

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA

NATHALIA SPALENZA TESSAROLO

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE BIO-ÓLEOS DE PIRÓLISE CONVENCIONAL E
CATALÍTICA UTILIZANDO TÉCNICAS ANALÍTICAS DE ALTA RESOLUÇÃO

RIO DE JANEIRO

2015

Nathalia Spalenza Tessarolo

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE BIO-ÓLEOS DE PIRÓLISE CONVENCIONAL E
CATALÍTICA UTILIZANDO TÉCNICAS ANALÍTICAS DE ALTA RESOLUÇÃO

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Débora de Almeida Azevedo

RIO DE JANEIRO

2015

T338

Tessarolo, Nathalia Spalenza.

Caracterização química de bio-óleos de pirólise convencional e catalítica utilizando técnicas analíticas de alta resolução. / Nathalia Spalenza Tessarolo. – Rio de Janeiro: UFRJ/ IQ, 2015.

142 f.

Orientador: Débora de Almeida Azevedo.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, 2015.

1. Bio-óleo. 2. Cromatografia gasosa bidimensional abrangente. 3. Espectrometria de massas. 4. Ressonância magnética nuclear. I. Azevedo, Débora de Almeida. (Orient.). II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDD: 547

Nathalia Spalenza Tessarolo

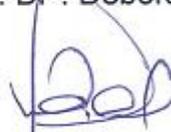
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE BIO-ÓLEOS DE PIRÓLISE CONVENCIONAL E CATALÍTICA UTILIZANDO TÉCNICAS ANALÍTICAS DE ALTA RESOLUÇÃO

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências.

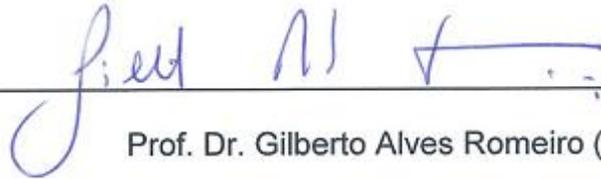
Aprovada por:



Prof.ª. Dr.ª. Débora de Almeida Azevedo (IQ/UFRJ)



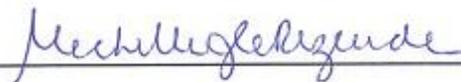
Prof. Dr. Luiz Antonio d'Avila (EQ/UFRJ)



Prof. Dr. Gilberto Alves Romeiro (IQ/UFRJ)



Prof. Dr. Henrique Marcelo Gualberto Pereira (IQ/UFRJ)



Prof.ª. Dr.ª. Michelle Jakeline Cunha Rezende (IQ/UFRJ)

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, **Prof^a. Débora de Almeida Azevedo**, por toda dedicação, confiança e paciência. Agradeço seus conselhos e ensinamentos, os quais me fizeram crescer muito profissionalmente e pessoalmente.

À gerência de **Conversão de Biomassa (CENPES/PETROBRAS)**, pelo suporte financeiro e pelas amostras. Agradeço em especial a **Andrea Pinho**, por toda colaboração neste trabalho.

À toda a **equipe LAGOA/LADETEC**, pela ajuda na realização deste trabalho e pelos momentos de descontração e alegria no laboratório. Ao **Prof. Francisco Radler de Aquino Neto** por disponibilizar a infraestrutura para a realização deste trabalho. Agradeço especialmente: à **Raquel Vieira Santana da Silva**, pela colaboração essencial nas análises deste trabalho, pelo apoio e paciência em todos os momentos; ao **Alessandro Casilli**, pela ajuda na realização deste trabalho e pelos ensinamentos para a minha formação profissional; ao **Vinicius Barreto Pereira**, por sua ajuda neste trabalho e com os equipamentos, e por todos os momentos de alegria no laboratório; à **Bárbara Marini Fernandez Ávila** pela ajuda no trabalho; à **Daniella Rodrigues Fernandes**, por todas as discussões científicas e pelo apoio; ao **Tiago Ribeiro, Thiago Abrantes, Igor Costa e Guy Júnior**, pelo suporte da TI e paciência; à **Paula Lopes de Azevedo**, pelo apoio e confiança. Não poderia deixar de agradecer à **Daniella Vale, Elaine Marotta, Elizabeth Gonzalez, Tatiane Vilella, Gabriela Vanini, Dayane Magalhães, Daniela França Santos, Alex Victoriano, Bruno Quirino de Araújo e Carlos Bulchi Ribeiro**.

À **equipe LabPetro/UFES**, pela colaboração neste trabalho nas análises por espectrometria de massas de alta resolução. Agradeço especialmente: ao **Prof. Eustáquio Vinicius Ribeiro de Castro**, por disponibilizar a infraestrutura do laboratório; ao **Prof. Wanderson Romão**, por ajudar com sua experiência no equipamento e discussões científicas; ao **Renzo Corrêa Silva**, por todos os ensinamentos, que foram essenciais nesta etapa, e por sua colaboração nas análises e interpretação dos dados; à **Gabriela Vanini**, pela ajuda nos experimentos e discussão dos resultados.

Ao **Prof. Carlos Roland Kaiser**, por disponibilizar a infraestrutura do laboratório para as análises por ressonância magnética nuclear. Agradeço também por seu

auxílio nos experimentos e na discussão dos resultados. À **Roberta Trindade**, pela ajuda nos experimentos.

Ao **Prof. Henrique Marcelo Gualberto Pereira**, **Prof^a. Michelle Jakeline Cunha Rezende**, **Prof. Gilberto Alves Romeiro** e **Prof. Luiz Antonio d'Avila** por aceitarem o convite para participar da minha banca avaliadora e contribuírem com seus comentários para a melhoria do trabalho.

Aos professores e à coordenação do **Programa de Pós-Graduação em Química** da UFRJ. Agradeço de forma especial aos funcionários da secretaria pela ajuda e suporte. Ao **CNPq**, órgão de fomento, pelo apoio financeiro.

Agradeço a **Deus**, por tudo conquistado nessa vida.

Aos meus pais, **Roberto Tessarolo** e **Adriana Spalenza Tessarolo**, pelo amor incondicional, pela luta para proporcionar o melhor para mim e por me apoiarem sempre em todos os momentos com muita confiança.

Ao meu namorado, **Thiago Rangel Zanon**, por todo amor, carinho, companheirismo, incentivo, confiança e paciência. Por estar sempre presente, me dando apoio em todos os momentos. E, também, à **sua família**, por todo carinho e incentivo durante este período.

À **minha família**, sempre unida, por me proporcionar muita alegria em todos os momentos. Agradeço em especial à minha prima, **Mayara Spalenza Bosi**, pela amizade e apoio.

Aos **amigos do Rio de Janeiro**. Agradeço especialmente: à **Cristiane Oliveira**, por ter me recebido no Rio de Janeiro; ao **Alessandro Casilli** e **Bárbara Zellner**, pela amizade; à **Sheila Southgate Oliveira**, pelo apoio em todos os momentos; à **Paula Lopes de Azevedo**, pelo carinho e amizade.

Aos **professores DQA-UFRJ**, pelos ensinamentos. Agradeço especialmente: à **Bianca Peres Pinto**, pelo apoio e carinho.

Aos **amigos do Espírito Santo**, pela amizade em todos os momentos, independente da distância. Agradeço especialmente: à **Nailane Fabris Rosa** e **Manoela da Costa Brum**, por estarem sempre presentes. E, a família que eu jamais esquecerei: **Tarcila Franco**, **Guilherme Pires Dalmaschio**, e **Angélica Perinni Kiepper**.

RESUMO

Tessarolo, Nathalia Spalenza. **Caracterização química de bio-óleos de pirólise convencional e catalítica utilizando técnicas analíticas de alta resolução.**

A investigação da composição molecular do bio-óleo é fundamental para assegurar sua adequada aplicação. Este trabalho aborda o uso de técnicas analíticas de alta resolução na caracterização qualitativa e quantitativa de diferentes bio-óleos, para um melhor e mais abrangente conhecimento da composição química orgânica destes: a ressonância magnética nuclear de hidrogênio (^1H NMR), a cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à espectrometria de massas por tempo de voo (GC \times GC-TOFMS) e a espectrometria de massas por ressonância ciclotrônica de íons por transformada de Fourier com fonte de ionização por eletrospray no modo negativo (ESI(-)-FT-ICR MS). As amostras de bio-óleo foram obtidas a partir da pirólise de diversas fontes de biomassa, como o cacho vazio do fruto usado na produção do óleo de palma, madeira de pinho e bagaço de cana, a diferentes temperaturas (550 °C, 500 °C e 450 °C), com ou sem o uso do catalisador (ZSM-5). Além destas, uma amostra passou pelo processo de hidrogenação. O uso do catalisador ZSM-5 levou a uma diminuição no teor de substâncias oxigenadas, especialmente os ácidos, e um aumento no teor de hidrocarbonetos. Sobre a temperatura do processo, um aumento na abundância relativa de classes contendo menor número de átomos de oxigênio (O_2 a O_4) foi observado com o aumento da temperatura de pirólise de 450 °C para 550 °C, indicando um aumento na taxa de degradação dos constituintes da biomassa em temperatura alta. A técnica de ^1H NMR possibilitou a análise do bio-óleo como um todo e a identificação e quantificação dos grupos funcionais presentes nas amostras. Com a GC \times GC-TOFMS, as substâncias mais voláteis foram detectadas, como hidrocarbonetos e substâncias oxigenadas com massa molecular menor que 200 Da. Já a ESI(-)-FT-ICR MS, possibilitou a identificação das substâncias mais polares e não voláteis, em particular as oxigenadas com massa molecular maior que 150 Da. A aplicação integrada dessas três técnicas de alta resolução se mostrou fundamental para uma elucidação abrangente e complementar da composição química dos bio-óleos. A técnica de ^1H NMR forneceu uma avaliação geral das amostras, enquanto as técnicas GC \times GC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS, uma caracterização molecular individual dos constituintes dos bio-óleos.

ABSTRACT

Tessarolo, Nathalia Spalenza. **Chemical characterization of conventional and catalytic pyrolysis bio-oils by high-resolution techniques.**

The investigation of the molecular composition of bio-oil is essential to ensure its proper application. In this work, high resolution analytical techniques were applied for qualitative and quantitative characterization of different bio-oils to provide a complementary and comprehensive knowledge of their organic chemical composition: hydrogen nuclear magnetic resonance (^1H NMR), comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry (GC \times GC-TOFMS) and negative-ion electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (ESI(-)-FT-ICR MS). The samples were produced via the pyrolysis of different biomass sources, such as empty palm fruit bunch, pine wood and sugarcane bagasse, at different temperatures (450 °C, 500 °C and 550 °C), with or without the ZSM-5 catalyst. In addition, hydrogenation process was applied to one of the sample. The use of ZSM-5 catalyst provided a decrease in the oxygenated compound abundance, particularly acids, and an increase on hydrocarbon content. Regarding the pyrolysis temperature, an increase in the lower oxygen class (O_2 to O_4) relative abundance was observed upon increasing the pyrolysis temperature from 450 °C to 550 °C, which indicates an increasing rate of biomass constituent degradation at higher temperatures. The ^1H NMR technique provided an overview of the whole bio-oil composition and identification of main functional groups. With the GC \times GC-TOFMS, the more volatile compounds were detected, such as hydrocarbons and oxygenated compounds with molecular weight lower than 200 Da. The ESI(-)-FT-ICR MS enabled the identification of more polar and non-volatile oxygenated compounds, with molecular weight higher than 150 Da. The integrated results from these three high resolution techniques are essential for the comprehensive and complementary elucidation of the chemical composition of bio-oils. The ^1H NMR technique provided the samples screening, while the GC \times GC-TOFMS and ESI(-)-FT-ICR MS the individual molecular compound characterization of bio-oils.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema geral para uma caracterização química abrangente de bio-óleos utilizando as técnicas de ^1H NMR, GCxGC-TOFMS e a ESI-FT-ICR MS22
- Figura 2.** Processos termoquímicos de conversão da biomassa, seus produtos e aplicações. Adaptado de BRIDGWATER (2012).25
- Figura 3.** Esquema geral das moléculas que podem ser encontradas no bio-óleo a partir dos constituintes da biomassa. Adaptado de SILVA *et al.* (2014).27
- Figura 4.** Esquema apresentando algumas aplicações do bio-óleo. Adaptado de KANAUIA *et al.* (2013).31
- Figura 5.** Desenho esquemático de uma sistema GCxGC, onde: I, injetor; M, modulador; D, detector; ^1D , coluna cromatográfica da primeira dimensão e ^2D , coluna cromatográfica da segunda dimensão. Retirado de von Mühlen (2007).35
- Figura 6.** Exemplo de um cromatograma estruturado obtido por GCxGC. Adaptado de TRAN *et al.* (2010).36
- Figura 7.** Esquema comparando a capacidade de pico de sistemas GC unidimensionais (GC), multidimensionais (GC-GC) e abrangentes (GCxGC). Adaptado de GIDDINGS (1987).37
- Figura 8.** Esquema ilustrando a geração e visualização de um cromatograma bidimensional. Adaptado de PEDROSO *et al.* (2009).38
- Figura 9.** Ilustração esquemática de uma fonte de ionização por ESI. Retirado de DALMASCHIO (2012); GASKELL (1997).41
- Figura 10.** Movimento ciclôtrônico de íons na presença de um campo magnético. Retirado de MARSHALL *et al.* (1998).42
- Figura 11.** Esquema de funcionamento de uma célula de ICR. Retirado de University of Bristol (2013) *apud* SILVA (2014a).43
- Figura 12.** Forma de visualização de resultado obtido por ESI(-)-FT-ICR MS em um gráfico de DBE vs. número de carbono de uma amostra de bio-óleo. Adaptado de KEKÄLÄINEN *et al.* (2014).44
- Figura 13.** Espectros de massas por ESI(-)-FT-ICR MS para as amostras #75 (a) e #85 (b). As fórmulas moleculares de algumas espécies oxigenadas são atribuídas.58

Figura 14. Distribuição das classes de heteroátomos para as amostras obtida com ESI(-)-FT-ICR MS.....	59
Figura 15. Diagramas de contorno de DBE <i>versus</i> número de átomos de carbono para as classes O ₂₋₁₄ e N ₁ O ₅₋₉ da amostra #75.	60
Figura 16. Diagramas de contorno de DBE <i>versus</i> número de átomos de carbono para as classes O ₃₋₁₃ da amostra #85.....	61
Figura 17. Levoglicosano identificado por GCxGC-TOFMS (a) e FT-ICR MS (b) na amostra #85. O espectro de massas utilizado na identificação da substância por GCxGC-TOFMS é apresentado.	63
Figura 18. Diagramas de contorno de DBE <i>versus</i> número de átomos de carbono para as classes O ₅₋₈ da amostra #85, ilustrando as estruturas das substâncias derivadas de açúcares identificadas tentativamente.	63
Figura 19. Substâncias fenólicas identificadas a partir do cromatograma dos íons extraídos <i>m/z</i> 94, 108, 122, 136 e 150 por GCxGC-TOFMS.....	64
Figura 20. Substâncias fenólicas identificadas por GCxGC-TOFMS (a) e ESI(-)-FT-ICR MS (b) na amostra #85. Os espectros de massas de baixa resolução usados na identificação das substâncias por GCxGC-TOFMS são ilustrados.....	65
Figura 21. Gráfico de relação das áreas (GCxGC-TOFMS) e intensidades (ESI(-)-FT-ICR MS) dos picos para os ácidos saturados presentes na amostra # 75.....	66
Figura 22. Gráfico de relação dos números de átomos de C e O obtidos nas análises por GCxGC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS em função da área relativa (GCxGC-TOFMS) e abundância relativa (ESI(-)-FT-ICR MS) para as amostras dos bio-óleos #75 (a) e #85 (b)	68
Figura 23. Distribuição das classes de heteroátomos obtidas nas análises por GCxGC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS em função das suas abundâncias relativas para as amostras dos bio-óleos #75 (a) e #85 (b)	69
Figura 24. Espectros de ¹ H NMR (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) para as amostras de bio-óleo obtidos da pirólise da madeira (M) a diferentes temperaturas (450 °C, 500 °C e 550 °C), com (Z) ou sem (S) o uso do catalisador ZSM-5.	71

Figura 25. TIC da amostra M450S usando diferentes condições cromatográficas na otimização: (a) condição 1 (20 mg mL ⁻¹), (b) condição 2 (20 mg mL ⁻¹) e (c) condição 3 (10 mg mL ⁻¹).....	75
Figura 26. TIC de uma região expandida do plano cromatográfico da amostra BC550Z, ilustrando a separação por classes químicas.	76
Figura 27. TIC da amostra M450Z mostrando o poder de resolução em uma região complexa. Os espectros de massas utilizados na identificação estão ilustrados.	77
Figura 28. Deconvolução espectral e identificação confiável de duas substâncias (1) e (2) que coeluem na mesma região cromatográfica.	78
Figura 29. EIC <i>m/z</i> 108 e 120, ilustrando a identificação de picos de maior e menor intensidade.	79
Figura 30. Gráfico com valores de recuperação (%) para a amostra #85 fortificada com padrões na concentração de 5 ng µL ⁻¹ (n=3).	84
Figura 31. TIC das amostras de bio-óleo, obtidas com e sem catalisador, por GCxGC-TOFMS: (a) BC550S, (b) BC550Z, (c) M550S e (d) M550Z, onde se observa a presença de hidrocarbonetos aromáticos nos bio-óleos obtidos com catalisador, e a ausência destes nos bio-óleos sem catalisador.	85
Figura 32. TIC das amostras de bio-óleo, obtidas com e sem catalisador, por GCxGC-TOFMS: (e) M500S, (f) M500Z, (g) M450S e (h) M450Z.	86
Figura 33. Fenóis identificados na amostra de bio-óleo BC550S a partir dos EIC <i>m/z</i> 94, 108, 122, 136 e 150.	87
Figura 34. EIC <i>m/z</i> 110, 124 e 138 das amostras de bio-óleo (a) BC550S e (b) BC550Z, ilustrando a identificação benzenodióis.	88
Figura 35. TIC para as amostras (a) BC550Z e (b) BC550S, ilustrando a identificação da classe dos hidrocarbonetos aromáticos.	89
Figura 36. Distribuição das classes de substâncias nos bio-óleos.	101
Figura 37. Distribuição das classes de substâncias para as amostras de bagaço de cana na temperatura de 550 °C: BC550S e BC550Z.	102

Figura 38. Distribuição das classes de substâncias para as amostras de madeira na temperatura de 550 °C: M550S e M550Z.	103
Figura 39. Distribuição das classes de substâncias para as amostras de madeira na temperatura de 500 °C: M500S e M500Z.	104
Figura 40. Distribuição das classes de substâncias para as amostras de madeira na temperatura de 450 °C: M450S e M450Z.	105
Figura 41. Distribuição das classes de substâncias para as amostras com o catalisador ZSM-5: BC550Z, M550Z, M500Z e M450Z.	106
Figura 42. Distribuição das classes de substâncias para as amostras obtidas sem o catalisador: BC550S, M550S, M500S e M450S.	107
Figura 43. Espectros de massas por ESI(-)-FT-ICR MS para as amostras BC550Z e BC550S. As fórmulas moleculares de algumas espécies são atribuídas.	110
Figura 44. Espectros de massas por ESI(-)-FT-ICR MS para as amostras a partir de madeira. As fórmulas moleculares de algumas espécies são atribuídas.	111
Figura 45. Distribuição das classes de heteroátomos obtida por ESI(-)-FT-ICR MS.	112
Figura 46. Distribuição das classes de heteroátomos obtidas com ESI(-)-FT-ICR MS para as amostras M550S, M550Z, M500S e M500Z.	113
Figura 47. Distribuição das classes de heteroátomos obtidas com ESI(-)-FT-ICR MS para as amostras M550S, M500S e M450S.	114
Figura 48. Diagramas de contorno de DBE <i>versus</i> número de carbono para as classes O ₃ e O ₄ das amostras M550S (a) e M550Z (b)	115
Figura 49. Diagramas de contorno de DBE <i>versus</i> número de carbono para as classes O ₂ —O ₄ das amostras M450S (a) , M500S (b) e M550Z (c)	117
Figura 50. Espectros de ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) para as amostras de bio-óleo de pirólise convencional (MPT) e pirólise catalítica (MPC), de bio-óleo hidrotratado (MPH).	119
Figura 51. TIC das amostras de bio-óleo por GCxGC-TOFMS: (a) MPH, (b) MPC e (c) MPT.	122
Figura 52. Espectros de massas por ESI(-)-FT-ICR MS para as amostras MPH, MPC e MPT.	123

Figura 53. Substâncias identificadas utilizando as técnicas de ^1H NMR, GC \times GC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS nos bio-óleos obtidos no processo de pirólise pela decomposição dos principais constituintes da biomassa. A estrutura da proteína foi obtida no Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank (RCSB PDB)..... 125

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais condições operacionais para processos de pirólise Adaptado de SILVA (2014).	26
Tabela 2. Propriedades e características típicas de um bio-óleo. Adaptado de MOHAN <i>et al.</i> (2006).	29
Tabela 3. Identificação das amostras e as condições utilizadas durante o processo de pirólise.	47
Tabela 4. Caracterização físico-química das amostras do conjunto II.	47
Tabela 5. Caracterização físico-química das amostras do conjunto III.	48
Tabela 6. Massa (mg) pesada para cada amostra.	49
Tabela 7. Deslocamento químico (ppm) para cada tipo de hidrogênio analisado. ..	50
Tabela 8. Parâmetros utilizados na avaliação da melhor condição cromatográfica com o uso da amostra M450S.	52
Tabela 9. Porcentagem de picos identificados por ESI(-)-FT-ICR MS, a média dos erros para as fórmulas moleculares atribuídas (ppm e mDa) e o desvio padrão (ppm e mDa) para as amostras a partir da recalibração.	57
Tabela 10. Percentual normalizado de hidrogênios baseado na integração por regiões do espectro de ¹ H NMR das amostras obtidas com bagaço de cana	72
Tabela 11. Percentual normalizado de hidrogênios baseado na integração por regiões do espectro de ¹ H NMR das amostras obtidas com madeira.	72
Tabela 12. Parâmetros de qualidade para as substâncias padrão por GC×GC-TOFMS.	81
Tabela 13. Desvio-padrão relativo obtido para injeções (n=5) realizadas no mesmo dia.	82
Tabela 14. Valores de concentração obtidos para a amostra #85 fortificada (n=3) com as substâncias padrão a concentração de 5,0 ng μL ⁻¹ . Os desvios-padrão relativos foram calculados.	83
Tabela 15. Curvas analíticas das substâncias padrão para a quantificação dos analitos selecionados.	90

Tabela 16. Concentração ($\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ e $\mu\text{g } \text{g}^{-1}$) dos analitos identificados nas amostras de bio-óleo obtidas a partir de bagaço de cana.	90
Tabela 17. Concentração ($\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ e $\mu\text{g } \text{g}^{-1}$) dos analitos selecionados e identificados nas amostras de bio-óleo obtidas a partir de madeira.	91
Tabela 18. Área percentual (%) das classes de substâncias identificadas.	94
Tabela 19. Lista das substâncias mais abundantes identificadas nas classes dos ácidos, O-heterocíclicos, hidrocarbonetos aromáticos, fenóis e cetonas cíclicas.	95
Tabela 20. Percentual de hidrogênios baseado na análise por ^1H NMR das amostras de bio-óleo do conjunto III.	120

LISTA DE SIGLAS

GC×GC – cromatografia gasosa bidimensional abrangente (do inglês *comprehensive two-dimensional gas chromatography*)

FT-ICR MS – espectrometria de massas por ressonância ciclotrônica de íons por transformada de Fourier (do inglês *Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry*)

GC×GC-TOFMS – cromatografia gasosa bidimensional abrangente associada à detecção pela espectrometria de massas por tempo de voo (do inglês *comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry*)

GC – cromatografia gasosa (do inglês *gas chromatography*)

ESI – ionização por *electrospray* (do inglês *electrospray ionization*)

¹H NMR – ressonância magnética nuclear de hidrogênio (do inglês *hydrogen nuclear magnetic resonance*)

ESI(-)-FT-ICR MS – espectrometria de massas por ressonância ciclotrônica de íons por transformada de Fourier com ionização por *electrospray* no modo negativo (do inglês *negative-ion electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry*)

GC/MS – cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (do inglês *gas chromatography coupled to mass spectrometry*)

FTIR – infra-vermelho com transformada de Fourier (do inglês *Fourier transform with infrared*)

HPLC – cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês *high performance liquid chromatography*)

NMR – ressonância magnética nuclear (do inglês *nuclear magnetic resonance*)

FID – do inglês *free induction decay*

¹D – primeira dimensão

²D – segunda dimensão

EI – fonte de ionização por elétrons (do inglês *electron ionization*)

CI – ionização química (do inglês *chemical ionization*)

MALDI – ionização por dessorção a laser assistida por matriz (do inglês *matrix assisted laser desorption/ionization*)

DBE – equivalente de ligações duplas (do inglês *double bond equivalent*)

TIC – cromatograma de íons totais (do inglês *total ion chromatogram*)

EIC – cromatograma de íons extraídos (do inglês *extracted ion chromatogram*).

LD – limite de detecção

LQ – limite de quantificação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	OBJETIVO	23
3	REVISÃO DA LITERATURA	24
3.1	BIOMASSA.....	24
3.2	CONVERSÃO DE BIOMASSA.....	24
3.2.1	Pirólise	25
3.3	BIO-ÓLEO	26
3.3.1	Aplicações do bio-óleo	30
3.4	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE BIO-ÓLEOS	31
3.4.1	Ressonância magnética nuclear	33
3.4.2	Cromatografia gasosa bidimensional abrangente	33
3.4.2.1	Princípios básicos da GCxGC.....	34
3.4.3	Espectrometria de massas de alta resolução e exatidão	38
3.4.3.1	Fonte de ionização	39
3.4.3.2	Analisador de massas	41
4	EXPERIMENTAL	45
4.1	MATERIAIS	45
4.2	PADRÕES.....	45
4.3	PREPARO DAS SOLUÇÕES-PADRÃO	45
4.4	AMOSTRAS	46
4.4.1	Conjunto I	46
4.4.2	Conjunto II	46
4.4.3	Conjunto III	47
4.5	PREPARO DAS AMOSTRAS	48
4.5.1	¹H NMR	48

4.5.2 GCxGC-TOFMS	48
4.5.3 ESI(-)-FT-ICR MS	49
4.6 INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA	50
4.6.1 ¹H NMR	50
4.6.2 GCxGC-TOFMS	51
4.6.2.1 Validação do método GCxGC-TOFMS	53
4.6.2.2 Quantificação dos analitos selecionados.....	54
4.6.3 ESI(-)FT-ICR MS	54
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA	56
5.1.1 Conjunto I	56
5.1.1.1 ESI(-)-FT-ICR MS.....	56
5.1.1.2 Integração GCxGC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS	62
5.1.1.3 Considerações	69
5.1.2 Conjunto II	70
5.1.2.1 ¹ H NMR.....	70
5.1.2.2 GCxGC-TOFMS.....	73
5.1.2.2.1 Avaliação do método GCxGC-TOFMS	73
5.1.2.2.2 Validação do método GCxGC-TOFMS	79
5.1.2.2.3 Avaliação qualitativa das amostras de bio-óleo.....	84
5.1.2.2.4 Avaliação quantitativa.....	89
5.1.2.2.5 Avaliação semi-quantitativa.....	92
5.1.2.3 ESI(-)-FT-ICR MS.....	109
5.1.2.4 Considerações	118
5.1.3 Conjunto III	118
5.1.3.1 ¹ H NMR.....	118

5.1.3.2 GCxGC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS	121
5.1.3.3 Considerações	123
5.2 INTEGRAÇÃO ¹ H NMR, GCxGC-TOFMS E ESI(-)-FT-ICR MS	124
6 CONCLUSÃO	126
7 REFERÊNCIAS.....	127
APÊNDICE A.....	138
APÊNDICE B.....	141

1 INTRODUÇÃO

A biomassa é uma fonte de energia renovável com grande potencial energético, podendo ser convertida em uma variedade de produtos químicos e biocombustíveis (BAHNG *et al.*, 2009; BRIDGWATER, 2012). O aproveitamento de resíduos provenientes de processamentos químicos e/ou agrícolas se mostra uma alternativa importante para a redução dos impactos ambientais. Assim, a indústria pode ser desonerada dos custos referentes ao tratamento e descarte destes resíduos, possibilitando o reuso de insumos como novas fontes de energia. Neste cenário, a pirólise de resíduos da atividade humana e industrial vem se destacando na obtenção de produtos químicos e combustíveis renováveis (ALSTON *et al.*, 2011; ROMEIRO *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2012).

A pirólise é um dos processos mais importantes de conversão termoquímica, na qual a degradação térmica acontece na ausência parcial ou total de oxigênio (ASTM D7544, 2012). O processo gera uma fração oleosa, denominada de óleo de pirólise, bio-óleo ou biocombustível líquido de pirólise, que é composta de uma mistura complexa de moléculas de tamanhos diversos obtidas a partir de reações de despolimerização e fragmentação dos três blocos principais constituintes da biomassa (celulose, hemicelulose e lignina) (NAIK *et al.*, 2010). A composição química do bio-óleo varia em função da origem da biomassa ou do resíduo, dos parâmetros utilizados durante a pirólise e do uso ou não de um catalisador (ZHANG *et al.*, 2007; BEN e RAGAUSKAS, 2013; OMAIS *et al.*, 2013; BRIDGWATER, 2012). Dentre as classes de substâncias encontradas no bio-óleo incluem-se ácidos, ésteres, álcoois, cetonas, aldeídos, açúcares, O-heterocíclicos e fenóis (BRIDGWATER, 2003; MULLEN *et al.*, 2009; TESSAROLO *et al.*, 2012).

A caracterização química dos constituintes do bio-óleo é fundamental para a otimização de processos que envolvem a conversão da biomassa e avaliação da qualidade dos produtos, no intuito de sugerir uma utilização adequada para cada bio-óleo (KANAUJIA *et al.*, 2013). Além disso, a possibilidade de co-processar estes bio-óleos em várias unidades de refino pode levar a uma segunda geração de biocombustíveis, maximizando a produção de derivados de óleos com maior valor agregado e seu uso na indústria química (GUO *et al.*, 2010).

Em trabalhos recentes, os autores vêm utilizando técnicas analíticas com alto poder de resolução, como a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC, *comprehensive two-dimensional gas chromatography*) (OMAIS *et al.*, 2013) e a espectrometria de massas por ressonância ciclotrônica de íons por transformada de Fourier (FT-ICR MS, *Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry*) (OLCESE *et al.*, 2013), no intuito de se obter uma caracterização detalhada do bio-óleo.

A GC×GC associada à detecção pela espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC-TOFMS, *comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry*) permite um aumento na capacidade de separação das classes de substâncias e uma identificação individual das mesmas, com um aumento na seletividade (DALLÜGUE *et al.*, 2003). Porém, uma limitação nas técnicas de cromatografia gasosa (GC) está relacionada a volatilidade das substâncias, o que dificulta a análise dos oligômeros de lignina e carboidratos presentes em bio-óleos, que não são voláteis o suficiente para serem identificados por GC (MOHAN *et al.*, 2006). A FT-ICR MS oferece uma ultra-alta resolução (poder de resolução $m/\Delta m_{50\%} > 100.000$) e exatidão em massas (< 5 ppm), capazes de garantir uma determinação inequívoca da fórmula química dos íons produzidos. Com esta técnica acoplada a uma fonte iônica por *electrospray* (ESI) é possível analisar as substâncias polares e de alta massa molecular que possivelmente não seriam detectadas por GC×GC (HOFFMAN e STROOBANT, 2007; GLISH e BURINSKY, 2008; VAZ, 2010).

Em adição às técnicas mencionadas, a ressonância magnética nuclear de hidrogênio (^1H NMR, *hydrogen nuclear magnetic resonance*) apresenta o potencial para a identificação dos grupos funcionais presentes nas amostras de bio-óleo como um todo, e não somente de frações selecionadas. Entretanto, a limitação neste caso é a não identificação individual das substâncias (MULLEN *et al.*, 2009; JOSEPH *et al.*, 2010; BEN e RAGAUSKAS, 2011).

A **Figura 1** apresenta o esquema ilustrando a caracterização química abrangente de bio-óleos utilizando as três técnicas analíticas: ^1H NMR, GC×GC-TOFMS e a ESI-FT-ICR MS.

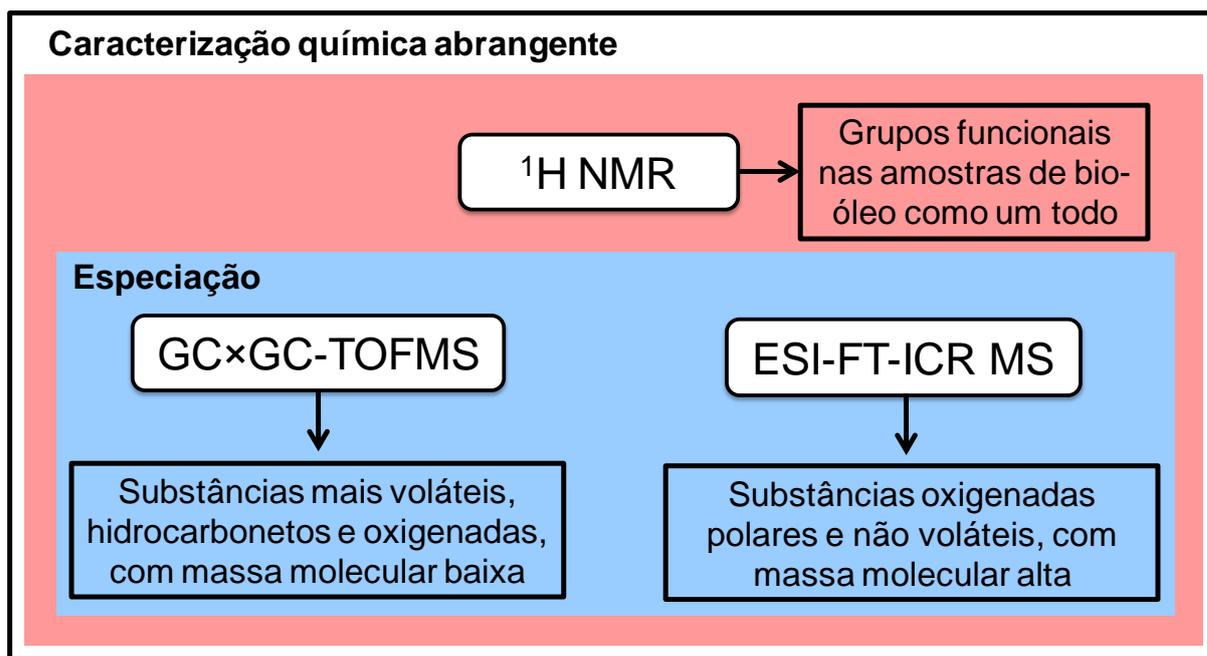


Figura 1. Esquema geral para uma caracterização química abrangente de bio-óleos utilizando as técnicas de $^1\text{H NMR}$, GCxGC-TOFMS e a ESI-FT-ICR MS .

2 OBJETIVO

O objetivo deste estudo consiste na caracterização química molecular individual, qualitativa e quantitativa, de bio-óleos utilizando técnicas analíticas de alta resolução de forma complementar: a ressonância magnética nuclear de hidrogênio (^1H NMR), a cromatografia gasosa bidimensional abrangente associada à detecção pela espectrometria de massas por tempo de voo (GCxGC-TOFMS) e a espectrometria de massas por ressonância ciclôtrica de íons por transformada de Fourier (FT-ICR MS). Os bio-óleos avaliados foram obtidos a partir de diferentes fontes de biomassa, por pirólise térmica ou catalítica, sendo que uma das amostras foi hidrotratada. A integração dos dados gerados para amostras de bio-óleo, realizada pela primeira vez neste trabalho, leva a um conhecimento maior, mais abrangente e complementar da composição química orgânica dos bio-óleos, a fim de permitir uma adequada aplicação.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 BIOMASSA

Bioenergia pode ser definida como a energia química acumulada, mediante processos fotossintéticos recentes, nas ligações moleculares que compõem os vegetais. Assim, biomassas utilizadas para fins energéticos englobam a matéria vegetal gerada através da fotossíntese e os seus derivados, tais como: resíduos florestais e agrícolas, resíduos animais e a matéria orgânica contida nos resíduos industriais, domésticos e municipais (PERLINGEIRO, 2014).

O Brasil, por possuir condições naturais e geográficas favoráveis à produção de biomassa, pode assumir uma posição de destaque no cenário mundial na produção e no uso da biomassa como recurso energético. Em função da situação geográfica, o país recebe intensa radiação solar ao longo do ano, que é a fonte de energia fundamental para a produção de biomassa, seja para alimentação ou para fins agroindustriais. Além disso, outro aspecto importante é a grande quantidade de terra agricultável, com boas características de solo e condições climáticas favoráveis (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2015).

3.2 CONVERSÃO DE BIOMASSA

Dentre os processos termoquímicos estão a combustão, a gaseificação e a pirólise (BRIDGWATER, 2012), os quais são apresentados na **Figura 2**, que resume os produtos principais gerados por processos termoquímicos de conversão da biomassa e suas aplicações.

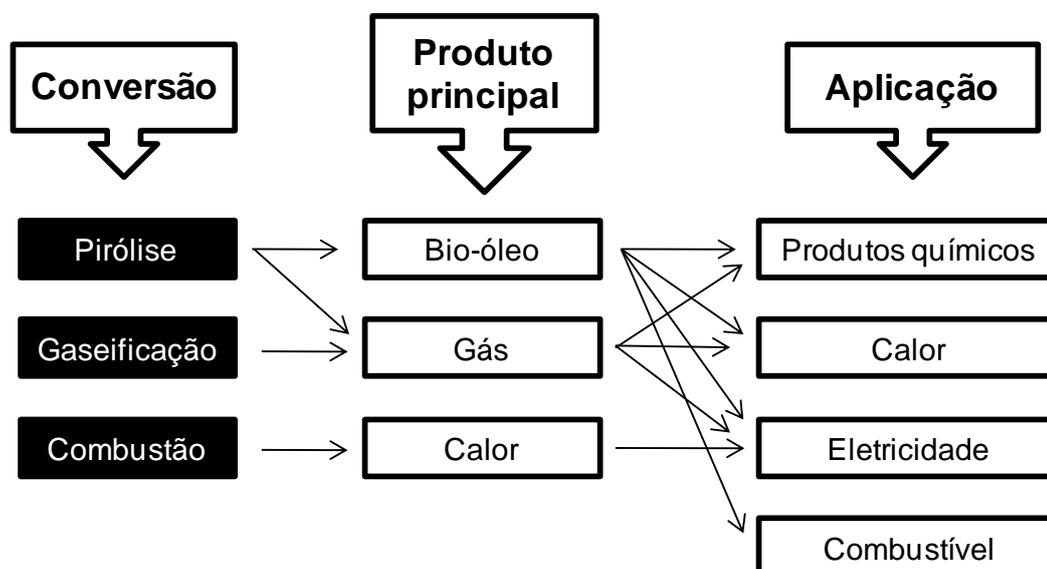


Figura 2. Processos termoquímicos de conversão da biomassa, seus produtos e aplicações. Adaptado de BRIDGWATER (2012).

3.2.1 Pirólise

A pirólise de biomassa é uma das tecnologias de conversão termoquímica mais promissoras para a obtenção de combustíveis alternativos e de produtos químicos. Neste processo, a degradação térmica do material orgânico acontece na ausência parcial ou total de oxigênio (ASTM D7544, 2012), produzindo gás, líquido (óleo e água) e sólido (YAMAN, 2004; ALMEIDA, 2008; NAIK *et al.*, 2010).

Os rendimentos dos produtos são influenciados pelas condições operacionais empregadas durante o processo, dividindo-se em três subclasses: pirólise lenta (carbonização), pirólise rápida e pirólise *flash*. Os principais parâmetros operacionais são: temperatura do reator, taxa de aquecimento e tempo de residência do sólido (**Tabela 1**). Na pirólise lenta ou carbonização, taxas de aquecimento na ordem de $0,1-1\text{ }^{\circ}\text{C s}^{-1}$ são empregadas, favorecendo a produção de carvão vegetal. A pirólise rápida fornece rendimentos altos de líquido, na qual utilizam-se taxas de aquecimento muito mais altas ($10-200\text{ }^{\circ}\text{C s}^{-1}$). Normalmente, os processos de pirólise rápida produzem 60-75% em massa de líquido, 15-25% em massa de carvão, e 10-20% em massa de gases. A pirólise *flash* é uma versão melhorada da

pirólise rápida, na qual são utilizadas taxas de aquecimento muito elevadas, sendo maiores que $1000\text{ }^{\circ}\text{C s}^{-1}$, com tempos de reação de apenas alguns segundos ou até menos (SILVA, 2014; BRIDGWATER, 2006; BRIDGWATER, 2012; MOHAN *et al.*, 2006).

Tabela 1. Principais condições operacionais para processos de pirólise Adaptado de SILVA (2014).

Processo	Condições operacionais		
	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Tempo de residência (s)	Taxa de aquecimento ($^{\circ}\text{C s}^{-1}$)
Pirólise lenta (carbonização)	300–700	300–550	0,1–1
Pirólise rápida	600–1000	0,5–10	10–200
Pirólise <i>flash</i>	800–1000	<0,5	>1000

3.3 BIO-ÓLEO

A fração líquida obtida na pirólise consiste em óleo e água, sendo a fração oleosa, denominada de óleo de pirólise, bio-óleo ou biocombustível líquido de pirólise. As moléculas encontradas no bio-óleo possuem diversos tamanhos e são obtidas a partir de reações de despolimerização e fragmentação dos três principais blocos constituintes da biomassa (celulose, hemicelulose e lignina) (**Figura 3**) (NAIK *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2014). Dentre as classes de substâncias presentes no bio-óleo destacam-se aquelas contendo oxigênio, tais como os ácidos, ésteres, álcoois, cetonas, aldeídos, açúcares anidros, furanos e fenóis (BRIDGWATER, 2003; MULLEN *et al.*, 2009). Assim, a composição química do bio-óleo varia em função da origem da biomassa ou do resíduo, dos parâmetros utilizados durante a pirólise e do uso ou não de um catalisador (ZHANG *et al.*, 2007; BRIDGWATER, 2012; BEN e RAGAUSKAS, 2013; OMAIS *et al.*, 2013).

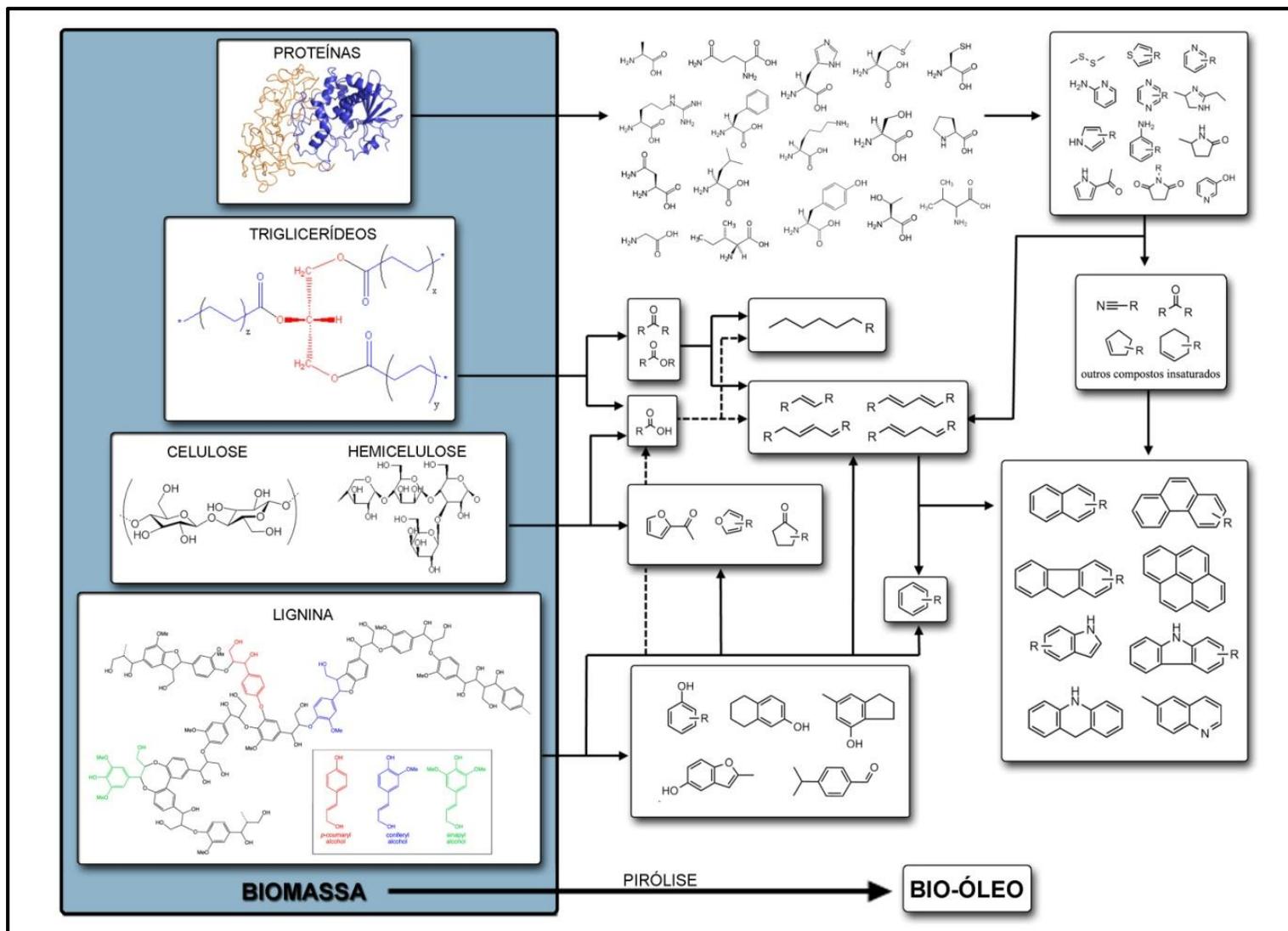


Figura 3. Esquema geral das moléculas que podem ser encontradas no bio-óleo a partir dos constituintes da biomassa. Adaptado de SILVA *et al.* (2014).

O bio-óleo apresenta algumas características e propriedades típicas, que são mostradas na **Tabela 2**. O bio-óleo é miscível em solventes polares, como metanol e acetona, e possui baixa solubilidade em hidrocarbonetos. Além disso, é considerado instável, podendo sofrer reações de polimerização e condensação ao longo do tempo, que são favorecidas pela elevação da temperatura e pela presença de ar e luz, resultando em um aumento significativo da viscosidade, na separação de fases e na deposição de gomas. Outro fator agravante na estabilidade é a forte acidez do bio-óleo. O baixo pH comumente determinado é devido aos ácidos orgânicos provenientes da degradação dos biopolímeros, que causa sua alta corrosividade. As propriedades observadas no bio-óleo como os altos teores de substâncias oxigenadas e água, a alta viscosidade, a instabilidade térmica e a corrosividade, inviabilizam a utilização desse óleo como um biocombustível que seria substituto dos combustíveis fósseis (BRIDGWATER, 2003; BRIDGWATER, 2006; MOHAN *et al.*, 2006; HUBER *et al.*, 2006; SILVA, 2014). Dessa forma, a produção de bio-óleos de alta qualidade tem se tornado um desafio. Diante disso, pode-se melhorar a qualidade do bio-óleo durante o processo de produção do mesmo ou por processos de *upgrading*, como a hidrodessoxigenação do bio-óleo já produzido (HUBER *et al.*, 2006; PATTIYA *et al.*, 2008).

Tabela 2. Propriedades e características típicas de um bio-óleo. Adaptado de MOHAN *et al.* (2006).

Propriedades	Características
	Bio-óleo
Teor de água (% m/m)	15-30
pH	2,5
Densidade (Kg L ⁻¹)	1,2
Composição elementar (% m/m)	
C	54-58
H	5,5-7,0
O	35-40
N	0-0,2
cinza	0-0,2
Poder calorífico (MJ Kg ⁻¹)	16-19
Viscosidade a 40 °C (mPa s)	40-100
Sólidos (% m/m)	0,2-1,0
Resíduo da destilação (% m/m)	Acima de 50

As duas principais rotas que estão sendo estudadas para remover as substâncias oxigenadas são a hidrodessoxigenação e a pirólise catalítica. Os processos de hidrodessoxigenação são destinados para o *upgrading* do bio-óleo produzido a partir da pirólise convencional (térmica) da biomassa. Neste processo, o bio-óleo reage com hidrogênio a altas pressões, na presença de catalisadores (THEGARID *et al.*, 2014; SILVA, 2014b). Embora o bio-óleo resultante deste processo geralmente possua um menor teor de substâncias oxigenadas e uma melhor estabilidade, o processo de hidrodessoxigenação ainda é considerado caro em função do uso de grande quantidade de hidrogênio a alta pressão. Além disso, é necessário minimizar a desativação do catalisador causada pelos metais alcalinos presentes no bio-óleo bruto.

Uma rota mais direta consiste na pirólise catalítica da biomassa, que utiliza catalisadores para promover as reações de desoxigenação na unidade de pirólise (*in situ*). Esta alternativa apresenta a vantagem de não necessitar da adição de hidrogênio para remover o oxigênio a partir da biomassa. Além disso, poderia substituir a pirólise convencional no intuito de produzir um bio-óleo mais adequado para um posterior processo de hidrodessoxigenação menos oneroso. Diferentes

catalisadores de zeólitas ácidas têm sido estudados na literatura, mas a zeólita ZSM-5 tem sido avaliada como a mais promissora na maximização das reações de desoxigenação e produção de hidrocarbonetos (LAPPAS *et al.*, 2002; PATTIYA *et al.*, 2008; AHO *et al.*, 2008). As zeólitas são aluminossilicatos cristalinos formados por uma rede tridimensional de tetraedros de alumínio (AlO_4^-) e silício (SiO_4) ligados entre si pelos átomos de oxigênio. A zeólita ZSM-5 (*zeolite socony mobil*) possui um alto teor de silício ($\text{Si}/\text{Al} \geq 10$). Devido à sua seletividade, grau de estabilidade térmica e acidez elevada, este material tem sido muito utilizado em catálise de bio-óleo (LUNA e SCHUCHARDT, 2001; PATTIYA *et al.*, 2008).

3.3.1 Aplicações do bio-óleo

Segundo a ASTM D7544 (2012), o bio-óleo é especificado como biocombustível líquido de pirólise e pode ser utilizado diretamente como combustível em fornos ou caldeiras industriais para geração de eletricidade, se algumas especificações forem atendidas, tais como pH, teor de água, densidade, teor de enxofre, viscosidade, dentre outras.

O bio-óleo pertence a segunda geração de biocombustíveis, apresentando grande potencial para a produção de combustíveis e outros produtos com valor agregado (**Figura 4**; GUO *et al.*, 2010; KANAUIA *et al.*, 2013). A possibilidade de coprocessar estes bio-óleos em várias unidades de refino de petróleo pode maximizar a produção de derivados de óleos e seu uso na indústria química. Produtos valiosos e úteis, incluindo aromatizantes, resinas, produtos agro-químicos e fertilizantes podem ser extraídos ou originados a partir de bio-óleos (BRIDGWATER, 2006; GUO *et al.*, 2010).

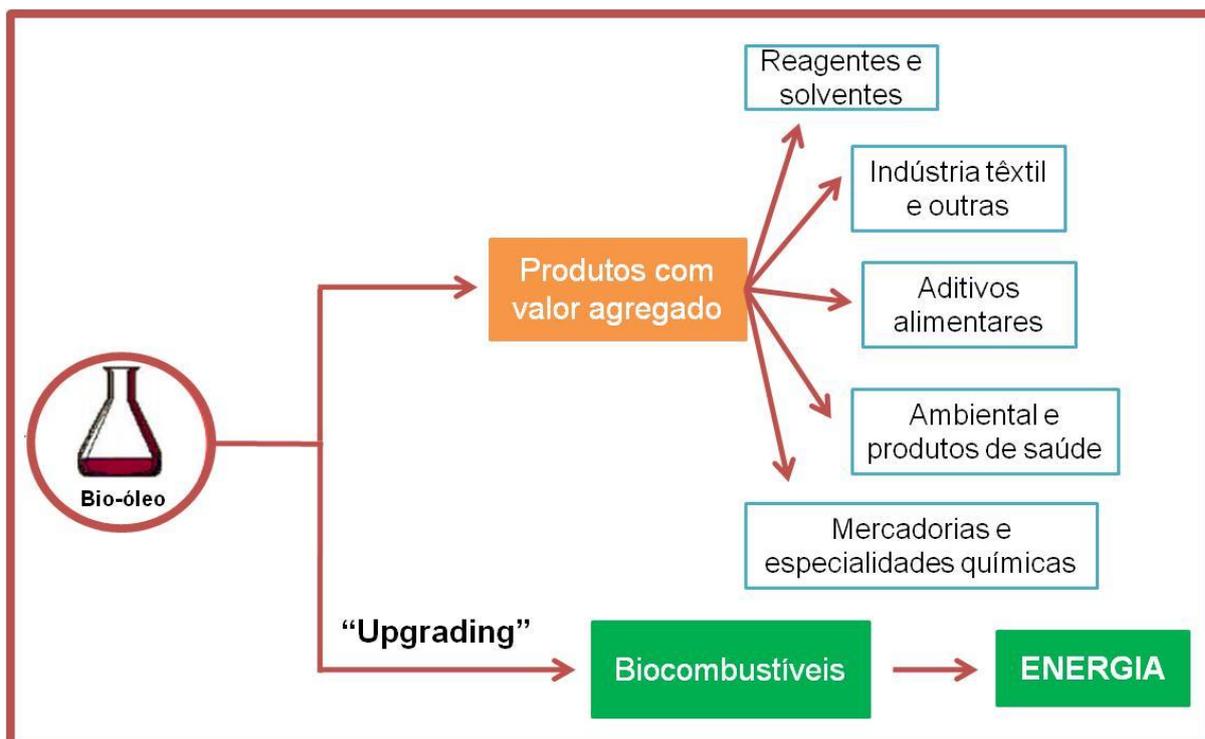


Figura 4. Esquema apresentando algumas aplicações do bio-óleo. Adaptado de KANAUIA *et al.* (2013).

3.4 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE BIO-ÓLEOS

A investigação da composição molecular do bio-óleo é fundamental para assegurar a sua adequada aplicação, otimizar os processos que envolvem a conversão da biomassa, acompanhar as transformações dos bio-óleos e avaliar a qualidade dos produtos (KANAUIA *et al.*, 2013; SILVA, 2014b).

Em função da complexidade da matriz, várias técnicas analíticas têm sido aplicadas na caracterização química de bio-óleos, como a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC/MS, *gas chromatography coupled to mass spectrometry*), infra-vermelho com transformada de Fourier (FTIR, *Fourier transform with infrared*), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, *high performance liquid chromatography*), ressonância magnética nuclear (NMR, *nuclear magnetic resonance*) de ^1H e ^{13}C , dentre outras (MOHAN *et al.*, 2006; QIANG *et al.*, 2008; MULLEN *et al.*, 2009; SHUPING *et al.*, 2010; KANAUIA *et al.*, 2013).

A técnica de HPLC tem sido empregada na quantificação de substâncias não voláteis solúveis em água, podendo caracterizar somente parte do bio-óleo (MULLEN *et al.*, 2010). As técnicas espectroscópicas como o infra-vermelho permitem a identificação dos grupos funcionais presentes nos bio-óleos, porém no aspecto qualitativo (QIANG *et al.*, 2008; SHUPING *et al.*, 2010). Alguns autores têm utilizado NMR de ^1H e ^{13}C para obter as razões entre ambientes químicos de hidrogênios e carbonos e determinar as razões de hidrocarbonetos alifáticos/aromáticos. Diferente das técnicas cromatográficas, NMR apresenta potencial para examinar amostras de bio-óleo como um todo, e não somente frações selecionadas. Entretanto, a limitação neste caso é a não identificação individual das substâncias que o compõem (MULLEN *et al.*, 2009). Além disso, técnicas de fracionamento do tipo líquido-líquido são usadas para simplificar a composição dos bio-óleos para as caracterizações analíticas subsequentes (GARCIA-PEREZ *et al.*, 2007; OASMAA *et al.*, 2003).

Trabalhos recentes têm utilizado ferramentas analíticas modernas, como a GCxGC e a FT-ICR MS, no intuito de se obter uma caracterização mais detalhada dos diversos bio-óleos que vêm sendo obtidos (OMAIS *et al.*, 2013; OLCESE *et al.*, 2013). A GCxGC-TOFMS permite um aumento na capacidade de separação das classes de substâncias e uma identificação individual das mesmas, com um aumento na seletividade (DALLÜGUE *et al.*, 2003). Entretanto, esta técnica apresenta a limitação da volatilidade, onde somente 25-40% dos analitos são detectados, pois uma parte destes consiste em oligômeros de lignina e carboidratos, que não são voláteis o suficiente para serem observados por cromatografia gasosa (MOHAN *et al.*, 2006; MULLEN *et al.*, 2009). A FT-ICR MS oferece uma ultra resolução (poder de resolução $m/\Delta m_{50\%} > 100.000$) e exatidão em massas (< 5 ppm), capazes de garantir uma determinação inequívoca da fórmula química dos íons produzidos. Com esta técnica acoplada a uma fonte iônica de ESI é possível analisar as substâncias polares, assim como de alta massa molecular e, portanto não voláteis, que normalmente não são detectadas por GCxGC (HOFFMAN e STROOBANT, 2007; GLISH e BURINSKY, 2008; VAZ, 2010).

3.4.1 Ressonância magnética nuclear

A NMR é uma técnica que explora as propriedades magnéticas de alguns núcleos atômicos usualmente aplicada para caracterização estrutural. Dentre as principais vantagens do uso da técnica de NMR destacam-se a possibilidade de avaliar o bio-óleo como um todo a partir da dissolução em um solvente adequado e a análise dos grupos funcionais contendo oxigênio, pela integração de regiões apropriadas do espectro (KANAUJIA *et al.*, 2013).

O estudo do fenômeno da NMR é baseado em duas propriedades físicas dos núcleos, o momento magnético e o spin nuclear. O spin nuclear é dependente da quantidade de prótons e nêutrons que compõem o núcleo. Qualquer núcleo atômico que tenha massa ímpar ou número atômico ímpar, ou ambos, tem um spin nuclear e um momento magnético diferente de zero. Assim, estes núcleos se comportam como pequenos ímãs e interagem com campos magnéticos externos. Essa interação caracteriza a NMR e, portanto somente os núcleos com essas propriedades são possíveis de serem analisados com esta técnica. Dessa forma, os quatro núcleos de maior interesse para os químicos e bioquímicos são ^1H , ^{13}C , ^{19}F e ^{31}P (HOLLER *et al.*, 2009; PAVIA *et al.*, 2010; CARNEIRO, 2012).

De maneira geral, em uma análise de NMR, a amostra é colocada sob um campo magnético, o que leva a um desdobramento dos níveis de energia de spin nuclear. Aplicando-se um pulso de radiofrequência, ocorre uma excitação dos spins nucleares para o estado mais energético, que retorna ao seu estado de equilíbrio através de um processo conhecido como relaxação. Por fim, um sinal é gerado no domínio de tempo, chamado de FID (*free induction decay*), que finalmente é convertido em um sinal no domínio de frequências por meio da transformada de Fourier (HOLLER *et al.*, 2009; CARNEIRO, 2012).

3.4.2 Cromatografia gasosa bidimensional abrangente

A identificação individual de substâncias em misturas complexas como o bio-óleo é tipicamente alcançada por uma série de separações químicas e

cromatográficas (TESSAROLO *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2014). A técnica de GC, embora amplamente utilizada na caracterização química de bio-óleos, não é suficiente para a resolução dos seus componentes. Buscando melhores resoluções para matrizes complexas, John Phillips *et al.* (LIU e PHILLIPS, 1991) iniciaram o desenvolvimento da GCxGC na década de 90, surgindo como uma alternativa poderosa para a solução dos problemas e limitações observados em análises por GC unidimensional (SCHOENMAKERS *et al.*, 2000; von MÜHLEN *et al.*, 2006; MARSMAN *et al.*, 2007; VENTURA *et al.*, 2008; ÁVILA, 2010). Na GCxGC, uma única corrida cromatográfica gera um aumento significativo da capacidade de separação, e o objetivo de uma resolução completa dos componentes da amostra pode ser efetivamente alcançado (MARRIOTT e SHELLIE, 2002).

3.4.2.1 Princípios básicos da GCxGC

O sistema GCxGC (**Figura 5**) tem o conjunto de colunas (1D e 2D), o modulador (M) e o detector (D) como características principais. As duas colunas cromatográficas, sendo uma convencional e a outra curta e de menor diâmetro, são acopladas em série através de um modulador. O dispositivo de interface entre as duas dimensões é chamado de modulador, que tem como funções principais “fatiar” e refocalizar as frações que eluem da primeira coluna, causando assim uma compressão das bandas cromatográficas, e direcioná-las para a segunda coluna, onde a eluição é muito rápida (DALLÜGUE *et al.*, 2003; von MÜHLEN *et al.*, 2006; ADAHCHOUR *et al.*, 2006a; von MÜHLEN *et al.*, 2007). Toda a amostra injetada na primeira coluna ou uma parte representativa da mesma é transferida para a segunda coluna e para o detector, sendo por isso a técnica chamada de abrangente (SCHOENMAKERS *et al.*, 2000).

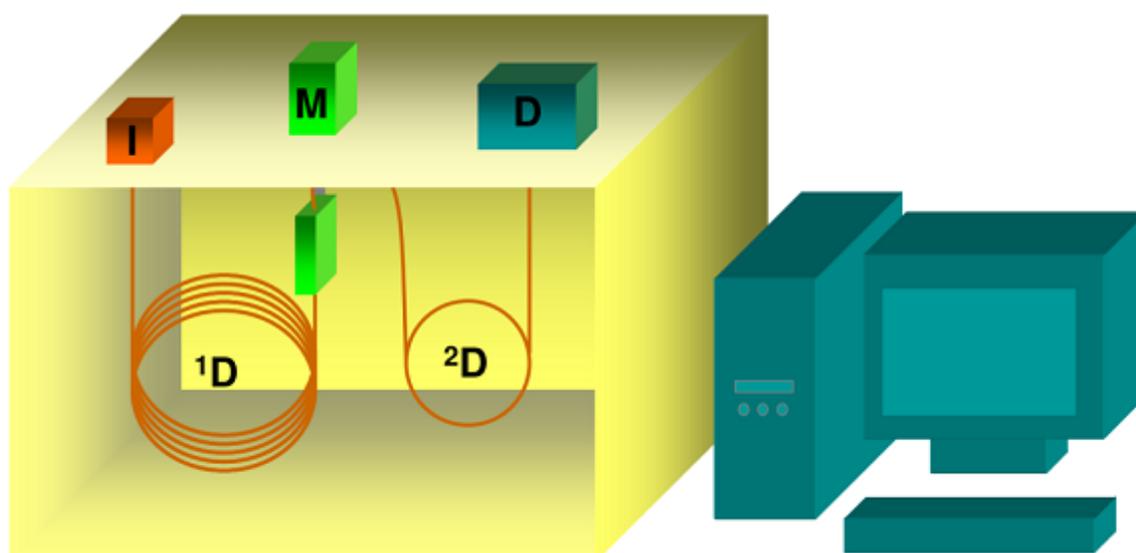


Figura 5. Desenho esquemático de uma sistema GCxGC, onde: I, injetor; M, modulador; D, detector; ¹D, coluna cromatográfica da primeira dimensão e ²D, coluna cromatográfica da segunda dimensão. Retirado de von Mühlen (2007).

O período de modulação deve ser ajustado a fim de que seja compatível com o tempo de separação na segunda coluna, minimizando o alargamento da banda comprimida. Dessa forma, quando comparada à cromatografia unidimensional, a sensibilidade e a resolução são significativamente aumentadas (von MÜHLEN *et al.*, 2006).

Idealmente, as duas colunas cromatográficas devem oferecer diferentes mecanismos de separação para serem consideradas ortogonais entre si. A ortogonalidade é fundamental para a estruturação das classes químicas no plano cromatográfico e o aumento de seletividade, pois as substâncias que coeluem na primeira dimensão podem ser diferenciadas pelo mecanismo cromatográfico da segunda dimensão. Dessa forma, picos de substâncias relacionadas estruturalmente – séries homólogas, isômeros de cadeia ou de posição – aparecem agrupados em regiões claramente definidas do diagrama GCxGC (**Figura 6**) (DALLÜGUE *et al.*, 2003; TRAN *et al.*, 2010). A forma mais tradicional de separação ortogonal em GCxGC é a chamada “configuração normal”, ocorrendo quando uma primeira coluna com uma fase estacionária apolar (ou de baixa polaridade) é associada a uma segunda coluna com uma fase estacionária polar (ou relativamente polar). Neste caso, a separação dos analitos na primeira dimensão (¹D) se baseia na volatilidade,

enquanto na segunda dimensão (2D) a separação é baseada na polaridade ou estrutura molecular (von MÜHLEN *et al.*, 2006; MARSMAN *et al.*, 2008). A utilização de uma coluna polar na 1D e uma coluna apolar na 2D caracteriza a chamada “configuração inversa” (VENDEUVRE *et al.*, 2005).

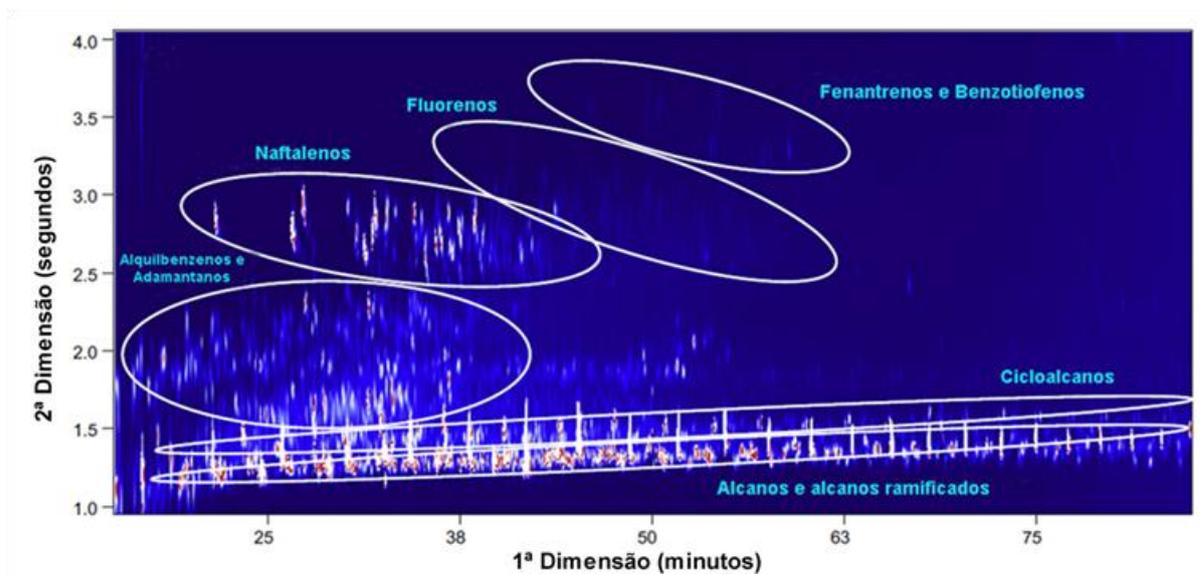


Figura 6. Exemplo de um cromatograma estruturado obtido por GCxGC. Adaptado de TRAN *et al.* (2010).

A capacidade de pico (n) é definida como a capacidade de separação de um sistema cromatográfico. Em sistemas multidimensionais, a capacidade de pico pode ser representada pela capacidade de pico da 1D somada à capacidade de pico da 2D multiplicada pelo número de cortes (m). Na GCxGC, a capacidade de pico é igual ao produto das capacidades de picos individuais de cada dimensão ($n_1 \times n_2$) (**Figura 7**; VENDEUVRE *et al.*, 2007; KIEPPER, 2013).

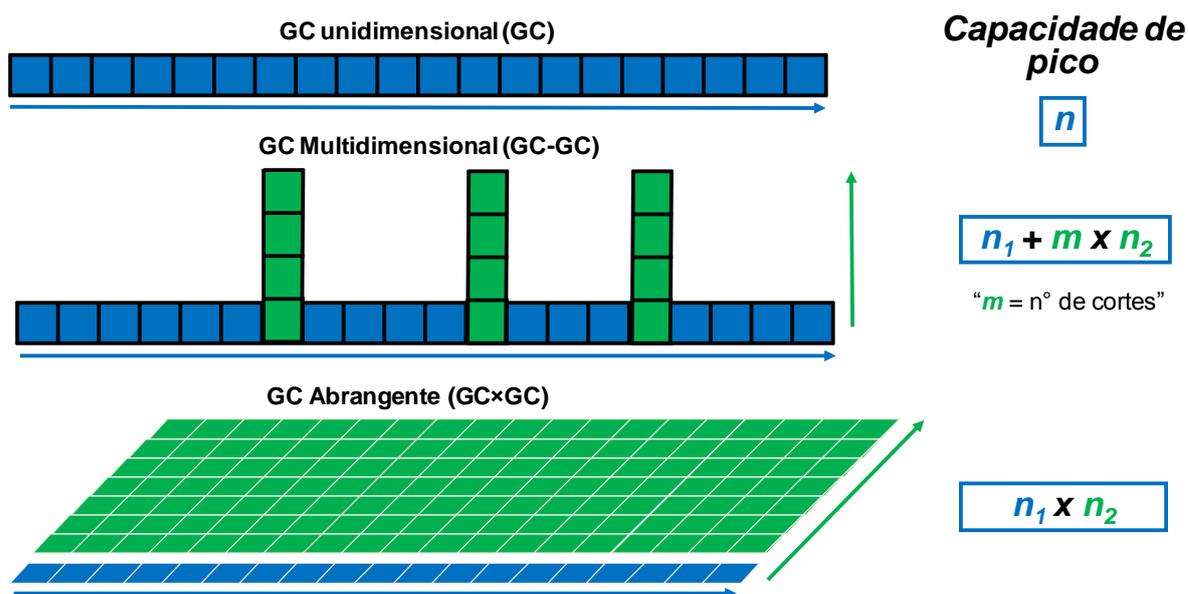


Figura 7. Esquema comparando a capacidade de pico de sistemas GC unidimensionais (GC), multidimensionais (GC-GC) e abrangentes (GCxGC). Adaptado de GIDDINGS (1987).

A hifenação da espectrometria de massas com a GCxGC agrega informações estruturais, pois além das separações obtidas pelas duas colunas, temos uma terceira dimensão de separação, que é o espectro de massas. Em função da focalização realizada pelos moduladores e da rápida separação na segunda coluna, os picos são extremamente rápidos e estreitos. Assim, os detectores devem possuir uma taxa de aquisição alta, preferencialmente maior que 100 Hz (ADAHCHOUR *et al.*, 2006a). Neste contexto, o espectrômetro de massas com analisador por tempo de voo (TOFMS; *time-of-flight mass spectrometry*) pode oferecer taxas de aquisição superiores a 100 Hz, sendo indispensável no acoplamento a um sistema GCxGC. Dessa forma, o TOFMS possibilita tanto uma boa reconstrução dos picos quanto a deconvolução espectral de picos sobrepostos (ADAHCHOUR *et al.*, 2006b).

O esquema mostrado na **Figura 8** retrata o efeito da modulação ao fatiar e focalizar os picos, com a conseqüente geração da segunda dimensão cromatográfica. As formas de visualização são gráficos sinal \times $t_R \times t_R$ como diagrama tridimensional (**Figura 8D**), diagrama de contorno (**Figura 8E**) e diagrama de cores (**Figura 8F**) (PEDROSO *et al.*, 2009).

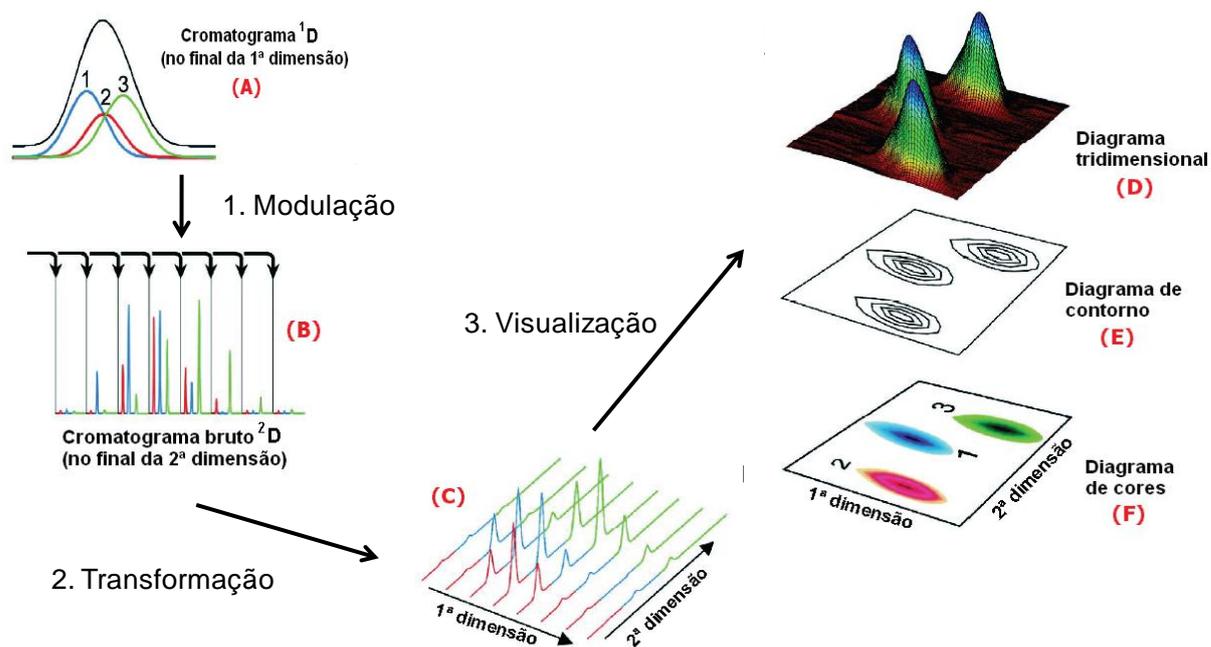


Figura 8. Esquema ilustrando a geração e visualização de um cromatograma bidimensional. Adaptado de PEDROSO *et al.* (2009).

Nas últimas décadas, a GC×GC tem sido utilizada em uma variedade de matrizes complexas de diversas áreas: biocombustíveis, alimentos, ambiental, forense, petróleo e derivados etc. (MARRIOTT *et al.*, 2003; ÁVILA *et al.*, 2014; WELDEGERGIS *et al.*, 2011; BRASSEUR *et al.*, 2012; EISERBECK *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2014). Esses exemplos destacam as principais vantagens da utilização da GC×GC em relação à GC unidimensional, como o aumento da resolução cromatográfica, sensibilidade e seletividade.

3.4.3 Espectrometria de massas de alta resolução e exatidão

A técnica de FT-ICR MS tem contribuído com muito sucesso na área de petroleômica, termo utilizado para descrever o estudo com maior abrangência possível dos componentes orgânicos e inorgânicos encontrados no petróleo e seus derivados (MARSHALL e RODGERS, 2004; 2008). Atualmente, a mesma abordagem tem sido aplicada para avaliar a composição química de bio-óleos (JARVIS *et al.*, 2012; SMITH *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2012; OLCESE *et al.*, 2013).

FT-ICR MS é uma ferramenta poderosa que proporciona uma resolução e exatidão em massas insuperável para a caracterização molecular detalhada das substâncias polares e de massa molecular alta presentes nos bio-óleos, sendo estes inacessíveis usando as técnicas de GC.

3.4.3.1 Fonte de ionização

A função de uma fonte de ionização em um espectrômetro de massas é gerar íons na fase gasosa ou transferir espécies iônicas em solução para a fase gasosa. As fontes de ionização são uma parte importantíssima do sistema da espectrometria de massas (MS, *mass spectrometry*), pois definem grande parte da sua seletividade, sendo responsáveis pelos tipos de analitos que serão analisados (HOFFMAN e STROOBANT, 2007).

Existem diferentes tipos de fontes iônicas com propriedades distintas aplicáveis praticamente a todos os tipos de analitos. Alguns modos de ionização, como a fonte de ionização por elétrons (EI, *electron ionization*) e a ionização química (CI, *chemical ionization*), são técnicas bastante energéticas, nas quais os padrões de fragmentação dos íons (espectros de massas) fornecem informações a respeito da estrutura da molécula. Outra abordagem é o uso de técnicas de ionização brandas, que produzirão íons moleculares ou pseudomoleculares com pouca ou nenhuma fragmentação. Exemplos desse tipo de fonte incluem a ionização/dessorção a laser assistida por matriz (MALDI, *matrix assisted laser desorption/ionization*) e a ESI (VESSECCHI *et al.*, 2011; HOFFMAN e STROOBANT, 2007).

O desenvolvimento da fonte de ESI para análise de macromoléculas por espectrometria de massas, em 1988, rendeu um Prêmio Nobel a John B. Fenn (FENN *et al.*, 1989).

A fonte de ionização por ESI apresenta a capacidade de ionizar moléculas de baixa a alta massa molecular, alta polaridade e complexidade estrutural, diretamente para a fase gasosa de maneira branda e eficiente. Devido à baixa energia empregada no processo de ionização por ESI os íons formados sofrem pouca ou nenhuma fragmentação, produzindo espectros de massas menos complexos. (CROTTI *et al.*, 2006; HOFFMAN e STROOBANT, 2007).

No processo de ionização, a fonte de ESI é capaz de transferir as espécies do analito ionizadas para a fase gasosa como entidades isoladas, normalmente na forma de moléculas protonadas ou cátions para substâncias com caráter básico (modo positivo - ESI(+)), ou ainda de moléculas desprotonadas ou ânions para substâncias com caráter ácido (modo negativo - ESI(-)) (COLE, 2000; CROTTI *et al.*, 2006).

Na **Figura 9** é ilustrado um esquema típico de uma fonte de ESI. Na ionização por ESI, o analito é dissolvido em um solvente volátil, em meio ácido ou básico, a fim de obter a desprotonação ou protonação das moléculas. O princípio da técnica consiste em se aplicar um potencial na ponta de um capilar pelo qual passa a solução da amostra, posicionando um contraeletrodo a alguns milímetros de distância, criando assim um campo elétrico entre ele e a ponta do capilar. O campo elétrico faz com que as espécies iônicas presentes em solução movam-se em direção ao contraeletrodo, causando a deformação da gota e, sequencialmente, gerando o cone de Taylor, enriquecido com íons positivos ou negativos na ponta do tubo capilar. A partir do cone de Taylor são desprendidas gotas com superfícies carregadas e com a evaporação do solvente, estas reduzem de tamanho até ocorrer a subdivisão da gota em função da alta densidade de carga, sendo este fenômeno chamado de explosão coulômbica. Com isso, são formadas microgotas que liberam os íons $[M+H]^+$ ou $[M-H]^-$, sendo direcionados para o analisador de massas (GASKELL, 1997; KEBARLE, 2000; COLE, 2000; CROTTI *et al.*, 2006; SILVA, 2014a).

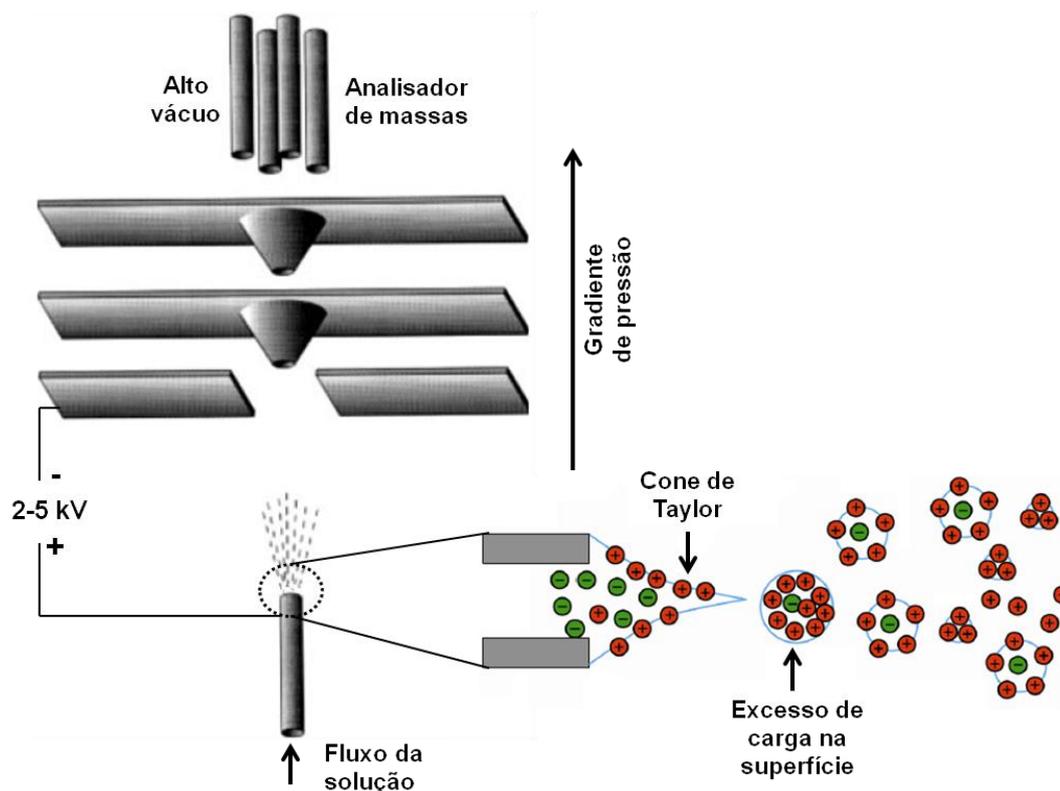


Figura 9. Ilustração esquemática de uma fonte de ionização por ESI. Retirado de DALMASCHIO (2012); GASKELL (1997).

3.4.3.2 Analisador de massas

A principal diferença entre os analisadores são os princípios físicos utilizados por cada um deles para discriminar as razões m/z medidas, afetando assim, a magnitude do poder de resolução e exatidão em massas. O poder de resolução de um analisador de massas pode ser definido como a capacidade em produzir sinais distintos no espectro de massas quando são analisados íons que possuem uma pequena diferença na razão m/z . A exatidão em massas, geralmente expressa em ppm, corresponde a diferença entre a massa medida experimentalmente e a massa teórica. Quanto menor for o erro, maior é a probabilidade da fórmula molecular atribuída ser a verdadeira (HOOFMAN e STROOBANT, 2007; ROMÃO, 2010; VESSECCHI *et al.*, 2011).

O desenvolvimento do FT-ICR MS tornou possível a obtenção de espectros com uma ultra-alta resolução (poder de resolução $m/\Delta m_{50\%} > 100.000$) em poucos

segundos. A resolução alcançada na determinação da m/z no analisador de ressonância ciclônica de íons (ICR, *ion cyclotron resonance*) deve-se ao movimento ciclotrônico de íons (MARSHALL *et al.*, 1998; HOFFMAN e STROOBANT, 2007; VAZ, 2010).

Na **Figura 10** pode ser observada uma representação das forças atuantes nos íons presentes em um campo magnético. Os íons que se movimentam sob um campo magnético externo estão sujeitos a uma força proporcional à sua carga (q) e ao produto vetorial de sua velocidade com o campo magnético ($\mathbf{v} \times \mathbf{B}$), ocasionando o movimento ciclotrônico cuja frequência (ω_c) depende da intensidade do campo magnético externo e do inverso de sua razão massa sobre carga (MARSHALL *et al.*, 1998; HOFFMAN e STROOBANT, 2007; SILVA, 2014a).

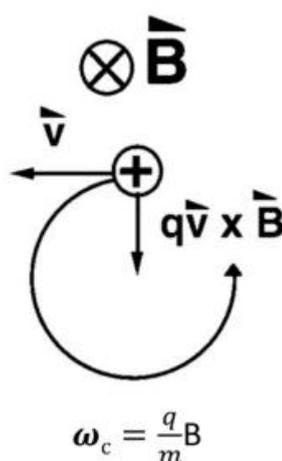


Figura 10. Movimento ciclotrônico de íons na presença de um campo magnético. Retirado de MARSHALL *et al.* (1998).

Dentro de uma célula de ICR, os íons são aprisionados e posteriormente excitados quando submetidos a um sinal elétrico de radiofrequência aplicado nos eletrodos de excitação na ordem de magnitude das frequências ciclotrônicas dos íons. Com a excitação, a energia transferida para o íon aumenta sua energia cinética, fazendo com que os raios das órbitas de cada íon fiquem iguais a uma distância desejada dos eletrodos de detecção. O sinal de ICR (domínio de tempo) é obtido devido à aproximação de uma carga aos dois eletrodos de detecção. A resolução da técnica é dependente da quantidade de ciclos que os íons executam na célula de ICR. Ao sinal no domínio de tempo é aplicada a transformada de

Fourier, sendo convertido em domínio de frequência que está associado à m/z das espécies detectadas (MARSHALL *et al.*, 1998; HOFFMAN e STROOBANT, 2007; SILVA, 2014a). Um resumo do processo de aquisição de um espectro por FT-ICR MS é esquematizado na **Figura 11**.

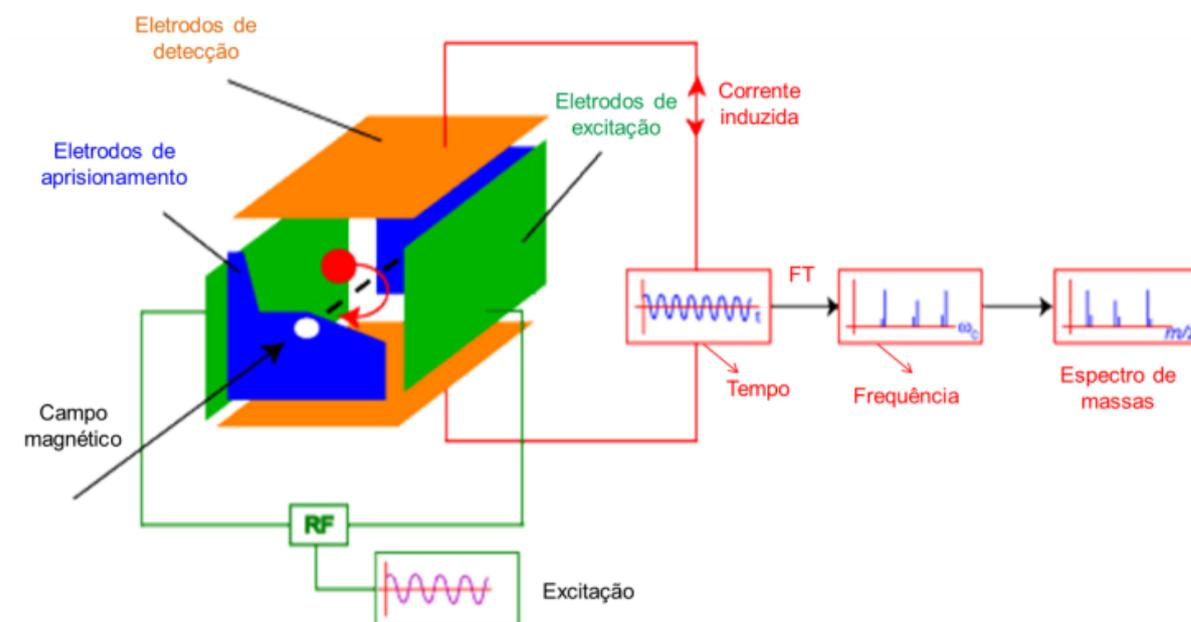


Figura 11. Esquema de funcionamento de uma célula de ICR. Retirado de University of Bristol (2013) *apud* SILVA (2014a).

A partir das fórmulas moleculares dos picos assinalados, os dados gerados pela FT-ICR MS podem ser classificados de diversas formas no intuito de facilitar a visualização e a interpretação das informações. A primeira classificação é baseada nos heteroátomos presentes nas fórmulas: classes O, O₂, O₃, N, NS etc. Outra forma é utilizando o número de carbonos (C) e o número de anéis e número de ligações duplas – DBE (*double bond equivalent*) (**Figura 12**) (MARSHALL e RODGERS, 2004).

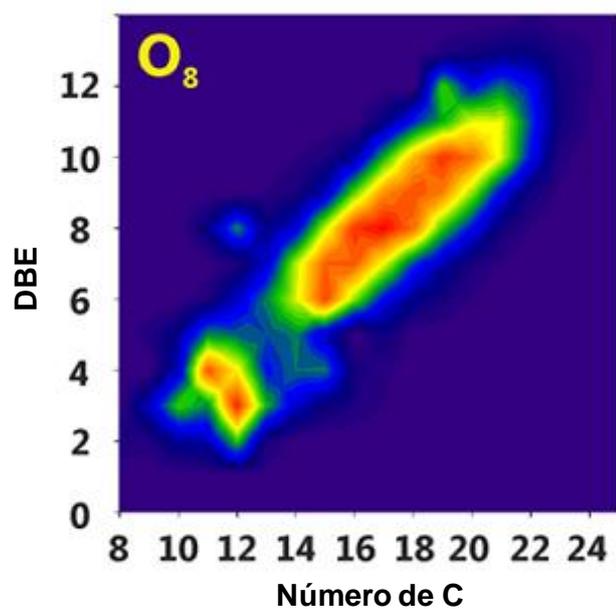


Figura 12. Forma de visualização de resultado obtido por ESI(-)-FT-ICR MS em um gráfico de DBE vs. número de carbono de uma amostra de bio-óleo. Adaptado de KEKÄLÄINEN *et al.* (2014).

4 EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAIS

Os solventes diclorometano (Absolv) e metanol (HPLC/Spectro) utilizados foram grau cromatográfico, Tedia Brazil (Rio de Janeiro, Brasil).

Toda a vidraria utilizada foi limpa seguindo o seguinte procedimento: lavagem com água em abundância; lavagem com detergente comercial neutro; lavagem com água em abundância; imersão em solução de Extran alcalino 2% (Merck, Rio de Janeiro, Brasil) por, no mínimo, 24 horas; lavagem com água em abundância; rinsagem com água destilada; secagem em estufa a aproximadamente 105 °C (exceção para material volumétrico que foi seco a temperatura ambiente) (TESSAROLO, 2012).

4.2 PADRÕES

As substâncias padrão, utilizadas na validação, foram obtidas da Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil) e apresentam pureza superior a 97%: 2,4-dimetil-fenol; 2,6-dimetil-fenol; 2-etil-fenol; 3,4-dimetil-fenol; 3,5-dimetil-fenol; 4-etil-fenol; 2,3-dihidro-1H-inden-1-ona; 1,3-di-hidro-2H-inden-2-ona; 2-butanona; ciclopentanona; gama-butirolactona; ácido hexanoico e ácido octanoico. As substâncias deuteradas foram fenol- d_6 e dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6).

4.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES-PADRÃO

A solução estoque de cada substância padrão foi preparada pesando-se 40,0 mg de cada substância em balão volumétrico calibrado de 1 mL utilizando uma balança analítica calibrada ($\pm 0,1$ mg) e diclorometano como solvente, para obter uma concentração final de 40 mg mL⁻¹. Em seguida, uma solução intermediária

contendo todos os padrões na concentração de 1 mg mL^{-1} foi preparada para ser usada nas diluições necessárias para os pontos das curvas analíticas. Os níveis de concentração das curvas analíticas foram preparados nas concentrações de 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 1,0, 2,0, 5,0, 10,0, 25,0, 50,0, 80,0, 100,0, 120,0, 160,0 e $200,0 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. O fenol- d_6 foi utilizado como padrão interno e preparado a $500 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ para ser usado nas curvas analíticas a uma concentração final de $5,0 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$.

4.4 AMOSTRAS

4.4.1 Conjunto I

Duas amostras de bio-óleo foram fornecidas pela BTG *Biomass Technology Group* BV (Holanda) e receberam os códigos #75 e #85. Essas amostras correspondem a bio-óleos obtidos a partir da pirólise convencional do cacho vazio do fruto usado na produção do óleo de palma (óleo de dendê) e da pirólise de lascas de madeira de pinho, respectivamente. A amostra (#85) foi fortificada com a mistura de padrão a $5,0 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ e analisada em triplicata para avaliar a exatidão do método através da recuperação (%).

4.4.2 Conjunto II

Oito amostras de bio-óleo foram fornecidas pela engenheira química Andrea Pinho do Cenpes/Petrobras e correspondem a bio-óleos obtidos a partir da pirólise de bagaço de cana e de madeira utilizando diferentes temperaturas no processo ($550 \text{ }^\circ\text{C}$, $500 \text{ }^\circ\text{C}$ e $450 \text{ }^\circ\text{C}$) e com ou sem o uso de catalisador (ZSM-5). Quando o catalisador não foi usado, este foi substituído por sílica, o que corresponde ao processo de pirólise térmica, gerando um bio-óleo convencional. Os códigos das amostras (**Tabela 3**) fazem referência ao tipo de biomassa, à temperatura e ao uso de sílica ou do catalisador ZSM-5 utilizados para a obtenção dos bio-óleos, respectivamente. A análise de algumas propriedades físico-química dessas amostras, como teor de água, acidez, densidade e análise elementar, foi realizada

previamente pela gerência de conversão de biomassa do Cenpes/Petrobras (**Tabela 4**).

Tabela 3. Identificação das amostras e as condições utilizadas durante o processo de pirólise.

Código	Identificação	Biomassa	T (°C)	Condições da pirólise
C67T01	BC550S	Bagaço de cana	550	Sílica
C75T01	BC550Z	Bagaço de cana	550	ZSM-5
C73T01	M550S	Madeira	550	Sílica
C68T06	M550Z	Madeira	550	ZSM-5
C62T01	M500S	Madeira	500	Sílica
C68T01	M500Z	Madeira	500	ZSM-5
C64T01	M450S	Madeira	450	Sílica
C70T02	M450Z	Madeira	450	ZSM-5

Tabela 4. Caracterização físico-química das amostras do conjunto II.

Identificação	Karl Fischer (%)	Acidez (mg KOH/g)	Densidade (20 °C)	Análise Elementar (%)			
				C	H	N	O
BC550S	16,6	71,4	1,187	42,7	7,4	0,3	49,6
M550S	13,0	59,8	1,167	44,2	8,4	0,3	47,1
M550Z	7,3	6,2	1,141	66,2	7,5	0,3	26,0
M500S	8,9	64,4	1,180	39,3	8,5	0,7	51,5
M500Z	7,4	41,1	1,116	65,4	7,4	0,3	26,9
M450S	9,4	68,8	1,180	56,5	7,9	0,3	35,3
M450Z	9,4	3,6	1,153	62,8	8,0	0,3	28,9

4.4.3 Conjunto III

Três amostras de bio-óleo foram fornecidas pela engenheira química Andrea Pinho do Cenpes/Petrobras e correspondem a bio-óleos de madeira de pinho. As amostras desse conjunto foram obtidas a partir de três diferentes processos: pirólise térmica (MP 2705), pirólise catalítica utilizando a zeólita ZSM-5 (MP 2703) e processo de hidrogenação do bio-óleo convencional (MP 2499). As amostras de

pirólise térmica e catalítica foram obtidas na temperatura de 500 °C. Neste conjunto, as amostras foram nomeadas de acordo com a biomassa (MP) e o tipo de pirólise, sendo convencional (T), catalítica (C) e hidrogenada (H). Os códigos utilizados foram: MPT, MPC e MPH, respectivamente. A análise de algumas propriedades físico-química dessas amostras, como teor de água, acidez, densidade e análise elementar, foi realizada previamente pela gerência de conversão de biomassa do Cenpes/Petrobras (**Tabela 5**).

Tabela 5. Caracterização físico-química das amostras do conjunto III.

Código	Identificação	Karl Fischer (%)	pH	Acidez (mg KOH/g)	Análise Elementar (%)				
					C	H	N	S	O
MP 2705	MPT	18,2	2,1	94	44,8	7,3	<0,3	<0,3	47,7
MP 2703	MPC	7,3	2,4	31	66,7	6,8	<0,3	<0,3	26,4
MP 2499	MPH	10,5	2,9	57,4	63,8	9,1	<0,3	<0,3	27,1

4.5 PREPARO DAS AMOSTRAS

4.5.1 ¹H NMR

Para as análises por ¹H NMR, a aproximadamente 40 mg de amostra foram adicionados 0,6 mL de DMSO-*d*₆.

4.5.2 GC×GC-TOFMS

Para as análises do conjunto I, aproximadamente 15 mg de cada amostra foram pesados e dissolvidos em 0,5 mL de diclorometano. Além disso, 150 µL de metanol foram adicionados para auxiliar na solubilização das amostras. A concentração final da solução foi de aproximadamente 25 mg mL⁻¹.

Para as análises dos conjuntos II e III, as amostras foram pesadas (**Tabela 6**) em balança analítica calibrada ($\pm 0,1$ mg) e solubilizadas com 0,5 mL de solução-

padrão de fenol- d_6 em diclorometano e 0,5 mL de metanol (conjunto II) ou 0,5 mL de acetona (conjunto III). A concentração final da solução e do fenol- d_6 (padrão interno) foram 10 mg mL^{-1} e $5 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 6. Massa (mg) pesada para cada amostra.

Amostra	Massa (mg)
BC550S	10,8
BC550Z	10,6
M550S	10,5
M550Z	10,7
M500S	10,3
M500Z	10,6
M450S	10,6
M450Z	10,8
MPT	10,9
MPC	10,5
MPH	10,2

4.5.3 ESI(-)-FT-ICR MS

Para as análises por ESI(-)-FT-ICR MS, a aproximadamente 1 mg de cada amostra foi adicionado 1 mL de metanol. Desta, 0,5 mL foi retirado e acrescido com mais 0,5 mL de metanol. A concentração final da solução foi de aproximadamente $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$.

4.6 INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA

4.6.1 ^1H NMR

As análises por Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio, ^1H NMR, foram realizadas no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (LABRMN) do Departamento de Química Orgânica do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, em colaboração com o grupo de pesquisa coordenado pelo Prof. Dr. Carlos Roland Kaiser.

Os espectros de ^1H NMR foram obtidos em um instrumento da Bruker Avance III (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) de alta resolução, operando a 500,13 MHz e obtidos com uma largura espectral de 10000 Hz, pulso de 10 μs , tempo de relaxação de 1 s, resultando em um tempo de aquisição de 3,27 s e número de varreduras de 128. A avaliação dos grupos funcionais contendo oxigênio e hidrocarbonetos foi obtida a partir da integração de regiões apropriadas do espectro (**Tabela 7**) de acordo com JOSEPH *et al.* (2010), excluindo a água (δ 3,7-3,3 ppm) e o pico do solvente (δ 2,4-2,2 ppm). As áreas integradas para as diferentes regiões dos espectros foram normalizadas.

Tabela 7. Deslocamento químico (ppm) para cada tipo de hidrogênio analisado.

Deslocamento químico (ppm)	Tipo de hidrogênio
12,5-11	-COOH
11,0-8,25	-CHO, ArOH
8,25-6,0	H de aromáticos e alcenos conjugados
6,0-4,2	OH de alifáticos, -CH=CH-, Ar-CH ₂ -O-R
4,2-3,0	R-CH ₂ -O-R, CH ₃ -O-R
3,0-2,0	-CH ₂ CH=O, H de alifáticos
2,0-0,0	H de alifáticos

4.6.2 GC×GC-TOFMS

As análises das amostras do conjunto I foram realizadas em um sistema GC×GC-TOFMS modelo Pegasus 4D (Leco, St. Joseph, MI, EUA), que consiste em um cromatógrafo a gás Agilent Technologies, modelo 6890 (Palo Alto, CA, EUA) equipado com um forno secundário, um modulador criogênico de quatro jatos e dois estágios e um TOFMS modelo Pegasus III (Leco, St. Joseph, MI, EUA). Para as análises das amostras do conjunto II, estas foram injetadas no sistema GC×GC-TOFMS modelo Pegasus 4D (Leco, St. Joseph, MI, USA), no qual o cromatógrafo a gás é Agilent Technologies, modelo 7890 (Palo Alto, CA, USA) e o TOFMS modelo Pegasus H11 (Leco, St. Joseph, MI, USA).

O conjunto de colunas cromatográficas utilizado foi: DB-5 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA), 5%-fenil-95%-metilsiloxano (30 m, 0,25 mm d. i., 0,25 μm d_f) na primeira dimensão (¹D) e BPX 50 (SGE, Ringwood, Vic, Australia), 50%-fenil-50%-metilsiloxano (1,5 m, 0,1 mm d. i., 0,1 μm d_f) na segunda dimensão (²D). A segunda coluna foi conectada ao TOFMS com o uso de um capilar vazio desativado (0,5 m × 0,25 mm d. i.). As colunas e o capilar vazio foram conectados por uniões SGE, usando anilhas de SilTite™ (Ringwood, VIC, Australia) para colunas cromatográficas com diâmetro interno entre 0,10 e 0,25 mm.

Hélio (99,999 % de pureza) foi usado como gás carreador no modo de fluxo constante a 1,0 mL min⁻¹. Para as análises das amostras do conjunto I, a programação de temperatura foi: 35 °C (15 min) a 330 °C a 4 °C min⁻¹. O volume de injeção foi 1 μL , no modo sem divisão de fluxo a 280 °C, com tempo de purga de 60 s e fluxo de purga de 5 mL min⁻¹. A programação de temperatura do segundo forno foi paralela a da primeira, porém com temperatura 20 °C maior que a programação do primeiro forno. O período de modulação foi de 6 segundos, com 2 s de jato quente. A temperatura do modulador foi 30 °C acima da programação de temperatura do forno ¹D.

Para as análises das amostras do conjunto II, no intuito de se obter uma melhor separação das substâncias no plano cromatográfico, a programação de temperatura do forno da ¹D, a programação de temperatura do forno da ²D e o período de modulação foram avaliados na injeção da amostra M450S e estão

resumidos na **Tabela 8**. Dessa forma, a condição otimizada e utilizada para as amostras dos conjuntos II e III foi: programação de temperatura de 35 °C (6 min) a 330 °C a 3 °C min⁻¹; programação de temperatura do segundo forno foi paralela a da primeira, porém com uma temperatura 10 °C maior que a programação do primeiro forno; o período de modulação foi de 7 segundos, com 2 s de jato quente.

Tabela 8. Parâmetros utilizados na avaliação da melhor condição cromatográfica com o uso da amostra M450S.

Condição	Parâmetros cromatográficos		
	Programação de temperatura forno ¹ D	Programação de temperatura forno ² D	Período de modulação (s)
1	35 °C (15 min) a 330 °C a 4 °C min ⁻¹	20 °C > ¹ D	6
2	35 °C (6 min) a 330 °C a 3 °C min ⁻¹	5 °C > ¹ D	6
3	35 °C (6 min) a 330 °C a 3 °C min ⁻¹	10 °C > ¹ D	7

A temperatura da linha de transferência para o espectrômetro de massas foi de 280 °C. O TOFMS foi operado no modo de ionização por impacto de elétrons, com energia aplicada de 70 eV e a faixa de massas analisada foi de 35 a 600 Dalton. A temperatura da fonte iônica foi de 230 °C, o detector foi operado com uma voltagem de -1600 V (conjunto I) e -1350 V (conjuntos II e III) e a taxa de aquisição foi de 100 espectros segundo⁻¹.

A aquisição e o processamento dos dados foram realizados com o uso do programa ChromaTOF[®] versão 4.21 (conjunto I) e versão 4.4 (conjunto II) (Leco, St. Joseph, MI, USA). Depois da aquisição dos dados, as amostras foram submetidas a um método de processamento onde os picos que apresentam uma relação sinal/ruído acima de 1000 foram selecionados. As áreas dos picos individuais foram obtidas utilizando o pico base de cada espectro, gerando uma lista com todos os picos detectados. A identificação das substâncias foi feita por comparação do espectro de massas deconvoluído obtido com o da biblioteca NIST *Mass Spectral* versão 2.0. Além disso, foram utilizados os tempos de retenção e a ordem de eluição das substâncias padrão. Alguns resultados aberrantes foram excluídos dessa lista,

como moléculas contendo Cl, Br e Si. As áreas relativas dos demais picos foram calculadas. A partir disso, foi utilizado um filtro de similaridade, onde apenas as substâncias com espectros de massas apresentando similaridade maior que 800 (>80%) foram avaliadas. As amostras foram analisadas a partir dos cromatogramas de íons totais (TIC, *total ion chromatogram*) e dos cromatogramas de íons extraídos (EIC, *extracted ion chromatogram*). As classes foram identificadas buscando-se íons diagnósticos de cada família, tais como benzeno e alquil-benzenos (m/z 78, 91, 92, 105, 106, 119, 120, 133, 134, 147, 148), naftaleno e alquil-naftalenos (m/z 128, 142, 156, 170, 184), fenóis e alquil-fenóis (m/z 94, 108, 122, 136, 150), benzenodióis (m/z 110, 124, 138, 152), ácidos (m/z 45, 60, 88, 102), naftalenol e alquil-naftalenóis (m/z 144, 158, 172).

4.6.2.1 Validação do método GCxGC-TOFMS

A validação do método foi realizada buscando-se alguns parâmetros de qualidade, tais como a faixa dinâmica, linearidade, precisão, exatidão, os limites de detecção e quantificação.

Soluções-padrão em diferentes níveis de concentração para a construção das curvas analíticas foram preparadas em triplicata e analisadas em dias diferentes por GCxGC-TOFMS. As curvas analíticas foram construídas a partir das razões das áreas do padrão/padrão interno *versus* as razões das concentrações do padrão/concentração do padrão interno.

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) do método foram calculados estatisticamente utilizando os parâmetros das três curvas analíticas (INMETRO, 2007), conforme as equações, onde \bar{a} = média dos coeficientes angulares e s_b = desvio-padrão dos coeficientes lineares:

$$LD = 3,3x \frac{s_b}{\bar{a}}$$

$$LQ = 6,0x \frac{s_b}{\bar{a}}$$

A avaliação da repetibilidade e da precisão foi realizada de duas formas. Na primeira, a mistura padrão a $5,0 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ foi analisada cinco vezes no mesmo dia. A segunda foi realizada com a amostra (#85) fortificada com a mistura padrão a $5,0 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ e analisada em triplicata. A precisão foi avaliada pela repetibilidade dos valores de concentração (em $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$) obtidos para as substâncias padrão.

A recuperação (%) foi calculada utilizando a seguinte equação:

$$\text{Recuperação} = \frac{[C_{\text{analito}} (\text{amostra fort}) - C_{\text{analito}} (\text{amostra sem fort})]}{C_{\text{padrão}}} \times 100$$

4.6.2.2 Quantificação dos analitos selecionados

Os valores de concentração ($\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$) dos analitos selecionados nas amostras de bio-óleo foram obtidos utilizando as curvas analíticas de cada substância padrão. Em seguida, a concentração em $\mu\text{g g}^{-1}$ foi calculada considerando a massa pesada de cada amostra.

4.6.3 ESI(-)FT-ICR MS

As análises por ESI(-)-FT-ICR MS foram realizadas no Núcleo de Competências em Química do Petróleo – LabPetro – do Departamento de Química da Universidade Federal do Espírito Santo, em colaboração com o grupo de pesquisa coordenado pelo Prof. Dr. Eustáquio V. R. de Castro.

As soluções de bio-óleo foram preparadas ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$) e infundidas diretamente em uma fonte de ionização por ESI, operando no modo negativo, a um fluxo de 5 mL min^{-1} . O espectrômetro de massas de ultra-alta resolução, modelo SOLARIX 9,4 T (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) foi configurado para operar em uma faixa de massas de m/z 150–1200. As condições gerais de análises por ESI foram: pressão do gás de 1,0 bar, voltagem do capilar de +4 kV, e $250 \text{ }^\circ\text{C}$ para a temperatura do capilar de transferência de íons. O tempo de acumulação iônica na

célula de colisão foi de 0,015 s, enquanto o tempo de voo foi ajustado para 0,4 ms (SMITH *et al.*, 2012). Cada espectro de massas foi obtido pela acumulação de 200 varreduras no domínio do tempo, em uma faixa de massa entre m/z 150–1200. Uma solução de trifluoracetato de sódio (NaTFA) foi utilizada como calibrante externo. Uma resolução de 450.000 em m/z 350 e uma precisão em massas menor que 1 ppm foi alcançada, proporcionando uma atribuição inequívoca da fórmula molecular dos íons produzidos.

Os espectros de massas por ESI(-)-FT-ICR MS foram adquiridos utilizando o software Compass Data Analysis[®] (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Os espectros de massas combinados foram processados utilizando o software Composer (Sierra Analytics, EUA), programado para atribuir fórmulas moleculares e realizar uma recalibração interna com as séries homólogas. Neste estudo, foram utilizadas as séries das classes O₃, O₅, O₇, O₁₁ e O₁₂ (conjunto I) e O₂, O₄, O₆, O₇ e O₉ (conjunto II), previamente identificadas usando a calibração externa com cinco pontos do NaTFA. O erro máximo aceitável de atribuição das fórmulas moleculares foi de 1 ppm. Além disso, utilizou-se uma abundância relativa mínima de 0,3% por pico. Após o processamento dos dados, com a finalidade de facilitar a interpretação e a visualização das informações, gráficos de número de carbono *versus* DBE e a distribuição de compostos contendo heteroátomos foram construídos. O DBE é considerado o número de anéis mais o número de ligações duplas em cada estrutura molecular, calculado da seguinte forma:

$$DBE = C - \frac{H}{2} + \frac{N}{2} + 1$$

Onde C, H, e N são os números de carbono, hidrogênio, e átomos de nitrogênio, respectivamente, na fórmula molecular. Para a distribuição de classes heteroátomos, a abundância relativa foi obtida pela soma das intensidades dos picos para os íons de cada classe, dividido pela soma das intensidades de todos os íons para as massas atribuídas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA

5.1.1 Conjunto I

As amostras de bio-óleo de pirólise convencional deste conjunto foram previamente caracterizadas utilizando GC×GC-TOFMS e GC/MS em trabalhos anteriores (TESSAROLO, 2012; TESSAROLO *et al.*, 2013). Assim, nesta parte serão abordadas as análises por ESI(-)-FT-ICR MS e a avaliação da integração das duas técnicas. A GC×GC é responsável por fornecer um aumento da resolução cromatográfica e da seletividade, porém o uso da GC apresenta limitações com relação a volatilidade e estabilidade térmica das substâncias. Dessa forma, as análises por ESI(-)-FT-ICR MS foram realizadas no intuito de identificar as substâncias mais polares e de maior massa molecular, permitindo uma caracterização complementar e abrangente das amostras. A integração dos resultados obtidos pela ESI(-)-FT-ICR MS e pela GC×GC-TOFMS não pode ser quantitativa em função das diferenças entre as técnicas, como por exemplo, os modos de ionização utilizados em cada uma. No processo de ionização por ESI as substâncias que apresentam caráter ácido, tais como ácidos carboxílicos e fenóis, são seletivamente ionizados por meio da desprotonação, gerando os íons $[M-H]^-$.

5.1.1.1 ESI(-)-FT-ICR MS

Nas análises por ESI(-)-FT-ICR MS, a recalibração interna foi realizada no intuito de se aumentar o percentual de picos identificados, para os quais foram atribuídos as fórmulas moleculares, com uma diminuição dos erros nestas atribuições. A recalibração possibilitou uma identificação mais confiável das fórmulas moleculares. Neste estudo, a recalibração interna foi feita a partir de uma lista de séries homólogas de substâncias pertencentes às classes oxigenadas O₃, O₅, O₇, O₁₁ e O₁₂ (**Apêndice A**). Com a recalibração, o número de picos identificados, suas

porcentagens em relação ao número total de picos e a média dos erros para as fórmulas moleculares atribuídas foram resumidos na **Tabela 9**.

Tabela 9. Porcentagem de picos identificados por ESI(-)-FT-ICR MS, a média dos erros para as fórmulas moleculares atribuídas (ppm e mDa) e o desvio padrão (ppm e mDa) para as amostras a partir da recalibração.

	Amostra	
	#75	#85
Número de picos identificados	836	564
% de picos identificados	86,6	83,8
Média dos erros (ppm)	0,024	0,015
Desvio padrão (ppm)	0,2938	0,2828
Média dos erros (mDa)	0,0089	0,0042
Desvio padrão (mDa)	0,1028	0,0934

As **Figura 13 a e b** ilustram os espectros de massas por ESI(-)-FT-ICR MS para as amostras de bio-óleo obtidas a partir do cacho vazio do fruto usado na produção do óleo de palma (#75) e de lascas de madeira de pinho (#85), respectivamente. Os valores de m/z são mostrados na região de 150-700, onde as espécies mais abundantes foram encontradas e correspondem às classes O_x . Ambos os espectros apresentam uma distribuição média de massa molecular semelhante, centrado em aproximadamente m/z 200. O tempo de voo, um parâmetro experimental do instrumento, foi avaliado no intuito de favorecer a captura de espécies de baixa massa molecular no ICR, porém maiores que m/z 150. O valor experimental otimizado foi de 0,4 ms baseado no trabalho desenvolvido por SMITH *et al.* (2012).

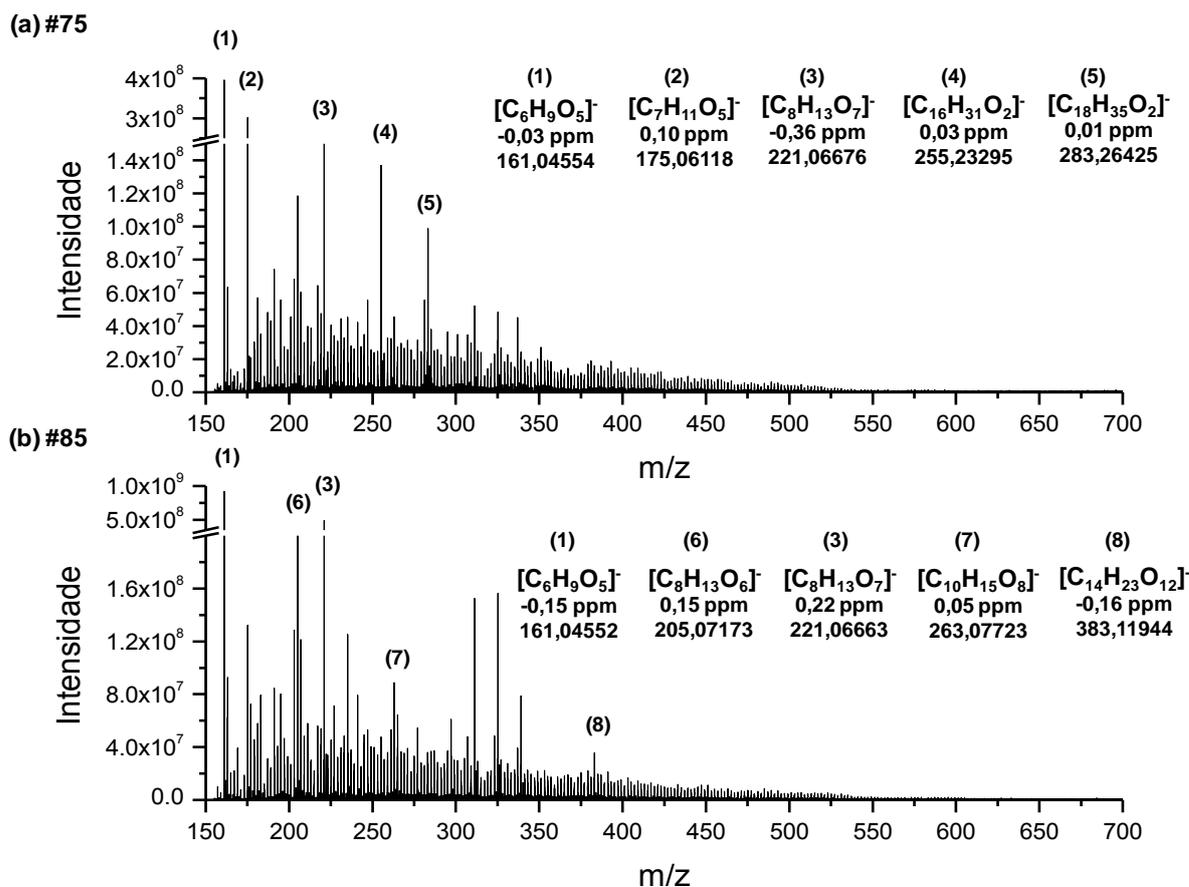


Figura 13. Espectros de massas por ESI(-)-FT-ICR MS para as amostras #75 (a) e #85 (b). As fórmulas moleculares de algumas espécies oxigenadas são atribuídas.

A distribuição das classes de heteroátomos foi demonstrada apenas para as classes com abundância maior que 0,15 % (**Figura 14**). Várias classes de substâncias contendo oxigênio (classes O_x , onde $x = 2-14$) e classes mistas (classes N_1O_y , onde $y = 5-9$) foram identificadas. A classe O_5 é a mais abundante, apresentando 17,7% (#75) e 19,2% (#85) de intensidade relativa. Esta classe consiste principalmente de substâncias derivadas de açúcares, que serão discutidas posteriormente. Devem ser destacadas algumas diferenças na distribuição das amostras:

- ✓ A identificação das classes de substâncias contendo nitrogênio apenas na amostra #75, mesmo com abundância relativa menor que 1 %, está de acordo com os resultados obtidos por GC×GC-TOFMS em trabalhos anteriores (TESSAROLO, 2012; TESSAROLO *et al.*, 2013). Essa diferença está

relacionada com a composição dos diferentes tipos de biomassa usados na pirólise convencional.

- ✓ A amostra #85 mostrou-se ligeiramente mais enriquecida em substâncias contendo um menor número de átomos de oxigênio (classes O₃ a O₇) quando comparada a #75. A #75 apresentou maior quantidade de substâncias das classes O₈ a O₁₄.
- ✓ A classe O₂, ácidos carboxílicos, foi identificada apenas na amostra #75.

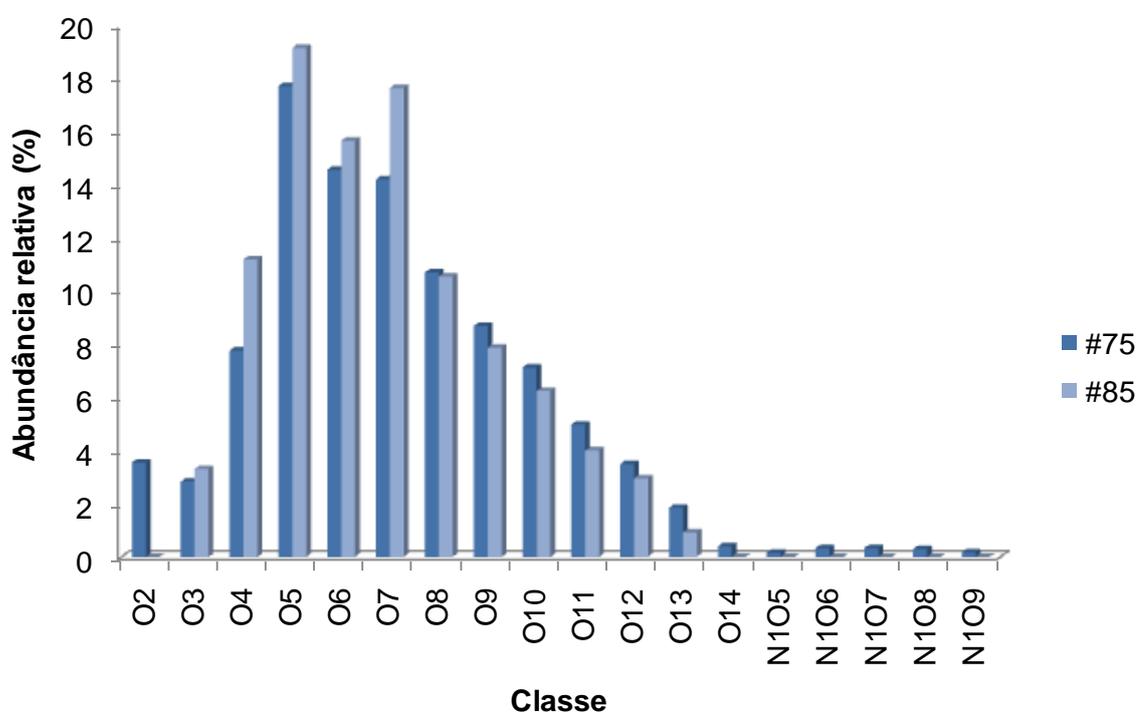


Figura 14. Distribuição das classes de heteroátomos para as amostras obtida com ESI(-)-FT-ICR MS.

Os diagramas de contorno de DBE *versus* número de átomos carbono das classes O_x e N₁O_y (onde x = 2–14 e y = 5–9) estão ilustrados nas **Figura 15** (#75) e **Figura 16** (#85).

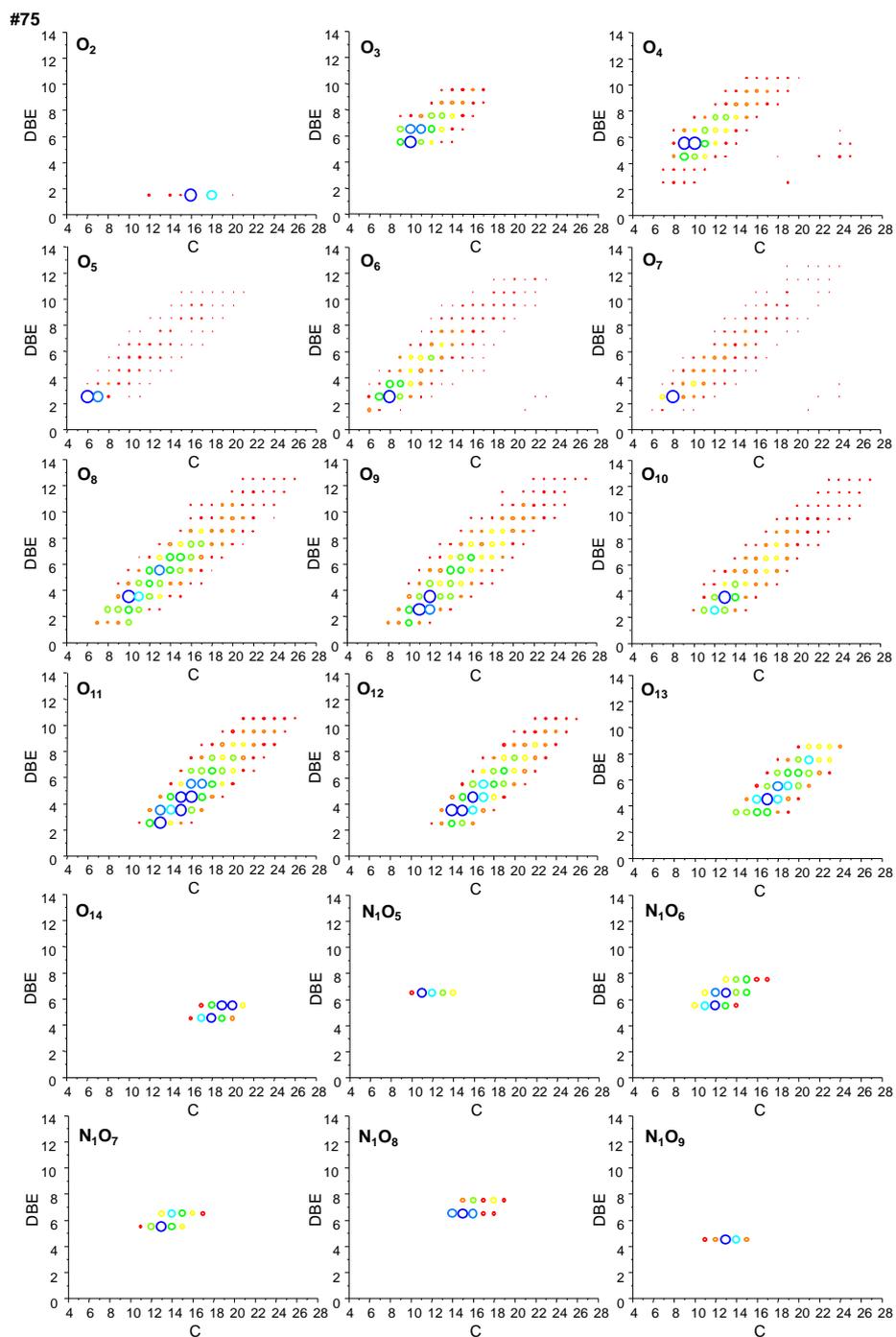


Figura 15. Diagramas de contorno de DBE *versus* número de átomos de carbono para as classes O_{2-14} e N_1O_{5-9} da amostra #75.

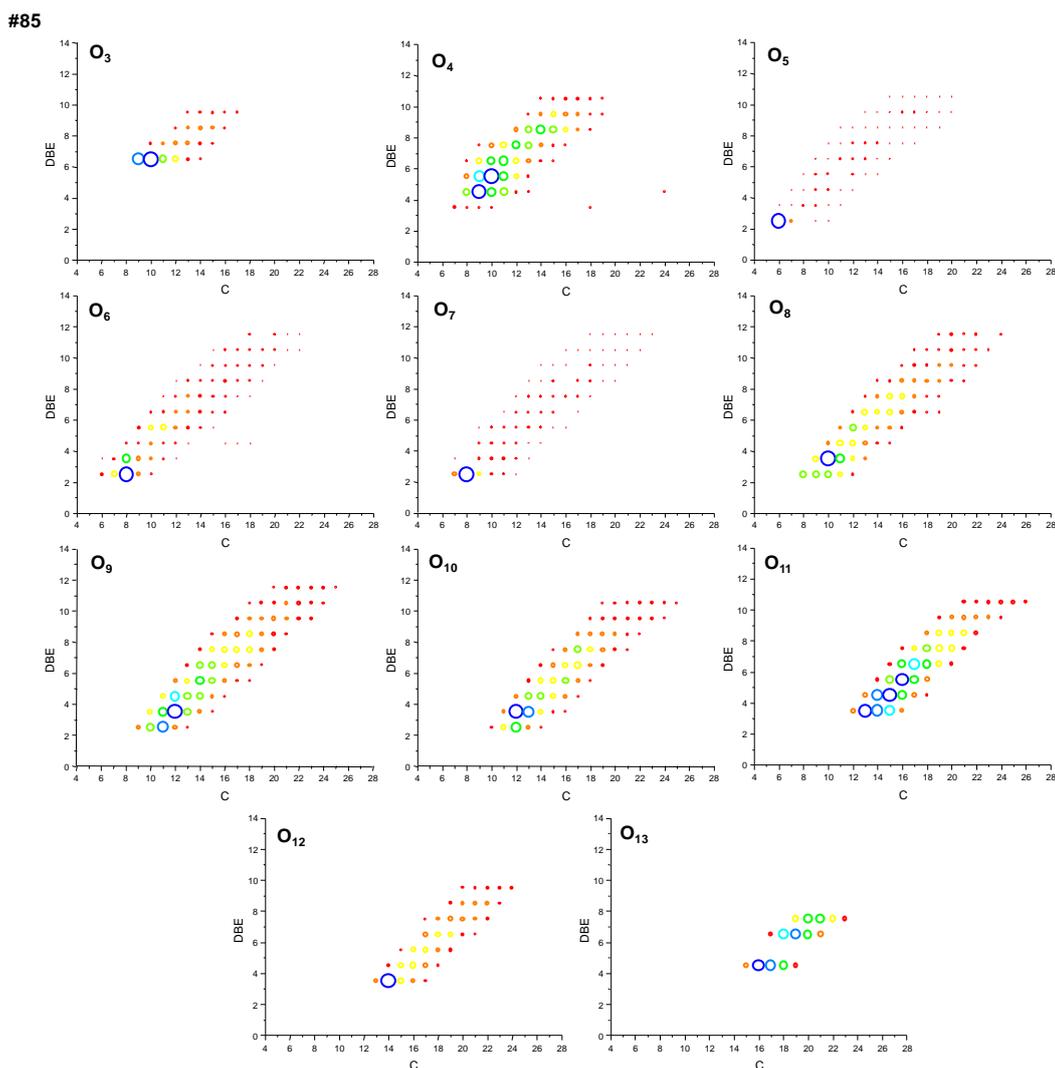


Figura 16. Diagramas de contorno de DBE *versus* número de átomos de carbono para as classes O₃₋₁₃ da amostra #85.

A partir dos diagramas, destacam-se alguns resultados:

- ✓ Uma distribuição contínua, comum em estudos de petrolômica, foi observada para as classes contendo oxigênio, apresentando até 28 átomos de carbono e valores de DBE até 13.
- ✓ A classe O₂ da amostra #75 apresenta cinco ácidos graxos, sendo os ácidos palmítico e esteárico os mais abundantes. BOEY *et al.* (2011) observaram que o resíduo do óleo de palma é enriquecido em ácidos graxos. Além disso, a presença destes ácidos em bio-óleos é dependente das condições de pirólise (NGO *et al.*, 2013).

- ✓ De acordo com o trabalho desenvolvido por SMITH *et al.* (2012), a presença de sinais com valores de DBE maiores ou iguais a 5 na classe O_3 sugere fortemente que estas substâncias possuem uma estrutura aromática. Nesta classe, a amostra #85 não apresentou valores de DBE igual 5.
- ✓ Outro comportamento diferente da amostra #75 em relação a #85 foi observado para a distribuição da classe O_4 , que apresentou sinais dispersos para números de carbono elevados. Fazendo uma analogia com JARVIS *et al.* (2012), isso sugere uma distribuição multimodal e confirma que estes efeitos são provavelmente inerentes das amostras de bio-óleos, embora a natureza química destas substâncias ainda não tenha sido desvendada.
- ✓ Interessantemente, as classes O_5 – O_7 na amostra #85 apresentaram substâncias dominantes no espectro de massas da **Figura 13**.
- ✓ As classes N_1O_y foram classificadas como sendo substâncias de açúcares associadas a algumas substâncias secundárias contendo nitrogênio da biomassa.

5.1.1.2 Integração GCxGC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS

Substâncias derivadas de açúcares foram identificadas utilizando tanto a GCxGC-TOFMS como a ESI(-)-FT-ICR MS (**Figura 17**). O levoglicosano foi uma das substâncias com maior massa molecular que foi detectada com a técnica de GCxGC-TOFMS. Já nas análises por ESI(-)-FT-ICR MS, este correspondeu a um dos sinais identificado com menor massa molecular (m/z 161,04552). Além disso, a ESI(-)-FT-ICR MS possibilitou a detecção de outras substâncias derivadas de açúcares das classes O_5 – O_8 na amostra #85, conforme ilustrado na **Figura 18**. As estruturas foram propostas tentativamente a partir das fórmulas moleculares e dos valores de DBE de cada pico identificado, com base no trabalho desenvolvido por SMITH *et al.* (2012).

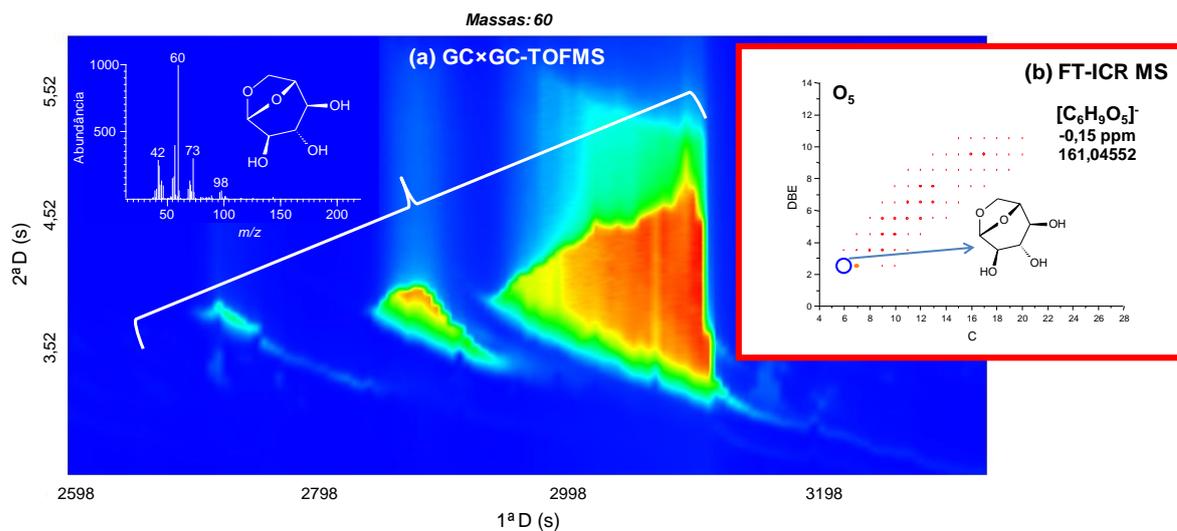


Figura 17. Levoglucosano identificado por GCxGC-TOFMS (a) e FT-ICR MS (b) na amostra #85. O espectro de massas utilizado na identificação da substância por GCxGC-TOFMS é apresentado.

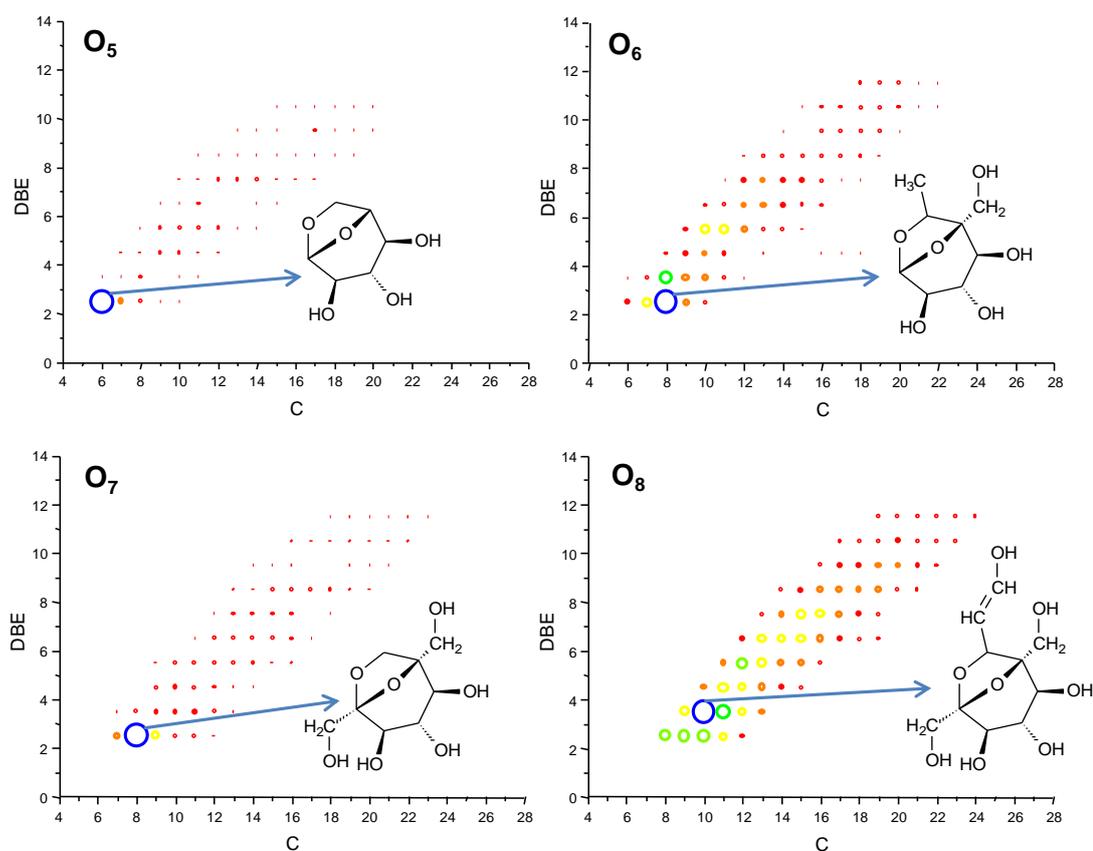


Figura 18. Diagramas de contorno de DBE *versus* número de átomos de carbono para as classes O₅₋₈ da amostra #85, ilustrando as estruturas das substâncias derivadas de açúcares identificadas tentativamente.

Na **Figura 19**, substâncias fenólicas foram identificadas utilizando a GC×GC-TOFMS nas amostras #75 e #85 a partir dos íons m/z 94, 108, 122, 136 e 150. Comparando com os resultados obtidos por ESI(-)-FT-ICR MS (**Figura 20**), apenas duas substâncias fenólicas que pertencem às classes O_3 e O_4 foram detectadas por ambas as técnicas. De acordo com SMITH *et al.* (2012), nas análises por ESI(-)-FT-ICR MS, as substâncias com DBE maior ou igual a 4, correspondem as substâncias fenólicas. Na análise das amostras de bio-óleo, não é apropriado realizar uma comparação quantitativa entre os dados obtidos para abundância ou concentração das classes das substâncias identificadas. Esse fato está relacionado as diferenças entre as técnicas. Na fonte por ESI pode ocorrer a supressão do sinal, o que impossibilita uma análise quantitativa. Dessa forma, a comparação realizada neste estudo foi apenas no âmbito qualitativo.

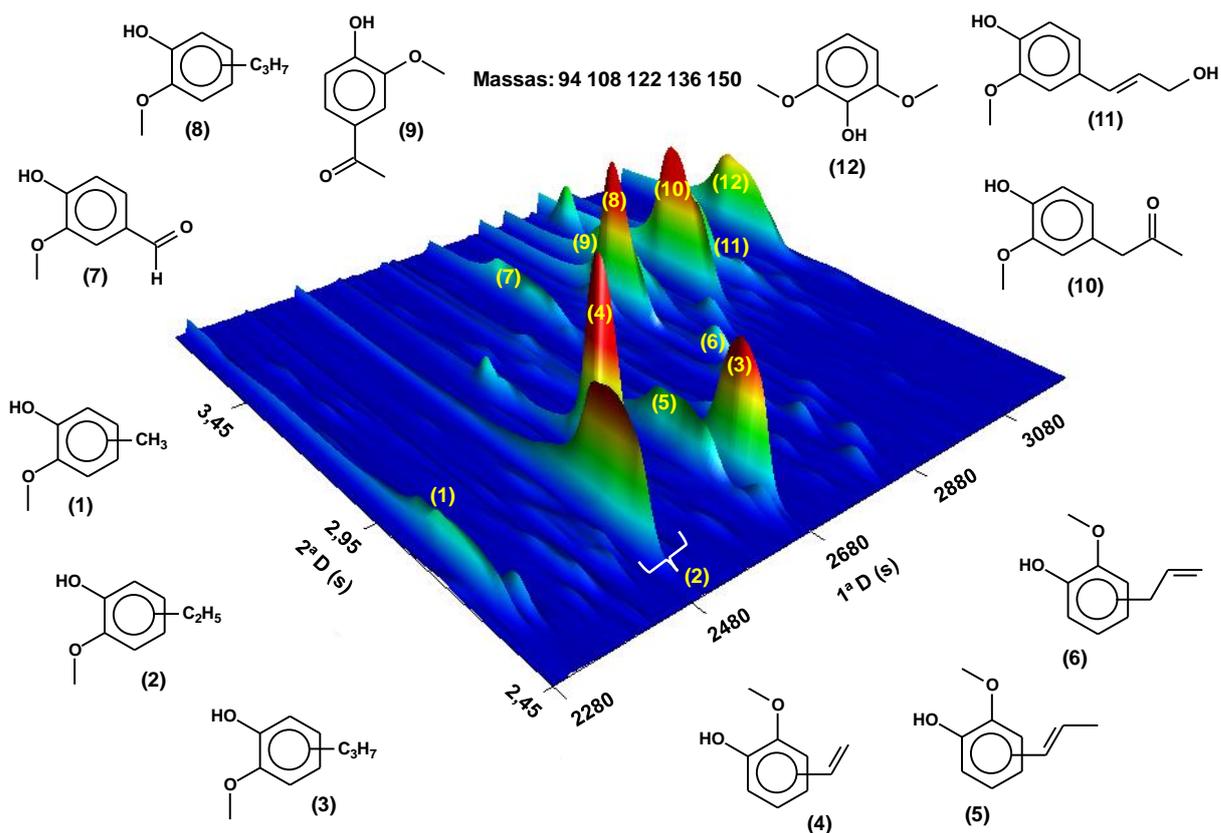


Figura 19. Substâncias fenólicas identificadas a partir do cromatograma dos íons extraídos m/z 94, 108, 122, 136 e 150 por GC×GC-TOFMS.

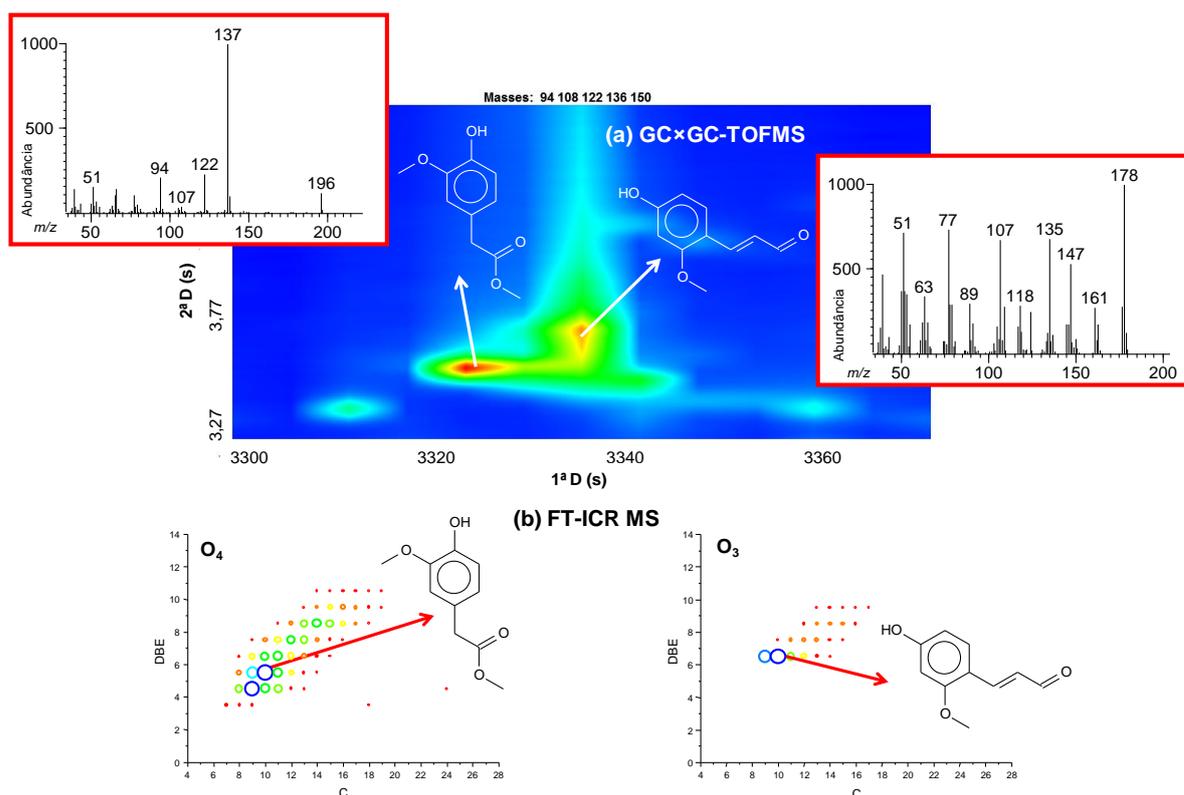


Figura 20. Substâncias fenólicas identificadas por GCxGC-TOFMS **(a)** e ESI(-)-FT-ICR MS **(b)** na amostra #85. Os espectros de massas de baixa resolução usados na identificação das substâncias por GCxGC-TOFMS são ilustrados.

Os ácidos graxos foram detectados em uma série homóloga na amostra #75 utilizando ambas as técnicas (**Figura 21**). A ESI(-)-FT-ICR MS permitiu a identificação de ácidos graxos maiores que o ácido dodecanóico (C₁₂–C₂₀), enquanto que a GCxGC-TOFMS possibilitou a identificação de ácidos menores que o ácido undecanóico, de C₄–C₁₁. Os resultados indicam uma complementaridade entre as técnicas na análise de ácidos graxos, na qual foram avaliados os limites de cada técnica a partir do tamanho das cadeias hidrocarbônicas das substâncias detectadas.

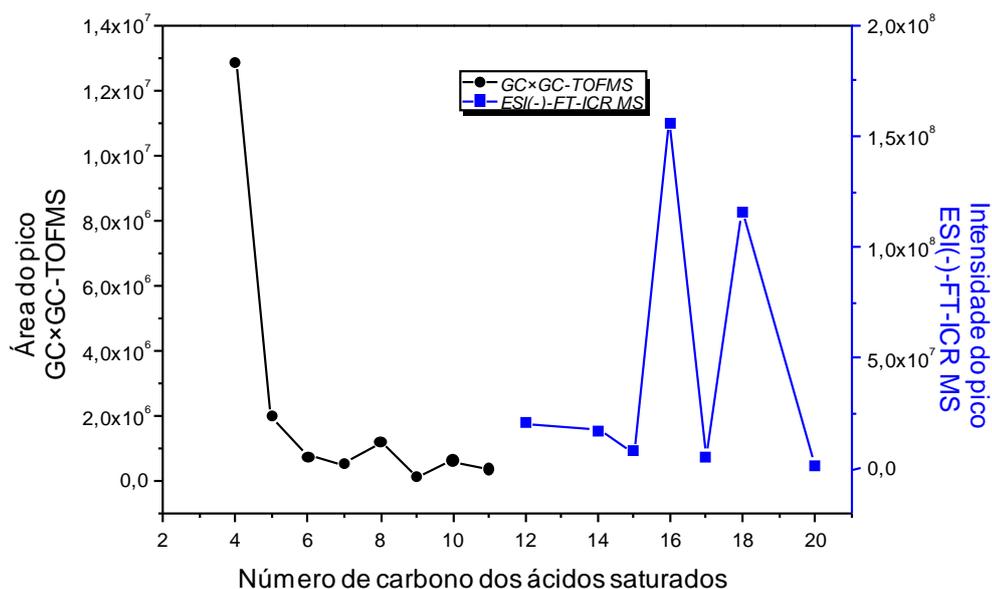


Figura 21. Gráfico de relação das áreas (GCxGC-TOFMS) e intensidades (ESI(-)-FT-ICR MS) dos picos para os ácidos saturados presentes na amostra # 75.

OLCESE *et al.* (2013) descreveram a primeira abordagem combinando a técnica de GC bidimensional *heart-cutting* acoplada a um detector por ionização em chama e um espectrômetro de massas (GC-GC/MS-FID, *heart-cutting two-dimensional gas chromatography coupled to a flame ionization detector and mass spectrometry*) com a FT-ICR MS para avaliar a seletividade da conversão catalítica de bio-óleos. Usando o mesmo procedimento de OLCESE *et al.* (2013), a fim de se avaliar a complementaridade das técnicas estudadas, os resultados referentes a área relativa para GCxGC-TOFMS e abundância relativa para ESI(-)-FT-ICR MS, correspondentes aos números de átomos de carbono e de oxigênio das substâncias identificadas estão ilustradas na **Figura 22**. As substâncias analisadas por ESI(-)-FT-ICR MS são polares, com massa molecular maior que 150 Da e abrangem uma faixa ampla de números de átomos de oxigênio (O₂–O₁₄) e de carbono (C₆–C₂₇). No caso das análises por GCxGC-TOFMS (TESSAROLO, 2012; TESSAROLO *et al.*, 2013), as substâncias identificadas apresentam massa molecular menor que 200 Da e incluem uma faixa com menor número de oxigênio (O₀–O₈) e número de carbono (C₃–C₁₄).

A distribuição das classes de heteroátomos para as amostras por ESI(-)-FT-ICR MS e GC×GC-TOFMS em função da abundância relativa e área relativa, respectivamente, estão ilustradas na **Figura 23**. A GC×GC-TOFMS e a ESI(-)-FT-ICR MS apresentam-se como técnicas analíticas complementares na caracterização de bio-óleos, permitindo a identificação de substâncias voláteis e polares, respectivamente.

Os resultados mostram que as duas técnicas são úteis individualmente na análise de bio-óleos. No entanto, em função da complementaridade das técnicas, uma caracterização molecular mais detalhada pode ser alcançada se ambas as técnicas analíticas são utilizadas.

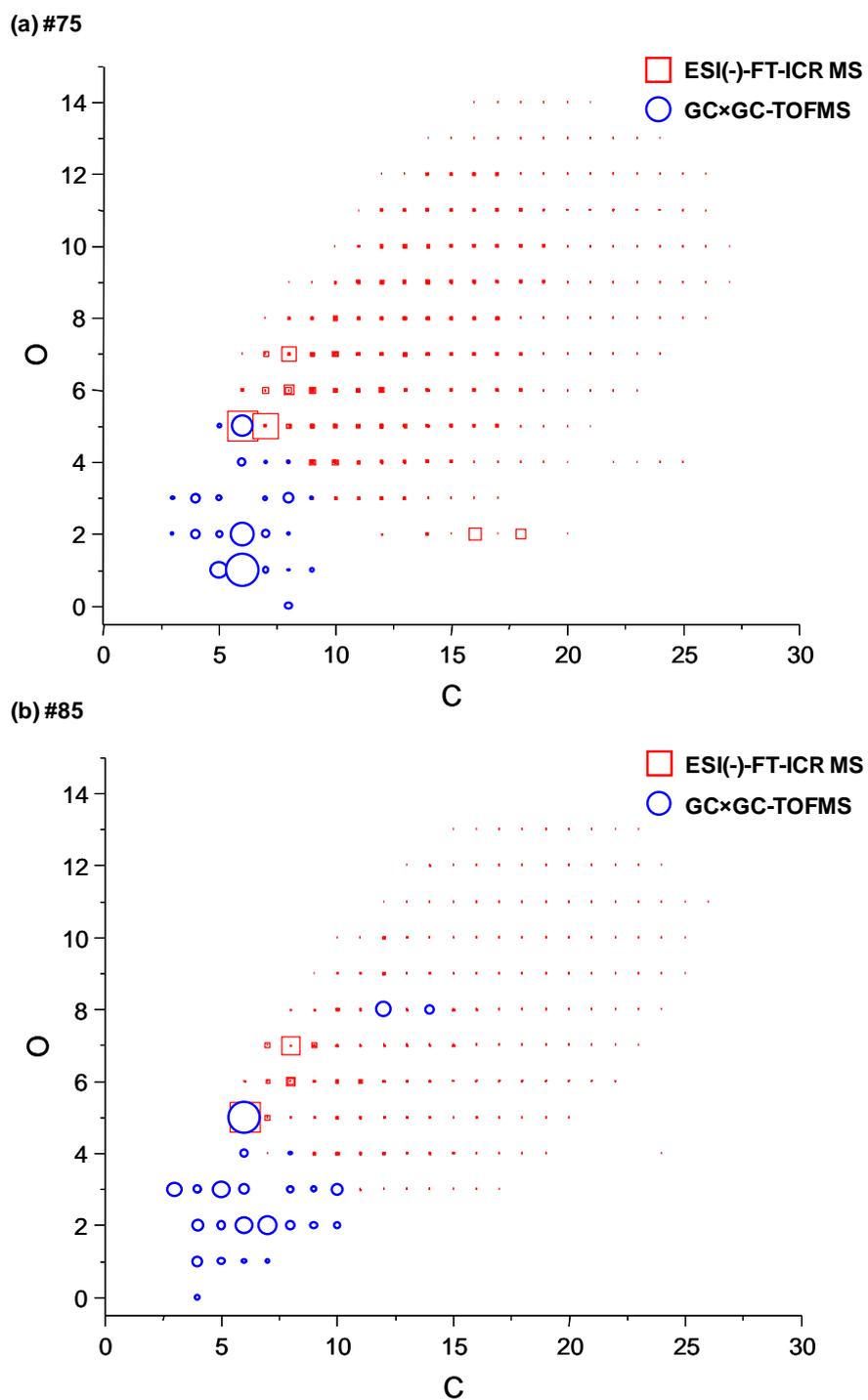


Figura 22. Gráfico de relação dos números de átomos de C e O obtidos nas análises por GCxGC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS em função da área relativa (GCxGC-TOFMS) e abundância relativa (ESI(-)-FT-ICR MS) para as amostras dos bio-óleos #75 (a) e #85 (b).

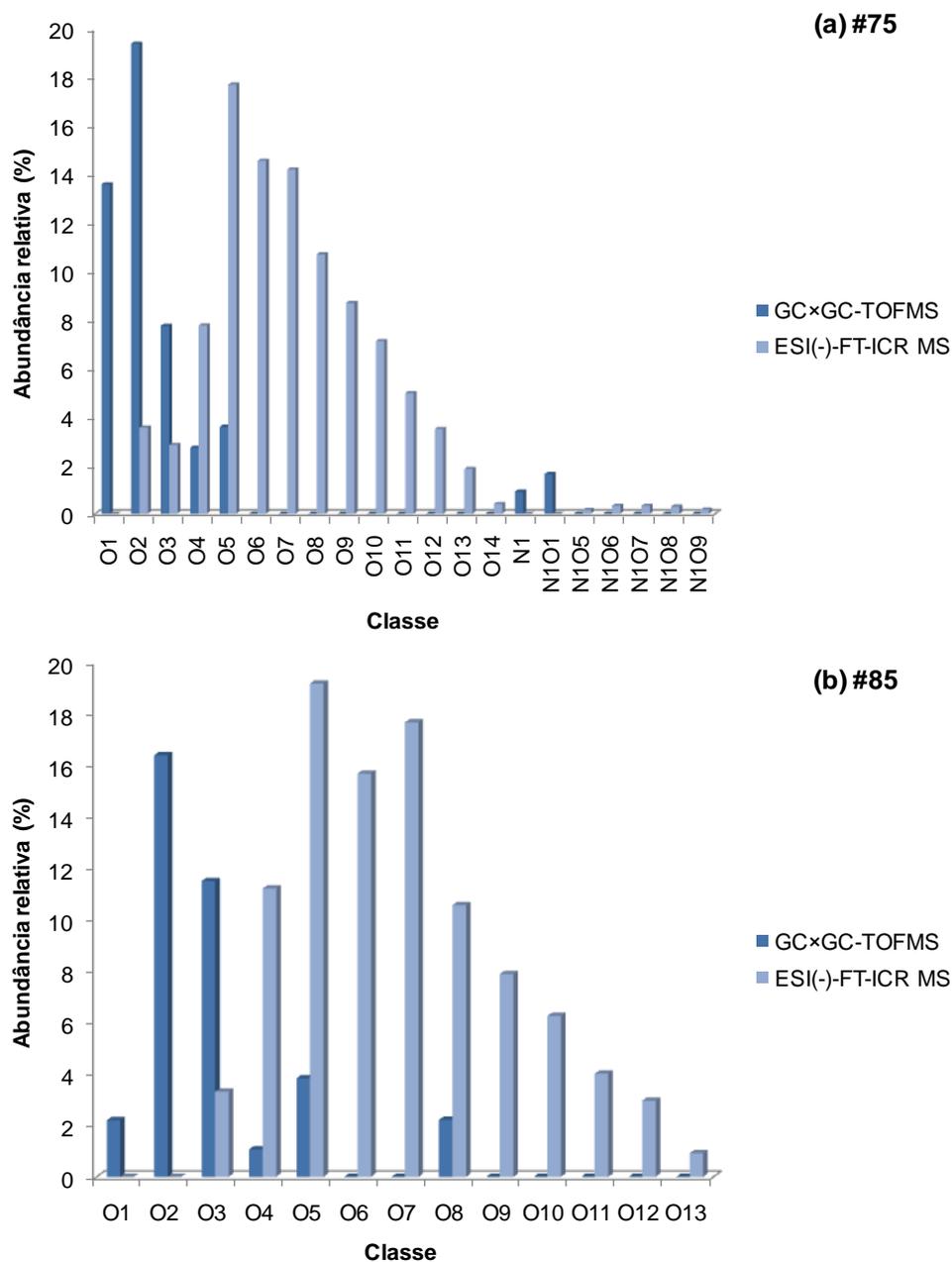


Figura 23. Distribuição das classes de heteroátomos obtidas nas análises por GCxGC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS em função das suas abundâncias relativas para as amostras dos bio-óleos #75 **(a)** e #85 **(b)**.

5.1.1.3 Considerações

O uso de ambas as técnicas de GCxGC-TOFMS e de ESI(-)-FT-ICR MS possibilitou uma caracterização mais detalhada e abrangente das amostras de bio-óleo do conjunto I. A técnica de GCxGC-TOFMS tem como vantagem uma excelente

resolução cromatográfica, permitindo a separação com detecção e caracterização de muitas substâncias fenólicas. Entretanto, as limitações para esta técnica incluem a volatilidade das substâncias e faixa dinâmica de massa molecular. Já a FT-ICR MS, com uma fonte de ionização por ESI, possibilitou a identificação das substâncias oxigenadas polares e não voláteis, tais como aquelas derivadas de açúcares, que não foram detectadas por GC×GC-TOFMS.

5.1.2 Conjunto II

As amostras de bio-óleo obtidas a partir da pirólise convencional e catalítica de bagaço de cana e de madeira, utilizando diferentes temperaturas no processo (550 °C, 500 °C e 450 °C), foram caracterizadas utilizando ^1H NMR, GC×GC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS.

5.1.2.1 ^1H NMR

A caracterização das amostras por ^1H NMR foi realizada para avaliar a composição do bio-óleo como um todo, diferente das técnicas de cromatografia e espectrometria de massas, que permitem a análise de frações das amostras de acordo com a volatilidade e a polaridade das substâncias.

A **Figura 24** ilustra os espectros de ^1H NMR das amostras de bio-óleo do conjunto II obtidas com madeira. As áreas integradas para as diferentes regiões dos espectros foram medidas excluindo o sinal residual do solvente (2,4 ppm) e o sinal da água (3,7-3,3 ppm), e então normalizadas. Os valores estão descritos nas **Tabela 10** e **Tabela 11**, de modo a avaliar o percentual de um determinado tipo de hidrogênio em cada amostra e comparar os resultados obtidos para bio-óleos da mesma biomassa.

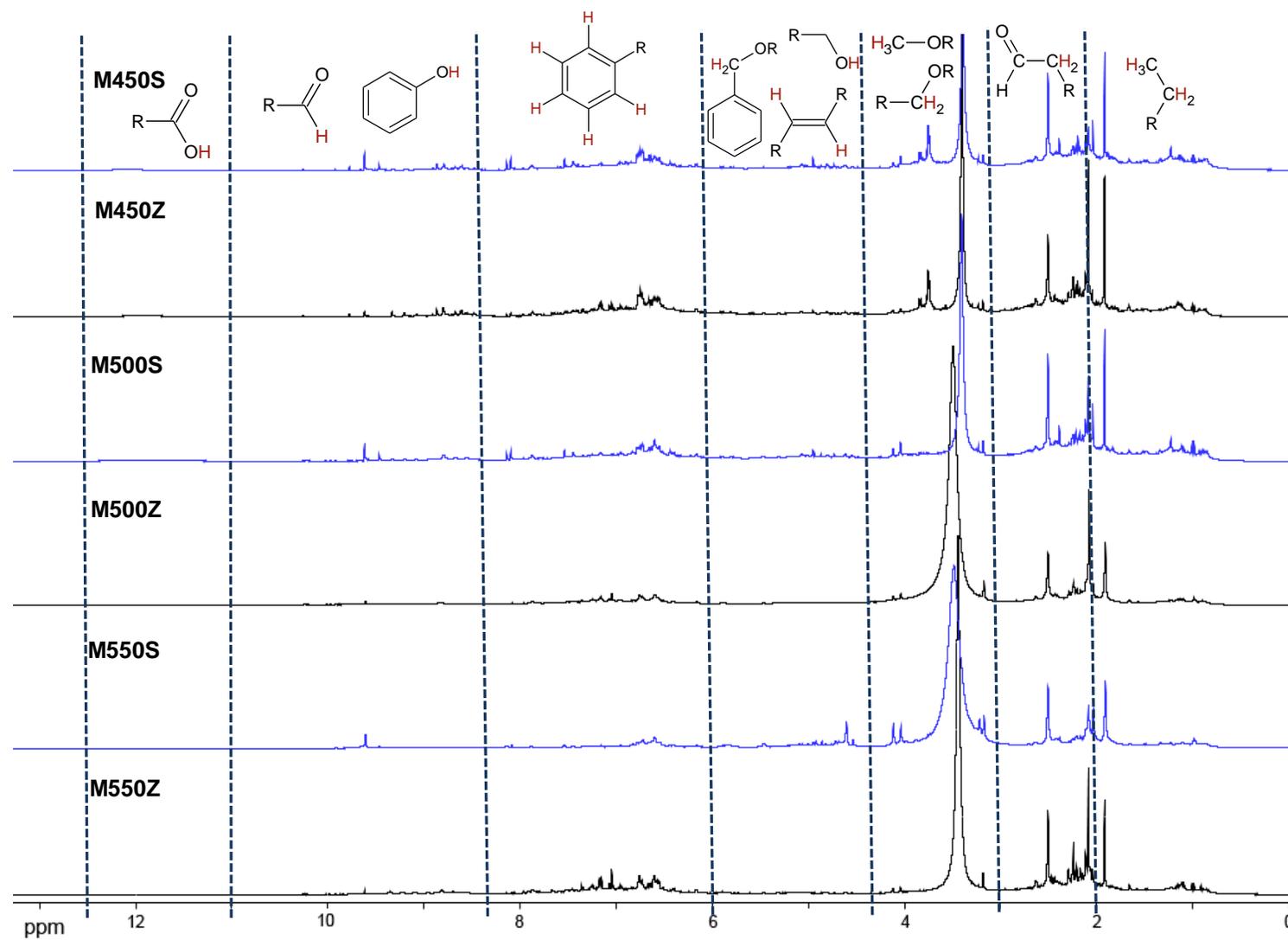


Figura 24. Espectros de ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para as amostras de bio-óleo obtidos da pirólise da madeira (M) a diferentes temperaturas (450 °C, 500 °C e 550 °C), com (Z) ou sem (S) o uso do catalisador ZSM-5.

Tabela 10. Percentual normalizado de hidrogênios baseado na integração por regiões do espectro de ^1H NMR das amostras obtidas com bagaço de cana

Deslocamento químico (ppm)	Tipo de hidrogênio	Área bruta integrada e normalizada	
		BC550S	BC550Z
12,5-11,0	-COOH	4,06	0,22
11,0-8,25	-CHO, ArOH	8,99	3,01
8,25-6,0	H de aromáticos e alcenos conjugados	16,28	24,53
6,0-4,2	OH de alifáticos, -CH=CH-, Ar-CH ₂ -O-R	9,13	6,55
4,2-3,0	R-CH ₂ -O-R, CH ₃ -O-R	14,25	9,88
3,0-2,0	-CH ₂ CH=O, H de alifáticos	16,04	28,13
2,0-0,0	H de alifáticos	31,24	27,69

Tabela 11. Percentual normalizado de hidrogênios baseado na integração por regiões do espectro de ^1H NMR das amostras obtidas com madeira.

Deslocamento químico (ppm)	Tipo de hidrogênio	Área bruta integrada e normalizada					
		M450S	M450Z	M500S	M500Z	M550S	M550Z
12,5-11,0	-COOH	1,19	0,43	0,25	0,11	1,09	0,08
11,0-8,25	-CHO, ArOH	8,59	5,84	5,86	3,57	5,59	4,95
8,25-6,0	H de aromáticos e alcenos conjugados	17,74	19,90	18,18	20,05	14,26	25,33
6,0-4,2	OH de alifáticos, -CH=CH-, Ar-CH ₂ -O-R	6,50	3,62	7,86	7,56	15,05	3,44
4,2-3,0	R-CH ₂ -O-R, CH ₃ -O-R	15,73	15,28	13,74	14,85	24,95	12,42
3,0-2,0	-CH ₂ CH=O, H de alifáticos	24,33	32,83	28,61	32,64	18,72	31,84
2,0-0,0	H de alifáticos	25,93	22,10	25,49	21,22	20,34	21,94

Na **Tabela 10**, os resultados para as amostras de bio-óleo obtidas a partir de bagaço de cana a 550 °C, BC550S e BC550Z, demonstram que o uso do catalisador ZSM-5 influenciou na redução dos hidrogênios das espécies oxigenadas presentes nas regiões entre 12,5-8,25 e 6,0-3,0 ppm. A região entre 12,5-11,0 ppm deve ser destacada, pois corresponde ao hidrogênio de ácidos carboxílicos, a qual apresentou uma redução significativa para a amostra obtida com o uso do catalisador ZSM-5. Além disso, foi observado um aumento no percentual de hidrogênios de aromáticos e de alcenos conjugados. A sobreposição espectral de hidrogênios α a carbonila e hidrogênios alifáticos (região entre 3,0-2,0 ppm) dificulta a avaliação do comportamento de hidrogênios alifáticos. Entretanto, a redução do percentual de hidrogênios referentes a ácidos na região entre 12,5-11,0 ppm e o aumento do percentual na região entre 3,0-0,0 ppm com o uso do catalisador, indicam um pequeno aumento de hidrogênios alifáticos na pirólise catalítica em comparação com a pirólise convencional.

O mesmo comportamento com o uso do catalisador ZSM-5 foi observado para a amostra de bio-óleo de madeira, ou seja, redução dos hidrogênios das espécies oxigenadas e um aumento no percentual de hidrogênios de aromáticos e de alcenos conjugados. Para as amostras obtidas a 500 °C não foi observada a mesma tendência para os hidrogênios referentes a éteres e grupos metóxi (4,2-3,0 ppm), provavelmente em função da sobreposição espectral da região de água, o que influencia na medida para essa região (**Tabela 11**).

5.1.2.2 GCxGC-TOFMS

5.1.2.2.1 Avaliação do método GCxGC-TOFMS

Na otimização de um método GCxGC-TOFMS para elucidação da composição de bio-óleos, os parâmetros cromatográficos devem ser cuidadosamente avaliados, a fim de se obter uma melhor separação. A forma do pico, bem como a elevada quantidade de espaço 2D desocupado, são parâmetros tipicamente observados em muitas separações cromatográficas bidimensionais (TRANCHIDA *et al.*, 2007).

Na **Figura 25** são ilustrados os cromatogramas de íons totais da amostra M450S utilizando três diferentes condições na otimização do método. A primeira condição (**Figura 25a**) foi utilizada em trabalhos anteriores para a análise das amostras do conjunto I (TESSAROLO, 2012; TESSAROLO *et al.*, 2013). A segunda condição, na qual modificou-se a rampa de temperatura, a isoterma na temperatura inicial e a diferença de temperatura entre os dois fornos, proporcionou um aumento na separação cromatográfica. No entanto, observou-se o efeito denominado de *wrap-around* (**Figura 25b**). O *wrap-around*, fenômeno que deve ser evitado, ocorre quando o tempo de retenção de uma substância na segunda coluna excede o período de modulação. Portanto, as condições experimentais são geralmente ajustadas para que o período de modulação seja maior do que o tempo de retenção das substâncias que são mais fortemente retidas na segunda dimensão (DALLUGE *et al.*, 2003). A terceira condição, que foi modificada da segunda na diferença de temperatura entre os dois fornos e no período de modulação, foi escolhida para este trabalho (**Figura 25c**) em função do aumento significativo da capacidade de separação com os picos inseridos no período de modulação. Deve-se destacar que as concentrações das soluções na primeira e na segunda condição foram diferentes da terceira, sendo aproximadamente 20 mg mL^{-1} e 10 mg mL^{-1} , respectivamente.

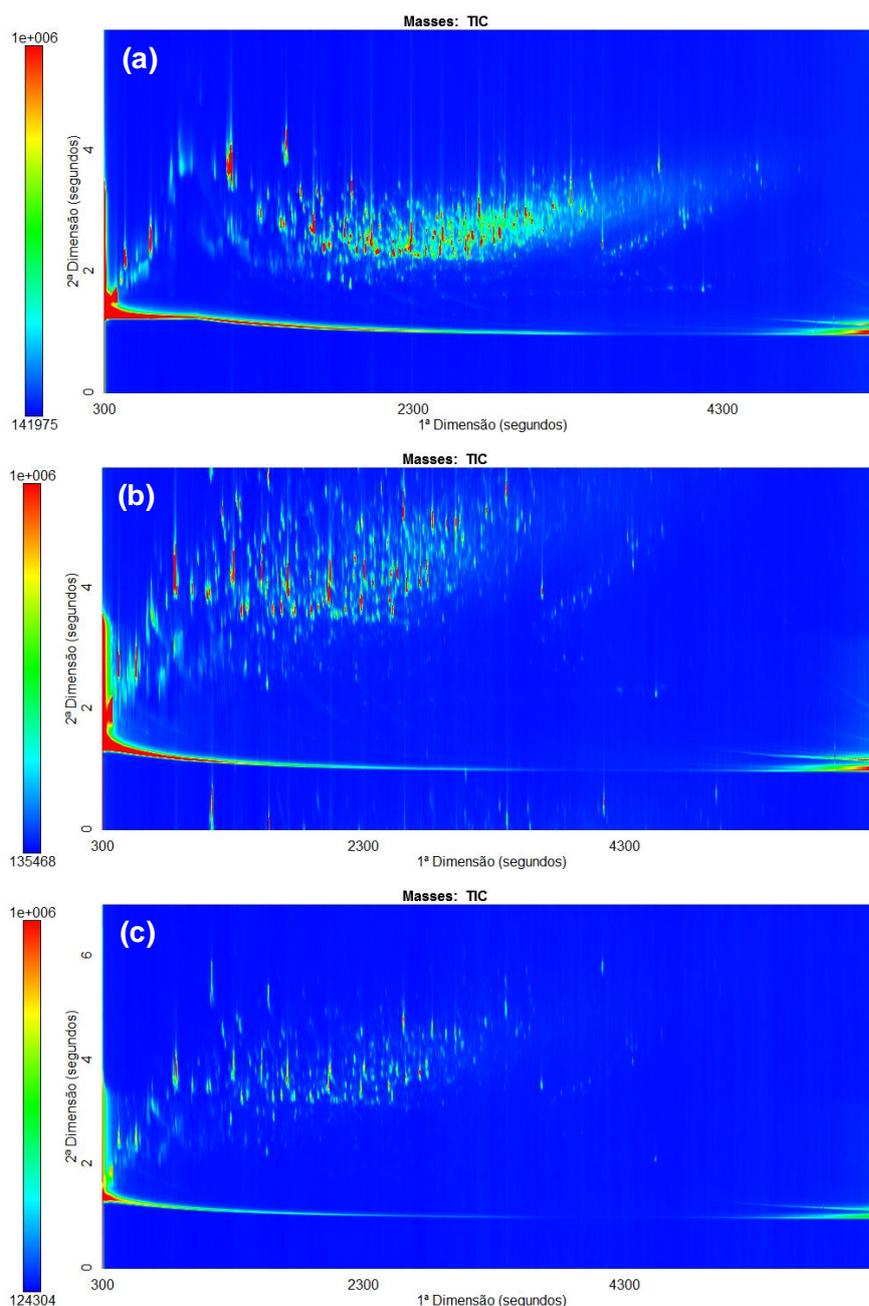


Figura 25. TIC da amostra M450S usando diferentes condições cromatográficas na otimização: **(a)** condição 1 (20 mg mL^{-1}), **(b)** condição 2 (20 mg mL^{-1}) e **(c)** condição 3 (10 mg mL^{-1}).

A utilização da GCxGC resulta em uma distribuição organizada das substâncias no espaço bidimensional, de acordo com suas propriedades físico-químicas e, conseqüentemente suas classes químicas. Assim, a separação cromatográfica estruturada por classe química tem grande potencial para a identificação, fornecendo uma informação adicional sobre a estrutura química das

moléculas (MONDELLO *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2012). A **Figura 26** ilustra uma região expandida do plano cromatográfico, mostrando claramente este efeito para diferentes classes de substâncias detectadas em bio-óleos.

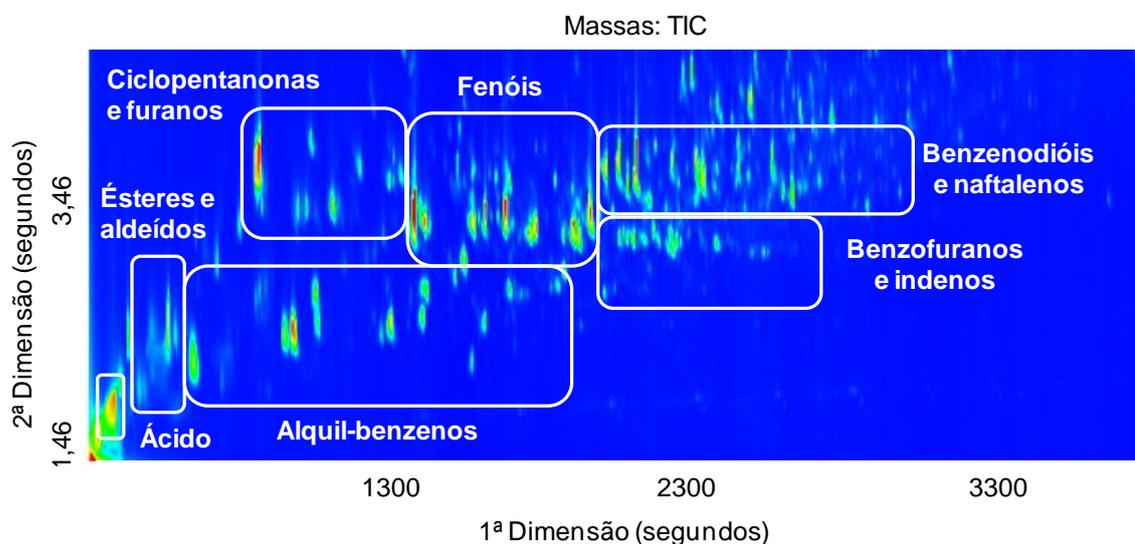


Figura 26. TIC de uma região expandida do plano cromatográfico da amostra BC550Z, ilustrando a separação por classes químicas.

A técnica de GCxGC é ideal na separação de misturas complexas e na caracterização de substâncias com estrutura química similar (**Figura 27**), que se fossem analisadas por cromatografia unidimensional iriam eluir na mesma região cromatográfica.

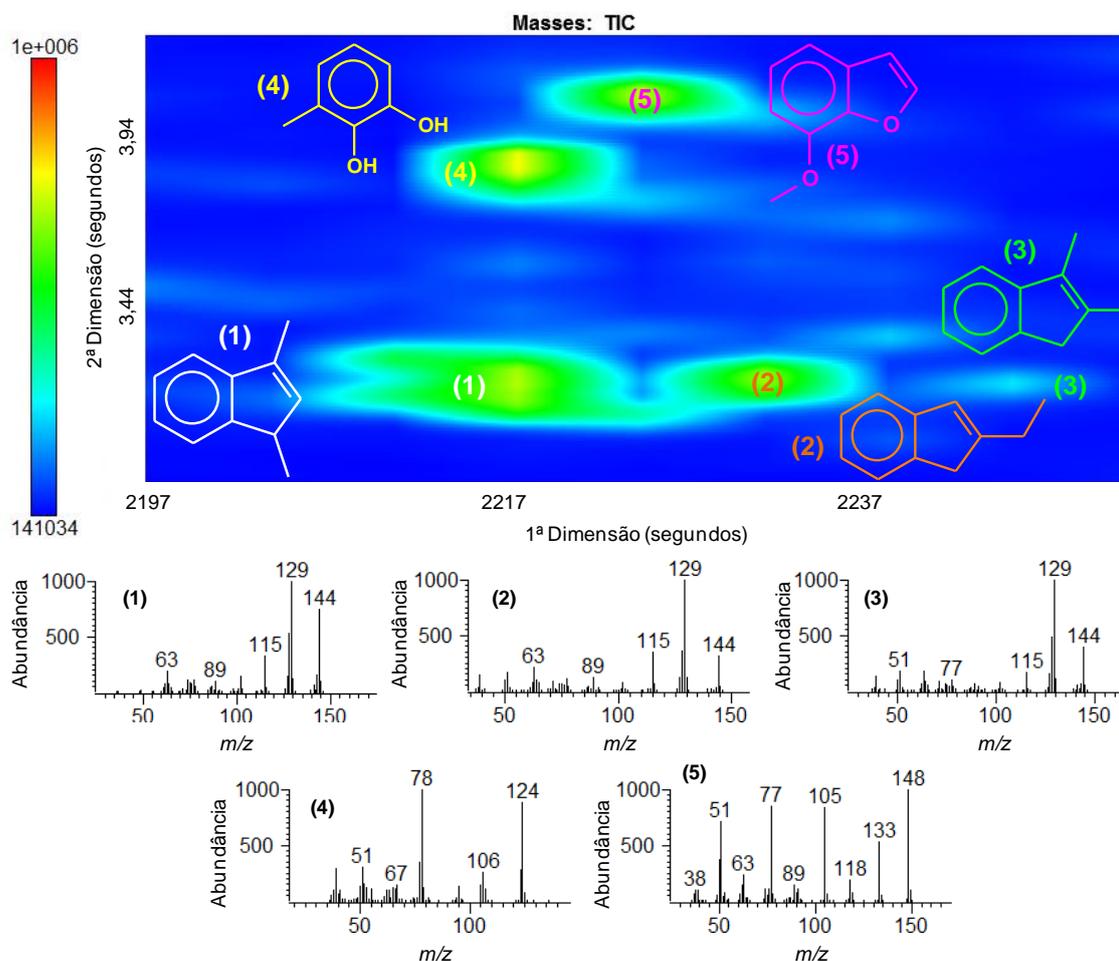


Figura 27. TIC da amostra M450Z mostrando o poder de resolução em uma região complexa. Os espectros de massas utilizados na identificação estão ilustrados.

O acoplamento do TOFMS com o sistema de detecção pode ser considerado como uma terceira dimensão analítica, fornecendo uma identificação confiável através do espectro de massas e uma capacidade de separação adicional pelo algoritmo da deconvolução espectral (**Figura 28**). A deconvolução consiste em um tratamento de dados usado para a separação matemática de picos coeluídos cromatograficamente que apresentam diferenças minoritárias no tempo de retenção na distribuição Gaussiana dos íons dentro do sinal referente aos íons totais. Com isso é possível discriminar e obter os espectros de massa das substâncias coeluídas, permitindo a identificação das mesmas (CASILLI *et al.*, 2014).

Um ajuste fino da tensão do detector foi realizado no intuito de se detectar substâncias ao nível de traço e evitar os problemas relacionados a perda de linearidade em concentrações maiores quando se utiliza o *micro-channel plate*. A

voltagem selecionada foi + 50 V da voltagem obtida na calibração. Na **Figura 29** destacam-se dois picos, sendo que o de menor intensidade (em azul) é uma Gaussiana bem definida, enquanto que o pico de maior intensidade (em vermelho) apresenta o pico em uma forma distorcida, ilustrando a saturação do detector neste último.

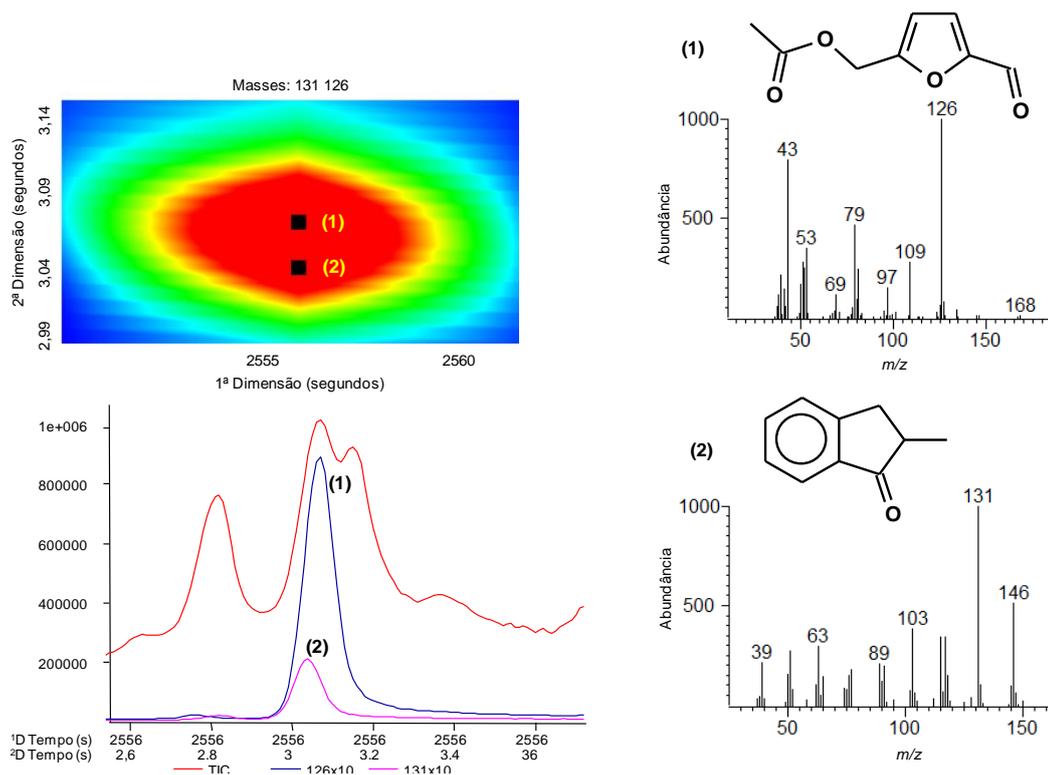


Figura 28. Deconvolução espectral e identificação confiável de duas substâncias (1) e (2) que coeluem na mesma região cromatográfica.

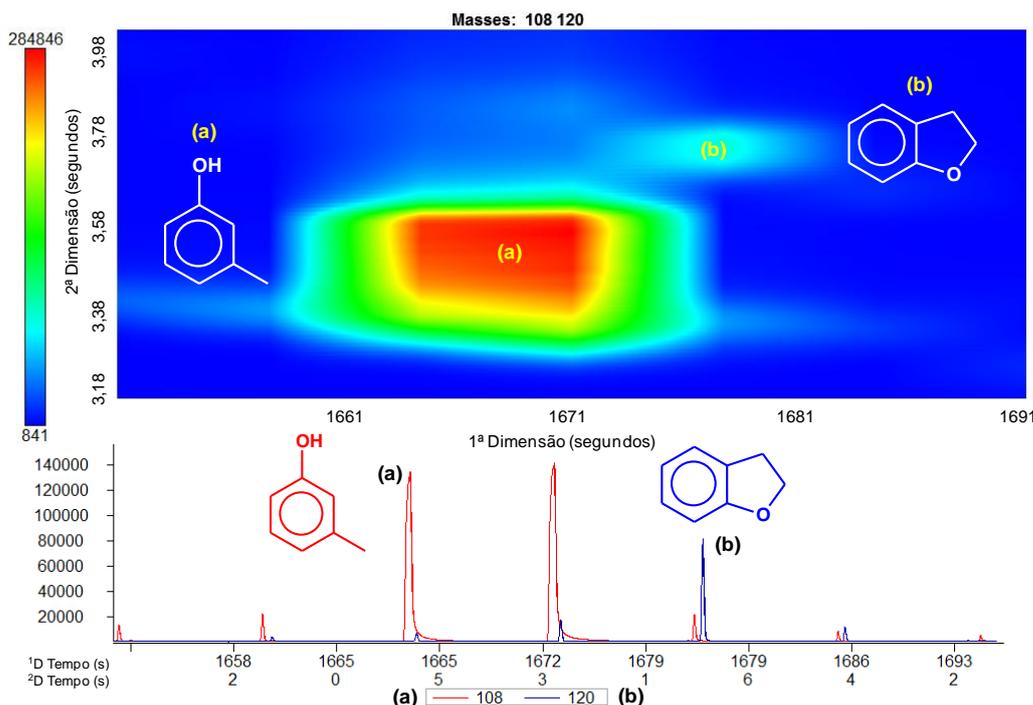


Figura 29. EIC m/z 108 e 120, ilustrando a identificação de picos de maior e menor intensidade.

5.1.2.2 Validação do método GCxGC-TOFMS

O protocolo de validação do método fornece dados que geram maior confiabilidade das análises. A avaliação de algumas figuras de mérito foi realizada na busca de parâmetros de qualidade, tais como a faixa dinâmica, linearidade, precisão, exatidão, os limites de detecção e quantificação.

Soluções-padrão em diferentes níveis de concentração para a construção das curvas analíticas foram preparadas em triplicata e analisadas em dias diferentes (**Tabela 12**). As curvas analíticas foram obtidas nas faixas de 0,2-10,0 ng μL^{-1} para os alquil-fenóis; 0,5-10,0 ng μL^{-1} para a 1,3-di-hidro-2H-inden-2-ona; 0,5-50,0 ng μL^{-1} para a 2-butanona e a ciclopentanona; 5,0-80,0 ng μL^{-1} para a gama-butirolactona, a 2,3-di-hidro-1H-inden-1-ona, o ácido hexanoico e o ácido octanoico. As substâncias padrão foram avaliadas em faixas diferentes de concentração, devido as diferenças nas propriedades físico-químicas, como por exemplo, interação com a fase estacionária e volatilidade, causando variações na sensibilidade de cada analito. Os coeficientes de determinação (**Tabela 12**), R^2 , foram maiores que 0,99 para a

maioria das curvas analíticas, sendo uma avaliação preliminar de linearidade das equações das retas nas faixas avaliadas. Algumas exceções foram observadas para as curvas do ácido hexanoico, ácido octanoico e 2,3-di-hidro-1H-inden-1-ona, que apresentaram valores de R^2 entre 0,96 e 0,98.

Tabela 12. Parâmetros de qualidade para as substâncias padrão por GCxGC-TOFMS.

Substância Padrão	Íon diag. (m/z)*	Equação da curva	R ²	Faixa (ng µL ⁻¹)	LD (ng µL ⁻¹)	LQ (ng µL ⁻¹)
2,6-Dimetilfenol	122	y = 0,5573x - 0,0007	0,9976	0,2-10,0	0,3	0,5
		y = 0,1836x - 0,0044	0,9989			
		y = 0,4089x - 0,0120	0,9999			
2-Etilfenol	122	y = 0,3919x - 0,0122	0,9990	0,2-10,0	0,3	0,6
		y = 0,1327x - 0,0068	0,9995			
		y = 0,3003x - 0,0165	0,9992			
2,4-Dimetilfenol	122	y = 0,5428x - 0,0274	0,9995	0,2-10,0	0,5	0,9
		y = 0,1734x - 0,0082	0,9982			
		y = 0,4234x - 0,0245	0,9991			
4-Etilfenol	122	y = 0,3393x - 0,0294	0,9979	0,2-10,0	0,7	1,3
		y = 0,1179x - 0,0102	0,9978			
		y = 0,2946x - 0,0259	0,9965			
3,4-Dimetilfenol	122	y = 0,4236x - 0,0346	0,9984	0,2-10,0	0,7	1,3
		y = 0,1386x - 0,0106	0,9983			
		y = 0,3588x - 0,0310	0,9947			
2,3-di-hidro-1H-Inden-1-ona	132	y = 0,5510x - 0,3047	0,9978	5,0-80,0	4,5	8,1
		y = 0,1787x - 0,1301	0,9955			
		y = 0,3837x - 0,2853	0,9755			
1,3-di-hidro-2H-Inden-2-ona	132	y = 0,2667x - 0,0404	0,9952	0,5-10,0	1,2	2,2
		y = 0,0939x - 0,0132	0,9965			
		y = 0,2816x - 0,0384	0,9912			
2-Butanona	72	y = 0,4359x + 0,1148	0,9936	0,5-50,0	2,4	4,4
		y = 0,1417x + 0,0299	0,9967			
		y = 0,3652x + 0,0531	0,9943			
Ciclopentanona	84	y = 0,4076x + 0,0065	0,9991	0,5-50,0	0,5	1,0
		y = 0,1373x + 0,0006	0,9992			
		y = 0,3549x - 0,0121	0,9987			
Gama-butirolactona	86	y = 0,1422x - 0,0885	0,9949	5,0-80,0	3,4	6,1
		y = 0,0675x - 0,0826	0,9898			
		y = 0,1688x - 0,1276	0,9996			
Ácido hexanoico	60	y = 0,3161x - 0,4926	0,9948	5,0-80,0	5,8	10,5
		y = 0,1960x - 0,3477	0,9824			
		y = 0,5559x - 0,5846	0,9975			
Ácido octanoico	60	y = 0,2206x - 0,3674	0,9895	5,0-80,0	7,0	12,6
		y = 0,1436x - 0,2772	0,9698			
		y = 0,3934x - 0,4799	0,9982			

*Íon diagnóstico

Os valores de LD foram obtidos entre 0,3 e 7,0 ng μL^{-1} , enquanto que os valores de LQ foram entre 0,5 e 12,6 ng μL^{-1} (**Tabela 12**). Os padrões de ácidos e do 2,3-di-hidro-1H-inden-1-ona apresentaram os maiores valores, o que pode estar relacionado a menor linearidade na curva analítica destas substâncias.

A precisão foi avaliada pela repetibilidade, onde a solução-padrão na concentração de 5,0 ng μL^{-1} foi injetada cinco vezes no mesmo dia e as áreas dos padrões e do padrão interno foram obtidas. O desvio-padrão relativo obtido para a resposta de cada padrão foi calculado utilizando a razão área do padrão/área do padrão interno e para somente a área do padrão, sem considerar o padrão interno (**Tabela 13**). Ao se usar a razão área do padrão/área do padrão interno, os valores obtidos para os desvios-padrão foram mais baixos, entre 0,7 % e 6,7 % e, portanto todos menores que 10 %, indicando uma boa precisão e repetibilidade. A escolha do padrão interno foi baseada em análises realizadas anteriormente (TESSAROLO, 2012) e na revisão da literatura, que coincidem na natureza das substâncias encontradas nos bio-óleos, principalmente substâncias fenólicas e aromáticas (MICHAILOF *et al.*, 2014).

Tabela 13. Desvio-padrão relativo obtido para injeções (n=5) realizadas no mesmo dia.

Padrão	Desvio-padrão relativo	
	Área do padrão / área do padrão interno	Área do padrão
2,6-Dimetilfenol	0,8	5,0
2-Etilfenol	2,3	2,7
2,4-Dimetilfenol	2,4	5,6
4-Etilfenol	1,0	5,8
3,4-Dimetilfenol	0,6	4,5
2,3-di-hidro-1H-Inden-1-ona	2,9	3,0
1,3-di-hidro-2H-Inden-2-ona	1,4	3,8
2-Butanona	0,7	5,3
Ciclopentanona	1,2	4,7
Gama-butirolactona	6,7	3,8

A amostra #85 foi fortificada a uma concentração de $5,0 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$, em triplicata. A precisão do método GCxGC-TOFMS foi avaliada pelos valores de concentração (em $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$) obtidos para as substâncias padrão (**Tabela 14**). Os valores dos desvios-padrão relativos foram menores que 7,0 %, exceto para a 2-butanona (12,2 %), indicando uma boa precisão e repetibilidade, considerando o efeito da matriz. A recuperação é um dos processos de avaliação da exatidão. As médias das recuperações foram obtidas entre 70 e 131% para os padrões (**Figura 30**), o que indica uma boa recuperação para as substâncias analisadas pelo método GCxGC-TOFMS.

Tabela 14. Valores de concentração obtidos para a amostra #85 fortificada ($n=3$) com as substâncias padrão a concentração de $5,0 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Os desvios-padrão relativos foram calculados.

Substância padrão	n1	n2	n3	Média	Desvio-padrão	Desvio-padrão relativo
2,6-Dimetilfenol	4,9	4,3	4,6	4,6	0,3	6,4
2-Etilfenol	5,6	5,4	5,5	5,5	0,1	2,2
2,4-Dimetilfenol	4,8	4,3	4,4	4,5	0,3	6,7
4-Etilfenol	6,7	6,7	6,7	6,7	0,0	0,4
3,4-Dimetilfenol	6,4	5,9	5,8	6,0	0,3	5,8
2,3-di-hidro-1H-Inden-1-ona	11,8	11,8	11,8	11,8	0,0	0,2
1,3-di-hidro-2H-Inden-2-ona	5,5	5,5	5,6	5,6	0,1	1,0
2-Butanona	5,9	7,5	6,8	6,7	0,8	12,2
Ciclopentanona	5,4	5,3	5,4	5,4	0,0	0,9
Gama-butirolactona	18,0	18,0	17,9	18,0	0,1	0,3
Ácido hexanoico	22,0	22,3	22,3	22,2	0,2	0,8
Ácido octanoico	22,9	22,6	23,1	22,9	0,3	1,2

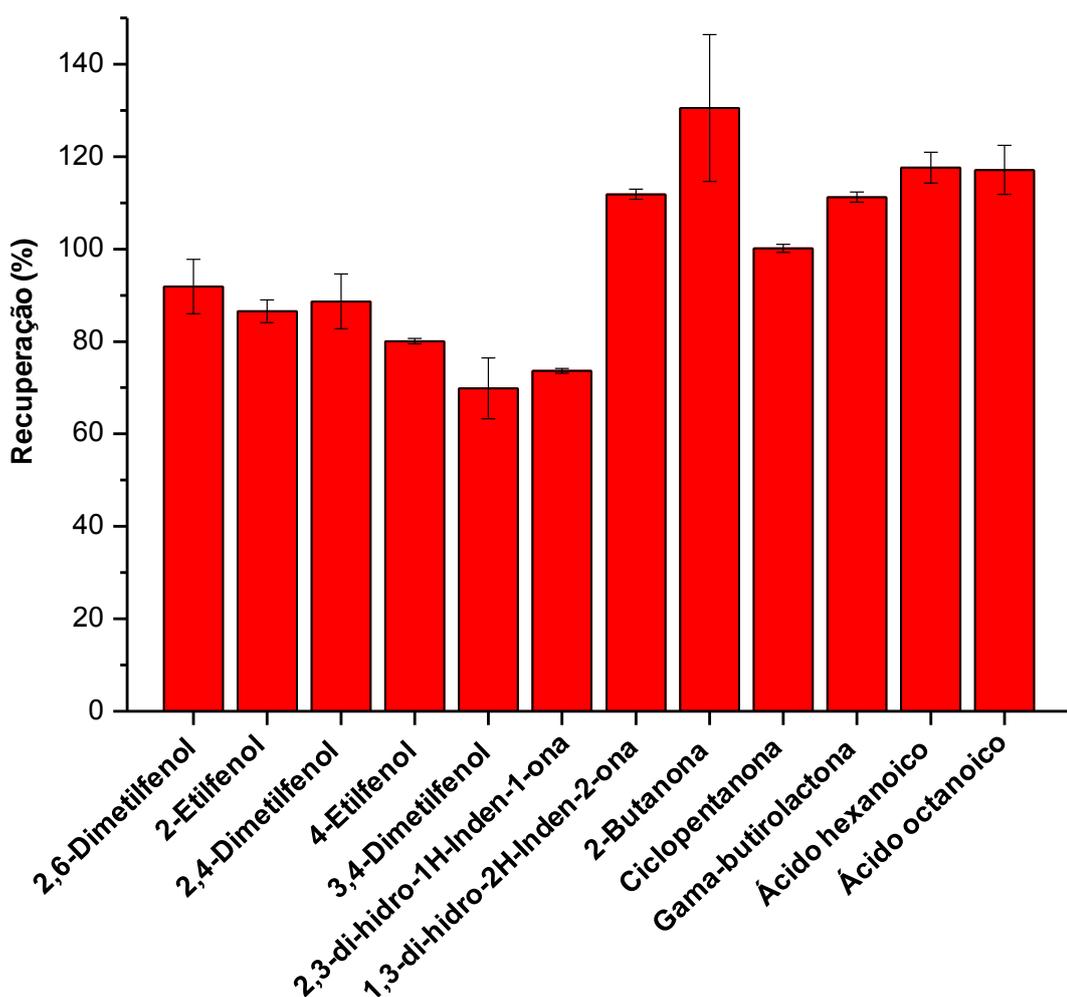


Figura 30. Gráfico com valores de recuperação (%) para a amostra #85 fortificada com padrões na concentração de $5 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ ($n=3$).

5.1.2.2.3 Avaliação qualitativa das amostras de bio-óleo

Os TIC por GC×GC-TOFMS para todas as amostras de bio-óleo obtidas a 550 °C (**Figura 31**) e 500 °C e 450 °C (**Figura 32**) foram comparados e os picos mais intensos identificados. Qualitativamente, as amostras obtidas com catalisador apresentam uma composição química mais complexa comparando com as amostras de pirólise convencional, indicando que a pirólise catalítica aumenta a decomposição da celulose, hemicelulose e lignina para produzir principalmente hidrocarbonetos aromáticos.

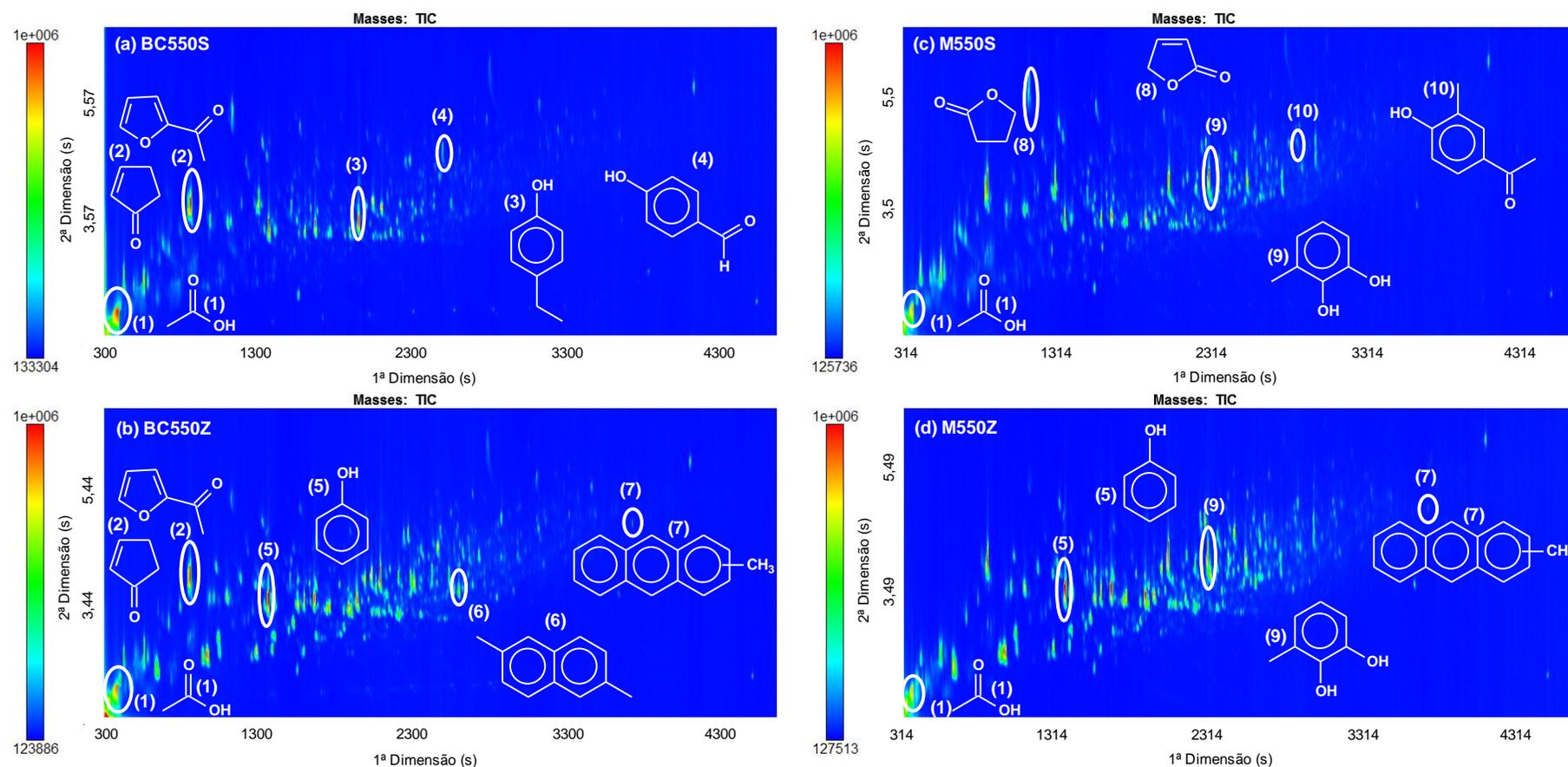


Figura 31. TIC das amostras de bio-óleo, obtidas com e sem catalisador, por GCxGC-TOFMS: **(a)** BC550S, **(b)** BC550Z, **(c)** M550S e **(d)** M550Z, onde se observa a presença de hidrocarbonetos aromáticos nos bio-óleos obtidos com catalisador, e a ausência destes nos bio-óleos sem catalisador.

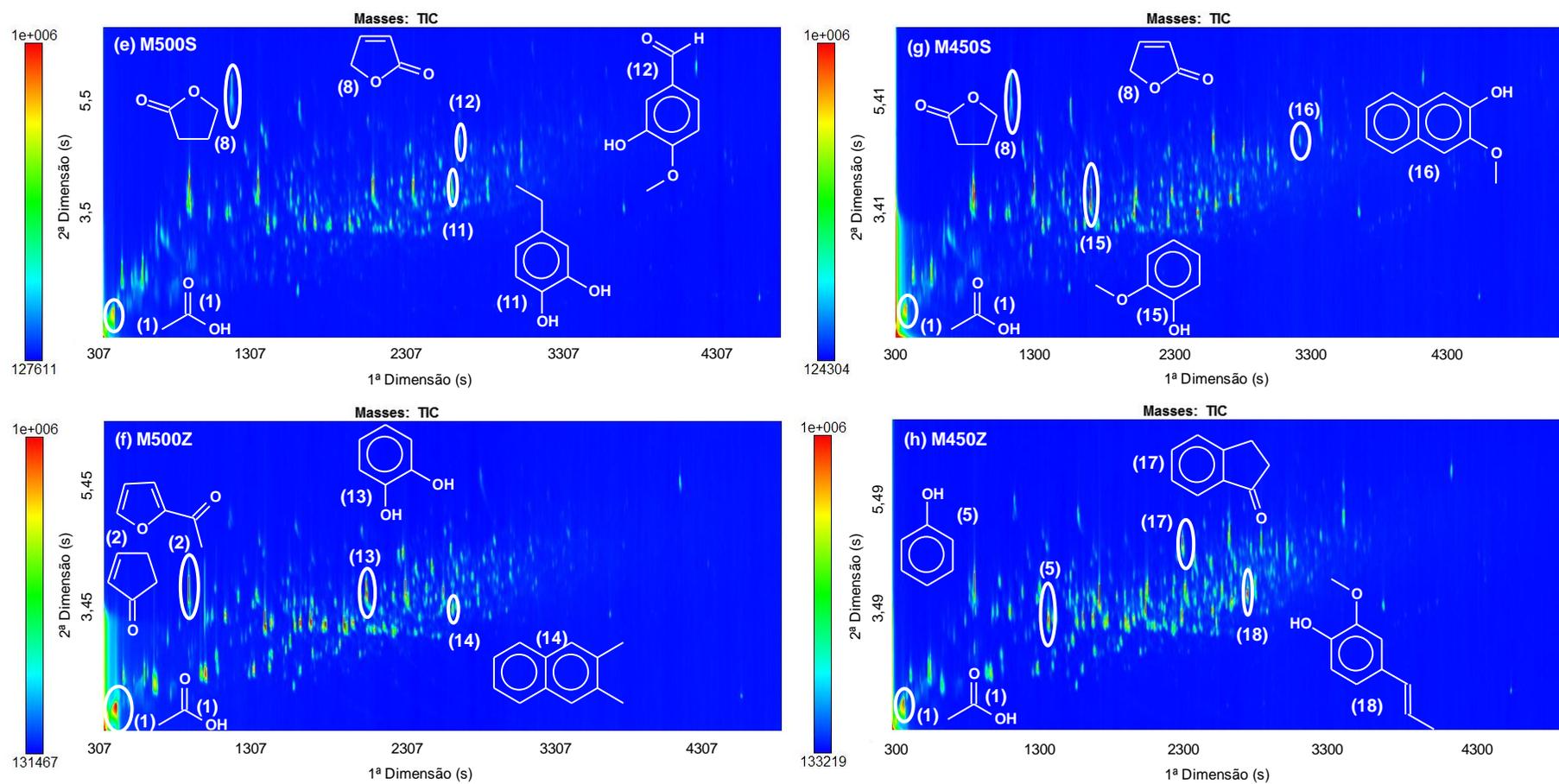


Figura 32. TIC das amostras de bio-óleo, obtidas com e sem catalisador, por GCxGC-TOFMS: **(e)** M500S, **(f)** M500Z, **(g)** M450S e **(h)** M450Z.

Fenóis e alquil-fenóis foram identificados em todas as amostras usando os íons m/z 94, 108, 122, 136 e 150 (**Figura 33**). Na **Figura 34**, a classe dos benzenodióis foi identificada nas amostras de bagaço de cana sem e com catalisador, BC550S (**a**) e BC550Z (**b**), a partir do EIC m/z 110 e 124. É possível observar que a eluição diferenciada na segunda dimensão para as substâncias das classes orto e para-benzenodiol está relacionada a interação intramolecular que ocorre para o orto-benzenodiol, o que diminui sua interação com a fase estacionária e leva a um menor tempo de retenção na segunda dimensão.

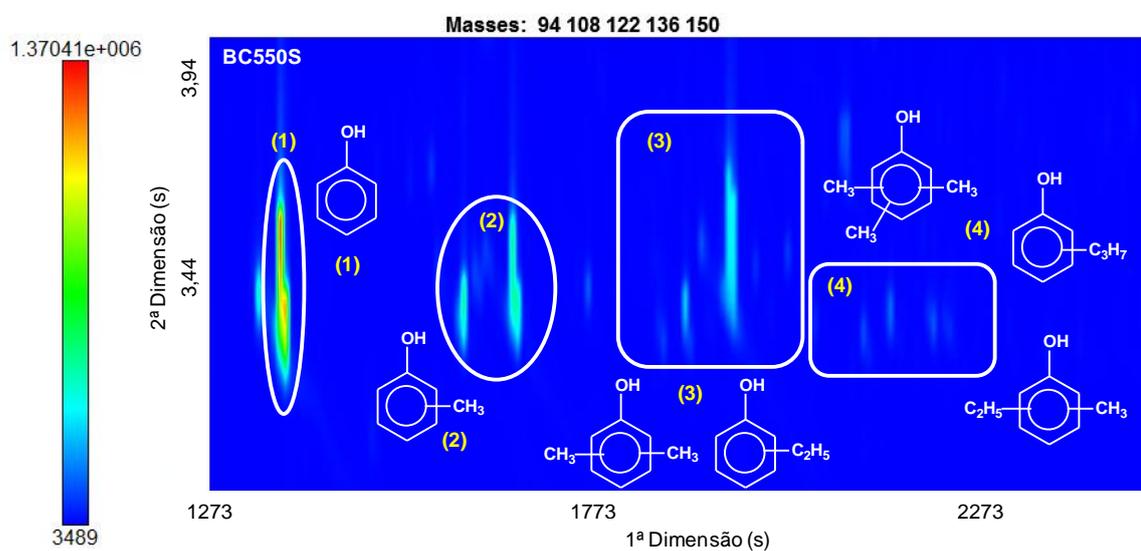


Figura 33. Fenóis identificados na amostra de bio-óleo BC550S a partir dos EIC m/z 94, 108, 122, 136 e 150.

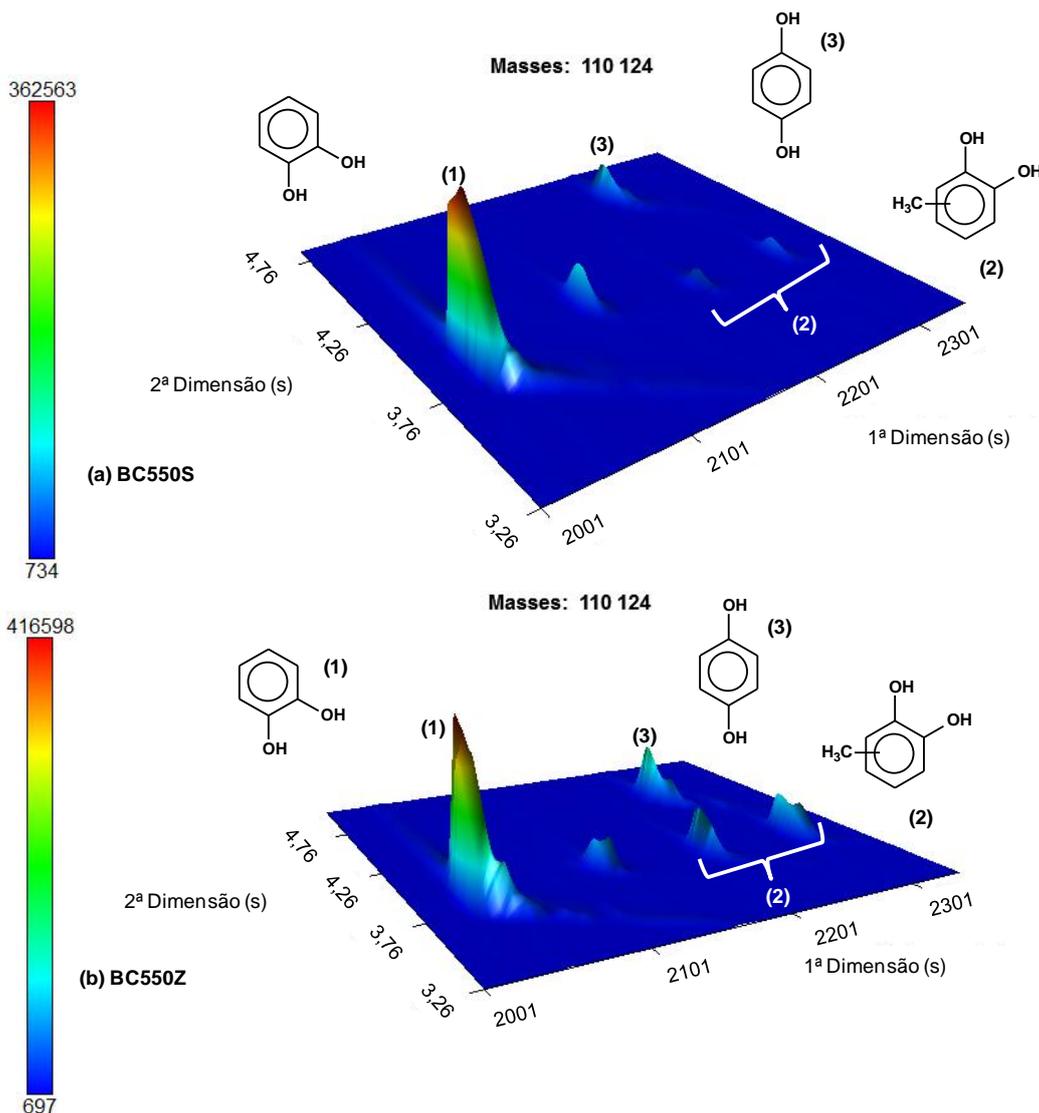


Figura 34. EIC m/z 110, 124 e 138 das amostras de bio-óleo (a) BC550S e (b) BC550Z, ilustrando a identificação benzenodióis.

A **Figura 35** apresenta os TIC para as amostras BC550Z (a) e BC550S (b), destacando a identificação de parte dos hidrocarbonetos aromáticos, que visualmente apresentam menor abundância na amostra BC550S que foi produzida sem o uso do catalisador. A expansão da região cromatográfica destacada na figura demonstra a série homóloga dos alquilbenzenos e as diferenças na eluição dos diferentes isômeros que ocorre pela variação da cadeia hidrocarbônica substituída no anel benzênico.

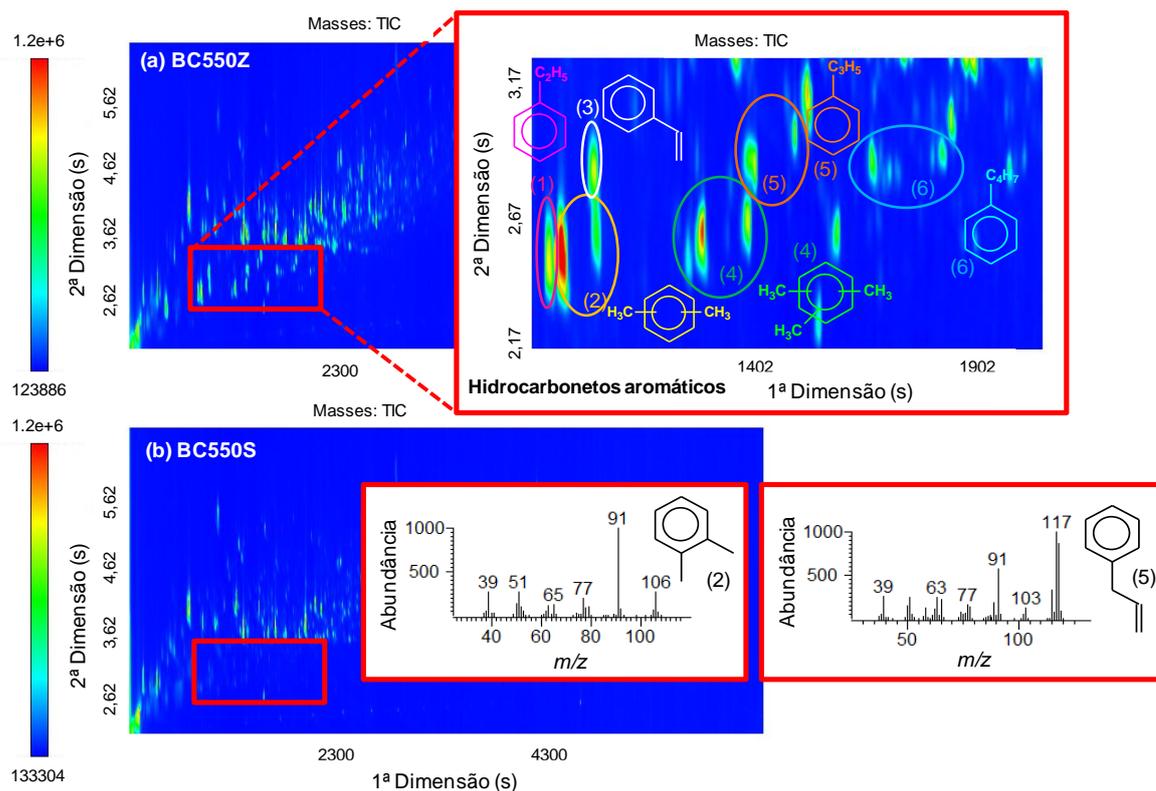


Figura 35. TIC para as amostras **(a)** BC550Z e **(b)** BC550S, ilustrando a identificação da classe dos hidrocarbonetos aromáticos.

5.1.2.2.4 Avaliação quantitativa

A **Tabela 15** apresenta as curvas analíticas das substâncias padrão utilizadas para a quantificação dos analitos selecionados nas amostras, juntamente com os íons diagnósticos usados para a aquisição das áreas. Os valores de R^2 foram maiores que 0,99 para a maioria das curvas analíticas. A concentração inicial da faixa de trabalho para cada substância padrão usada na curvas analítica foi determinada a partir dos valor de LQ, previamente calculado na **Tabela 12**. As concentrações em $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ e $\mu\text{g g}^{-1}$ dos analitos nas amostras foram obtidas usando as curvas analíticas e os valores estão descritos na **Tabela 16** (biomassa de bagaço de cana) e na **Tabela 17** (biomassa de madeira).

Tabela 15. Curvas analíticas das substâncias padrão para a quantificação dos analitos selecionados.

Substância padrão	Equação da curva	R ²	Faixa (ng µL ⁻¹)
2,6-Dimetilfenol	$y = 0,4820x + 0,1108$	0,9991	1,0-100,0
2-Etilfenol	$y = 0,4208x - 0,0932$	0,9969	1,0-100,0
2,4-Dimetilfenol	$y = 0,4542x + 0,1778$	0,9916	1,0-100,0
4-Etilfenol	$y = 0,4564x - 0,1950$	0,9981	1,0-100,0
3,4-Dimetilfenol	$y = 0,5153x - 0,1924$	0,9966	1,0-100,0
2,3-di-hidro-1H-Inden-1-ona	$y = 0,7186x - 1,0763$	0,9942	10,0-120,0
1,3-di-hidro-2H-Inden-2-ona	$y = 0,3428x - 0,0608$	0,9899	2,0-80,0
2-Butanona	$y = 0,4252x + 0,2797$	0,9993	5,0-100,0
Ciclopentanona	$y = 0,3404x + 0,1306$	0,9934	1,0-80,0
Gama-butirolactona	$y = 0,1422x - 0,0885$	0,9949	5,0-80,0
Ácido hexanoico	$y = 0,5124x - 1,5186$	0,9831	10,0-120,0
Ácido octanoico	$y = 0,3758x - 1,1801$	0,9796	10,0-120,0

Tabela 16. Concentração (ng µL⁻¹ e µg g⁻¹) dos analitos identificados nas amostras de bio-óleo obtidas a partir de bagaço de cana.

Analito	Concentração do analito			
	BC550S		BC550Z	
	ng µL ⁻¹	µg g ⁻¹	ng µL ⁻¹	µg g ⁻¹
2,6-Dimetilfenol	1,4	131,8	1,8	172,7
2-Etilfenol	3,3	305,1	7,4	697,9
2,4-Dimetilfenol	8,0	736,8	14,5	1366,2
4-Etilfenol	48,4	4485,7	44,6	4207,6
3,4-Dimetilfenol	3,4	315,9	5,2	487,1
2,3-di-hidro-1H-Inden-1-ona	11,8	1092,2	20,5	1938,2
1,3-di-hidro-2H-Inden-2-ona	nd	nd	nd	nd
2-Butanona	14,6	1350,2	27,2	2569,6
Ciclopentanona	5,1	474,5	10,1	956,4
Gama-butirolactona	39,2	3626,8	16,3	1540,6
Ácido hexanoico	16,8	1556,2	15,7	1477,6
Ácido octanoico	17,4	1611,8	16,7	1576,5

nd - não detectado

Tabela 17. Concentração ($\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ e $\mu\text{g g}^{-1}$) dos analitos selecionados e identificados nas amostras de bio-óleo obtidas a partir de madeira.

Analito	Concentração do analito											
	M550S		M550Z		M500S		M500Z		M450S		M450Z	
	$\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$										
2,6-Dimetilfenol	1,8	174,8	2,9	274,1	1,1	105,4	2,2	211,0	0,5	44,5	1,0	95,5
2-Etilfenol	3,7	349,5	8,8	823,2	3,5	337,2	10,3	969,9	2,6	249,5	7,1	658,2
2,4-Dimetilfenol	26,1	2486,5	36,7	3428,5	18,5	1795,9	1,4	133,6	10,8	1014,6	19,7	1824,7
4-Etilfenol	16,1	1534,3	26,3	2460,4	9,8	954,0	29,3	2765,7	7,7	730,2	18,6	1717,9
3,4-Dimetilfenol	5,6	536,9	7,2	677,3	3,5	343,4	6,7	636,4	2,8	260,3	3,7	344,6
2,3-di-hidro-1H-Inden-1-ona	11,8	1120,9	26,1	2436,3	11,8	1148,4	23,9	2255,7	12,1	1139,3	33,4	3089,3
1,3-di-hidro-2H-Inden-2-ona	nd	nd	1,3	119,0	1,0	94,4	nd	nd	nd	nd	1,1	101,4
2-Butanona	4,9	468,7	29,4	2749,5	10,3	996,4	29,8	2809,0	2,2	204,7	7,8	725,4
Ciclopentanona	8,3	787,4	12,8	1200,2	6,4	625,4	10,7	1007,3	7,0	661,3	3,1	290,8
Gama-butirolactona	23,5	2239,0	8,1	760,9	21,2	2061,6	13,7	1292,0	15,4	1453,9	7,5	690,1
Ácido hexanoico	19,2	1830,8	15,6	1462,5	20,1	1954,3	16,0	1507,3	21,2	2001,2	19,0	1760,7
Ácido octanoico	17,5	1663,9	16,5	1546,6	17,7	1720,8	16,7	1573,6	18,0	1702,1	16,9	1569,4

nd - não detectado

Na classe dos alquil-fenóis, os analitos foram detectados em uma faixa ampla de concentração ($9,9 \mu\text{g g}^{-1}$ – $4485,7 \mu\text{g g}^{-1}$). Para esta classe, foi observado um aumento na concentração de alquil-fenóis quando as amostras foram obtidas na pirólise catalítica. Com relação as substâncias da classe das cetonas (2-butanona e ciclopentanona), também foi observado um aumento na concentração das mesmas para a maioria das amostras que utilizaram o catalisador ZSM-5, exceto no caso da amostra de madeira na temperatura de $450 \text{ }^\circ\text{C}$. A gama-butirolactona apresentou uma menor concentração nas amostras obtidas na pirólise catalítica. 2,3-di-hidro-1H-Inden-1-ona e 1,3-di-hidro-2H-Inden-2-ona foram detectadas apenas nas amostras M550Z, M500S e M450Z. Os ácidos hexanoico e octanoico mostraram um comportamento inverso nos valores de concentração quando comparados a classe dos alquil-fenóis e cetonas, com uso do catalisador.

A análise quantitativa dos analitos selecionados nas amostras foi realizada com o uso de substâncias padrão para a construção das curvas analíticas, restringindo a obtenção da concentração apenas para os analitos que estão relacionados à substância padrão. Dessa forma, no intuito de se verificar o efeito do catalisador e da temperatura no processo de pirólise, uma análise semi-quantitativa foi realizada para uma avaliação da composição das amostras como um todo com relação as substâncias detectadas por GCxGC-TOFMS.

5.1.2.2.5 Avaliação semi-quantitativa

A análise semi-quantitativa das amostras foi realizada utilizando a área relativa de todos os analitos detectados com relação sinal/ruído (S/R) maior que 1000. Essa abordagem tem sido aplicada em trabalhos recentes por SILVA *et al.* (2014b) e TESSAROLO *et al.* (2013) para avaliar a composição de bio-óleos. Entre as substâncias detectadas, uma identificação por comparação dos espectros de massas com os da biblioteca apresentando similaridade com a biblioteca maior que 800 foi realizada, e as áreas relativas destas substâncias identificadas foram avaliadas.

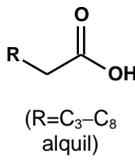
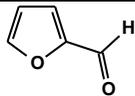
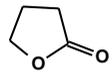
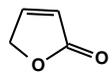
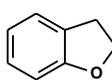
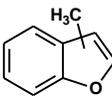
Na **Tabela 18** mostra-se o percentual das classes obtidas com áreas maiores que 1%. É possível observar que, para a maioria das amostras, mais de 80 % do

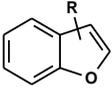
total de picos detectados por GC×GC-TOFMS foram identificados. Em todas elas fica claro a visualização do decréscimo da área relativa das substâncias O-heterocíclicas e dos ácidos carboxílicos, ao se fazer uso do catalisador no processo de geração do bio-óleo. Ao mesmo tempo, observa-se um aumento considerável (~7,5 vezes) dos hidrocarbonetos aromáticos nas amostras que sofreram catálise. Na **Tabela 19** foram exemplificadas as substâncias mais abundantes das classes dos ácidos, O-heterocíclicos, hidrocarbonetos aromáticos, fenóis e cetonas cíclicas.

Tabela 18. Área percentual (%) das classes de substâncias identificadas.

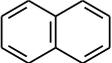
Classes	BC550S	BC550Z	M550S	M550Z	M500S	M500Z	M450S	M450Z
O-heterocíclicos	14,78	10,67	17,95	9,83	18,03	9,56	23,48	12,89
HC aromáticos	2,93	21,86	2,92	23,35	3,27	24,84	1,98	15,47
Ácidos	20,70	8,68	13,80	6,03	12,86	8,25	11,96	8,90
Benzenodióis	3,21	7,44	10,74	7,67	9,98	7,24	6,23	5,49
Fenóis	12,78	14,29	13,07	14,25	10,41	14,07	7,17	10,91
Metóxifenóis	0,03	0,29	0,32	0,33	0,95	1,17	9,20	9,38
Cetonas	22,52	10,55	9,11	16,18	9,72	8,24	7,95	7,37
Cetonas cíclicas	7,17	8,21	7,00	5,83	6,71	7,21	6,05	7,39
Ésteres	1,91	2,06	3,19	1,46	6,63	1,62	3,73	2,29
Aldeídos	2,50	2,69	2,70	2,80	2,45	2,09	1,21	2,56
Anidridos	0,22	1,01	0,29	0,09	0,22	0,42	0,31	0,46
TOTAL	88,74	87,76	81,11	87,82	81,21	84,72	79,24	83,11

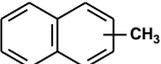
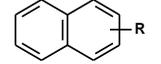
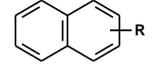
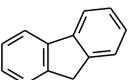
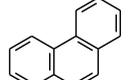
Tabela 19. Lista das substâncias mais abundantes identificadas nas classes dos ácidos, O-heterocíclicos, hidrocarbonetos aromáticos, fenóis e cetonas cíclicas.

Ácidos										
Nome	Fórmula molecular	Estrutura	Área relativa (%)							
			BC550S	BC550Z	M550S	M550Z	M500S	M500Z	M450S	M450Z
Ácido acético	C ₂ H ₄ O ₂		15,68	8,56	8,40	5,14	7,76	7,41	7,16	7,75
C ₃ -C ₈ alquil-ácidos	C ₃ H ₆ O ₂ - C ₈ H ₁₆ O ₂	 (R=C ₃ -C ₈ alquil)	3,56	nd	1,27	nd	1,36	0,05	1,64	1,00
O-heterocíclicos										
Nome	Fórmula molecular	Estrutura	Área relativa (%)							
			BC550S	BC550Z	M550S	M550Z	M500S	M500Z	M450Z	M450S
Furfural	C ₅ H ₄ O ₂		3,78	1,98	4,34	0,88	6,05	0,82	5,49	1,80
Butirolactona	C ₄ H ₆ O ₂		1,38	0,36	0,77	0,15	0,66	0,19	0,47	0,13
2(5H)-Furanona	C ₄ H ₄ O ₂		0,99	0,20	1,86	nd	2,11	0,33	3,87	0,77
Benzofurano, 2,3-dihidro-	C ₈ H ₈ O		1,20	1,33	nd	0,77	0,17	0,68	nd	0,42
C ₁ alquil-benzofuranos	C ₉ H ₈ O		0,26	1,20	0,37	1,10	0,46	0,95	0,44	0,51

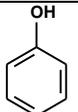
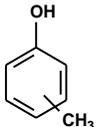
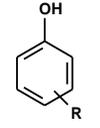
C ₂ alquil-benzofuranos	C ₁₀ H ₁₀ O		0,14	1,06	0,72	1,31	0,68	1,33	0,50	1,28
------------------------------------	-----------------------------------	---	------	------	------	------	------	------	------	------

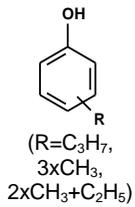
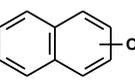
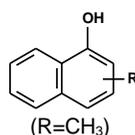
HC aromáticos

Nome	Fórmula molecular	Estrutura	Área relativa (%)							
			BC550S	BC550Z	M550S	M550Z	M500S	M500Z	M450S	M450Z
Benzeno	C ₆ H ₆		nd	0,60	nd	1,76	nd	0,67	nd	0,18
C ₁ alquil-benzenos	C ₇ H ₈		nd	3,74	nd	0,72	nd	4,67	nd	1,09
C ₂ alquil-benzenos	C ₈ H ₁₀	 (R=C ₂ H ₅ , 2xCH ₃)	0,72	3,40	0,53	7,66	0,57	7,25	0,19	3,86
C ₃ alquil-benzenos	C ₉ H ₁₂	 (R=C ₃ H ₇ , 3xCH ₃ , 2xCH ₃ +C ₂ H ₅)	0,43	1,86	0,43	3,19	0,41	2,89	0,23	2,11
C ₄ alquil-benzenos	C ₁₀ H ₁₄	 (R=C ₄ H ₉ , 4xCH ₃ , 2xC ₂ H ₅ , C ₂ H ₅ +2xCH ₃ , C ₃ H ₇ +CH ₃)	nd	0,36	nd	0,86	0,18	0,76	0,18	0,84
Naftaleno	C ₁₀ H ₈		nd	1,81	nd	0,03	nd	1,16	nd	nd

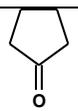
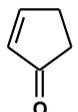
C ₁ alquil-naftalenos	C ₁₁ H ₁₀		nd	0,99	nd	nd	nd	0,05	0,12	0,05
C ₂ alquil-naftalenos	C ₁₂ H ₁₂	 (R=C ₂ H ₅ , 2xCH ₃)	0,15	1,10	0,13	1,09	0,15	0,76	0,12	0,60
C ₃ alquil-naftalenos	C ₁₃ H ₁₄	 (R=C ₃ H ₇ , 3xCH ₃ , 2xCH ₃ +C ₂ H ₅)	nd	0,33	nd	0,26	nd	0,38	0,02	0,27
Fluoreno	C ₁₃ H ₁₀		0,04	0,10	nd	0,13	nd	0,08	nd	0,04
Fenantreno	C ₁₄ H ₁₀		nd	0,09	nd	0,08	nd	0,04	nd	nd

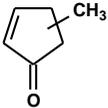
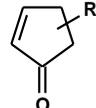
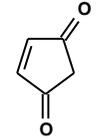
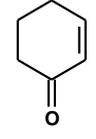
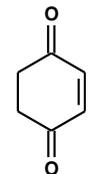
Fenóis

Nome	Fórmula molecular	Estrutura	Área relativa (%)							
			BC550S	BC550Z	M550S	M550Z	M500S	M500Z	M450S	M450Z
Fenol	C ₆ H ₆ O		4,62	4,19	2,59	2,63	1,97	2,99	1,40	1,50
C ₁ alquil-fenóis	C ₇ H ₈ O		1,59	1,33	1,44	1,95	1,11	1,52	0,55	1,18
C ₂ alquil-fenóis	C ₈ H ₁₀ O	 (R=C ₂ H ₅ , 2xCH ₃)	2,24	3,47	3,23	2,87	2,49	3,27	1,64	2,52

C ₃ alquil-fenóis	C ₉ H ₁₂ O		1,93	1,50	1,68	2,29	1,16	1,72	1,21	1,47
C ₄ alquil-fenóis	C ₁₀ H ₁₄ O		0,34	0,42	0,75	0,77	0,73	0,60	0,48	0,63
Naftalenol	C ₁₀ H ₈ O		0,10	0,74	0,21	0,49	0,09	0,37	0,02	0,25
C ₁ alquil-1-naftalenóis	C ₁₁ H ₁₀ O		0,08	0,38	0,24	0,46	0,14	0,28	nd	0,18

Cetonas cíclicas

Nome	Fórmula molecular	Estrutura	Área relativa (%)							
			BC550S	BC550Z	M550S	M550Z	M500S	M500Z	M450S	M450Z
Ciclopentanona	C ₅ H ₈ O		0,74	0,71	0,80	0,79	0,73	0,53	0,50	0,37
2-Ciclopenten-1-ona	C ₅ H ₆ O		1,91	1,60	2,18	0,62	1,31	0,83	0,95	1,16

C ₁ alquil-2-ciclopenten-1-onas	C ₆ H ₈ O		1,20	1,09	1,20	0,82	1,11	1,78	1,27	1,52
C ₂ alquil-2-ciclopenten-1-onas	C ₇ H ₁₀ O	 (R=C ₂ H ₅ , 2xCH ₃)	0,86	0,68	0,72	0,67	1,02	0,72	0,76	1,09
2-Ciclopenten-1,4-diona	C ₅ H ₄ O ₂		0,09	0,45	0,20	0,33	nd	0,14	0,13	0,36
2-Ciclohexen-1-ona	C ₆ H ₈ O		0,43	0,90	0,32	nd	0,40	0,94	0,29	0,93
2-Ciclohexen-1,4-diona	C ₆ H ₆ O ₂		0,19	0,18	0,29	0,07	0,35	0,19	0,45	0,31

A **Figura 36** apresenta a distribuição das classes de substâncias. A fim de facilitar a visualização da variação causada na composição em função do uso do catalisador ZSM-5, as distribuições para as amostras de mesma biomassa em uma determinada temperatura foram obtidas nas **Figura 37** a **Figura 40**. Além disso, as amostras obtidas com (**Figura 41**) e sem (**Figura 42**) o uso do catalisador ZSM-5 foram comparadas.

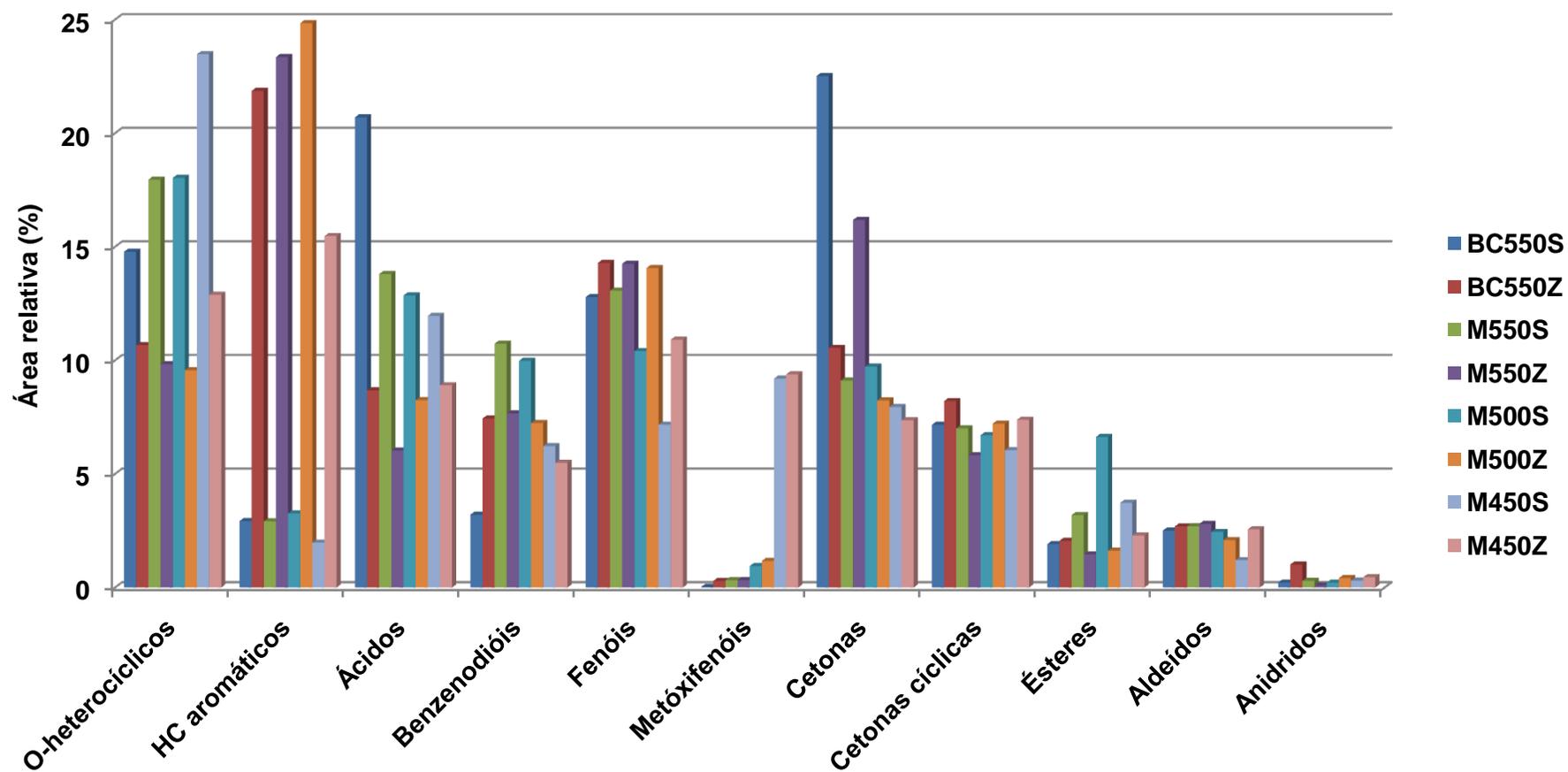


Figura 36. Distribuição das classes de substâncias nos bio-óleos.

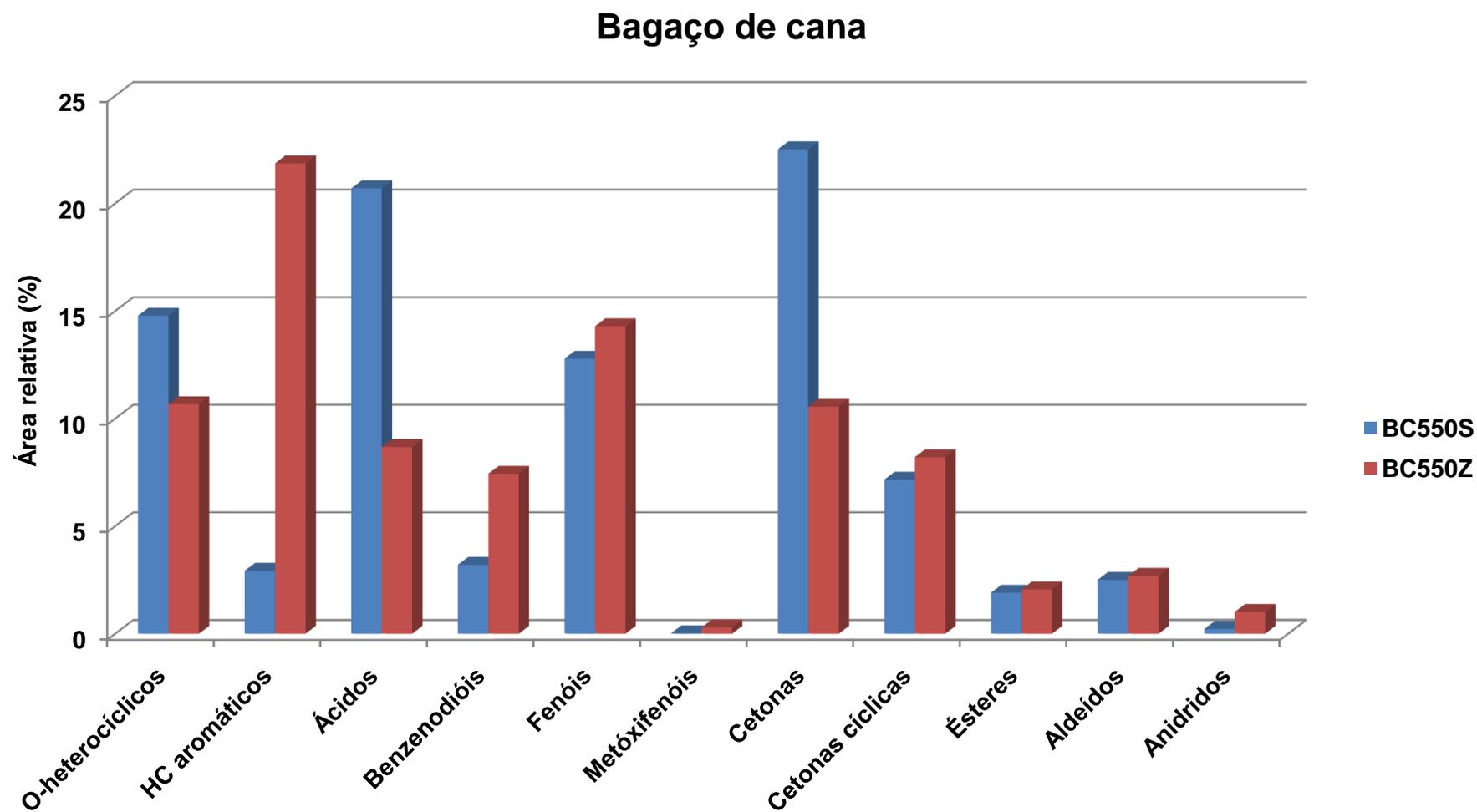


Figura 37. Distribuição das classes de substâncias para as amostras de bagaço de cana na temperatura de 550 °C: BC550S e BC550Z.

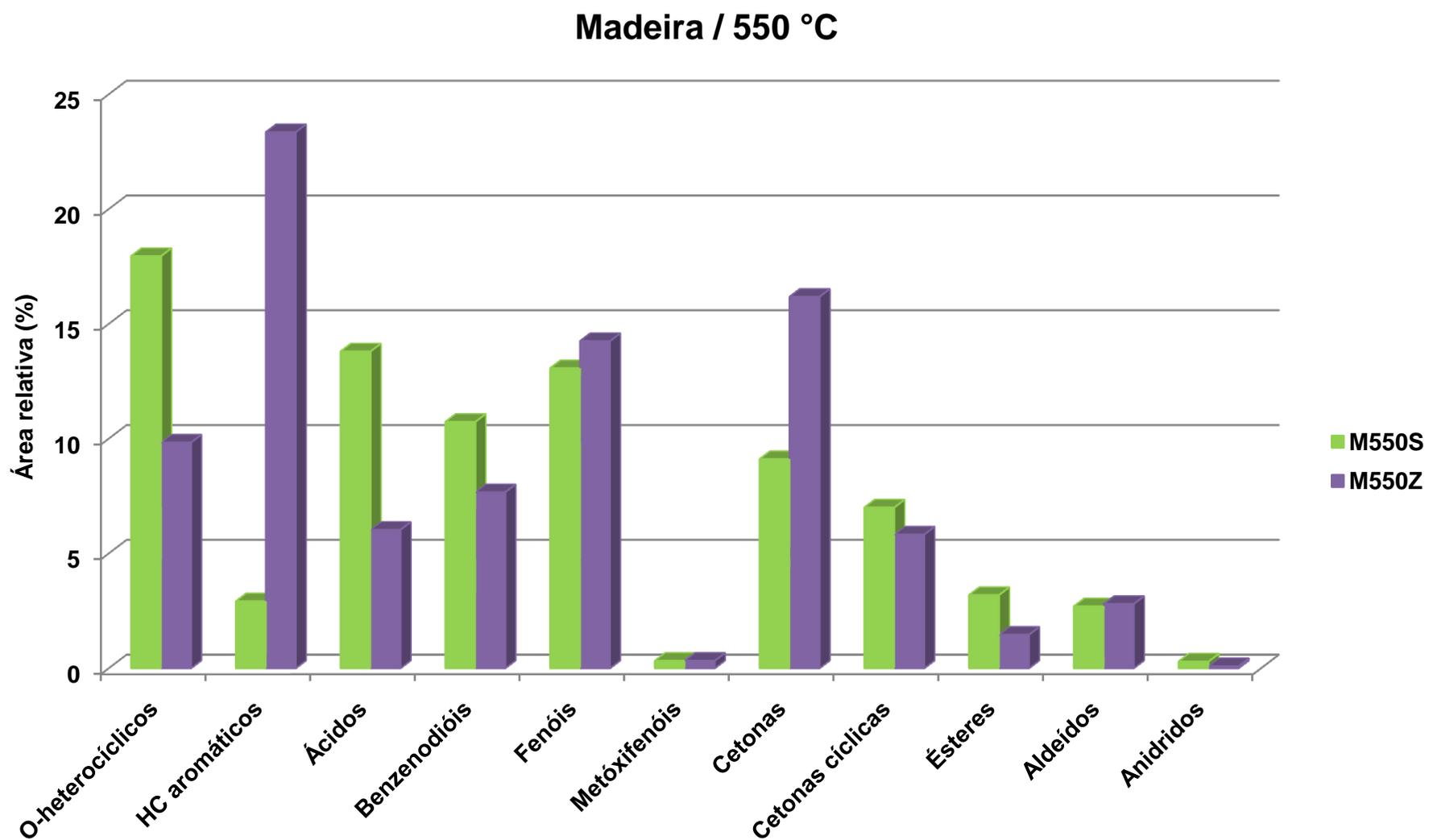


Figura 38. Distribuição das classes de substâncias para as amostras de madeira na temperatura de 550 °C: M550S e M550Z.

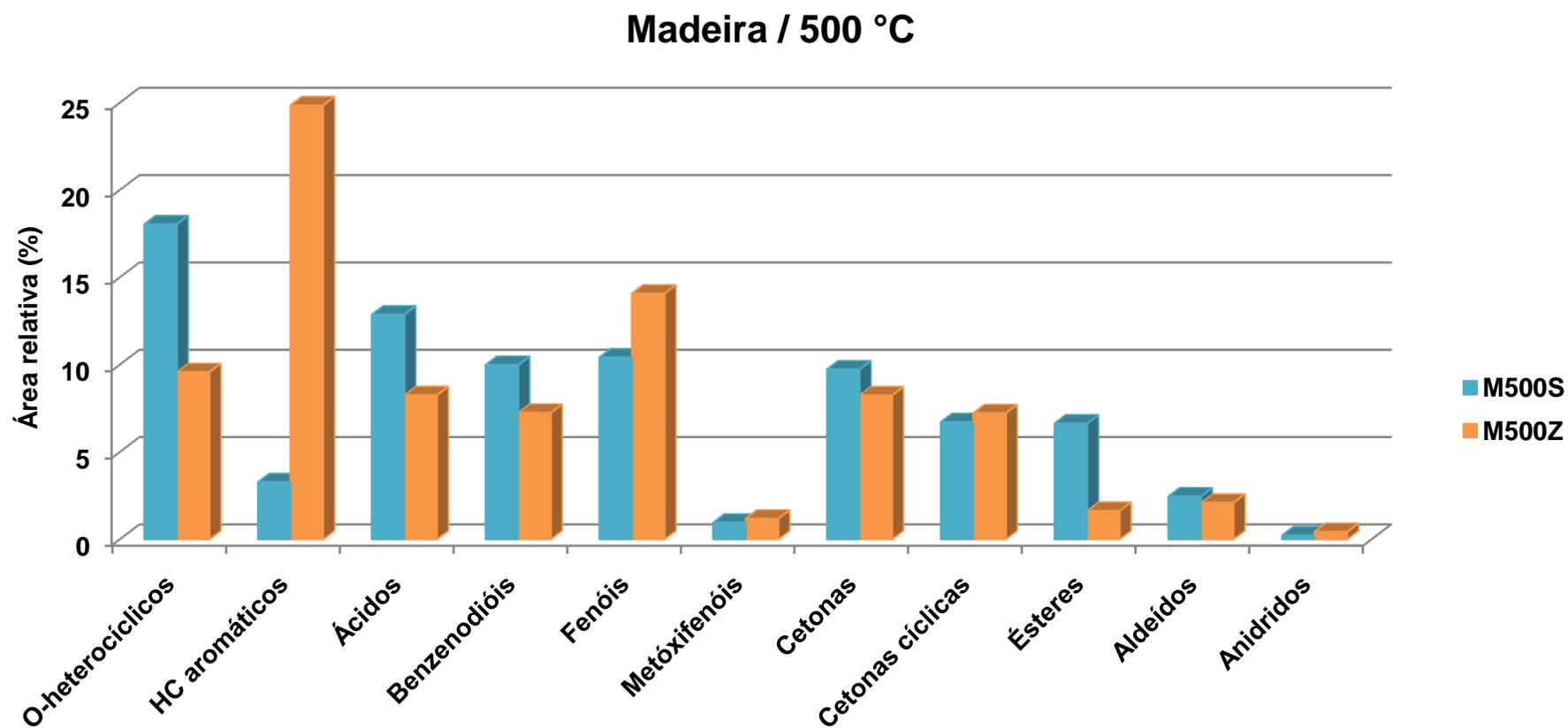


Figura 39. Distribuição das classes de substâncias para as amostras de madeira na temperatura de 500 °C: M500S e M500Z.

Madeira / 450 °C

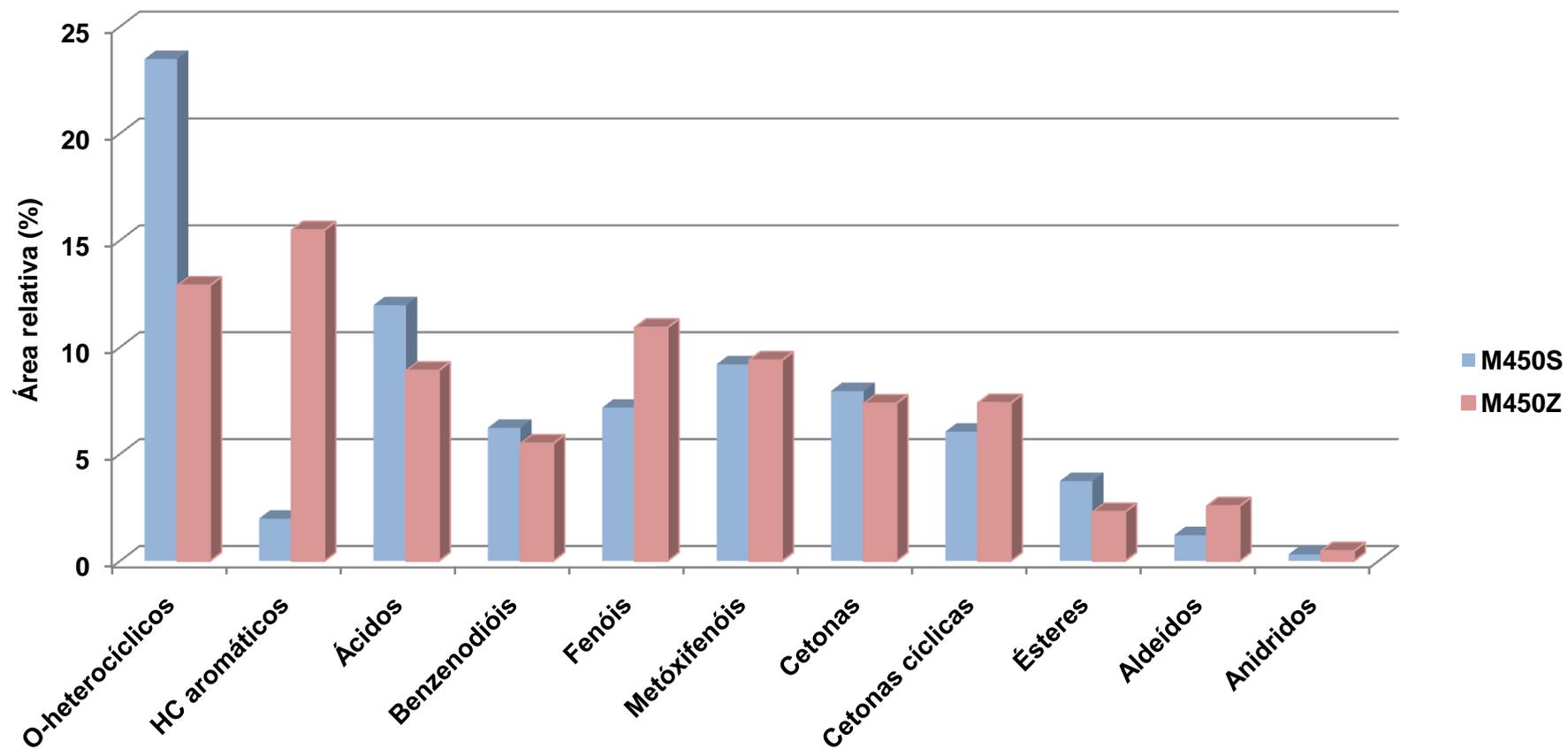


Figura 40. Distribuição das classes de substâncias para as amostras de madeira na temperatura de 450 °C: M450S e M450Z.

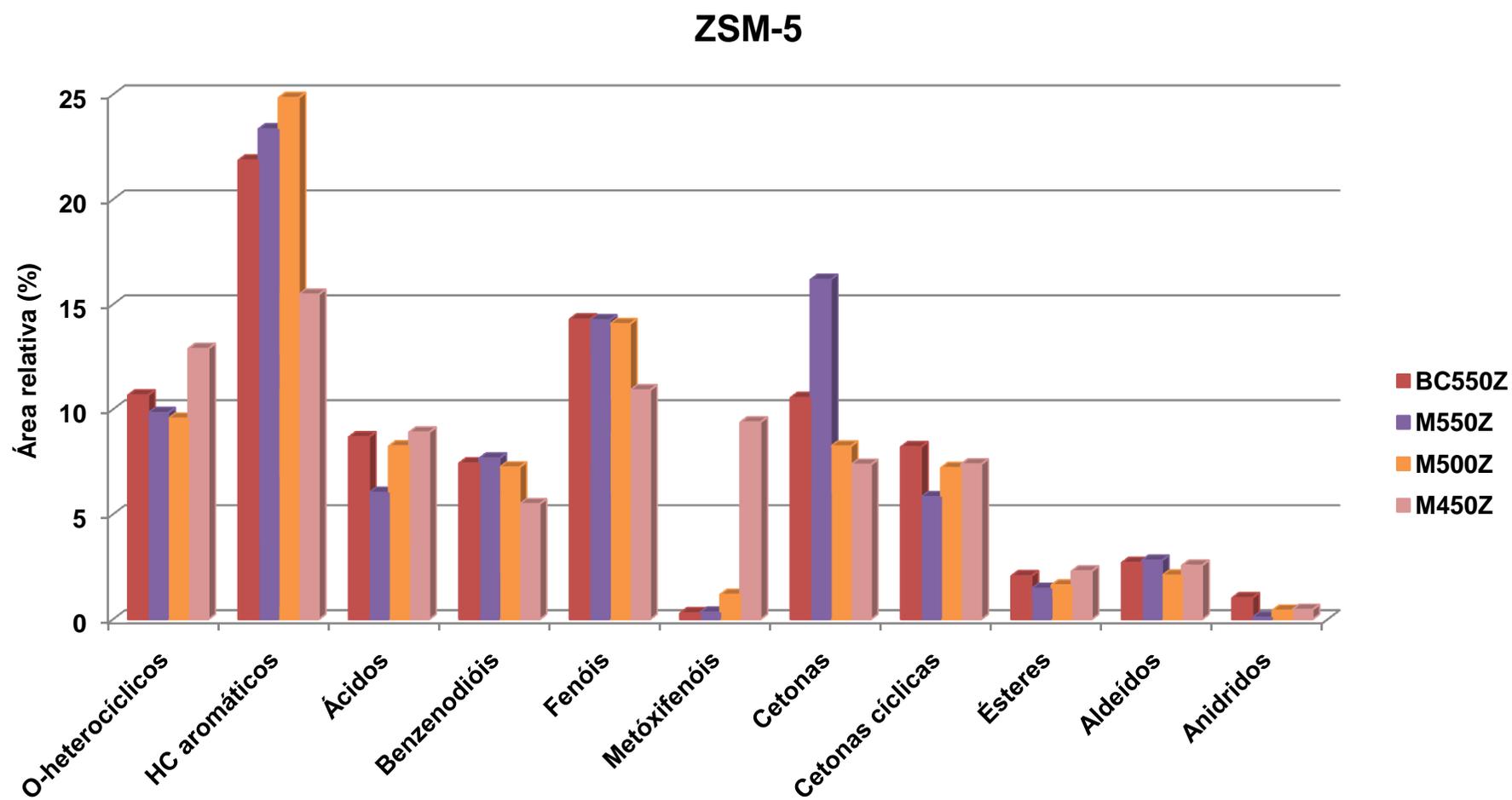


Figura 41. Distribuição das classes de substâncias para as amostras com o catalisador ZSM-5: BC550Z, M550Z, M500Z e M450Z.

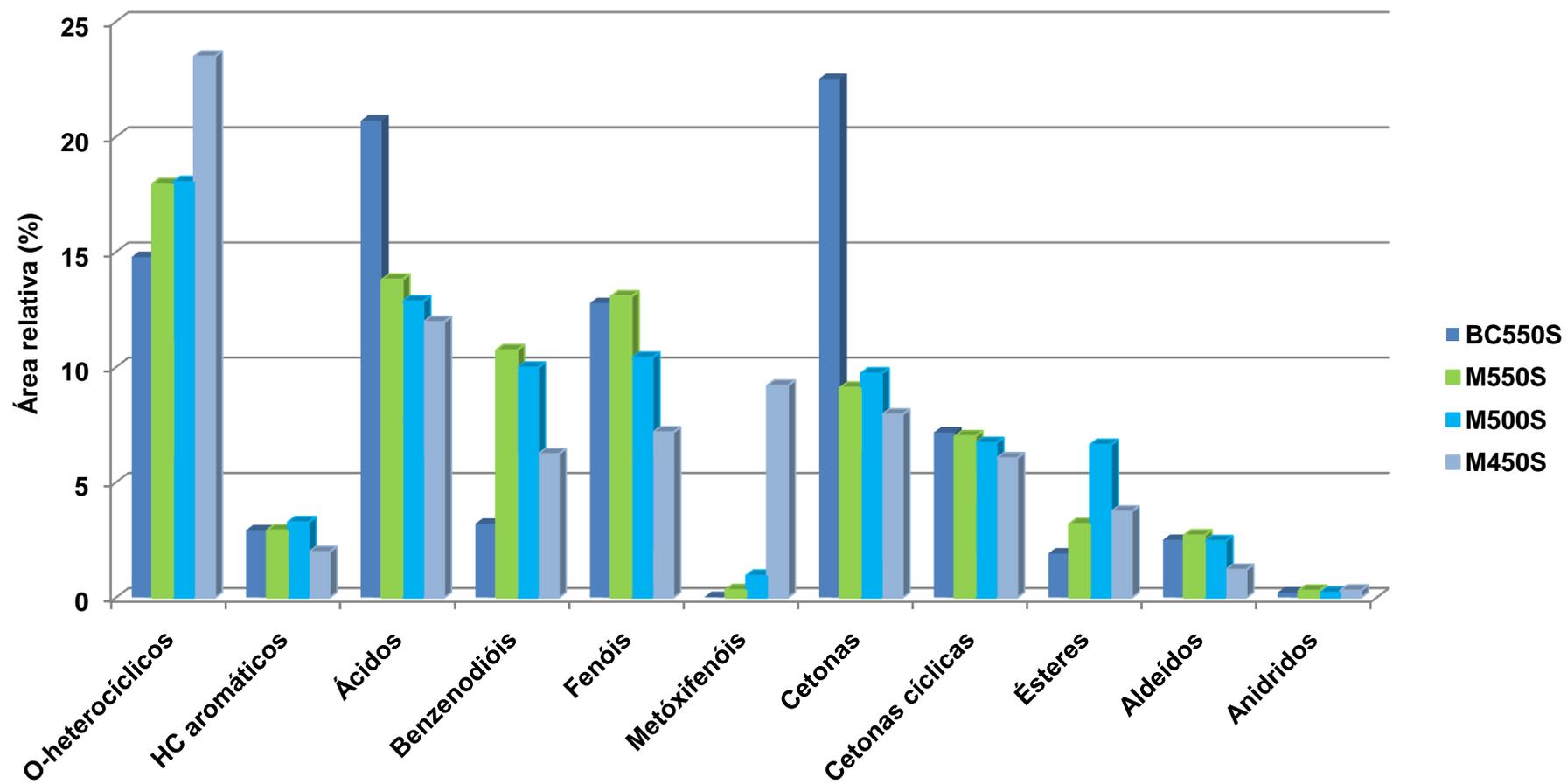


Figura 42. Distribuição das classes de substâncias para as amostras obtidas sem o catalisador: BC550S, M550S, M500S e M450S.

Algumas observações devem ser destacadas pela análise dos dados nas tabelas e figuras:

- ✓ As classes principais detectadas e identificadas nas amostras são os ácidos, cetonas, cetonas cíclicas, fenóis, O-heterocíclicos e hidrocarbonetos aromáticos;
- ✓ A classe dos ácidos apresentou uma redução na área relativa com o uso do catalisador ZSM-5. No caso específico da amostra BC550S, a área relativa para esta classe foi superior quando comparada às outras amostras (21 %). O ácido carboxílico majoritário em todas as amostras é o ácido acético. A redução da área relativa do ácido acético com o uso do catalisador foi mais pronunciada a 550 °C do que a 500 °C e 450 °C;
- ✓ A classe dos O-heterocíclicos apresenta uma maior área relativa nas amostras que foram obtidas sem o catalisador quando comparadas aquelas obtidas com o catalisador. A abundância desta classe também parece estar relacionada com a temperatura. O aumento da temperatura da pirólise influencia na redução da área relativa da classe dos O-heterocíclicos;
- ✓ A classe dos fenóis foi detectada com maior área relativa quando o catalisador ZSM-5 foi utilizado. O fenol e os C₂ alquil-fenóis são as substâncias majoritárias desta classe, em todas as amostras;
- ✓ Na classe dos hidrocarbonetos aromáticos, as amostras obtidas no processo de pirólise catalítica mostraram um aumento considerável da área relativa para as substâncias desta classe. As substâncias majoritárias para esta classe são C₁, C₂ e C₃ alquil-benzenos.

Os resultados obtidos estão de acordo com o trabalho de PATTIYA *et al.* (2008), que utilizaram a zeólita ZSM-5 no processo de pirólise catalítica da raiz de mandioca e observaram a produção de hidrocarbonetos aromáticos e redução das substâncias oxigenadas derivadas de lignina.

5.1.2.3 ESI(-)-FT-ICR MS

As análises por ESI(-)-FT-ICR MS foram realizadas para se obter mais dados sobre as amostras, em particular quanto as substâncias mais polares e funcionalizadas, assim como de maior massa molecular, de forma complementar à GCxGC-TOFMS como observado para as amostras do conjunto I. Dentre estas, destacam-se principalmente aquelas oxigenadas derivadas da lignina, da celulose e da hemicelulose, que não puderam ser analisadas por GC (TESSAROLO *et al.*, 2014; BI *et al.*, 2014). Para uma comparação dos resultados obtidos para cada amostra, a concentração e os parâmetros instrumentais foram mantidos constantes.

A **Figura 43** e a **Figura 44** ilustram os espectros de massas por ESI(-)-FT-ICR MS para as amostras de bio-óleo obtidas a partir de bagaço de cana e madeira, respectivamente. Os valores das massas são mostrados na região de m/z 160-700, onde as espécies mais abundantes correspondem às classes O_x . De maneira geral, os espectros apresentam uma distribuição média de massa molecular semelhantes (~255 Da). Na **Figura 43**, os sinais 1 e 6 detectados na amostra BC550 **(a)** tiveram suas intensidades absolutas reduzidas na amostra BC550Z **(b)**. Uma expansão foi realizada na m/z 255, mostrando uma diminuição na intensidade absoluta do íon $[C_{12}H_{16}O_6-H]^-$ e um aumento dos íons $[C_{15}H_{12}O_4-H]^-$ e $[C_{16}H_{16}O_3-H]^-$ quando o catalisador foi utilizado **(b)**. A partir destes resultados observou-se que o uso do catalisador no processo de pirólise fornece uma decomposição seletiva das substâncias derivadas da lignina no produtos da pirólise. O oxigênio foi removido como água, CO e CO₂ por meio de reações de desidratação, descarbonilação e descarboxilação, respectivamente (PATTIYA *et al.*, 2008). Em relação à temperatura de pirólise (**Figura 44**), analisando a expansão realizada em m/z 255, uma redução significativa na intensidade absoluta dos íons foi observada para a amostra M550Z **(f)** quando comparada com as outras. Estes resultados indicam uma diminuição na degradação dos constituintes da biomassa na temperatura mais baixa (450 °C).

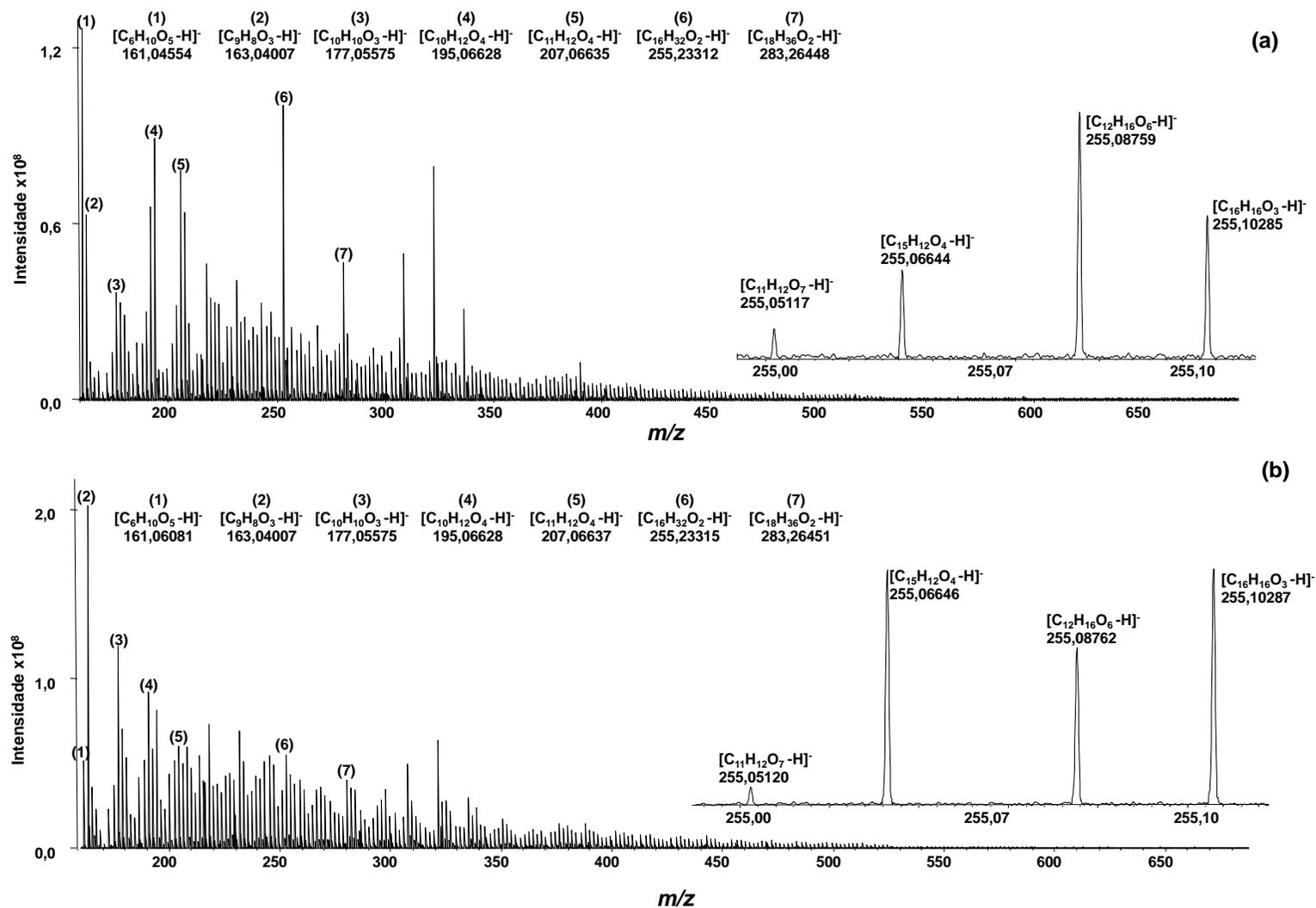


Figura 43. Espectros de massas por ESI(-)-FT-ICR MS para as amostras BC50Z e BC50S. As fórmulas moleculares de algumas espécies são atribuídas.

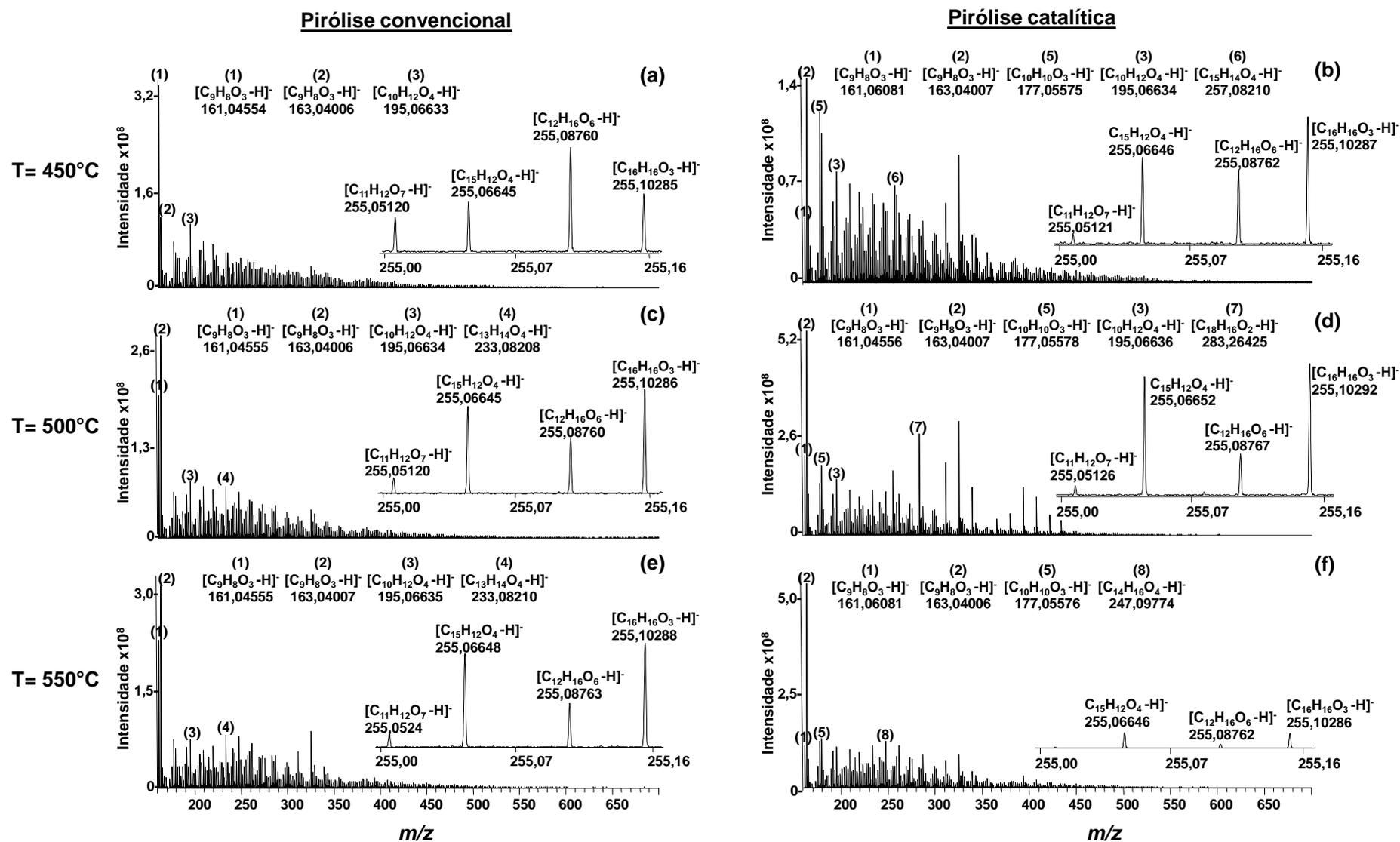


Figura 44. Espectros de massas por ESI(-)-FT-ICR MS para as amostras a partir de madeira. As fórmulas moleculares de algumas espécies são atribuídas.

Uma recalibração interna foi realizada com as séries homólogas das substâncias pertencentes às classes de substâncias oxigenadas O₂, O₄, O₆, O₇ e O₉. Após a recalibração, a porcentagem de picos assinalados foi maior que 85%, exceto para as amostras BC550S e M450Z, que foram menores que 50%. A média dos erros para as atribuições das fórmulas moleculares e o desvio padrão foram menores que 1 ppm, exceto para as amostras BC550S e M450Z. Neste último caso, as séries utilizadas na recalibração destas amostras não foram suficientes para a atribuição das fórmulas moleculares da maior parte dos picos.

A distribuição das classes de heteroátomos foi apresentada apenas para as classes com abundância maior que 0,1% (**Figura 45**). No total, 11 diferentes classes foram identificadas de O₂–O₁₂ (O₁₂ foi observada apenas para M450S). A classe O₄ foi a mais abundante em todas as amostras, apresentando em média 22–33% de intensidade relativa. Esta classe consiste principalmente de substâncias fenólicas. A distribuição das substâncias oxigenadas em bio-óleos apresentou variação em função da composição da biomassa e das condições do processo, como descrito na literatura (CZERNIK e BRIDGWATER, 2004).

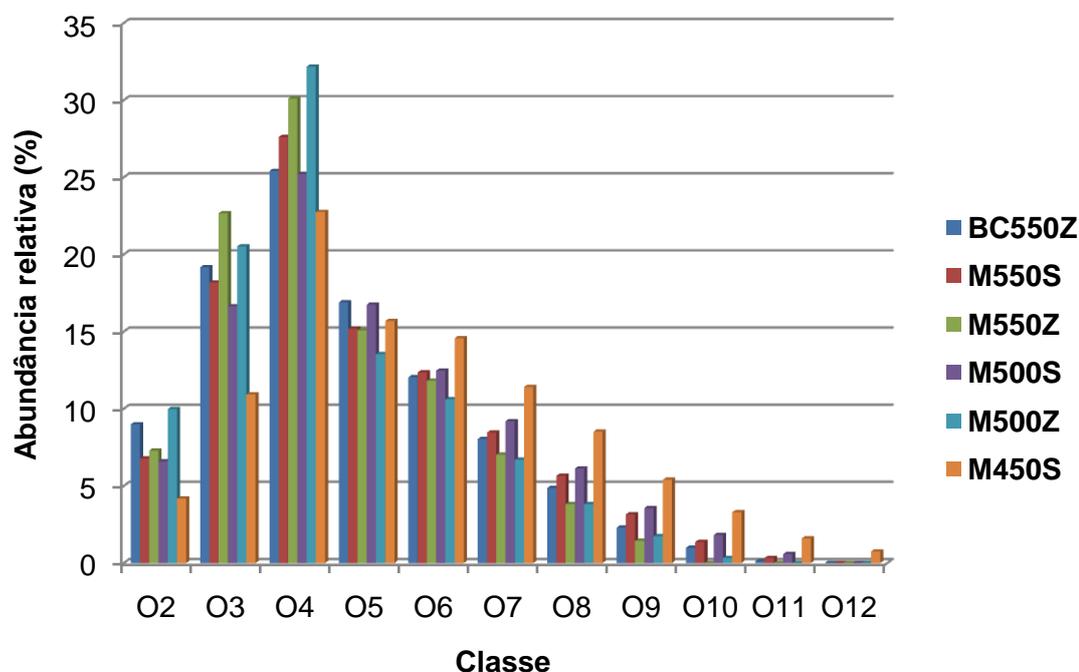


Figura 45. Distribuição das classes de heteroátomos obtida por ESI(-)-FT-ICR MS.

A fim de verificar a influência do catalisador na composição química dos bio-óleos, as distribuições das classes de heteroátomos para as amostras de bio-óleo de madeira foram ilustradas na **Figura 46**. As amostras obtidas com o catalisador (M550Z e M500Z) são mais enriquecidas em substâncias com um número menor de átomos de oxigênio (classes O₂–O₄) quando comparadas aquelas sem o catalisador (M550S e M500S), que apresentam maior quantidade de substâncias das classes O₅–O₁₁.

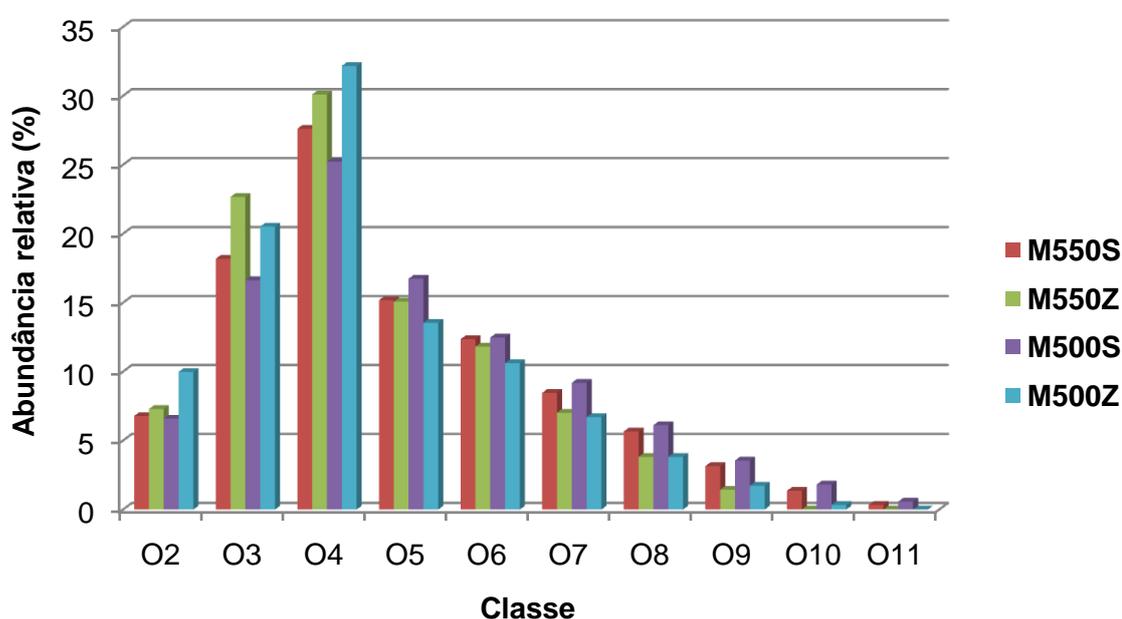


Figura 46. Distribuição das classes de heteroátomos obtidas com ESI(-)-FT-ICR MS para as amostras M550S, M550Z, M500S e M500Z.

Um aumento da abundância relativa das classes de O₂–O₄ foi observado quando há mudança da temperatura de pirólise de 450 °C para 550 °C, ilustrado na **Figura 47**. Além disso, há uma diminuição da abundância relativa das classes O₆–O₁₂. Com o uso da temperatura intermediária (500 °C), a classe O₅ mostrou maior abundância relativa quando comparada com as temperaturas de 450 °C e 550 °C. Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos no trabalho de KEKÄLÄINEN *et al.* (2014), no qual foram avaliados bio-óleos obtidos com duas temperaturas de pirólise (300 °C e 380 °C).

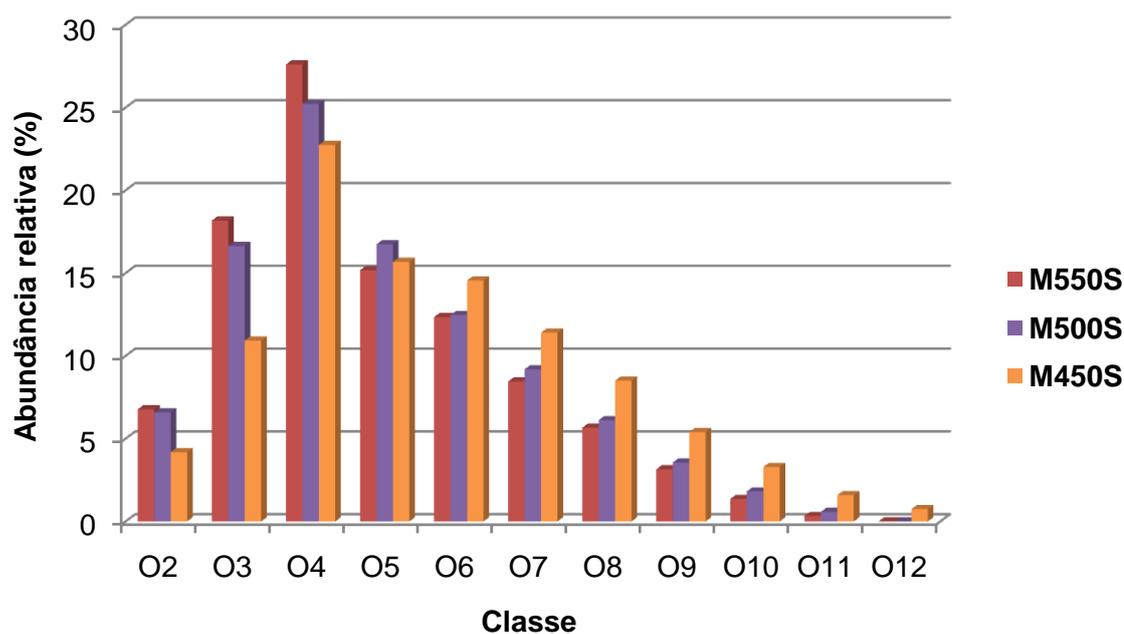


Figura 47. Distribuição das classes de heteroátomos obtidas com ESI(-)-FT-ICR MS para as amostras M550S, M500S e M450S.

Na **Figura 48** são ilustrados os diagramas de contorno de DBE *versus* número de átomos de carbono das classes O₃ e O₄ para as amostras M550S e M550Z. Uma distribuição contínua, comum em estudos de petroquímica, foi observada para as classes de substâncias oxigenadas. As substâncias mais abundantes nas classes O₃ e O₄ foram identificadas com valores de DBE elevados (DBE > 5). De acordo com KEKÄLÄINEN *et al.* (2014), estas moléculas correspondem as substâncias fenólicas, sendo derivadas da decomposição da lignina. A intensidade das moléculas com valor de DBE de 10 na amostra M550Z foi menor quando comparada com a M550S. Dessa forma, pode-se inferir que a utilização do catalisador ZSM-5 na pirólise aumentou a taxa de degradação da lignina presente na biomassa, levando a produção de bio-óleos contendo substâncias fenólicas com valores menores de DBE, número de carbono e oxigênio.

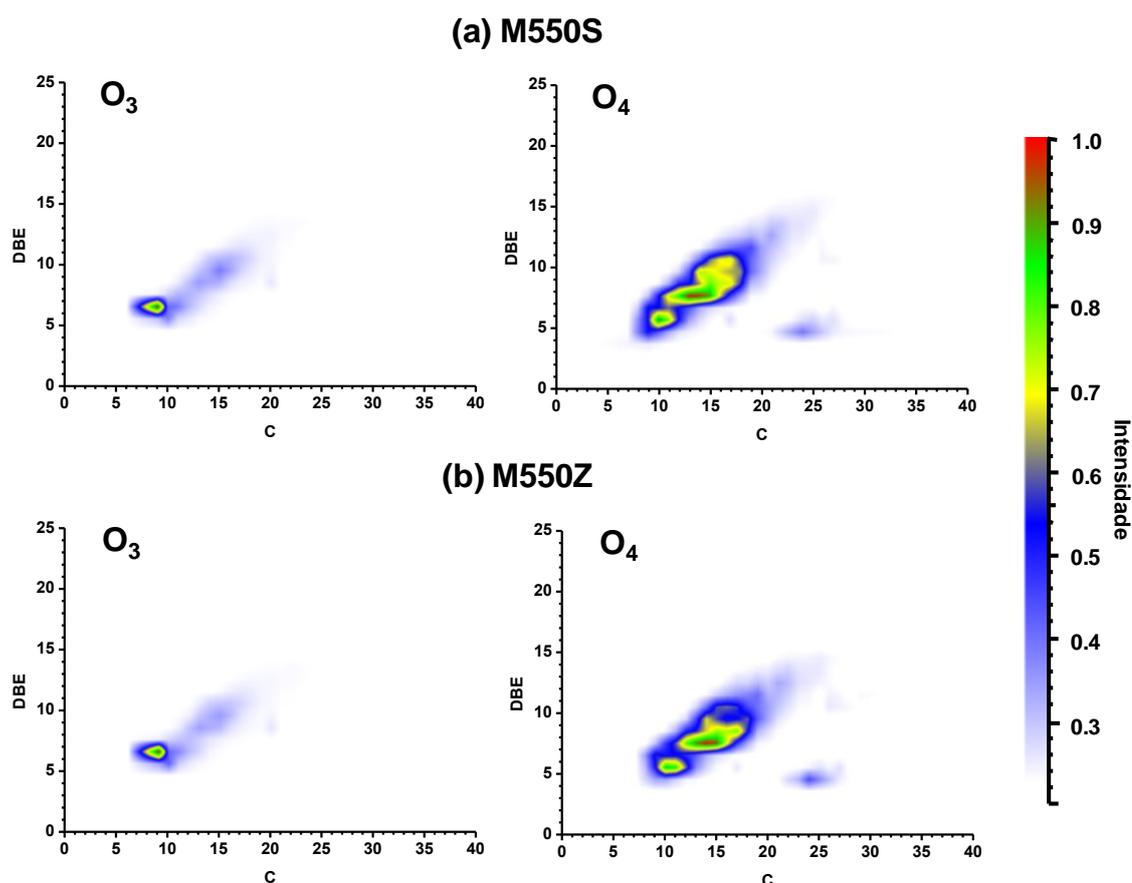


Figura 48. Diagramas de contorno de DBE *versus* número de carbono para as classes O_3 e O_4 das amostras M550S **(a)** e M550Z **(b)**.

Os diagramas de contorno de DBE *versus* número de átomos de carbono das classes O_2 – O_4 para as amostras M450S, M500S e M550S são mostrados na **Figura 49**. Com relação a classe O_2 , as substâncias com números de átomos de carbono de 16 e 18 e valor de DBE de 1 foram identificadas e correspondem ao ácido hexadecanóico e ácido octadecanóico, respectivamente. Entretanto, a amostra M450S mostrou-se ligeiramente enriquecida nestas substâncias. A classe dos ácidos carboxílicos deve ser destacada em função dos problemas relacionados a corrosão dos equipamentos durante o processo de pirólise e *upgrading* (BI *et al.*, 2014). Além dos ácidos carboxílicos, outras substâncias com valores maiores de DBE ($DBE > 5$) foram observadas em ambas as amostras, apresentando uma estrutura aromática. Dentre estas, a estrutura da molécula com número de átomos de carbono de 10 e valor de DBE de 6 foi tentativamente proposta com base no trabalho de BI *et al.* (2014) (**Figura 49**). No entanto, a estrutura exata da molécula não pode ser

confirmada, a não ser que outras análises sejam realizadas, como por exemplo a espectrometria de massas em *tandem*. A distribuição da classe O₃ foi semelhante para as amostras, na qual substâncias com números de átomos de carbono entre 9–20 e valores de DBE superiores (isto é, DBE > 5) foram observadas. Comparando as amostras M450S e M550S, o aumento na abundância das classes O₃ e O₄ (**Figura 45**) associada com a maior intensidade de substâncias da classe O₄ com valores elevados de DBE para a amostra M550S indicam um aumento na taxa de degradação dos constituintes da biomassa quando a pirólise é realizada em temperaturas maiores, de acordo com KEKÄLÄINEN *et al.* (2014).

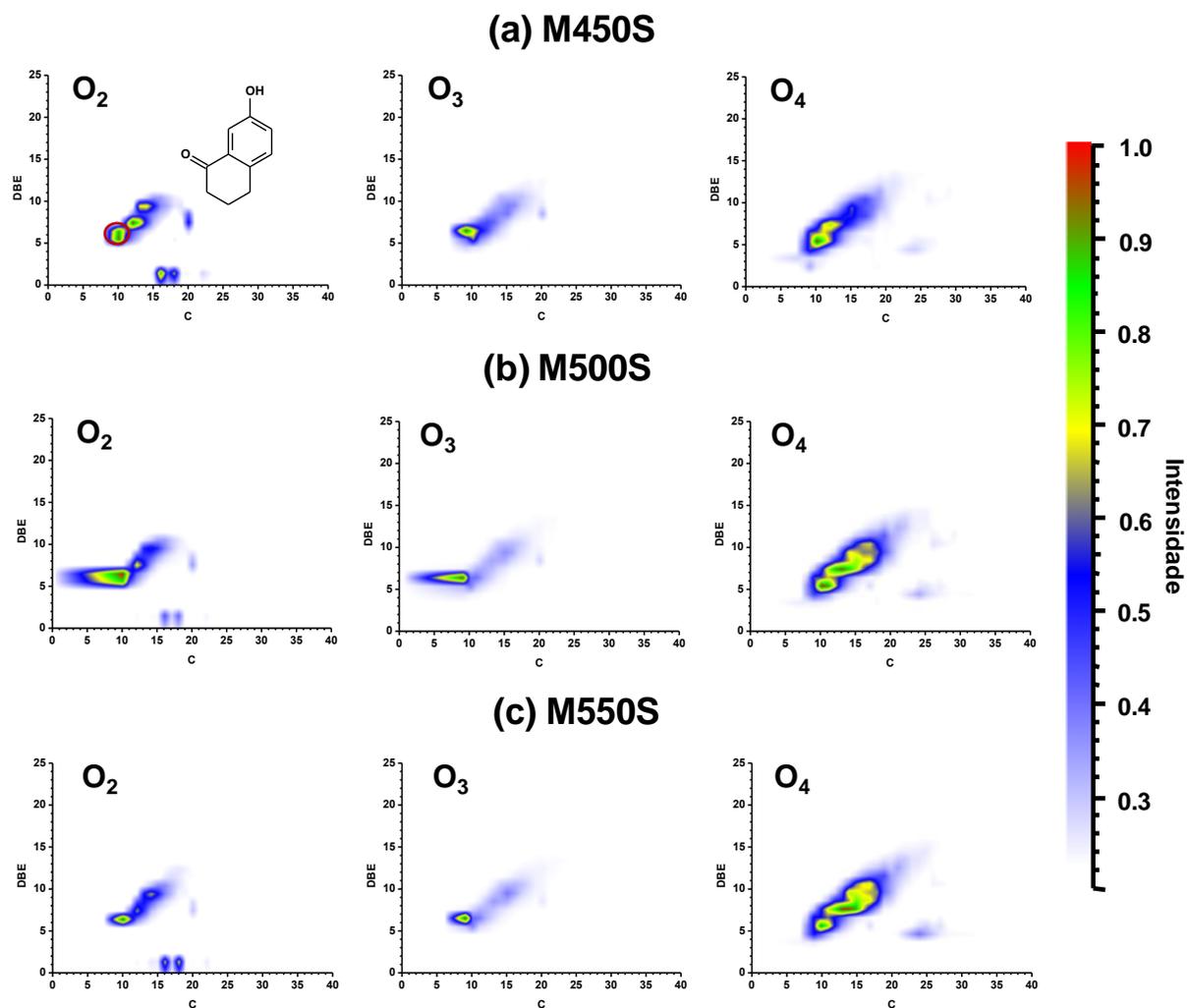


Figura 49. Diagramas de contorno de DBE *versus* número de carbono para as classes O₂–O₄ das amostras M450S (a), M500S (b) e M550Z (c).

5.1.2.4 Considerações

A pirólise de madeira e bagaço de cana levou à produção de bio-óleos com composição química similar, porém com abundâncias diferentes para as classes detectadas. As principais classes de substâncias identificadas foram os ácidos, cetonas, fenóis, O-heterocíclicos e hidrocarbonetos aromáticos. A pirólise catalítica usando o catalisador ZSM-5 promoveu a desoxigenação, aumentando o teor de hidrocarbonetos aromáticos e a degradação da lignina para produzir bio-óleos contendo substâncias fenólicas com menor número de átomos de oxigênio e carbono. Com relação a temperatura do processo, foi observado um aumento na abundância relativa das classes contendo menor número de átomos de oxigênio (O_2-O_4) quando há aumento da temperatura de pirólise de 450 °C para 550 °C, o que indica um aumento na taxa de degradação dos constituintes da biomassa em alta temperatura.

5.1.3 Conjunto III

As amostras de bio-óleo de madeira de pinho, obtidas a partir da pirólise convencional, catalítica e hidrogenação do bio-óleo convencional foram analisadas utilizando 1H NMR, GCxGC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS.

5.1.3.1 1H NMR

A **Figura 50** ilustra os espectros de 1H NMR das amostras de bio-óleo do conjunto III. As áreas integradas e normalizadas para as diferentes regiões dos espectros foram descritas na **Tabela 20**, excluindo o sinal residual do solvente (2,4 ppm) e o sinal da água (3,7-3,3 ppm), de modo a avaliar o percentual de um determinado tipo de hidrogênio em cada amostra e comparar os resultados obtidos para diferentes processos de pirólise e hidrotratamento.

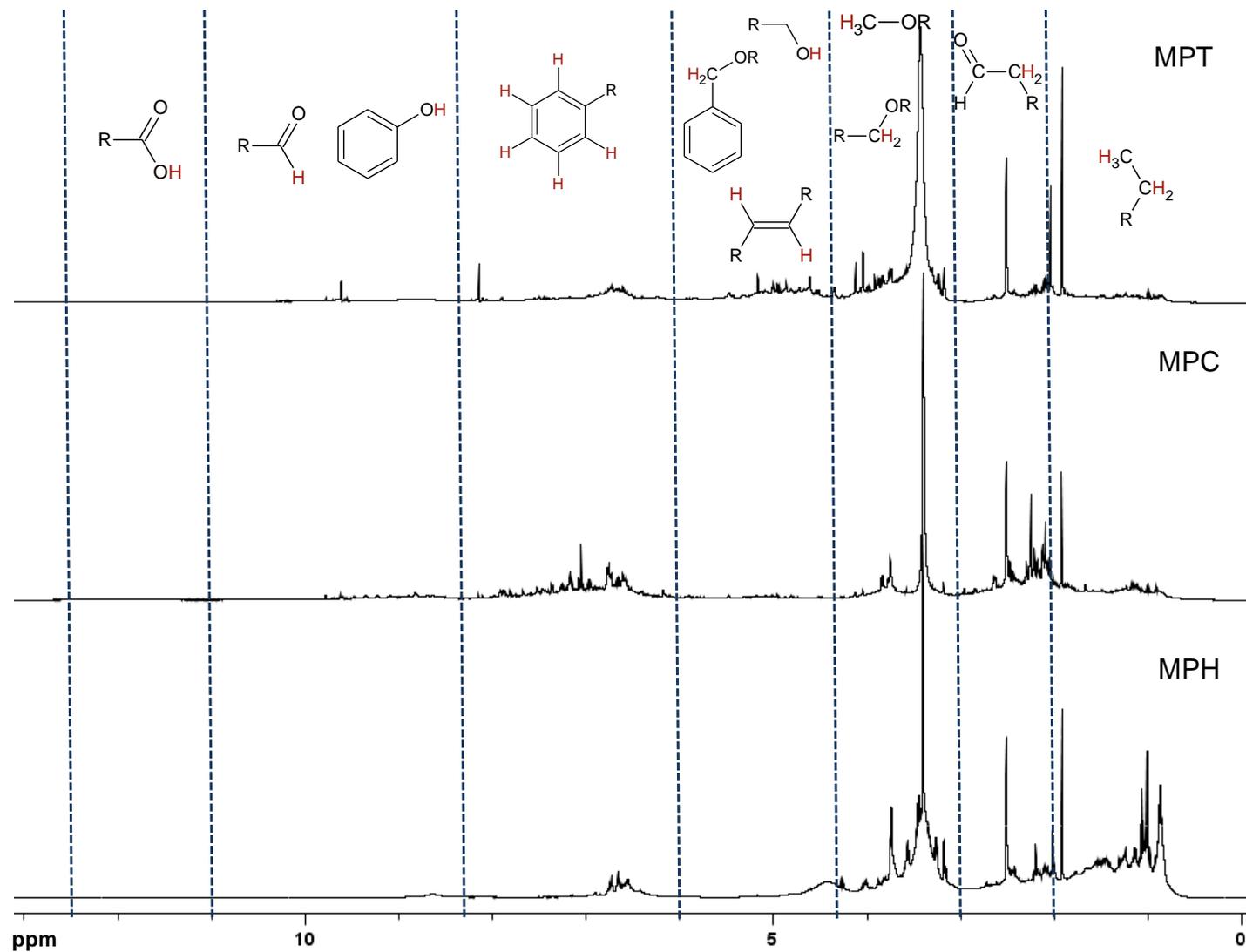


Figura 50. Espectros de ^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) para as amostras de bio-óleo de pirólise convencional (MPT) e pirólise catalítica (MPC), de bio-óleo hidrotratado (MPH).

Tabela 20. Percentual de hidrogênios baseado na análise por ^1H NMR das amostras de bio-óleo do conjunto III.

Deslocamento químico (ppm)	Tipo de hidrogênio	Área bruta integrada e normalizada (%)		
		MPT	MPC	MPH
12,5-11,0	-COOH	3,63	0,37	2,31
11,0-8,25	-CHO, ArOH	9,62	3,94	2,90
8,25-6,0	H de aromáticos e alcenos conjugados	17,62	26,67	5,90
6,0-4,2	OH de alifáticos, -CH=CH-, Ar-CH ₂ -O-R	21,35	2,01	9,18
4,2-3,0	R-CH ₂ -O-R, CH ₃ -O-R	23,57	13,94	14,73
3,0-2,0	-CH ₂ CH=O, H de alifáticos	10,22	29,78	14,73
2,0-0,0	H de alifáticos	14,00	23,29	50,24

Na **Tabela 20**, os resultados mostraram que o uso do catalisador ZSM-5 na pirólise catalítica (MPC) e o processo de hidrogenação do bio-óleo obtido da pirólise convencional (MPH) foram determinantes na redução do percentual dos hidrogênios das substâncias oxigenadas. Para a região entre 12,5-11,0 ppm, que corresponde aos hidrogênios de ácidos carboxílicos, a redução foi mais significativa para a amostra MPC. O mesmo comportamento foi observado para a região entre 6,0-4,2 ppm, referente aos hidrogênios de álcoois alifáticos, alcenos não conjugados e éteres aromáticos. Além disso, a equivalência entre os valores percentuais para os hidrogênios observados nas regiões de 4,2-3,0 ppm (hidrogênios de aldeídos e fenóis) e 11,0-8,25 ppm (hidrogênios de éteres e grupos metóxi) das amostras MPC e MPH indica que o efeito da utilização do catalisador ZSM-5 e do hidrotratamento atuam de forma similar para as substâncias desta classe. Com relação aos hidrogênios de aromáticos e alcenos conjugados (região de 8,25-6,0 ppm), um aumento no percentual foi observado quando o bio-óleo foi obtido cataliticamente (MPC), enquanto que uma redução significativa foi identificada na amostra hidrotratada (MPH). O processo de hidrogenação favorece a clivagem das substâncias para esta classe. A amostra MPH apresentou um alto teor de hidrogênios alifáticos, representando de forma majoritária os hidrogênios presentes nesta amostra, considerando que substâncias carboniladas são facilmente hidrotratadas e que a região entre 3,0-0,0 ppm é basicamente de substâncias alifáticas. A amostra MPC também mostrou um alto teor de hidrogênios alifáticos, porém esse aumento é menos pronunciado quando comparado a amostra MPH.

5.1.3.2 GCxGC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS

As amostras do conjunto III foram analisadas utilizando a GCxGC-TOFMS (**Figura 51**) e ESI(-)-FT-ICR MS (**Figura 52**).

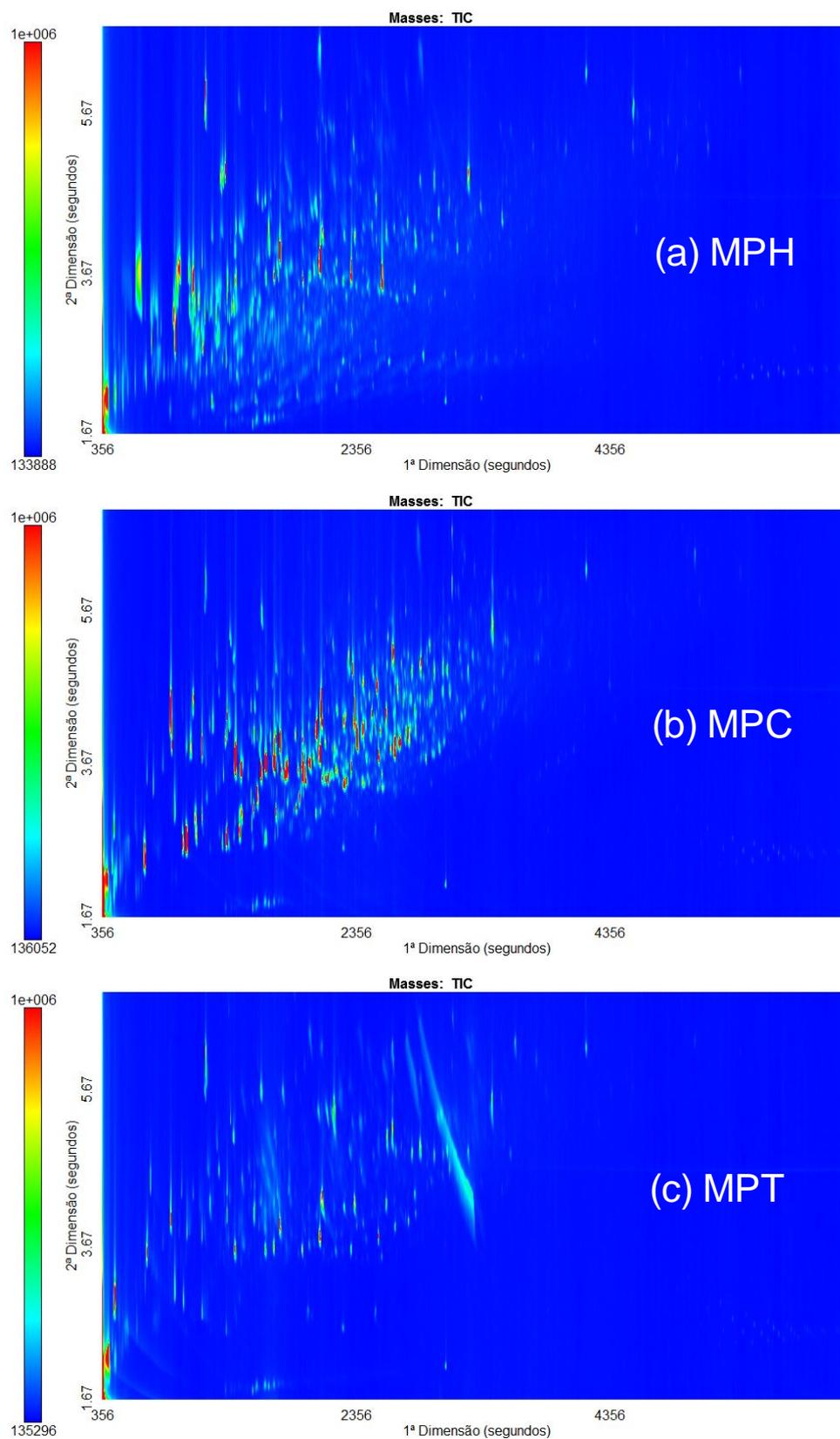


Figura 51. TIC das amostras de bio-óleo por GCxGC-TOFMS: **(a)** MPH, **(b)** MPC e **(c)** MPT.

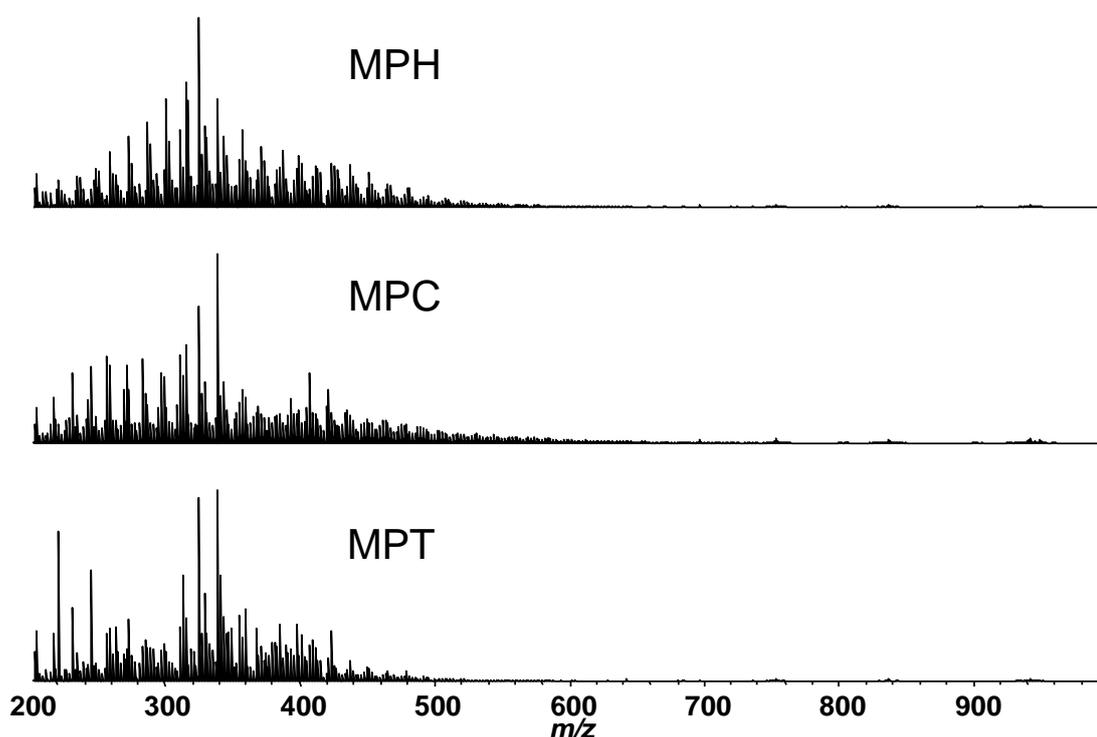


Figura 52. Espectros de massas por ESI(-)-FT-ICR MS para as amostras MPH, MPC e MPT.

5.1.3.3 Considerações

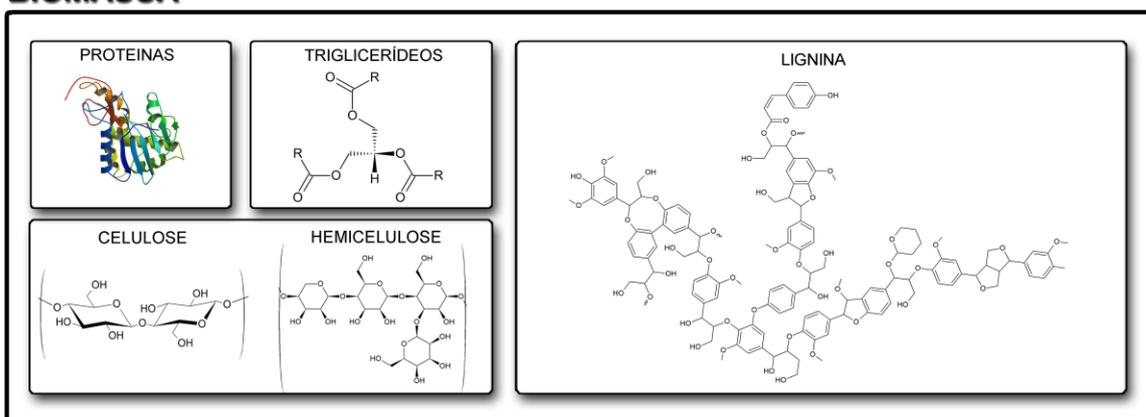
A análise por ^1H NMR demonstrou ser uma ferramenta útil para avaliar de forma rápida e completa o perfil dos bio-óleos. Em geral, as amostras apresentaram uma redução dos hidrogênios associados às substâncias oxigenadas, especialmente dos hidrogênios de ácidos carboxílicos e um aumento dos hidrogênios de aromáticos, alcenos conjugados e alifáticos, com a utilização de catalisador na pirólise catalítica ou no hidrotreatamento. No intuito de se obter uma diminuição significativa no teor de substâncias oxigenadas e um aumento no teor de hidrocarbonetos, a amostra obtida a partir da pirólise catalítica, sem o hidrotreatamento, parece ser uma opção mais viável na obtenção de bio-óleos de melhor qualidade, em função do alto custo relacionado ao uso de hidrogênio no processo de hidrogenação.

5.2 INTEGRAÇÃO ^1H NMR, GCxGC-TOFMS E ESI(-)-FT-ICR MS

A integração dos resultados obtidos utilizando as três técnicas analíticas de alta resolução, ^1H NMR, GCxGC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS, destaca a relevância deste estudo, possibilitando a obtenção de uma caracterização química complementar e abrangente dos bio-óleos. A **Figura 53** ilustra de forma resumida os constituintes principais que podem compor a biomassa, que com o processo de pirólise, gera um bio-óleo a partir da fragmentação destes constituintes. Além disso, as classes de substâncias identificadas foram organizadas em função do alcance de cada técnica. Por GCxGC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS a distribuição foi realizada em função da massa molecular e da polaridade. Já no espectro de RMN, os átomos de hidrogênio presentes em diferentes ambientes químicos (em vermelho) foram destacados.

As análises por ^1H NMR mostraram ser esta uma ferramenta útil para avaliar a composição do bio-óleo como um todo. Os hidrogênios das diferentes funções químicas identificadas fornecem uma visão geral dos perfis das amostras. Pela GCxGC-TOFMS, as substâncias mais voláteis foram detectadas, como hidrocarbonetos e substâncias oxigenadas com massa molecular menor que 200 Da pertencentes as classes $\text{O}_0\text{--}\text{O}_5$. Já a técnica de ESI(-)-FT-ICR MS possibilitou a identificação das substâncias oxigenadas polares e não voláteis, com massa molecular maior que 150 Da pertencentes as classes $\text{O}_2\text{--}\text{O}_{12}$, como as substâncias derivadas de açúcares. Algumas substâncias com massa molecular entre 150 e 200 Da das classes $\text{O}_2\text{--}\text{O}_5$, como por exemplo, o levoglicosano e substâncias fenólicas, foram identificadas utilizando tanto a GCxGC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS. Dessa forma, a técnica de ^1H NMR pode ser utilizada para fornecer uma avaliação rápida das variações do processo de pirólise, enquanto as técnicas de GCxGC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS uma especificação molecular individual.

BIOMASSA



Pirólise

BIO-ÓLEO

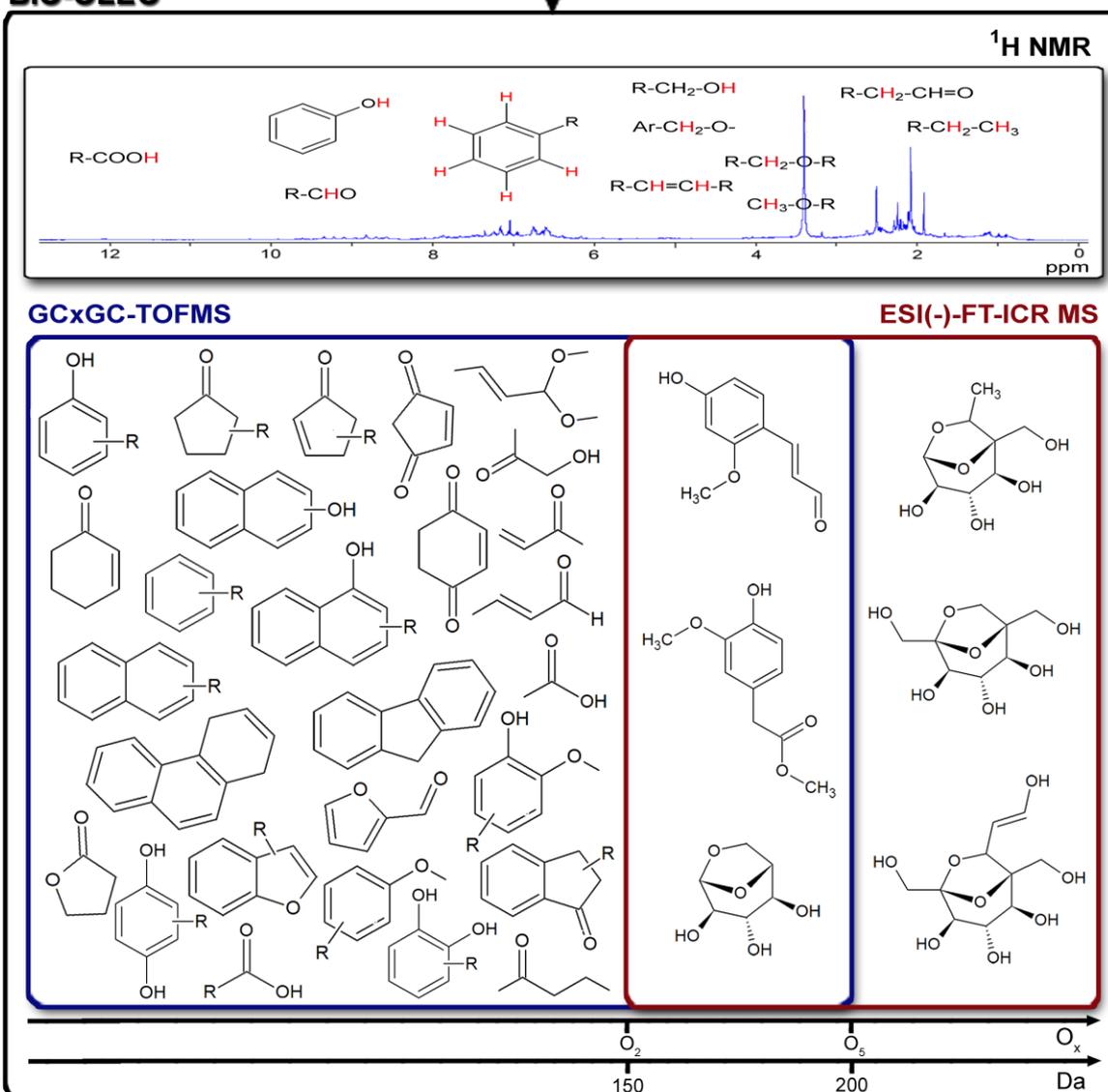


Figura 53. Substâncias identificadas utilizando as técnicas de $^1\text{H NMR}$, GCxGC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS nos bio-óleos obtidos no processo de pirólise pela decomposição dos principais constituintes da biomassa. A estrutura da proteína foi obtida no Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank (RCSB PDB).

6 CONCLUSÃO

Avaliação abrangente e complementar da composição química de bio-óleos foi obtida utilizando as três técnicas analíticas de alta resolução: ^1H NMR, GC \times GC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS. Os resultados para bio-óleos provenientes de diferentes fontes de biomassa permitiram uma avaliação detalhada da alteração na composição química resultante das mudanças dos parâmetros operacionais da pirólise e hidrotreatamento. Em geral, a pirólise catalítica usando o catalisador ZSM-5 promoveu a desoxigenação, aumentando o teor de hidrocarbonetos. A utilização de temperaturas mais elevadas no processo de pirólise indica um aumento na taxa de degradação dos componentes da biomassa, sendo observado um aumento na abundância relativa das classes contendo menor número de átomos de oxigênio. A técnica de ^1H NMR pode ser utilizada para fornecer uma avaliação rápida das variações do processo de pirólise, enquanto as técnicas de GC \times GC-TOFMS e ESI(-)-FT-ICR MS uma especificação molecular. Deve ser ressaltado que esse é o primeiro trabalho que realizou uma integração dos resultados obtidos por essas três técnicas analíticas de alta resolução para a análise de bio-óleos. A caracterização química de bio-óleos é importante para que seja proposto um adequado uso para cada amostra, em particular pela indústria petroquímica.

7 REFERÊNCIAS

ADAHCHOUR, M.; BEENS, J.; VREULS, R. J. J.; BRINKMAN, U. A. Th. Recent developments in comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC) I. Introduction and instrumental set-up. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 25, n. 5, p. 438-454, 2006a.

ADAHCHOUR, M.; BEENS, J.; VREULS, R. J. J.; BRINKMAN U. A. Th. Recent developments in comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC) II. Modulation and detection. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 25, n. 6, p. 540-553, 2006b.

AHO, A.; KUMAR, N.; ERÄNEN, K.; SALMI, T.; HUPA, M.; D. MURZIN, YU. Catalytic pyrolysis of woody biomass in a fluidized bed reactor: Influence of the zeolite structure. **Fuel**, v. 87, n. 12, p. 2493-2501, 2008.

ALMEIDA, M. B. B. de. **Bio-óleo a partir da pirólise rápida, térmica ou catalítica, da palha da cana-de-açúcar e seu co-processamento com gásóleo em craqueamento catalítico**. 2008. 167 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) — Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

ALSTON, S. M.; CLARK, A. D.; ARNOLD, J. C.; STEIN, B. K. Environmental Impact of Pyrolysis of Mixed WEEE Plastics Part 1: Experimental Pyrolysis Data. **Environmental Science Technology**, v. 45, p. 9380-9385, 2011.

ASTM D7544-12, Standard Specification for Pyrolysis Liquid Biofuel. ASTM International, West Conshohocken., PA, 2012, DOI: 10.1520/D7544-12.

ÁVILA, B. M. F. **Caracterização química de gásóleos ultra-pesados por Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente acoplada à Espectrometria de Massas por Tempo de Voo**. 2010. 92 f. Dissertação (Mestrado em Química) — Centro de Ciências Matemáticas e da Natureza, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

ÁVILA, B. M. F.; PEREIRA, V. B.; GOMES, A. O.; AZEVEDO, D. A. Speciation of organic sulfur compounds using comprehensive two-dimensional gas

chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry: A powerful tool for petroleum refining. **Fuel**, v. 126, p. 188-193, 2014.

BAHNG, M.; MUKARAKATE, C.; ROBICHAUD, D. J.; NIMLOS, M. R. Current technologies for analysis of biomass thermochemical processing: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 651, n. 2, p. 117-138, 2009.

BEN, H; RAGAUSKAS, A. J. Comparison for the compositions of fast and slow pyrolysis oils by NMR characterization. **Bioresource Technology**, v. 147, p. 577-584, 2013.

BEN, H; RAGAUSKAS, A. J. NMR Characterization of Pyrolysis Oils from Kraft Lignin. **Energy Fuels** v. 25, p. 2322-2332, 2011.

BI, Y.; WANG, G.; SHI, Q.; XU, C.; GAO, J. Compositional Changes during Hydrodeoxygenation of Biomass Pyrolysis Oil. **Energy Fuels** v. 28, p. 2571-2580, 2014.

BOEY P-L.; SALEH, M. I.; SAPAWE, N.; GANESAN, S.; MANIAM, G. P.; ALI, D. M. H. Pyrolysis of residual palm oil in spent bleaching clay by modified tubular furnace and analysis of the products by GC–MS. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 91, p. 199-204, 2011.

BRASSEUR, C.; DEKEIRSSCHIETER, J.; SCHOTSMANS, E. M. J.; KONING, S. de; WILSON, A. S.; HAUBRUGE, E.; FOCANT, J-F. Comprehensive two-dimensional gas chromatography–time-of-flight mass spectrometry for the forensic study of cadaveric volatile organic compounds released in soil by buried decaying pig carcasses. **Journal of Chromatography A**, v. 1255, p. 163-170, 2012.

BRIDGWATER, A. V.; Renewable fuels and chemicals by thermal processing of biomass. **Chemical Engineering Journal**, v. 91, p. 87-102, 2003.

BRIDGWATER, A. V. Review of fast pyrolysis of biomass and product upgrading. **Biomass and Bioenergy**, v. 38, p. 68-94, 2012.

BRIDGWATER, T.; Biomass for energy. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 1755-1768, 2006.

CARNEIRO, G. F.; **Estudo de Emulsões de Petróleos Brasileiros por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de Baixo Campo Bidimensional**. 2012.

78 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências Exatas, Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2012.

CASILLI, A.; DECORZANT, E.; JAQUIER, A.; DELORT, E. Multidimensional gas chromatography hyphenated to mass spectrometry and olfactometry for the volatile analysis of citrus hybrid peel extract. **Journal of Chromatography A**, v. 1373, p. 169-178, 2014.

COLE, R. B. Some tenets pertaining to electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, v. 35, p. 763-772, 2000.

CROTTI, A. E. M.; VESSECCHI, R.; LOPES, J. L. C.; LOPES, N. P. Espectrometria de massas com ionização por “electrospray”: Processos químicos envolvidos na formação de íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 287-292, 2006.

CZERNIK, S.; BRIDGWATER, A. V. Overview of Applications of Biomass Fast Pyrolysis Oil. **Energy & Fuels**, v. 18, p. 590-598, 2004.

DALLÜGE, J.; BEENS, J.; BRINKMAN, U. A. Th.; Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a powerful and versatile analytical tool. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, p. 69-108, 2003.

DALMASCHIO, G. P. **Caracterização de compostos polares no petróleo por espectrometria de massas de altíssima resolução e exatidão – ESI(±)-FT-ICR MS**. 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências Exatas, Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2012.

EISERBECK, C.; NELSON, R. K.; GRICE, K.; CURIALE, J.; REDDY, C. M. Comparison of GC-MS, GC-MRM-MS, and GCxGC to characterise higher plant biomarkers in Tertiary oils and rock extracts. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 87, p. 299-322, 2012.

FENN, J. B.; MANN, M.; MENG, C. K.; WONG, S. F.; WHITEHOUSE, C. M. Electrospray ionization for mass-spectrometry of large biomolecules. **Science**, v. 246, p. 64-71, 1989.

GARCIA-PEREZ, M.; CHAALA, A.; PARKDEL, H.; KRETSCHMER, D.; ROY, C.; Characterization of bio-oils in chemical families. **Biomass Bioenergy**, v. 31, p. 222-242, 2007.

GASKELL, S. J. Electrospray: Principles and Practice. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 32, p. 677-688, 1997.

GIDDINGS, J. C. Concepts and comparisons in multidimensional separation. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 10, p. 319-323, 1987.

GLISH, G. L.; BURINSKY, D. J.; Hybrid Mass Spectrometers for Tandem Mass Spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 19, p. 161-172, 2008.

GUO, X.; WANG, S.; GUO, Z.; LIU, Q.; LUO, Z.; CEN, K. Pyrolysis characteristics of bio-oil fractions separated by molecular distillation. **Applied Energy**, v. 87, p. 2892-2898, 2010.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6^a ed. Bookman, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2009.

HOFFMAN, E.; STROOBANT, V. **Mass Spectrometry: Principles and Applications**. 3rd Ed. West Sussex: John Wiley & Sons, Bruxelas, Bélgica, 2007.

HUBER, G. W.; IBORRA, S.; CORMA, A. Synthesis of Transportation Fuels from Biomass: Chemistry, Catalysts, and Engineering. **Chemical Reviews**, v. 106, p. 4044-4098, 2006.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos, DOQ-CGCRE-008, 2007.

JARVIS, J. M.; MCKENNA, A. M.; HILTEN, R. N.; DAS, K. C.; RODGERS, R. P.; MARSHALL, A. G. Characterization of Pine Pellet and Peanut Hull Pyrolysis Bio-oils by Negative-Ion Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. **Energy & Fuels**, v. 26, p. 3810-3815, 2012.

JOSEPH J.; BAKER, C.; MUKKAMALA, S.; BEIS, S.H.; WHEELER, M.C.; DESISTO, W.J.; JENSEN, B.L.; FREDERICK, B.G. Chemical Shifts and Lifetimes for Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Analysis of Biofuels. **Energy Fuels**, v. 24, p. 5153-5162, 2010.

KANAUJIA, P. K.; SHARMA, Y. K.; AGRAWAL, U. C.; GARG, M.O. Analytical approaches to characterizing pyrolysis oil from biomass. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 42, p. 125-136, 2013.

KEBARLE, P. A brief overview of the present status of the mechanisms involved in electrospray mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*, v. 35, p. 804-817, 2000.

KEKÄLÄINEN, T.; VENÄLÄINEN, T.; JÄNIS, J. Characterization of Birch Wood Pyrolysis Oils by Ultrahigh-Resolution Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry: Insights into Thermochemical Conversion. ***Energy & Fuels***, v. 28, p. 4596-4602, 2014.

KIEPPER, A. P. **Caracterização química e geoquímica de óleos brasileiros por cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à espectrometria de massas por tempo de voo**. 2013. 151 f. Dissertação (Mestrado em Química) — Centro de Ciências Matemáticas e da Natureza, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

KIM, S-J.; JUNG, S-H.; KIM, J-S. Fast pyrolysis of palm kernel shells: Influence of operation parameters on the bio-oil yield and the yield of phenol and phenolic compounds. ***Bioresource Technology***, v. 101, p. 9294-9300, 2010.

LAPPAS, A. A.; SAMOLADA, M. C.; IATRIDIS, D. K.; VOUTETAKIS, S. S.; VASALOS I. A. Biomass pyrolysis in a circulating fluid bed reactor for the production. ***Fuel***, v. 81, n. 16, p. 2087-2095, 2002.

LIU, Y.; SHI, Q.; ZHANG, Y.; HE, Y.; CHUNG, K. H.; ZHAO, S.; XU, C.; Characterization of Red Pine Pyrolysis Bio-oil by Gas Chromatography–Mass Spectrometry and Negative-Ion Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. ***Energy & Fuels***, v. 26, p. 4532-4539, 2012.

LIU, Z. Y.; PHILLIPS, J. B. Comprehensive 2-dimensional gas-chromatography using an on-column thermal modulator interface. ***Journal of Chromatographic Science***, v. 29, n. 6, p. 227-231, 1991.

LUNA, F. J.; SCHUCHARDT, U. Modificação de zeólitas para uso em catálise. ***Química Nova***, v. 24, n. 6, p. 885-892, 2001.

MARRIOTT, P.; HAGLUND, P.; ONG, R. C. Y. A review of environmental toxicant analysis by using multidimensional gas chromatography and comprehensive GC. ***Clinica Chimica Acta***, v. 328, p. 1-19, 2003.

MARRIOTT, P.; SHELLIE, R. Principles and applications of comprehensive two-dimensional gas chromatography. **Trends in Analytical Chemistry**, n. 21, p. 573-283, 2002.

MARSHALL, A. G.; HENDRICKSON, C. L.; JACKSON, G. S. Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: a primer. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 17, p. 1-35, 1998.

MARSHALL, A. G.; RODGERS, R. P. Petroleomics: The next grand challenge for chemical analysis. **Accounts of Chemical Research**, v. 37, p. 53–59, 2004.

MARSHALL, A. G.; RODGERS, R. P. Petroleomics: chemistry of the underworld. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 47, p. 18090-5, 2008.

MARSMAN, J. H.; WILDSCHUT, J.; MAHFUD, F.; HEERES, H. J. Identification of components in fast pyrolysis oil and upgraded products by comprehensive two-dimensional gas chromatography and flame ionisation detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1150, p. 21-27, 2007.

MARSMAN, J. H.; WILDSCHUT, J.; EVERS, P.; KONING, S. de; HEERES, H. J. Identification and classification of components in flash pyrolysis oil and hydrodeoxygenated oils by two-dimensional gas chromatography and time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1188, p. 17-25, 2008.

MICHAILOF, C.; SFETSAS, T.; STEFANIDIS, S.; KALOGIANNIS, K.; THEODORIDIS, G.; LAPPAS, A.; Quantitative and qualitative analysis of hemicellulose, cellulose and lignin bio-oils by comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1369, p. 147-160, 2014.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/clima/energia/energias-renovaveis/biomassa>>. Acesso em: 02 fev. 2015.

MOHAN, D.; PITTMAN Jr, C. U.; STEELE; P. H. Pyrolysis of Wood/Biomass for Bio-oil: A Critical Review. **Energy & Fuels**, v. 20, p. 848-889, 2006.

MONDELLO, L.; CASILLI, A.; TRANCHIDA, P. Q.; DUGO, P.; DUGO, G. Detailed analysis and group-type separation of natural fats and oils using comprehensive two-

dimensional gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1019, p. 187-196, 2003.

MULLEN, C. A.; BOATENG, A. A.; GOLDBERG, N. M.; LIMA, I. M.; LAIRD, D. A.; HICKS, K. B. Bio-oil and bio-char production from corn cobs and stover by fast pyrolysis. **Biomass and Bioenergy**, v. 34, p. 67-74, 2010.

MULLEN, C. A.; STRAHAN, G. D.; BOATENG, A. A. Characterization of Various Fast-Pyrolysis Bio-Oils by NMR Spectroscopy. **Energy & Fuels**, v. 23, p. 2707-2718, 2009.

NAIK, S. N.; GOUD, V. V.; ROUT, P. K.; DALAI, A. K.; Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 578-597, 2010.

NGO, T-A; KIM, J.; KIM, S-S. Fast pyrolysis of palm kernel cake using a fluidized bed reactor: Design of experiment and characteristics of bio-oil. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 19, p. 137-143, 2013.

OASMAA, A.; KUOPPALA, E.; GUST, S.; SOLANTAUSTA, Y. Fast Pyrolysis of Forestry Residue. 1. Effect of Extractives on Phase Separation of Pyrolysis Liquids. **Energy & Fuels**, v. 17, n. 1, p. 1-12, 2003.

OLCESE, R.; CARRE, V.; AUBRIET, F.; DUFOUR, A. Selectivity of bio-oils catalytic hydrotreatment assessed by petroleomic and GC *GC/MS-FID Analysis. **Energy & Fuels** v. 27, p. 2135-2145, 2013.

OLIVEIRA, C. R.; OLIVEIRA, C. J. F.; FERREIRA, A. A.; AZEVEDO, D. A.; AQUINO NETO, F. R. Characterization of aromatic steroids and hopanoids in marine and lacustrine crude oils using comprehensive two dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry (GC×GC-TOFMS). **Organic Geochemistry**, v. 53, p. 131-136, 2012.

OMAIS, B.; CREPIER J.; CHARON N.; COURTIADÉ M.; QUIGNARD, A.; THIEBAUT D. Oxygen speciation in upgraded fast pyrolysis bio-oils by comprehensive two-dimensional gas chromatography. **Analyst**, v. 138, p. 2258-2268, 2013.

PATTIYA, A.; TITLOYE, J. O.; BRIDGWATER, A. V. Fast pyrolysis of cassava rhizome in the presence of catalysts. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 81, p. 72-79, 2008.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução a espectroscopia**. 4ª ed. CENGAGE LEARNING, São Paulo, 2010.

PEDROSO, M. P.; GODOY, L. A. F. de; FIDÉLIS, C. H. de V.; FERREIRA, E. C.; POPPI, R. J.; AUGUSTO, F. Cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC). **Química Nova**, v. 32, p. 421-430, 2009.

PERLINGEIRO, C. A. G.; **Biocombustíveis no Brasil: Fundamentos, aplicações e perspectivas**. 1ª Ed. Editora Synergia, 2014.

QIANG, L.; XU-LAI, Y.; XI-FENG, Z. Analysis on chemical and physical properties of bio-oil pyrolyzed from rice husk. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 82, p. 191-198, 2008.

ROMÃO, W. **Novas Aplicações da Espectrometria de Massas em Química Forense**. 2010. 201 f. Tese (Doutorado em Química) — Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

ROMEIRO, G. A.; SALGADO, E. C.; SILVA, R. V. S.; FIGUEIREDO, M. K-K.; PINTO, P. A.; DAMASCENO, R. N. A study of pyrolysis oil from soluble coffee ground using low temperature conversion (LTC) process. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 93, p. 47-51, 2012.

Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank (RCSB PDB). Disponível em <www.rcsb.org> PDB ID 1RTC (D. Misra, A.F. Monzingo, B.J. Katzin, S. Ernst, J.D. Robertus (1993) Structure of recombinant ricin A chain at 2.3 Å Protein Science 2: 429-435). Acesso em: 09 jul. 2015.

SCHOENMAKERS, P. J.; OOMEN, J. L. M. M.; BLOMBERG, J.; GENUIT, W.; van VELZEN, G. Comparison of comprehensive two-dimensional gas chromatography and gas chromatography - mass spectrometry for the characterization of complex hydrocarbon mixtures. **Journal of Chromatography A**, v. 892, p. 29-46, 2000.

SHUPING, Z.; YULONG, W.; MINGDE, Y.; KALEEM, I.; CHUN, L.; TONG, J. Production and characterization of bio-oil from hydrothermal liquefaction of microalgae *Dunaliella tertiolecta* cake. **Energy**, v. 30, p. 1-6, 2010.

SILVA, R. C. **Aplicação de técnicas analíticas modernas em estudo da geoquímica de petróleos**. 2014a. 110 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014a.

SILVA, R. V. S. **Pirólise da torta da mamona – produção de carvão ativado e óleo hidrotratado**. 2014b. 129 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2014b.

SILVA, R. V. S.; CASILLI, A.; SAMPAIO, A. L.; ÁVILA, B. M. F.; VELOSO, M. C. C.; AZEVEDO, D. A.; ROMEIRO, G. A. The analytical characterization of castor seed cake pyrolysis bio-oils by using comprehensive GC coupled to time of flight mass spectrometry. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 106, p. 152-159, 2014.

SILVA, R. V. S.; ROMEIRO, G. A.; VELOSO, M. C. C.; FIGUEIREDO, M. K-K.; PINTO, P. A.; FERREIRA, A. F.; GONÇALVES, M. L. A.; TEIXEIRA, A. M.; DAMASCENO, R. N. Fractions composition study of the pyrolysis oil obtained from sewage sludge treatment plant. **Bioresource Technology**, v. 103, n. 1, p. 459-465, 2012.

SMITH, E. A.; PARK, S.; KLEIN A. T.; LEE, Y. J. Bio-oil Analysis Using Negative Electrospray Ionization: Comparative Study of High-Resolution Mass Spectrometers and Phenolic versus Sugaric Components. **Energy & Fuels**, v. 26, p. 3796-3802, 2012.

TESSAROLO, N. S. **Caracterização química qualitativa de bio-óleos por Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente acoplada à Espectrometria de Massas por Tempo de Voo**. 2012. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

TESSAROLO, N. S.; SANTOS, L. R. M. DOS; SILVA, R. S. F.; AZEVEDO, D. A. Chemical characterization of bio-oils using comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1279, p. 68-75, 2013.

TESSAROLO, N. S.; SILVA, R. C.; VANINI, G.; PINHO, A.; ROMÃO, W.; CASTRO, E. V. R.; AZEVEDO, D. A. Assessing the chemical composition of bio-oils using FT-ICR mass spectrometry and comprehensive two-dimensional gas chromatography

with time-of-flight mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 117, p. 68-76, 2014.

THEGARID, N.; FOGASSY, G.; SCHUURMAN, Y.; MIRODATOS, C.; STEFANIDIS, S.; ILIOPOULOU, E. F.; KALOGIANNIS, K.; LAPPAS, A. A. Second-generation biofuels by co-processing catalytic pyrolysis oil in FCC units. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 145, p. 161-166, 2014.

TRANCHIDA, P. Q.; CASILLI, A.; DUGO, P.; DUGO, G.; MONDELLO, L. Generation of improved gas linear velocities in a comprehensive two-dimensional gas chromatography system. **Analytical Chemistry**, v. 79, p. 2266-2275, 2007.

TRAN, T. C.; LOGAN, G. A.; GROSJEAN, E.; RYAN, D.; MARRIOTT, P. J. Use of comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry for the characterization of biodegradation and unresolved complex mixtures in petroleum. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 74, p. 6468-6484, 2010.

UNIVERSITY OF BRISTOL. **Fourier-transform Ion Cyclotron Resonance (FT-ICR)**. Disponível em: <<http://www.chm.bris.ac.uk/ms/theory/fticr-massspec.html>>. Acesso em: 04 nov. 2013.

VAZ, B. G. **Petroleômica por FT-ICR MS: Desvendando a Composição de Polares do Petróleo e Derivados**. 2010. 191 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

VENDEUVRE, C.; BERTONCINI, F.; ESPINAT, D.; THIÉBAUT, D.; HENNION, M-C. Multidimensional gas chromatography for the detailed PIONA analysis of heavy naphtha: hyphenation of an olefin trap to comprehensive two-dimensional gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1090, p. 116-125, 2005.

VENDREUVE, C.; RUIZ-GUERRERO, R.; BERTONCINI, F.; DUVAL, L.; THIÉBAUT, D. Comprehensive two-dimensional gas chromatography for detailed characterisation of petroleum products. **Oil and Gas Science and Technology**, v. 62, p. 43-55, 2007.

VENTURA, G. T.; KENIG, F.; REDDY, C.M.; FRYSSINGER, G.S.; NELSON, R.K.; van MOOY, B.; GAINES, R.B.; Analysis of unresolved complex mixtures of hydrocarbons extracted from Late Archean sediments by comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC). **Organic Geochemistry**, v. 39, p. 846-867, 2008.

VESSECCHI, R.; LOPES, N. P.; GOZZO, F. C.; DÖRR, F. A.; MURGU, M.; LEBRE, D. T.; ABREU, R.; BUSTILLOS, O. V.; RIVEROS, J. M. Nomenclaturas de espectrometria de massas em língua portuguesa. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1875-1887, 2011.

von MÜHLEN, C. **Caracterização química de compostos nitrogenados do petróleo brasileiro e de óleos voláteis de plantas brasileiras usando cromatografia gasosa bidimensional abrangente**. 2007. 186 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

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, n. 4, p. 765-775, 2006.

von MÜHLEN, C.; ZINI, C. A.; CARAMÃO, E. B. Nomenclatura na língua portuguesa em cromatografia multidimensional abrangente. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 682-687, 2007.

WELDEGERGIS, B. T.; VILLIERS, A. de; MCNEISH, C.; SEETHAPATHY, S.; MOSTAFA, A.; GÓRECKI, T.; CROUCH, A. M. Characterisation of volatile components of Pinotage wines using comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry (GC×GC–TOFMS). **Food Chemistry**, v. 129, p. 188-199, 2011.

YAMAN, S. Pyrolysis of biomass to produce fuels and chemical feedstocks. **Energy Conversion and Management**, v. 45, p. 651-671, 2004.

ZHANG, J.; TOGHIANI, H.; MOHAN, D.; PITTMAN Jr, C.U.; TOGHIANI, R. K. Product Analysis and Thermodynamic Simulations from the Pyrolysis of Several Biomass Feedstocks. **Energy & Fuels**, v. 21, n. 4, p. 2373-2385, 2007.

APÊNDICE A

Tabela 1A. Lista das séries homólogas das classes de O₃, O₅, O₇, O₁₁ e O₁₂ para a recalibração nas análises da amostra #75.

Fórmula	m/z teórico	m/z experimental	m/z recalibrado	Erro (mDa)	Erro (ppm)
C ₉ H ₆ O ₃	161,02442	161,02442	161,02443	-0,012	-0,076
C ₁₀ H ₈ O ₃	175,04007	175,04007	175,04006	0,013	0,073
C ₈ H ₈ O ₅	183,02990	183,02992	183,02989	0,010	0,053
C ₁₁ H ₁₀ O ₃	189,05572	189,05575	189,05571	0,005	0,029
C ₉ H ₁₀ O ₅	197,04555	197,04561	197,04555	-0,005	-0,027
C ₁₂ H ₁₂ O ₃	203,07137	203,07143	203,07137	0,002	0,012
C ₁₀ H ₁₂ O ₅	211,0612	211,06127	211,06119	0,007	0,031
C ₁₃ H ₁₄ O ₃	217,08702	217,08712	217,08704	-0,018	-0,082
C ₁₁ H ₁₄ O ₅	225,07685	225,07696	225,07685	-0,008	-0,035
C ₁₄ H ₁₆ O ₃	231,10267	231,10278	231,10267	-0,003	-0,013
C ₁₂ H ₁₆ O ₅	239,09250	239,09262	239,09249	0,009	0,036
C ₁₅ H ₁₈ O ₃	245,11832	245,11848	245,11834	-0,020	-0,080
C ₁₃ H ₁₈ O ₅	253,10815	253,1083	253,10815	-0,003	-0,013
C ₁₄ H ₂₀ O ₅	267,12380	267,12396	267,12377	0,025	0,092
C ₁₃ H ₁₄ O ₇	281,06668	281,06687	281,06666	0,014	0,049
C ₁₄ H ₁₆ O ₇	295,08233	295,08258	295,08234	-0,014	-0,046
C ₁₅ H ₁₈ O ₇	309,09798	309,09824	309,09797	0,001	0,003
C ₁₆ H ₂₀ O ₇	323,11363	323,11392	323,11363	-0,002	-0,006
C ₁₇ H ₂₂ O ₇	337,12928	337,12958	337,12927	0,010	0,028
C ₁₈ H ₂₄ O ₇	351,14493	351,14528	351,14494	-0,017	-0,050
C ₁₄ H ₂₂ O ₁₂	381,10385	381,10421	381,10383	0,022	0,057
C ₁₅ H ₂₄ O ₁₂	395,11950	395,11990	395,11950	-0,001	-0,002
C ₁₆ H ₂₆ O ₁₂	409,13515	409,13557	409,13515	-0,004	-0,010
C ₁₇ H ₂₈ O ₁₂	423,15080	423,15127	423,15084	-0,040	-0,095
C ₁₈ H ₃₀ O ₁₂	437,16645	437,16688	437,16643	0,022	0,050
C ₂₂ H ₂₆ O ₁₁	465,14024	465,14074	465,14022	0,019	0,042
C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	479,15589	479,15646	479,15587	0,011	0,023
C ₂₄ H ₃₀ O ₁₁	493,17154	493,17223	493,17156	-0,026	-0,053
C ₂₆ H ₃₄ O ₁₁	521,20284	521,20375	521,20283	0,005	0,010

Tabela 2A. Lista das séries homólogas das classes de O₃, O₅, O₇, O₁₁ e O₁₂ para a recalibração nas análises da amostra #85.

Fórmula	m/z teórico	m/z experimental	m/z recalibrado	Erro (mDa)	Erro (ppm)
C ₁₀ H ₈ O ₃	175,04007	175,04010	175,04007	0,002	0,009
C ₈ H ₈ O ₅	183,02990	183,02994	183,02990	0,001	0,007
C ₁₁ H ₁₀ O ₃	189,05572	189,05578	189,05572	-0,006	-0,034
C ₉ H ₁₀ O ₅	197,04555	197,04564	197,04556	-0,013	-0,065
C ₁₂ H ₁₂ O ₃	203,07137	203,07146	203,07137	0,001	0,005
C ₁₀ H ₁₂ O ₅	211,06120	211,06129	211,06118	0,019	0,089
C ₁₃ H ₁₄ O ₃	217,08702	217,08715	217,08702	-0,003	-0,015
C ₁₁ H ₁₄ O ₅	225,07685	225,07699	225,07685	0,001	0,003
C ₁₄ H ₁₆ O ₃	231,10267	231,10282	231,10266	0,006	0,026
C ₁₂ H ₁₆ O ₅	239,09250	239,09266	239,09249	0,012	0,050
C ₁₅ H ₁₈ O ₃	245,11832	245,11852	245,11833	-0,012	-0,049
C ₁₃ H ₁₈ O ₅	253,10815	253,10836	253,10815	0,000	-0,002
C ₁₃ H ₁₄ O ₇	281,06668	281,06694	281,06667	0,009	0,031
C ₁₄ H ₁₆ O ₇	295,08233	295,08264	295,08234	-0,017	-0,058
C ₁₅ H ₁₈ O ₇	309,09798	309,09831	309,09799	-0,011	-0,036
C ₁₆ H ₂₀ O ₇	323,11363	323,11398	323,11362	0,003	0,010
C ₁₇ H ₂₂ O ₇	337,12928	337,12966	337,12928	-0,002	-0,006
C ₁₄ H ₂₂ O ₁₂	381,10385	381,10429	381,10383	0,019	0,050
C ₁₅ H ₂₄ O ₁₂	395,11950	395,11998	395,11950	0,002	0,006
C ₁₆ H ₂₆ O ₁₂	409,13515	409,13563	409,13512	0,029	0,071
C ₁₇ H ₂₈ O ₁₂	423,15080	423,15137	423,15083	-0,031	-0,074
C ₁₈ H ₃₀ O ₁₂	437,16645	437,16705	437,16647	-0,023	-0,054
C ₂₂ H ₂₆ O ₁₁	465,14024	465,14087	465,14020	0,033	0,072
C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	479,15589	479,15663	479,15590	-0,018	-0,038
C ₂₆ H ₃₄ O ₁₁	521,20284	521,20380	521,20283	0,002	0,004

Tabela 3A. Média dos erros (ppm e mDa) e desvio padrão (ppm e mDa) para a recalibração.

Erros	#75		#85	
	mDa	ppm	mDa	ppm
Média	0.012	0.041	0.011	0.035
Desvio padrão	0.015	0.049	0.015	0.044

APÊNDICE B

ARTIGO CIENTÍFICO

- ✓ NATHALIA S. TESSAROLO, RENZO C. SILVA, GABRIELA VANINI, ANDREA PINHO, WANDERSON ROMÃO, EUSTÁQUIO V. R. DE CASTRO, DÉBORA A. AZEVEDO; Assessing the chemical composition of bio-oils using FT-ICR mass spectrometry and comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry. **Microchemical Journal** 117, 68-76, 2014.



Assessing the chemical composition of bio-oils using FT-ICR mass spectrometry and comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry[☆]



Nathalia S. Tessarolo ^{a,*}, Renzo C. Silva ^{a,b}, Gabriela Vanini ^b, Andrea Pinho ^c, Wanderson Romão ^{b,d}, Eustáquio V.R. de Castro ^b, Débora A. Azevedo ^{a,*}

^a Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Rio de Janeiro, RJ 21949-900, Brazil
^b Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Química, Vitória, ES 29075-710, Brazil
^c PETROBRAS/CENPES/Conversão de Biomassa, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ 21941-915, Brazil
^d Instituto Federal do Espírito Santo, Vila Velha, ES 29106-010, Brazil

- ✓ NATHALIA S. TESSAROLO, RAQUEL V.S. SILVA, GABRIELA VANINI, ALESSANDRO CASILLI, VITOR L. XIMENES, FÁBIO L. MENDES, ANDREA PINHO, WANDERSON ROMÃO, EUSTÁQUIO V.R. DE CASTRO, CARLOS R. KAISER, DÉBORA A. AZEVEDO. Characterization of thermal and catalytic pyrolysis bio-oils by high-resolution techniques. Submetido em julho de 2015 **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**.

Elsevier Editorial System(tm) for Journal of Analytical and Applied Pyrolysis
 Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Characterization of thermal and catalytic pyrolysis bio-oils by high-resolution techniques

Article Type: Research Paper

Keywords: Bio-oils; ZSM-5 catalyst; Nuclear magnetic resonance; Comprehensive gas chromatography; High-resolution mass spectrometry.

Corresponding Author: Ms. Nathalia Tessarolo,

Corresponding Author's Institution:

First Author: Nathalia Tessarolo

**SUBMETIDO
JULHO 2015**

Order of Authors: Nathalia Tessarolo; Raquel Silva; Gabriela Vanini; Alessandro Casilli; Vitor Ximenes; Fábio Mendes; Andrea Pinho; Wanderson Romão; Eustáquio Castro; Carlos Kaiser; Débora Azevedo

TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

- ✓ Nathalia S. Tessarolo, Alessandro Casilli, Andrea Pinho, Débora A. Azevedo. GCxGC-TOFMS for bio-oil characterization: SWOT analysis. In: **38th International Symposium on Capillary Chromatography and 11th Annual GCxGC Symposium**, 2014, Riva del Garda – Itália.
- ✓ Nathalia S. Tessarolo, Alessandro Casilli, Andrea Pinho, Débora A. Azevedo. Caracterização de bio-óleos de pirólise catalítica por cromatografia bidimensional abrangente. Em: **Simpósio Brasileiro de Cromatografia e Técnicas Afins**, 2014, Campos do Jordão – Brasil.
- ✓ Nathalia S. Tessarolo, Renzo Corrêa Silva, Gabriela Vanini, Andrea Pinho, Wanderson Romão, Eustáquio Vinicius Ribeiro de Castro, Débora A. Azevedo. Chemical characterization of oxygen compounds in bio-oils using FT-ICR Mass Spectrometry. Em: **V Congresso da Sociedade Brasileira de Espectrometria de Massas**, 2013, Campinas – SP.
- ✓ Nathalia S. Tessarolo, Andrea Pinho, Alessandro Casilli, Débora A. Azevedo. Chemical characterization of neutral-acid fractions from bio-oils by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry. In: **37th International Symposium on Capillary Chromatography and 10th Annual GCxGC Symposium**, 2013, Palm Springs, California, USA.
- ✓ Nathalia S. Tessarolo, Renzo Corrêa Silva, Gabriela Vanini, Andrea Pinho, Wanderson Romão, Eustáquio Vinicius Ribeiro de Castro, Débora A. Azevedo. Avaliação da composição química de bio-óleos usando GCxGC-TOFMS e espectrometria de massas de alta resolução e exatidão (FT-ICR MS). Em: **17º Encontro Nacional de Química Analítica**, 2013, Belo Horizonte – MG.