Figuras 23 a 26** apresentam a estruturação observada, com a presença de efeito telhado para algumas classes de compostos, nos diagramas de cores obtidos para o GOP e o RAT, utilizando-se o método de extração A. As **Figuras 23 e 24** apresentam a clara separação entre indóis, alquil-carbazóis e alquil-benzocarbazóis, além do efeito telhado observado para as séries homólogas dos alquil-carbazóis e alquil-benzocarbazóis. Na região dos alquil-carbazóis, é nítida a separação do carbazol (C0), e dos 4 possíveis isômeros para o metil-carbazol (C1). A possibilidade de isômeros de posição de etil-carbazóis e dimetil-carbazóis (C2) já passa de 20 compostos, e quanto maior o número de carbonos na cadeia alquílica, maior o número de isômeros. Por este motivo, o número de possíveis isômeros para cadeias alquílicas com mais de 5 carbonos é muito grande para permitir uma clara separação, e a formação de um efeito telhado nítido. Para as frações básicas

apresentadas nas **Figuras 25 e 26**, o efeito de pico fora de ciclo compromete uma separação mais clara entre alquil-quinolinas e alquil-benzoquinolinas. As alquil-dibenzoquinolinas foram consideradas juntamente com as alquil-benzoquinolinas.

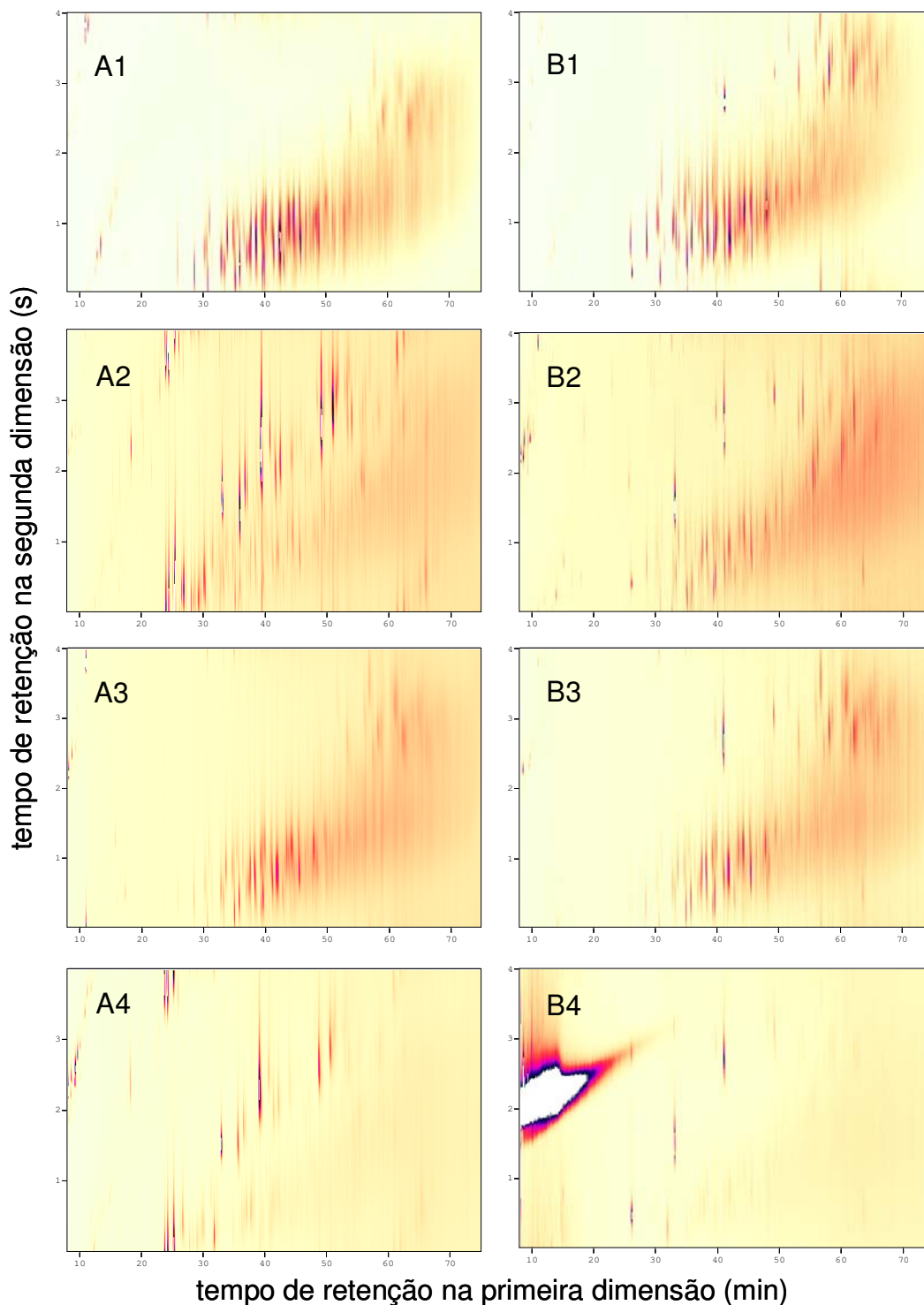


Figura 22. Diagramas de cores obtidos para as amostras de GOP e RAT extraídas pelos métodos A e B. Onde: 1 – frações neutras de GOP; 2 – frações básicas de GOP; 3 – frações neutras de RAT; 4 – frações básicas de RAT.

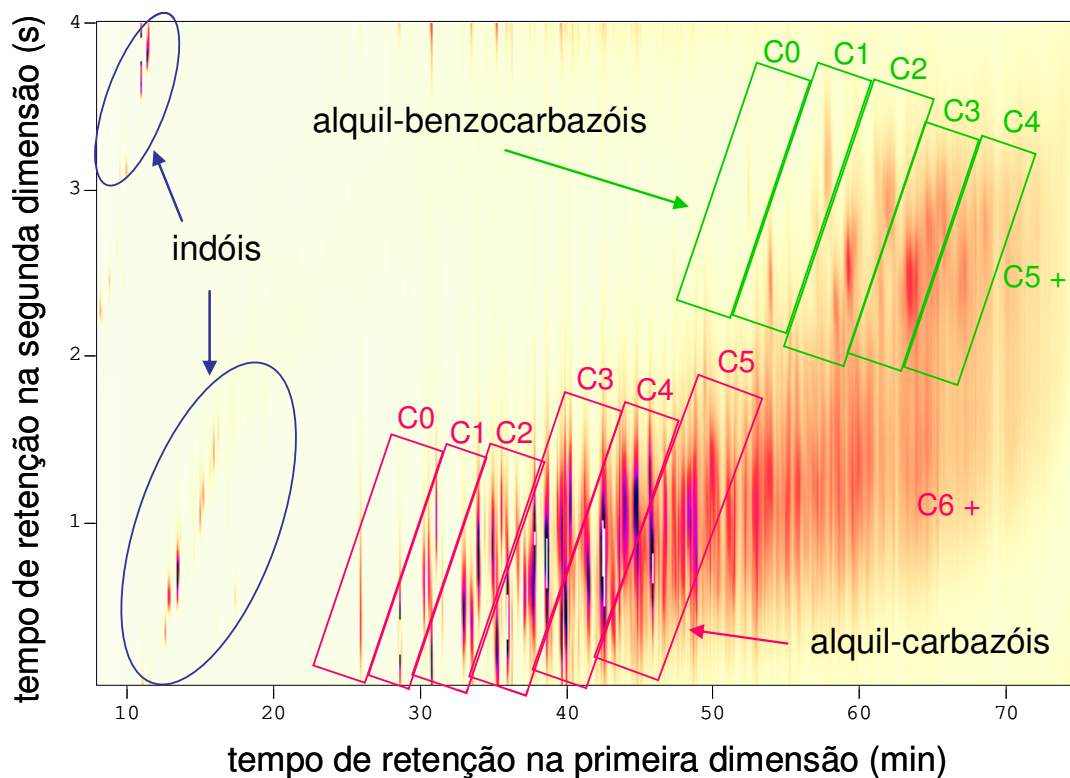


Figura 23. Diagrama de cores obtido por GC×GC-NPD para uma fração neutra de GOP extraída pelo método A.

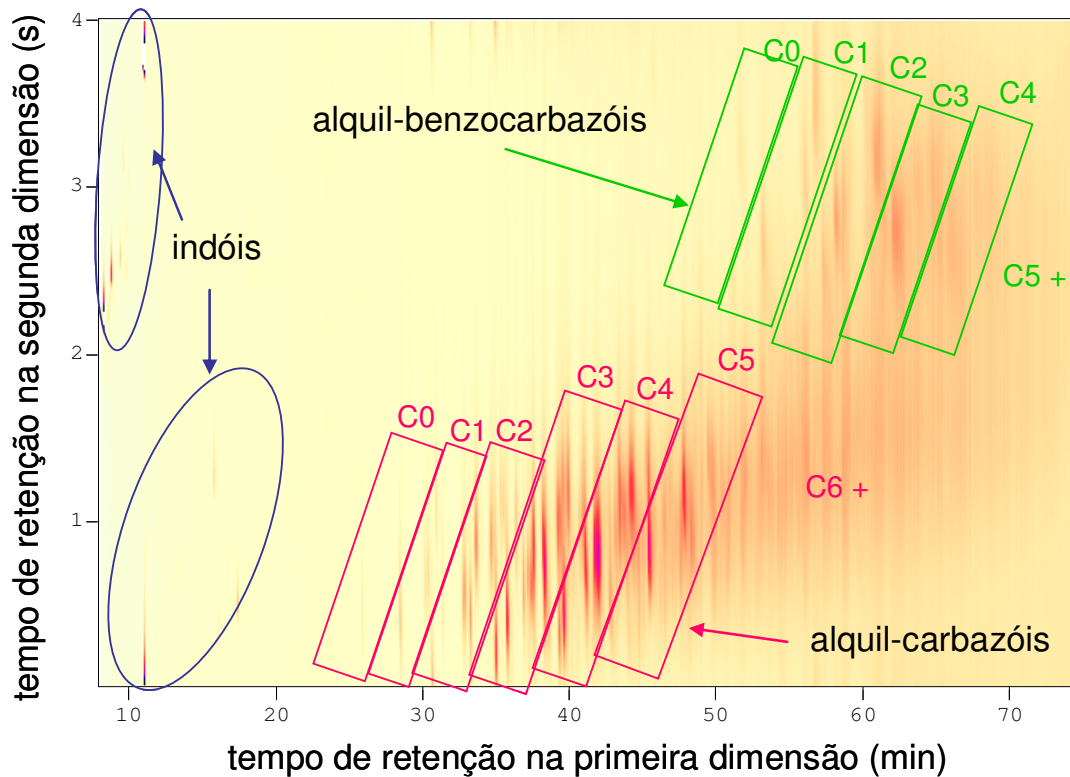


Figura 24. Diagrama de cores obtido por GC×GC-NPD para uma fração neutra de RAT extraída pelo método A.

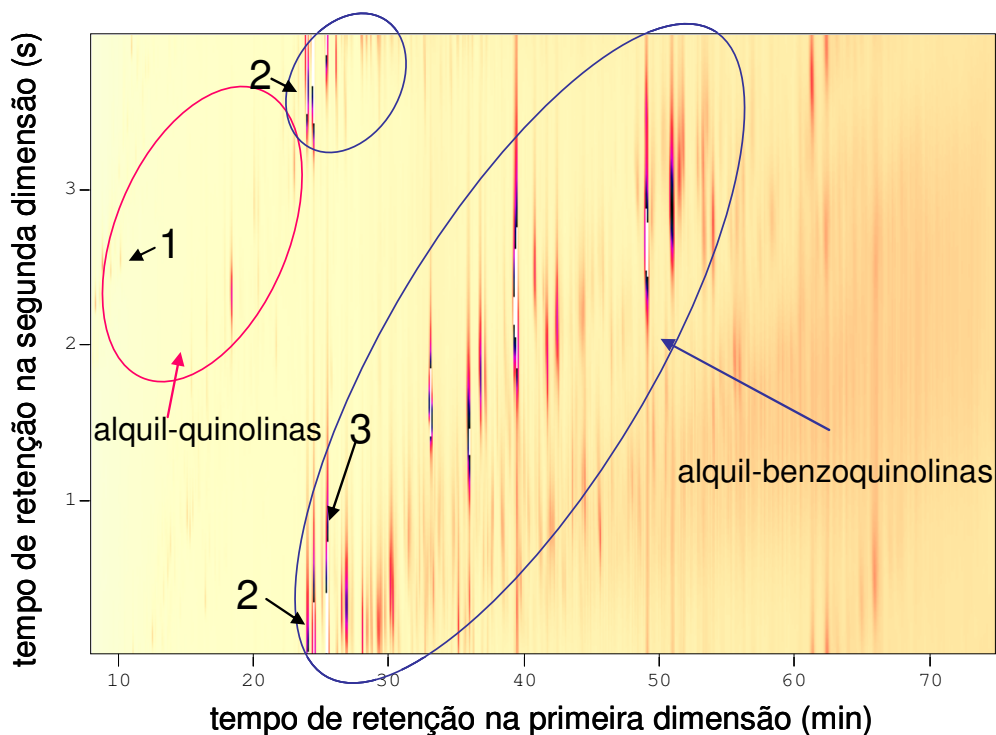


Figura 25. Diagrama de cores obtido por GC×GC-NPD para uma fração básica de GOP extraída pelo método A. 1- quinolina; 2 – 7,8-benzoquinolina; 3 – 5,6-benzoquinolina.

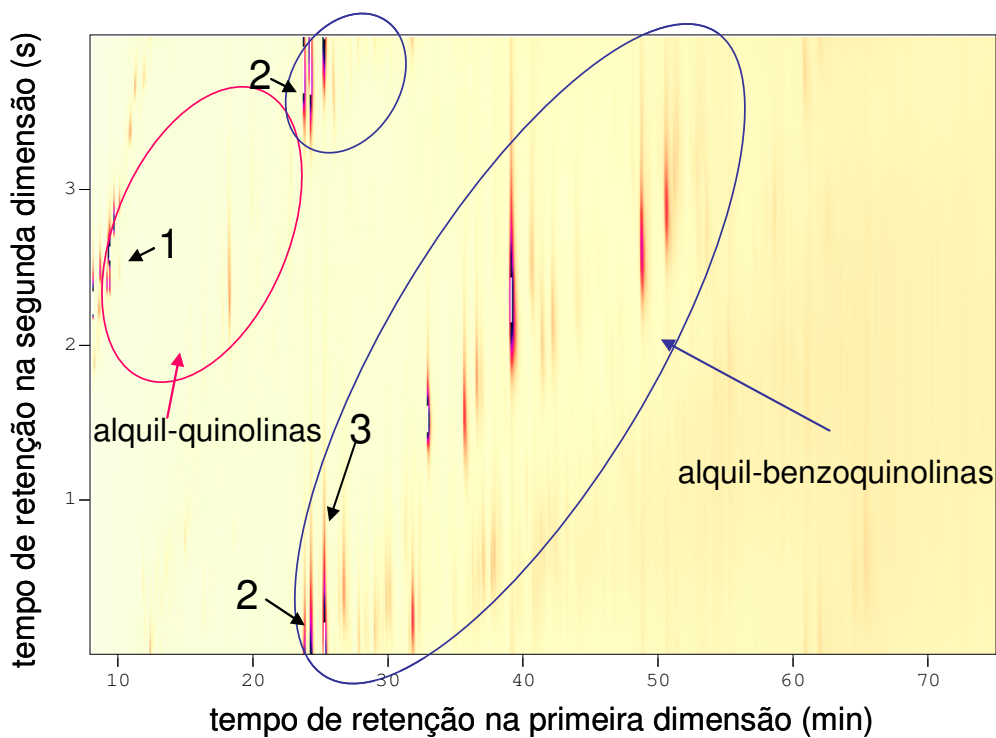


Figura 26. Diagrama de cores obtido por GC×GC-NPD para uma fração básica de RAT extraída pelo método A. 1- quinolina; 2 – 7,8-benzoquinolina; 3 – 5,6-benzoquinolina.

4.1.1.5.1 Quantificação dos compostos nitrogenados presentes no GOP e no RAT

Os extratos neutros e básicos de GOP e RAT foram analisados utilizando-se a mesma metodologia analítica aplicada para a validação apresentada no item 1.1.1.4. Por este método, não foi possível separar o grupo das alquil-quinolinas do grupo das alquil-isoquinolinas, assim como os alquil-derivados de 5,6-benzoquinolina dos derivados de 7,8-benzoquinolina, ou alquil-derivados com anéis em outras posições. Por essa razão, foi utilizado um fator de resposta médio para todas as substâncias de uma determinada classe química, utilizando-se para isso a média dos fatores de resposta dos padrões analíticos utilizados, pertencentes às classes químicas não separadas. As alquil-dibenzoquinolinas foram consideradas juntamente com as alquil-benzoquinolinas. Os fatores de resposta foram obtidos do coeficiente angular das equações das curvas analíticas (**Tabela XI**), conforme procedimento anteriormente reportado na literatura⁶³. Os resultados quantitativos obtidos para os extratos neutros e básicos provenientes dos dois métodos de extração estudados (métodos A e B), estão apresentados na **Tabela XII**. Esses resultados foram obtidos para apenas uma amostra de cada extrato. Os compostos de maior concentração dentro de cada série homóloga estão localizados no centro da série, de forma que possíveis erros de classificação dos picos nos limites entre as séries não devem afetar de forma significativa a concentração total da série na amostra. Embora não houvesse padrões disponíveis para confirmar a identidade de cada composto, foi possível separar e quantificar indol, carbazol, alquil-carbazóis de C₁ a C₆₊, benzocarbazol, e alquil-benzocarbazóis de C₁ a C₄₊. O composto 7-H-dibenzo-c,g-carbazol não foi detectado em nenhuma das amostras analisadas. Segundo a análise da solução padrão, este composto estaria localizado após a banda dos alquil-benzocarbazóis, o que demonstra que se estivessem presentes nas amostras, os alquil-dibenzocarbazóis poderiam ser detectados por esse método, desde que a concentração individual de cada composto fosse superior ao limite de detecção (25,5 pg), e os efeitos de matriz não fossem significativos. Devido à ausência de padrão de algum composto derivado do benzocarbazol, o fator de resposta do 7-H-dibenzo-c,g-carbazol foi utilizado para o estudo semi-quantitativo dos alquil-benzocarbazóis.

Tabela XII. Resultados quantitativos para os compostos nitrogenados separados nas frações neutras e básicas do GOP, utilizando-se as duas metodologias de extração (A e B).

Fração neutra ^{a)}			Fração básica ^{a)}		
Concentração em $\mu\text{g g}^{-1}$	A	B	Concentração em $\mu\text{g g}^{-1}$	A	B
indol	2,77	2,70	quinolinas		
alquil carbazóis			quinolina	0,340	0,430
C ₀	6,37	5,35	isoquinolina	<LD	<LD
C ₁	30,4	17,2	alquil-quinolinas	30,8	15,5
C ₂	79,9	51,9	Total de alquil-quinolinas	31,2	15,9
C ₃	191	52,6	benzoquinolinas		
C ₄	201	61,6	7,8-benzoquinolina	0,576	<LD
C ₅	185	124	5,6-benzoquinolina	0,663	0,034
C ₆₊	773	319	outras benzoquinolinas	0,788	<LD
Total de alquil carbazóis	1.467	632	Total de benzoquinolinas	2,03	0,034
alquil-benzocarbazóis					
C ₀	27,7	2,53	alquil-benzoquinolinas	21,6	1,18
C ₁	17,8	6,26	Total da fração básica	88,0	33,1
C ₂	58,9	42,1			
C ₃	243	59,2			
C ₄₊	446	157			
Total de alquil-benzocarbazóis	793	267			
Total da fração neutra	2.262	901	Total de compostos nitrogenados	2.350	934

^{a)} foram aplicados diferentes fatores de diluição (500 à 1500), dependendo da fração concentrada.

<LD – valor abaixo do limite de detecção

Os resultados quantitativos apresentados na **Tabela XII** confirmam a baixa recuperação de compostos nitrogenados neutros e básicos quando o método de extração B foi utilizado, apesar do indol e da quinolina apresentarem recuperações semelhantes para os dois métodos de extração (A e B). Entretanto, apenas a observação visual dos diagramas de cores permitiu identificar a presença de compostos básicos na fração neutra, e vice-versa (**Figura 22**). Por essa razão, para os extratos de RAT, foram realizados estudos quantitativos apenas para o método de extração A (**Tabela XIII**).

Tabela XIII. Resultados quantitativos para os compostos nitrogenados separados nas frações neutras e básicas do RAT, utilizando-se a metodologia de extração A.

Fração neutra ^{a)}		Fração básica ^{a)}	
Concentração em $\mu\text{g g}^{-1}$	A	Concentração em $\mu\text{g g}^{-1}$	A
indol	0,595	quinolinas	
alquil carbazóis		quinolina	0,205
C ₀	0,820	isoquinolina	0,260
C ₁	4,39	alquil-quinolinas	25,4
C ₂	18,6	Total de alquil-quinolinas	25,8
C ₃	52,0	benzoquinolinas	
C ₄	73,8	7,8-benzoquinolina	0,763
C ₅	310	5,6-benzoquinolina	0,899
C ₆₊	17,2	outras benzoquinolinas	1,38
Total de alquil carbazóis	476	Total de benzoquinolinas	3,04
alquil-benzocarbazóis			
C ₀	1,13	alquil-benzoquinolinas	12,8
C ₁	9,65	Total da fração básica	41,6
C ₂	20,0		
C ₃	77,7		
C ₄₊	116		
Total de alquil-benzocarbazóis	225		
Total da fração neutra	703	Total de compostos nitrogenados	745

^{a)} foram aplicados diferentes fatores de diluição (500 à 1500), dependendo da fração concentrada.

<LD – valor abaixo do limite de detecção

Com o método A, foram quantificados 2,35 mg de compostos nitrogenados neutros (96%) e básicos (4%) por grama de GOP. Da massa total extraída, aproximadamente 62% foi composta por alquil-carbazóis, e 34% por alquil-benzocarbazóis.

Da amostra de RAT, foram quantificados 0,745 mg de compostos nitrogenados neutros (94%) e básicos (6%) por grama de amostra, sendo que aproximadamente 63% da massa total extraída, foi composta por alquil-carbazóis, e 30 % por alquil-benzocarbazóis. Embora a massa de compostos nitrogenados extraídos tenha sido significativamente diferente para GOP e RAT, o percentual de compostos extraídos nas frações neutras e básicas para as duas amostras foi semelhante, assim como o percentual dos compostos majoritários encontrados.

Entretanto, realizando-se uma análise mais detalhada da composição dessas frações, são observadas diferenças significativas em termos percentuais. Para a amostra de GOP, a maior concentração de alquil-carbazóis foi encontrada na faixa de C₆₊ (53% dos alquil-carbazóis), enquanto que para o RAT, a maior concentração foi encontrada na faixa de C₅ (65% dos alquil-carbazóis). Nas frações básicas, para o GOP, 26% corresponderam à alquil-benzoquinolinas, enquanto para o RAT, esse percentual subiu para 31%. As alquil-quinolinas, apresentaram uma diferença em termos de percentual em massa na fração básica ainda maior: 35% no GOP e 62% no RAT.

Apesar dos resultados obtidos não representarem um estudo quantitativo completo, o detalhamento das informações analíticas obtidas é muito relevante em termos de estudo do processo petroquímico, pois além de ter sido observado o aumento da concentração de compostos nitrogenados do RAT para o GOP, a composição também foi alterada, o que permite um estudo físico-químico mais detalhado, centrado nas classes químicas específicas e no tamanho das cadeias. Além disso, processos de desnitrogenação podem ser aplicados em diferentes etapas do processamento, tendo-se como base a composição e a concentração dos compostos nitrogenados em cada fração, o que possibilita melhorar a relação custo-benefício desta etapa do processo. Esse nível de detalhamento qualitativo e quantitativo não foi obtido por outra metodologia analítica descrita na literatura até o momento.

4.1.2 Análise de compostos nitrogenados por GC×GC/TOFMS

No estudo semi-quantitativo das classes químicas de compostos nitrogenados presentes no GOP e no RAT por GC×GC-NPD não foi possível realizar uma especificação detalhada dos compostos presentes, mas uma aproximação bastante razoável quanto à identificação das classes químicas. Essa especificação mais detalhada foi realizada por GC×GC/TOFMS para muitos dos compostos presentes.

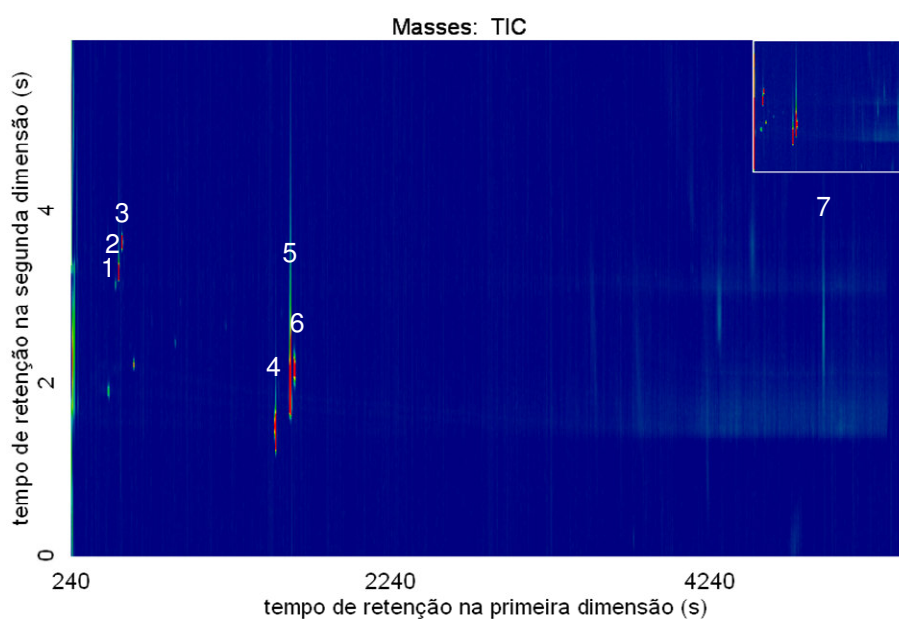
As condições cromatográficas empregadas para a análise de compostos nitrogenados presentes em GOP e RAT por GC×GC/TOFMS foram apresentadas na **Tabela VI (item 3.2.2 da Parte Experimental)**. Para este estudo, foi empregado o conjunto de colunas 7 da **Tabela V**, utilizando-se um tubo capilar de 0,5 m de comprimento e 100 µm de diâmetro interno para conectar a coluna da segunda

dimensão ao detector. Este tubo diminui os efeitos de vácuo na coluna da segunda dimensão, além de permitir a uniformidade da temperatura nessa coluna de dimensões reduzidas. A presença desse tubo e a utilização de hélio como gás de arraste alteraram a retenção dos compostos, uma vez que a eficiência da separação utilizando essa fase móvel é menor do que a obtida com hidrogênio como fase móvel para velocidades lineares maiores²²⁷, o que afeta especialmente a separação na segunda dimensão. A perda de eficiência resultante da utilização de He como gás de arraste é parcialmente compensada pelos efeitos do vácuo, entretanto, a utilização de um tubo de transferência entre a coluna da segunda dimensão e o MS contribui para a diminuição dos efeitos de vácuo. Por essas razões, o tempo de retenção na segunda dimensão sofreu pequenas alterações, e o período de modulação foi aumentado para 6 s, visando compensar esses efeitos. Apenas as frações obtidas pelo método de extração A foram analisadas nesse sistema.

Na **Tabela XIV** estão listados 6 compostos padrão identificados pelo software ChromaTof-GC, juntamente com os tempos de retenção na primeira e na segunda dimensões, os valores de similaridade (S) e probabilidade (P). O algoritmo de similaridade compara todos os picos do espectro de massas da amostra com a biblioteca. Se o valor de S for 1000, os espectros são iguais. O valor da probabilidade (P) é um número definido pelo algoritmo de busca da NIST que representa a probabilidade relativa do composto ter sido encontrado²²⁸. A **Figura 27** apresenta o diagrama de cores obtido para esta mistura. O pico do padrão 7-H-dibenzo[-c,g]-carbazol (pico 7) está visualmente aparente no diagrama de cores, embora o mesmo não tenha sido integrado, visto que o seu S/N é inferior a três. A classe de compostos dibenzocarbazóis não foi detectada nas amostras estudadas, nem mesmo visualmente através da seleção de íons característicos. O retângulo no canto superior dos diagramas é a visão geral do mesmo gerada pela versão 3.2 do software Chroma Tof.

Tabela XIV. Confirmação da identidade dos compostos padrão por GC×GC/TOFMS.

picos	¹ t _R (s)	² t _R (s)	nome	S	P	fórmula
1	516	3,14	quinolina	921	1756	C ₉ H ₇ N
2	540	3,27	isoquinolina	916	3925	C ₉ H ₇ N
3	558	3,65	indol	884	688	C ₈ H ₇ N
4	1518	1,55	7,8-benzoquinolina	925	2883	C ₁₃ H ₉ N
5	1608	1,93	5,6-benzoquinolina	919	2420	C ₁₃ H ₉ N
6	1638	2,19	carbazol	925	2042	C ₁₂ H ₉ N

**Figura 27.** Diagrama de cores obtido para a mistura de compostos padrão por GC×GC/TOFMS (números correspondentes na **Tabela XIV**).

4.1.2.1 Gasóleo Pesado – GOP

4.1.2.1.1 Fração neutra

A **Figura 28 A** apresenta um diagrama de íons total (TID, *total ion diagram*) de uma fração neutra de GOP, e as classes químicas de compostos nitrogenados agrupadas na parte **B** dessa figura.

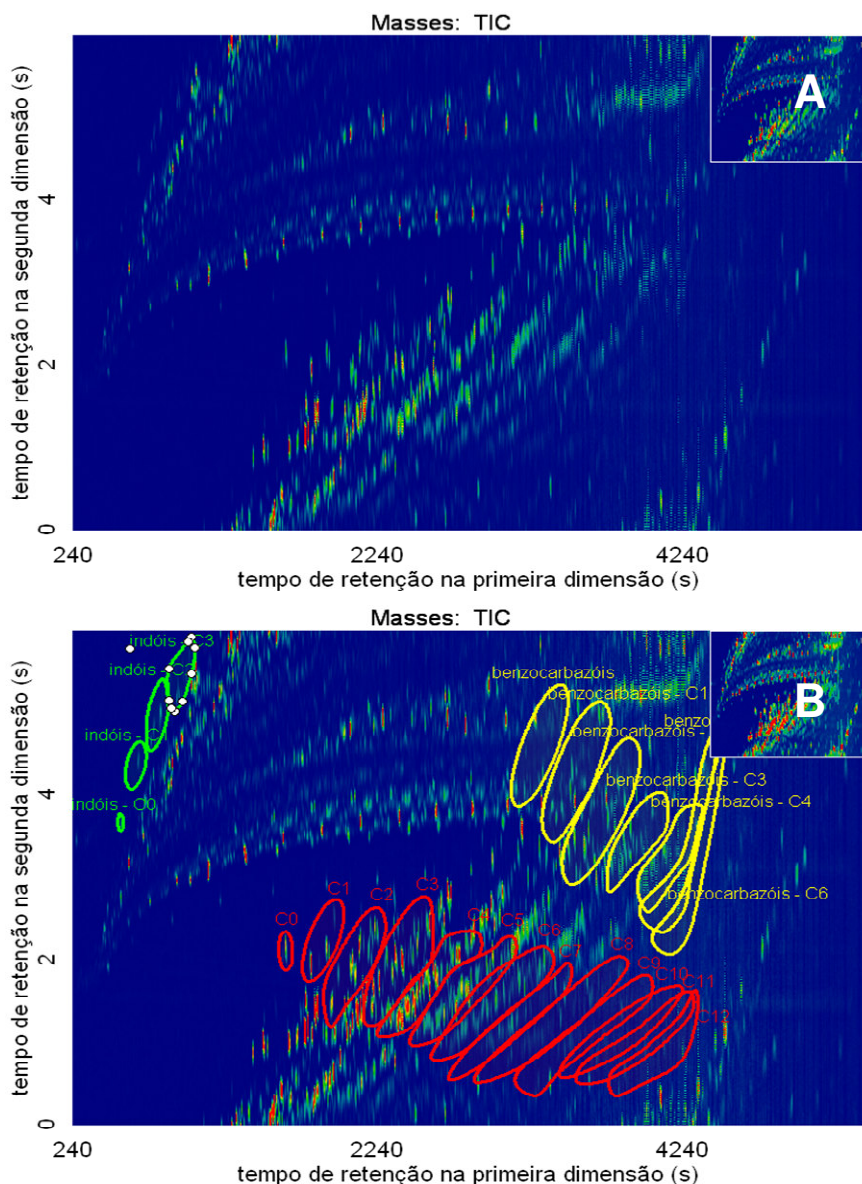


Figura 28. TID obtido para a fração neutra de GOP (A), indicando os alquil-indóis entre C₀ e C₃, alquil-carbazóis entre C₀ e C₁₂, e os alquil-benzocarbazóis entre C₀ e C₆ (B).

A complexidade elevada desse diagrama (**Figura 28**) fora das regiões selecionadas demonstrou que, apesar das etapas de fracionamento e extração de compostos nitrogenados, um número significativo de outros compostos também está presente nessa fração. A **Figura 29** apresenta os diagramas de íons selecionados obtidos para os alquil-indóis (A), alquil-carbazóis (B) e alquil-benzocarbazóis (C). Até mesmo nesses diagramas com íons característicos selecionados, inúmeros compostos não nitrogenados foram detectados. Os valores de m/z característicos das classes químicas esperadas nessa fração estão listados na **Tabela XV**.

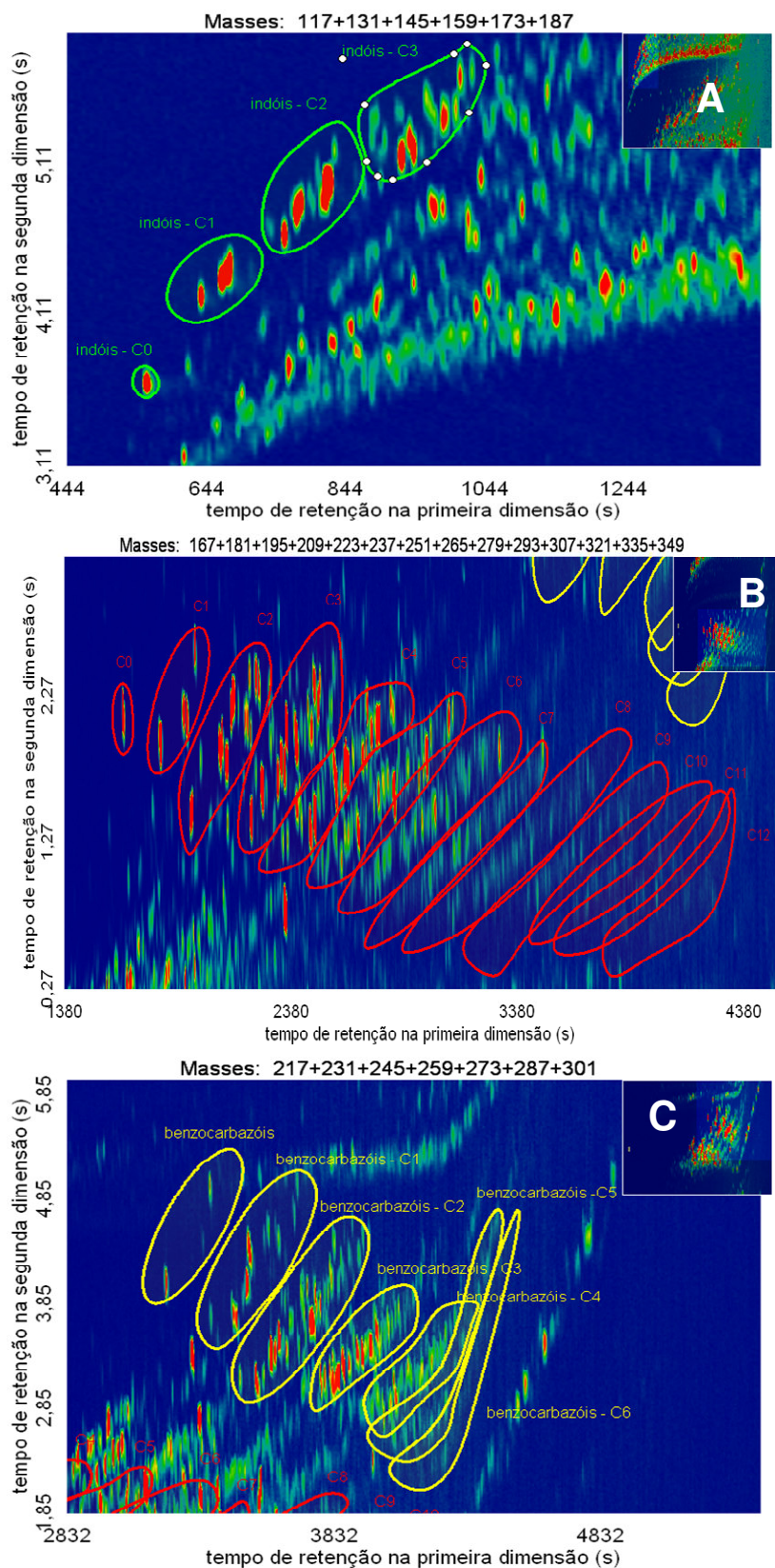


Figura 29. Diagrama de cores de íons selecionados obtidos para uma amostra da fração neutra de GOP. A – alquil-indóis; B – alquil-carbazóis, C – alquil-benzocarbazóis.

Tabela XV. Valores de m/z característicos selecionados para as classes de compostos nitrogenados presentes na fração neutra.

Composto	m/z	Composto	m/z	Composto	m/z
alquil-indóis		C ₂	195	C ₁₂	335
C ₀	117	C ₃	209	C ₁₃	349
C ₁	131	C ₄	223	alquil-benzocarbazóis	
C ₂	145	C ₅	237	C ₀	217
C ₃	159	C ₆	251	C ₁	231
C ₄	173	C ₇	265	C ₂	245
C ₅	187	C ₈	279	C ₃	259
alquil-carbazóis		C ₉	293	C ₄	273
C ₀	167	C ₁₀	307	C ₅	287
C ₁	181	C ₁₁	321	C ₆	301

A **Tabela XVI** apresenta os 50 picos tentativamente identificados como compostos nitrogenados nesta fração, com valores de similaridade relativos aos espectros de massas da biblioteca NISTMS superior a 800. Nesta Tabela foram apresentados os tempos de retenção na primeira e na segunda dimensões, valores de similaridade (S), reverso (R) e probabilidade (P). No modo reverso, os picos que forem diferentes do espectro da biblioteca não são considerados²²⁸. Esse valor pode ser utilizado para verificar possíveis co-eluições com outros compostos. A posição dos radicais alquila e dos anéis aromáticos não pode ser especificada corretamente nas classes identificadas, tendo por base apenas informações espectrais. Além desses picos, outros 156 picos foram listados como possíveis nitrogenados, em um total de 10.000 picos detectados.

Tabela XVI. Compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração neutra de GOP utilizando-se a comparação com espectros de massas da biblioteca NISTMS.

Nº	¹ t _R (s)	² t _R (s)	nome	S	R	P
1	558	3,67	indol*	869	869	5349
2	636	4,25	metilindol	905	910	2188
3	666	4,36	metilindol	935	940	4968
4	678	4,46	metilindol	913	913	3656
5	756	4,66	dimetilindol	894	894	1333
6	780	4,88	dimetilindol	939	939	4251
7	810	4,89	dimetilindol	888	888	1053
8	816	5,02	dimetilindol	911	911	2221
9	924	5,18	trimetilindol	905	905	3470
10	942	5,21	trimetilindol	884	906	5876
11	984	5,42	trimetilindol	917	917	4221
12	1638	2,19	carbazol*	924	924	2203
13	1806	1,97	metilcarbazol	937	941	3710
14	1908	2,17	metilcarbazol	930	935	3327
15	1920	2,15	metilcarbazol	931	935	3080
16	1938	1,48	dimetilcarbazol	932	939	2269
17	1956	2,64	metilcarbazol	929	934	3701
18	1980	1,84	etilcarbazol	915	932	6839
19	2070	1,89	dimetilcarbazol	938	941	2523
20	2076	2,00	dimetilcarbazol	939	937	2311
21	2100	1,84	dimetilcarbazol	935	942	1966
22	2118	2,2	dimetilcarbazol	945	945	2489
23	2130	2,68	etilcarbazol	840	856	4187
24	2148	2,20	etilcarbazol	916	939	8784
25	2178	2,12	dimetilcarbazol	919	922	2854
26	2196	2,42	dimetilcarbazol	943	949	2511
27	2202	2,02	dimetilcarbazol	931	937	1749
28	2226	1,74	trimetilcarbazol	823	823	6129
29	2226	2,42	dimetilcarbazol	946	946	2829
30	2238	2,39	dimetilcarbazol	937	943	2692
31	2256	1,56	trimetilcarbazol	910	928	1997
32	2286	2,32	dimetilcarbazol	910	914	2958
33	2292	1,95	trimetilcarbazol	856	867	4233
34	2316	1,95	dihidro- dimetilbenzoquinolina	826	826	5273
35	2322	1,71	trimetilcarbazol	923	932	1959
36	2340	1,85	trimetilcarbazol	915	915	1937
37	2352	1,82	trimetilcarbazol	923	933	1865
38	2358	2,10	trimetilcarbazol	926	935	1976
39	2400	2,03	trimetilcarbazol	921	927	2296
40	2442	2,00	trimetilcarbazol	866	891	3477
41	2466	2,37	dihidro- dimetilbenzoquinolina	848	866	7605
42	2484	2,35	trimetilcarbazol	921	934	4010
43	2508	2,39	trimetilcarbazol	922	926	2393
44	2748	1,83	pentametilcarbazol	805	805	7099

45	2844	0,18	octadecenamida	842	842	4757
46	2928	3,49	dimetilfenilindol	819	819	4450
47	3204	4,07	benzocarbazol	881	937	6267
48	3366	4,99	benzocarbazol	852	895	3059
49	3516	4,39	difenilpiridina	823	935	6979
50	3894	5,68	butilmetilfenilimidazolidinona	899	962	5973

* identidade confirmada com padrões analíticos

Nas regiões das telhas encontradas para os alquil-carbazóis no sistema GC×GC-NPD, foram detectados vários compostos não-nitrogenados por GC×GC/TOFMS. Inicialmente, a identificação tentativa foi realizada com base na biblioteca NISTMS, conforme apresentado na **Tabela XVI**. Entretanto, vários dos compostos observados na distribuição ordenada do espaço de separação não estão disponíveis na biblioteca, tais como os alquil-carbazóis com mais de 5 carbonos alquílicos, ou todos os alquil-benzocarbazóis. Para os alquil-carbazóis C5, existe apenas um composto na biblioteca, o pentametilcarbazol. Para os benzocarbazóis existem 4 espectros disponíveis, mas não existem espectros para os alquil-derivados. Por esse motivo, os compostos ausentes na biblioteca foram agrupados de acordo com o espectro de massas característico da classe química, e com a estruturação observada nos diagramas de contorno para os íons selecionados (**Tabela XV**). Os espectros de massas foram caracterizados pela presença do íon molecular como pico base, e de fragmentos menores representativos da perda de grupamentos alquila, tais como a subtração de 15 Da do íon molecular. Os espectros de massas obtidos para esses picos estão agrupados no **Anexo 1**. Dentre o total de compostos nitrogenados detectados, apenas 50 foram tentativamente identificados com base na biblioteca de espectros de massas, enquanto 81 compostos foram agrupados com base na fragmentação característica e estruturação dos diagramas. Entretanto, essa identificação deveria ser confirmada com padrões analíticos já que existem vários compostos aromáticos nesse tipo de amostra que apresentam esse tipo de fragmentação característica. Como exemplo, o pico 49 da **Tabela XVI** foi tentativamente identificado com base na biblioteca como fenil-piridina. Contudo, o espectro de massas também foi classificado como metil-benzocarbazol (pico 43 da **Tabela XVII**). Essa dualidade de identificação somente poderia ser confirmada com a co-injeção de padrões analíticos.

As identificações tentativas apresentadas estão em acordo com os resultados obtidos por GC×GC-NPD para as regiões estruturadas encontradas. Além disso, o

efeito telhado também foi observado na região dos alquil-indóis (diagrama A, **Figura 29**). Vários compostos que foram extraídos na fração básica também foram encontrados na fração neutra, tais como alquil-benzoquinolinas e piridinas, o que ilustra a necessidade do desenvolvimento de novas metodologias de extração.

Essas ferramentas de identificação por espectros de massas característicos e estruturação das classes químicas presentes não poderiam ser utilizadas no caso de 1D-GC, uma vez que essas regiões de picos formam misturas complexas não resolvidas, conforme discutido por Oliveira¹. Estudos realizados com a mesma amostra¹, utilizando-se o mesmo método de extração, porém análise cromatográfica por 1D-GC/qMS com cromatogramas de íons selecionados, indicam a presença de picos de alquil-carbazóis de C₁ à C₅, e alquil-benzocarbazóis de C₂ à C₅. Não foi possível obter espectros de massas desses picos por esse método. No presente estudo realizado por GC×GC/TOFMS, foram tentativamente identificados alquil-carbazóis entre C₀ e C₆, alquil-benzocarbazóis entre C₀ e C₃, e alquil-indóis de C₀ à C₃, além da observação da presença de possíveis alquil-carbazóis até C₁₂ e alquil-benzocarbazóis até C₆, e identificação tentativa de 130 compostos com espectros de massas com S e R superiores a 800, e P superior a 1000.

Tabela XVII. Tempos de retenção dos compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração neutra de GOP com base na estruturação dos diagramas e nos espectros de massas típicos.

carbazóis			benzocarbazóis		
Nº	¹ t _R (s)	² t _R (s)	Nº	¹ t _R (s)	² t _R (s)
	C4			C1	
1	2364	1,280	39	3372	3,73
2	2412	1,67	40	3450	3,86
3	2466	1,40	41	3468	3,710
4	2580	1,66	42	3504	4,07
5	2604	1,70	43	3516	4,39
6	2634	1,76	44	3588	4,55
7	2658	1,86	45	3624	4,51
8	2712	1,96	46	3696	4,97
9	2718	2,22		C2	
10	2760	2,09	47	3480	3,16
11	2772	2,09	48	3540	3,17
12	2832	2,17	49	3612	3,40
	C5		50	3654	3,43
13	2580	1,30	51	3666	3,7
14	2604	1,12	52	3702	3,43
15	2676	1,37	53	3708	4,00
16	2808	1,72	54	3732	4,02
17	2982	1,86	55	3762	3,94
18	3084	2,15	56	3822	4,10
	C6		57	3834	4,44
19	2730	0,98	58	3858	4,29
20	2766	1,11	59	3924	4,33
21	2772	0,99		C3	
22	2808	1,22	60	3798	3,17
23	2886	1,53	61	3852	3,19
24	2898	1,19	62	3864	3,34
25	2928	1,37	63	3906	3,54
26	2958	1,37	64	3936	3,41
27	3006	1,48	65	4008	3,52
28	3012	1,54	66	4020	3,58
29	3132	1,80	67	4028	3,61
30	3150	1,65	68	4074	3,84
31	3228	1,84		C4	
32	3300	1,92	69	3972	2,88
	C7		70	4020	2,80
33	2994	1,00	71	4044	2,93
34	3008	1,19	72	4062	2,96
35	3216	1,39	73	4086	2,16
	C8		74	4104	3,17
36	3360	1,20	75	4158	3,20
37	3396	1,35	76	4182	3,15
38	3450	1,34	77	4200	3,32
			78	4236	3,36
			79	4248	3,46
			80	4284	3,73
				C5	
			81	4248	2,96

4.1.2.1.2 Fração básica

Um diagrama de cores TID obtido para a fração nitrogenada básica de GOP está ilustrado na **Figura 30** (A), e abaixo estão assinaladas as classes estruturadas identificadas (B). De forma semelhante à fração neutra, não foi possível realizar a classificação diretamente neste diagrama, devido à presença de vários compostos não nitrogenados em concentrações elevadas na mesma região dos compostos nitrogenados, o que dificulta a visualização dos compostos nitrogenados presentes em concentrações mais baixas. Um maior detalhamento do efeito telhado pode ser observado nos diagramas de cores de íons selecionados apresentados na **Figura 31**, onde os íons característicos de alquil-quinolinas (A), indeno-piridinas (B), alquil-benzoquinolinas (B), e alquil-dibenzoquinolinas (C) foram selecionados.

Os íons selecionados foram os picos base de cada estrutura, que também são os íons moleculares, devido a grande estabilidade dessas moléculas. Os íons característicos de compostos nitrogenados presentes nessa fração, para cada classe química, estão listados na **Tabela XVIII**.

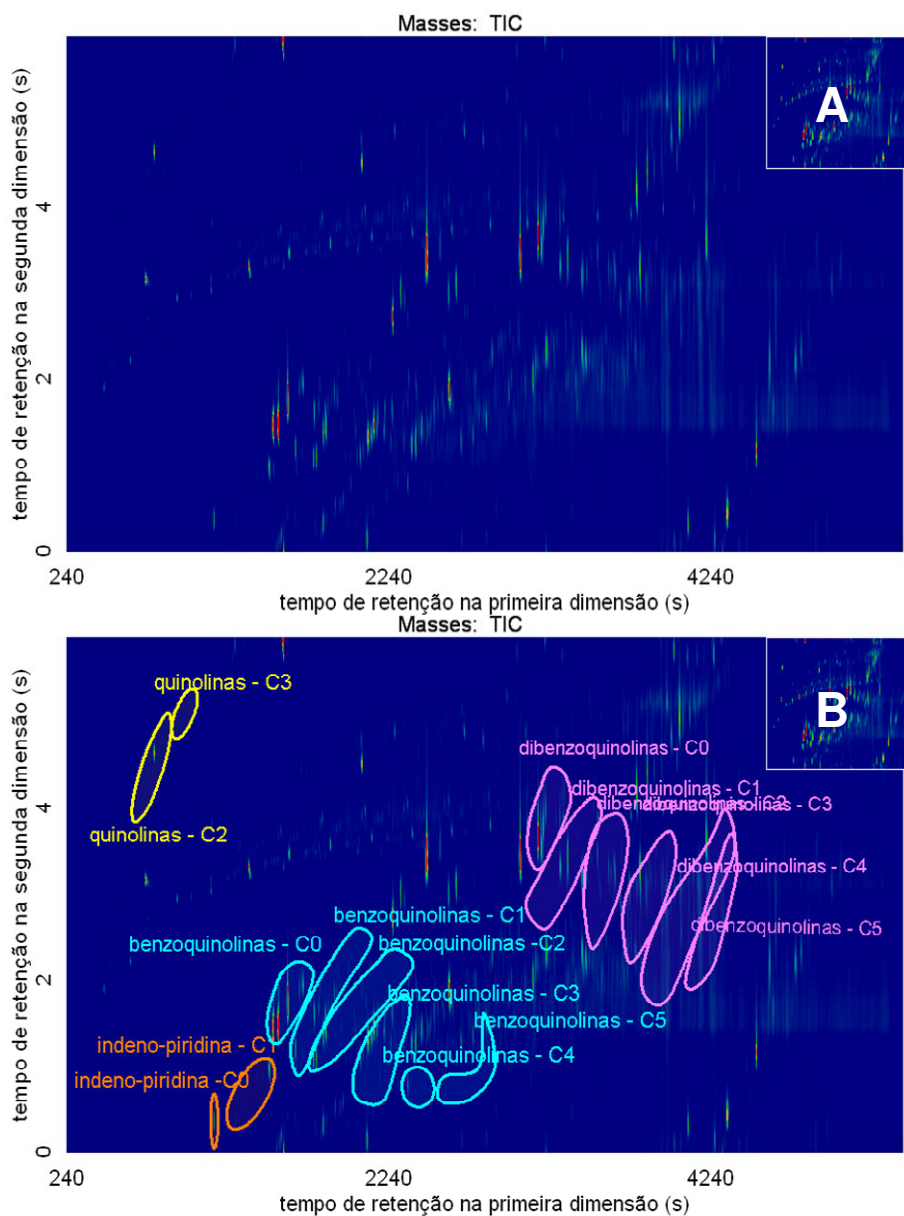


Figura 30. (A) TID obtido para a fração básica de GOP, (B) TID idêntico ao mostrado em (A), mas com identificação das classes estruturadas no espaço bidimensional: alquil-quinolinas C₂ e C₃ (em amarelo), alquil-indeno-piridinas C₀ e C₁ (em laranja), alquil-benzoquinolinas de C₀ à C₅, (em azul) e alquil-dibenzoquinolinas de C₀ à C₅ (em rosa).

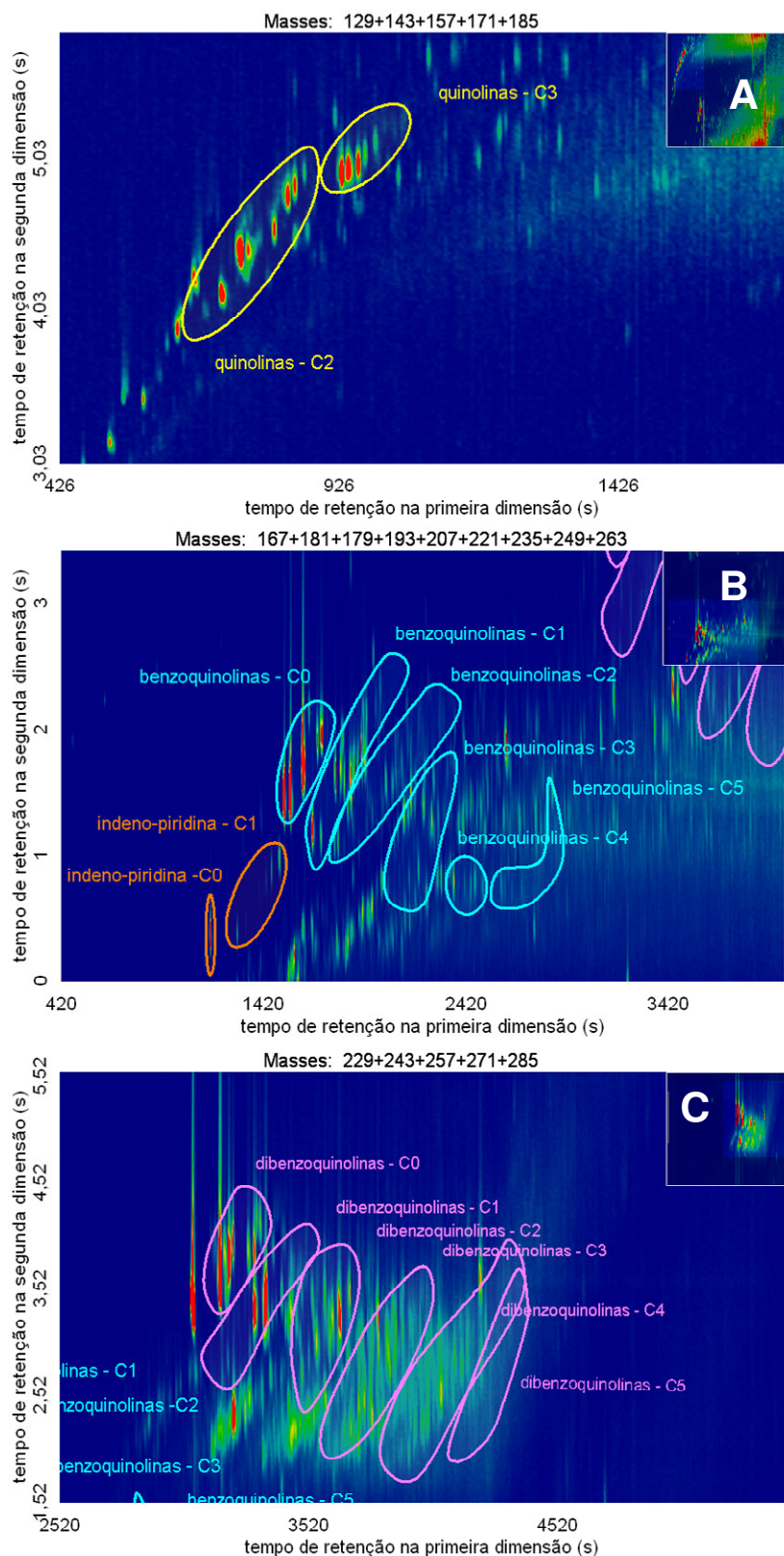


Figura 31. Diagrama de cores de íons selecionados obtido para a fração básica de GOP, com identificação das classes estruturadas alquil-quinolinas (A), indeno piridinas (B), alquil-benzoquinolinas (B), e alquil-dibenzoquinolinas (C).

Tabela XVIII. Valores de m/z característicos selecionados para as classes de compostos nitrogenados presentes na fração básica.

Composto	m/z	Composto	m/z	Composto	m/z
alquil-quinolinas		alquil-indeno-piridinas		C ₅	249
C ₀	129	C ₀	167	C ₆	263
C ₁	143	C ₁	181	alquil-dibenzoquinolinas	
C ₂	157	alquil-benzoquinolinas		C ₀	229
C ₃	171	C ₀	179	C ₁	243
C ₄	185	C ₁	193	C ₂	257
C ₅	199	C ₂	207	C ₃	271
C ₆	213	C ₃	221	C ₄	285
		C ₄	235	C ₅	299

Os íons característicos das alquil-dibenzoquinolinas apresentados no diagrama C da **Figura 31** estão também presentes em hidrocarbonetos poliaromáticos (PAH, polyaromatic hydrocarbon) estruturados na região ligeiramente abaixo das alquil-dibenzoquinolinas. Por essa razão, não é possível detectar ou quantificar esses compostos utilizando-se esses íons por 1D-GC. Os espectros de massas das alquil-dibenzoquinolinas são relativamente pobres, no que diz respeito a íons característicos da classe, o que impossibilitou a substituição destes íons por outros característicos apenas destes compostos.

Dos 2256 picos detectados com S/N superior a três, apenas os compostos tentativamente identificados como nitrogenados com valores de similaridade superiores a 800, e que apresentaram uma localização no espaço bidimensional coerente com a estruturação observada para as diferentes classes químicas, estão listados na **Tabela XIX**. Apesar da diferença de tempo de retenção com relação à mistura de padrões, provavelmente devido à grande complexidade da matriz, o pico sete pode ser identificado como 7,8-benzoquinolina, e o pico 12 como 5,6-benzoquinolina (diferença de t_R de 90 s para os dois compostos). Além disso,

compostos, cuja presença era esperada apenas na fração neutra, foram também extraídos na fração básica, tais como o carbazol e seus alquil-derivados, e benzocarbazóis. A percepção de estruturação dos picos cromatográficos das indeno-piridinas C_0 e C_1 foi possível nestes diagramas, embora não tenha sido observada por GC×GC-NPD. As posições dos grupamentos alquila e também dos anéis aromáticos não puderam ser especificados para os compostos identificados tendo por base apenas informações espectrais.

A identificação tentativa de 90 compostos nitrogenados com valores de similaridade acima de 800 não pode ser considerada definitiva, devido à ausência de vários destes compostos (dentre eles, um grande número de isômeros posicionais) nas bibliotecas comerciais de espectros de massas. Situação semelhante foi observada para os compostos nitrogenados presentes na fração neutra. Como exemplo, na biblioteca NIST existem apenas 4 compostos com fórmula estrutural $C_{20}H_{17}N$, dos quais nenhum é alquil-dibenzoquinolina C_3 , enquanto que para a fórmula estrutural $C_{21}H_{19}N$, existem 4 compostos na biblioteca, sendo que dois deles são dietil-benzoquinolinas, e os demais, uma benzonitrila e um pirrol. Apesar de existirem essas dietil-benzoquinolinas na biblioteca, a diferença encontrada entre os espectros de massas de referência obtidos com outros detectores de massas (quadropolo) e o espectro obtido experimentalmente por TOFMS foi significativa para que o pico não fosse identificado como pertencente a essa classe de compostos. A **Figura 32** apresenta o espectro de massas obtido experimentalmente com TOFMS, e o espectro de uma dietil-dibenzoquinolina presente na biblioteca. Nesses casos, a estruturação apresentada no diagrama de cores quando os íons característicos foram selecionados foi a informação analítica que permitiu a identificação tentativa de vários compostos, mesmo sem a confirmação pela biblioteca de espectros de massa. Os compostos tentativamente identificados dessa maneira estão listados na **Tabela XX**, e os espectros de massas obtidos para os mesmos estão agrupados no **Anexo 2**. Entretanto, essa identificação deve ser futuramente confirmada com padrões analíticos, já que existem vários compostos aromáticos nesse tipo de amostra, os quais também apresentam esse tipo de fragmentação característica, além dos espectros de massas apresentarem poucas informações sobre a fragmentação da estrutura básica das moléculas.

Tabela XIX. Compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração básica do GOP.

Nº	¹ t _R (s)	² t _R (s)	nome	S	R	P
1	750	4,42	dimetilquinolina	902	921	7344
2	930	4,94	trimetilquinolina	902	902	6874
3	942	4,97	trimetilquinolina	892	892	5002
4	1158	0,39	indenopiridina	918	918	7181
5	1290	0,39	metilindenopiridina	840	848	5340
6	1458	0,89	metilindenopiridina	839	870	6187
7	1524	1,47	7,8-benzoquinolina*	961	965	7648
8	1554	1,49	benzoquinolina	964	969	6501
9	1560	1,91	fenantrolina	849	886	6690
10	1584	0,78	dimetilcarbazol	838	849	1974
11	1614	1,78	5,6-benzoquinolina*	933	939	4199
12	1644	2,17	carbazol*	899	919	4127
13	1662	1,22	metilbenzoquinolina	878	886	6300
14	1686	1,92	benzoquinolina	909	910	3734
15	1704	1,15	metilbenzoquinolina	895	904	6284
16	1710	1,96	benzoquinolina	901	903	5164
17	1734	1,99	benzoisoquinolina	862	880	2300
18	1776	1,64	metilbenzoquinolina	851	858	4816
19	1800	1,70	metilbenzoquinolina	863	873	6722
20	1818	1,60	metilbenzoquinolina	871	880	6461
21	1848	3,32	indenopiridinona	805	817	9014
22	1866	1,68	metilbenzoquinolina	914	924	7524
23	1872	1,83	metilbenzoquinolina	829	850	5354
24	1884	1,75	metilbenzoquinolina	800	800	6363
25	1902	1,87	metilbenzoquinolina	876	884	5173
26	1914	2,17	metilcarbazol	854	871	2848
27	1920	1,75	metilbenzoquinolina	869	879	5945
28	1926	1,25	dimetilbenzoquinolina	827	840	5812
29	1926	2,14	metilcarbazol	861	884	3111
30	1944	1,45	dimetilcarbazol	904	922	2071
31	1956	1,32	dimetilbenzoquinolina	832	834	5306
32	1962	2,59	metilcarbazol	913	914	4593
33	1974	2,19	metilbenzoquinolina	824	828	3439
34	1986	1,84	etilcarbazol	811	861	4406
35	1998	2,30	metilbenzoquinolina	813	813	3942
36	2010	1,44	dimetilbenzoquinolina	810	835	6416
37	2022	1,61	dimetilbenzoquinolina	887	887	7730
38	2058	1,59	dimetilbenzoquinolina	849	859	7282
39	2058	2,08	fenilisoquinolina	877	896	4965
40	2070	1,94	dimetilcarbazol	903	915	2385
41	2082	1,95	dimetilcarbazol	896	913	2067
42	2094	2,02	fenilisoquinolina	806	825	2237
43	2100	1,79	dimetilcarbazol	903	925	1785
44	2130	1,89	metilfenilindol	834	844	6609
45	2130	2,22	dimetilcarbazol	917	929	1709
46	2142	2,34	fenilisoquinolina	820	878	2089
47	2154	2,20	etilcarbazol	826	872	6947

48	2184	0,89	trimetilbenzoquinolina	819	820	3701
49	2202	2,38	dimetilcarbazol	877	885	1743
50	2208	2,01	dimetilcarbazol	824	858	1449
51	2208	2,49	fenilisoquinolina	802	835	4348
52	2214	1,39	trimetilcarbazol	877	886	2606
53	2232	2,36	dimetilcarbazol	914	919	2592
54	2244	2,35	dimetilcarbazol	917	925	1874
55	2250	1,29	trimetilbenzoquinolina	811	811	3891
56	2262	1,58	trimetilcarbazol	856	864	1922
57	2262	2,75	indenoisoquinolina	923	923	3653
58	2328	1,68	trimetilcarbazol	878	900	1548
59	2340	1,85	trimetilcarbazol	883	889	2051
60	2340	2,93	indenoisoquinolina	906	906	3565
61	2358	1,75	trimetilcarbazol	892	904	1729
62	2406	1,96	trimetilcarbazol	857	864	1935
63	2424	3,15	fenilisoquinolina	801	882	8481
64	2460	3,21	indenoisoquinolina	859	890	4929
65	2466	2,11	trimetilcarbazol	860	870	2210
66	2466	2,17	trimetilcarbazol	800	848	2011
67	2466	3,37	dibenzoquinolina	929	929	6739
68	2472	3,49	dibenzoquinolina	900	900	3244
69	2478	2,01	trimetilcarbazol	869	885	2265
70	2490	2,34	trimetilcarbazol	882	905	3671
71	2508	2,14	trimetilcarbazol	818	840	1645
72	2514	2,34	trimetilcarbazol	858	874	1710
73	2556	3,53	dibenzoquinolina	864	864	3366
74	2646	2,93	benzocarbazol	823	846	3648
75	2658	3,10	benzocarbazol	878	884	4536
76	2670	3,29	benzocarbazol	821	841	4253
77	2718	3,07	benzocarbazol	839	846	5217
78	2772	3,16	benzocarbazol	830	898	2916
79	2796	3,44	benzocarbazol	843	854	4482
80	2814	3,25	indenoquinolina	831	880	3798
81	2868	3,42	benzocarbazol	819	849	4056
82	3054	3,49	dibenzoquinolina	862	883	7802
83	3162	3,68	dibenzoquinolina	915	936	9797
84	3180	3,9	dibenzoquinolina	818	851	9230
85	3198	3,79	dibenzoquinolina	874	895	7796
86	3276	3,91	dibenzoquinolina	867	899	9704
87	3300	3,9	dibenzoquinolina	883	906	9666
88	3312	4,21	dibenzoquinolina	840	886	9611
89	3630	3,51	dimetilindenoquinolina	803	822	8223
90	4602	2,25	tribenzoquinolina	911	937	5976

* identidade confirmada através de injeção de padrões analíticos, nas mesmas condições de análise.

No presente estudo, 118 compostos nitrogenados foram identificados tentativamente, os quais estão incluídos nas classes de alquil-quinolinas de C₂ e C₃, alquil-indeno-piridinas de C₀ e C₁, alquil-benzoquinolinas de C₀ à C₅, e alquil-dibenzoquinolinas de C₀ à C₅. No estudo realizado por Oliveira¹ para a mesma amostra, empregando o mesmo método de fracionamento, porém com as análises

dos extratos realizadas por 1D-GC/qMS, foram detectados picos contendo íons característicos de alquil-quinolinas C_7 e C_8 , alquil-benzoquinolinas C_4 , C_6 e C_7 , além de alquil-tetrahydrodibenzoquinolinas C_0 e C_1 . De acordo com a estruturação observada nos diagramas de cores obtidos neste trabalho, as regiões sugeridas no cromatograma 1D para os picos desses compostos não seriam as regiões prováveis para a presença dos mesmos, tomando-se por base as informações contidas na referência citada¹.

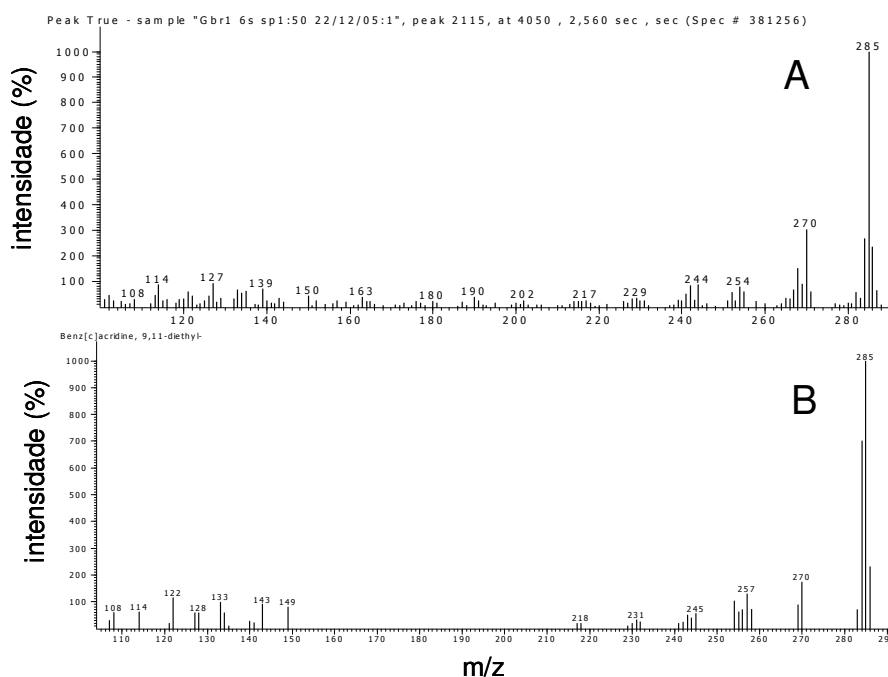


Figura 32. Espectros de massas experimental (A) e obtido da biblioteca NIST para uma dietil-dibenzoquinolina (B).

Quando os mesmos íons característicos das três classes foram selecionados no diagrama de cores, a presença destas classes foi observada em outras regiões do espaço bidimensional, que não aquelas originalmente apontadas pela análise por 1D-GC¹. Este fato sugere que a análise feita por 1D-GC detectou outras classes de compostos com os mesmos íons característicos. Esses resultados indicam a impossibilidade de separar e identificar esses compostos utilizando-se apenas informações de 1D-GC, para o fracionamento adotado.

Tabela XX. Compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração básica de GOP com base na estruturação dos diagramas e nos espectros de massas característicos de benzoquinolinas e dibenzoquinolinas.

benzoquinolinas			dibenzoquinolinas		
Nº	¹ t _R (s)	² t _R (s)	Nº	¹ t _R (s)	² t _R (s)
	C3			C1	
1	2136	0,84	9	3198	2,83
2	2160	1,40	10	3342	3,51
	C4		11	3390	3,33
3	2382	0,77	12	3408	3,50
4	2412	0,77		C2	
5	2460	0,82	13	3492	2,73
	C5		14	3522	2,89
6	2598	0,72	15	3588	3,40
7	2694	0,77	16	3636	2,99
8	2862	1,19	17	3642	3,33
			18	3684	3,49
				C3	
			19	3744	2,48
			20	3870	3,22
			21	3900	3,13
			22	3966	3,22
				C4	
			23	3848	2,28
			24	4050	2,56
			25	4104	2,89
			26	4140	2,83
			27	4230	3,17

4.1.2.2 Resíduo da destilação à pressão atmosférica – RAT

4.1.2.2.1 Fração neutra

Para a fração neutra de RAT, o TID e a seleção das classes estruturadas no espaço de separação estão apresentados na **Figura 33**. De forma semelhante ao observado para o GOP, vários compostos não nitrogenados também estão presentes nessa fração. Na **Figura 34** estão apresentados os efeitos telhado nos diagramas de íons selecionados para as classes químicas dos alquil-indóis (A), alquil-carbazóis (B) e alquil-benzocarbazóis (C). Foram detectados 14.124 picos com S/N superior a 3, dos quais 89 compostos foram tentativamente identificados, utilizando-se comparações com espectros de massas da biblioteca NIST, que

resultaram em similaridade superior a 800. Os compostos identificados desta maneira estão detalhados na **Tabela XXI**. Os compostos assinalados com a letra “a” foram também tentativamente identificados na fração neutra de GOP.

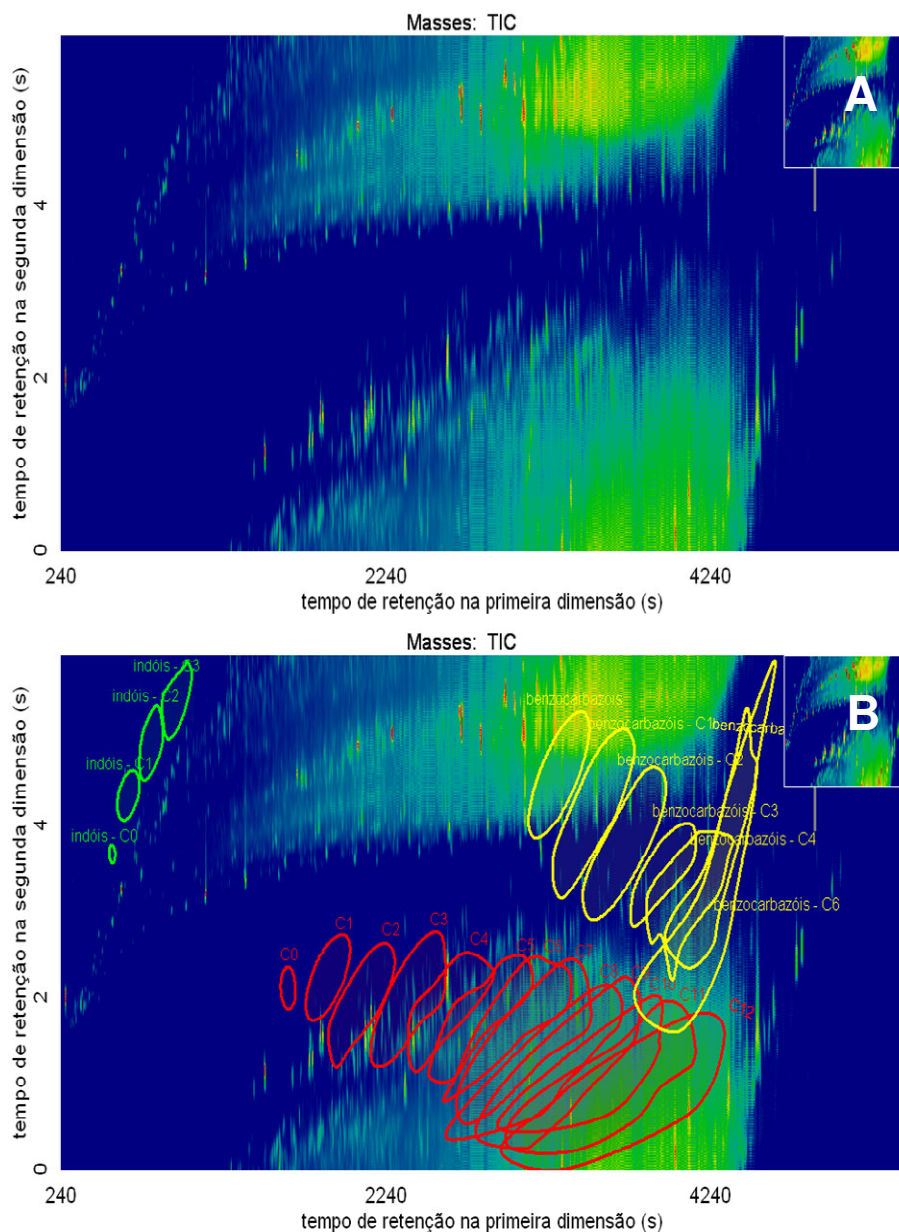


Figura 33. (A) TID obtido para a fração neutra de RAT, (B) TID idêntico ao mostrado em (A), mas com identificação das classes estruturadas no espaço bidimensional: alquil-indóis entre C₀ e C₃, alquil-carbazóis entre C₀ e C₁₂, e alquil-benzocarbazóis entre C₀ e C₆.

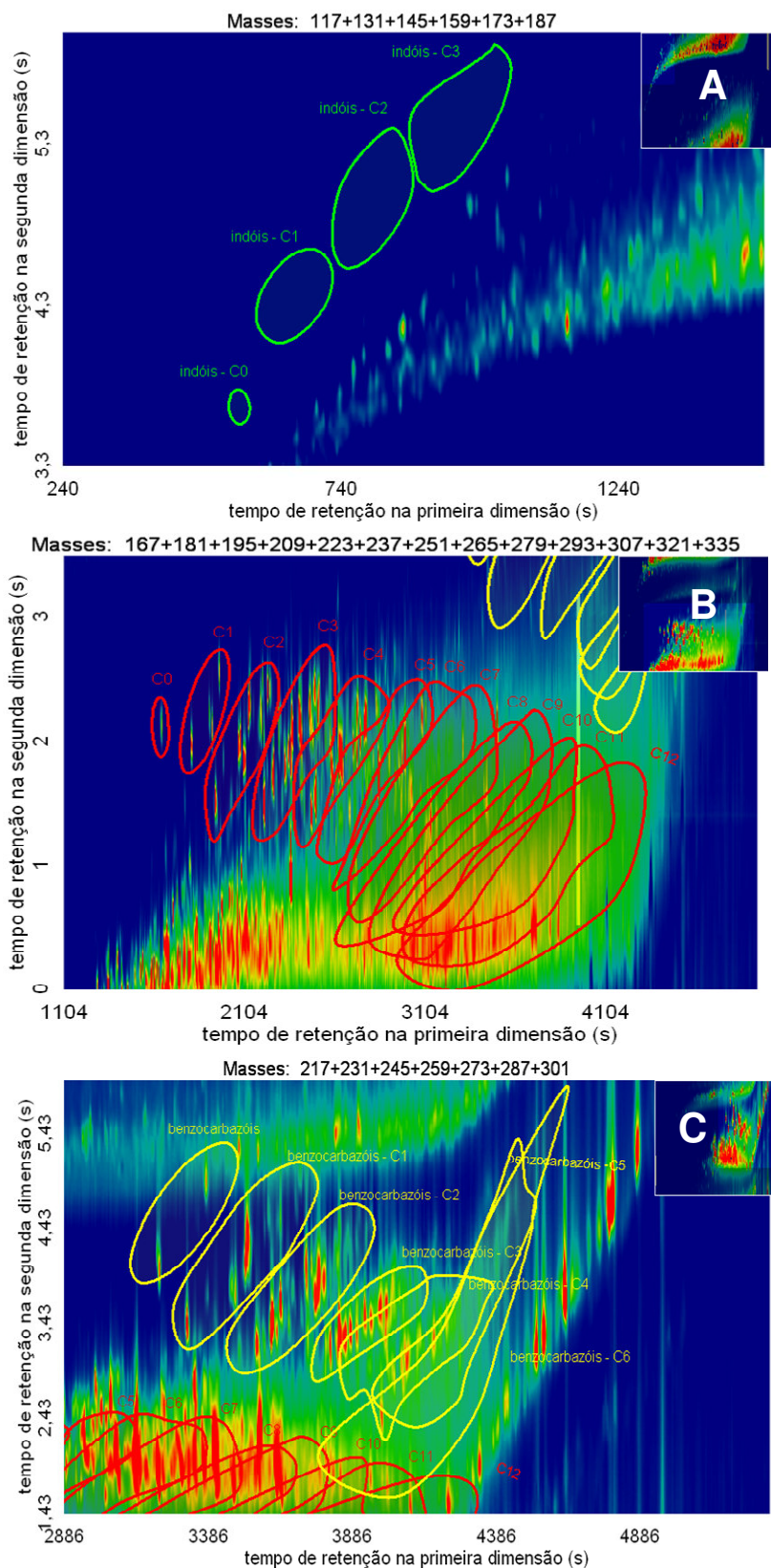


Figura 34. Diagramas de cores de íons selecionados obtidos para uma amostra da fração neutra de RAT: A – alquil-indóis; B – alquil-carbazóis, C – alquil-benzocarbazóis.

Tabela XXI. Compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração neutra do RAT.

Nº	¹ t _R (s)	² t _R (s)	nome		S	R	P
1	348	2,15	benzonitrila		944	953	5235
2	426	2,80	formilmorfolina		955	970	9840
3	462	3,01	acetilmorfolina		955	955	9761
4	924	5,24	trimetilindol		864	914	6991
5	1644	2,12	carbazol*		930	935	5007
6	1806	1,99	metilcarbazol	a	909	932	3215
7	1908	2,24	metilcarbazol	a	917	919	3501
8	1926	2,11	metilcarbazol	a	923	924	3794
9	1962	2,56	metilcarbazol	a	917	917	3806
10	1986	1,85	etilcarbazol	a	907	945	6489
11	1986	1,87	etilcarbazol	a	907	939	6815
12	1986	2,18	bifenil-dicarbonitrila		886	893	5866
13	2070	1,96	dimetilcarbazol	a	942	950	2490
14	2082	2,01	dimetilcarbazol	a	951	963	1988
15	2100	1,84	dimetilcarbazol	a	956	956	1738
16	2106	1,88	dimetilcarbazol		954	961	2445
17	2124	2,25	dimetilcarbazol	a	911	918	2417
18	2130	2,29	dimetilcarbazol		894	906	1974
19	2130	2,41	dimetilcarbazol		918	925	1878
20	2136	2,67	etilcarbazol	a	850	903	7267
21	2154	2,22	etilcarbazol	a	872	907	7205
22	2154	2,25	etilcarbazol		850	906	6491
23	2184	2,16	dimetilcarbazol	a	918	918	2940
24	2190	2,19	dimetilcarbazol		950	950	1523
25	2190	2,22	dimetilcarbazol		925	925	1876
26	2190	2,28	dimetilcarbazol		917	921	3005
27	2196	2,08	dimetilcarbazol		940	940	2398
28	2202	2,50	dimetilcarbazol	a	953	959	2249
29	2208	1,42	trimetilcarbazol		900	900	2007
30	2208	1,46	trimetilcarbazol		927	927	2386
31	2208	2,06	dimetilcarbazol	a	947	953	3495
32	2232	2,40	dimetilcarbazol	a	954	954	2724
33	2232	2,44	dimetilcarbazol	a	956	956	2480
34	2244	1,15	etil-metoxipiridoindol		818	820	6927
35	2244	2,41	dimetilcarbazol		952	958	2694
36	2262	1,67	trimetilcarbazol	a	952	952	2706
37	2262	1,81	trimetilcarbazol		952	952	2503
38	2286	2,26	trimetilcarbazol		881	887	5128
39	2292	1,99	dihidro-dimetilbenzocarbazol		829	831	2986
40	2292	2,05	trimetilcarbazol	a	854	864	4791
41	2292	2,31	dimetilcarbazol	a	925	925	2830
42	2292	2,35	dimetilcarbazol		946	949	2608
43	2322	1,80	fenil-metilpirrolo-pirazina		805	805	2323
44	2322	1,98	dihidro-dimetilbenzocarbazol	a	892	892	8155
45	2334	2,83	dimetilcarbazol		924	924	3049
46	2340	1,91	trimetilcarbazol		938	938	2546
47	2346	1,95	trimetilcarbazol	a	949	949	2524
48	2358	1,66	etil-metoxipiridoindol		810	810	7452

49	2358	1,81	trimetilcarbazol	a	955	955	2280
50	2358	1,91	trimetilcarbazol		946	951	2607
51	2364	2,24	trimetilcarbazol	a	961	961	2394
52	2370	1,52	etil-metoxipiridoindol		831	831	7880
53	2370	2,16	trimetilcarbazol		935	935	2077
54	2406	2,13	trimetilcarbazol	a	948	948	2192
55	2406	2,31	trimetilcarbazol		936	936	2211
56	2412	2,46	dihidro-dimetilbenzocarbazol		826	826	5988
57	2448	2,07	trimetilcarbazol	a	869	869	4060
58	2460	2,22	trimetilcarbazol		898	898	2146
59	2460	2,28	trimetilcarbazol		932	937	1916
60	2472	2,06	trimetilcarbazol		874	874	2252
61	2472	2,38	dihidro-dimetilbenzocarbazol	a	836	836	6103
62	2478	2,16	trimetilcarbazol		942	947	2384
63	2484	2,14	trimetil-carbazol		857	857	2133
64	2490	2,42	trimetilcarbazol	a	935	948	4054
65	2508	2,20	trimetilcarbazol		867	869	2006
66	2508	2,23	trimetilcarbazol		931	937	2148
67	2508	2,26	trimetilcarbazol		944	944	2150
68	2520	2,44	trimetilcarbazol		946	952	2578
69	2568	2,24	trimetilcarbazol		895	895	2272
70	2934	3,52	dimetilfenilindol	a	803	803	5342
71	3036	3,67	dimetilfenilindol		808	808	6163
72	3312	3,43	difenilpiridina		830	922	6765
73	3480	3,76	difenilpiridina		833	925	5001
74	3606	3,37	dimetilindenoquinolina		854	859	8225
75	3612	3,45	dimetilindenoquinolina	a	817	822	6544
76	3624	3,34	dimetilindenoquinolina		806	806	7298
77	3636	3,66	dimetilindenoquinolina		830	830	6355
78	3666	3,46	dimetilindenoquinolina	a	820	820	4519
79	3756	3,69	dimetilindenoquinolina		813	813	4528
80	3768	3,72	dimetilindenoquinolina		818	818	6753
81	3768	3,75	dimetilindenoquinolina		820	820	6297
82	3786	3,86	dimetilindenoquinolina		805	805	6498
83	3798	3,21	di-p-tolilpiridina		840	840	7124
84	3858	3,28	di-p-tolilpiridina		882	882	8058
85	3900	3,32	tetrahidro-dimetoxi-acridanona	a	820	820	4492
86	3906	3,31	ditolilpiridina	a	823	855	6226
87	3948	3,47	ditolilpiridina		811	811	5388
88	4044	3,79	ditolilpiridina		877	877	6659
89	4086	3,90	ditolilpiridina		852	852	7064

* identidade confirmada por injeção de padrões analíticos, nas mesmas condições de análise;

a) mesmos compostos tentativamente identificados no GOP.

Para essa amostra, não foi possível identificar alquil-indóis, mesmo utilizando os íons selecionados, conforme assinalado na **Figura 34 A**. Os resultados quantitativos apresentados anteriormente demonstram uma redução em mais de 4 vezes na concentração de indol na amostra de RAT em relação ao GOP (**Tabelas**

XII e XIII). A menor sensibilidade do detector TOFMS em relação ao NPD pode ter resultado em concentrações de indol e alquil-derivados abaixo dos limites de detecção para esse detector, impossibilitando a identificação dos mesmos nessa amostra. Assim como para os compostos tentativamente identificados no GOP, muitos dos componentes presentes no RAT não estão listados nas bibliotecas de espectros de massas. Os compostos nitrogenados que se apresentaram distribuídos de forma regular no diagrama de íons selecionados, e cujos espectros de massas são característicos da classe química em estudo, foram agrupados na **Tabela XXII**. Para esta amostra, um menor número de compostos foi agrupado através desta sistemática (61 compostos) do que por comparação com a biblioteca de espectros de massas (89 compostos).

Na fração neutra de RAT foram tentativamente identificados 152 compostos, observando-se a estruturação do espaço de separação obtida para alquil-carbazóis entre C_0 e C_{12} , e alquil-benzocarbazóis entre C_0 e C_6 , além das comparações feitas entre os espectros de massas obtidos experimentalmente e aqueles de bibliotecas comerciais de espectros de massas. Oliveira ¹ empregou o método de extração B para a mesma amostra, e verificou a presença de alquil-carbazóis entre C_2 e C_8 , e alquil-benzocarbazóis entre C_1 e C_6 , por 1D-GC/qMS. Naquele trabalho, as regiões de tempos de retenção concernentes aos íons selecionados destas classes químicas foram coerentes com as regiões observadas por GC×GC, porém, verificou-se a formação de co-eluições características de UCM, o que impossibilitou até mesmo a identificação tentativa do número de picos em uma determinada classe.

Tabela XXII. Compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração neutra de RAT com base na estruturação dos diagramas e nos espectros de massas característicos destas classes químicas.

carbazóis			benzocarbazóis		
Nº	¹ t _R (s)	² t _R (s)	Nº	¹ t _R (s)	² t _R (s)
	C4			C0	
1	2502	1,48	20	3216	4,00
2	2610	1,77	21	3378	4,93
3	2712	1,97		C1	
4	2724	2,26	22	3306	3,47
5	2742	2,03	23	3384	3,74
6	2778	2,19	24	3480	3,74
	C5		25	3516	4,08
7	2688	1,43	26	3594	4,61
8	2814	1,83	27	3636	4,47
9	2844	1,77	28	3690	4,73
10	2976	1,87		C2	
	C6		29	3552	3,24
11	2892	1,70	30	3606	3,42
12	2970	1,53	31	3624	3,36
13	3018	1,78	32	3636	3,70
14	3036	1,75	33	3636	3,46
15	3108	1,91	34	3660	3,91
16	3234	1,97	35	3678	3,78
17	3312	1,97	36	3726	3,96
	C8		37	3756	3,73
18	3228	1,34	38	3768	3,80
19	3378	1,28	39	3786	3,91
				C3	
			40	3792	3,25
			41	3810	3,27
			42	3876	3,39
			43	3900	3,35
			44	3954	3,46
			45	3984	3,61
			46	4008	3,63
			47	4026	3,88
			48	4050	3,77
			49	4086	3,92
				C4	
			50	3906	2,87
			51	3948	2,99
			52	4002	3,24
			53	4098	3,34
			54	4122	3,32
			55	4170	3,32
			56	4218	3,55
			57	4242	3,53
			58	4260	3,70
				C5	
			59	4416	4,42
			60	4452	4,81
				C6	
			61	4392	3,93

4.1.2.2.2 Fração básica

A **Figura 35** ilustra os diagramas de cores obtidos para a fração básica de RAT, e a estruturação das classes químicas observadas (B). A **Figura 36** apresenta os diagramas de cores de íons selecionados. Nesses diagramas, os íons selecionados foram os picos-base das classes químicas de interesse, tais como alquil-quinolinas (A), alquil-benzoquinolinas (B), alquil-indeno-piridinas (C) e alquil-dibenzoquinolinas (D). Na fração básica do RAT foram detectados 1048 picos com S/N superior a 3, dos quais 65 picos foram tentativamente identificados como compostos nitrogenados, tendo como critério, valores de similaridade entre espectros de massas superiores a 800, e a estruturação observada nos diagramas de cores. Estes compostos estão listados na Tabela **XXIII**. Os compostos assinalados com a letra “a” foram também tentativamente identificados na fração básica do GOP.

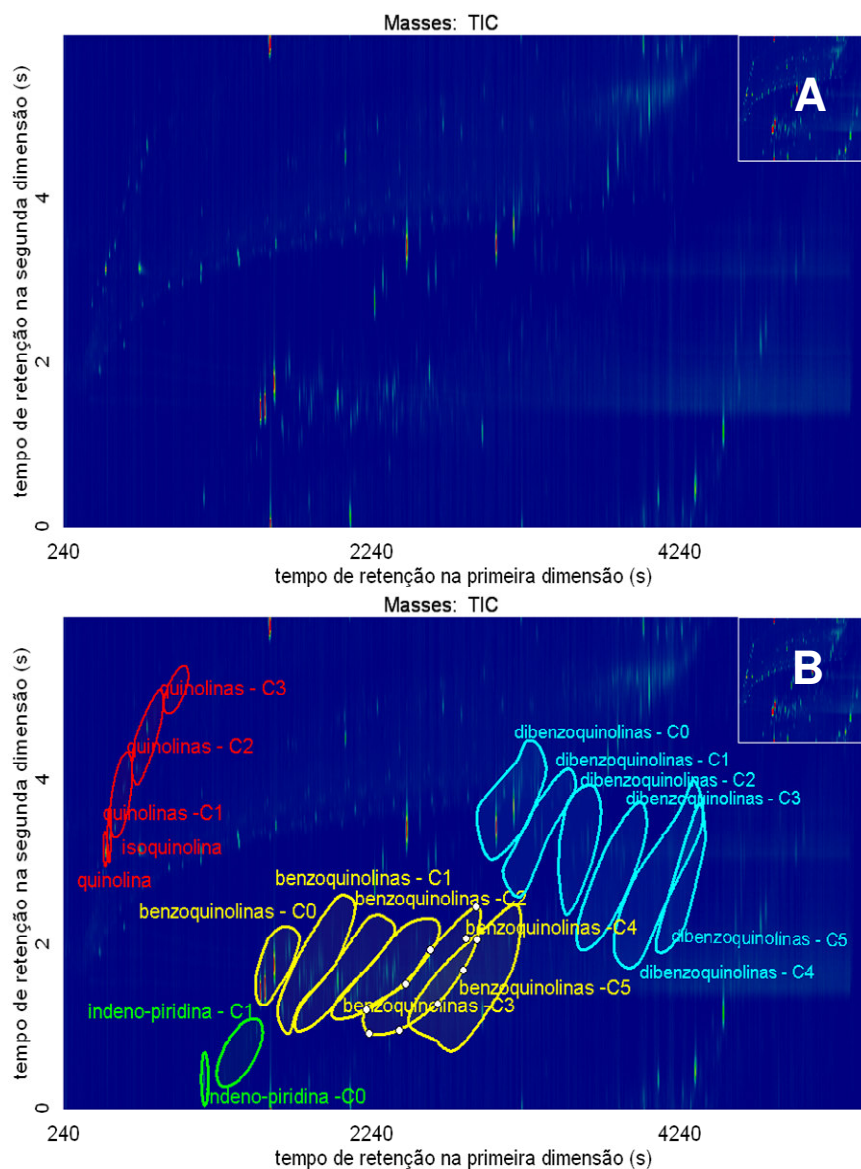


Figura 35. (A) Diagrama de cores obtido para a fração básica de RAT, (B) Diagrama de cores apresentado em (A) com indicação das regiões de compostos nitrogenados: alquil-quinolinas entre C₀ e C₃ (vermelho), indeno-piridinas C₀ e C₁ (verde), alquil-benzoquinolinas entre C₀ e C₅ (amarelo), e alquil-dibenzoquinolinas entre C₀ e C₅ (azul).

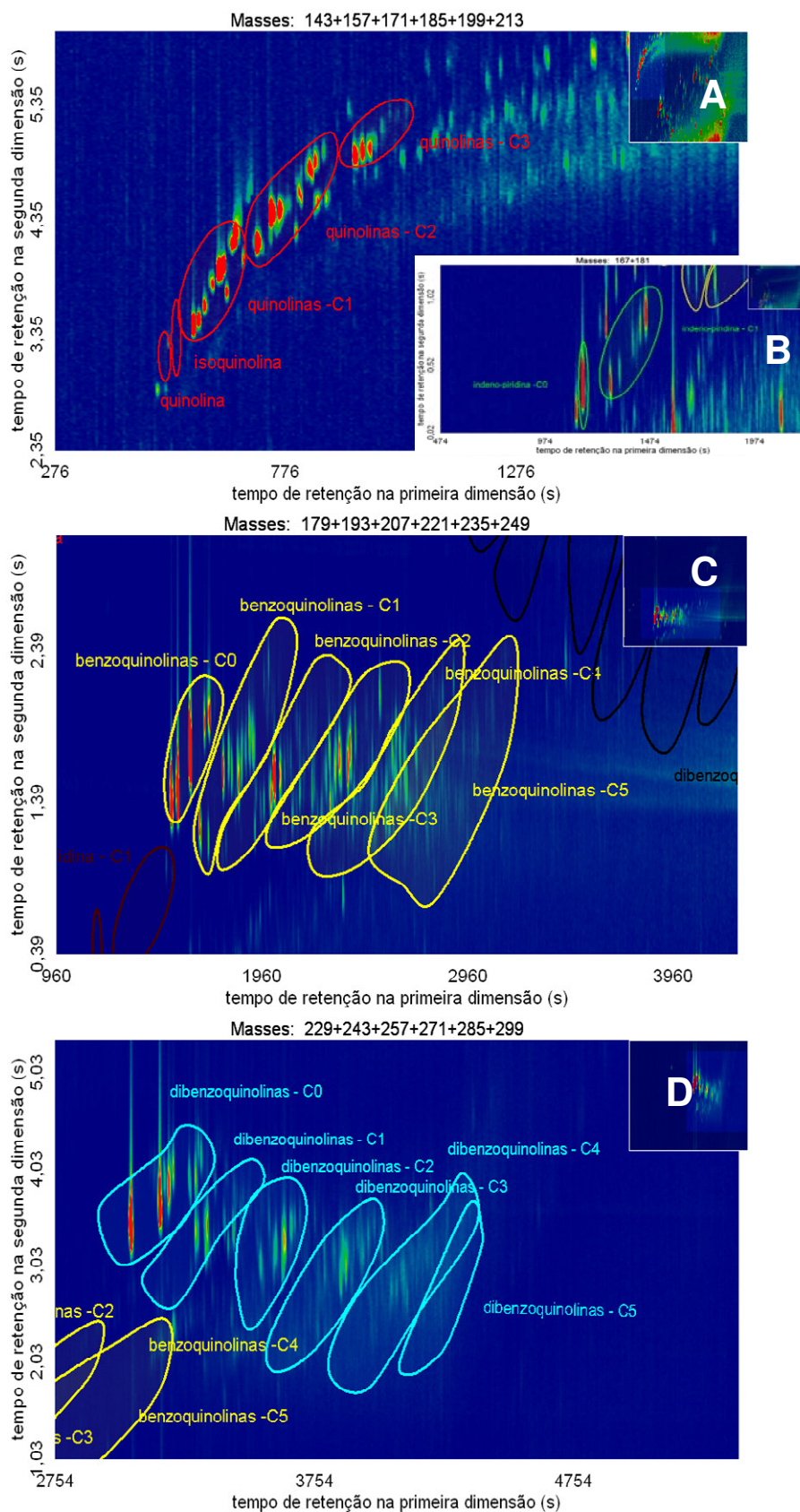


Figura 36. Diagramas de íons selecionados representando as classes encontradas para a fração básica de RAT, (A) alquil-quinolinas, (B) alquil-indeno-piridinas e alquil-benzoquinolinas; (C) alquil-dibenzoquinolinas.

Tabela XXIII. Compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração básica do RAT.

Nº	¹t_R (s)	²t_R (s)	nome	S	R	P
1	252	1,91	morfolina	954	970	9808
2	426	2,72	formilmorfolina	941	957	9835
3	462	2,97	acetilmorfolina	907	907	9606
4	516	3,14	quinolina*	932	933	3826
5	540	3,32	isoquinolina*	925	925	5320
6	576	3,45	metilquinolina	906	906	6132
7	630	3,91	metilquinolina	913	927	5338
8	642	3,97	metilquinolina	898	907	5171
9	666	4,20	metilquinolina	910	910	6152
10	714	4,15	dimetilquinolina	946	950	6769
11	744	4,41	dimetilquinolina	869	907	5552
12	924	4,92	trimetilquinolina	893	893	6218
13	942	4,96	trimetilquinolina	882	888	7019
14	1128	0,16	indenopiridina	805	847	4049
15	1152	0,38	indenopiridina	909	909	6727
16	1266	0,79	indenopiridina	861	875	7285
17	1452	0,90	metilindenopiridina	822	851	4826
18	1518	1,45	7,8-benzoquinolina*	959	964	7612
19	1548	1,49	benzoquinolina	949	954	6550
20	1554	1,91	fenantrolina	815	861	5934
21	1578	2,05	piridoindol	885	887	5721
22	1608	1,77	benzoquinolina	927	928	4338
23	1656	1,27	metilbenzoquinolina	870	873	6018
24	1680	1,92	5,6-benzoquinolina*	912	913	3454
25	1698	1,16	metilbenzoquinolina	882	889	5382
26	1704	1,95	benzoquinolina	918	922	5917
27	1770	1,60	metilbenzoquinolina	a 841	844	4003
28	1800	1,70	metilbenzoquinolina	823	839	5108
29	1812	1,62	metilbenzoquinolina	862	868	6214
30	1860	1,65	metilbenzoquinolina	887	901	6691
31	1878	1,74	metilbenzoquinolina	856	870	6397
32	1926	1,21	dimetilbenzoquinolina	870	872	7174
33	1968	1,40	dimetilbenzoquinolina	870	870	5561
34	1992	2,31	metilbenzoquinolina	875	877	6256
35	2004	1,45	dimetilbenzoquinolina	884	885	6352
36	2022	1,56	dimetilbenzoquinolina	916	916	8328
37	2046	1,57	dimetilbenzoquinolina	899	900	8179
38	2052	2,12	fenil-isoquinolina	850	886	4139
39	2070	1,61	dimetilbenzoquinolina	837	850	6609
40	2256	1,60	trimetilcarbazol	816	854	2108
41	2256	2,75	indenoisoquinolina	a 928	928	4151
42	2292	1,38	trimetilbenzoquinolina	876	876	7508
43	2310	3,02	acenaftopiridina	910	921	4836
44	2316	1,06	trimetilbenzoquinolina	803	804	6198
45	2334	2,93	indenoisoquinolina	a 908	908	3216
46	2376	1,64	trimetilbenzoquinolina	855	858	5844
47	2388	1,75	trimetilbenzoquinolina	874	875	6095
48	2418	3,17	fenilisoquinolina	848	892	6397
49	2466	3,42	dibenzoisoquinolina	a 920	920	6400
50	2532	2,12	trimetilbenzoquinolina	900	901	7914
51	2556	3,53	dibenzoisoquinolina	a 894	911	5053
52	2604	3,01	benzocarbazol	804	810	3855
53	2640	2,95	benzocarbazol	831	884	5204

54	2652	3,08	indenoquinolina		886	906	4053
55	2712	3,11	benzocarbazol		863	877	5161
56	2766	3,17	benzocarbazol		835	867	3294
57	3048	3,45	dibenzoquinolina	a	918	942	8092
58	3156	3,69	dibenzoquinolina		915	939	9796
59	3162	3,62	dibenzoquinolina	a	878	903	9539
60	3174	3,97	dibenzoquinolina		824	837	7614
61	3192	3,84	dibenzoquinolina	a	833	862	5805
62	3210	4,01	dibenzoquinolina	a	820	859	9411
63	3270	3,97	dibenzoquinolina		815	869	7898
64	3294	3,97	dibenzoquinolina	a	859	904	9658
65	4596	2,22	tribenzoquinolina		856	929	5328

* identidade confirmada através da injeção de padrões, nas mesmas condições analíticas;
a - mesmos compostos tentativamente identificados no GOP.

A **Tabela XXIV** apresenta os compostos que foram agrupados segundo a estruturação observada para os íons selecionados no diagrama de cores, e também de acordo com os espectros de massas característicos das classes químicas. Para esta amostra, um menor número de compostos foi classificado na fração básica, entretanto, um maior número de compostos típicos da fração neutra foram também identificados na fração básica. Nos estudos realizados por Oliveira¹ para uma fração da mesma amostra, porém utilizando o método de fracionamento B, e análise de cromatogramas de íons selecionados obtidos por 1D-GC/qMS, não foi possível detectar nenhum composto nitrogenado nessa fração. Isso indica o grande aumento de informação analítica obtida quando GC×GC/TOFMS é empregado, uma vez que foram tentativamente identificados 89 compostos por esse método, e as classes de alquil-quinolinas entre C₀ à C₃, indeno-piridinas C₀ e C₁, alquil-benzoquinolinas entre C₀ e C₅, e alquil-dibenzoquinolinas entre C₀ e C₅ também foram identificadas, apesar do método de extração empregado ter sido diferente do apresentado por Oliveira¹, para esta amostra.

Tabela XXIV. Compostos nitrogenados tentativamente identificados na fração básica do RAT, com base na estruturação dos diagramas e nos espectros de massas característicos destas classes químicas.

benzoquinolinas			dibenzoquinolinas		
Nº	¹ t _R (s)	² t _R (s)	Nº	¹ t _R (s)	² t _R (s)
	C3			C1	
1	2250	1,35	15	3186	2,98
2	2292	1,38	16	3294	3,41
3	2286	1,77	17	3342	3,49
4	2316	1,64	18	3366	3,30
5	2676	1,64		C2	
6	2388	1,75	19	3636	3,34
7	2532	2,12	20	3666	3,44
	C4			C3	
8	2562	1,42	21	3876	3,05
9	2628	1,82	22	3882	3,14
10	2664	1,53	23	3942	3,14
11	2670	1,97		C4	
12	2838	2,12	24	4050	2,80
13	2892	2,20			
	C5				
14	2808	1,37			

4.1.3 Resumo dos resultados obtidos para amostras petroquímicas

O método desenvolvido para a análise quantitativa dos compostos nitrogenados presentes em RAT e GOP utilizando GC×GC-NPD permitiu obter as informações analíticas apresentadas na **Tabela XXV**. Por esta tabela, é possível observar o detalhamento da informação analítica que pode ser obtida por GC×GC-NPD, além da quantificação por número de carbonos de cada classe química, apresentada no item **1.1.1.5.1**. Por GC×GC/TOFMS foi possível classificar e identificar tentativamente um grande número de compostos de acordo com suas classes químicas, conforme apresentado na **Tabela XXVI**.

Tabela XXV. Resumo dos resultados obtidos com a análise quantitativa de compostos nitrogenados presentes nas amostras de GOP e RAT.

	GOP	RAT
concentração de compostos nitrogenados (mg g ⁻¹)	2,35	0,745
% fração neutra	96	94
% fração básica	4	6
% alquil-carbazóis	62	63
% alquil-benzocarbazóis	34	30
dos alquil-carbazóis	53% C ₆₊	65% C ₅
% alquil-quinolinas na fração básica	35	62
% alquil-benzoquinolinas na fração básica	26	31

Tabela XXVI. Número de compostos tentativamente identificados nas principais classes nitrogenadas nas amostras de GOP e RAT.

Compostos	faixa	GOP		RAT	
		*	**	*	**
alquil-indóis	C ₀	1	-	-	-
	C ₁	3	-	-	-
	C ₂	4	-	-	-
	C ₃	3	-	-	-
Total alquil-indóis		11	-	-	-
alquil-carbazóis	C ₀	1	-	1	-
	C ₁	4	-	4	-
	C ₂	15	-	25	-
	C ₃	11	-	26	-
	C ₄	-	12	-	6
	C ₅	1	6	-	4
	C ₆	-	14	-	7
	C ₇	-	3	-	-
	C ₈	-	3	-	2
Total alquil-carbazóis		32	38	56	19
alquil-benzocarbazóis	C ₀	2	-	-	2
	C ₁	-	8	-	7
	C ₂	-	14	-	11
	C ₃	-	9	-	10
	C ₄	-	12	-	9
	C ₅	-	1	-	2
	C ₆	-	-	-	1
Total alquil-benzocarbazóis		2	44	-	42
alquil-quinolinas	C ₀	-	-	2	-
	C ₁	-	-	4	-
	C ₂	1	-	2	-
	C ₃	2	2	2	-
	C ₄	-	3	-	-
	C ₅	-	3	-	-
Total alquil-quinolinas		3	8	10	-
alquil-indeno-piridinas	C ₀	1	-	3	-
	C ₁	2	-	1	-
Total alquil-indeno-piridinas		3	-	4	-
Alquil-indeno-quinolinas	C ₀	4	-	2	-
	C ₂	1	-	-	-
Total alquil-indeno-quinolinas		5	-	2	-
alquil-benzoquinolinas	C ₀	5	-	5	-
	C ₁	12	-	8	-
	C ₂	5	-	6	-
	C ₃	2	2	5	7
	C ₄	-	3	-	6
	C ₅	-	3	-	1
Total alquil-benzoquinolinas		24	8	24	14
alquil-dibenzoquinolinas	C ₀	10	-	10	-
	C ₁	-	4	-	4
	C ₂	-	6	-	2
	C ₃	-	4	-	3
	C ₄	-	5	-	1
Total alquil-dibenzoquinolinas		10	19	10	10
tribenzoquinolinas	C ₀	1	-	1	-

* compostos tentativamente identificados pela comparação com espectros de massas presentes na biblioteca NIST.

** compostos tentativamente identificados com base na estruturação do espaço de separação e espectros de massas característicos das classes químicas, porém ausentes na biblioteca NIST.

Comparando-se as Tabelas **XXV** e **XXVI**, verificou-se que o maior percentual de alquil-quinolinas na fração básica do RAT se refletiu em um maior número de compostos tentativamente identificados nessa fração, por comparação com a biblioteca NIST. Os alquil-indóis foram tentativamente identificados apenas no GOP. Os resultados quantitativos apresentados no **item 1.1.1.5.1** indicam que a concentração de indol na amostra de GOP foi mais de 4 vezes superior à concentração desse composto na amostra de RAT. Os alquil-indóis podem seguir essa tendência, o que justificaria a não detecção desses compostos na amostra de RAT por GC×GC/TOFMS. Entretanto, a pequena diferença percentual entre as massas das demais classes químicas nessas amostras, não se refletiu em diferenças significativas em termos de número de compostos tentativamente identificados em cada classe. As classes de compostos alquil-indeno-quinolinas, alquil-indeno-piridinas e alquil-dibenzoquinolinas não foram classificadas pelo método que usou o NPD, porém foram identificadas tentativamente por GC×GC/TOFMS.

4.2 ÓLEOS VOLÁTEIS

4.2.1 Caracterização inicial dos óleos voláteis

A massa (m) de folhas frescas, os volumes (V) de óleo volátil obtidos em cada hidrodestilação, bem como o rendimento (η) em relação à massa de folhas expresso em mililitros de óleo por quilograma de substrato (V/m), utilizando para esse cálculo a massa de folhas frescas e de folhas secas, estão apresentados na **Tabela XXVII**.

Tabela XXVII. Massa de folhas frescas (m), volume de óleo volátil obtido para cada hidrodestilação (V) e rendimento (η) em mL de óleo por kg de folhas frescas (η_f) ou folhas secas (η_s).

<i>E. dunnii</i>					<i>P. guajava</i>			
HD	m (g)	V (mL)	η_f (mL kg ⁻¹)	η_s (mL kg ⁻¹)	m (g)	V (mL)	η_f (mL kg ⁻¹)	η_s (mL kg ⁻¹)
1	300,1	3,2	10,7	23,5	250,0	0,3	1,2	3,3
2	300,4	3,0	10,6	22,0	250,1	0,3	1,3	3,5
3	300,3	3,1	10,3	22,8	250,4	0,3	1,3	3,5

A programação linear de temperatura utilizada nos dois equipamentos (GC/qMS e GC-FID) (**Tabela VII**) para o sistema monodimensional está em acordo com a rampa de aquecimento empregada por Adams^{193,206}, para posterior comparação de índices de retenção.

4.2.2 *Eucalyptus dunnii*

4.2.2.1 Identificação tentativa de compostos do óleo volátil de *E. dunnii* por 1D-GC

Não foram encontrados na literatura dados de índices de retenção obtidos para o óleo volátil de *E. dunnii* que empregasse alguma fase estacionária de características semelhantes à utilizada no presente trabalho. Por esse motivo, os resultados obtidos foram comparados aos da literatura para outros tipos de óleos voláteis^{193,211,229,230}, ou a padrões analíticos.

Os cromatogramas obtidos por GC-FID para as soluções hexânicas dos óleos hidrodestilados estão apresentados nas **Figuras 37 a 39**. A identificação tentativa dos picos dos cromatogramas do óleo volátil de *E. dunnii* está apresentada na **Tabela XXVIII**, juntamente com os tempos de retenção dos compostos (t_R) no GC-FID, o percentual de semelhança com os espectros de massas da biblioteca Wiley 229, os LTPRI obtidos e os índices encontrados na literatura para estes compostos.

Nos casos em que não foi possível chegar-se a uma identificação tentativa do composto, este foi considerado “não identificado” (ni) ou o grupo químico ao qual pertence foi listado na **Tabela XXVIII**. Alguns dos compostos presentes no óleo volátil de *E. dunnii* foram anteriormente identificados por co-injeção com padrões³, os quais estão marcados com asterisco (*) na **Tabela XXVIII**.

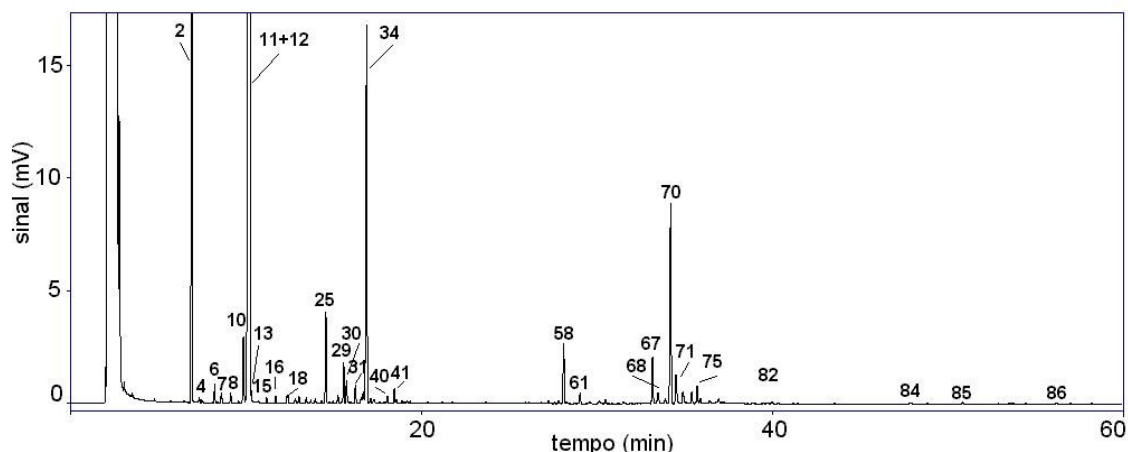


Figura 37. Cromatograma resultante da análise por GC-FID para a separação do óleo volátil de *E. dunnii* obtido por hidrodestilação. As condições cromatográficas constam da **Tabela VII**, e a identificação tentativa dos compostos está apresentada na **Tabela XXVIII**.

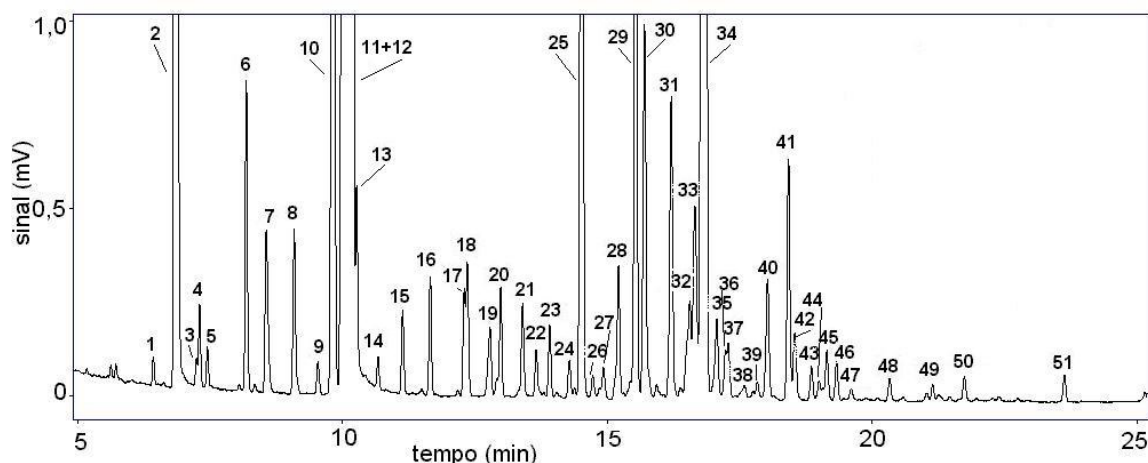


Figura 38. Primeira parte do cromatograma apresentado na **Figura 37**, expandida.

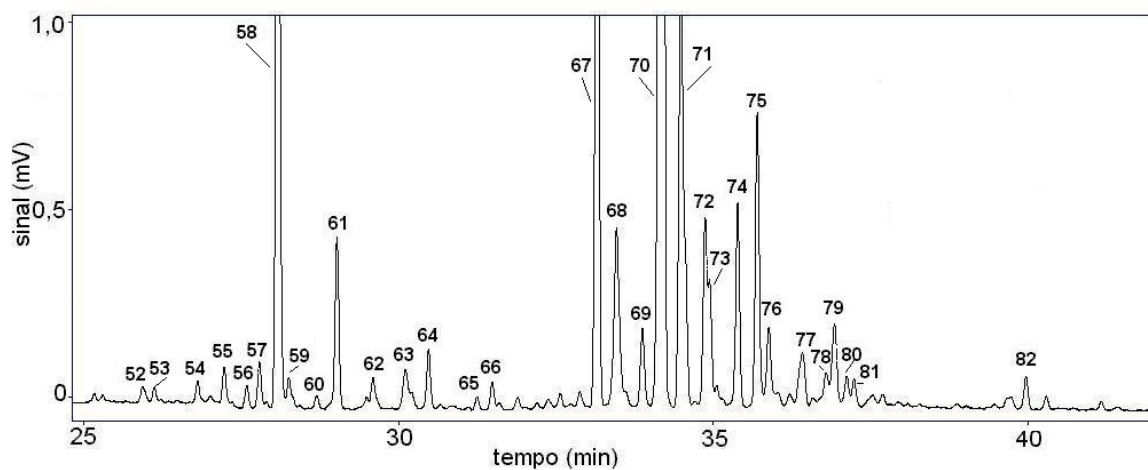


Figura 39. Segunda parte do cromatograma apresentado na **Figura 37**, expandida.

Os picos majoritários no perfil cromatográfico obtido para a *E. dunnii* confirmam as informações da literatura^{205,212,214}: eucaliptol, seguido de α -pineno, α -terpinelol e globulol.

Tabela XXVIII. Identificação tentativa dos compostos presentes no óleo volátil de *E. dunnii* obtido por hidrodestilação. * Compostos co-injetados com padrões³; t_R – tempo de retenção no GC-FID.

Nº	Composto	t _R (min)	% semelhança	LTPRI	LTPRI ¹⁹³	LTPRI ²¹¹	LTPRI ²²⁹	LTPRI ²³⁰
1	ni	6,40	-	917	-	-	-	-
2	α -pineno*	6,84	98	932	939	939	939	941
3	ni	7,22	-	944	-	-	-	-
4	canfeno	7,27	90	946	954	-	951	955
5	monoterpeno	7,42	-	950	-	-	-	-
6	β -pineno*	8,16	96	974	979	980	976	979
7	β -mirceno*	8,53	92	986	991	991	991	-
8	α -felandreno*	9,06	86	1003	1003	1005	1003	1000
9	monoterpeno	9,51	-	1014	-	-	-	-
10	p-cimeno*	9,79	95	1021	1025	1026	1022	1919
11	limoneno*	10,03	96	1027	1029	-	1029	1022
12	1,8-cineol*	10,17	96	1030	1031	1033	1030	1025
13	(Z)- β -ocimeno*	10,24	87	1032	1037	-	1041	1029
14	(E)- β -ocimeno*	10,65	-	1042	1050	-	1051	-
15	γ -terpineno*	11,11	86	1054	1060	1062	1060	1053
16	monoterpeno oxigenado	11,63	-	1067	-	-	-	-
17	monoterpeno	12,28	-	1083	-	-	-	-
18	terpinoleno*	12,33	-	1085	1089	1088	1089	-
19	ni	12,76	-	1096	-	-	-	-
20	sesquiterpeno	12,96	-	1101	-	-	-	-
21	endo fenchol	13,38	80	1110	1117	1112	-	-
22	ni	13,64	-	1116	-	-	-	-
23	α -canfolenal	13,89	86	1121	1126	1125	-	-
24	ni	14,26	-	1130	-	-	-	-
25	(Z)-pinocarveol	14,50	86	1135	1139	1139	-	-
26	ni	14,71	-	1140	-	-	-	-
27	ni	14,91	-	1144	-	-	-	-
28	ni	15,19	-	1151	-	-	-	-
29	pinocarvona	15,51	90	1158	1165	-	-	-
30	4-terpineol*	15,68	80	1162	1163	1177	-	-
31	monoterpeno oxigenado	16,19	-	1173	-	-	-	-
32	ni	16,54	-	1181	-	-	-	-
33	ni	16,63	-	1183	-	-	-	-
34	α -terpineol*	16,84	92	1188	1189	1189	1190	-
35	ni	17,05	-	1192	-	-	-	-
36	ni	17,21	-	1196	-	-	-	-
37	ni	17,26	-	1197	-	-	-	-
38	ni	17,57	-	1204	-	-	-	-
39	ni	17,81	-	1209	-	-	-	-
40	monoterpeno oxigenado	18,01	-	-	-	-	-	-

41	(E)-carveol	18,40	84	1222	1229	-	-	-
42	ni	18,52	-	1225	-	-	-	-
43	ni	18,84	-	1232	-	-	-	-
44	ni	18,98	-	1235	-	-	-	-
45	ni	19,13	-	1238	-	-	-	-
46	ni	19,31	-	1242	-	-	-	-
47	ni	19,59	-	1249	-	-	-	-
48	ni	20,31	-	1264	-	-	-	-
49	terpeno	21,13	-	1282	-	-	-	-
50	ni	21,73	-	1295	-	-	-	-
51	ni	23,61	-	1338	-	-	-	-
52	ni	25,91	-	1389	-	-	-	-
53	ni	26,09	-	1393	-	-	-	-
54	(E)-cariofileno	26,78	80	1409	1419	1418	1424	-
55	hidrocarboneto sesquiterpênico	27,20	-	1419	-	-	-	-
56	ni	27,56	-	1427	-	-	-	-
57	calareno*	27,76	80	1432	1434	-	-	-
58	aromadendreno*	28,06	94	1439	1441	1439	-	-
59	sesquiterpeno oxigenado	28,23	-	1442	-	-	-	-
60	ni	28,68	-	1453	-	-	-	-
61	alo-aromadendreno*	29,00	88	1460	1460	1461	1460	-
62	hidrocarboneto sesquiterpênico	29,57	83	1474	-	-	-	-
63	hidrocarboneto sesquiterpênico	30,08	-	1486	-	-	-	-
64	hidrocarboneto sesquiterpênico	30,45	-	1494	-	-	-	-
65	ni	31,22	-	1513	-	-	-	-
66	ni	31,47	-	1518	-	-	-	-
67	sesquiterpeno oxigenado	33,13	-	1559	-	-	-	-
68	hidrocarboneto sesquiterpênico	33,44	-	1566	-	-	-	-
69	espatulenol*	33,85	-	1576	1578	1576	1585	-
70	globulol*	34,17	-	1584	-	-	-	-
71	sesquiterpeno	34,47	-	1591	-	-	-	-
72	(5-epi-7-epi- α)- β -eudesmol	34,85	81	1601	1608	-	-	-
73	ni	34,92	-	1603	-	-	-	-
74	sesquiterpeno oxigenado	35,37	-	1614	-	-	-	-
75	hidrocarboneto sesquiterpênico	35,68	-	1622	-	-	-	-
76	ni	35,86	-	1626	-	-	-	-
77	hidrocarboneto sesquiterpênico	36,40	-	1640	-	-	-	-
78	ni	36,78	-	1650	-	-	-	-
79	hidrocarboneto sesquiterpênico	36,91	-	1653	-	-	-	-
80	ni	37,10	-	1658	-	-	-	-
81	ni	37,21	-	1661	-	-	-	-
82	ni	39,96	-	1732	-	-	-	-
83	ni	40,28	-	1741	-	-	-	-
84	ni	47,79	-	1952	-	-	-	-
85	ni	50,82	-	2043	-	-	-	-
86	ni	56,18	-	2212	-	-	-	-

4.2.2.2 Otimização da separação dos componentes do óleo volátil de *E. dunnii* por GC×GC

Para a caracterização do óleo essencial de *E. dunnii* por GC×GC, inicialmente foi utilizado o sistema GC×GC-FID, buscando-se a condição cromatográfica e o conjunto de colunas mais adequado. A separação cromatográfica foi otimizada para um conjunto convencional de colunas (conjunto 1, **Tabela V**), testando-se várias rampas de temperatura. Entretanto, para essa combinação não foi possível eliminar picos fora de ciclo, nas diversas programações de temperatura testadas. Os picos fora de ciclo são considerados indesejáveis por resultarem em alargamento da banda cromatográfica, e pela possibilidade de sobreposição dos mesmos com picos eluídos no ciclo de modulação subsequente. A primeira estratégia adotada para eliminar esse efeito foi a utilização de períodos de modulação mais longos do que 5s (6; 7,5 e 9 s), permitindo-se que os picos modulados tivessem tempo apropriado para a eluição completa dentro do seu próprio ciclo. Entretanto, o resultado atingido foi a crítica diminuição da razão de modulação (M_R , *modulation ratio*)²³¹. A razão de modulação é definida pela razão entre a largura da base do pico primário e o P_M . O período de modulação é normalmente inferior à largura do pico primário, e geralmente próximo à largura do pico à meia altura, o que leva a uma M_R de aproximadamente quatro. Quanto menor a razão de modulação, maior será o risco de perda de resolução da primeira dimensão, o que pode resultar em picos vizinhos sendo coletados no mesmo evento de modulação. Por esta razão, não é desejável que M_R seja inferior a três ou quatro.

A segunda estratégia adotada foi a utilização de uma coluna mais curta na segunda dimensão, visando diminuir o tempo de eluição dos compostos. Neste intuito, foi testado o conjunto de colunas 2 (**Tabela V**), com uma coluna na segunda dimensão de apenas 1 m, em comparação a 1,5 m do conjunto de colunas anteriormente utilizado. Além desta combinação, foi também utilizado um conjunto de colunas de geometria inversa, ou seja, uma coluna polar na primeira dimensão e uma coluna apolar na segunda dimensão (conjunto 4, **Tabela V**). A **Figura 40** ilustra as melhores separações atingidas nas condições testadas com os três conjuntos de colunas, e apresenta também um cromatograma monodimensional obtido com o desligamento do modulador, com o conjunto de colunas 1. Esse cromatograma 1D não foi usado para os cálculos de LTPRI, onde apenas uma coluna foi utilizada.

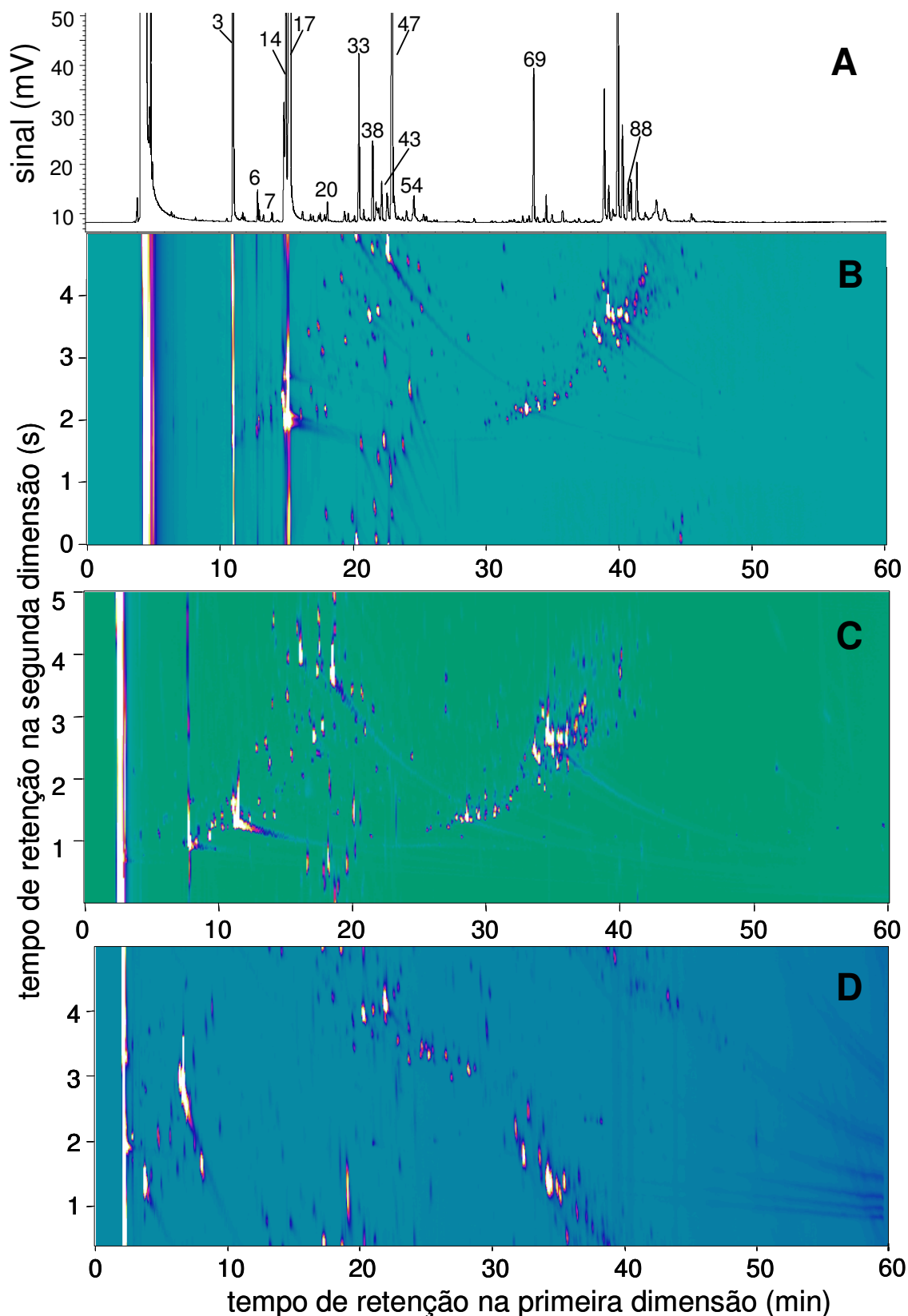


Figura 40. Cromatograma 1D (A) e diagramas de cores obtidos para o óleo volátil de *E. dunnii* utilizando-se os conjuntos de colunas 1 (B), 2 (C), e 4(D), apresentados na Tabela V.

Comparando-se os diagramas B e C, pode-se observar a diminuição de picos fora de ciclo em torno de 45 min da primeira dimensão, e abaixo de 1s na segunda dimensão, quando a coluna ²D mais curta foi empregada (C). Entretanto, a diminuição do comprimento da coluna também comprometeu a resolução obtida na segunda dimensão, especialmente para as regiões dos sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados, que apresentaram ¹t_R acima de 25 minutos. Os picos fora de ciclo presentes tanto nas regiões de monoterpenos (¹t_R < 30 min), quanto na região dos sesquiterpenos oxigenados, aparentemente não ficaram sobrepostos aos picos do ciclo em questão. Além disso, ocorrendo sobreposição de picos fora de ciclo com outros picos, essa sobreposição ocorreria entre compostos oxigenados e outros compostos que apresentam espectros de massas significativamente diferentes, facilitando assim a deconvolução espectral. Por outro lado, a sobreposição da região dos sesquiterpenos oxigenados obtida com o conjunto 2 (coluna mais curta na segunda dimensão), não poderia ser resolvida por deconvolução espectral, devido à grande semelhança entre os espectros de massas dessa classe. Neste caso, a impossibilidade de eliminar a pequena incidência de picos fora de ciclo não se configura como problema, pois este efeito mostra uma interessante utilização do espaço de separação não utilizado pelos picos do ciclo, além de não perturbar a separação cromatográfica. Por essas razões, o conjunto de colunas 1 foi escolhido para os estudos seguintes.

Comparando-se os diagramas de cores obtidos usando-se o conjunto convencional (conjunto 1), ou o conjunto de colunas com geometria inversa (conjunto 4) na **Figura 40**, observa-se maior resolução dos picos provenientes do uso do conjunto convencional (B) do que do inverso (D). Além disso, o conjunto inverso também apresentou picos fora de ciclo (**Figura 40 D**). Compostos polares devem apresentar uma faixa de retenção mais ampla em uma coluna ²D polar, de forma que os terpenos oxigenados apresentam-se melhor distribuídos no diagrama. Entretanto, quando uma coluna apolar é usada na ²D, esses compostos ficarão mais comprimidos no tempo, resultando em menor resolução. Mesmo se a temperatura de eluição da ¹D tenha sido muito próxima para os dois conjuntos de colunas (mesma velocidade linear da fase móvel), a combinação dos efeitos de separação por ponto de ebulição e pela interação dos compostos polares com a primeira dimensão SolGel-Wax, resultou em maior co-eluição dos picos, diminuindo a resolução da primeira dimensão.

A resolução na segunda dimensão também foi comprometida por efeitos de cauda na coluna ²D, o que aumentou a co-eluição dos picos nessa dimensão. Para exemplificar esses efeitos, três picos foram selecionados visando comparar suas largura da base: (12) mirceno, (79) aromadendreno e (95) ledol (compostos tentativamente identificados na **Tabela XXIX**). Esses três compostos apresentaram larguras médias de base dos picos modulados de 162, 68 e 70 ms, respectivamente, quando o conjunto de colunas 1 foi utilizado. Os mesmos picos apresentaram largura média da base dos picos modulados de 205, 480 e 265 ms, respectivamente, quando o conjunto de colunas inverso foi utilizado (conjunto 4). Mondello e colaboradores ¹⁵⁴ empregaram um conjunto inverso de colunas para amostras de óleo volátil de limão, entretanto, não foram apresentados resultados comparativos ao conjunto convencional. Isso indica que a escolha de um conjunto de colunas preferencial para análise de óleos voláteis de diferentes origens ainda não é uma regra geral.

Comparando-se as separações cromatográficas obtidas por 1D-GC-FID e GC×GC-FID, foram detectados 86 picos por 1D-GC (A), e 178 por GC×GC-FID (B), utilizando-se o mesmo tipo de coluna 1D ou na primeira dimensão. Além disso, as razões S/N obtidas por GC×GC-FID foram cerca de três vezes superiores às obtidas por 1D-GC. Esta melhora na resolução e na sensibilidade, característica de GC×GC, foi fundamental para aumentar o número de compostos identificados nas amostras estudadas. Os tempos de retenção dos compostos analisados por GC×GC-FID e GC×GC/qMS não foram os mesmos, devido ao emprego de fases móveis diferentes (H₂ no sistema GC×GC-FID, e He no sistema GC×GC/qMS), e à diferença de pressão na saída da coluna ²D, pois enquanto um sistema opera à pressão atmosférica, o outro está sob vácuo. Nenhuma modificação foi realizada buscando-se a equivalência dos tempos de retenção, mas a posição relativa dos picos pode ser mapeada pelo perfil dos diagramas obtidos.

4.2.2.3 Identificação tentativa dos compostos do óleo volátil de *E. dunnii* por GC×GC

A identificação tentativa dos compostos no óleo volátil de *E. dunnii* foi realizada pela combinação de índices de retenção, informação espectral e co-injeção de padrões, os quais serão discutidos nos itens seguintes.

4.2.2.3.1 Índices de retenção

A separação 1D em experimentos que utilizam colunas convencionais do tipo 5% fenil em metil silicone, e na maioria dos experimentos GC×GC que usam fases estacionárias de baixa polaridade na ¹D, ocorre primeiramente devido a efeitos dispersivos de componentes da amostra na fase, uma vez que esse tipo de fase apresenta majoritariamente interações do tipo dipolares fracas. Compostos que co-eluem neste tipo de coluna, apresentam pontos de ebulição semelhantes. A rápida análise em uma coluna ²D polar ocorre essencialmente sob condições isotérmicas, de forma que a separação ocorrerá quase exclusivamente devido a diferenças de polaridade dos solutos. Sob tais circunstâncias, existirão dois parâmetros de tempo de retenção independentes para guiar a identificação dos compostos. Essa informação é muito útil para a confirmação de identidade dos compostos, e pode ser utilizada para a obtenção de índices de retenção para fins de comparação. Alguma atenção tem sido direcionada na literatura à obtenção de índices de retenção para as duas dimensões sob condições de GC×GC ^{149,159,160,232}.

Para correlacionar retenções na primeira e na segunda dimensões, algumas estratégias têm sido adotadas, tais como os mapas de correlação de retenção, ou o cálculo dos índices de retenção pela geração de curvas de compostos de referência. Bieri e Marriott ²³² utilizaram duas colunas em paralelo na segunda dimensão, para a obtenção de índices de retenção simultâneos em três fases estacionárias distintas, utilizando também mapas de correlação de retenção com séries homólogas de compostos polares e apolares. Estas estratégias ainda estão em fase inicial de estudo, e não se dispõe de bibliotecas de índices para comparação com os índices obtidos experimentalmente. Por esta razão, no presente trabalho foram utilizados LTPRI convencionais, calculados através da fórmula de van den Dool e Kratz ²⁰⁸ para os dados obtidos por GC-FID, GC×GC-FID e GC×GC/TOFMS, para as duas geometrias de colunas, convencional (conjunto 1) e inversa (conjunto 4). Para os dados obtidos por GC×GC/TOFMS, apenas o conjunto de colunas convencional foi utilizado. O cálculo dos índices de retenção para GC×GC-FID foi realizado com base no tempo de retenção total dos compostos, e não no ¹t_R.

A **Tabela XXIX** apresenta os compostos tentativamente identificados por 1D-GC e GC×GC e os índices de retenção calculados nos dois sistemas. As diferenças

entre LTPRI obtidos por GC×GC e 1D-GC podem ser provenientes de vários fatores associados, tais como a velocidade linear reduzida no final da coluna ¹D, resultante do menor diâmetro interno da coluna ²D, e a seletividade da coluna ²D. A **Figura 41** apresenta um gráfico que relaciona LTPRI de referência¹⁹³ (1D-GC) com LTPRI experimentalmente obtidos por 1D-GC-FID e GC×GC-FID (conjunto de colunas 1, **Tabela V**). Apesar da diferença entre os índices obtidos por 1D-GC e GC×GC, é possível observar a correlação entre os valores experimentais e os valores de referência para as duas técnicas. Nesse caso, o efeito seletivo causado pela fase da coluna usada na segunda dimensão não apresentou uma contribuição significativa para os LTPRI experimentalmente obtidos para a primeira dimensão, mas agrega informações quanto a polaridade dos compostos nessa coluna. A equação da reta obtida para os dados GC×GC, desconsiderando-se os dois pontos que se encontram claramente fora da distribuição linear do conjunto de pontos foi:

$$\text{LTPRI experimental} = 1,002 \text{ LTPRI Adams} + 11,761$$

Por essa equação podemos concluir que os índices de retenção obtidos experimentalmente para GC×GC apresentam uma relação linear com os índices registrados na literatura¹⁹³ para 1D-GC, com coeficiente de determinação (r^2) de 0,998. Além dessa informação ser relevante para a comparação entre índices da Literatura, também incorpora informações com relação à interação dos compostos com a coluna de segunda dimensão. Os compostos menos retidos na segunda dimensão possuem índices de retenção mais próximos aos encontrados na literatura, ao passo que, compostos mais retidos, apresentam maior discrepância entre os valores encontrados na literatura e os experimentais.

Tabela XXIX. Identificação tentativa dos compostos presentes no óleo volátil de *E. dunnii*, utilizando-se 1D-GC e GC×GC.

N°	composto	Ref. ¹⁹³ LTPRI	1D-GC			GC×GC convencional			GC×GC inverso			GC×GC/TOFMS				
			LTPRI	S	R	LTPRI	S	R	LTPRI	S	R	¹ t _R	² t _R	LTPRI	S	R
1	pentanol	771				787	896	901				350	2,63	764	907	954
2	2-(Z)-pentenol	774										390	4,10	787	984	989
3	2-(E)-hexenal	855										430	2,03	809	866	912
4	hexanal	802										435	1,69	812	945	993
5	Isovalerato de etila	858				872	913	913	1054	894	894	510	1,56	855	990	993
6	2-(E)-hexenal	855										525	2,45	864	996	997
7	3-(Z)-hexenol*	859										525	4,45	865	988	994
8	α-pineno*	939	932	986	987	941	960	960	1016	950	950	685	1,38	941	960	979
9	canfeno*	954				959	898	900	1055	904	911	725	1,41	958	954	960
10	2,4(10)-tujadieno	960				964	900	900	1109	889	891	740	1,62	964	979	983
11	β-pineno*	979	974	981	981	989	893	893	1095	908	908	800	1,49	989	985	985
12	β-mirceno*	991	986	925	931	993	878	878	1142	888	888	810	1,68	994	982	984
13	óxido de (E)-dehidroxi linalol	993				998	894	894				820	1,86	998	923	984
14	1,8-dehidrocineol	991				1002	815	820				825	1,78	1000	910	914
15	3-(Z)- acetato de hexenila	1005				1014	807	820				855	2,39	1012	481	947
16	óxido de (Z)-dehidroxi linalol	1008				1014	840	844				860	1,96	1014	880	981
17	1,3,8- <i>p</i> -mentatrieno	1110				1016	905	905	1224	872	872	865	1,84	1015	945	945
18	α-felandreno*	1003	1003	983	985	1016	918	918	1147	873	873	870	1,66	1017	964	969
19	<i>p</i> -cimeno	1025	1021	948	969	1039	911	911	1245	897	897	920	2,15	1036	976	979
20	limoneno*	1029	1027	918	964	1045	898	904				930	1,81	1040	955	964
21	(Z)-β-ocimeno	1037	1032	956	956	1049	843	852				935	1,85	1042	969	972
22	1,8-cineol*	1031	1030	974	977	1047	920	921	1192	918	919	940	1,91	1045	974	979
23	(E)-β-ocimeno*	1050	1042	940	940	1049	843	852				960	1,91	1051	948	960
24	γ-terpineno*	1060	1054	946	946	1068	875	875	1221	858	858	1005	1,82	1068	910	16
25	terpinoleno	1089				1095	880	880	1258	855	855	1080	1,91	1096	945	969
26	óxido de (Z)-linalol	1087				1086	924	924				1040	2,85	1082	958	958
27	α-canfolenal	1126										1100	2,63	1104	912	934
28	<i>m</i> -cimeneno	1085				1099	811	811				1105	2,72	1106	922	926
29	linalol	1097				1109	909	909				1115	3,54	1110	924	976

30	2-metilbutanoato de isopentila	1100	1096	852	852	1110	854	854				1120	1,88	1111	929	929
31	óxido de α -pineno	1099				1115	882	882				1135	2,29	1117	953	964
32	6-canfenol	1114				1121	847	847				1150	2,29	1122	762	956
33	1,3,8- <i>p</i> -mentatrieno	1110				1127	858	858				1165	2,28	1128	719	924
34	endo-fenchol	1117				1137	894	894	1541	893	893	1190	3,68	1137	980	980
35	(<i>E</i>)- <i>p</i> -menta-2,8-dienol-1	1123	1121	860	860	1138	889	889	1587	830	830	1190	4,21	1137	973	977
36	α -canfolenal	1126				1144	900	900	1451	883	883	1210	2,81	1144	973	974
37	(<i>Z</i>)- <i>p</i> -menta-2,8-dienol-1	1138				1154	846	846				1235	4,51	1154	960	968
38	ipsdienol	1145				1155	816	819				1235	4,63	1154	858	918
39	(<i>E</i>)-pinocarveol	1139	1135	890	890	1161	918	918				1255	4,30	1161	994	994
40	óxido de nerol	1158				1162	900	902				1260	2,56	1162	941	981
41	nopinona	1140				1162	872	873				1260	3,48	1163	894	980
42	(<i>Z</i>)- β -terpineol	1144										1270	3,80	1166	797	951
43	hidrato de canfeno	1150				1177	842	849				1300	3,39	1177	967	967
44	(<i>E</i>)-pinocanfona	1163				1180	864	866				1315	2,75	1182	914	984
45	pinocarvona	1165	1158	948	958	1184	879	880	1521	884	884	1320	3,14	1184	995	995
46	δ -terpineol	1166	1162	892	901	1188	851	857				1330	4,01	1188	904	930
47	<i>p</i> -menta-1,5-dienol-8	1170				1190	861	869				1280	4,13	1170	888	908
48	borneol	1169				1194	916	916				1320	4,04	1185	945	945
49	(<i>Z</i>)-pinocanfona	1175				1197	830	830				1315	2,75	1182	858	961
50	4-terpineol	1177	1173	974	974	1199	899	899	1560	880	880	1360	3,18	1199	976	976
51	criptona	1186				1207	809	809				1395	3,76	1212	692	909
52	(<i>E</i>)- <i>p</i> -menta-1,[7],8-dien-2-ol	1189				1208	905	905	1743	918	918	1385	0,58	1207	985	985
53	<i>p</i> -cimen-8-ol	1183				1210	880	880				1385	1,66	1208	929	931
54	α -terpineol*	1189	1188	985	985	1214	937	937				1400	3,93	1214	993	994
55	mirtenol	1196				1219	844	845				1410	0,32	1216	980	980
56	(<i>E</i>)-dihidrocarvona	1201										1415	3,13	1219	782	948
57	mirtenal*	1196										1415	3,31	1219	987	987
58	(<i>Z</i>)-sabinol	1143				1220	856	857	1752	839	839	1430	0,36	1224	960	973
59	acetato de endo-fenchila	1220										1445	2,18	1230	792	955
60	verbenona*	1205				1221	834	834				1450	3,92	1232	906	963
61	(<i>E</i>)-carveol	1217				1240	884	884	1780	875	875	1470	0,54	1239	974	974
62	formato de isobornila	1239				1241	827	835				1490	2,72	1247	762	939
63	neral	1238	1222	946	949	1249	844	844				1510	3,34	1254	959	973
64	(<i>Z</i>)-carveol	1229				1250	882	882				1510	0,72	1253	890	967

65	(Z)- <i>p</i> -menta-1,[7],8-dien-2-ol	1231				1251	922	922	1828	942	942	1500	1,30	1250	990	990
66	carvona	1243				1267	896	896	1677	875	875	1545	3,76	1268	963	967
67	carvotanacetona	1247				1272	887	887	1629	903	903	1555	3,24	1271	981	981
68	geranial	1267	1264	956	956	1286	894	895	1680	803	803	1590	3,51	1284	973	974
69	(E)- acetato de óxido de linalila	1289				1289	823	824				1605	2,67	1289	891	914
70	acetato de bornila	1289				1298	802	802				1630	2,42	1299	732	907
71	(Z)- acetato de pinocarvila	1312				1310	850	850				1660	2,71	1310	763	959
72	isoleveno	1376	1345	827	827	1381	848	848				1850	1,77	1383	966	975
73	α -copaeno	1377				1389	908	909				1865	1,80	1389	876	934
74	(Z)-jasmoneno	1393				1418	877	877				1930	4,02	1415	920	961
75	α -gurjuneno	1410	1389	978	981	1421	885	885				1950	1,83	1423	898	902
76	(Z)-cariofileno*	1409				1437	901	902				1985	2,01	1437	980	982
77	(E)-cariofileno	1419				1435	937	937				2005	1,98	1445	919	923
78	calareno	1434				1447	930	930				2015	1,97	1449	915	917
79	aromadendreno*	1441	1439	966	969	1456	946	946	1572	905	905	2035	2,02	1457	983	983
80	(Z)-eudesma-6,11-dieno	1490	1442	891	891	1464	898	898				2025	1,95	1453	822	856
81	dehidro-aromadendreno	1463				1474	866	867				2050	2,00	1463	927	932
82	α -humuleno*	1455				1476	869	869				2080	2,10	1476	954	955
83	9-epi-(E)-cariofileno	1466	1460	985	985	1478	939	939				2090	2,05	1480	945	945
84	γ -gurjuneno	1477	1474	807	807	1490	892	892				2115	2,00	1490	884	916
85	γ -amorfenol	1496				1490	876	877				2120	2,11	1492	866	965
86	viridifloreno	1497	1494	986	986	1509	922	922				2160	2,10	1509	942	942
87	β -selineno	1490	1486	865	865	1509	937	937								
88	3-metilbutanoato de feniletila	1491				1511	894	895				2160	3,51	1509	934	981
89	α -selineno	1498				1515	927	927								
90	viridifloreno	1497										2175	2,13	1515	942	942
91	γ -cadineno	1514				1530	890	891				2215	2,21	1532	899	929
92	(E)-ciclo-isolongifolol 5	1514				1538	874	887								
93	(Z)-calameneno	1540				1540	846	848				2235	2,45	1541	767	898
94	viridiflorol	1593	1559	905	909	1585	922	922				2340	3,11	1586	953	953
95	ledol	1569	1566	808	810	1593	909	909	1962	831	831	2365	2,62	1596	935	936
96	espatulenol	1578	1576	971	971	1602	912	912	2055	854	854	2380	3,62	1603	926	926
97	gleenol	1587				1604	803	819				2390	2,98	1607	880	965
98	óxido de cariofileno	1583										2395	2,85	1609	846	958
99	viridiflorol	1593	1591	973	973	1611	925	925	1951	907	907	2420	3,29	1621	958	959

100	β -eudesmol	1651	1653	924	925	1620	865	865				2445	3,31	1632	915	920
101	neo-intermedeol	1660										2475	3,42	1645	898	958
102	cusinol	1680										2485	3,47	1650	899	900
103	1- <i>epi</i> -cubenol	1629	1658	884	891	1638	834	835				2490	2,97	1652	939	947
104	eremoligenol	1631										2500	3,59	1656	877	953
105	α -muurolol	1646				1650	851	853				2520	3,44	1665	914	921
106	<i>epi</i> - α -muurolol	1642				1671	882	884				2525	3,56	1668	886	899
107	α -cadinol	1654	1732	944	945	1678	811	823				2555	3,76	1681	920	925
108	β -eudesmol	1651				1683	853	856				2560	3,72	1683	927	937
109	neo-intermedeol	1660				1690	896	896				2570	3,88	1688	976	977
110	intermedeol	1667							1934	832	832					
111	carvacrol	1299							2117	822	822					
112	selin-11-en-4- α -ol	1660							2175	883	883					

S – similaridade

R – reverso

*confirmação de identidade realizada com compostos padrão.

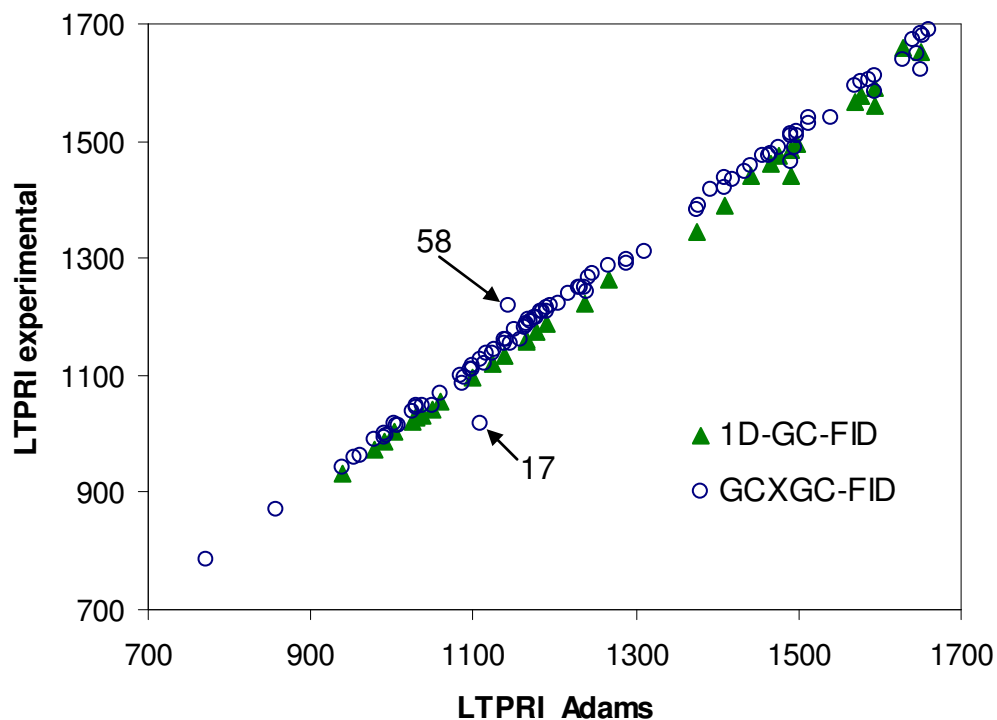


Figura 41. Relação entre os LTPRI de referência ¹⁹³ e os LTPRI obtidos experimentalmente por 1D-GC-FID e GCxGC-FID, para o óleo de *E. dunnii*.

Os dois picos cromatográficos tentativamente identificados como 1,3,8-*p*-mentatrieno (composto 17), e (*E*)-sabinol (composto 58), listados na **Tabela XXIX**, não foram identificados na 1D-GC e encontram-se fora da relação linear observada na **Figura 41**. A informação espectral relativa a estes picos leva a uma identificação tentativa incorreta, pois ambos apresentam valores altos de similaridade (S) e reverso (R) para os compostos 1,3,8-*p*-mentatrieno e (*E*)-sabinol, respectivamente. Entretanto, esses compostos podem ser isômeros de posição não listados na biblioteca de espectros de massas, e por esse motivo, não apresentam LTPRI corretos. Para investigar essa hipótese, o ²t_R do pico 17 (**Tabela XXIX**) pode ser relacionado ao pico 33, também identificado como 1,3,8-*p*-mentatrieno. Como os ²t_R desses dois picos são similares, e o pico 33 eluiu após o pico 17, a pequena diferença entre os ²t_R dos dois picos (0,16 s) foi provavelmente, decorrente da maior temperatura de eluição do pico 33 da coluna ¹D. Essa informação é uma poderosa ferramenta para confirmação da identidade de isômeros de posição, entretanto, poderia ser confirmada apenas através de co-injeção de padrões analíticos.

A diferença encontrada entre os índices de retenção (**Tabela XXIX**) obtidos por GC×GC-FID e por GC×GC/TOFMS está relacionada à diferença de pressão na saída da coluna ²D (atmosférica e vácuo, respectivamente).

Para os índices obtidos por GC×GC/TOFMS foi estabelecida uma relação idêntica à apresentada na **Figura 41** (**Figura 42**). A equação da reta obtida desconsiderando-se os dois pontos que se encontram fora da distribuição linear, para os dados GC×GC/TOFMS foi:

$$\text{LTPRI experimental} = 1,010 \text{ LTPRI Adams} - 0,079$$

O coeficiente de determinação (r^2) para essa reta foi de 0,997.

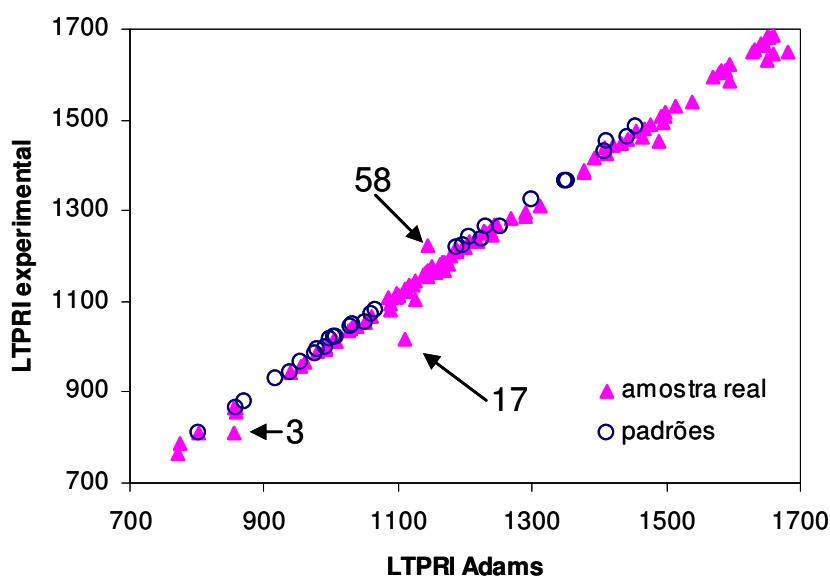


Figura 42. Relação entre os LTPRI de referência ¹⁹³ e os LTPRI obtidos experimentalmente por GC×GC/TOFMS, para o óleo de *E. dunnii* e para uma mistura de padrões.

A identificação tentativa do pico 3 como 2-(*E*)-hexenal resulta em um pequeno desvio da linearidade da curva apresentada na **Figura 42**. Na biblioteca eletrônica de espectros de massas elaborada por Adams e utilizada para fins de comparação, não existe o espectro de massas do isômero 2-(*Z*)-hexenal, ou informações sobre o LTPRI deste composto. Devido à similaridade entre os espectros de massas deste pico e do pico 6, também identificado como 2-(*E*)-hexenal, porém com LTPRI concordante com a distribuição linear apresentada na **Figura 42**, e também devido à

proximidade entre 2t_R destes dois picos, é possível identificar tentativamente o pico 3 como 2-(Z)-hexenal. Entretanto, a confirmação da identidade deste composto demanda futura comparação de tempos de retenção resultantes de análises com padrões.

O mesmo procedimento de investigação da relação existente entre LTPRI experimentais e teóricos foi adotado para uma mistura contendo 30 padrões de componentes de óleos voláteis com concentrações desconhecidas (**Figura 42**). A **Tabela XXX** apresenta a lista destes padrões, os LTPRI da literatura e os obtidos experimentalmente por GC×GC/TOFMS.

Tabela XXX. LTPRI obtidos experimentalmente por GC×GC/TOFMS e da literatura (1D-GC)¹⁹³ para uma mistura contendo 30 padrões analíticos.

Composto	LTPRI ¹⁹³	LTPRI	Composto	LTPRI ¹⁹³	LTPRI
hexanal	802	808	γ-terpineno	1060	1071
3-(Z)-hexenol	859	863	N-octanol	1068	1081
N-hexanol	871	880	α-terpineol	1189	1218
anisol	918	931	mirtenal	1196	1223
α-pineno	939	945	citronelol	1226	1236
canfeno	954	964	verbenona	1205	1241
sabineno	975	985	geraniol	1253	1262
β-pineno	979	993	nerol	1230	1266
mircenol	991	998	carvacrol	1299	1324
N-octanol	999	1017	α-cubebeno	1351	1364
acetato de hexila	1009	1019	α- acetato de terpenila	1349	1365
α-felandreno	1003	1020	(Z)-cariofileno	1409	1429
limoneno	1029	1046	α-cedreno	1412	1450
1,8-cineol	1031	1048	aromadendreno	1441	1464
(E)-β-ocimeno	1050	1053	α-humuleno	1455	1485

A equação obtida para a relação entre os índices de retenção para essa mistura, com coeficiente de determinação (r^2) de 0,998, foi:

$$\text{LTPRI experimental} = 1,033 \text{ LTPRI Adams} - 20,550$$

Este estudo foi realizado com o mesmo conjunto de colunas empregado para os outros experimentos que envolveram cálculos de LTPRI, entretanto, este último experimento foi realizado após alguns dias e depois da retirada e instalação do referido conjunto de colunas. Mesmo assim, o comportamento observado para a

mistura de padrões foi semelhante ao verificado anteriormente com a amostra real (**Figura 42**), apesar da reta obtida relacionando os LTPRI da literatura com os experimentais desviar um pouco das equações obtidas para as amostras reais. A diferença obtida entre as equações da mistura de padrões e da amostra de óleo de *E. dunnii* demonstra que mesmo que a relação obtida tenha sido linear, a aplicação direta dessas equações na identificação tentativa de compostos ainda exige estudos mais detalhados. Entretanto, essa relação pode ser utilizada como mais uma ferramenta para confirmação da identificação tentativa de compostos.

4.2.2.3.2 Identificação espectral

Para que a comparação entre os espectros de massas obtidos por GC/qMS, GC×GC/qMS e GC×GC/TOFMS fosse válida, foi necessário utilizar o mesmo algoritmo de comparação espectral, com a mesma biblioteca de referência. Os softwares ChemStation (Agilent Technology), Class 5K (Shimadzu) e ChromaTof-GC (LECO) dos equipamentos acima citados utilizam algoritmos de comparação espectral diferentes entre si, o que impede uma comparação direta dos dados obtidos por estes equipamentos. Por esse motivo, foi necessário exportar os cromatogramas para o software AMDIS 32, e exportar os espectros de massas selecionados para o software MS Search 2.0, a fim de realizar a comparação dos dados obtidos experimentalmente nos diversos equipamentos com as bibliotecas de espectros de massas. Os softwares Chemstation e ChromaTof-GC exportaram os espectros de massas diretamente para o software MS Search 2.0, não sendo necessária a etapa de transferência para o AMDIS 32. Para este estudo, foi utilizada a biblioteca disponível no software MS Search 2.0 (mainlib) e a biblioteca ADAMS, específica para compostos terpenóides, na opção de similaridade híbrida (lógica de pesquisa normal + perdas neutras). Os valores obtidos para similaridade (S) e reverso (R) para todas as técnicas utilizadas estão apresentados na **Tabela XXIX**. GC×GC/qMS com conjunto convencional de colunas (conjunto 1) apresentou maior número de compostos tentativamente identificados (94) do que GC/qMS (34 compostos), porém com perda de qualidade espectral (resultando em menores valores de S e R). Esta diminuição da qualidade espectral pode ser explicada pela maior velocidade (maior fluxo de massa por pico) dos picos que eluem da segunda dimensão, em comparação com 1D-GC, o que irá introduzir erros de amostragem no

espectrômetro de massas, além de um menor número de varreduras por pico. Entretanto, a utilização de espectrômetros de massas com maior velocidade de varredura (*fast-qMS*) pode minimizar esse efeito, apesar de existirem limitações físicas quanto a taxa de aquisição de sinal para um qMS. Para alguns compostos identificados pelas duas técnicas, e para todos os compostos identificados apenas por GC×GC, a diminuição da co-eluição e maior relação S/N, resultantes do aumento de resolução e sensibilidade, foi muito importante para permitir o aumento de R e S, mesmo quando os espectros de massas obtidos apresentaram menor qualidade do que os obtidos por 1D-GC. Os compostos tentativamente identificados como γ -gurjuneno, ledol, e α -cadinol (picos 84, 95 e 107, **Tabela XXIX**) podem exemplificar os melhores valores obtidos para R e S por GC×GC/qMS, quando comparados à 1D-GC/qMS.

Em comparação ao conjunto de colunas convencional, o conjunto de colunas inverso apresentou um menor número de compostos identificados (31 compostos) por GC×GC/qMS, devido à baixa resolução obtida nas duas dimensões, conforme discutido anteriormente. Nesse caso, o número de compostos tentativamente identificados por GC×GC/qMS (31) foi menor do que por 1D-GC/qMS (34 compostos). Apesar disso, utilizando-se o conjunto de colunas inverso, foi possível identificar tentativamente compostos que não foram detectados quando outro conjunto de colunas foi empregado ou por 1D-GC, (intermedeol e carvacrol). Os cromatogramas e os espectros de massas obtidos para esses compostos, bem como seus espectros de referência, estão apresentados na **Figura 43**. A identificação desses dois compostos em óleos voláteis de *E. dunnii* não foi encontrada na literatura.

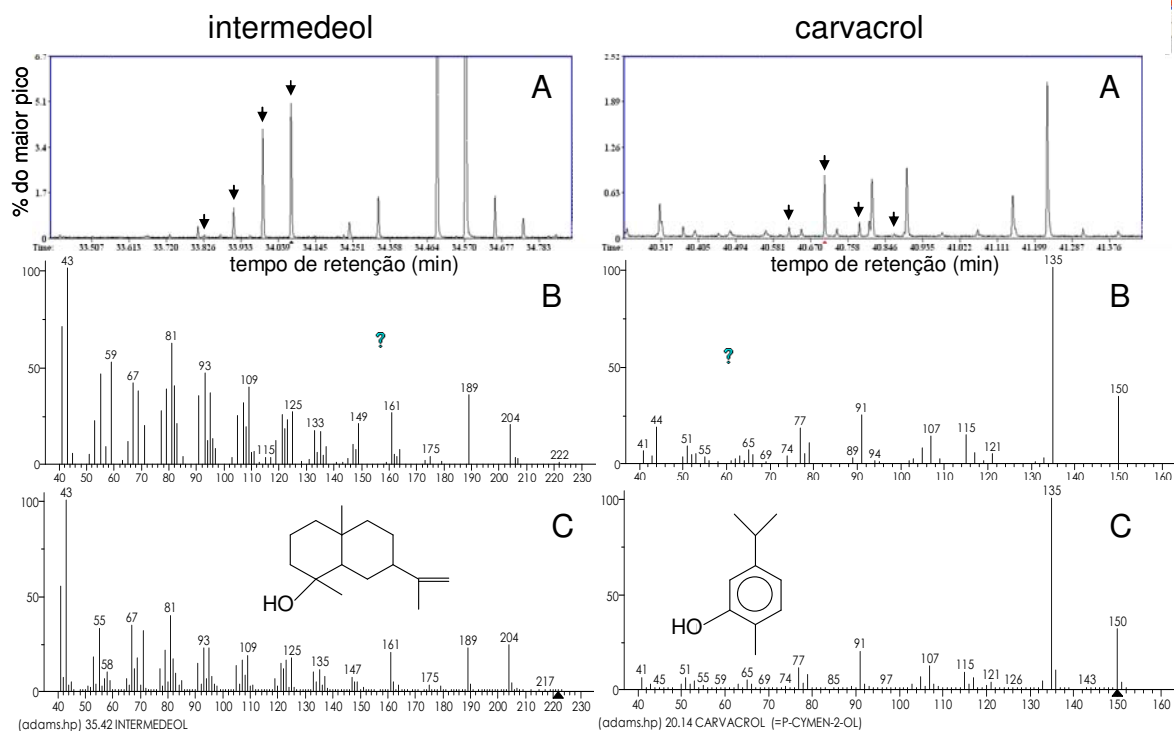


Figura 43. Picos 110 e 111 (**Tabela XXIX**) tentativamente identificados como intermedeol e carvacrol, respectivamente, por GCxGC/qMS utilizando-se um conjunto de colunas inverso (conjunto 3, **Tabela V**). A – cromatogramas GCxGC, B – espectros de massas experimentais; C – espectros de massas de referência¹⁹³. As setas indicam os picos modulados do composto de interesse.

A atividade biológica dos óleos voláteis pode ser dependente de efeitos sinérgicos entre vários compostos^{233,234}, por essa razão, a separação e identificação de todos os compostos presentes nos óleos é de fundamental importância. A possibilidade de separação e identificação de novos compostos nos óleos voláteis por GCxGC é uma grande contribuição para esse campo do conhecimento. Carvacrol pode atuar como fungicida, vermífugo, bactericida, anestésico e anti-inflamatório²³⁵, entre outras propriedades. Intermedeol induz a diferenciação de células humanas (HL-60), além de ter sido reconhecido como repelente de mosquitos²³⁶.

Devido ao aumento de resolução obtido por GCxGC, alguns picos tentativamente identificados por 1D-GC e apresentados na **Tabela XXVIII** foram identificados de forma diferente na **Tabela XXIX**. Exemplos disso são o alo-aromadendreno, que foi identificado como deidro-aromadendreno por GCxGC, o

globulol e o (5-epi-7-epi- α)- β -eudesmol, que não foram identificados por GC \times GC e foram reconhecidos como um grupo de compostos com espectros semelhantes aos dos compostos identificados por 1D-GC, tais como o óxido de cariofileno, e outros picos próximos não identificados, na região do suposto globulol. A **Figura 44** ilustra o pico obtido para o composto identificado como alo-aromadendreno por 1D-GC/qMS, e íons selecionados que ilustram a co-eluição com outros compostos que apresentam os mesmos íons, tais como o m/z 161 em azul que ilustra a co-eluição de pelo menos 3 picos. A **Figura 45** apresenta o TIC e os mesmos íons selecionados para esse pico identificado por GC \times GC/qMS como deidro-aromadendreno. Os três picos modulados apresentam os íons selecionados com a mesma relação de abundância, e sem evidência de co-eluição. A intensidade dos picos modulados também foi visivelmente superior ao pico obtido por 1D-GC apresentado na **Figura 44**. Diferenças entre a identificação dos picos por 1D-GC e GC \times GC demonstradas nas **Tabelas XXVIII** e **XXIX** se originaram no uso dos diferentes algoritmos empregados na comparação dos espectros de massas experimentais com os espectros de massas da biblioteca, além das bibliotecas empregadas terem sido diferentes. Apenas 26 compostos foram tentativamente identificados utilizando-se o algoritmo do software Class 5K (Shimadzu), e 34 compostos utilizando-se o algoritmo do software NIST MS Search 2.0, dos quais 23 foram identificados apenas por um dos softwares, segundo os critérios adotados. Essa diferença na identificação dos picos obtidos por 1D-GC para softwares e bibliotecas diferentes foi bastante significativa, pois os dados foram obtidos com os mesmos espectros de massas para os algoritmos dos dois softwares. Este fato reforça a ineficiência da utilização da 1D-GC e a comparação entre bibliotecas de espectros de massas com apenas uma coluna cromatográfica para a identificação tentativa de compostos.

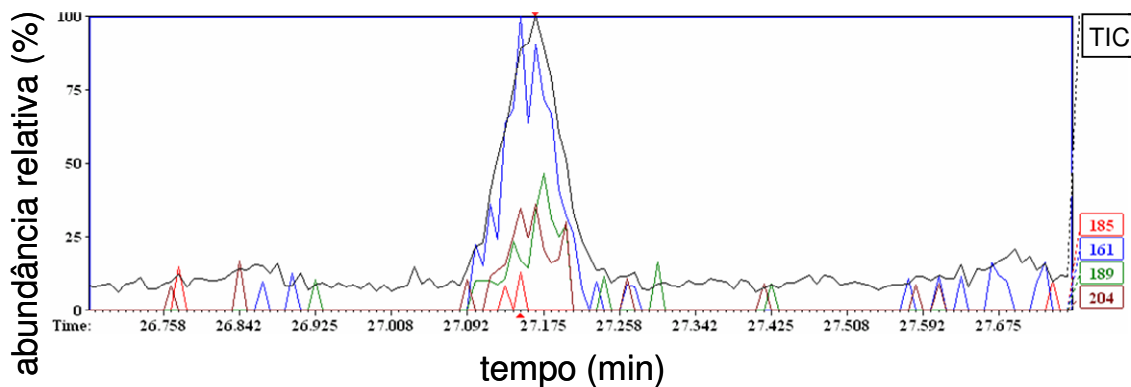


Figura 44. TIC e íons selecionados para o pico identificado como alo-aromadendreno por 1D-GC.

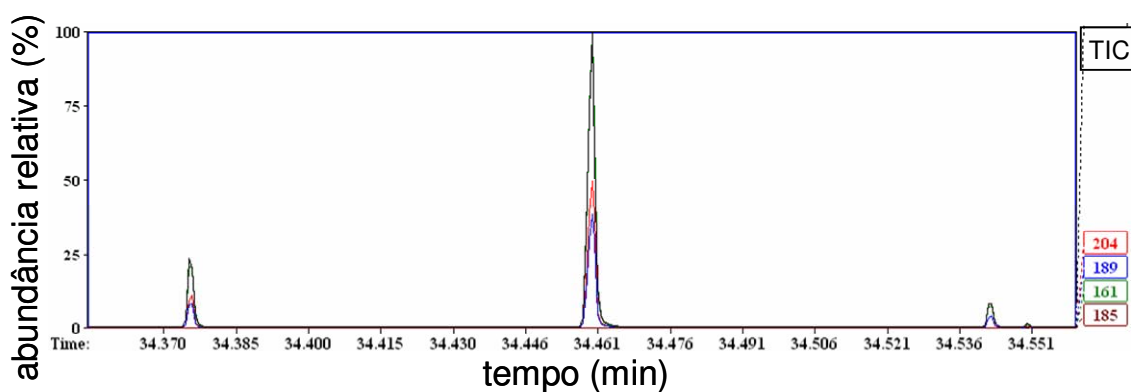


Figura 45. TIC e íons selecionados para o pico identificado como dehidro-aromadendreno por GC×GC/qMS.

Para a separação cromatográfica por GC×GC/TOFMS, foram empregadas apenas as condições que apresentaram os melhores resultados tanto na otimização por GC×GC-FID, como na GC×GC/qMS, ou seja, o conjunto de colunas convencional (conjunto 1, **Tabela V**), e o método cromatográfico descrito na **Tabela VII** para GC×GC/TOFMS. Um diagrama de cores TID obtido para uma amostra de óleo de *E. dunnii* (A), o cromatograma GC×GC (B) e os cromatogramas reconstruídos da primeira (C) e da segunda (D) dimensões estão ilustrados na **Figura 46**. Os cromatogramas reconstruídos das duas dimensões (C e D) permitem confirmar que a separação obtida por GC×GC não poderia ser obtida em apenas uma das dimensões, devido à grande co-eluição dos compostos. Entretanto, o cromatograma de alta resolução gerado por GC×GC (B) não possibilita uma clara visualização dos compostos separados. Esta visualização só é possível no diagrama de cores (A), ou outra representação tridimensional do espaço de separação.

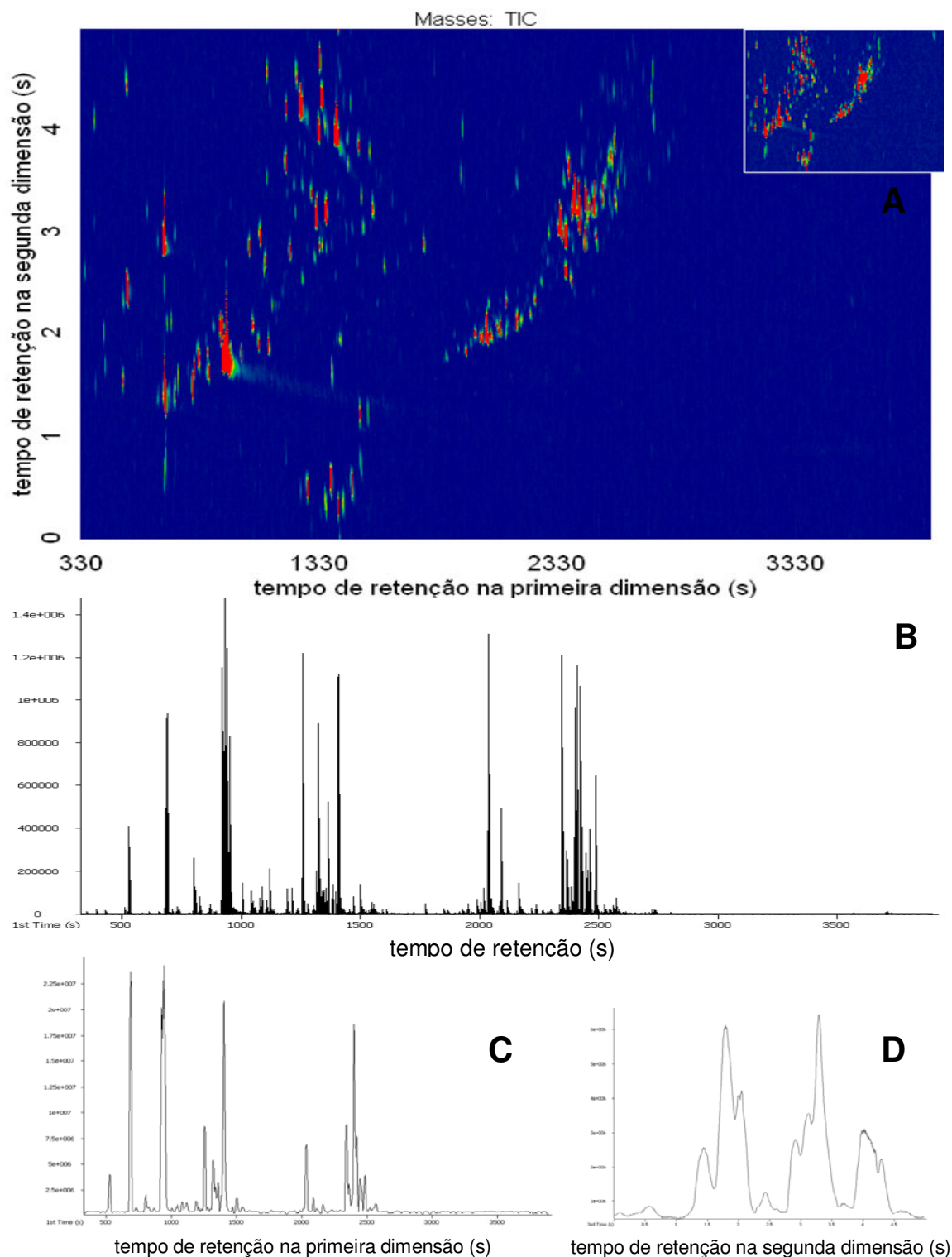


Figura 46. Representações da separação obtida por GCxGC/TOFMS para o óleo de *E. dunni*, onde: A – diagrama de cores do TIC; B – cromatograma GCxGC; C e D – cromatogramas reconstruídos da primeira e da segunda dimensões, respectivamente.

A **Figura 47** ilustra uma das separações obtidas por GC×GC/TOFMS, que se refere aos picos dos compostos *p*-cimeno, limoneno e 1,8-cineol, que não são resolvidos por 1D-GC. Essa separação também mostra o aumento de resolução obtido por essa técnica.

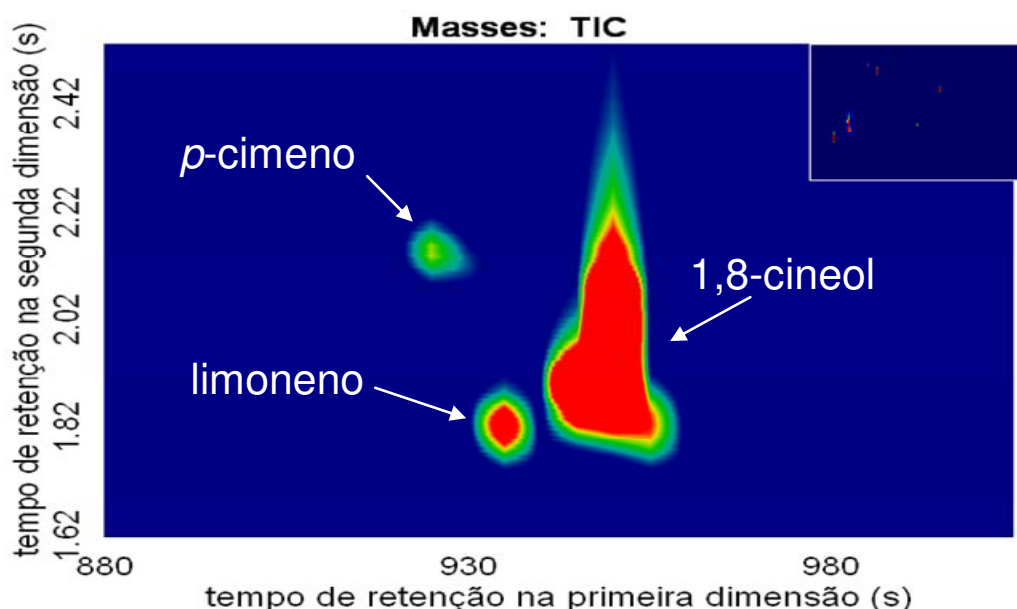


Figura 47. Separação obtida para os compostos *p*-cimeno, limoneno e 1,8-cineol por GC×GC/TOFMS.

Para o diagrama de cores A da **Figura 46** foi construído um diagrama de máximos dos picos tentativamente identificados (**Tabela XXIX**) por essa técnica (**Figura 48**). Este diagrama auxilia na visualização do agrupamento das classes químicas presentes, principalmente em amostras onde o efeito telhado não é muito evidente. Na região compreendida entre as duas partes do grupo E (álcoois monoterpênicos) foi identificada uma sobreposição de classes entre hidrocarbonetos monoterpênicos e outros monoterpênicos oxigenados, tais como cetonas e aldeídos (picos 25 a 68).

Uma maneira mais rápida de identificar a presença de separação por classes químicas, sem a necessidade de identificação pico a pico é a construção de diagramas de cores com a seleção de íons característicos de uma determinada classe química. A **Figura 49** ilustra a seleção de íons característicos de terpenos (m/z 93), sesquiterpenos (m/z 161), e sesquiterpenos oxigenados (m/z 222), a partir do TID apresentado na **Figura 46**. Estas regiões podem ser confirmadas no

diagrama de ápices apresentado na **Figura 48**, e pela tabela de identificação tentativa dos compostos (**Tabela XXIX**).

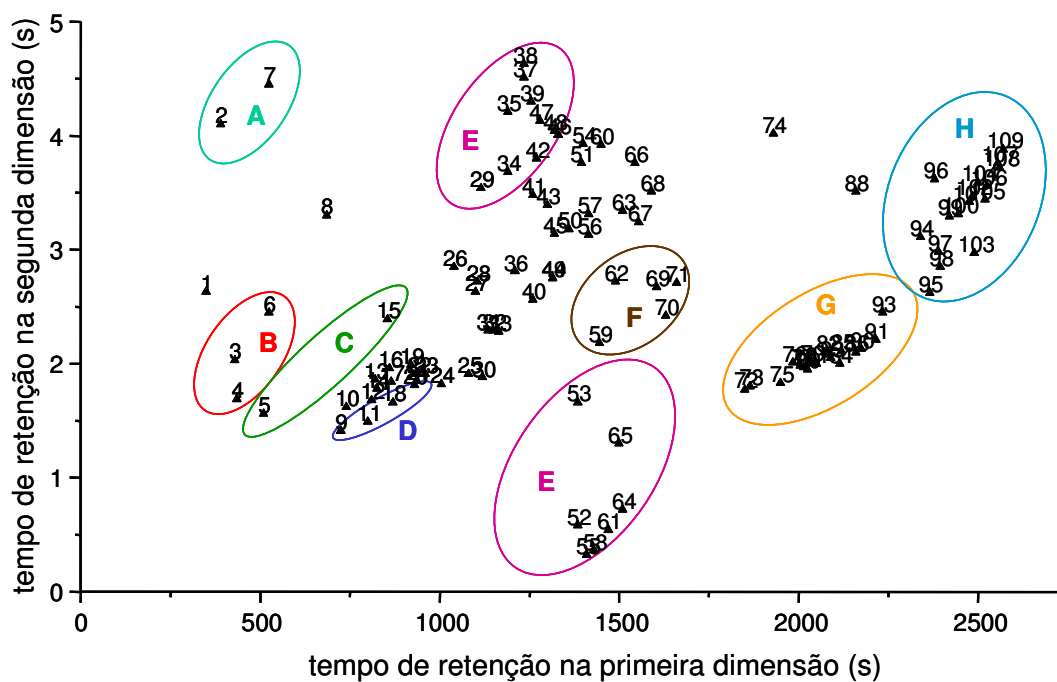


Figura 48. Diagrama de máximos obtido para os picos tentativamente identificados por GC×GC/TOFMS para o óleo de *E. dunnii*, com apresentação de agrupamentos de compostos conforme as classes químicas. Identificação tentativa dos picos numerados está na **Tabela XXIX**. A – álcoois lineares; B – aldeídos; C – acetatos; D – hidrocarbonetos monoterpênicos; E – álcoois monoterpênicos; F – acetatos monoterpênicos; G – hidrocarbonetos sesquiterpênicos; H – sesquiterpenos oxigenados.

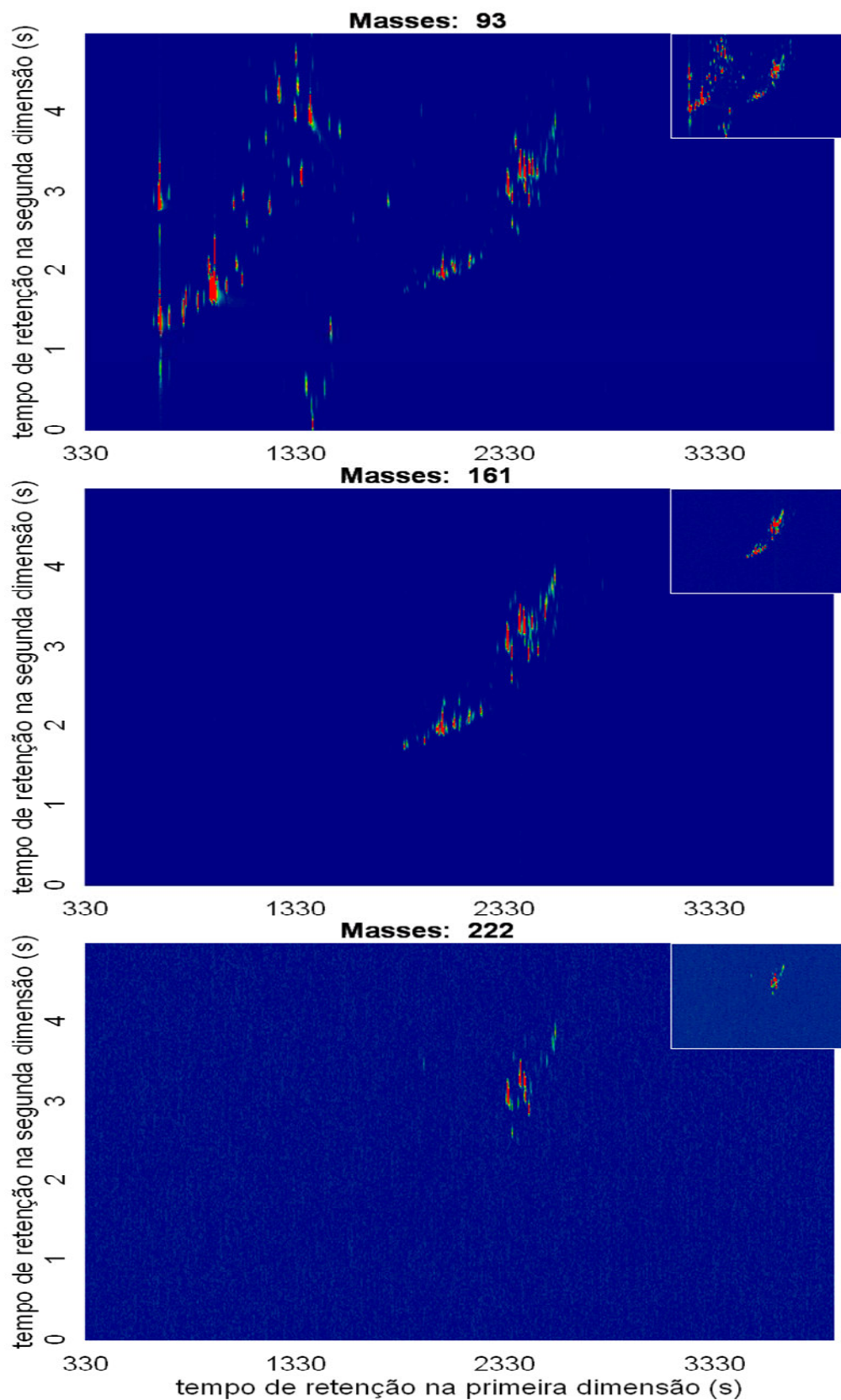


Figura 49. Seleção de íons característicos de terpenos (m/z 93), sesquiterpenos (m/z 161), e sesquiterpenos oxigenados (m/z 222), de diagramas de cores obtidos por GC \times GC/TOFMS para o óleo de *E. dunnii*.

4.2.3 *Psidium guajava*

4.2.3.1 Identificação tentativa dos compostos do óleo volátil de *P. guajava* por 1D-GC

A estratégia adotada para a identificação tentativa dos compostos presentes no óleo volátil de *P. guajava* foi idêntica àquela descrita para o óleo de *E. dunnii*. As **Figuras 50 a 52** apresentam o cromatograma 1D obtido para o óleo de *P. guajava*. A **Tabela XXXI** apresenta a identificação tentativa dos compostos deste óleo, e a comparação dos LTPRI obtidos experimentalmente com aqueles da literatura^{4-6,193}.

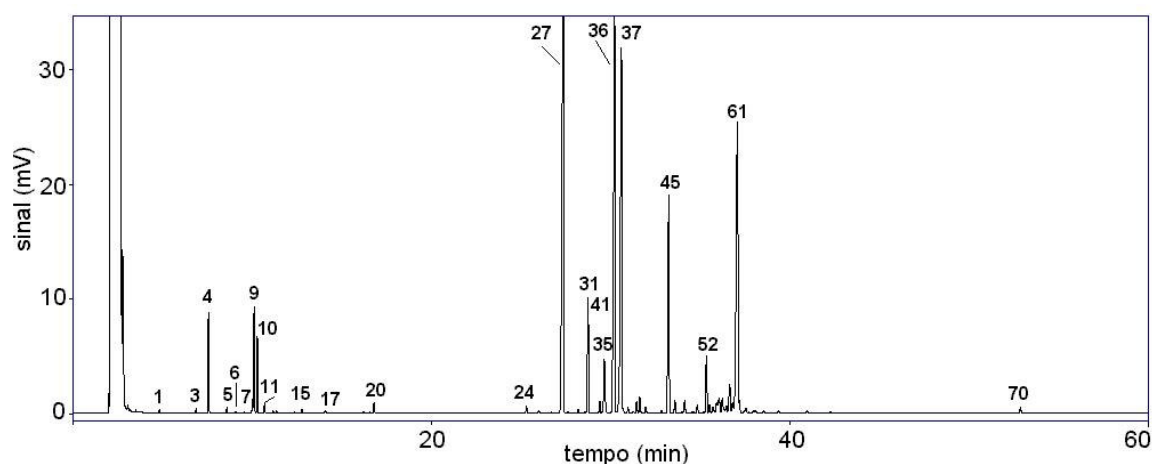


Figura 50. Cromatograma obtido por GC-FID para os compostos do óleo volátil de *P. guajava*, obtido por hidrodestilação. Condições cromatográficas apresentadas na **Tabela VII**. Identificação tentativa dos compostos está apresentada na **Tabela XXXI**.

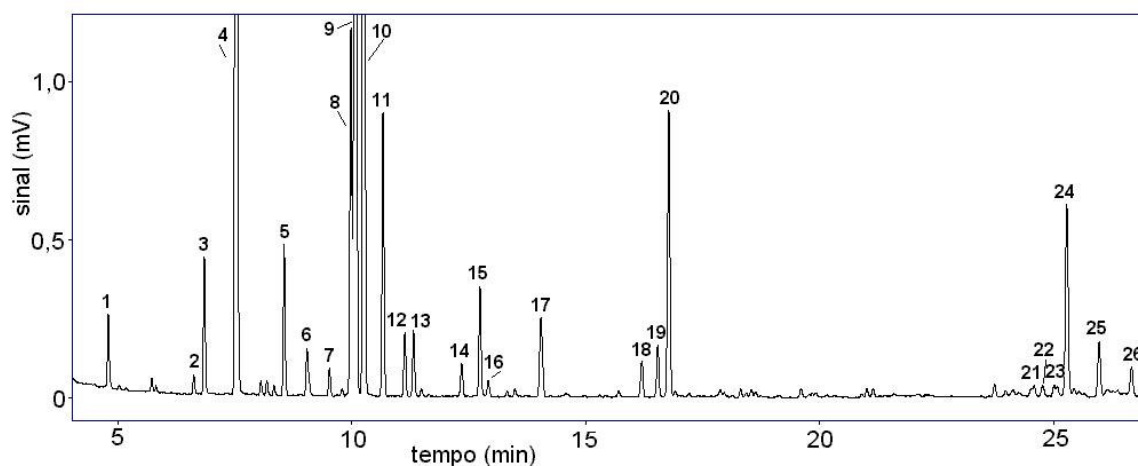


Figura 51. Primeira parte do cromatograma apresentado na **Figura 50**, expandida.

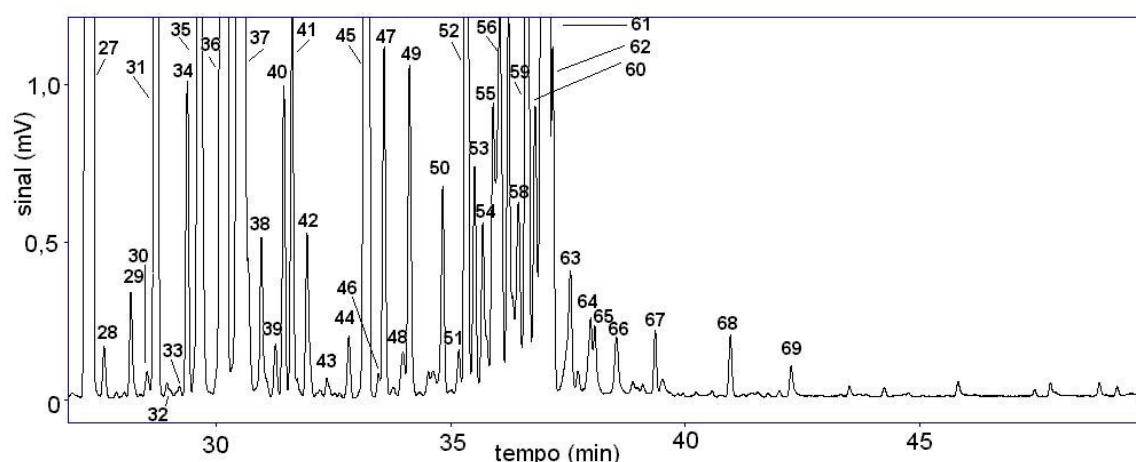


Figura 52. Segunda parte do cromatograma apresentado na **Figura 50**, expandida.

Tabela XXXI. Identificação tentativa por GC/qMS dos compostos presentes no óleo volátil de *P. guajava* obtido por hidrodestilação. t_R – tempo de retenção no GC-FID.

Nº Composto	t_R	%semelhança	LTPRI	LTPRI ¹⁹³	LTPRI ⁴	LTPRI ⁵	LTPRI ⁶
1 ni	4,76	-	864	-	-	-	-
2 α -tujeno	6,59	-	923	930	-	-	-
3 α -pineno	6,81	95	931	939	937	939	941
4 benzaldeído	7,50	99	953	960	963	960	-
5 mirceno	8,52	93	986	991	989	991	988
6 ni	9,01	-	1001	-	-	-	-
7 α -terpineno	9,49	85	1013	1017	-	-	-
8 limoneno	9,95	95	1025	1029	1029	1029	1024
9 1,8-cineol	10,05	95	1027	1031	1030	-	-
10 (<i>Z</i>)- β -ocimeno	10,23	97	1032	1037	1037	1037	1038
11 (<i>E</i>)- β -ocimeno	10,64	95	1042	1050	1047	1050	-
12 γ -terpineno	11,10	90	1054	1060	1063	1060	1052
13 ni	11,29	-	1059	-	-	-	-
14 terpinoleno	12,32	89	1085	1089	1087	-	1083
15 linalol	12,71	94	1094	1097	1098	1097	-
16 ni	12,89	-	1099	-	-	-	-
17 alo-ocimeno	14,01	81	1124	1132	1132	1132	-
18 4-terpineol	16,17	87	1173	1177	1177	1177	1165
19 (<i>E</i>)-3- butanoato de hexenila	16,51	96	1180	1186	1186	-	-
20 α -terpineol	16,75	94	1186	1189	1192	1189	1175
21 ni	24,56	-	1359	-	-	-	-
22 ni	24,74	-	1363	-	-	-	-
23 ni	25,05	-	1370	-	-	-	-
24 α -copaeno	25,26	93	1374	1377	1378	-	1380

25 β -elemeno	25,95	92	1390	1391	1392	-	-
26 (Z)-cariofileno	26,64	90	1406	1409	-	-	1411
27 β -cariofileno	27,32	95	1421	1419	1420	1419	1423
28 copaeno	27,57	85	1427	1432	-	-	-
29 ni	28,15	-	1441	-	-	-	-
30 hidrocarboneto sesquiterpênico	28,49	-	1449	-	-	-	-
31 α -humuleno	28,70	96	1453	1455	1454	-	1456
32 β -santaleno	28,92	81	1458	1460	1465	-	-
33 hidrocarboneto sesquiterpênico	29,19	-	1465	-	-	-	-
34 hidrocarboneto sesquiterpênico	29,35	-	1469	-	-	-	-
35 β -chamigreno	29,61	87	1475	1478	1477	-	-
36 β -selineno	30,18	95	1488	1490	1490	1490	1492
37 α -selineno	30,56	95	1497	1498	1494	1493	1496
38 β -bisaboleno	30,93	93	1505	1506	1510	-	1505
39 amorfeno	31,23	90	1513	1512	-	1512	-
40 hidrocarboneto sesquiterpênico	31,41	-	1517	-	-	-	-
41 γ -cadineno	31,59	93	1521	1523	1514	1514	1522
42 bisaboleno	31,91	86	1529	1531	1535	-	-
43 hidrocarboneto sesquiterpênico	32,33	-	1539	-	-	-	-
44 ni	32,80	-	1551	-	-	-	-
45 E-nerolidol	33,21	95	1561	1563	1567	1563	1553
46 Z-nerolidol	33,43	94	1566	-	-	-	-
47 ni	33,55	-	1569	-	-	-	-
48 ni	33,95	-	1579	-	-	-	-
49 óxido de cariofileno	34,09	93	1582	1583	1583	1583	1565
50 viridiflorol	34,80	88	1600	1593	-	-	1601
51 ni	35,15	-	1608	-	-	-	-
52 5-epi-7-epi- α -eudesmol	35,31	83	1612	1608	-	-	-
53 sesquiterpeno oxigenado	35,48	-	1617	-	-	-	-
54 sesquiterpeno oxigenado	35,66	-	1621	-	-	-	-
55 hidrocarboneto sesquiterpênico	35,88	-	1627	-	-	-	-
56 γ -eudesmol	36,01	93	1630	1632	-	-	-
57 sesquiterpeno oxigenado	36,20	-	1635	-	-	-	-
58 α -cadinol	36,42	85	1641	1640	1647	-	1643
59 torreiol	36,60	94	1645	1646	-	1646	-
60 β -eudesmol	36,77	85	1650	1651	1650	1651	-
61 selin-11-en-4- α -ol	37,05	88	1657	1660	1655	1660	-
62 sesquiterpeno oxigenado	37,15	-	1659	-	-	-	-
63 hidrocarboneto sesquiterpênico	37,52	-	1669	-	-	-	-
64 β -bisabolol	37,96	87	1680	1675	1673	-	-
65 hidrocarboneto sesquiterpênico	38,05	-	1682	-	-	-	-
66 sesquiterpeno oxigenado	38,51	-	1694	-	-	-	-
67 (Z,Z)-farnesol	39,34	87	1716	1718	-	-	-
68 benzoato de benzila	40,94	92	1759	1760	-	-	-
69 ni	42,24	-	1794	-	-	-	-
70 ni	52,85	-	2106	-	-	-	-

Silva e colaboradores⁴ estudaram a composição do óleo essencial das folhas de 4 espécies *Psidium*, sendo que, no óleo volátil de *P. guajava* foram identificados 39 compostos. Dos compostos identificados nas 4 espécies, 31 foram também identificados no presente trabalho. Sacchetti e colaboradores⁵ identificaram 39 compostos no óleo volátil de *P. guajava*, dos quais 21 foram os mesmos compostos identificados experimentalmente no presente trabalho. No trabalho de Ogunwande e colaboradores⁶, 42 compostos foram identificados em um óleo de *P. guajava* da Nigéria. Vinte desses compostos foram os mesmos identificados no presente trabalho. A variação dos índices de retenção verificada nos diferentes trabalhos pode ser resultante de pequenas variações instrumentais e da diferença nas dimensões das colunas cromatográficas utilizadas, embora tenha sido empregado o mesmo tipo de fase estacionária de diferentes fabricantes.

4.2.3.2 Identificação tentativa dos compostos do óleo volátil de *P. guajava* por GC×GC

Para o óleo de *P. guajava* foram realizados os mesmos estudos de otimização das condições de separação dos componentes por GC×GC, tais como dimensões e geometria de colunas (conjunto convencional e conjunto inverso), comparações entre detectores de massas do tipo quadrupolo e por tempo de voo, etc. Entretanto, as observações realizadas confirmaram o que já havia sido verificado para o óleo de *E. dunnii* e, portanto, não serão novamente apresentadas. No caso do óleo de *P. guajava*, serão apresentados apenas os resultados obtidos para o melhor sistema, ou seja, GC×GC/TOFMS com geometria convencional (conjunto de colunas 1 da **Tabela V**, e condições cromatográficas da **Tabela VII**). A etapa de identificação tentativa, por comparação dos espectros de massas obtidos experimentalmente com espectros de massas das bibliotecas NIST e Adams foi realizada com o software ChromaTof-GC 2.2. Os diagramas de cores obtidos para essa amostra estão ilustrados na **Figura 53**. Nesta figura, são apresentados o TID, diagramas de íons selecionados característicos de sesquiterpenos (m/z 161) e sesquiterpenos oxigenados (m/z 222), ilustrando o agrupamento por classes semelhante ao observado para o óleo de *E. dunnii*. Na **Tabela XXXII** estão os compostos tentativamente identificados, os LTPRI obtidos experimentalmente, LTPRI reportados na literatura, e os valores de S, R e P obtidos na comparação dos

espectros com a biblioteca de espectros de massas. Os compostos marcados com (*) tiveram sua identidade confirmada através de injeção de composto padrão.

A comparação entre os LTPRI obtidos experimentalmente e os LTPRI de referência¹⁹³ gerou o gráfico apresentado na **Figura 54**. Nesta Figura também estão representados os padrões analíticos listados na **Tabela XXX**. A equação da reta obtida para os dados GC×GC/TOFMS foi:

$$\text{LTPRI experimental} = 1,006 \text{ LTPRI Adams} + 5,578$$

O coeficiente de determinação (r^2) para essa reta foi de 0,996. A relação obtida entre os compostos padrão e os dados de referência já foi discutida anteriormente.

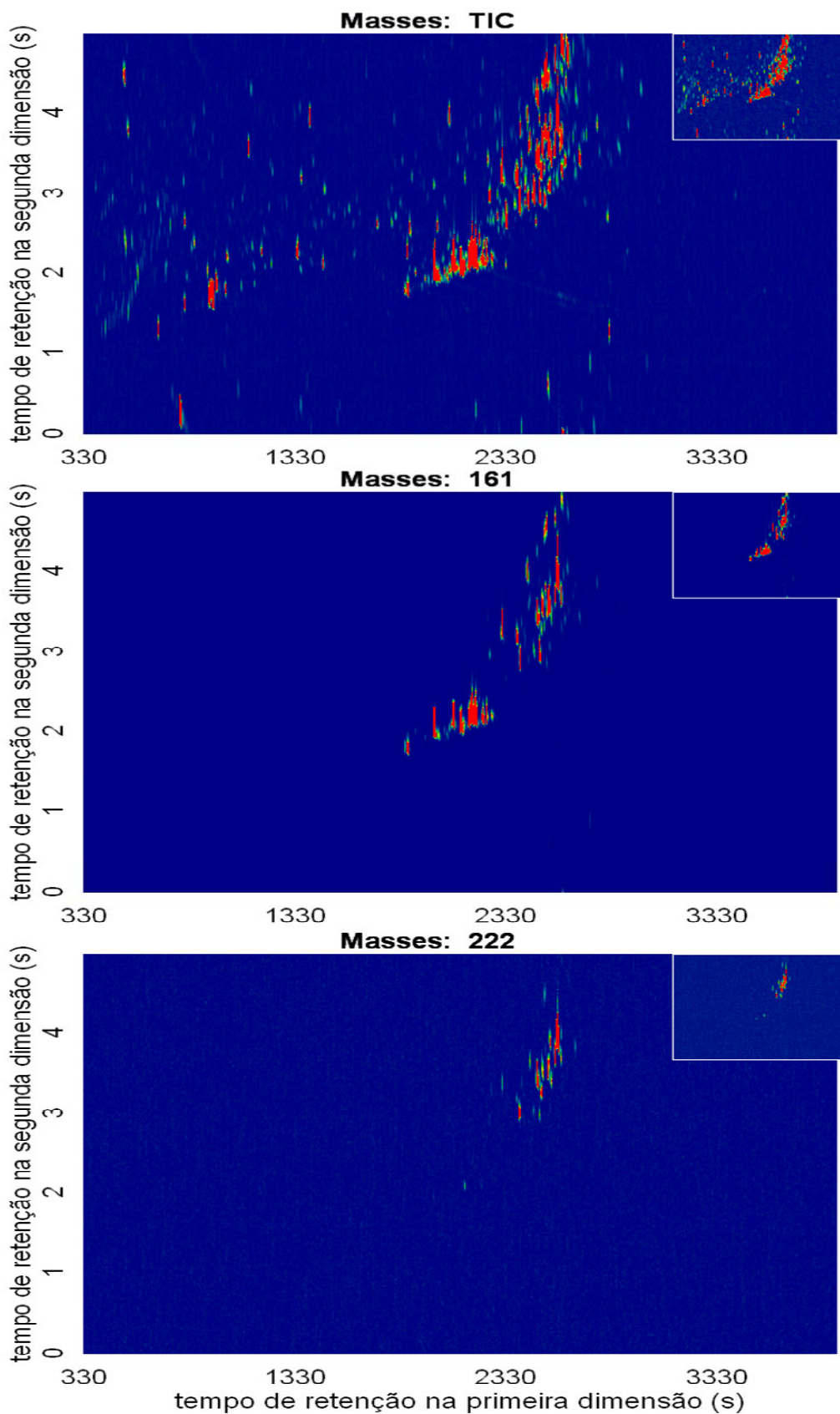


Figura 53. Diagrama de íons total (TID) GC×GC/TOFMS e diagramas de íons selecionados característicos de sesquiterpenos (m/z 161), e sesquiterpenos oxigenados (m/z 222), para o óleo de *P. guajava*.

Tabela XXXII. Identificação tentativa dos compostos presentes no óleo volátil de *P. guajava* utilizando-se GC×GC/TOFMS.

Nº	¹ t _R	² t _R	Composto	LTPRI	LTPRI ¹⁹³	S	R	P
1	390	1,59	1,3,5-cicloheptatrieno	787		957	957	4560
2	415	1,71	2-hexanona	800		973	973	7928
3	430	3,31	hexanal*	809	802	965	965	9750
4	430	2,00	(Z)-3-hexenal	809		906	906	7065
5	435	1,35	2-etil-5-metil-tetrahidrofurano	812		921	921	7068
6	500	2,44	3-hexen-2-ona	849		947	947	7115
7	525	4,46	3(Z)-hexenol*	b 864	859	973	973	8236
8	525	2,47	2(E)-hexenal	b 864	855	959	959	9495
9	535	1,69	2-metil-hexanal	869		915	942	6896
10	540	1,85	etilbenzeno	872		944	944	6274
11	540	4,81	(Z)-2-hexenol	874	859	926	926	6609
12	545	3,79	n-hexanol*	875	871	979	979	9238
13	550	3,43	2-hepten-4-ol	878		874	874	6477
14	580	1,88	3-heptanona	895		945	945	8719
15	590	2,04	2-heptanona	900	892	933	933	8332
16	600	2,81	5-metil-3-hexanol	905		897	923	7274
17	610	2,22	2,4-dimetil-ciclopentanona	909		944	944	7544
18	625	2,82	ciclohexanona	916		943	943	6774
19	625	2,40	4-heptenal	915		853	853	5826
20	650	2,23	propanoato-2-buten-1-ol	926		952	952	9127
21	665	2,53	4,6-dimetil-2,7-nonadien-5-ona	932		939	997	8325
22	680	2,45	4-metil-4-hexen-3-ona	939		955	955	6464
23	685	1,32	α-pineno*	ab 941	939	959	959	4680
24	695	2,67	(E)-3-hepten-2-ona	945		947	947	7016
25	705	3,07	3,4-dimetil-2-ciclopenten-1-ona	950		841	841	2955
26	745	2,62	2-metil-ciclohexanona	967		950	950	7928
27	755	2,83	3-metil-ciclohexanona	971	952	959	959	9597
28	790	0,32	benzaldeído	a 985	960	970	970	9845
29	800	1,18	2,2-dimetil-decano	989		925	925	1203
30	810	1,66	mirceno*	ab 994	991	956	956	8911
31	810	2,66	6-metil-5-hepten-2-ona	994	986	944	956	9380
32	820	2,30	2-octanona	998	991	929	965	4969
33	820	1,98	2-pentil-furano	998		905	905	7206
34	840	3,54	3-metil-3-ciclohexen-1-ona	1007		832	832	3538
35	850	3,78	2-metil-2-ciclohexen-1-ona	1010		802	802	1011
36	855	2,40	3-(Z)- acetato de hexenila	b 1012	1005	978	978	5166
37	855	3,88	(E,E)-2,4-heptadienal	1012		892	892	6435
38	865	3,48	2-metil-2-ciclohexen-1-ona	1016		915	915	6722
39	920	2,06	α-cimeno	1036	1026	961	961	6509
40	930	1,86	(Z)-β-ocimeno	ab 1040	1037	952	952	6176
41	930	1,72	limoneno*	ab 1040	1029	899	899	2464
42	940	1,79	1,8-cineol*	ab 1044	1031	811	811	7138
43	955	2,24	2,2,6-trimetil-ciclohexanona	1049		951	951	9569
44	960	1,90	(E)-β-ocimeno*	ab 1051	1050	947	947	5114
45	1000	0,95	fenil acetaldeído	1066	1042	922	922	9789
46	1005	1,82	γ-terpineno*	ab 1068	1060	818	818	3890
47	1065	0,55	acetofenona	1090	1065	966	966	6405
48	1080	1,85	terpinoleno	ab 1096	1085	928	928	1836

49	1085	2,25	2-(Z)-butanoato de pentenila		1098		936	936	9493
50	1085	2,95	Óxido de (E)-linalol		1099	1087	931	931	5271
51	1105	2,29	(Z)-propanoato de 3-hexen-1-ol		1106		908	908	5236
52	1115	3,53	linalol	ab	1110	1097	943	943	8673
53	1130	2,36	nonanal		1115	1101	881	881	6100
54	1140	2,09	valerato de 4-pentenila		1118		864	864	1807
55	1175	2,29	2,3-dimetil-1,4-hexadieno		1131		921	921	3501
56	1190	2,10	alo-ocimeno	a	1137	1132	961	961	5266
57	1330	4,01	δ -terpineol	b	1188	1166	905	905	9427
58	1345	2,27	(E)-butanoato de 3-hexenila	a	1193		974	974	5320
59	1355	0,39	(Z)-1,4-hexadieno		1196		817	846	2011
60	1360	3,20	4-terpineol	ab	1199	1177	937	937	9613
61	1400	3,95	α -terpineol*	ab	1214	1189	928	928	8540
62	1410	0,10	salicilato de metila		1216	1192	906	906	9822
63	1420	3,40	safranal		1221	1197	953	953	9350
64	1430	2,60	3-hexen-2-ona		1225		928	975	6279
65	1465	2,12	pentanoato de 4-hexen-1-ila		1237		902	902	2698
66	1470	3,06	2,6,6-trimetil-1-ciclohexeno-1-carboxaldeído		1240		906	906	6523
67	1490	2,79	2-butenoato de (E,Z)-3-hexenila		1247		895	895	9136
68	1565	2,77	2,6,6-trimetil-1-ciclohexeno-1-acetaldeído		1275		844	844	6414
69	1610	2,25	pentanoato de 4-hexen-1-ila		1291		922	922	4734
70	1730	3,67	(E,E)-2,4-decadienal		1337	1317	939	939	6812
71	1790	2,64	acetato de α -terpenila *		1360	1349	901	901	4222
72	1790	3,07	5,6-dietil-ciclohexa-1,3-dieno		1360		844	872	3264
73	1800	3,94	butanoato de benzila		1364	1347	924	924	7663
74	1805	2,73	acetato de nerila		1366	1362	861	861	1116
75	1830	2,89	1,2-didro-1,5,8-trimetil-naftaleno		1376		889	889	4122
76	1840	3,43	butanoato de 1-feniletila		1380		918	918	8494
77	1850	1,79	α -ilangeno		1383	1375	898	898	4970
78	1850	1,87	isoledeno	b	1383	1376	833	833	1087
79	1860	2,79	acetato de nerila		1387	1362	933	933	4857
80	1865	2,27	hexanoato de (Z)-3-hexenila		1389		943	943	6377
81	1870	1,79	α -copaeno	ab	1391	1377	930	930	5110
82	1875	2,07	hexanoato de hexila		1393		866	903	8773
83	1885	3,21	(E)- β -damascenona		1397	1385	902	902	5268
84	1900	2,03	β -elemeno	a	1402	1391	945	945	7302
85	1900	3,49	pentanoato de fenilmetila		1403		879	879	4372
86	1980	1,95	(Z)-cariofileno*	ab	1437	1419	965	965	5511
87	1990	3,12	(E)- α -ionona		1439	1430	918	918	7366
88	2015	1,93	α -guaieno		1449	1440	860	860	1060
89	2030	2,18	óxido de cabreúva A		1455	1447	925	925	6174
90	2040	2,92	geranil acetona		1460	1455	933	933	7443
91	2060	3,96	3-metil-benzoato-3-buten-1-ol		1468		908	908	7678
92	2075	2,00	β -santaleno	a	1474	1460	885	885	5868
93	2075	2,20	óxido de cabreúva B		1474	1464	866	866	3528
94	2080	2,15	α -humuleno	ab	1477	1455	956	956	8815
95	2090	2,04	megastigma-7(E),9,13-trieno		1480		858	878	2832
96	2095	2,28	tujopsadieno		1482	1468	812	812	2242
97	2120	2,32	óxido de cabreúva D		1492	1480	820	820	3085
98	2130	2,13	dehidro-aromadendreno		1496	1463	872	872	2022
99	2130	2,35	curcumeno		1496	1481	842	842	6967
100	2135	3,21	(E)- β -ionona		1499	1489	906	906	9235
101	2145	3,57	Epóxido de α -ionona		1503		957	957	7699

102	2155	2,25	β -bisaboleno	a	1507	1506	827	827	4663
103	2160	2,18	valenceno		1509	1496	926	926	2259
104	2165	2,21	β -selineno	a	1512	1490	922	922	4716
105	2180	2,13	α -selineno	a	1519	1498	957	957	4282
106	2185	0,30	(<i>E</i>)-metil isoeugenol		1519	1492	926	926	4942
107	2220	2,19	δ -amorfenol	a	1534	1512	934	934	6422
108	2235	2,13	(<i>E</i>)- γ -bisaboleno		1541	1531	893	893	5328
109	2240	2,42	(<i>E</i>)-calameneno	b	1543	1529	921	921	5378
110	2240	2,20	7- <i>epi</i> - α -selineno		1543	1522	892	892	5327
111	2260	2,23	(<i>E</i>)-cadina-1,4-dieno		1551	1496	920	920	6648
112	2265	2,11	(<i>Z</i>)- α -bisaboleno		1553	1507	873	873	5392
113	2290	2,73	α -calacoreno		1564	1546	903	903	7610
114	2310	3,97	3,7,11-trimetil-1,6,10-dodecatrien-3-ol		1573		904	904	4669
115	2315	3,24	(<i>E</i>)-nerolidol	a	1575	1563	954	954	6705
116	2315	3,59	(<i>Z</i>)-nerolidol		1575	1533	923	923	3619
117	2360	3,77	benzoato de 3-(<i>Z</i>)-hexenila		1595	1567	943	943	9670
118	2380	3,19	cariolan-8-ol		1603	1573	941	941	7550
119	2390	3,01	gleenol	b	1607	1587	949	949	8763
120	2400	2,84	óxido de cariofileno	ab	1612	1583	950	950	8202
121	2405	0,11	(<i>Z</i>)-asarona		1613	1617	829	829	3851
122	2445	3,66	1,5,5,8-tetrametil-3,7-ciclundecadien-1-ol		1632		939	939	8850
123	2460	3,05	epóxido II de humuleno		1638	1608	875	875	7406
124	2475	3,41	neo-intermedeol	b	1645	1660	931	938	6310
125	2485	3,46	cusinol	b	1650	1680	828	828	2721
126	2490	3,00	1- <i>epi</i> -cubenol	b	1652	1629	934	934	6336
127	2505	3,50	γ -eudesmol	a	1659	1632	838	838	3989
128	2505	3,56	eremoligenol	b	1659	1631	811	811	4976
129	2510	3,34	1,10-di- <i>epi</i> -cubenol		1661	1619	863	863	3555
130	2510	4,46	14-hidróxi- α -humuleno		1661	1714	811	811	1458
131	2515	3,80	selina-3,11-dien-6- α -ol		1663	1644	851	851	5013
132	2525	4,53	cariofila-4(14),8(15)-dien-5- α -ol		1668	1641	907	907	4507
133	2525	2,85	cubenol		1667	1647	905	905	3665
134	2525	3,59	τ -muurolol	b	1668	1642	881	882	3562
135	2525	3,45	τ -cadinol		1668	1640	877	877	4688
136	2530	0,63	(<i>E</i>)-asarona		1668	1676	857	857	6420
137	2545	3,40	intermedeol		1676	1667	891	898	4140
138	2560	3,73	α -eudesmol		1683	1654	895	895	5018
139	2565	3,75	β -eudesmol	ab	1685	1651	926	926	9680
140	2575	3,16	<i>epi</i> - β -bisabolol	a	1690	1672	906	906	5485
141	2580	3,92	neo-intermedeol	b	1692	1660	947	967	5271
142	2590	3,69	intermedeol		1697	1667	934	938	5512
143	2595	4,89	14-hidróxi-9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-cariofileno		1699	1670	892	892	4761
144	2600	3,58	cadaleno		1701	1677	898	898	8074
145	2610	3,41	<i>epi</i> - α -bisabolol		1706	1685	928	928	4162
146	2625	3,54	ciclocolorenona		1713	1761	835	835	3474
147	2820	1,31	benzoato de benzila	a	1805	1760	935	935	8431

S – similaridade; R – reverso; P – probabilidade; * confirmação de identidade realizada com compostos padrão; a – compostos identificados tentativamente por 1D-GC; b – compostos tentativamente identificados no óleo de *E. dunnii* por GC \times GC/TOFMS.

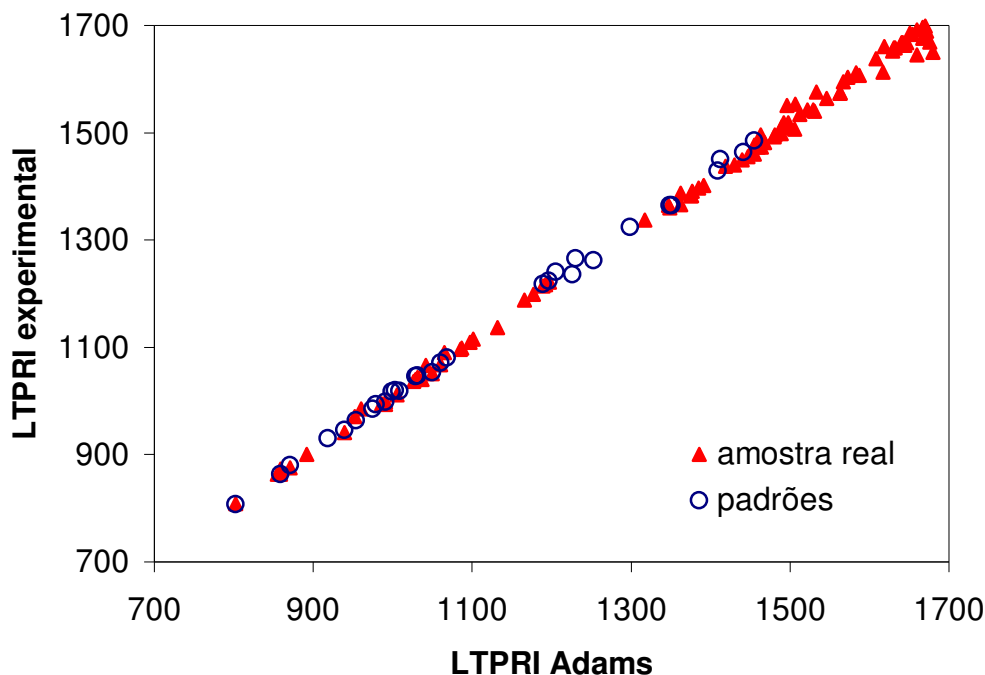


Figura 54. Relação existente entre LTPRI de referência¹⁹³ e os LTPRI obtidos por GC×GC/TOFMS, para o óleo volátil de *P. guajava*.

Por 1D-GC foram detectados 70 picos no óleo volátil de *P. guajava*, dos quais foram tentativamente identificados 43 compostos (**Tabela XXXI**), enquanto que por GC×GC foram detectados 387 picos, e identificados tentativamente 147 compostos (**Tabela XXXII**). Dos 147 picos tentativamente identificados, 29 também foram identificados por 1D-GC. Entretanto, alguns picos foram tentativamente identificados como compostos diferentes, tal como o 5-epi-7-epi- α -eudesmol (pico 52 da **Tabela XXXI**), que foi identificado por 1D-GC, mas não foi identificado por GC×GC. A região de eluição desse pico no diagrama de cores obtido por GC×GC/TOFMS está ilustrada na **Figura 55**. O pico identificado por 1D-GC como 5-epi-7-epi- α -eudesmol poderia estar na região do pico 125, tentativamente identificado como neo-intermedeol (**Tabela XXXII**). A separação entre os picos 125, 126 e 127 não foi possível por 1D-GC. A **Figura 56** apresenta os espectros de massas obtidos para esses três picos por GC×GC, e a **Figura 57** ilustra o pico 52 obtido por 1D-GC, e alguns íons selecionados que demonstram uma possível co-eluição, e o espectro de massas experimental. Esses íons não são abundantes no espectro de massas desse pico, mas foram selecionados por demonstrarem a possibilidade da presença de mais de uma substância. Quando os íons mais abundantes desse espectro de

massas foram selecionados (não apresentado), não apareceram evidências de co-eluição. Como vários íons que estão presentes nos três espectros da **Figura 56** apresentam abundâncias relativas semelhantes, não seria possível realizar uma deconvolução espectral para isolar os compostos neste pico obtido por 1D-GC. Além disso, a presença do íon com m/z 222 no espectro de massas obtido para esse pico, ainda sugere uma coeluição com um sesquiterpeno oxigenado. Sendo assim, o aumento da resolução obtida por GC×GC em comparação à 1D-GC permite uma identificação tentativa com espectros de massas com menor número de interferentes, mas não necessariamente isentos deles, devido a possibilidade de co-eluição ainda estar presente, mesmo por GC×GC. Além disso, os LTPRI obtidos em diferentes conjuntos de colunas possibilitam um aumento na qualidade da identificação tentativa de compostos de óleos voláteis de plantas.

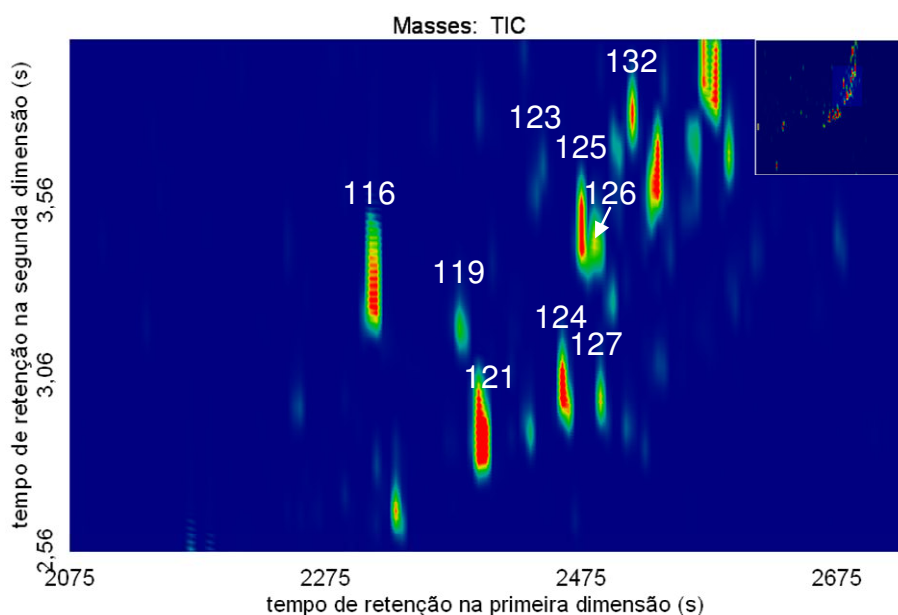


Figura 55. Região do diagrama de cores do óleo de *P. guajava* obtido por GC×GC/TOFMS, correspondente à região do 5-epi-7-epi- α -eudesmol em 1D-GC. Identificação tentativa dos picos está apresentada na **Tabela XXXII**.

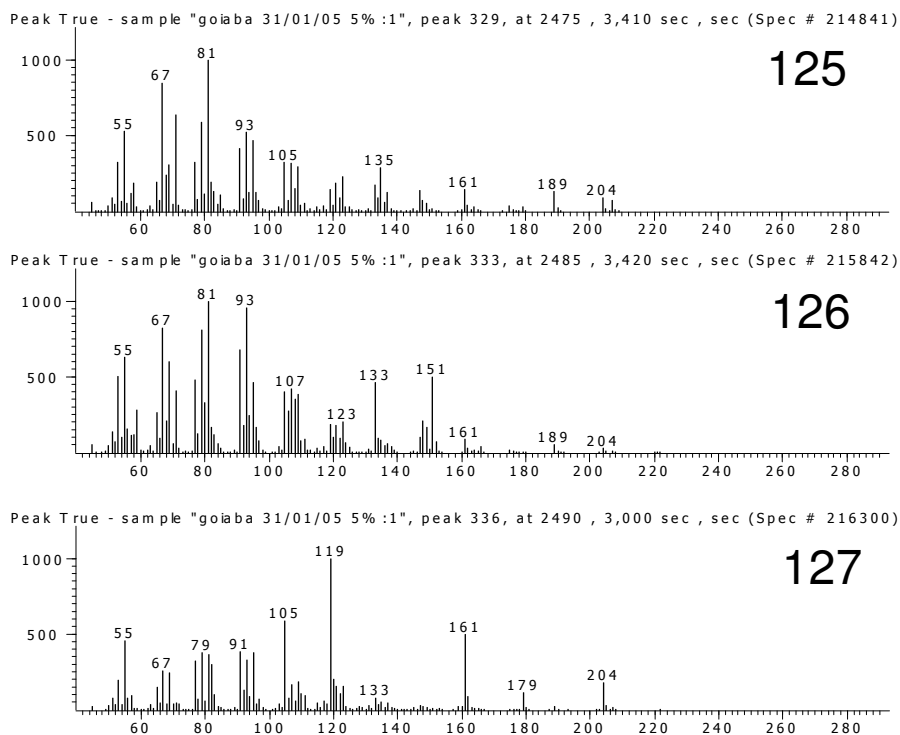


Figura 56. Espectros de massas dos picos cromatográficos 125, 126 e 127, obtidos por GC×GC/TOFMS apresentados na **Tabela XXXII**.

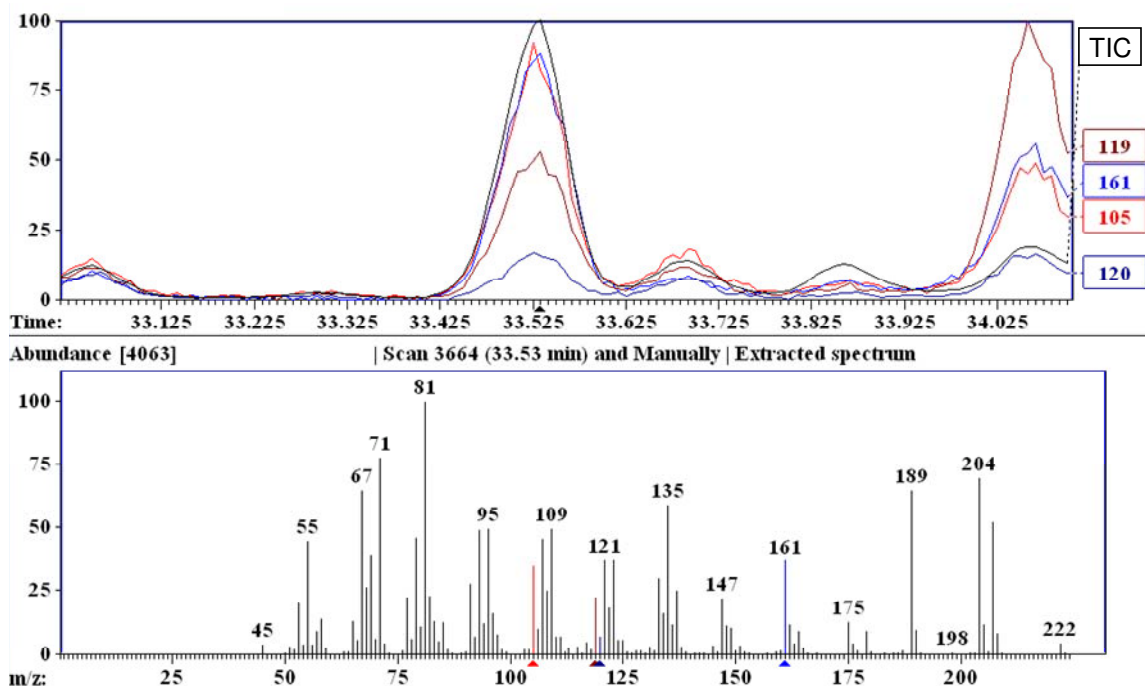


Figura 57. TIC e íons selecionados para o pico 52 obtido por 1D-GC/qMS (**Tabela XXXI**), e abaixo, espectro de massas obtido experimentalmente para a região central desse pico.

4.2.4 Resumo dos resultados obtidos para os óleos voláteis

Foram tentativamente identificados 112 compostos no óleo volátil de *E. dunnii* por GC×GC, enquanto que por 1D-GC apenas 34 compostos foram tentativamente identificados. De forma semelhante, no óleo volátil de *P. guajava* 147 compostos foram tentativamente identificados por GC×GC, comparativamente aos 43 tentativamente identificados por 1D-GC.

Os LTPRI obtidos por GC×GC apresentaram relações lineares com os LTPRI de referência relativos à 1D-GC e também com LTPRI calculados experimentalmente para compostos padrão, tornando possível a comparação direta de dados obtidos experimentalmente para compostos desconhecidos com dados de literatura de 1D-GC já existentes. No processo de identificação tentativa foi também empregada a seleção de íons característicos de classes químicas e a estruturação destas classes no espaço de separação.

5. CONCLUSÕES

5 CONCLUSÕES

Amostras petroquímicas

A otimização feita no detector NPD para utilização em GC×GC foi fundamental para o desenvolvimento do método, e representa um avanço em termos de obtenção de resultados analíticos. O método desenvolvido para análise quantitativa dos compostos nitrogenados presentes no GOP e no RAT por GC×GC-NPD foi eficaz, agregando informações analíticas, as quais não são passíveis de obter por outras técnicas. A caracterização realizada por GC×GC/TOFMS foi fundamental para uma maior compreensão da distribuição das classes químicas nitrogenadas presentes nestas amostras. A separação cromatográfica obtida e a observação da distribuição dos isômeros dentro de uma mesma classe, com picos definidos e espectros de massas característicos para amostras e analitos conhecidos por formarem misturas complexas não resolvidas, está sendo reportado pela primeira vez para compostos nitrogenados dessa natureza. Entretanto, a identificação tentativa realizada não pode ser considerada definitiva, uma vez que a complexidade elevada das amostras (mais de 10.000 picos nos extratos ricos em compostos nitrogenados), e a ausência de uma biblioteca mais abrangente de espectros de massas para esse tipo de compostos, aumentam a possibilidade da existência de classes químicas que não foram apresentadas no presente trabalho. Por esse estudo, foi possível perceber a modificação do enfoque analítico para amostras de grande complexidade com a utilização de GC×GC, uma vez que a informação analítica obtida é de tamanha riqueza, que impossibilita uma varredura geral da amostra. Neste sentido, torna-se necessário focar a investigação em classes químicas de interesse, ou até em estudos mais específicos para acompanhamento de processos, utilizando-se etapas de classificação e identificação de padrões de distribuição de compostos no espaço de separação¹⁴¹.

Óleos voláteis

A comparação realizada entre 1D-GC/qMS, GC×GC/qMS e GC×GC/TOFMS para as amostras de óleo de *E. dunnii* permitiu observar que a utilização de GC×GC/qMS

é importante para o aumento da resolução entre os picos, se comparado à 1D-GC/qMS, entretanto, a qualidade dos espectros de massas obtidos foi inferior à 1D-GC/qMS para a maior parte dos compostos deste óleo. A utilização de espectrômetros de massas com taxas de aquisição superiores poderia minimizar esse efeito. A utilização de GC×GC/TOFMS apresentou melhor resultado em termos de número de compostos tentativamente identificados através da comparação dos espectros de massas dos analitos com os das bibliotecas NIST e Adams.

Para as duas amostras de óleo estudadas (*E. dunnii* e *P. guajava*), a técnica analítica que apresentou melhores resultados foi GC×GC/TOFMS utilizando-se um conjunto de colunas normal. Vários picos cromatográficos apresentaram espectros de massas de melhor qualidade (menor influência de interferentes) por GC×GC/TOFMS do que pelas outras técnicas utilizadas, porém não se verificou similaridade destes com os espectros de referência. Supõe-se que o número de compostos tentativamente identificados nos dois óleos voláteis estudados poderia ser significativamente maior se uma biblioteca de espectros de massas mais rica fosse empregada. Um estudo futuro desses espectros de massas pode levar à identificação de novos compostos químicos nesse tipo de óleo.

As relações lineares encontradas entre os LTPRI dos compostos dos óleos voláteis e aqueles existentes na literatura para compostos padrão em 1D-GC constituem-se em uma ferramenta muito importante no processo de identificação tentativa de compostos de óleos voláteis, não apenas por permitir a comparação direta com dados de referência obtidos por 1D-GC, mas também por agregar informações quanto a retenção dos compostos em uma coluna cromatográfica com características diferentes da empregada na obtenção desses índices. O aumento de resolução e da sensibilidade obtidos por GC×GC e os dados de retenção na segunda dimensão conduzem a um novo patamar de informação analítica na investigação de óleos voláteis de plantas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Oliveira, E. C., Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004.
2. Oliveira, E. C.; Campos, M. C. V.; Lopes, A. S.; Vale, M. G. R.; Caramão, E. B.; *J. Chromatogr. A* **2004**, *1027*, 171.
3. Zini, C. A. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.
4. Silva, J. D.; Luz, A. I. R.; Silva, M. H. L.; Andrade, E. H. A.; Zaghibi, M. G. B.; Maia, J. G. S.; *Flavour Frag. J.* **2003**, *18*, 240.
5. Sacchetti, G.; Maietti, S.; Muzzoli, M.; Scagliati, M.; Manfredini, S.; Radice, M.; Bruni, R.; *Food Chem.* **2005**, *91*, 621.
6. Ogunwande, I. A.; Olawore, N. O.; Adeleke, K. A.; Ekundayo, O.; Koenig, W. A.; *Flavour Frag. J.* **2003**, *18*, 136.
7. de Geus, H. J.; Boer, J.; Brinkman, U. A. Th.; *TrAC, Trends Anal. Chem.* **1996**, *15*, 168.
8. Dallüge, J.; Beens, J.; Brinkman, U. A. Th.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1000*, 69.
9. Green, S. W.; *Vapor Phase Chromatography*; Butterworths: Londres, 1957; Vol. 388.
10. Harrison, G. F.; Knight, P.; Kelly, R. P.; Heath, M. T.; *Gas Chromatography*; Butterworths: Londres, 1958; Vol. 216.
11. Marriott, P. J.; Shellie, R.; *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2002**, *21*, 573.
12. Liu, Z. Y.; Phillips, J. B.; *J. Chromatogr. Sci.* **1991**, *29*, 227.
13. Giddings, J. C.; *J. Chromatogr. A* **1995**, *703*, 3.
14. von Mühlen, C.; Khummueng, W.; Zini, C. A.; Caramão, E. B.; Marriott, P. J.; *J. Sep. Sci.* **2006**, *29*, 1909.
15. Schoenmakers, P. J.; Marriott, P. J.; Beens, J.; *LCGC Eur.* **2003**, *1*.
16. von Muhlen, C.; Zini, C. A.; Caramão, E. B.; Marriott, P. J.; *Quím. Nova* **2006**, *no prelo*.
17. Beens, J.; Adahchour, M.; Vreuls, R. J. J.; van Altna, K.; Brinkman, U. A.Th.; *J. Chromatogr. A* **2001**, *919*, 127.
18. Hamilton, J. F.; Lewis, A. C.; Bartle, K. D.; *J. Sep. Sci.* **2003**, *26*, 578.
19. Harynuk, J.; Górecki, T.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 53.

20. Kinghorn, R. M.; Marriott, P. J.; *J. High Resol. Chromatogr.* **1998**, *21*, 620.
21. Hyötyläinen, T.; Kallio, M.; Hartonen, K.; Jussila, M.; Palonen, S.; Riekkola, M. L.; *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 4441.
22. Kritenson, E. M.; Korytár, P.; Danielsson, C.; Kallio, M.; Brandt, M.; Mäkelä, J.; Vreuls, R. J. J.; Beens, J.; Brinkman, U. A.Th.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 65.
23. Marriott, P. J.; Kinghorn, R. M.; *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 2582.
24. Phillips, J. B.; Gaines, R. B.; Blomberg, J.; Wielen, F. W. M.; Dimandja, J. M. D.; Green, J.; Granger, J.; Patterson, D.; Racovalis, L.; de Geus, H. J.; Boer, J.; Haglund, P.; Lipsky, J.; Sinha, V.; Ledford Jr, E. B.; *J. High Resol. Chromatogr.* **1999**, *22*, 3.
25. Adahchour, M.; Beens, J.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U.A.Th.; *TrAC Trends Anal. Chem.* **2006**, *25*, 540.
26. Kristenson, E. M.; Korytar, P.; Danielsson, C.; Kallio, M.; Brandt, M.; Makela, J.; Vreuls, R. J. J.; Beens, J.; Brinkman, U.A.Th.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 65.
27. Bertsch, W.; *J. High Resol. Chromatogr.* **2000**, *23*, 167.
28. Ledford Jr, E. B.; Billesbach, C.; *J. High Resol. Chromatogr.* **2000**, *23*, 202.
29. Adahchour, M.; Beens, J.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U.A.Th.; *TrAC Trends Anal. Chem.* **2006**, *25*, 438.
30. Adahchour, M.; Beens, J.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U.A.Th.; *TrAC Trends Anal. Chem.* **2006**, *25*, 726.
31. Adahchour, M.; Beens, J.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U.A.Th.; *TrAC Trends Anal. Chem.* **2006**, *25*, 821.
32. LaClair, R. W.; Bueno, P. A.; Seeley, J. V.; *J. Sep. Sci.* **2004**, *27*, 389.
33. Bueno, P. A.; Seeley, J. V.; *J. Chromatogr. A* **2004**, *1027*, 3.
34. Ryan, D.; Watkins, P.; Smith, J.; Allen, M.; Marriott, P. J.; *J. Sep. Sci.* **2005**, *28*, 1075.
35. Korytar, P.; Leonards, P. E. G.; de Boer, J.; Brinkman, U.A.Th.; *J. Chromatogr. A* **2002**, *958*, 203.
36. Korytar, P.; van Stee, L. L. P.; Leonards, P. E. G.; de Boer, J.; Brinkman, U.A.Th.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *994*, 179.
37. Korytar, P.; Danielsson, C.; Leonards, P. E. G.; Haglund, P.; de Boer, J.; Brinkman, U.A.Th.; *J. Chromatogr. A* **2004**, *1038*, 189.

38. Danielsson, C.; Wiberg, K.; Korytar, P.; Bergek, S.; Brinkman, U.A.Th.; Haglund, P.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 61.
39. Bordajandi, L. R.; Ramos, L.; Gonzalez, M. J.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1078*, 128.
40. Harju, M.; Haglund, P.; *Journal of Microcol. Sep.* **2001**, *13*, 300.
41. Hua, R.; Li, Y.; Liu, W.; Zheng, J.; Wei, H.; Wang, J.; Lu, X.; Kong, H.; Xu, G.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 101.
42. Blomberg, J.; Riemersma, T.; van Zuijlen, M.; Chaabani, H.; *J. Chromatogr. A* **2004**, *1050*, 77.
43. Hua, R.; Wang, J.; Kong, H.; Liu, J.; Lu, X.; Xu, G.; *J. Sep. Sci.* **2004**, *27*, 691.
44. Wang, F. C. Y.; Robbins, W. K.; Greaney, M. A.; *J. Sep. Sci.* **2004**, *27*, 468.
45. van Stee, L. L. P.; Beens, J.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U. A.Th.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 89.
46. Holm, T.; *J. Chromatogr. A* **1999**, *842*, 221.
47. Amirav, A.; *Am. Lab.* **2001**, *33*, 28.
48. Shellie, R.; Marriott, P. J.; Huie, C. W.; *J. Sep. Sci.* **2003**, *26*, 1185.
49. David, D. J.; *Gas Chromatographic Detectors*; John Wiley & Sons: New York, 1974; Vol. 295.
50. PerkinElmer, I.; *Specifications - Clarus 500 Gas Chromatograph*, www.perkinelmer.com; acessado em 14/08/2005.
51. Shimadzu Corporation; *GC-2010 Specifications*, www.ssi.shimadzu.com; acessado em 28/07/2005.
52. Varian, I.; *Flame Ionization Detector and Thermoionic Specific Detector*, www.varianinc.com; acessado em 28/07/2005.
53. Agilent Technologies; *Agilent 6890N Network Gas Chromatograph Specifications*, www.agilent.com; acessado em 28/07/2005.
54. Fraga, C. G.; Prazen, B. J.; Synovec, R. E.; *J. High Resol. Chromatogr.* **2000**, *23*, 215.
55. Kallio, M.; Hyötyläinen, T.; Lehtonen, M.; Jussila, M.; Hartonen, K.; Shimmo, M.; Riekkola, M. L.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 251.
56. Zhu, S.; Lu, X.; Dong, L.; Xing, J.; Su, X.; Kong, H.; Xu, G.; Wu, C.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 107.
57. Reddy, C. M.; Eglinton, T. I.; Hounshell, A.; White, H. K.; Xu, L.; Gaines, R. B.; Frysinger, G. S.; *Environ. Sci. Technol.* **2002**, *36*, 4754.

58. Frysinger, G. S.; Gaines, R. B.; Xu, L.; Reddy, C. M.; *Environ. Sci. Technol.* **2003**, *37*, 1653.
59. Slater, G. F.; White, H. K.; Eglinton, T. I.; Reddy, C. M.; *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 2552.
60. Vendevre, C.; Bertoncini, F.; Duval, L.; Duplan, J. L.; Thiébaud, D.; Hennion, M. C.; *J. Chromatogr. A* **2004**, *1056*, 155.
61. Vendevre, C.; Ruiz-Guerrero, R.; Bertoncini, F.; Duval, L.; Thiebaut, D.; Hennion, M. C.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 21.
62. Williams, A.; Ryan, D.; Guasca, A. O.; Marriott, P.; Pang, E.; *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2005**, *917*, 97.
63. Patterson, P. L.; *J. Chromatogr. Sci.* **1986**, *24*, 41.
64. Carlsson, H.; Robertsson, G.; Colmsjo, A.; *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 5698.
65. Ryan, D.; Marriott, P. J.; *J. Sep. Sci.* **2006**, *29*, 2375.
66. Patterson, P. L.; *J. Chromatogr.* **1978**, *167*, 381.
67. Olah, K.; Szoke, A.; Vajta, Z.; *J. Chromatogr. Sci.* **1979**, *17*, 497.
68. Patterson, P. L.; Howe, R. L.; *J. Chromatogr. Sci.* **1978**, *16*, 275.
69. Dalluge, J.; Vreuls, R. J. J.; van Iperen, D. J.; van Rijn, M.; Brinkman, U.A.Th.; *J. Sep. Sci.* **2002**, *25*, 608.
70. Kirchner, M.; Matisova, E.; Hrouzkova, S.; Zeeuw, J. d.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1090*, 126.
71. Mastovska, K.; Lehotay, S. J.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1000*, 153.
72. Baumann, F.; Herlicsk.E; Brown, A. C.; Blesch, J.; *J. Chromatogr. Sci.* **1969**, *7*, 680.
73. Dyson, N.; *J. Chromatogr. A* **1999**, *842*, 321.
74. Adahchour, M.; Stee, L. L. P.; Beens, J.; Vreuls, R. J. J.; Batenburg, M. A.; Brinkman, U. A. Th.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 157.
75. Mamyryn, B. A.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2001**, *206*, 251.
76. Zrostlíková, J.; Hajslová, J.; Cajka, T.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 173.
77. Frysinger, G. S.; Gaines, R. B.; *J. High Resol. Chromatogr.* **1999**, *22*, 251.
78. Shellie, R.; Marriott, P. J.; *Analyst (Cambridge, U. K.)* **2003**, *128*, 879.
79. Harynuk, J.: Comunicação pessoal, Melbourne, Austrália, 2006.
80. Song, S. M.; Marriott, P.; Wynne, P.; *J. Chromatogr. A* **2004**, *1058*, 223.
81. Von Muhlen, C.; Zini, C. A.; Caramão, E. B.; Marriott, P. J.; *J. Chromatogr. A* **2006**, no prelo.

82. Adahchour, M.; Brandt, M.; Baier, H. U.; Vreuls, R. J. J.; Batenburg, A. M.; Brinkman, U. A. Th.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1067*, 245.
83. Korytár, P.; Parera, J.; Leonards, P. E. G.; Boer, J.; Brinkman, U. A. Th.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1067*, 255.
84. Bruckner, C. A.; Prazen, B. J.; Synovec, R. E.; *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 2796.
85. Fraga, C. G.; Prazen, B. J.; Synovec, R. E.; *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 4154.
86. Harynuk, J.; Górecki, T.; Campbell, C.; *LCGC North Am.* **2002**, *20*, 876.
87. Hollingsworth, B. V.; Reichenbach, S. E.; Tao, Q.; Visvanathan, A.; *J. Chromatogr. A* **2006**, *1105*, 51.
88. Hope, J. L.; Sinha, A. E.; Prazen, B. J.; Synovec, R. E.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 185.
89. Johnson, K. J.; Prazen, B. J.; Olund, R. K.; Synovec, R. E.; *J. Sep. Sci.* **2002**, *25*, 297.
90. Johnson, K. J.; Prazen, B. J.; Young, D. C.; Synovec, R. E.; *J. Sep. Sci.* **2004**, *27*, 410.
91. Kong, H.; Ye, F.; Lu, X.; Guo, L.; Tian, J.; Xu, G.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 160.
92. Lin, X. H.; Lu, J. G.; Kong, H. W.; Hao, X.; Yang, Y. S.; *Dalian Ligong Daxue Xuebao* **2005**, *45*, 287.
93. Ni, M.; Reichenbach, S. E.; Visvanathan, A.; TerMaat, J.; Ledford, E. B.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 165.
94. Pierce, K. M.; Hoggard, J. C.; Hope, J. L.; Rainey, P. M.; Hoofnagle, A. N.; Jack, R. M.; Wright, B. W.; Synovec, R. E.; *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 5068.
95. Prazen, B. J.; Bruckner, C. A.; Synovec, R. E.; *J. Microcol. Sep.* **1999**, *11*, 97.
96. Reichenbach, S. E.; Kottapalli, V.; Nia, M.; Visvanathan, A.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1071*, 263.
97. Reichenbach, S. E.; Ni, M.; Zhang, D.; Ledford, E. B.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *985*, 47.
98. Sinha, A. E.; Fraga, C. G.; Prazen, B. J.; Synovec, R. E.; *J. Chromatogr. A* **2004**, *1027*, 269.
99. Sinha, A. E.; Hope, J. L.; Prazen, B. J.; Fraga, C. G.; Nilsson, E. J.; Synovec, R. E.; *J. Chromatogr. A* **2004**, *1056*, 145.
100. Xie, L. L.; Marriott, P. J.; Adams, M.; *Anal. Chim. Acta* **2003**, *500*, 211.

101. Reichenbach, S. E.; Ni, M.; Kottapalli, V.; Visvanathan, A.; *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2004**, *71*, 107.
102. Blomberg, J.; Schoenmakers, P. J.; Beens, J.; Tijssen, R.; *J. High Resol. Chromatogr.* **1997**, *20*, 539.
103. Beens, J.; Blomberg, J.; Schoenmakers, P. J.; *J. High Resol. Chromatogr.* **2000**, *23*, 182.
104. Beens, J.; Tijssen, R.; Blomberg, J.; *J. Chromatogr. A* **1998**, *822*, 233.
105. von Mühlen, C.; Zini, C. A.; Caramão, E. B.; Marriott, P. J.; *Quím. Nova* **2006**, *29*, 765.
106. von Mühlen, C.; Zini, C. A.; Caramão, E. B.; Marriott, P. J.; *J. Chromatogr. A* **2006**, *1105*, 39.
107. Chawla, B.; *J. Chromatogr. Sci.* **1997**, *35*, 97.
108. Diehl, J. W.; Di Sanzo, F. P.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1080*, 157.
109. Frysinger, G. S.; Gaines, R. B.; *J. High Resol. Chromatogr.* **2000**, *23*, 197.
110. Frysinger, G. S.; Gaines, R. B.; *J. Forensic Sci.* **2002**, *47*, 471.
111. Frysinger, G. S.; Gaines, R. B.; Ledford Jr, E. B.; *J. High Resol. Chromatogr.* **1999**, *22*, 195.
112. Gaines, R. B., Tese de Doutorado, University of Connecticut, Storrs, CT, USA, 1998.
113. Hamilton, J. F.; Lewis, A. C.; *Atmospheric Environment* **2003**, *37*, 589.
114. Hua, R.; Ruan, C. H.; Wang, J. H.; Lu, X.; Liu, J.; Xiao, K.; Kong, H. X.; Xu, G. W.; *ACTA Chim. Sinica* **2002**, *60*, 2185.
115. Jing, H.; Amirav, A.; *J. Chromatogr. A* **1998**, *805*, 177.
116. Micyus, N. J.; McCurry, J. D.; Seeley, J. V.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 115.
117. Mohler, R. E.; Prazen, B. J.; Synovec, R. E.; *Anal. Chim. Acta* **2006**, *555*, 68.
118. Pursch, M.; Eckerle, P.; Biel, J.; Streck, R.; Cortes, H.; Sun, K.; Winniford, B.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 43.
119. Reichenbach, S. E.; Ni, M.; Kottapalli, V.; Visvanathan, A.; Ledford, E. B.; Oostdijk, J.; Trap, H. C.; *Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering* **2003**, *5085*, 28.
120. van Deursen, M.; Beens, J.; Reijenga, J.; Lipman, P.; Cramers, C.; Blomberg, J.; *J. High Resol. Chromatogr.* **2000**, *23*, 507.
121. Adahchour, M.; Beens, J.; Vreuls, R. J. J.; Batenburg, A. M.; Brinkman, U. A. Th.; *J. Chromatogr. A* **2004**, *1054*, 47.

122. Arey, J. S.; Nelson, R. K.; Xu, L.; Reddy, C. M.; *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 7172.
123. Frysinger, G. S.; Gaines, R. B.; *Environ. Forensics* **2002**, *3*, 27.
124. Lu, X.; Wu, J.; Wu, J.; Kong, H.; Hua, R.; Tao, W.; Gu, J.; Xu, G.; *Sepu* **2004**, *22*, 5.
125. Vendevre, C.; Ruiz-Guerrero, M.; Bertoncini, F.; Thiébaud, M.; Hennion, M. C. In *Presented at the 2nd International Conference on Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography*: Atlanta, USA, 2004.
126. Wang, F. C. Y.; DiSanzo, F. P.; McElroy, F. C.; *Preprints - American Chemical Society, Division of Petroleum Chemistry* **2004**, *49*, 4.
127. Wang, F. C. Y.; Robbins, W. K.; Di Sanzo, F. P.; McElroy, F. C.; *J. Chromatogr. Sci.* **2003**, *41*, 519.
128. Wang, F. C. Y.; Wan, K. N.; Green, L. A.; *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 2777.
129. Wang, F. C.-Y.; Robbins, W. K.; Greaney, M. A.; *J. Sep. Sci.* **2004**, *27*, 468.
130. Hao, C.; Headley, J. V.; Peru, K. M.; Frank, R.; Yang, P.; Solomon, K. R.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1067*, 277.
131. Tran, T. C.; Logan, G. A.; Grosjean, E.; Harynuk, J.; Ryan, D.; Marriott, P. J.; *Org. Geochem., no prelo.*
132. van Mispelaar, V. G.; Smilde, A. K.; de Noord, O. E.; Blomberg, J.; Schoenmakers, P. J.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1096*, 156.
133. Beens, J.; Tijssen, R.; *J. Microcol. Sep.* **1995**, *7*, 345.
134. Venkatramani, C. J.; Phillips, J. B.; *J. Microcol. Sep.* **1993**, *5*, 511.
135. Sun, K.; Winniford, W.; Griffith, J.; Colura, K.; Green, S.; Pursch, M.; Luong, J.; *J. Chromatogr. Sci.* **2003**, *41*, 506.
136. Frysinger, G. S.; Gaines, R. B.; *J. Sep. Sci.* **2001**, *24*, 87.
137. Gaines, R. B.; Frysinger, G. S.; *Environ. Sci. Technol.* **1999**, *33*, 2106.
138. Gaines, R. B.; Ledford Jr, E. B.; Stuart, J. D.; *J. Microcol. Sep.* **1998**, *10*, 597.
139. Nelson, R. K.; Kile, B. M.; Plata, D. L.; Sylva, S. P.; Xu, L.; Reddy, C. M.; Gaines, R. B.; Frysinger, G. S.; Reichenbach, S. E.; *Environ. Forensics* **2006**, *7*, 33.
140. Ong, R. C. Y.; Lundstedt, S.; Haglund, P.; Marriott, P. J.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 221.
141. Welthagen, W.; Schnelle-Kreis, J.; Zimmermann, R.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 233.

142. Xu, X. B.; van Stee, L. L. P.; Williams, J.; Beens, J.; Adahchour, M.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U. A. Th.; Lelieveld, J.; *Atmos. Chem. Phys.* **2003**, *3*, 665.
143. Xu, X. B.; Williams, J.; Plass-Dulmer, C.; Berresheim, H.; Salisbury, G.; Lange, L.; Lelieveld, J.; *Atmos. Chem. Phys.* **2003**, *3*, 1461.
144. Beens, J.; Dallüge, J.; Adahchour, M.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U.A.Th.; *J. Microcol. Sep.* **2001**, *13*, 134.
145. Parsi, Z.; Gorecki, T.; Poerschmann, J.; *LC GC Europe* **2005**, *18*, 582.
146. Morales-Munoz, S.; Vreuls, R. J. J.; de Castro, M. D. L.; *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 122.
147. Sandra, P.; Bicchi, C.; *Capillary gas chromatography in essential oil analysis*; Huethig: New York, 1987.
148. Dimandja, J. M. D.; Stanfill, S. B.; Grainger, J.; Patterson Jr, D. G.; *J. High Resol. Chromatogr.* **2000**, *23*, 208.
149. Shellie, R.; Mondello, L.; Marriott, P. J.; Dugo, G.; *J. Chromatogr. A* **2002**, *970*, 225.
150. Shellie, R. A.; Xie, L. L.; Marriott, P. J.; *J. Chromatogr. A* **2002**, *968*, 161.
151. Zini, C. A.; De Assis, T. F.; Ledford Jr, E. B.; Dariva, C.; Fachel, J.; Christensen, E.; Pawliszyn, J.; *J. Agric. Food. Chem.* **2003**, *51*, 7848.
152. Di, X.; Shellie, R.; Marriott, P. J.; Huie, C. W.; *J. Sep. Sci.* **2004**, *27*, 451.
153. Eyres, G.; Dufour, J. P.; Halifax, G.; Sotheeswaran, S.; Marriott, P. J.; *J. Sep. Sci.* **2005**, *28*, 1061.
154. Mondello, L.; Casilli, A.; Tranchida, P. Q.; Dugo, P.; Dugo, G.; *Flavour Frag. J.* **2005**, *20*, 136.
155. Zhu, S.; Lu, X.; Dong, L.; Xing, J.; Su, X.; Kong, H.; Xu, G.; Wu, C.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, *545*, 224.
156. Shellie, R.; Marriott, P. J.; Cornwell, C.; *J. Sep. Sci.* **2001**, *24*, 823.
157. Shellie, R.; Marriott, P. J.; *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 5426.
158. Zhu, S. K.; Lu, X.; Xing, J.; Kong, H. W.; Xu, G. W.; Wu, C. Y.; *Chin. J. Anal. Chem.* **2006**, *34*, 191.
159. Western, R. J.; Marriott, P. J.; *J. Sep. Sci.* **2002**, *25*, 832.
160. Western, R. J.; Marriott, P. J.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 3.
161. Petrobras, <http://www2.petrobras.com.br/portal/Petrobras.htm>; acessada em 05/09/2006.
162. Hunt, J. M.; Philip, R. P.; Kvenvolden, K. A.; *Org. Geochem.* **2002**, *33*, 1025.

163. Tissot, B. P.; Welte, D. H.; *Petroleum Formation and Occurrence*; Springer: Berlin, 1984; Vol. 699.
164. Zílio, E. L.; Pinto, U. B.; *Boletim Técnico da Petrobras* **2002**, 45, 21.
165. Beens, J.; Brinkman, U.A.Th.; *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2000**, 19, 260.
166. Moreira, E. M.; Pereira, C. G.; Borges, M. B.; *Boletim Técnico da Petrobras* **2002**, 45, 274.
167. Lochte, H. L.; Littman, E. R.; *The Petroleum Acids and Bases*; Chemical Publishing Co. Inc.: New York, 1955.
168. Snyder, L. R.; Buell, B. E.; *Anal. Chem.* **1968**, 40, 1295.
169. Seifert, W. K.; Teeter, R. M.; *Anal. Chem.* **1970**, 42, 180.
170. Seifert, W. K.; Teeter, R. M.; Howells, G.; Cantow, M. J. R.; *Anal. Chem.* **1969**, 42, 1638.
171. Gallegos, E. J.; *Anal. Chem.* **1984**, 56, 701.
172. Caramão, E. B.; Gomes, L. M. F.; Bristoti, A.; Lanças, F. M.; *Fuel Sci. Technol. Int.* **1990**, 8, 173.
173. Wu, J. C. S.; Sung, H. C.; Lin, Y. F.; Lin, S. L.; *Separation And Purification Technology* **2000**, 21, 145.
174. Snyder, L. R.; Kirkland, J. J.; *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, second ed. ed.; John Wiley & Sons: New York, 1979.
175. Qian, K. N.; Robbins, W. K.; Hughey, C. A.; Cooper, H. J.; Rodgers, R. P.; Marshall, A. G.; *Energy Fuels* **2001**, 15, 1505.
176. Schmitter, J. M.; Arpino, P.; Guiochon, G.; *J. Chromatogr.* **1978**, 167, 149.
177. Shiraishi, Y.; Hirai, T.; Komasaawa, I.; *Ind. Eng. Chem. Res.* **2001**, 40, 293.
178. Mao, J.; Pacheco, C. R.; Traficante, D. D.; Rosen, W.; *Fuel* **1995**, 74, 880.
179. Mazeas, L.; Budzinski, H.; *J. Chromatogr. A* **2001**, 923, 165.
180. Nishioka, M.; Campbell, R. M.; Lee, M. L.; Muchiri, D. R.; Stuart, J. G.; Castle, R. N.; *Anal. Chem.* **1985**, 57, 2211.
181. Granda, M.; Menendez, R.; Moinelo, S. R.; Bermejo, J.; Snape, C. E.; *Fuel* **1993**, 72, 19.
182. Lanças, F. M.; Barbirato, M. A.; *Fuel Sci. Technol. Int.* **1994**, 12, 493.
183. Lanças, F. M.; Barbirato, M. A.; *Fuel Sci. Technol. Int.* **1994**, 12, 507.
184. Ekinci, E.; Turkay, S.; Citiroglu, M.; Akar, A.; *Fuel Process. Technol.* **1994**, 37, 175.

185. Mao, J.; Pacheco, C. R.; Traficante, D. D.; Rosen, W.; *J. Chromatogr. A* **1994**, *684*, 103.
186. Martin, Y.; Garcia, R.; Sole, R. A.; Moinelo, S. R.; *Energy Fuels* **1996**, *10*, 436.
187. Merdrignac, I.; Behar, F.; Albrecht, P.; Briot, P.; Vandembroucke, M.; *Energy Fuels* **1998**, *12*, 1342.
188. Dinh, H. T.; Mushrush, G. W.; Beal, E. J.; *Petroleum Science And Technology* **1999**, *17*, 383.
189. Walls, C. L.; Beal, E. J.; Mushrush, G. W.; *Journal Of Environmental Science And Health Part A-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* **1999**, *34*, 31.
190. Milner, C. P.; Trengove, R. D.; Bignell, C. M.; Dunlop, P. J. In *Modern methods of plant analysis*; Linskens, H. F.; Jackson, J. F. Eds.; Springer-Verlag: Berlin, 1997.
191. *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients*, 3 ed. ed.; CRC Press: Boca Raton, 1994.
192. Kim, J. M.; Marshall, M. R.; Wei, C.; *J. Agric. Food. Chem.* **1995**, *43*, 2839.
193. Adams, R. P.; *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*; Allured Publishing Corporation: Illinois, 2001.
194. Yeung, A. Y.; *Encyclopedia of Common Natural Ingredients*; Wiley & Sons in ref. GC x GC 25: New York, 1980; Vol. 166.
195. George, V.; Mathew, J.; Sabulal, B.; Dan, M.; Shiburaj, S.; *Fitoterapia* **2006**, *77*, 392.
196. Kakasy, A. Z.; Lemberkovics, E.; Simandi, B.; Lelik, L.; Hethelyi, E.; Antal, I.; Szoke, E.; *Flavour Frag. J.* **2006**, *21*, 598.
197. Oyedeji, A. O.; Afolayan, A. J.; *J. Essent. Oil Res.* **2006**, *18*, 57.
198. Uzel, A.; Dirmenci, T.; Celik, A.; Arabaci, T.; *Chemistry Of Natural Compounds* **2006**, *42*, 169.
199. Vargas, R. M. F.; Cassel, E.; Gomes, G. M. F.; Longhi, L. G. S.; Atti-Serafini, L.; Atti-Santos, A. C.; *Brazilian Journal of Chemical Engineering* **2006**, *23*, 375.
200. Marongiu, B.; Piras, A.; Porcedda, S.; Tuveri, E.; *Flavour Frag. J.* **2006**, *21*, 718.
201. Shen, X.; Gao, Y.; Su, Q. D.; *Flavour Frag. J.* **2006**, *21*, 556.

202. Lucchesi, M. E.; Chemat, F.; Smadja, J.; *J. Chromatogr. A* **2004**, *1043*, 323.
203. Wang, Z. M.; Ding, L.; Li, T. C.; Zhou, X.; Wang, L.; Zhang, H. Q.; Liu, L.; Li, Y.; Liu, Z. H.; Wang, H. J.; Zeng, H.; He, H.; *J. Chromatogr. A* **2006**, *1102*, 11.
204. Wang, Z. M.; Ding, L.; Wang, L.; Feng, J.; Li, T. C.; Zhou, X.; Zhang, H. Q.; *Chinese Journal Of Chemistry* **2006**, *24*, 649.
205. Boland, D. J.; Brophy, J. J.; House, A. P. N.; *Eucalyptus Leaf Oils*; Inkata Press: Melbourne, 1991.
206. Adams, R. P.; *Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy*; Academic Press, INC.: New York, 1989; Vol. 1.
207. Castello, G.; *J. Chromatogr. A* **1999**, *842*, 51.
208. van Den Dool, H.; Kratz, P. D.; *J. Chromatogr. A* **1963**, *11*, 463.
209. Martos, P. A.; Saraullo, A.; Pawliszyn, J.; *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 402.
210. Wu, J.; Lu, X.; Tang, W.; Kong, H.; Zhou, S.; Xu, G.; *J. Chromatogr. A* **2004**, *1034*, 199.
211. Giamakis, A.; Kretsi, O.; Chinou, I.; Spyropoulos, C. G.; *Phytochemistry (Elsevier)* **2001**, *58*, 351.
212. Bignell, C. M.; Dunlop, P. J.; Brophy, J. J.; *Flavour Frag. J.* **1997**, *12*, 277.
213. Zini, C. A.; Zanin, K. D.; Christensen, E.; Caramão, E. B.; Pawliszyn, J.; *J. Agric. Food. Chem.* **2003**, *51*, 2679.
214. Mizrahi, I.; Traverso, J. R.; Juarez, M. A.; Bandoni, A. L.; Muschietti, L.; van Baren, C.; *J. Essent. Oil Res.* **1997**, *9*, 715.
215. CEPEN; *Lista de Árvores Nativas do Brasil*,
http://www.cepen.com.br/arv_nat_Myrtaceae.htm#goiabeira,%20Psidium%20guajava; acessada em 07/09/2006.
216. Pino, J. A.; Agüero, J.; Marbot, R.; Fuentes, V.; *J. Essent. Oil Res.* **2001**, *13*, 61.
217. *Food and fruit-bearing forest species: examples from Latin America*, 1986; Vol. 327, ISSN 9251023727.
218. Botrel, R. T.; Rodrigues, L. A.; Gomes, L. J.; Carvalho, D. A.; Fontes, M. A. L.; *Acta Botanica Brasilica* **2006**, *20*, 143.
219. Caramão, E. B.; Gomes, L. M. F.; Oliveira, M. D.; Lanças, F. M.; *J. High Resol. Chromatogr.* **1987**, *10*, 579.
220. Caramão, E. B.; Lanças, F. M.; *Fuel Process. Technol.* **1996**, *14*, 427.
221. McCarthy, R.D.; Duthie, A.H.; *Journal of Lipid Research* **1962**, 117.

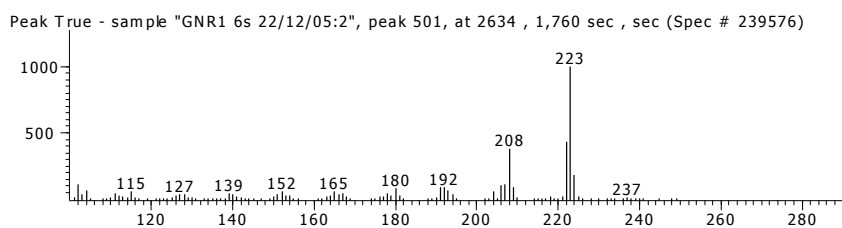
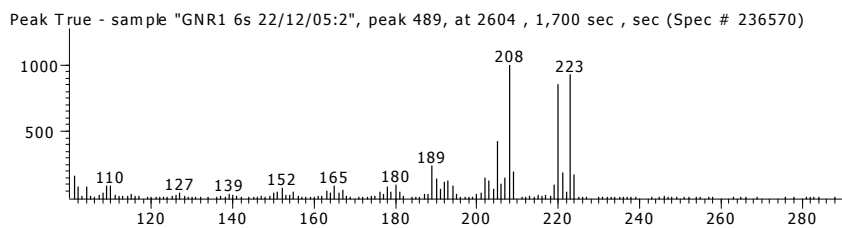
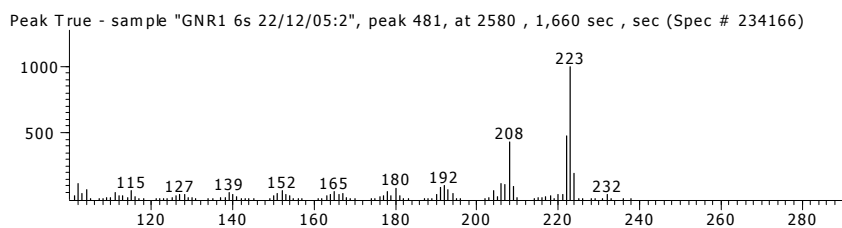
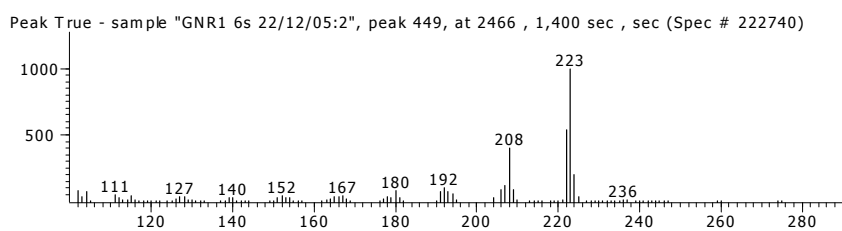
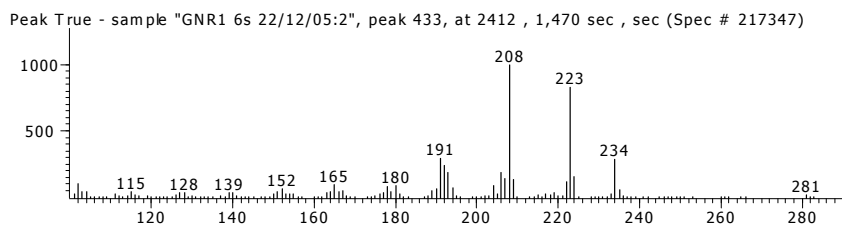
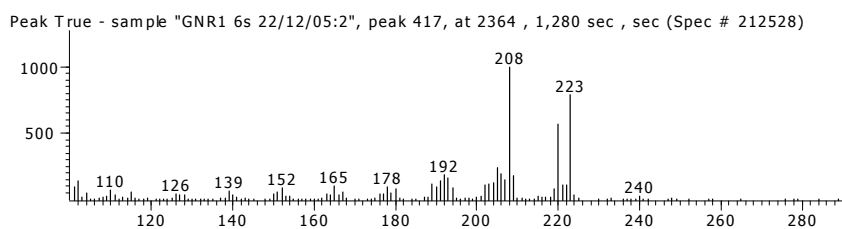
222. Ammon, D. G.; Barton, A. F. M.; Clarke, D. A.; Tjandra, J.; *Analyst* **1985**, *110*, 917.
223. World Health Organization, *Determination of Volatile Oils*, Geneva, 1998; p. 34-37.
224. Grob, K.; *Split and Splitless Injection for Quantitative Gas Chromatography: Concepts, Processes, Practical Guidelines, Sources of Error*, 4 ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2001; Vol. 460.
225. Zhu, Z. Y.; Harynuk, J.; Gorecki, T.; *J. Chromatogr. A* **2006**, *1105*, 17.
226. Tollbäck, P.; Carlsson, H.; Östman, C.; *J. High Resol. Chromatogr.* **2000**, *23*, 131.
227. Mondello, L.; Tranchida, P. Q.; Casilli, A.; Favoino, O.; Dugo, P.; Dugo, G.; *J. Sep. Sci.* **2004**, *27*, 1149.
228. Corporation, L.; *Instruction Manual Pegasus TOF Mass Spectrometer and ChromaTOF Software*: Sant Joseph, 2006.
229. Cornu, A.; Carnat, C. P.; Martin, B.; Coulon, J. B.; Lamaison, J. L.; Berdague, J. L.; *J. Agric. Food. Chem.* **2001**, *49*, 203.
230. Shang, C.; Hu, Y.; Deng, C.; Hu, K.; *J. Chromatogr. A* **2002**, *942*, 283.
231. Khummueng, W.; Harynuk, J.; Marriott, P. J.; *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 4578.
232. Bieri, S.; Marriott, P. J.; *Anal. Chem.* **2006**, no prelo.
233. Liu, C. H.; Mishra, A. K.; Tan, R. X.; Tang, C.; Yang, H.; Shen, Y. F.; *Bioresour. Technol.* **2006**, *97*, 1969.
234. Marder, M.; Viola, H.; Wasowski, C.; Fernandez, S.; Medina, J. H.; Paladini, A. C.; *Pharmacol., Biochem. Behav.* **2003**, *75*, 537.
235. Duke, J. A.; *Handbook of biologically active phytochemicals and their activities*; CRC Press: Boca Raton, 1992; Vol. 177.
236. Cantrell, C. L.; Klun, J. A.; Bryson, C. T.; Kobaisy, M.; Duke, S. O.; *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 5948.

7. ANEXOS

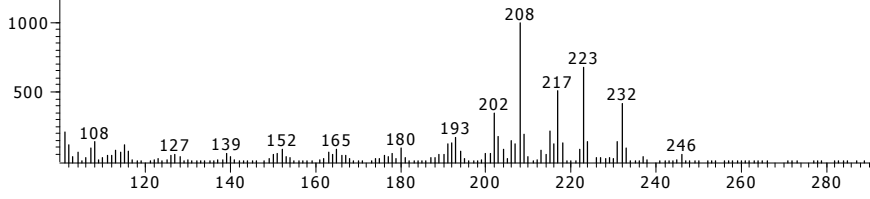
7 ANEXOS

7.1 ANEXO 1 - ESPECTROS DE MASSAS DE COMPOSTOS TENTATIVAMENTE IDENTIFICADOS NA FRAÇÃO NEUTRA DO GOP.

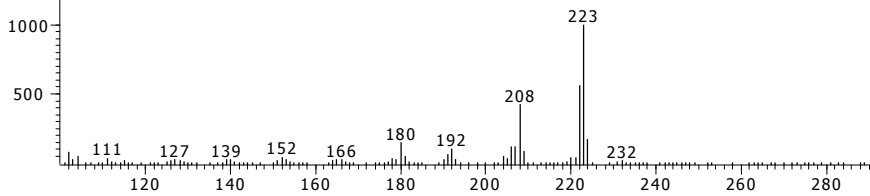
Alquil-carbazóis com 5 carbonos alquílicos.



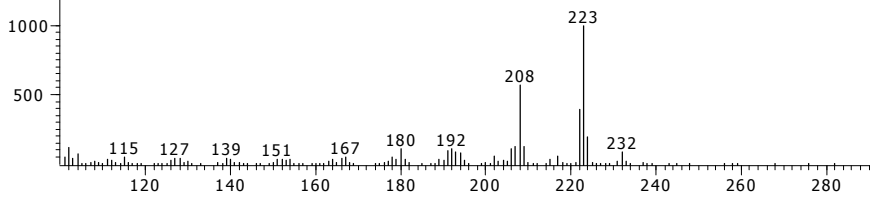
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 511, at 2658 , 1,860 sec , sec (Spec # 241986)



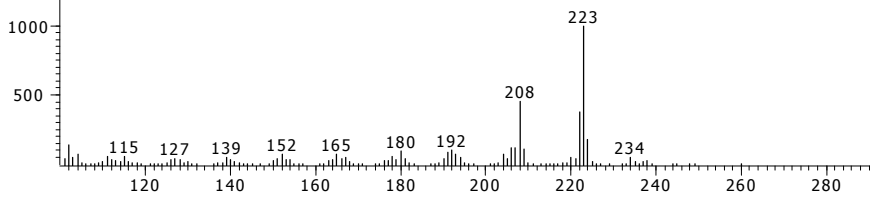
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 534, at 2712 , 1,960 sec , sec (Spec # 247396)



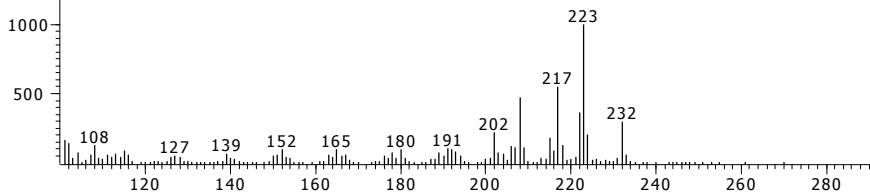
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 536, at 2718 , 2,220 sec , sec (Spec # 248022)



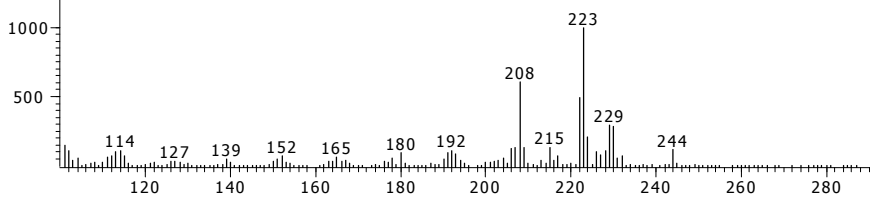
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 548, at 2760 , 2,090 sec , sec (Spec # 252209)



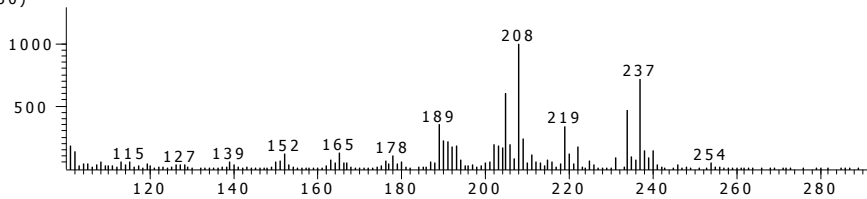
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 553, at 2772 , 2,090 sec , sec (Spec # 253409)



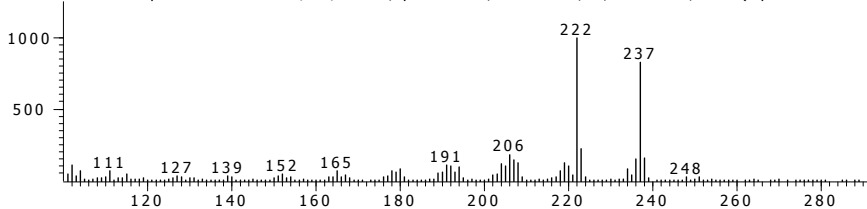
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 570, at 2832 , 2,170 sec , sec (Spec # 259417)



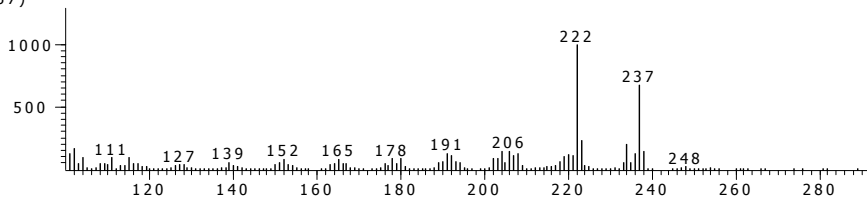
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 480, at 2580 , 1,300 sec , sec (Spec # 234130)



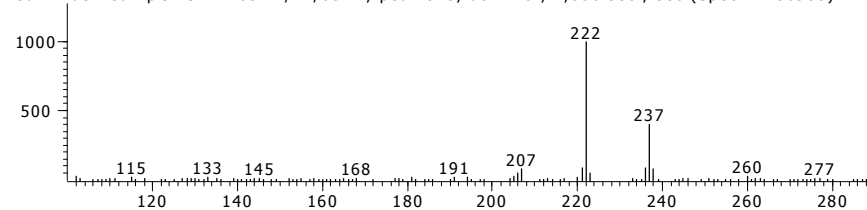
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 487, at 2604 , 1,120 sec , sec (Spec # 236512)



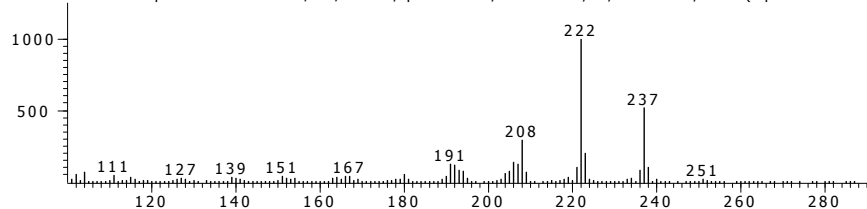
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 518, at 2676 , 1,370 sec , sec (Spec # 243737)



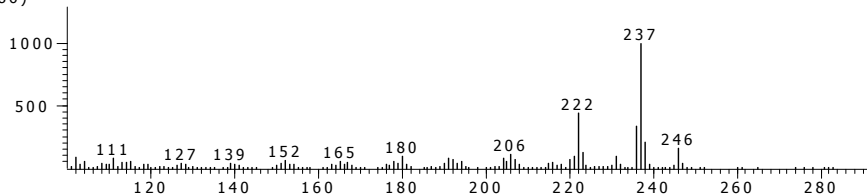
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 545, at 2748 , 1,830 sec , sec (Spec # 250983)



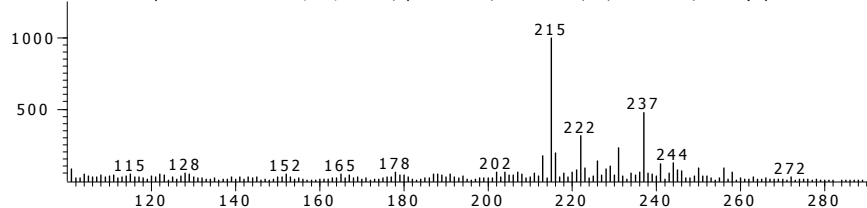
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 564, at 2808 , 1,720 sec , sec (Spec # 256972)



Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 622, at 2982 , 1,860 sec , sec (Spec # 274386)

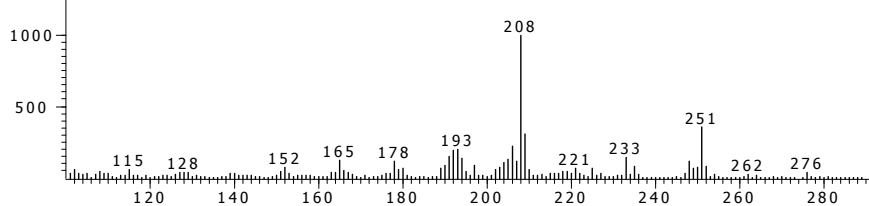


Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 650, at 3084 , 2,150 sec , sec (Spec # 284615)

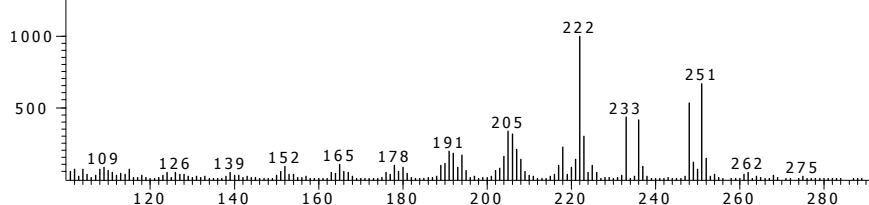


Alquil-carbazóis com 6 carbonos alquílicos.

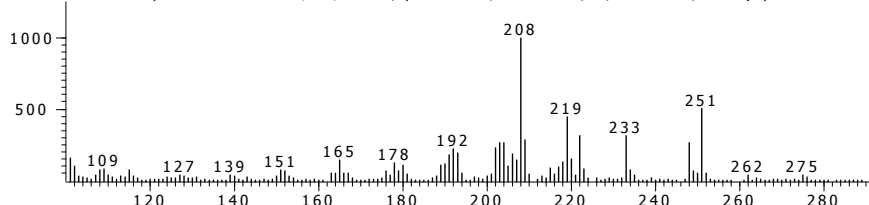
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 539, at 2730 , 0,980 sec , sec (Spec # 249098)



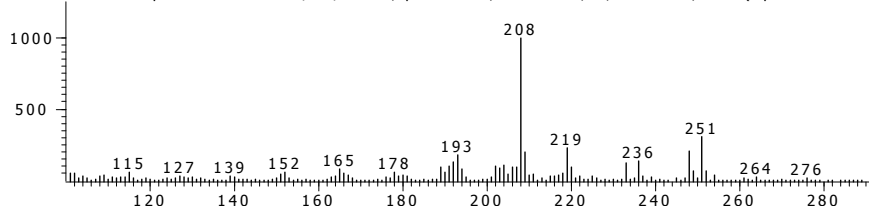
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 550, at 2766 , 1,110 sec , sec (Spec # 252711)



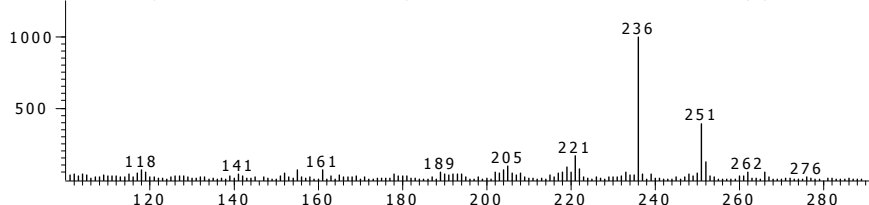
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 551, at 2772 , 0,990 sec , sec (Spec # 253299)



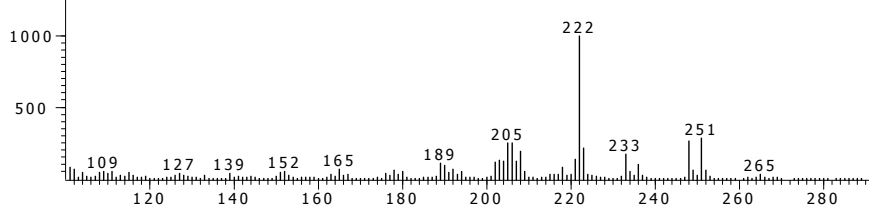
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 562, at 2808 , 1,220 sec , sec (Spec # 256922)



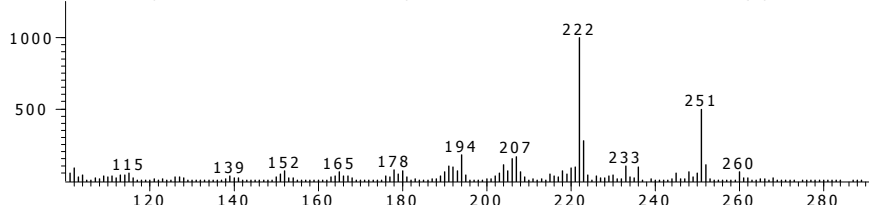
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 585, at 2886 , 1,530 sec , sec (Spec # 264753)



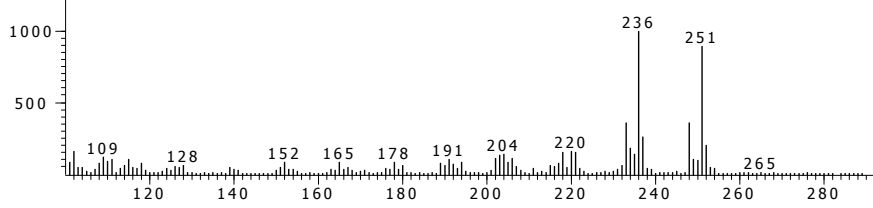
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 594, at 2898 , 1,190 sec , sec (Spec # 265919)



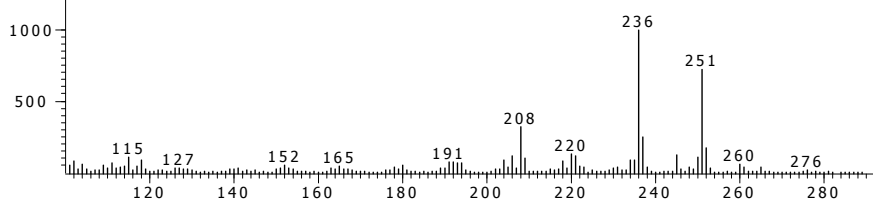
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 605, at 2928 , 1,370 sec , sec (Spec # 268937)



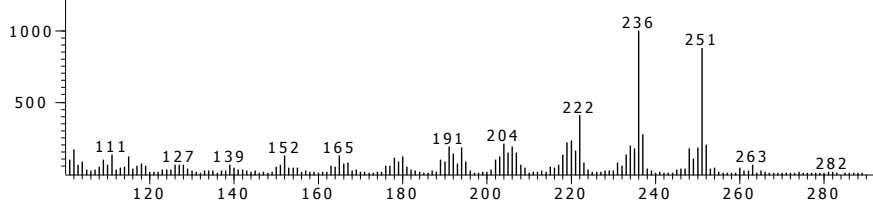
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 613, at 2958 , 1,370 sec , sec (Spec # 271937)



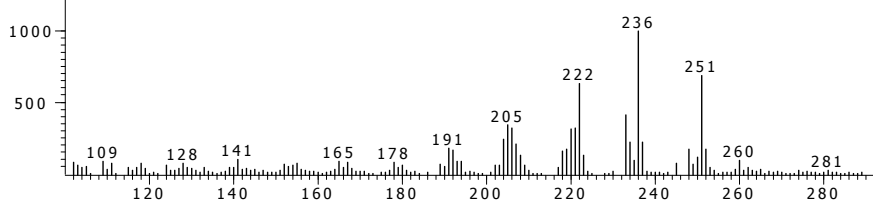
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 630, at 3006 , 1,480 sec , sec (Spec # 276748)



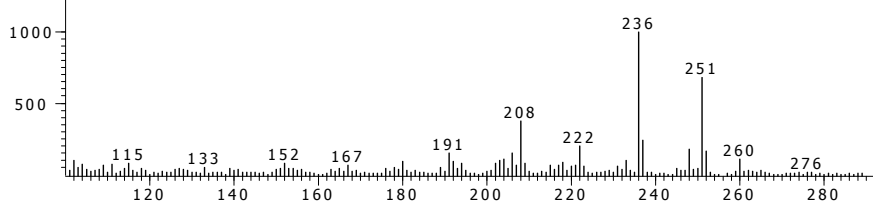
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 633, at 3012 , 1,540 sec , sec (Spec # 277354)



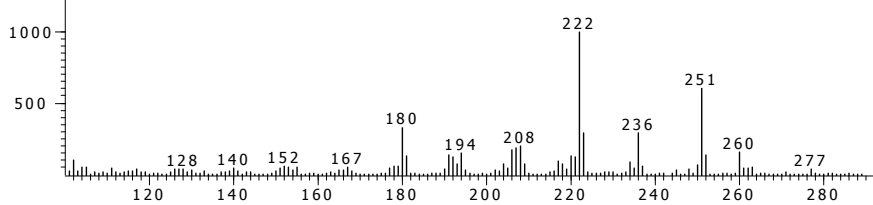
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 669, at 3132 , 1,800 sec , sec (Spec # 289380)



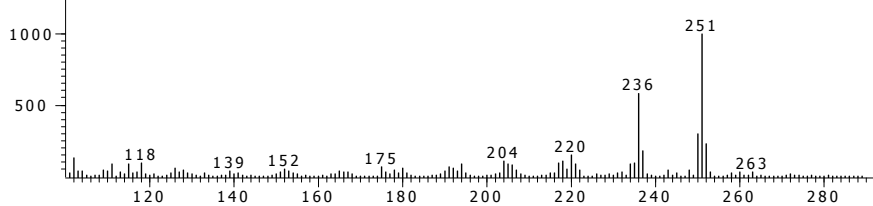
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 672, at 3150 , 1,650 sec , sec (Spec # 291165)



Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 695, at 3228 , 1,840 sec , sec (Spec # 298984)

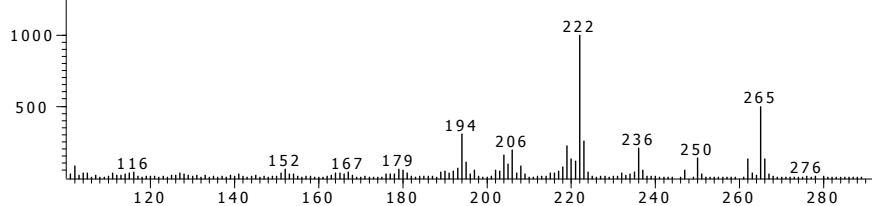


Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 711, at 3300 , 1,920 sec , sec (Spec # 306192)

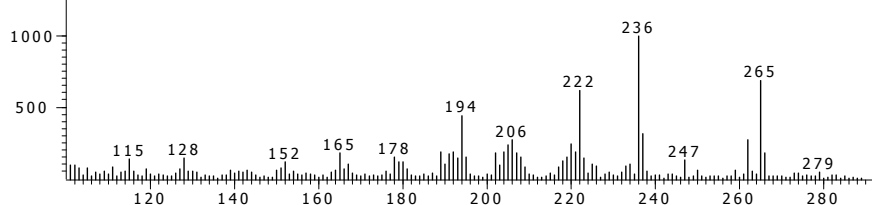


Alquil-carbazóis com 7 carbonos alquílicos.

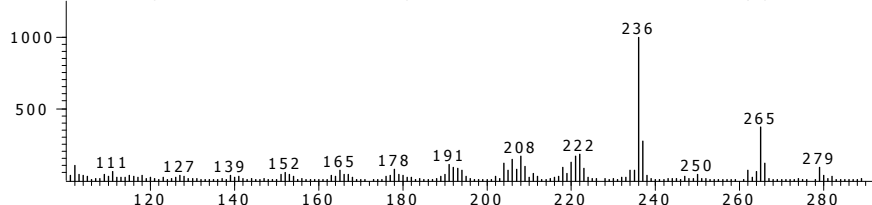
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 626, at 2994 , 1,000 sec , sec (Spec # 275500)



Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 660, at 3108 , 1,190 sec , sec (Spec # 286919)

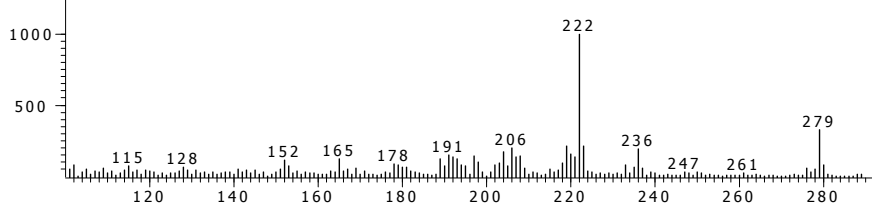


Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 691, at 3216 , 1,390 sec , sec (Spec # 297739)

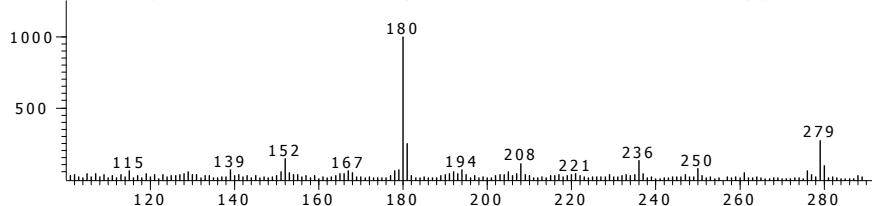


Alquil-carbazóis com 8 carbonos alquílicos.

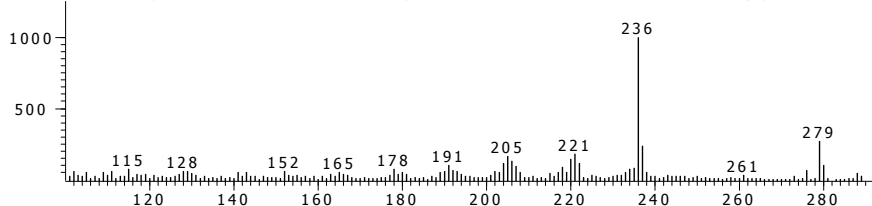
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 730, at 3360 , 1,200 sec , sec (Spec # 312120)



Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 742, at 3396 , 1,350 sec , sec (Spec # 315735)

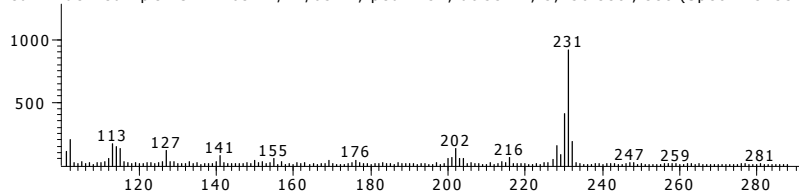


Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 754, at 3450 , 1,340 sec , sec (Spec # 321134)

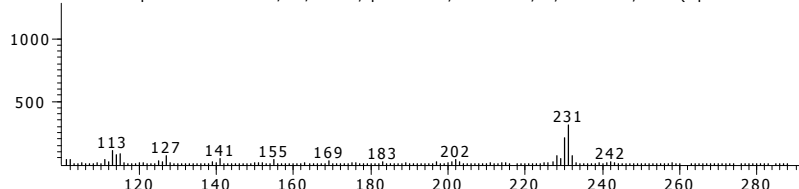


Metil-benzocarbazóis.

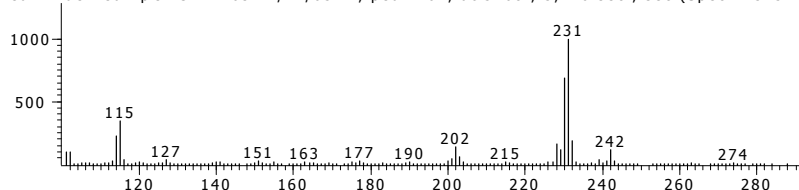
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 734, at 3372 , 3,730 sec , sec (Spec # 313573)



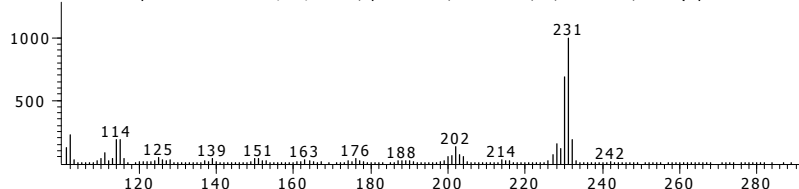
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 756, at 3450 , 3,860 sec , sec (Spec # 321386)



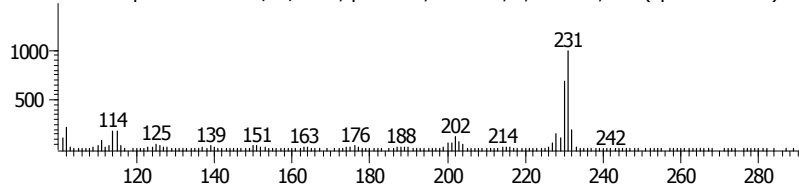
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 761, at 3468 , 3,710 sec , sec (Spec # 323171)



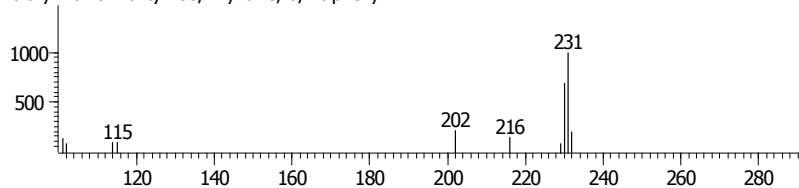
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 769, at 3504 , 4,070 sec , sec (Spec # 326807)



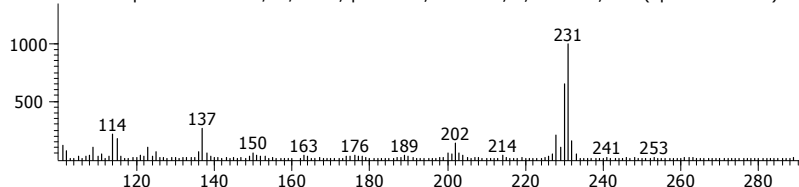
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 769, at 3504 , 4,070 sec , sec (Spec # 326807)



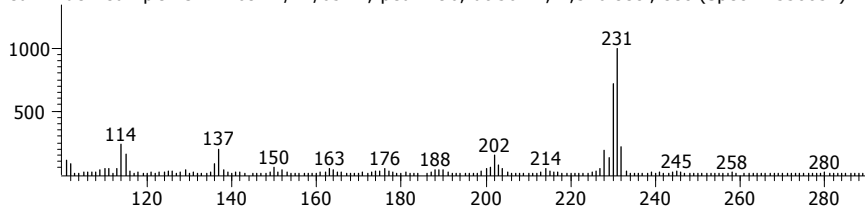
Library Hit - similarity 780, "Pyridine, 3,4-diphenyl"



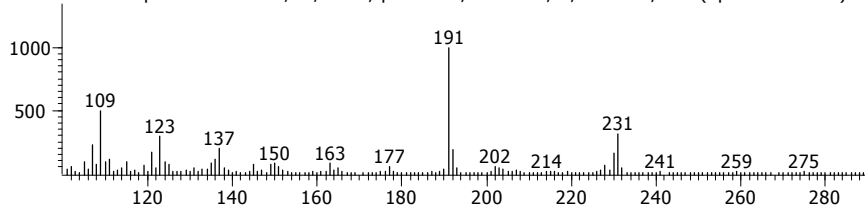
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 787, at 3588 , 4,550 sec , sec (Spec # 335255)



Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 796, at 3624 , 4,510 sec , sec (Spec # 338851)

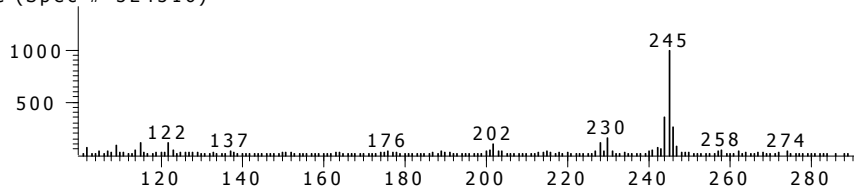


Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 817, at 3696 , 4,970 sec , sec (Spec # 346097)

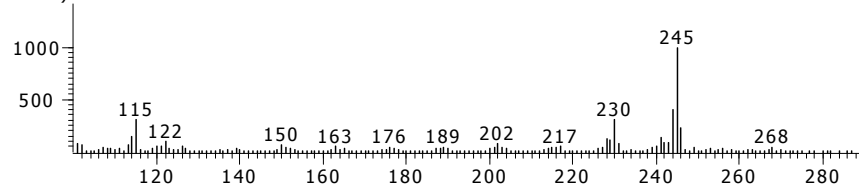


Alquil-benzocarbazóis com 2 carbonos alquílicos.

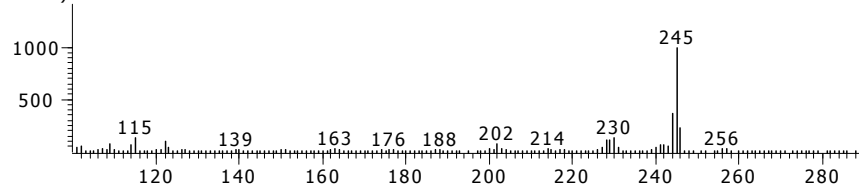
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 763, at 3480 , 3,160 sec , sec (Spec # 324316)



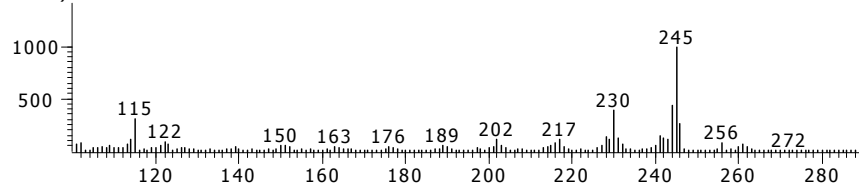
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 774, at 3540 , 3,170 sec , sec (Spec # 30317)



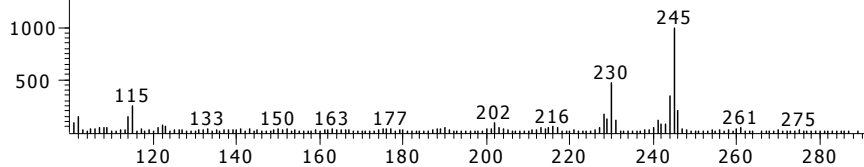
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 793, at 3612 , 3,400 sec , sec (Spec # 337540)



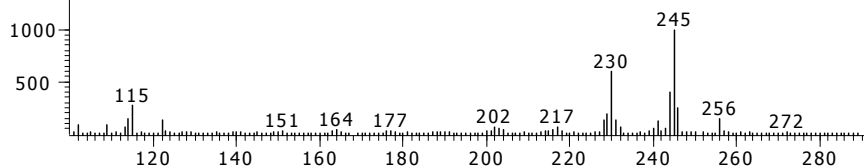
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 803, at 3654 , 3,430 sec , sec (Spec # 341743)



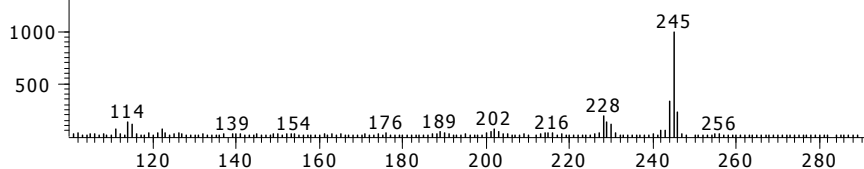
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 808, at 3666 , 3,700 sec , sec (Spec # 3 42970)



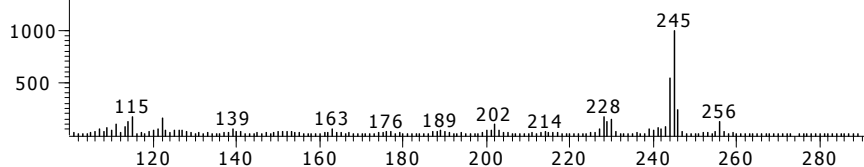
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 819, at 3702 , 3,430 sec , sec (Spec # 3 46543)



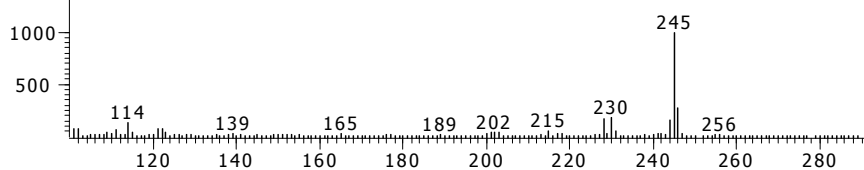
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 820, at 3708 , 4,000 sec , sec (Spec # 3 47200)



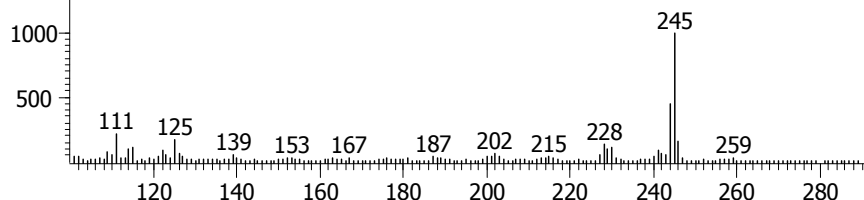
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 828, at 3732 , 4,020 sec , sec (Spec # 3 49602)



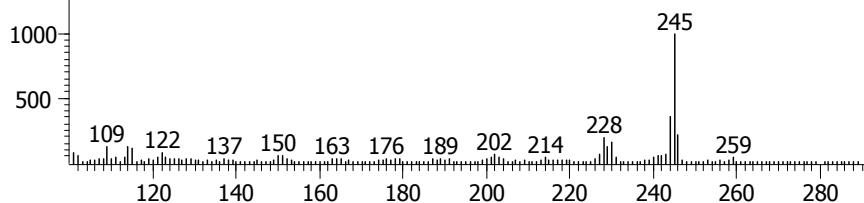
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 833, at 3762 , 3,940 sec , sec (Spec # 3 52594)



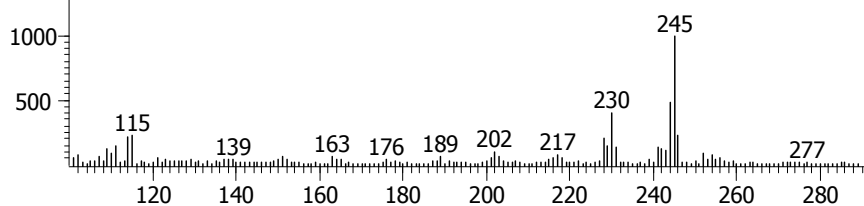
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 850, at 3822 , 4,100 sec , sec (Spec # 3 58610)



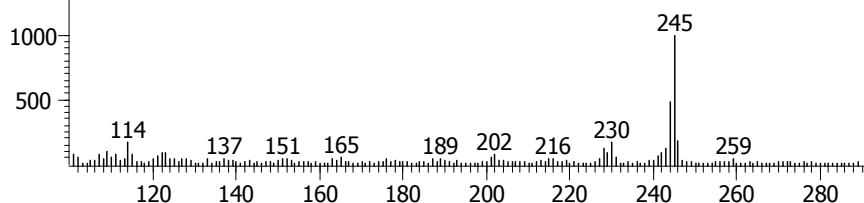
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 855, at 3834 , 4,440 sec , sec (Spec # 3 59844)



Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 864, at 3858 , 4,290 sec , sec (Spec # 3 62229)

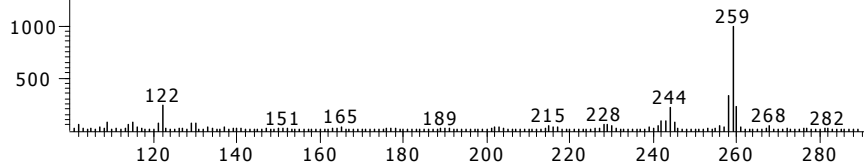


Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 879, at 3924 , 4,330 sec , sec (Spec # 3 68833)

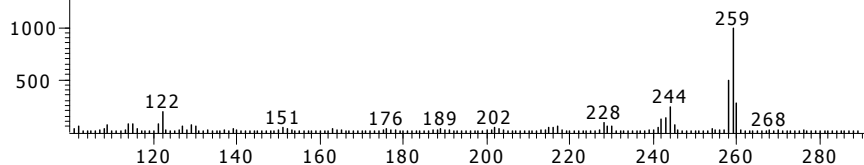


Alquil-benzocarbazóis com 3 carbonos alquílicos.

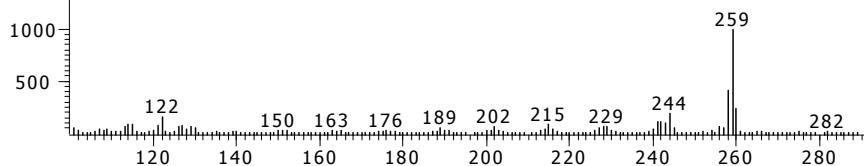
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 844, at 3798 , 3,170 sec , sec (Spec # 3 56117)



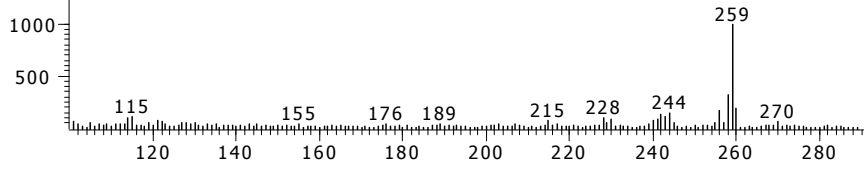
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 861, at 3852 , 3,190 sec , sec (Spec # 3 61519)



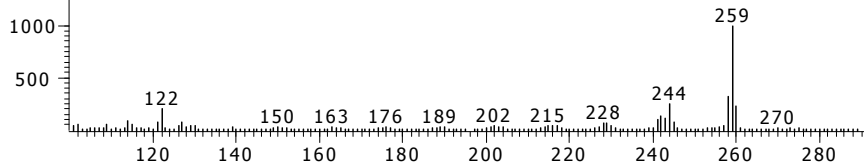
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 866, at 3864 , 3,340 sec , sec (Spec # 3 62734)



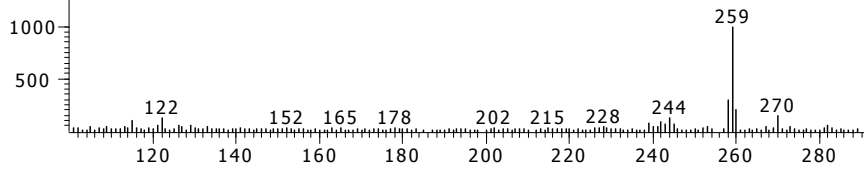
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 876, at 3906 , 3,540 sec , sec (Spec # 3 66954)



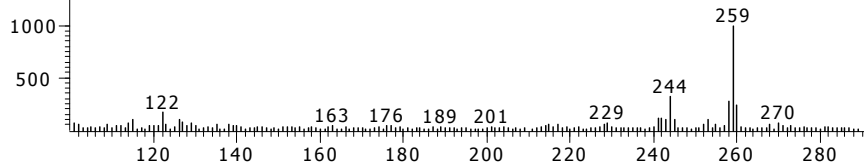
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 882, at 3936 , 3,410 sec , sec (Spec # 3 69941)



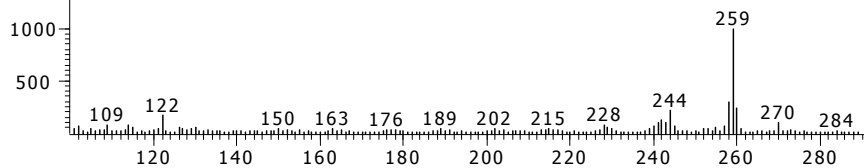
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 896, at 4008 , 3,520 sec , sec (Spec # 3 77152)



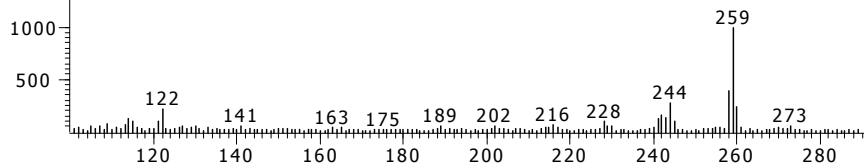
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 898, at 4020 , 3,580 sec , sec (Spec # 3 78358)



Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 900, at 4038 , 3,610 sec , sec (Spec # 3 80161)

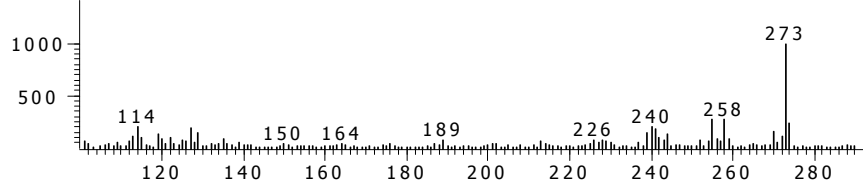


Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 908, at 4074 , 3,840 sec , sec (Spec # 3 83784)

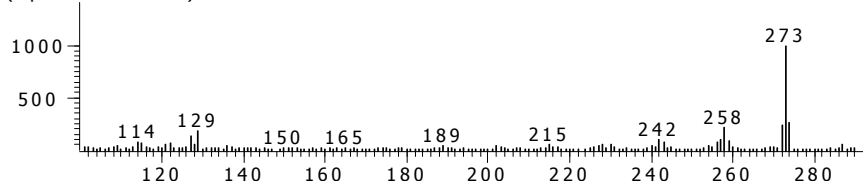


Alquil-benzocarbazóis com 4 carbonos alquílicos.

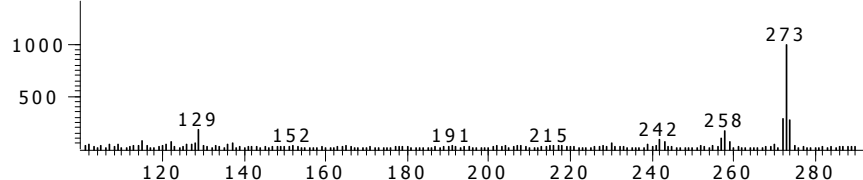
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 887, at 3972 , 2,880 sec , sec
(Spec # 373488)



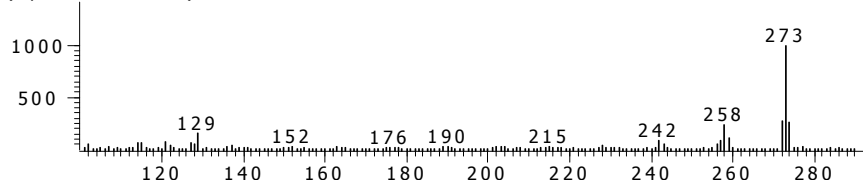
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 897, at 4020 , 2,800 sec , sec
(Spec # 378280)



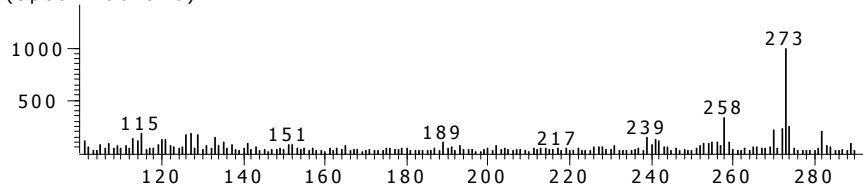
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 902, at 4044 , 2,930 sec , sec
(Spec # 380693)



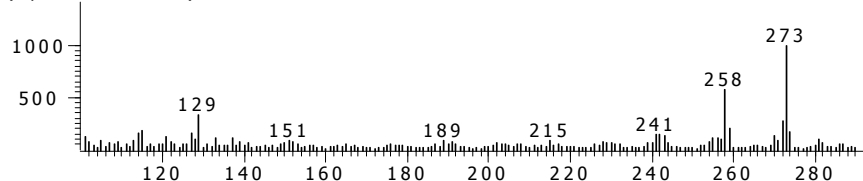
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 904, at 4062 , 2,960 sec , sec
(Spec # 382496)



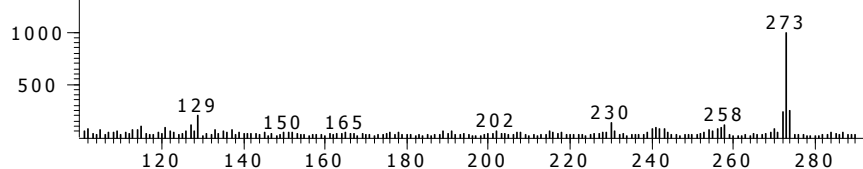
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 911, at 4086 , 3,160 sec , sec
(Spec # 384916)



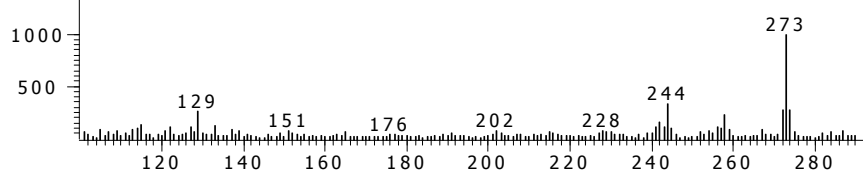
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 914, at 4104 , 3,170 sec , sec
(Spec # 386717)



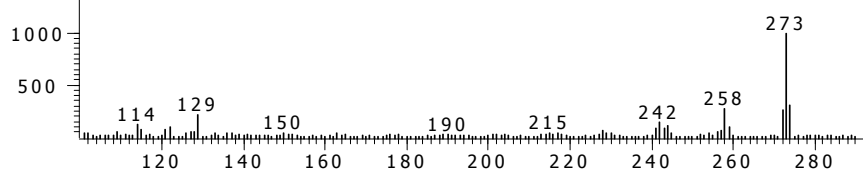
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 930, at 4158 , 3,200 sec , sec
(Spec # 392120)



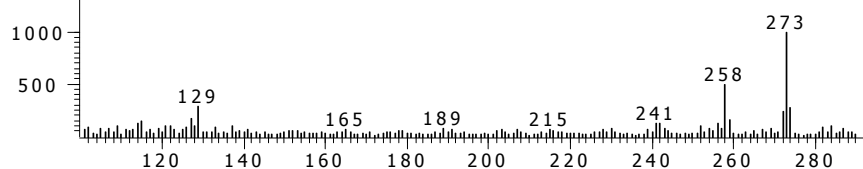
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 936, at 4182 , 3,150 sec , sec
(Spec # 394515)



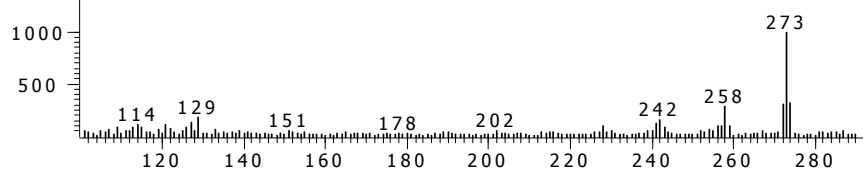
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 941, at 4200 , 3,320 sec , sec
(Spec # 396332)



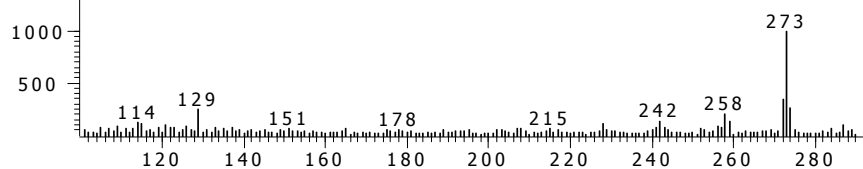
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 951, at 4236 , 3,360 sec , sec
(Spec # 399936)



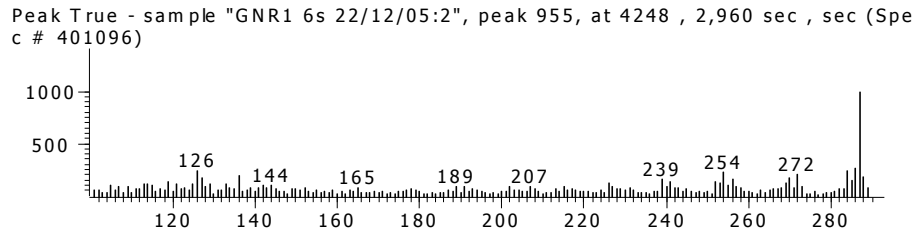
Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 956, at 4248 , 3,560 sec , sec
(Spec # 401156)



Peak True - sample "GNR1 6s 22/12/05:2", peak 961, at 4284 , 3,730 sec , sec
(Spec # 404773)



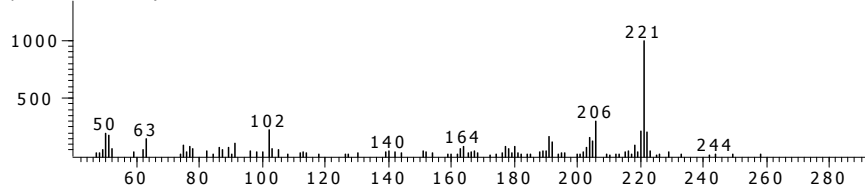
Alquil-benzocarbazóis com 5 carbonos alquílicos.



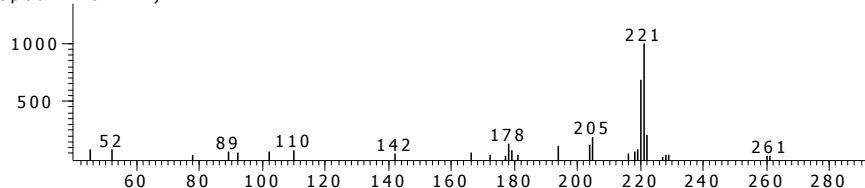
7.2 ANEXO 2 - ESPECTROS DE MASSAS DE COMPOSTOS TENTATIVAMENTE IDENTIFICADOS NA FRAÇÃO BÁSICA DO GOP.

Alquil-quinolinas com 3 carbonos alquílicos.

Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 532, at 2136 , 0,840 sec , sec (Spec # 189684)

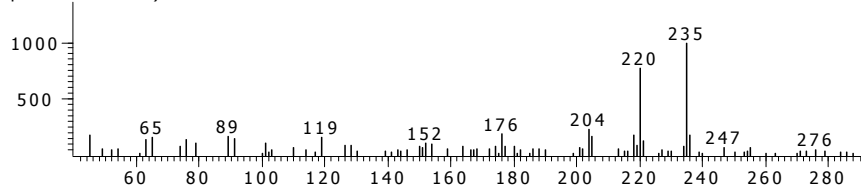


Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 551, at 2160 , 1,140 sec , sec (Spec # 192114)

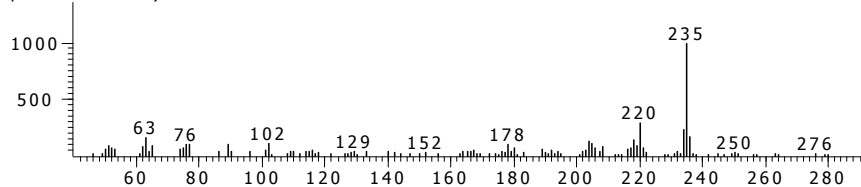


Alquil-quinolinas com 4 carbonos alquílicos.

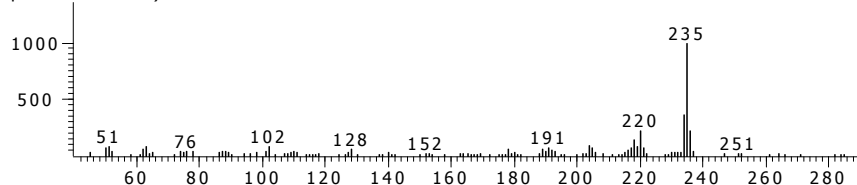
Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 776, at 2382 , 0,770 sec , sec (Spec # 214277)



Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 804, at 2412 , 0,770 sec , sec (Spec # 217277)

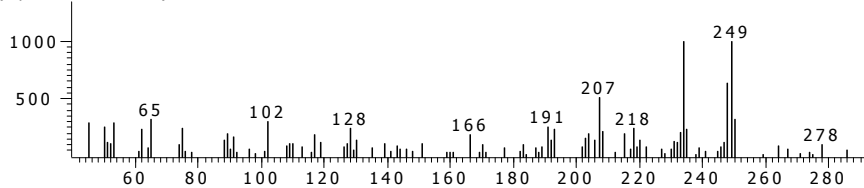


Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 845, at 2460 , 0,820 sec , sec (Spec # 222082)

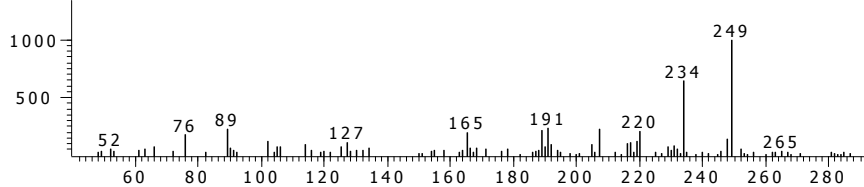


Alquil-quinolinas com 5 carbonos alquílicos.

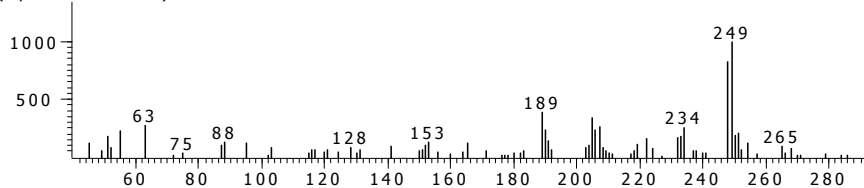
Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 1017, at 2598 , 0,720 sec , sec (Spec # 235872)



Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 1133, at 2694 , 0,770 sec , sec (Spec # 245477)

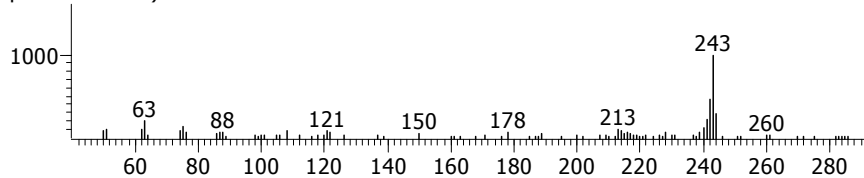


Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 1317, at 2862 , 1,190 sec , sec (Spec # 262319)

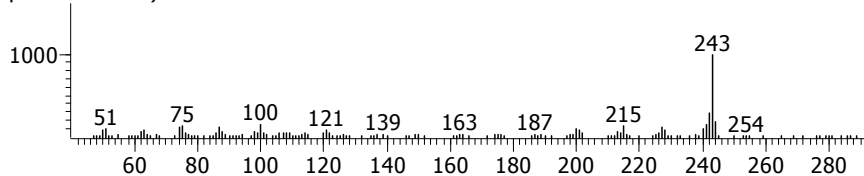


Metil-dibenzoquinolinas.

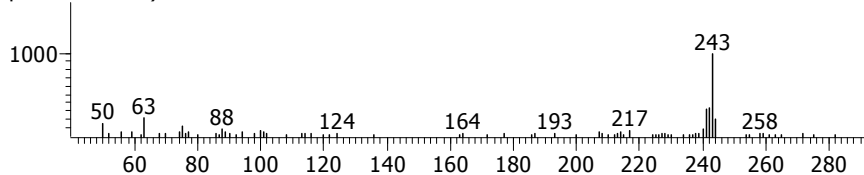
Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 1648, at 3198 , 2,830 sec , sec (Spec # 296083)



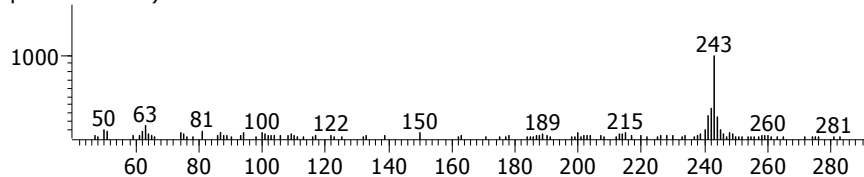
Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 1759, at 3342 , 3,510 sec , sec (Spec # 310551)



Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 1786, at 3390 , 3,330 sec , sec (Spec # 315333)

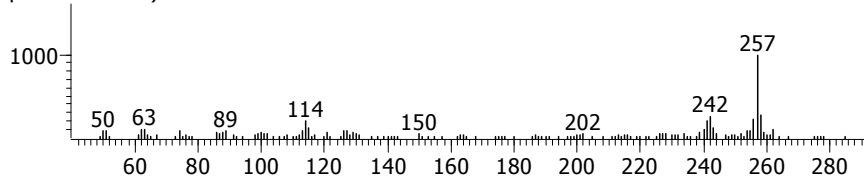


Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 1803, at 3408 , 3,500 sec , sec (Spec # 317150)

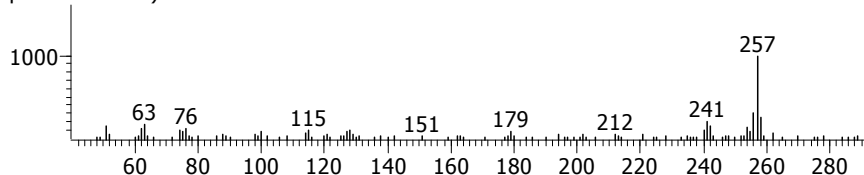


Alquil-dibenzoquinolinas com 2 carbonos alquílicos .

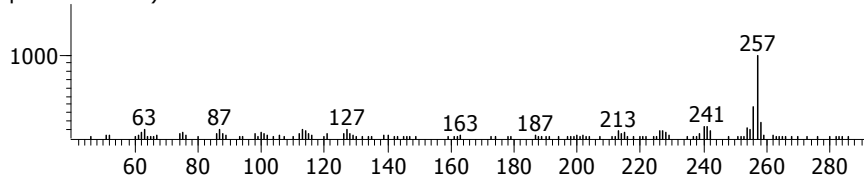
Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 1850, at 3492 , 2,730 sec , sec (Spec # 325473)



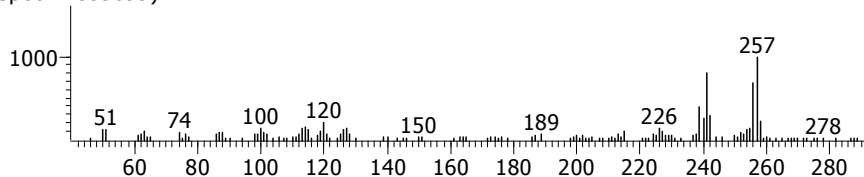
Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 1863, at 3522 , 2,890 sec , sec (Spec # 328489)



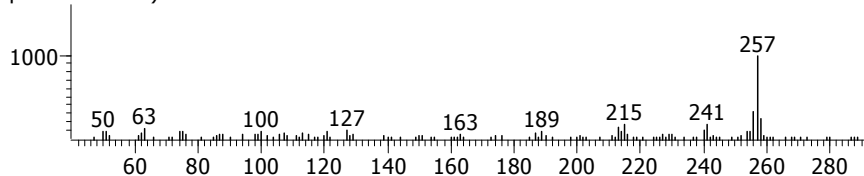
Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 1898, at 3588 , 3,400 sec , sec (Spec # 335140)



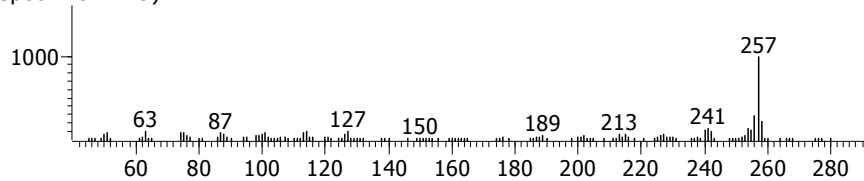
Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 1928, at 3636 , 2,990 sec , sec (Spec # 339899)



Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 1931, at 3642 , 3,330 sec , sec (Spec # 340533)

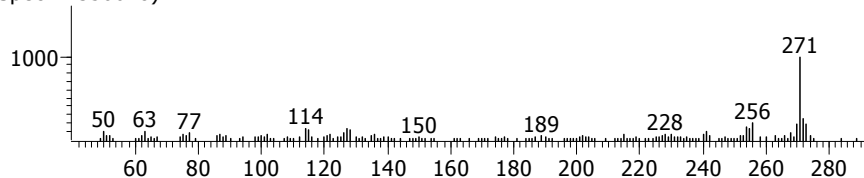


Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 1953, at 3684 , 3,490 sec , sec (Spec # 344749)

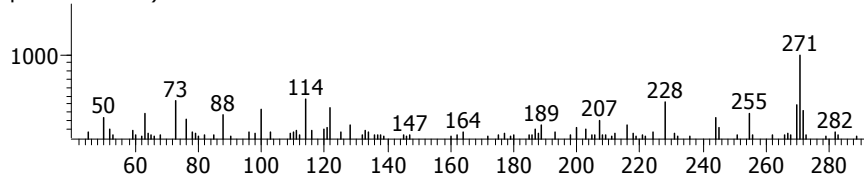


Alquil-dibenzoquinolinas com 3 carbonos alquílicos.

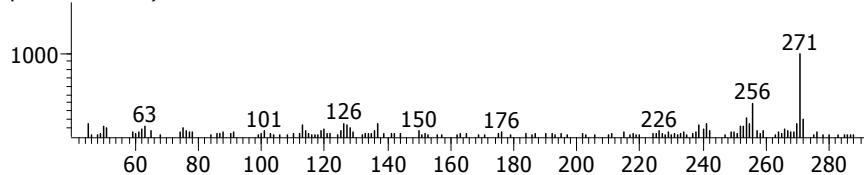
Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 1978, at 3744 , 2,480 sec , sec (Spec # 350648)



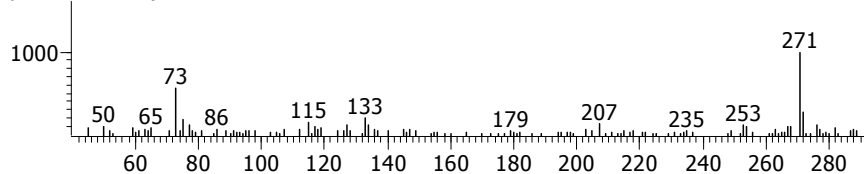
Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 2039, at 3870 , 3,220 sec , sec (Spec # 363322)



Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 2051, at 3900 , 3,130 sec , sec (Spec # 366313)

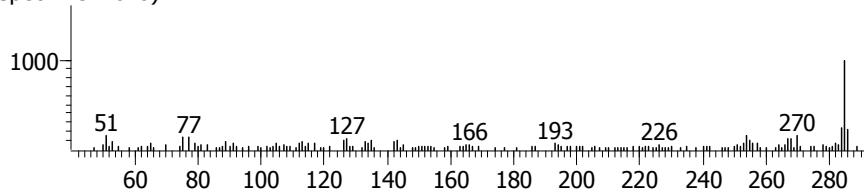


Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 2076, at 3966 , 3,220 sec , sec (Spec # 372922)

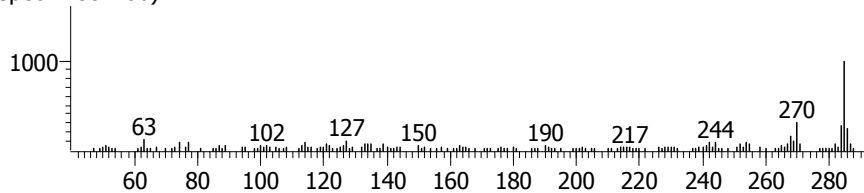


Alquil-dibenzoquinolinas com 4 carbonos alquílicos.

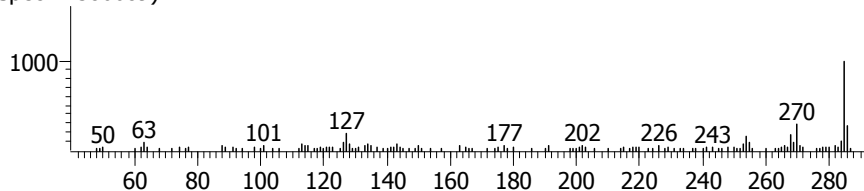
Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 2068, at 3948 , 2,280 sec , sec (Spec # 371028)



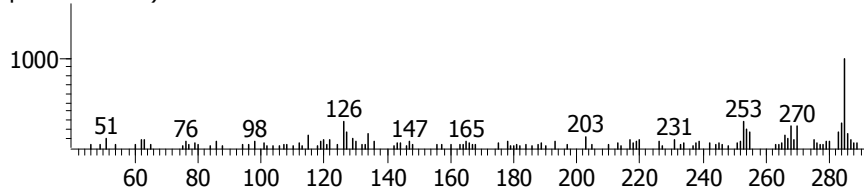
Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 2115, at 4050 , 2,560 sec , sec (Spec # 381256)



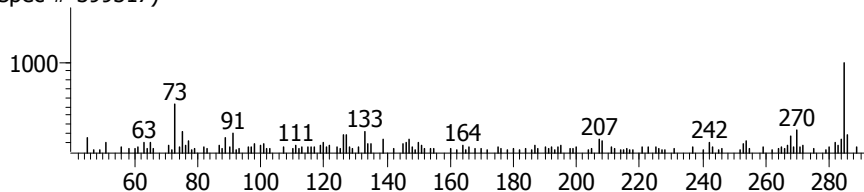
Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 2139, at 4104 , 2,890 sec , sec (Spec # 386689)



Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 2152, at 4140 , 2,830 sec , sec (Spec # 390283)



Peak True - sample "Gbr1 6s sp1:50 22/12/05:1", peak 2180, at 4230 , 3,170 sec , sec (Spec # 399317)



7.3 ANEXO 3 - PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA

Artigos completos publicados em periódicos

1. von Mühlen, C., Zini, C. A., Caramão, E. B., Marriott, P. J.

Applications of comprehensive two-dimensional gas chromatography to the characterization of petrochemical and related samples. *Journal of Chromatography - A*, v.1105, p.39 - 50, **2006**.

2. von Mühlen, C., Zini, C. A., Caramão, E. B., Marriott, P. J.

Caracterização de amostras petroquímicas e derivados utilizando cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC). *Química Nova*, v.29, p.765 - 775, **2006**.

3. von Mühlen, C., Khummueng, W., Zini, C. A., Caramão, E. B., Marriott, P. J.

Detector Technologies for Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography. *Journal of Separation Science*, v.29, p.1909 - 1921, **2006**.

4. von Mühlen, C., Zini, C. A., Caramão, E. B., Marriott, P. J.

Nomenclatura na língua portuguesa em Cromatografia Multidimensional Abrangente. *Química Nova*, **2007**.

Artigos completos submetidos para publicação

1. von Mühlen, C., Oliveira, E. C., Morrison, P., Zini, C. A., Caramão, E. B., Marriott, P. J.

Qualitative and Quantitative Study of Nitrogen-containing Compounds in Heavy Gas Oil using Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography with Nitrogen Phosphorus Detection. *Journal of Separation Science*, **2007**.

2. von Mühlen, C., Zini, C. A., Caramão, E. B., Marriott, P. J. Comparative Study of Eucalyptus dunnii Volatile Oil Composition Using Comprehensive Two-dimensional Gas Chromatography Coupled to a Quadrupole Mass Spectrometer (GC×GC/qMS) and Conventional GC/qMS. *Journal of Chromatography – A*, **2007**.

Apresentações orais em eventos

1. von Mühlen, C.

Applications of Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography (GC×GC) to the Characterization of Petrochemical and Related Samples.

Simpósio XII – Combustíveis - II Simpósio de Cromatografia (SIMCRO), 2006, São Pedro, SP.

2. Zini, C.A.

Applications of Comprehensive Two-dimensional Gas Chromatography to the Characterization of Volatile Oils.

Simpósio VII – Óleos Essenciais, Aromas, Fragrâncias - II Simpósio de Cromatografia (SIMCRO), 2006, São Pedro, SP.

3. Zini, C.A.

Study of Nitrogen Containing Compounds in Petrochemical Samples Using GC×GC-NPD and GC×GC/TOFMS.

3rd GC×GC Symposium, 2006, Riva del Garda, Itália.

4. von Mühlen, C.

GC×GC-NPD optimization for nitrogen containing compounds in petroleum samples.

13th Annual RACI R&D Topics Meeting in Analytical and Environmental Chemistry, 2005, Mt Eliza, VIC, Austrália.

Trabalhos resumidos em eventos

1. von Mühlen, C., Oliveira, E. C., Marriott, P. J., Zini, C. A., Caramão, E. B.

Applications of Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography (GC×GC) to the Characterization of Nitrogen-Containing Compounds in Heavy Fractions of Brazilian Petroleum II Simpósio de Cromatografia (SIMCRO), 2006, São Pedro, SP.

Livro de Resumos SIMCRO 2006, 2006. p.32 - 32

2. von Mühlen, C., Marriott, P. J., Zini, C. A., Caramão, E. B.

Optimization of Nitrogen and Phosphorous Detector (NPD) for Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography (GC×GC)

II Simpósio de Cromatografia (SIMCRO), 2006, São Pedro, SP.

Livro de Resumos SIMCRO 2006, 2006.

3. von Mühlen, C., Zini, C. A., Marriott, P. J., Caramão, E. B.

Study of Eucalyptus Dunnii Volatile Oil Composition Using Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography Coupled to a Quadrupole Mass Spectrometer

II Simpósio de Cromatografia (SIMCRO), 2006, São Pedro.

Livro de Resumos SIMCRO 2006, 2006. p.30 - 30

4. von Mühlen, C., Oliveira, E. C., Marriott, P. J., Zini, C. A., Caramão, E. B.

Study of Nitrogen Containing Compounds in Petrochemical Samples Using GC×GC-NPD and GC×GC/TOFMS

3rd GC×GC Symposium, 2006, Riva del Garda, Itália.

Book of Abstracts, 2006.

5. von Mühlen, C., Marriott, P. J., Zini, C. A., Caramão, E. B.

Characterization of Volatile Oils from Brazilian Plants Using GC×GC

29th International Symposium on Capillary Chromatography, 2006, Riva del Garda, Itália

Book of Abstracts, 2006.

6. von Mühlen, C., Marriott, P. J., Zini, C. A., Caramão, E. B.

GC×GC-NPD optimization for nitrogen containing compounds in petroleum samples

13th Annual RACI R&D Topics Meeting in Analytical and Environmental Chemistry, 2005, Mt Eliza, VIC, Austrália.

Book of Abstracts, v.13, 2005.