



UNICAMP

Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Química
Departamento de Química Analítica

Tese de Doutorado:

**SOFTWARES PARA CROMATOGRAFIA
GASOSA BIDIMENSIONAL
ABRANGENTE (GC x GC)**

Ernesto Correa Ferreira
Orientador: Prof. Dr. Fabio Augusto

Campinas
Agosto de 2010

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE
QUÍMICA DA UNICAMP**

F414s	Ferreira, Ernesto Correa. Softwares para cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC) / Ernesto Correa Ferreira. -- Campinas, SP: [s.n], 2010. Orientador: Prof. Dr. Fabio Augusto. Tese - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. 1. Cromatografia gasosa bidimensional abrangente. 2. Automação. 3. Integração de picos bidimensionais. 4. Fundação do Software Livre. I. Augusto, Fabio. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.
-------	---

Título em inglês: Softwares for comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC)

Palavras-chaves em inglês: Comprehensive two-dimensional gas chromatography, Automation, 2D peak integration, Free Software Foundation

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora: Prof. Dr. Fabio Augusto (orientador), Prof. Dr. Álvaro José dos Santos Neto (IQ-USP-São Carlos), Prof. Dr. Claudimir Lucio do Lago (IQ-USP-SP), Prof. Dr. Pedro Antônio Muniz Vazquez (IQ-UNICAMP), Prof. Dr. Ronei Jesus Poppi (IQ-UNICAMP)

Data de defesa: 06/08/2010

Dedicatória

"CTRL+ALT+Delete"

Agradecimentos

Inicialmente, agradeço ao Prof. Dr. Fabio Augusto pela amizade, atenção e compreensão nestes últimos anos. Também queria agradecer ao Prof. Dr. Pedro A. M. Vazquez pelas idéias e conselhos para o desenvolvimento inicial dos *softwares*. E, aos Prof. Dr. Jarbas J. R. Rohwedder e Prof. Dr. Ronei J. Poppi cujas contribuições ajudaram diretamente no desenvolvimento do *hardware* e na aplicação dos sistemas em quimiometria, respectivamente.

Agradeço aos meus colegas Dr. Carlos H. V. Fidelis, Dr. Marcio P. Pedroso e o doutorando Luiz A. F. Godoy Jr., pela amizade, pelas contribuições e pelo trabalho em conjunto no desenvolvimento do projeto.

Agradeço ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas e a seus funcionários pela apoio acadêmico e pela utilização de suas oficinas mecânica e eletrônica, setores de informática e desenho e a coordenadoria de Pós-Graduação.

Agradeço ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pela apoio financeiro.

Agradeço a todos os meus amigos.

Por fim e não por menor, agradeço muito a Viviane, meu pai e minha mãe, pela compreensão dos momentos ausentes e pela retribuição de afeto e carinho incondicionais.

Currículo do Autor

O autor se formou em Bacharelado em Química (1999) e em Química Tecnológica (1998) pela Universidade Estadual de Campinas. Durante a graduação, realizou Iniciação Científica na área de análise cinética espectrofotométrica de Vitamina C em sucos, polpas e medicamentos¹⁻³, orientado pelo Profa. Dra. Adriana Vitorino Rossi, sendo contemplado com bolsa da FAPESP (proc.: 97/00862-8) de 1997 a 1998. Em 1999, iniciou o Mestrado em Química Analítica na área de análise cinética quimiluminescente para determinação de Agentes Redutores, como o ácido ascórbico e ácido úrico^{4,5}, com a mesma orientadora, obtendo também bolsa FAPESP (proc.: 99/00022-5). Com as colaborações dos professores Dr. Francisco B. T. Pessine e Dr. Jarbas J. R. Rohwedder, foi montado um sistema opto-eletrônico para realizar as medidas de quimiluminescência da reação de oxidação do Luminol⁶ e sua aplicação na análise de Vitamina C⁵, defendendo sua dissertação em junho de 2001. Em agosto de 2001, iniciou o Doutorado em Química Analítica com estudos de processos luminescentes, como quimiluminescência, fluorescência e fosforescência em temperatura ambiente, e suas aplicações em Química Analítica, orientado novamente pela Profa. Dra. Adriana V. Rossi e obtendo uma bolsa do CNPQ (proc.: 141919/2001-9). Nos primeiros anos, continuou os estudos sobre a quimiluminescência do Luminol utilizando equipamentos *home-made* e câmeras de vídeo. Este último estudo foi realizado em parceria do Prof. Dr. Edvaldo Sabadini e a, então, doutoranda Melissa I. Alkschbirs⁷. Com a experiência obtida no Mestrado, em 2002, publicou um artigo de divulgação da técnica cinético-quimiluminescente em conjunto com a Profa. Dra. Adriana V. Rossi⁸. No início de 2003, com a colaboração do Prof. Dr. Fabio Augusto, co-orientador no momento, iniciou o trabalho de manufatura de óptodos fluorescentes e fosforescentes a partir do processo sol-gel⁹. Ao mesmo tempo, com a colaboração do Prof. Dr. Pedro A. M. Vazquez, foram desenvolvidos *softwares* para controle remoto de instrumentos analógicos através de protocolos de rede¹⁰. Estes *softwares* foram aplicados para o controle de um sistema **GCxGC**¹¹ desenvolvido no laboratório de Cromatografia Gasosa¹². Com os resultados obtidos e com a aceitação do Prof. Dr. Fabio Augusto como novo orientador, foram desenvolvidos mais alguns *softwares* para o desenvolvimento do sistema **GCxGC** e no tratamento e visualização dos dados cromatográficos¹³⁻¹⁶ utilizando o sistema operacional Linux e alguns aplicativos baseados na Fundação do Software Livre (GNU-FSF). Estes resultados e idéias da utilização do ambiente Linux

x

na Automação de instrumentos analíticos serão defendidos nesta tese de Doutorado. E, a partir do desenvolvimento do sistema **GCxGC**, foram publicados artigos sobre a técnica¹⁷ e sobre análises de produtos petroquímicos^{18,19}. Os principais trabalhos estão apresentados abaixo:

Ano	Título do Trabalho	Referência
1997	Determinação de Vitamina C por Método Cinético de Análise	1
1998	Determinação de Vitamina C em Sucos e Polpas de Frutas através de Análise Cinética de Ácido Ascórbico	2
1999	Determinação de Vitamina C em Suco de Acerola através de Titulação Espectrofotométrica	3
2000	Estudo Analítico do Ácido Ascórbico como Agente Modificador da Luminescência da Reação do Luminol com H_2O_2 em Meio Alcalino na Presença de Cu^{2+}	4
2001	Determinação Cinética de Ácido Ascórbico em medicamentos com técnica quimiluminescente	5
2001	Sistema de Medidas para o Monitoramento Cinético de Reações Quimiluminescentes	6
2002	A Quimiluminescência como Ferramenta Analítica: do Mecanismo a Aplicações da Reação do Luminol em Métodos Cinéticos	8
2003	Monitoramento de Quimiluminescência por câmera com CCD: Determinação de Ácido Ascórbico em Medicamento	7
2004	Aquisição de Dados Analógicos através de uma Interface Gráfica em HTML	10
2004	Sensor Óptico de pH obtido por Processo Sol-Gel	9
2005	Software para Controle e Aquisição de Dados de Cromatografia Bidimensional Compreensiva	12
2006	Identificação de Contaminação de Solos por Derivados de Petróleo por Cromatografia Gasosa Bidimensional Compreensiva (GC x GC)	20
2007	Otimização das condições de operação de um modulador crisocópico <i>home-made</i> para GCxGC	13
2007	Quantificação de Querosene em Gasolina através de CGxCG combinada com Análise Multivariada de dados de ordem superior	21
2008	Identification of Gasoline Adulteration Using Comprehensive Two Dimensional Gas Chromatography (GCxGC) combined to Multivariate Data Processing	14
2008	A software package for Comprehensive Bidimensional Gas Chromatography: 1 Real Time Data Acquisition and System Control	15
2008	A software package for Comprehensive Bidimensional Gas Chromatography: 2 Peak Detection and Integration	16
2008	Quantification of Kerosene in Gasoline by Comprehensive two-dimensional gas chromatography and N-Way Multivariate Analysis	18
2008	Identification of gasoline adulteration using comprehensive two-dimensional gas chromatography combined to multivariate data processing	19
2008	Software para Cálculo Estocástico de Parâmetros para Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente	22
2009	Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente (GCxGC)	17

Resumo

A Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente (**GCxGC**) é uma técnica analítica capaz de separar e detectar centenas de picos, sendo aplicada a diferentes amostras petroquímicas, ambientais e biológicas. Esta técnica se diferencia da Cromatografia Gasosa (**GC**) pela utilização de duas colunas cromatográficas de composições e dimensões diferentes conectadas em série e de uma interface para a coleta das frações da primeira coluna e para a reinjeção na segunda em períodos regulares, denominada modulador. Além disso, por apresentar picos mais estreitos ($w_b \leq 500ms$), a frequência de aquisição utilizada é maior ($\geq 100Hz$), gerando arquivos que ultrapassam a capacidade de aplicativos comerciais. Assim, no desenvolvimento de sistemas próprios **GCxGC**, tem-se a necessidade de criar programas ou *softwares* para controle e tratamento de dados. Neste trabalho, foram desenvolvidos dois sistemas de controle distintos para sistemas **GCxGC** montados neste laboratório¹¹. O primeiro, denominado **CROMATOGRAFIA**, foi criado baseando-se no conceito de desenvolvimento de *software* da Fundação do Software Livre, ou seja, utilizou-se recursos de programação e de rede do sistema operacional **Linux** para realizar o controle e tratamento dos dados cromatográficos em um microcomputador e conversor A/D. Por outro lado, o segundo sistema, denominado **LABVIEW**, foi criado baseando-se no conceito de otimização de *hardware*, ou seja, utilizou-se um microcomputador e conversor A/D de médio desempenho em conjunto com uma linguagem de programação de alto nível específica para a automação de instrumentos. Ambos os sistemas de controle foram aplicados e validados em relação ao sinal monitorado, exatidão temporal e controle do modulador, verificando-se que o sistema **LABVIEW** apresentou resultados mais exatos para as análises qualitativa e quantitativa. Apesar de suas limitações iniciais, o sistema **CROMATOGRAFIA** com *kernel soft real-time* também foi aplicado com precisão e exatidão para controle dos sistemas **GCxGC**, salientando-se que seus módulos de tratamento e representação gráficas apresentaram melhor desempenho que aplicativos comerciais utilizados.

Abstract

Comprehensive Two-dimensional Gas Chromatography (**GCxGC**) is an analytical technique used to separate hundreds of peaks and applied on different samples, like petrochemical products, environmental and biological materials. This technique differs from conventional Gas Chromatography (**GC**) by use of two serial connected capillary columns with different stationary phases and dimensions and a modulator, an interface that collects first column eluate fractions and reinjects them on second at regular time. Furthermore, data acquisition frequency must be higher ($\geq 100Hz$), because peak width acquired on **GCxGC** systems ($w_b \leq 500ms$) is narrow than conventional **GC**, resulting large data files to process with commercial softwares. On **GCxGC** system developments is necessary to create softwares for controlling and evaluating chromatographic data parameters. At this research two different control systems were developed and applied to automate two home-made **GCxGC** systems. First control system, called **CROMATOGRAFIA**, was developed based on Free Software Foundation concept, i.e., it was developed on low level programming language and TCP/IP protocols within Linux O.S to control microcomputer and A/D conversor. On the other hand, second system, called **LABVIEW**, was developed on hardware optimize, i.e., it was developed with medium performance microcomputer and A/D conversor, using a commercial high-level visual programming language which is specific for automating instrument (NI Labview). Both control systems were checked performance by signal and real-time studies and applied for qualitative and quantitative analysis. **LABVIEW** system had better accuracy and precise results and, although its initial limits, **CROMATOGRAFIA** system with *soft real-time kernel* could be applied to accuracy and precise control **GCxGC** system with better 3D graphic representation and chromatographic data treatment than used commercial graphic softwares.

Lista de Abreviaturas

$^1 t_R$	tempo de retenção na primeira dimensão
$^2 t_R$	tempo de retenção na segunda dimensão
σ	desvio-padrão de um pico cromatográfico
σ^2	variância de um pico cromatográfico
A	Área do pico cromatográfico
BTEX	<i>Grupo de Hidrocarbonetos Aromáticos: Benzeno, Tolueno, Etil-benzeno e o-Xileno</i>
CLAE-CG	<i>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Cromatografia Gasosa</i>
CPU	<i>Central Processing Unit</i> ou <i>Unidade de Processamento Central</i>
CT	<i>CorTe</i> ou <i>patamar de corte</i>
DFT	<i>Discret Fourier Transform</i> ou <i>Transformada Discreta de Fourier</i>
E	excesso (assimetria do pico cromatográfico)
EMG	<i>Exponential Modified Gaussian</i> ou <i>função gaussiana exponencialmente modificada</i>
Fast-GC	<i>Cromatografia Gasosa Rápida</i>
FD	<i>Fator de Derivação</i> ou <i>patamar de inclinação</i>
FFT	<i>Fast Fourier Transform</i> ou <i>Transformada Rápida de Fourier</i>
FID	<i>Flame Ionization Detector</i> ou <i>Detector por Ionização em Chama</i>
FR	<i>Fator de Ruído</i> ou <i>patamar de ruído</i>
FSF	<i>Free Software Foundation</i> ou <i>Fundação do Software Livre</i>
GC	<i>Gas Chromatography</i> ou <i>Cromatografia Gasosa</i>
GC-GC	<i>GC Bidimensional por Frações Parciais</i> ou <i>Heart-Cut</i>
GCxGC	<i>Comprehensive Two-dimensional Gas Chromatography</i> ou <i>Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente</i>
GUI	<i>Graphic User Interface</i> ou <i>Interface Gráfica do Usuário</i>
GNU	<i>GNU is Not Unix</i>
h	Altura do pico cromatográfico
HTML	<i>Hyper-Text Marked Language</i>
IDE	<i>Interface Development Environment</i> ou <i>Ambiente de Desenvolvimento de Interfaces</i>
JD	<i>Janela de Derivação</i>
μ - ECD	μ - <i>Electron-Capture Detector</i> ou <i>Microdetector de Captura de Elétrons</i>
N	número de pratos teóricos
NCD	<i>Nitrogen Chemiluminescence Detector</i> ou <i>Detector Quimiluminescente de Nitrogênio</i>
NPD	<i>Nitrogen-Phosphorus Detector</i> ou <i>Detector Seletivo de Nitrogênio e Fósforo</i>
N-PLS	<i>Multi-way Partial Least-Squares</i>
OS	<i>Operational System</i> ou <i>Sistema Operacional</i>
PARAFAC	<i>Parallel Factor Analysis</i>
PC	<i>Personal Computer</i> ou <i>Computador Pessoal</i>
PCB	<i>Poly-Chlorinated Biphenyl</i> ou <i>bifenilas policloradas</i>
PAH	<i>Polycyclic Aromatic Hydrocarbons</i> ou <i>policiclo-aromáticos</i>
PHP	<i>Hypertext Preprocessor</i>
P_M	<i>Período de Modulação</i>
qMS	<i>Quadrupole Mass Spectrometer</i> ou <i>Espectrômetro de Massa por Quadrupolo</i>
R_s	resolução cromatográfica
RAM	<i>Random Access Memory</i> ou <i>Memória de Acesso Aleatório</i>
ROM	<i>Read Only Memory</i> ou <i>Memória apenas de Leitura</i>
S	<i>skew</i> (assimetria do pico cromatográfico)
SCD	<i>Sulfur Chemiluminescence Detector</i> ou <i>Detector Quimiluminescente de Enxofre</i>
(SFC)-GC	<i>Cromatografia de Fluido Supercrítico acoplada com GC</i>
t_R	tempo de retenção de um pico cromatográfico
TOF-MS	<i>Time- Of -Flight Mass Spectrometer</i> ou <i>Espectrômetro de Massa por Tempo de Voo</i>
USB	<i>Universal Serial Bus</i> ou <i>Barramento Serial Universal</i>
V	volume de um pico cromatográfico
VoIP	<i>Voice Over IP</i> ou <i>Telefonia por IP</i>
w	largura de um pico cromatográfico
$w_{1/2}$	largura do pico cromatográfico a meia altura
w_b	largura do pico cromatográfico na base
Web	<i>World Wide Web</i> ou <i>Rede Mundial de Computadores</i>
XML	<i>eXtensible Marked Language</i>

Lista de Tabelas

1.1	Exemplos de métodos quantitativos baseados na técnica de GCxGC	13
1.2	Exemplos de métodos quimiométricos utilizando a técnica de GCxGC	14
2.1	Valores para as constantes p e $b(n)$ utilizados nas equações 2.5 e 2.6 ²³	19
2.2	Equações de parâmetros cromatográficos convencionais, bidimensionais cartesianos ²⁴ e polares.	29
10.1	Picos detectados na análise quantitativa de aromáticos com sistema CROMATOGRAFIA	96
10.2	Picos detectados do cromatograma da figura 10.8B.	104
10.3	Picos detectados do cromatograma da figura 10.8D.	106
10.4	Picos detectados na análise quantitativa de aromáticos com sistema LABVIEW	108
11.1	<i>Checklist</i> dos objetivos alcançados. ● Total; ● Parcial; ● Não Alcançado	112

Lista de Figuras

1.1	Diagrama de sistema GCxGC : (1) Injetor; (2) Coluna capilar 1 D; (3) Modulador; (4) Coluna capilar 2 D; (5) Detector; (6) Controle do cromatógrafo; (7) Forno; (8) Controle de Gases: (<i>Injetor</i>) (i) gás de arraste, (ii) gás de purga e (iii) linha de <i>split</i> ; (iv) linha de $H_{2(g)}$, (v) linha de ar sintético e (vi) linha de gás de <i>Makeup</i>	4
1.2	Representação de um cromatograma de GCxGC de gasolina comum ampliado: (A) cromatograma obtido e (B) cromatograma reconstruído. Condições cromatográficas: HP-5 (25 m x 0,1 mm x 0,15 μ m) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; FID (T = 250 °C); injetor automático (T = 270 °C, split 1:100, 1,0 μ L).	6
1.3	Representação de um cromatograma de GCxGC de querosene comercial: (A) superfícies e (B) diagrama de contorno. Condições cromatográficas: HP-5 (25 m x 0,1 mm x 0,15 μ m) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; FID (T = 250 °C); injetor automático 0,1 μ L (T = 270 °C, split 1:100).	7
1.4	Cromatograma bidimensional de nafta leve: Fenômenos de (A) <i>Wrap-around</i> , (B) <i>Breakthrough</i> e Estruturação Química: (C) Hidrocarbonetos Alifáticos, (D) Aromáticos e (E) Naftalênicos. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,1 mm x 0,15 μ m) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; detector FID (T = 250 °C); injetor automático 1 μ L (T = 270 °C, split 1:100).	8
1.5	Ciclo de Modulação de um modulador criogênico de dois jatos: (1) Coleta dos solutos da 1ª dimensão; (2) Reaquecimento da fração; (3) Focalização; e (4) Reinjeção na 2ª dimensão.	10
1.6	Ciclo de Modulação de um modulador criogênico de quatro jatos: (1) Coleta dos solutos da 1ª dimensão; (2) Coleta e pré-focalização da fração; (3) Aquecimento e focalização da fração; e (4) Coleta da 1ª e Reinjeção na 2ª dimensão.	11
2.1	Representação dos parâmetros cromatográficos em GC ²³ : (t_R) tempo de retenção; (h) altura do pico; ($w_{1/2}$) largura do pico a meia altura; ($\frac{b}{a}$) assimetria horizontal; (A) área do pico; (w_b) largura da base; (R_s) resolução; (i) início e (f) fim do pico.	16
2.2	Ilustração de simulações de curvas (A) simétricas ou gaussianas e (B) assimétricas. . . .	17
2.3	Determinação dos limites de integração: (A) <i>threshold</i> (1 fixo e 2 variável); (B) quadrantes de um pico gaussiano simétrico; (C) primeira derivada do pico; e (D) segunda derivada. .	24

2.4	Representação dos parâmetros cromatográficos em GCxGC : ($^1t_R, ^2t_R$) tempos de retenção; (h) altura; (A) Área; (V) volume; ($^1\sigma, ^2\sigma$) desvios padrão; ($^1w, ^2w$) larguras; ($^1R_s, ^2R_s$) resoluções.	25
2.5	Representação dos parâmetros cromatográficos em GCxGC : (r_n, θ_n) tempo de retenção em coordenadas polares; (h) altura do pico; (W_b) largura do pico; (V) volume do pico; (R_s) resolução.	28
2.6	Representações de um cromatograma bidimensional de gasolina comum em coordenadas (A) cartesiana e (B) polar: (1) hidrocarbonetos alifáticos e naftênicos; e (2) aromáticos. Condições cromatográficas: HP-5 (25 m x 0,1 mm x 0,25 μ m) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; detector FID (T = 250 °C); injeção manual 0,2 μ L (T = 270 °C, split 1:100).	30
3.1	Diagrama ilustrativo do planejamento de <i>softwares</i> para GCxGC	32
3.2	Diagrama ilustrativo dos algoritmos dos filtros: (A) de Média ou <i>box average</i> ; (B) de Média Móvel; e (C) de Savitzky-Golay.	36
3.3	Comparação ilustrativa do retorno do processamento de uma tarefa após o tempo limite (Δ) entre OS convencional, <i>soft real-time</i> e <i>hard real-time</i>	39
3.4	As camadas de um sistema UNIX ²⁵	41
6.1	Esquema do sistema GCxGC estudado: (<i>vista interna do modulador</i>) (1,2) cabeçote dos jatos criogênicos; (3) isolamento térmico do forno; (4) coluna cromatográfica; (<i>vista do modulador montado</i>) (5) soprador térmico; (6) tampa do forno; (7) forno; (<i>vista interna do sistema de resfriamento do gás criogênico</i>) (8) linha de N_2 ; (9) Espiral de Cobre; (10) Dewar; (11) saída de gás resfriado; (<i>sistema completo</i>) (A) cromatógrafo a gás; (B) válvulas solenóides; (C) modulador criogênico; (D) microcomputador; (E) sistema de resfriamento; (F) linha de N_2	52
6.2	Esquema ilustrativo dos circuitos de amplificação e controle do sistema GCxGC com Duplo Jato Crioscópico: (A) fontes simétricas de 5 e 12 V e circuitos de amplificação; (B) circuitos de controle de válvulas; e (C) circuito para monitoramento do início da corrida.	53
6.3	Esquema do sistema GCxGC estudado: (<i>vista do modulador</i>) (1,2) entrada de gás resfriado e aquecido; (3) saída de gases; (4) coluna cromatográfica; (<i>vista do sistema de aquecimento</i>) (5) entrada de N_2 ; (6) saída do gás aquecido; (7) cartuchos de aquecimento; (8) isolamento; (9) controle eletrônico; (<i>vista interna do sistema de resfriamento do gás criogênico</i>) (10) linha de N_2 ; (11) Espiral de Cobre; (12) Dewar; (13) saída de gás resfriado; (<i>sistema completo</i>) (A, B) válvulas de 3 canais; (C) sistema de resfriamento; (D) sistema de aquecimento; (E) cromatógrafo a gás; (F) microcomputador; (G) linha de N_2	54
7.1	Diagrama lógico do programa CROMAT : (A) serviço tipo <i>cliente-servidor</i> (<i>parent</i>); (B) controle do sistema (<i>child</i>). Código em C apresentado em Anexo 1	59

7.2	Diagrama lógico do módulo CROMATO : (A) serviço <i>cliente-servidor</i> ; (B) visualizar cromatograma. Código apresentado em Anexo 2	61
7.3	Diagrama lógico do módulo CROMATOG : (A) serviço <i>cliente-servidor</i> ; (B) reiniciar serviços. Código apresentado em Anexo 3	63
7.4	Diagrama ilustrativo do módulo CROMATOGR. PM : Período de Modulação.	65
7.5	Diagrama lógico do módulo CROMATOGR . Código apresentado em Anexo 4	66
7.6	Diagrama lógico do módulo CROMATOGRA . Diagramas apresentados em Anexo 5 . . .	68
7.7	GUI do módulo CROMATOGRA : (A) apresentação de representação gráfica de contorno colorido; (B) controle de ferramentas gráficas; e (C) lista de picos encontrados.	69
7.8	GUI do sistema CROMATOGRAFIA : (A) Controle de CROMAT ; (B) Controle de CROMATO ; (C) Monitor de Tempo de Corrida; (D) Seletor de Monitores de Gráficos e Controle de CROMATOGR ; (E) e (F) Monitores de Aquisição de dados. <i>Scripts</i> apresentados em Anexo 6	70
8.1	Diagrama lógico do sistema LABVIEW . O Diagrama na linguagem NI Labview está apresentado no Anexo 7	72
8.2	Diagramas lógicos das funções (A) <i>iniciar</i> , (B) <i>leitura</i> e (C) <i>controle</i> do sistema LABVIEW	73
8.3	GUI criada com a linguagem <i>Labview</i> : (A) gráfico ampliado no P_M ; (B) controle da corrida cromatográfica; e (C) gráfico principal.	74
9.1	Variação no período de abertura das válvulas criogênicas ($t_m = 2$ s) comparando-se a execução dos programas de monitoramento: (A) apenas CROMAT por rede; (B) apenas CROMAT ; (C) CROMAT e CROMATO por rede; e (D) CROMAT e CROMATO	78
9.2	Impacto do erro temporal no controle das válvulas do modulador: (A) erro temporal relativo; (B) atraso acumulado durante a corrida; (C) ampliação de cromatograma com erro temporal; (D) ampliação de cromatograma de contornos corrigido. Amostra de Gasolina Comum. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μm); modulador de duplo-jato; detector FID ($T = 250^\circ\text{C}$); injeção manual 0,2 μL ($T = 250^\circ\text{C}$, split 1:100).	79
9.3	Desempenho do sistema CROMATOGRAFIA com OS soft real-time : (A) erro temporal relativo; (B) atraso acumulado durante a corrida; (C) variação no período de abertura das válvulas criogênicas; e (D) variação no tempo de corrida cromatográfica.	80
9.4	Monitoramento de sinal cromatográfico: (A) sinal 'TEST PLOT' obtido pelo sistema; (B) sinal 'TEST PLOT' esperado; (C) cromatograma de gasolina comum; e (D) cromatograma de gasolina comum. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μm); modulador de 4 jatos; detector FID ($T = 250^\circ\text{C}$); injeções manuais de (C) 0,2 μL e (D) 1,0 μL ($T = 250^\circ\text{C}$, split 1:100).	81

- 9.5 Determinação dos parâmetros iniciais de integração: (A) pico gaussiano e os parâmetros: (1) início do pico, (2) fim do pico, (3) patamar de ruído, **FR**, (4) patamar de inclinação, **FD**, (5) janela de derivação, **JD**, (6) Área do pico e (7) patamar de Corte de Área, **CT**; (B) erro relativo da integração em relação à janela de derivação (**JD**) usada: (*vermelho*: 3, *verde*: 5 e *azul*: 7); (C) erro relativo da integração em relação a **FR** e **FD** para cromatograma 1; (D) variação da integração em relação a **FR** e **FD** para cromatograma 2. Cromatograma 1: $V = 70000$; $\sigma_x = 1,0$; $\sigma_y = 3,0$; ${}^1t_R = 90$; ${}^2t_R = 90$; ${}^1t_R = 110$; ${}^2t_R = 110$, $A/r = 1241$. Cromatograma 2: valores de V , 1t_R e 2t_R iguais ao anterior; $\sigma_x = 2,75$; $\sigma_y = 7,5$; $A/r = 77$. 83
- 9.6 Avaliação do módulo **CROMATOGR**: (A) cromatograma simulado com a equação 9.1 ($s/r = 405$; $\sigma_x = 1,0$; $\sigma_y = 5,5$; $R = 0,65$; $V = 70000$); (B) erro relativo da integração em relação às resoluções nas duas dimensões; (C) cromatograma simulado monodimensional; e (D) variação da integração em relação ao desvio-padrão do pico nas duas dimensões. Integração: Fator de Derivada, **FD**: 0,95; Fator de Ruído, **FR**: 0,50; Janela de Derivação, **JD**: 5; Corte, (**CT**): 5000. 84
- 9.7 Avaliação do módulo **CROMATOGR**: (A) erro relativo da integração em relação à razão da largura pelo ruído, w/r ; (B) erro relativo da integração em relação a razão sinal-ruído (A/n); (C) variação da integração em relação à razão volume e desvio-padrão do pico (V/σ); e (D) variação da integração em relação ao ruído simulado. Integração: **FD**: 0,95; **FR**: 0,50; **JD**: 5; **CT** = 5000. Cromatograma de 2 picos simulados: $V = 70000$; $\sigma_x = 0,5$; $\sigma_y = 3,0$; ${}^1t_R = 90$; ${}^2t_R = 90$; ${}^1t_R = 105$; ${}^2t_R = 105$ 85
- 9.8 Monitoramento de sinal cromatográfico: (A) sinal 'TEST PLOT' obtido pelo sistema; (B) cromatograma modulado de mistura de alcanos alifáticos ($C_8 - C_{20}$, **1-13**, respectivamente); (C) cromatograma da mistura de alcanos; e (D) cromatograma da mistura de alcanos em escala logarítmica. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm) x SPWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μm); modulador de 4 jatos; detector **FID** ($T = 250^\circ\text{C}$); injeção automática ($T = 250^\circ\text{C}$, *split* 1 : 100; 1,0 μL). 87
- 9.9 Avaliação do sistema **LABVIEW**: (A) cromatograma de gasolina comum com erro temporal de aquisição; (B) cromatograma corrigido com 70 ms de atraso; (C) cromatograma de gasolina comum com erro temporal; (D) cromatograma corrigido com 60 ms de atraso. Condições cromatográficas: DB-1 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) x DB-50 (1 m x 0,1 mm x 0,1 μm); modulador de 4 jatos; detector **FID** ($T = 250^\circ\text{C}$); injeção manual ($T = 250^\circ\text{C}$, *split* 1 : 100; 1,0 μL). 89
- 10.1 Análise qualitativa de gasolina comum: (A) cromatograma; (B) cromatograma com picos numerados; (C) cromatograma em escala logarítmica; (D) cromatograma em escala logarítmica com gráfico de bolhas. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μm); modulador de duplo-jatos; detector **FID** ($T = 250^\circ\text{C}$); injeção manual ($T = 250^\circ\text{C}$, *splitless*; 0,2 μL). Integração: **FD**= 0,95; **FR** = 0,50; **JD** = 5; **CT** = 500 bits. Curvas de Contorno em 250 bits. 92

- 10.2 Análise qualitativa dos cromatogramas de querosene: (A) cromatograma; (B) cromatograma com picos numerados; (C) cromatograma em escala logarítmica; (D) cromatograma em escala logarítmica com gráfico de bolhas. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de duplo-jatos; detector **FID** (T = 250 °C); injeção manual (T = 250 °C, *splitless*; 0,2 μ L). Integração: **FD** = 0,95; **FR** = 0,50; **JD** = 5; **CT** = 10000 bits. Curvas de Contorno em 250 bits. 93
- 10.3 Análise qualitativa por *fingerprint*: (A) cromatograma de padrões de alcanos (C8 – C20); (B) cromatograma de padrões de aromáticos (**BTEX**); (C) cromatograma de gasolina comum com curvas de contorno de alcanos; (D) cromatograma de querosene com curvas de contorno de aromáticos. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de duplo-jatos; detector **FID** (T = 250 °C); injeção manual (T = 250 °C, *splitless*; 0,2 μ L). Integração: **FD** = 0,95; **FR** = 0,50; **JD** = 5; **CT** = 10000 bits. Curvas de Contorno em 250 bits. 94
- 10.4 Cromatogramas da mistura de **BTEX** e da gasolina com adição dos padrões: (A) Mistura de aromáticos **BTEX** (10,00 %); (B) gasolina comum sem adição; (C) gasolina comum com adição de padrão (10,00 %); (D) ampliação do cromatograma B. 95
- 10.5 Variação do volume calculado em relação a concentração de aromáticos pelo método de adição de padrão de **BTEX** em gasolina: (A) Benzeno (B) Tolueno; (C) Etil-Benzeno ($V = 1,88 \cdot 10^5 + 3,582 \cdot 10^4 [E]$, $r^2 = 0,8895$); (D) *o*-Xileno ($V = 2,86 \cdot 10^5 + 6,829 \cdot 10^4 [X]$ ($r^2 = 0,9873$)). Integração: **FD**: 0,05; **FR**: 0,05; **JD**: 5; **CT**: 5000. 98
- 10.6 Cromatograma de solução de padrão de alcanos (C8 – C20): (A) cromatograma; (B) cromatograma com picos numerados; (C) cromatograma em escala logarítmica; (D) cromatograma em escala logarítmica com gráfico de bolhas. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x SPWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; detector **FID** (T = 250 °C); injeção automática (T = 250 °C, *split* 1 : 100; 1,0 μ L). Integração: **FD** = 0,95; **FR** = 0,50; **JD** = 5; **CT** = 500 bits. Curvas de Contorno em 250 bits. 100
- 10.7 Análise qualitativa de produtos petroquímicos: (A) cromatograma de gasolina comum; (B) cromatograma de nafta leve; (C) cromatograma de querosene (atenuado 4 vezes); (D) cromatograma de gasolina aditivada. Condições cromatográficas: HP-5 (25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x HP-50 (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; detector **FID** (T = 250 °C); injeção automática (T = 250 °C, *split* 1 : 100; 1,0 μ L). Curvas de Contorno em 1500 bits para os cromatogramas A, B e D e 250 bits para C. 101
- 10.8 Análise qualitativa de produtos naturais: (A) cromatograma de óleo essencial de virola (*Virola surinamensis*); (B) reconhecimento de picos do cromatograma **A**; (C) cromatograma de óleo essencial de cataia (*Drimys winterii*); (D) reconhecimento de picos do cromatograma **C**. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x SPWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; detector **FID** (T = 250 °C); injeção automática (T = 250 °C, *split* 1 : 100; 1,0 μ L). Integração: **FD** = 0,95; **FR** = 0,50; **JD** = 5; **CT** = 500 bits. Curvas de Contorno em 250 bits. 102

- 10.9 Análise de aromáticos em produtos petroquímicos: (A) ampliação de cromatograma de gasolina comum; (B) ampliação de cromatograma de nafta leve; (C) ampliação de cromatograma de querosene (atenuado 4 vezes); (D) ampliação de cromatograma de gasolina aditivada. Condições cromatográficas: HP-5 (25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x HP-50 (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; detector **FID** (T = 250 °C); injeção automática (T = 250 °C, *split* 1 : 100; 1,0 μ L). Integração: **FD**= 0,95; **FR** = 0,50; **JD** = 5; **CT** = 500 bits. Curvas de Contorno em 1500 bits para os cromatogramas A, B e D e 250 bits para C. . . 107
- 10.10 Curvas de calibração obtidas para a análise de **BTEX** em gasolina: (A) $V = -1,15 \cdot 10^4 + 1,593 \cdot 10^5$ [B] ($r^2 = 0,9956$, **LD** = 0,23 %, **LQ** = 0,72 %); (B) $V = -9,82 \cdot 10^3 + 1,754 \cdot 10^5$ [T] ($r^2 = 0,9974$, **LD** = 0,18 %, **LQ** = 0,56 %); (C) $V = -1,42 \cdot 10^4 + 1,808 \cdot 10^5$ [E] ($r^2 = 0,9989$, **LD** = 0,26 %, **LQ** = 0,78 %); (D) $V = -1,62 \cdot 10^4 + 1,758 \cdot 10^5$ [X] ($r^2 = 0,9991$, **LD** = 0,30 %, **LQ** = 0,92 %);. Integração: **FD**: 0,95; **FR**: 0,50; **JD**: 5; **CT**: 5000. **LD** e **LQ** calculados baseados nos parâmetros da curva analítica²⁶. 109

Sumário

I	Revisão Teórica	1
1	Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente	3
1.1	Detectores utilizados para GCxGC	5
1.2	Conjuntos de Colunas utilizadas em GCxGC	7
1.3	Moduladores Criogênicos	9
1.4	Aplicações de GCxGC	12
2	Parâmetros Cromatográficos em GCxGC	15
2.1	Definição dos Parâmetros	15
2.2	Parâmetros em GC	16
2.2.1	Caracterização de Picos Assimétricos	18
2.3	Determinação dos Limites de Integração	23
2.4	Parâmetros em GCxGC	25
2.4.1	A Utilização de Coordenadas Polares para GCxGC	27
3	Tecnologias de Informação em GCxGC	31
3.1	Desenvolvimento de <i>softwares</i> para GCxGC	31
3.1.1	Formatação e Armazenamento de dados	32
3.1.2	Visualização de dados	34
3.1.3	Tratamento de Ruído	35
3.1.4	Controle de Sistemas <i>real-time</i>	38
3.1.5	Interfaces Gráficas	42

II	Objetivos	43
4	Objetivos a serem alcançados	45
III	Parte Experimental	47
5	Condições Cromatográficas e Instrumentação	49
5.1	Condições Cromatográficas	49
5.2	Aplicativos e Softwares	50
6	Descrição dos sistemas GCxGC	51
6.1	Sistema GCxGC com Duplo Jato Crioscópio ¹¹	51
6.2	Sistema GCxGC com 4 Jatos	54
7	Sistema de controle CROMATOGRAFIA	57
7.1	Desenvolvimento de software	57
7.1.1	O Módulo CROMAT	58
7.1.2	O Módulo CROMATO	60
7.1.3	O Módulo CROMATOG	62
7.1.4	O Módulo CROMATOGR	64
7.1.5	O Módulo CROMATOGRA	67
7.1.6	GUI do sistema CROMATOGRAFIA	69
8	Sistema de Controle LABVIEW	71
8.1	Desenvolvimento de software	71
IV	Resultados e Discussão	75
9	Validação dos sistemas de controle	77
9.1	Validação do sistema CROMATOGRAFIA	77
9.1.1	Validação do módulo CROMAT	77
9.1.2	Validação do módulo CROMATOGR	82
9.2	Validação do sistema LABVIEW	87

10 Aplicações dos Softwares Desenvolvidos	91
10.1 Sistema CROMATOGRAFIA	91
10.1.1 Análise Qualitativa de Produtos Petroquímicos	92
10.1.2 Análise Quantitativa de BTEX em gasolina	95
10.2 Sistema LABVIEW	99
10.2.1 Análise Qualitativa de Produtos Petroquímicos	99
10.2.2 Análise Qualitativa de Produtos Naturais	102
10.2.3 Análise Quantitativa de BTEX em produtos petroquímicos	107
11 Comparação entre sistemas	111
11.1 Objetivos Alcançados	111
V Conclusões e Perspectivas	113
12 Conclusões	115
13 Perspectivas	117

Parte I

Revisão Teórica

Capítulo 1

Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente

Apesar de ser uma técnica analítica consagrada por sua sensibilidade, robustez e capacidade de separação e de detecção de dezenas de picos, a cromatografia gasosa (**GC**) encontrou sua limitação para misturas muito complexas com centenas e até milhares de picos²⁷. Mesmo a mais recente técnica de **GC**, *Fast-GC*, está limitada em separar e detectar cerca de 100 a 150 picos²⁷. Esta limitação de resolução cromatográfica pode ser explicada segundo a equação 1.1²⁸. Para se obter maior resolução cromatográfica (R_s) pode-se aumentar o número de pratos teóricos (**N**) através do aumento do comprimento da coluna cromatográfica ou pela diminuição do tamanho das partículas da fase estacionária (os fatores de retenção e seletividade, k'_b e α , dependem somente da fase estacionária e dos solutos). Contudo, colunas de maior comprimento aumentam o tempo de análise e, em colunas empacotadas, a tecnologia da construção de colunas chegou ao limite na granulometria dos materiais utilizados como filme da fase estacionária de colunas (de 50 μm)²⁹.

$$R_s = \left(\frac{\sqrt{N}}{4} \right) \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{1 + k'_b}{k'_b} \right) \quad (1.1)$$

Com intuito de melhorar ainda mais a técnica cromatográfica, a *Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente* (**GCxGC**) vem se destacando como a possível resposta. Esta nova técnica é baseada no aumento da resolução cromatográfica pela

aplicação de duas separações independentes em todo conteúdo da amostra^{27,29}. Para isto, a amostra é inicialmente separada em coluna capilar normalmente utilizada em **GC** (por exemplo, com fase estacionária apolar e separação baseada na volatilidade dos solutos). Em seguida, pequenas frações do eluato desta primeira coluna são transferidas regularmente na segunda coluna de polaridade diferente (por exemplo, com fase polar e separação baseada na polaridade dos solutos). Esta reinjeção é realizada através de uma interface, denominada modulador. Após a separação na segunda dimensão, os solutos são detectados por um detector cujos tempo de retenção e sinal obtido estão correlacionados com as duas colunas ou dimensões cromatográficas e a massa ou concentração das espécies detectadas, respectivamente. E, em teoria, o aumento da resolução pode ser relacionado pelo aumento de eficiência do sistema e estima-se que esta eficiência seja o equivalente ao produto entre as capacidade de pico das duas colunas cromatográficas separadas^{29,30}. Na prática, um sistema **GCxGC** não se difere muito de instrumento **GC** convencional. Como pode ser observado na figura 1.1, as principais diferenças entre eles são a presença de um modulador e de uma nova coluna antes da detecção.

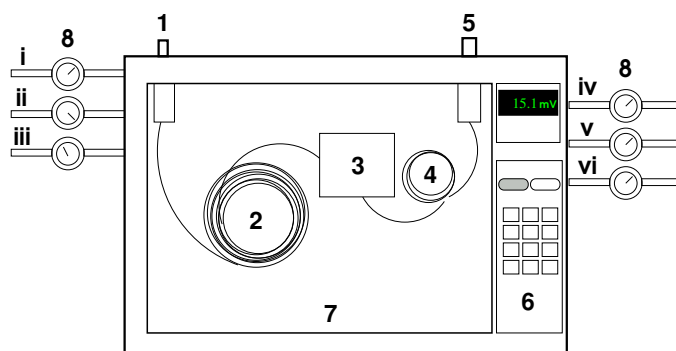


Figura 1.1: Diagrama de sistema **GCxGC**: (1) Injetor; (2) Coluna capilar 1 D; (3) Modulador; (4) Coluna capilar 2 D; (5) Detector; (6) Controle do cromatógrafo; (7) Forno; (8) Controle de Gases: (*Injetor*) (i) gás de arraste, (ii) gás de purga e (iii) linha de *split*; (iv) linha de $H_{2(g)}$, (v) linha de ar sintético e (vi) linha de gás de *Makeup*.

Contudo, para que este sistema apresente alta eficiência, deve-se selecionar um detector de **GC** com frequência adequada, o conjunto de colunas adequado para a amostra analisada e usar um modulador robusto e preciso.

1.1 Detectores utilizados para GCxGC

A aquisição e a detecção de um sistema **GCxGC** devem ser um pouco diferentes do sistema convencional. Segundo a literatura^{23,31}, o número de pontos para a caracterização de um pico cromatográfico deve ser da ordem de 20 a 30. Para um sistema convencional, com largura de picos da ordem de 1 a 3 s, uma frequência de aquisição de 10 a 20 Hz é suficiente para sua caracterização. Porém, picos de um sistema **GCxGC** apresentam larguras bem menores, da ordem de 80 a 500 ms, fazendo com que a frequência de aquisição deva ser de pelo menos 100 Hz. Por isso, sistemas **GCxGC** devem apresentar detectores por Ionização em Chama (*Flame Ionization Detector*, **FID**, 50 a 300 Hz) ou Espectrômetros de Massa por Tempo de Vôo (*Time-Of-Flight Mass Spectrometer*, **TOF-MS**, 50 a 500 espectros/s)³². Porém, aplicações de **GCxGC** com detectores com frequências menores também foram publicadas para análises qualitativas e quantitativas, como, por exemplo, micro-Detector por Captura de Elétrons (*μ -Electron-Capture Detector*, μ **ECD**, 5 a 50 Hz)^{33,34}, Detectores seletivos de Nitrogênio e Fósforo (*Nitrogen-Phosphorus Detector*, **NPD**, 20 Hz)^{32,33}, Detectores Quimiluminescentes de Nitrogênio e Enxofre (*Nitrogen Chemiluminescence Detector* e *Sulfur Chemiluminescence Detector*, **NCD** e **SCD**, 50 Hz)³² e Espectrometria de Massa por Quadrupolo (*Quadrupole Mass Spectrometer*, **qMS**, 33 a 50 espectros/s)^{32,35,36}.

Além disso, os dados obtidos em uma corrida cromatográfica podem apresentar grande volume de pontos por causa desta frequência. Estes dados, quando gravados em forma de vetor, podem ultrapassar 360.000 pontos ou alguns MBytes. Esta quantidade é suficiente para ultrapassar os limites de planilhas eletrônicas comuns (65536 pontos) e reduzir a velocidade de processamento de outros *softwares* matemáticos para o tratamento e visualização destes dados.

Outra característica importante é a modulação do sinal, ou seja, a cada período de modulação, a banda cromatográfica oriunda da 1ª dimensão é fatiada em frações que são, posteriormente, separados na 2ª dimensão. Assim, o cromatograma obtido é a junção de vários cromatogramas da 2ª dimensão das frações obtidas da 1ª dimensão e deve ser reconstruído para uma forma tridimensional. Esta reconstrução é realizada colocando estes cromatogramas da 2ª dimensão lado a lado, a cada período de modulação, gerando uma matriz de dados. O cromatograma original e reconstruído

podem ser ilustrados na figura 1.2. Desta forma, a análise quantitativa dos cromatogramas de **GCxGC** é complexa e, comumente, não é realizada por integradores e aplicativos que dependem de modelos matemáticos de regressão polinomiais e exponenciais para caracterizar os máximos ou picos cromatográficos^{12,37}, uma vez que os "morros" ou picos de **GCxGC** são resultados da soma dos picos unidimensionais modulados.

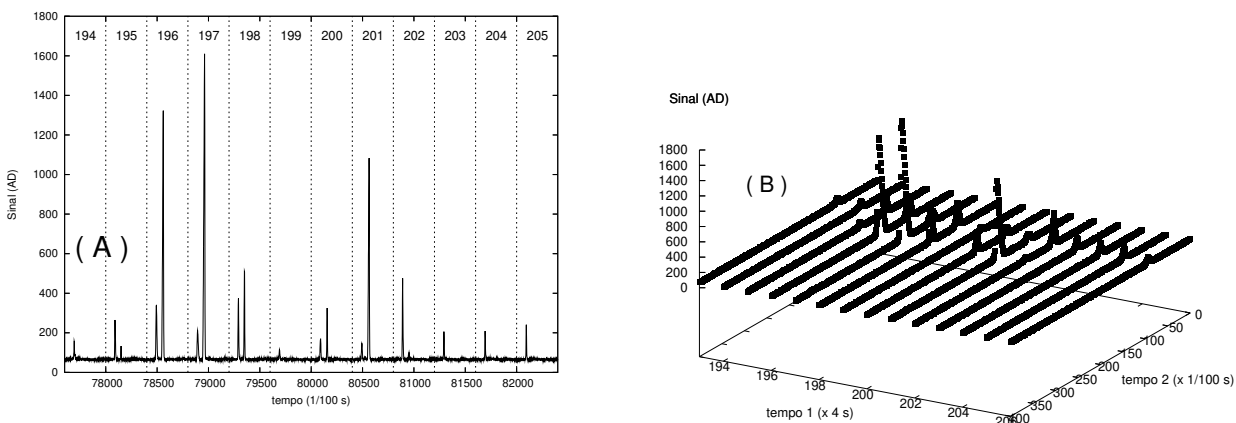


Figura 1.2: Representação de um cromatograma de **GCxGC** de gasolina comum ampliado: (A) cromatograma obtido e (B) cromatograma reconstruído. Condições cromatográficas: HP-5 (25 m x 0,1 mm x 0,15 μm) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μm); modulador de 4 jatos; FID ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$); injetor automático ($T = 270\text{ }^{\circ}\text{C}$, split 1:100, 1,0 μL).

Devido a correlação tridimensional, estes dados não devem ser visualizados ou representados nesta forma vetorial, já que dependem de 3 propriedades: o sinal do detector e os tempos de retenção dos solutos na primeira e na segunda dimensão. O resultado pode ser representado por uma superfície onde o eixo z representa o sinal cromatográfico e os eixos x e y representam os tempos de retenção na 1^a e 2^a dimensão, respectivamente, como o cromatograma apresentado na figura 1.3A. Mas, representando-se estes dados através de superfícies de contorno (figura 1.3B), torna-se mais fácil sua visualização e interpretação^{29,38}.

Geralmente, a maioria dos grupos de pesquisas desenvolvem seus próprios programas e rotinas computacionais para integração e cálculo de parâmetros cromatográficos dos dados^{37,39,40}, como será discutido no capítulo 3.

Outra forma de tratar estes dados, é a utilização de métodos quimiométricos multidimensional

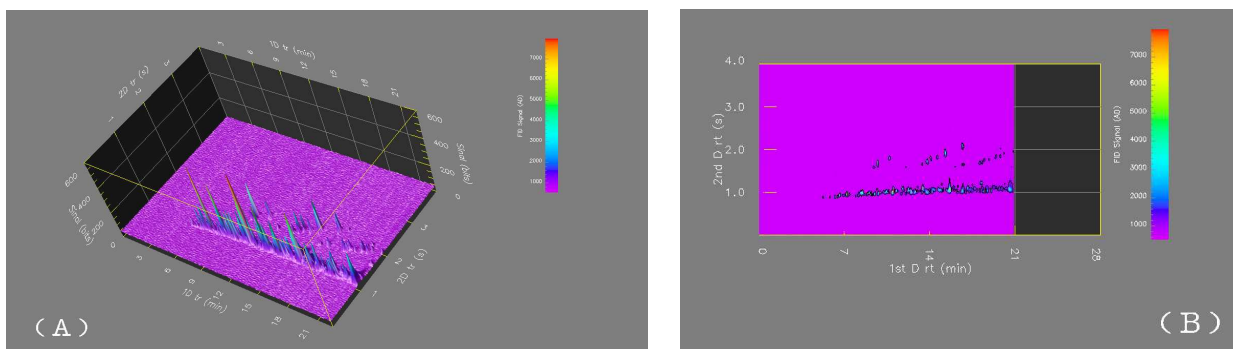


Figura 1.3: Representação de um cromatograma de **GCxGC** de querosene comercial: (A) superfícies e (B) diagrama de contorno. Condições cromatográficas: HP-5 (25 m x 0,1 mm x 0,15 μ m) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; FID (T = 250 °C); injetor automático 0,1 μ L (T = 270 °C, split 1:100).

mensionais de calibração, como **N-PLS** (*Multi-way Partial Least-Squares*) e **PARAFAC** (*Parallel Factor Analysis*)^{41–43}. Os dados tridimensionais obtidos por **GCxGC** são adequados para a construção dos modelos de calibração para estas técnicas multivariadas cujas aplicações serão exemplificadas no item 1.4.

1.2 Conjuntos de Colunas utilizadas em GCxGC

Na maioria das aplicações, a primeira dimensão escolhida é geralmente uma coluna capilar convencional (15-30 m x 0,25-0,32 mm x 0,1-1 μ m) contendo uma fase estacionária apolar e separando as espécies por suas volatilidades. Porém, após o modulador, a segunda dimensão deve ser menor tanto em comprimento quanto em diâmetro (0,5-2 m x 0,1 mm x 0,1 μ m) contendo uma fase estacionária com composição diferente (polar, com polaridade média ou seletiva) e separando as espécies por outro mecanismo (polaridade, polaridade e volatilidade ou separação enantiomérica). Esse comprimento menor é utilizado para que ocorra uma separação rápida e antes da próxima reinjeção^{27,29}. Caso o soluto fique retido por um período maior que o esperado, sua detecção ocorrerá fora do seu ciclo de modulação e caracterizará o fenômeno denominado *Wrap-around*. Por outro lado, se o soluto for aprisionado parcialmente pelo modulador, sua detecção será duplicada e este fenômeno é denominado *Espelhamento* ou *Breakthrough*⁴⁴. Além disso, fases estacionárias com diferentes mecanismos de

separação proporcionam o agrupamento de solutos com semelhantes propriedades, como grupos funcionais e polaridades. Este fenômeno é denominado *Estruturação Cromatográfica*⁴⁴ e, geralmente, é utilizado para análise qualitativa e identificação de analitos^{27,29} e amostras por *fingerprint*^{38,45}. A figura 1.4 apresenta um cromatograma bidimensional de nafta leve, exemplificando os fenômenos de *Wrap-around*, *Breakthrough* e a estruturação cromatográfica de alguns grupos, como os hidrocarbonetos alifáticos e alicíclicos, aromáticos e naftalênicos.

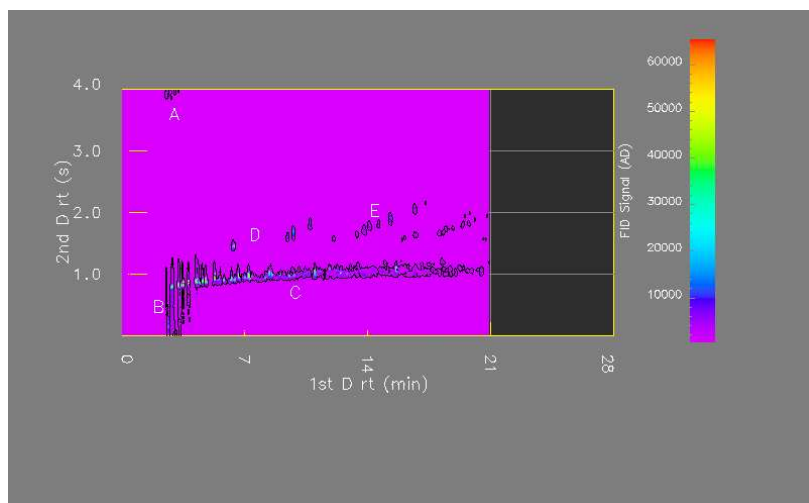


Figura 1.4: Cromatograma bidimensional de nafta leve: Fenômenos de (A) *Wrap-around*, (B) *Breakthrough* e Estruturação Química: (C) Hidrocarbonetos Alifáticos, (D) Aromáticos e (E) Naftalênicos. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,1 mm x 0,15 μ m) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; detector **FID** (T = 250 °C); injetor automático 1 μ L (T = 270 °C, split 1:100).

Para este conjunto de colunas *apolar x polar*, a análise de amostras petroquímicas apresenta os hidrocarbonetos alifáticos e alicíclicos de menor polaridade com menor tempo de retenção e os compostos aromáticos e naftalênicos com maior tempo de retenção na 2ª dimensão. A estruturação química destes compostos pode ser visualizada pela organização de seus picos em diagonais no cromatograma, como ilustrado na figura 1.4.

Por outro lado, pesquisadores têm aplicado conjunto de colunas com pouca diferença na composição de suas fases estacionárias para análise de alimentos e outras amostras mais complexas^{27,46,47}. A ortogonalidade não é estritamente necessária, porém a estruturação química não pode ser confirmada para um grupo de solutos já que os dois mecanismos de separação não são independentes⁴⁸.

1.3 Moduladores Criogênicos

Desde do início do desenvolvimento de sistemas **GCxGC**, o modulador é considerado a parte mais importante e, muitas vezes, sendo chamado de "coração" da técnica³². O modulador tem como objetivo injetar todo conteúdo das frações da 1ª coluna ou dimensão na 2ª em períodos regulares. Dentre as diferentes formas de realizar esta etapa, destacam-se as baseadas em *mudanças de temperatura e operação de válvulas*⁴⁹. A primeira forma utiliza o resfriamento e aquecimento de um pedaço da coluna cromatográfica para aprisionar as substâncias voláteis antes de entrar na segunda coluna^{17,50–52}. A segunda utiliza válvulas para recolher alíquotas da primeira coluna e injetar na segunda^{53–57}.

Dentre os diferentes *designs*, os moduladores criogênicos fixos são os mais robustos por não dependerem de partes móveis e por não apresentarem perdas nas reinjeções na 2ª dimensão³². Estes moduladores operam com fluidos criogênicos (por exemplo, $CO_{2(l)}$ ou $N_{2(g)}$) para o aprisionamento e focalização das frações e gases aquecidos (ar ou $N_{2(g)}$) ou próprio forno do cromatógrafo para reinjeção na 2ª dimensão. Por exemplo, um modulador de duplo-jato^{11,13,32,58} consiste em dois cabeçotes que controlam o resfriamento de um pequeno segmento no final da 1ª coluna ou no início da 2ª coluna e utiliza um forno secundário ou o próprio forno do cromatógrafo para o reaquecimento, conforme ilustra a figura 1.5.

Seu funcionamento apresenta quatro etapas fundamentais: a coleta da fração da 1ª dimensão, reaquecimento da fração, focalização da fração e reinjeção na 2ª dimensão. Na etapa de coleta, os solutos são aprisionados com o primeiro jato criogênico de líquido ou gás resfriado pela abertura de uma válvula. Após o fechamento do primeiro jato, esta fração aprisionada é reaquecida através de um gás aquecido ou com próprio calor do forno e percorre a coluna até o próximo jato. Com a abertura do segundo jato, a fração é focalizada em uma banda mais estreita e, simultaneamente, uma nova fração da 1ª coluna pode chegar ao primeiro jato. Por fim, fecha-se o segundo jato e abre-se o primeiro, reaquecendo e reinjetando a fração na 2ª dimensão e reiniciando todo o processo com uma nova fração. O ciclo completo de modulação é denominado *Período de Modulação* (P_M) e é realizado durante toda a corrida cromatográfica, conforme ilustrado na figura 1.5^{11,32,59}.

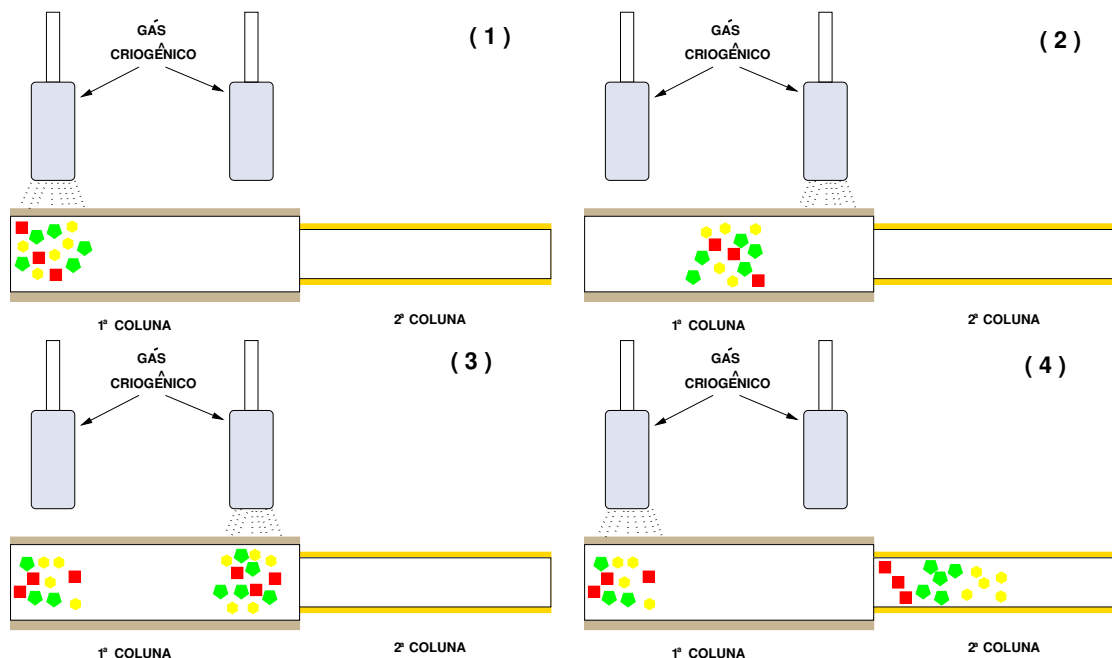


Figura 1.5: Ciclo de Modulação de um modulador criogênico de dois jatos: (1) Coleta dos solutos da 1ª dimensão; (2) Reaquecimento da fração; (3) Focalização; e (4) Reinjeção na 2ª dimensão.

Neste tipo de modulador, o segundo jato tem também como objetivo não permitir que uma fração ou soluto passe diretamente para a 2ª dimensão, o que pode ocorrer dependendo da temperatura de resfriamento e temperatura de ebulição dos solutos ou pela massa da fração a ser reinjetada. Caso o resfriamento não seja eficiente por um destes motivos, ocorre o fenômeno de *Espelhamento* ou *Breakthrough* (conforme ilustra a figura 1.4), ou seja, há a duplicação de picos detectáveis pela passagem direta de parte da fração pelo segundo jato. Como os picos são do mesmo soluto, apresentam semelhanças em perfil e estão atrasados exatamente pelo período da abertura de um dos jatos.

Outro exemplo de modulador criogênico é o modelo de quatro jatos, comercializado pela Leco¹⁷, e seu conceito aperfeiçoado por este grupo⁶⁰. Este modulador apresenta o mesmo princípio do duplo jato, porém os jatos frios e quentes são controlados individualmente e os gases não são expelidos para dentro do forno do cromatógrafo. Este também apresenta 4 fases: (1) coleta e pré-focalização, (2) aquecimento e focalização, (3) coleta e reinjeção e (4) coleta e nova pré-focalização. A figura 1.6 ilustra o ciclo de modulação para este modelo de modulador.

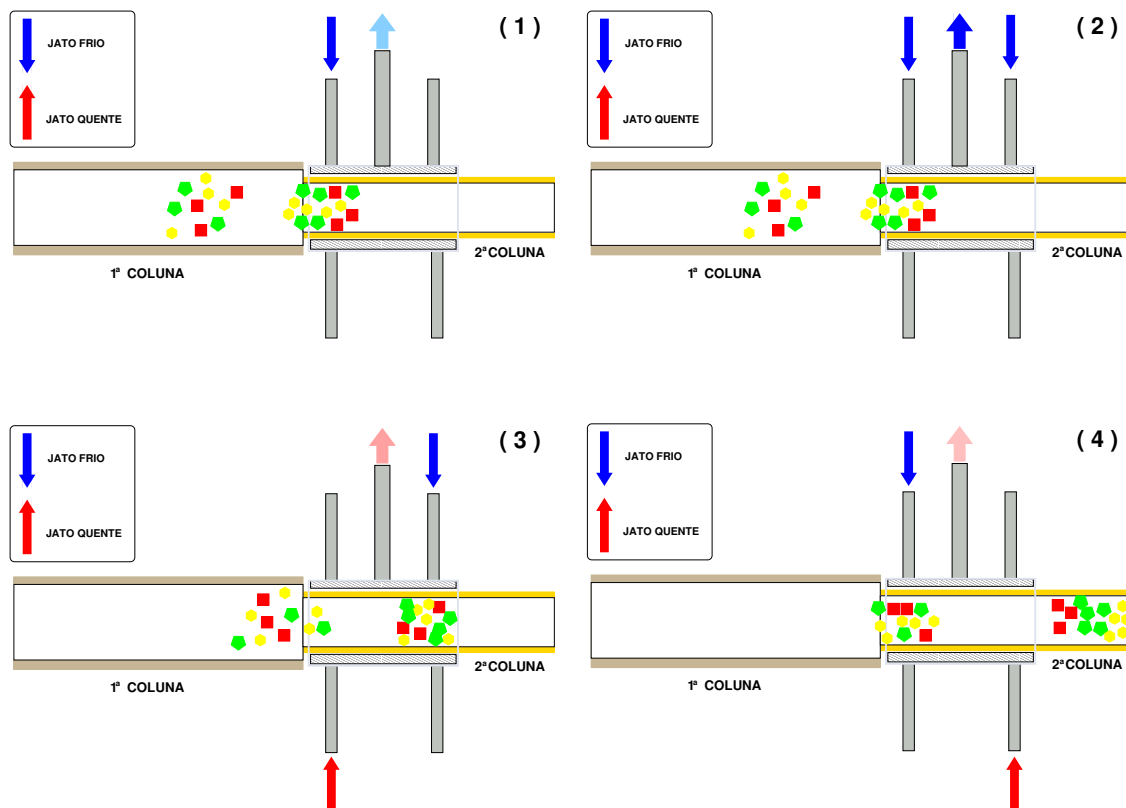


Figura 1.6: Ciclo de Modulação de um modulador criogênico de quatro jatos: (1) Coleta dos solutos da 1ª dimensão; (2) Coleta e pré-focalização da fração; (3) Aquecimento e focalização da fração; e (4) Coleta da 1ª e Reinjeção na 2ª dimensão.

Na primeira fase, uma fração da 1ª dimensão é aprisionada pela abertura dos dois jatos frios que garantem a coleta dentro do modulador, impedindo que haja o fenômeno de *Breakthrough*. Em seguida, o primeiro jato frio é desligado e o primeiro jato quente é ligado para o reaquecimento desta fração coletada, mantendo o segundo jato frio ligado para iniciar a focalização. A fração dos solutos é focalizada e na etapa seguinte é reaquecida pelo segundo jato quente para reinjeção na 2ª dimensão. Simultaneamente, o primeiro jato frio é novamente ligado para iniciar a coleta de mais uma fração. Assim, o ciclo recomeça pela abertura do segundo jato frio. Ao contrário do exemplo anterior, existe um controle maior no gradiente de temperatura no modulador e fenômenos de congelamento do modulador e de *Breakthrough* são mais raros para os solutos menos e mais voláteis, respectivamente.

1.4 Aplicações de GCxGC

Em comparação com outras técnicas cromatográficas multidimensionais (*Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Cromatografia Gasosa* **CLAE-CG**, *Cromatografia de Fluido Supercrítico*, **(SFC)-GC**, **GC Bidimensional por Frações Parciais ou Heart-Cut**, **GC-GC**²⁷), **GCxGC** mostra-se mais eficaz e menos tediosa na separação de amostras complexas com 150 a 250 substâncias relevantes^{27,59}. Contudo, suas primeiras aplicações, na década de 90, estavam mais voltadas para o desenvolvimento e otimização da instrumentação do que na proposta de novos métodos analíticos.

Atualmente, com o melhor entendimento da técnica, métodos analíticos têm sido propostos para a determinação qualitativa e quantitativa de diversos compostos em diferentes matrizes. Por causa do fenômeno de Estruturação Química, a técnica foi aplicada no desenvolvimento de métodos qualitativos para caracterização de espécies em destilados e óleos derivados do petróleo^{61–63}, policiclo-aromáticos (**PAH**, *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*) em resíduos de pneus^{64,65}, compostos de S em aromas de alimentos⁶⁶, alergênicos em perfumes⁶⁷ e ácidos graxos em lipídeos⁶⁸. E em conjunto com métodos quimiométricos e detecção por espectrometria de massa, foi aplicada na caracterização de metabólitos presentes em urina, em plantas e em leveduras^{42,69–71}.

Por sua eficiência de separação, a técnica foi aplicada na determinação quantitativa de aromáticos em produtos petroquímicos^{56,61,72,73}, pesticidas, organoclorados, aminoácidos, alergênicos e flavorizantes em produtos biológicos⁶⁸, em alimentos^{33,46,47,74,75} e em amostras ambientais^{65,76,77}. A tabela 1.1 apresenta alguns exemplos de métodos analíticos quantitativos desenvolvidos com esta técnica.

Contudo, a principal perspectiva para o desenvolvimento de métodos quantitativos é sua associação com técnicas Quimiométricas Multivariadas, como o **PARAFAC**⁷⁸ e **N-PLS**⁷⁹. Estas técnicas podem tratar a grande quantidade de informações contida em cromatogramas de **GCxGC** e indicar outras previsões além da concentração de uma espécie ou grupo de espécies. A tabela 1.2 apresenta alguns exemplos de métodos quimiométricos associados a técnica de **GCxGC**.

Tabela 1.1: Exemplos de métodos quantitativos baseados na técnica de **GCxGC**.

Amostra	Espécie de Interesse	Modulador	Conjunto de Colunas	Detector	Quantificação				ref.
					Faixa	LD	σ	r^2	
Gasolina	Benzeno	Válvulas	DB-1 ^a DB-Wax ^b	FID	0,317 - 5,16 %	-	< 1,4 %	0,9990	56
	Tolueno				1,21 - 19,72 %	-		0,9994	
	Etilbenzeno				0,318 - 5,17 %	-		1,0000	
	<i>o</i> -Xileno				0,382 - 6,21 %	-		0,9997	
	Hidrocarbonetos								
Hálito Humano	Benzeno	Válvulas	RTX-1 ^a RTX-Wax ^b	FID	11 - 3078 ppb	0,211 ppb	0,71 %	0,997	80
	Tolueno				9 - 3060 ppb	0,174 ppb	0,65 %	0,999	
	Hidrocarbonetos								
	Álcoois								
Vegetais	Fungicidas Metalaxyl	Criogênico	BPX5 ^c x BPX50 ^d	NPD	1 - 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,041 $\mu\text{g L}^{-1}$		0,9986	33
Mel e Vinhos	Amino-Ácidos Alanina	Criogênico	BPX5 ^c x BPX50 ^d	FID	0,01 - 100 mg L^{-1}	0,01 mg L^{-1}	< 10,6 %	0,9992	73
Manteiga	Aromas Diacetil	Criogênico	BP21 ^e x BPX-35 ^f	FID	0,1 - 20 $\mu\text{g / g}$	7 pg	< 10 %	0,995	75
Frutas	Pesticidas Lindano	Criogênico	DB-XLB ^g x DB-17 ^d	TOF-MS	50 - 500 ng / mL	15 ng / mL	6,55 %	0,9994	81
Sedimentos	PAH	Criogênico	HP-5MS ^c x BGB ^d	FID	1 - 50 ppm	-	1,3 %	0,9989	50
	PCB ^g	-	-	ECD	0,01 - 0,05 ppm		1,5 %	0,9998	
Água	Nonilfenóis	Criogênico	DB-5 ^c x DB-Wax ^b	TOF-MS	5 - 100 ng / L	0,19 ng / L	< 10 %	0,995	77

^a 100 % dimetilpolisiloxano^b Polietilenoglicol^c 95 % dimetilpolisiloxano - 5 % difenilpolisiloxano^d 50 % dimetilpolisiloxano - 50 % difenilpolisiloxano^e Polietilenoglicol para Ácidos^f 65 % dimetilpolisiloxano - 35 % difenilpolisiloxano^g *Poly-Chlorinated Biphenyl*

Esta perspectiva ainda pode ser ratificada pelos trabalhos realizados pelo próprio grupo de pesquisa em conjunto com o grupo de quimiometria deste Instituto. Por exemplo, foram desenvolvidos a quantificação de querosene em gasolina^{18,21}, a caracterização de adulteração de gasolina por nafta, querosene e thinner^{14,19} e a análise de propriedades físico-químicas da gasolina, através da associação da técnica de **GCxGC** com técnica quimiométrica multivariada **N-PLS**. Contudo, dependendo do planejamento experimental, o método quimiométrico pode apresentar um número elevado de análises. E para amostras complexas com uma ou algumas espécies de interesse, a utilização de *softwares* de integração para estes dados pode ser mais vantajoso, justificando o seu desenvolvimento. A revisão dos algoritmos e *softwares* já desenvolvidos para o tratamento de dados de **GCxGC** será apresentado no capítulo 3.

Tabela 1.2: Exemplos de métodos quimiométricos utilizando a técnica de **GCxGC**.

Amostra	Espécie de Interesse	Modulador	Conjunto de Colunas	Detector	Quantificação		ref.
					Técnica	Faixa	
Perfumes	γ - Terpineno Eucaliptol Metanona	Criogênico	DB-1 ^a x DB-Wax ^b	FID	PARAFAC PARAFAC2 N-PLS	10 - 1500 mg / kg	43
Água	Clorobenzeno	Válvulas	DB-5 ^c x RTX-2330 ^d	TOF-MS	PARAFAC	0 - 4,3 μ g / mL	82
Nafta	Aromáticos Ciclo-alcanos	Válvulas	DB-5 ^c x HP-Wax ^b	FID	N-PLS	2,25 - 14,65 %	79
Adulteração de Gasolina	Querosene	Criogênico	DB-5 ^c x HP-Wax ^b	FID	N-PLS PARAFAC PARAFAC2	2 - 50 %	18
Adulteração de Gasolina	Querosene Thinner Aguarrás	Criogênico	DB-5 ^c x HP-Wax ^b	FID	N-PLS PARAFAC PARAFAC2	2 - 50 % 2 - 50 % 2 - 50 %	19

^a 100 % dimetilpolisiloxano

^b Polietilenoglicol

^c 95 % dimetilpolisiloxano - 5 % difenilpolisiloxano

^d 50 % dimetilpolisiloxano - 50 % difenilpolisiloxano

Capítulo 2

Parâmetros Cromatográficos em GCxGC

2.1 Definição dos Parâmetros

Nas técnicas cromatográficas, o analista utiliza de diferentes propriedades dos dados para caracterizar, quantificar e identificar os solutos em uma corrida. Parâmetros cromatográficos, como tempo de retenção, área do pico, largura da base, altura do pico, resolução, entre outros, são utilizados para otimizar um método cromatográfico, e realizar a separação e análise de uma mistura.

Contudo, com o advento de novas técnicas multidimensionais cromatográficas, como **GCxGC**, estes parâmetros utilizados não são mais eficazes para caracterizar toda a informação química contida. Neste capítulo, serão revisados estes parâmetros para a técnica de **GC** e apresentados os novos parâmetros propostos para **GCxGC**.

2.2 Parâmetros em GC

A figura 2.1 apresenta uma ilustração de um cromatograma e os parâmetros cromatográficos mais relevantes em uma análise quantitativa²³. A área (A) e a altura (h) do pico cromatográfico são os parâmetros utilizados para a construção de curvas de calibração e análise quantitativa de espécies de interesse. Porém, parâmetros como o tempo de retenção, t_R , e a largura, w , também são importantes para a otimização do método cromatográfico. Estes são utilizados para o cálculo de outros parâmetros, como resolução e eficiência do sistema, cujos valores influenciarão na escolha da coluna, da temperatura do forno, vazão do gás de arraste e outras condições experimentais. Além disso, através da assimetria ($\frac{b}{a}$), o analista deverá escolher o método de integração mais adequado para o cálculo destes parâmetros.

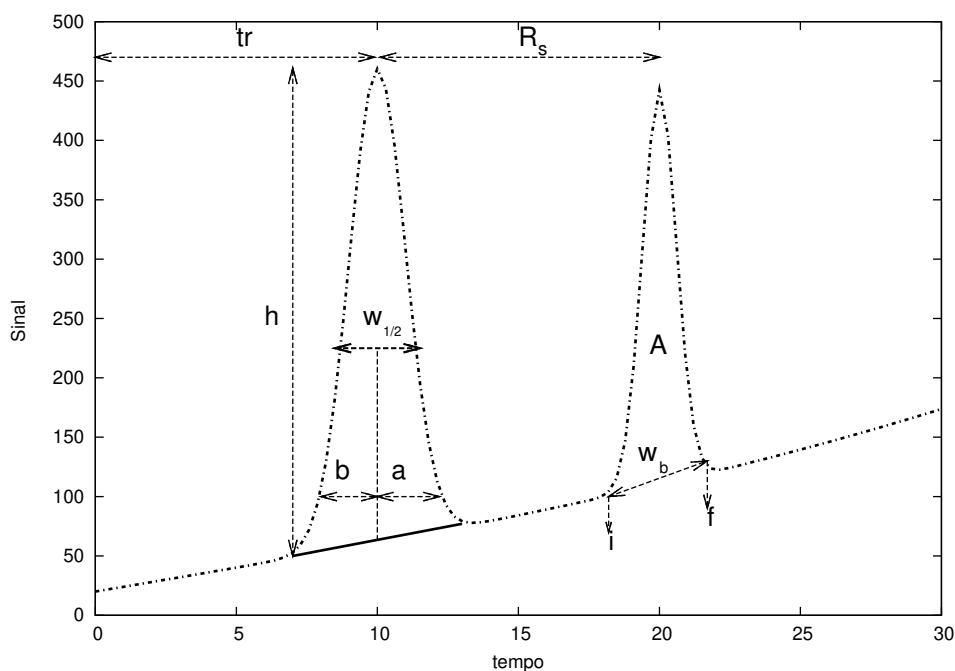


Figura 2.1: Representação dos parâmetros cromatográficos em GC²³: (t_R) tempo de retenção; (h) altura do pico; ($w_{1/2}$) largura do pico a meia altura; ($\frac{b}{a}$) assimetria horizontal; (A) área do pico; (w_b) largura da base; (R_s) resolução; (i) início e (f) fim do pico.

A distribuição de solutos em uma corrida cromatográfica é descrita como uma curva assimétrica devido as diferentes interações e caminhos percorridos das moléculas des-

tes solutos na fase estacionária (no caso de **GC**). Além disso, outros fatores instrumentais influenciam na forma em que esta distribuição é adquirida pelo detector, como variações no forno cromatográfico, geometria, velocidade e sensibilidade do detector e geração de ruído pela conversão e amplificação do sinal elétrico. Geralmente, estas distribuições são consideradas simétricas e matematicamente descritas por funções gaussianas ou normais para cálculo e descrições de parâmetros cromatográficos^{23,83}. Na maioria dos casos, o erro desta aproximação está dentro dos limites experimentais da técnica. Assim, um pico cromatográfico pode ser caracterizado por uma função gaussiana, como a apresentada na equação 2.1.

$$h(t) = \frac{A}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot \exp\left[-\frac{(t - t_R)^2}{2\sigma^2}\right] \quad (2.1)$$

Sendo que h é o sinal medido ou altura do pico em função do tempo t , A , a área do pico, σ , o desvio padrão da população, e t_R , o tempo de retenção. Em uma curva gaussiana, pode-se prever algumas características, como a razão A/σ em diferentes alturas do pico e seus pontos de inflexão que servirão para cálculo de parâmetros, como a resolução (equação 1.1, página 3) e a eficiência (através do cálculo do número de pratos teóricos, N , equação 2.2), e formas de integração manual, como a triangulação²³. A figura 2.2A ilustra uma curva gaussiana e estes parâmetros.

$$N = \frac{8t_R^2 \ln(h)}{w^2} \quad (2.2)$$

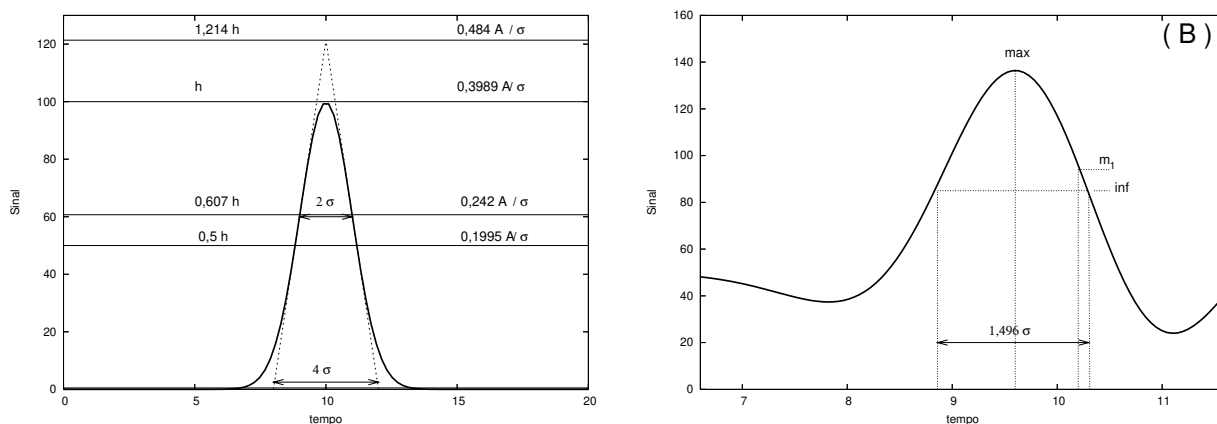


Figura 2.2: Ilustração de simulações de curvas (A) simétricas ou gaussianas e (B) assimétricas.

Por outro lado, quando os dados são assimétricos, outras relações são utilizadas entre o desvio padrão, centro de gravidade, tempo de retenção e os pontos de inflexão do pico. Desta forma, a previsão de parâmetros cromatográficos torna-se mais complexa e, geralmente, é realizada através de outras funções matemáticas, como será discutido no próximo item. A figura 2.2B ilustra uma curva assimétrica e seus parâmetros: ponto máximo do pico (*max*), pontos de inflexão (*inf*) e centro de gravidade ou tempo de retenção médio (m_1)⁸³.

2.2.1 Caracterização de Picos Assimétricos

Um modelo considerado mais adequado²³ de caracterizar um pico cromatográfico é a função gaussiana modificada exponencialmente (**EMG**, **Exponential Modified Gaussian**) que considera os efeitos de assimetria através de outra função exponencial e pode ser representada pela equação 2.3.

$$h(t) = \frac{A}{\tau} \exp\left[\frac{1}{2}\left(\frac{\sigma_g}{\tau}\right)^2 - \left(\frac{t - t_g}{\tau}\right)\right] \int_{-\infty}^{\frac{t-t_g}{\sigma_g} - \frac{\sigma_g}{\tau}} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{y^2}{2}\right) dy \quad (2.3)$$

Sendo $h(t)$ a função do sinal dependente do tempo t , A a área do pico, τ uma constante, σ_g o desvio padrão do pico gaussiano, t_g o máximo do pico gaussiano e y uma variável de integração. A integração pode ser resolvida pela aproximação a uma função de erro apresentada na equação 2.4.

$$I(t) = \int_{-\text{inf}}^{\frac{t-t_g}{\sigma_g} - \frac{\sigma_g}{\tau}} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{y^2}{2}\right) dy \approx \text{erf}\left(\frac{1}{\sqrt{2\pi}} \left[\frac{t - t_g}{\sigma_g} - \frac{\sigma_g}{\tau}\right]\right) \quad (2.4)$$

Considerando se o termo $\frac{t-t_g}{\sigma_g}$ é maior ou menor que o termo $\frac{\sigma_g}{\tau}$, pode-se resolver matematicamente esta última equação utilizando as equações 2.5 e 2.6 e sendo p e $b(n)$ constantes apresentadas na tabela 2.1.

$$I\left(\left(\frac{t - t_g}{\sigma_g} - \frac{\sigma_g}{\tau}\right) < 0\right) \approx \exp\left(-\frac{\left(\frac{t-t_g}{\sigma_g} - \frac{\sigma_g}{\tau}\right)^2}{2}\right) \sum_{n=1}^5 \frac{b(n)}{(1 + p(\frac{t-t_g}{\sigma_g} - \frac{\sigma_g}{\tau}))^n} \quad (2.5)$$

$$I\left(\left(\frac{t - t_g}{\sigma_g} - \frac{\sigma_g}{\tau}\right) > 0\right) \approx 1 - \exp\left(-\frac{\left(\frac{t-t_g}{\sigma_g} - \frac{\sigma_g}{\tau}\right)^2}{2}\right) \sum_{n=1}^5 \frac{b(n)}{(1 + p(\frac{t-t_g}{\sigma_g} - \frac{\sigma_g}{\tau}))^n} \quad (2.6)$$

Tabela 2.1: Valores para as constantes p e $b(n)$ utilizados nas equações 2.5 e 2.6²³.

Constante	Valor
p	0,2316419
$b(1)$	0,319381530
$b(2)$	-0,356563782
$b(3)$	1,781477937
$b(4)$	-1,821255978
$b(5)$	1,330274429

Na prática, outras equações derivadas da equação 2.3 são utilizadas para picos assimétricos com $\frac{\tau}{\sigma_g} < 3$ ²³. As equações 2.7 e 2.8 são utilizadas para o cálculo de áreas e da eficiência do sistema cromatográfico (pratos teóricos, N), respectivamente, e dependem da obtenção do desvio padrão, da constante τ , da altura do pico em t_R , da assimetria ($\frac{b}{a}$) e das larguras em diferentes alturas (w_h).

$$A = 0,753h(t_R)w_{0,25} = 0,586h(t_R)w_{0,1}\left(\frac{b}{a}\right)^{-0,133} = 1,64h(t_R)w_{0,75}\left(\frac{b}{a}\right)^{0,717} \quad (2.7)$$

$$N = \frac{t_R^2}{\sigma_g^2 + \tau^2} = \frac{41,7\left(\frac{t_R}{w_{0,1}}\right)}{\frac{b}{a} + 1,25} \quad (2.8)$$

Apesar de resultados mais exatos que o modelo gaussiano, o modelo **EMG** apresenta limitações na caracterização de picos assimétricos, principalmente, quando a relação de $\frac{\sigma_g}{\tau} > 3$. Assim, outros modelos gaussianos modificados foram propostos a partir de **EMG**. Por exemplo, Grimalt e Olive⁸⁴ propuseram o modelo *log-normal* (equação 2.9) para descrever picos cromatográficos e calcularam graficamente as equações para cálculo de parâmetros. Este modelo foi aplicado a cromatogramas reais e comparado com o modelo **EMG** apresentando resultados mais exatos para picos assimétricos ($a > 2,5$).

$$f(t) = h(t_R)\exp\left[-\frac{\ln r}{\ln^2 a}\ln^2\left(\frac{t - t_R}{w_h}\frac{a^2 - 1}{a} + 1\right)\right] \quad (2.9)$$

Sendo $r = \frac{h(t_R)}{h(t)}$, $a = \frac{t_2 - t_R}{t_R - t_1}$, t_2 e t_1 tempos onde foi calculado w_h . Esta equação é aplicável para a caracterização de picos cromatográfico quando $a > 1$, $1 < r$ e $t > t_R - \frac{w_h a}{a^2 - 1}$. Na prática, o cálculo de área é realizado através da equação 2.10:

$$A = h(t_R)w_h \frac{a}{a^2 - 1} \exp \left[\ln^2 \left(\frac{a}{4 \ln(r)} \right) \right] \ln \left(a \left(\frac{\pi}{\ln(r)} \right)^{1/2} \right) \quad (2.10)$$

Outros pesquisadores defendem a utilização de funções polinomiais para descrever o pico cromatográfico⁸⁵. Através de regressões polinomiais de 2ª a 5ª ordem e interpolação de pontos adicionais, pode-se caracterizar o pico por seus pontos de inflexão, seu máximo e mínimos. As equações matemáticas obtidas por estas regressões são utilizadas em conjunto com cálculo da primeira e segunda derivada (algoritmo de Savitzky-Golay^{86,87}) para calcular os principais parâmetros cromatográficos como tempo morto, tempo de retenção, área e largura. A partir destes parâmetros, outras relações matemáticas importantes podem ser calculadas, como o desvio padrão (equação 2.11):

$$\sigma = \frac{w_h}{\sqrt{8 \ln\left(\frac{1}{h}\right)}} \quad (2.11)$$

Sendo que w_h é a largura do pico a uma certa altura h . A eficiência do sistema cromatográfico pode ser descrita pelos pratos teóricos real (N) e efetivo (N_{ef}), como ilustram as equações 2.12 e 2.13.

$$N = 8 \ln(2) \left(\frac{t_m(k+1)}{ck+d} \right)^2 \quad (2.12)$$

$$N_{ef} = 8 \ln(2) \left(\frac{t_m k}{ck+d} \right)^2 \quad (2.13)$$

Sendo c e d coeficientes angular e linear da relação entre a largura do pico a meia altura, $w_{h/2}$, e o fator de capacidade, k , respectivamente. Os valores de c e d devem ser obtidos em uma corrida isotérmica com pelo menos 5 padrões, geralmente uma mistura de alcanos, e a relação de $w_{h/2}$ e k é considerada linear na maioria dos casos.

Outra forma de calcular os parâmetros cromatográficos é utilização de técnicas que não assumam uma função para descrever o pico, como no método dos momentos es-

tatísticos^{23,28,83}. Esta técnica consiste na integração da equação 2.14 para o intervalo de tempo do pico, onde i é um valor inteiro que caracteriza a ordem do momento. Em cromatografia, as ordens 0 a 4 são usadas para caracterizar área (m_0 ou A), tempo de retenção médio (m_1), a variância (m_2) e assimetrias verticais *skew* (m_3) e excesso (m_4).

$$m_i = \frac{\int h(t)t^i dt}{\int h(t)dt} \quad (2.14)$$

O *skew* e o excesso são assimetrias caracterizadas pela forma triangular e pela forma quadrada do pico e estão relacionadas a saturação da coluna pelo soluto e do sinal no detector, respectivamente. Estas assimetrias verticais podem ser utilizadas para a otimização das condições experimentais, mas, geralmente, não são utilizadas para análises de rotina. E, através destes momentos, pode-se também estimar os valores para σ_g e τ no modelo de **EMG**, como ilustra as equações 2.15, 2.16 e 2.17.

$$m_2 = \sigma_g^2 + \tau^2 \quad (2.15)$$

$$m_3 = 2\tau^3 \quad (2.16)$$

$$m_4 = 3\sigma_g^4 + 6\sigma_g^2\tau^2 + 9\tau^4 \quad (2.17)$$

Contudo, os valores obtidos para a variância, *skew* e excesso somente tem significado físico quando se calcula o momento estatístico relativo através da equação 2.18.

$$\bar{m}_i = \frac{\int h(t)(t - m_1)^i dt}{\int h(t)dt} \quad (2.18)$$

A partir dos momentos relativos, pode-se calcular as assimetrias *skew* (S) e excesso (E) pelas equações 2.19 e 2.20. Para um pico gaussiano simétrico, o valor de *skew* deve se aproximar de 0. Para valores negativos, o pico apresenta uma forma triangular ("dente de tubarão") e para valores positivos, o pico apresenta uma "cauda". Ambos fenômenos, representam a saturação da coluna pelo soluto.

$$S = \frac{\bar{m}_3}{\bar{m}_2^{3/2}} \quad (2.19)$$

No caso do excesso, o valor para um pico gaussiano simétrico é 0⁸⁸. Para valores negativos, o pico apresenta uma largura maior na base ou uma forma mais achatada que o esperado em uma distribuição normal e, para valores positivos, o pico apresenta uma largura menor ou uma forma mais alongada. Estes fenômenos representam a saturação do sinal do detector.

$$E = \frac{\bar{m}_4}{\bar{m}_2^2} - 3 \quad (2.20)$$

Segundo Grubner⁸³, os quatro primeiros momentos podem ser utilizados para descrever uma função de distribuição para o pico cromatográfico. Utilizando os primeiros três termos da série de Gram-Charlier⁸⁹ em conjunto com os valores de S , E , A , o desvio padrão (σ) e m_1 , o pico pode ser descrito levando em conta estas assimetrias, como apresentado nas equações 2.21, 2.22 e 2.23.

$$f(t) = g(t) \cdot \left\{ 1 + \frac{S}{6}[j(t)^3 - 3j(t)] + \frac{E}{24}[j(t)^4 - 6j(t)^2 + 3] \right\} \quad (2.21)$$

$$g(t) = \frac{A}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot \exp\left(-\frac{j(t)^2}{2}\right) \quad (2.22)$$

$$j(t) = \frac{t - m_1}{\sigma} \quad (2.23)$$

Supondo que o pico cromatográfico seja descrito por esta função (conforme ilustra a figura 2.2B, página 17), os parâmetros cromatográficos, como desvio padrão (equação 2.24), tempo de retenção (equação 2.25), *skew* (equação 2.26) e o excesso (equação 2.27), podem ser calculados utilizando equações sem a necessidade de integração das equações 2.14 e 2.18:

$$\sigma = \frac{\Delta t_{infl}}{1,496} \quad (2.24)$$

$$t_{max} = \frac{5E + 8}{20S + 4E} - \frac{1}{4} \sqrt{\left(\frac{5E + 8}{5S + E}\right)^2 + \frac{32S}{5S + E}} \approx -\frac{4S}{5E + 8} \quad (2.25)$$

$$S = 5,4795(f(t_{infl1}) - f(t_{infl2})) = -\frac{10t_{max}(f(t_{max}) - 0,32)}{0,4 + 2,5t_{max}^2} \approx \sqrt{8(f(t_{max}) - 0,4)} \quad (2.26)$$

$$E = 8(2,5f(t_0) - 1) \quad (2.27)$$

Sendo Δt_{infl} , t_{max} , $f(t_{max})$, $f(t_{infl})$ e $f(t_0)$, a diferença de tempo entre os pontos de inflexão, o tempo de retenção, os sinais nos tempos de retenção, no tempo de inflexão e no início do pico, respectivamente.

Apesar dos diversos modelos matemáticos descritos, estes só podem ser aplicados quando o integrador ou *software* de integração encontram devidamente os limites dos picos presentes no cromatograma. Estes algoritmos serão abordados no próximo item.

2.3 Determinação dos Limites de Integração

Para que o reconhecimento adequado dos limites de integração, um algoritmo deve diferenciar se sinal detectado representa a variação da linha base ou um pico cromatográfico. Historicamente, a escolha de um patamar ou *threshold* do sinal ou da inclinação de um intervalo foi utilizado para determinar os limites de integração dos picos cromatográficos^{23,90}, como ilustra a figura 2.3A. Se este patamar (fixo ou variável) fosse ultrapassado, o sinal não seria considerado mais como variação da linha base, mas como um pico. Contudo, este algoritmo é ineficaz para cromatogramas com grandes variações na linha base devido ao ruído ou à programação de temperatura do forno⁹⁰. Atualmente, utiliza-se a avaliação da primeira e da segunda derivadas para determinar os limites dos picos cromatográficos⁹⁰. Considerando-se um pico gaussiano simétrico, conforme a figura 2.3B, pode-se dividi-lo em 4 partes ou quadrantes: **(1)** onde a primeira e segunda derivadas são positivas; **(2)** onde a primeira é positiva e a segunda negativa; **(3)** onde a primeira é negativa e a segunda é positiva; e **(4)** onde ambas são negativas. As mudanças de valores da primeira derivada ocorrem no máximo e nos pontos de inflexão do pico gaussiano (*a* e *b* na figura 2.3B, respectivamente). Pelo cálculo das derivadas, pode-se caracterizar estes pontos, além de outros (*c* e *d*) para confirmação do máximo do pico e seus limites de integração. Na prática,

utiliza-se o cálculo da primeira derivada em conjunto com um patamar de inclinação para encontrar os limites de integração. Para valores absolutos da primeira derivada maiores que o patamar da linha base, encontra-se os limites (d) e para um valor mínimo entre estes pontos (a) determina-se o tempo de retenção ou máximo dos picos²³.

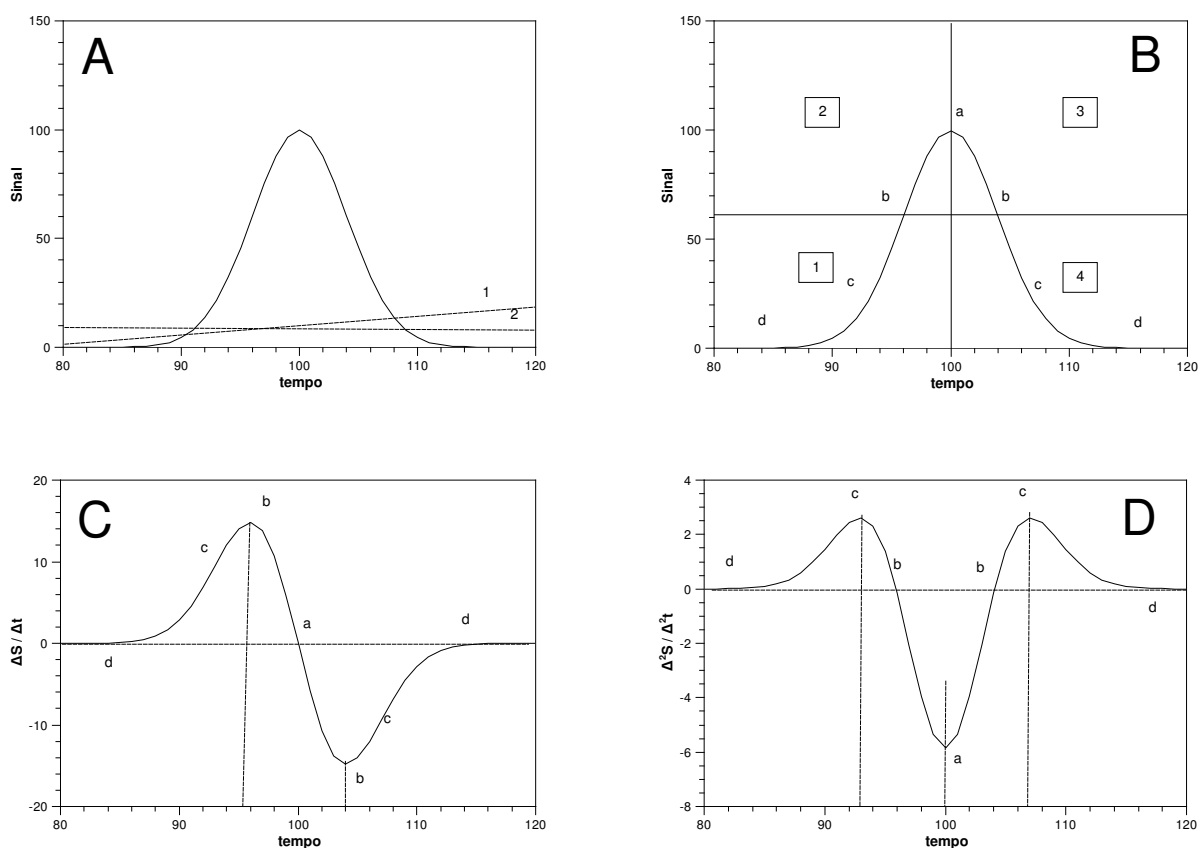


Figura 2.3: Determinação dos limites de integração: (A) *threshold* (1 fixo e 2 variável); (B) quadrantes de um pico gaussiano simétrico; (C) primeira derivada do pico; e (D) segunda derivada.

Contudo, a utilização de um patamar pode, sistematicamente, diminuir o valor da integração dos picos calculados dependendo do ruído e do aumento da linha base durante a corrida cromatográfica. Este patamar pode não ser utilizado quando utiliza-se um filtro de transformada de Fourier para suavizar os dados e minimizar o ruído⁹⁰ (assunto discutido no capítulo 3).

Independente da técnica adotada, o reconhecimento dos limites de integração e o cálculo dos parâmetros cromatográficos para picos de **GC** depende apenas de um tempo de retenção. Em **GCxGC**, estas técnicas não são facilmente aplicadas já que a adição de um novo tempo de retenção aumenta a complexidade das equações de modelagem e caracterização do pico. Além disso, os parâmetros bidimensionais apresentam modificações em seus cálculos e em suas interpretações para otimização deste novo sistema cromatográfico, como será discutido no próximo item.

2.4 Parâmetros em GCxGC

Em um sistema **GCxGC**, o sinal obtido é relacionado com os tempos de retenção na primeira e segunda coluna ou dimensão, e os parâmetros cromatográficos também o são. Desta forma, um pico cromatográfico apresentará dois tempos de retenção, 1t_R e 2t_R , duas larguras, 1w e 2w , dois desvios padrão, $^1\sigma$ e $^2\sigma$, e para todos os parâmetros relacionados com as colunas, como ilustrado na figura 2.4.

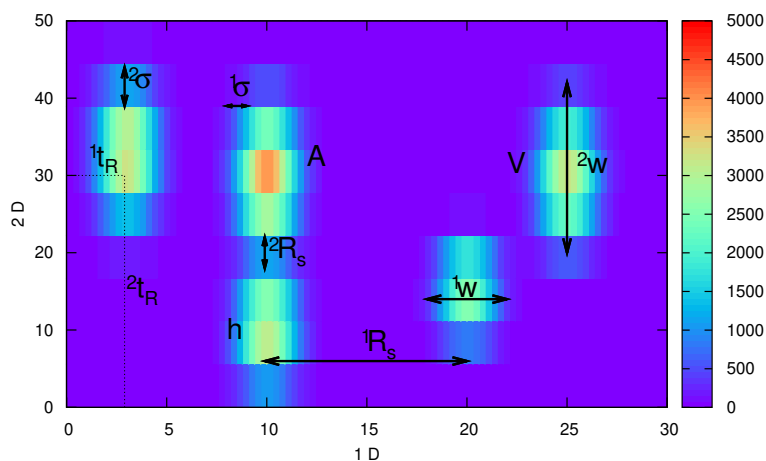


Figura 2.4: Representação dos parâmetros cromatográficos em **GCxGC**: ($^1t_R, ^2t_R$) tempos de retenção; (**h**) altura; (**A**) Área; (**V**) volume; ($^1\sigma, ^2\sigma$) desvios padrão; ($^1w, ^2w$) larguras; ($^1R_s, ^2R_s$) resoluções.

Até o momento, apenas os tempos de retenção, o volume e área dos picos em **GCxGC** são utilizados para análise qualitativa e quantitativa. Os tempos de retenção são aplicados para simples comparação ou para identificação de solutos através do índice de retenção ou de Kovatz adaptados para **GCxGC**²⁴. A soma das áreas dos picos modulados e o volume são utilizados para análise quantitativa calculados por *softwares* comerciais, como **GC Image** (Zoex, Houston, EUA), **Transform** (Fortner Software, EUA), **HyperCrom** (Thermo Scientific Waltham, EUA) e **Pegasus** (Leco, EUA), ou através de *softwares* desenvolvidos nos próprios laboratórios de pesquisa. A forma de integração da maioria destes *softwares* utiliza as técnicas utilizadas em cromatografia convencional com a adição de algoritmos de reconhecimento dos picos adjacentes. Já o *software* **GC Image** utiliza recursos de tratamento de imagens e quantifica através dos valores de cor e intensidade de *pixels* do cromatograma³⁷.

Os parâmetros cromatográficos bidimensionais foram definidos individualmente por Giddings para cada dimensão^{24,91,92}. Assim, cada parâmetro seria identificado pelo eixo de referência ou dimensão, por exemplo, σ_x ou $^1\sigma$, R_{sy} ou 2R_s . E, baseado nas distâncias euclidianas entre os picos bidimensionais, Giddings propôs uma definição aproximada da Resolução (R_s), conforme a equação 2.28.

$$R_s = \sqrt{Rs_x^2 + Rs_y^2} = \sqrt{\frac{\delta_x^2}{16\sigma_x^2} + \frac{\delta_y^2}{16\sigma_y^2}} \quad (2.28)$$

onde Rs_x e Rs_y , δ_x e δ_y , e σ_x^2 e σ_y^2 , são as resoluções, as diferenças nos tempos de retenção, e as variâncias da primeira e segunda dimensões de dois picos cromatográficos. Este trabalho teórico foi utilizado por Schure⁹¹, em picos gaussianos, e, posteriormente, por Peters e colaboradores⁹², em picos assimétricos, para quantificar a Resolução Cromatográfica em função da razão pico-vale (*peak-to-valley ratio*).

Nestes artigos, os pesquisadores salientam as diferenças e as dificuldades de definir a "vizinhança" dos picos bidimensionais e seus parâmetros cromatográficos. Ao contrário da técnica convencional, os picos bidimensionais poderão apresentar picos adjacentes em todas as direções do plano, o que dificulta a aplicação de definições clássicas dos parâmetros cromatográficos e, muitas vezes, resulta na aplicação de métricas obtidas por estudos multivariados⁹².

Contudo, poucos trabalhos utilizam os parâmetros bidimensionais. Possivelmente, este fato está relacionado com a dificuldade de calcular estes parâmetros, avaliar o significado físico-químico e aplicar estas informações para otimização de método cromatográfico. Ao contrário da técnica convencional, os parâmetros cromatográficos de um pico de **GCxGC** são influenciados pelo produto de fatores das duas colunas e não apenas pela soma destes fatores quando estas colunas estão em sistemas convencionais independentes. Apenas considerando os parâmetros independentes, por exemplo, 1R_s e 2R_s , pode-se encontrar um ótimo para a primeira dimensão que geralmente não é o ótimo da segunda, ou seja, picos adjacentes podem estar resolvidos na primeira dimensão, mas não na segunda, e vice-versa. Além disso, os picos podem apresentar picos adjacentes em todas as direções, o que dificulta a apresentação de parâmetros, como a resolução do pico e eficiência do sistema. Por isso, novas formas de representar os parâmetros cromatográficos em **GCxGC** são necessárias e o próximo item apresenta uma proposta deste grupo de pesquisa.

2.4.1 A Utilização de Coordenadas Polares para GCxGC

No desenvolvimento de sistemas **GCxGC**, verificou-se a necessidade de avaliar parâmetros cromatográficos bidimensionais para otimizar suas características, como período de modulação, volume injetado, conjunto de colunas, vazão dos gases do modulador, entre outras. Como já citado anteriormente, a aplicação dos parâmetros independentes das dimensões mostram-se ineficientes para calcular parâmetros importantes, como a Resolução, por exemplo, já que um pico pode estar apresentar vários picos em sua "vizinhança". Esta relação com a direção está inclusa no desenvolvimento da equação 2.28, mas, este número adimensional só indicará se os picos estão ou não resolvidos.

Por outro lado, a utilização dos parâmetros individuais para cada dimensão pode mostrar com maior nitidez quais características estão influenciando nos resultados e que medidas podem ser aplicadas para otimizar as condições experimentais acima citadas. No sistema cartesiano utilizado atualmente²⁴, os parâmetros cromatográficos são calculados a partir de distâncias euclidianas e ângulos entre os picos e as características do sistema **GCxGC** podem ser identificadas e otimizadas.

Graficamente, pode-se verificar que parâmetros, como a largura, não são constan-

tes em todo pico pois dependem da direção em que estão sendo avaliados. Assim, ao invés de se caracterizar os picos por coordenadas cartesianas, propõe-se caracterizar estes picos por coordenadas polares, considerando-se a direção envolvida no cálculo dos parâmetros cromatográficos. A figura 2.5 ilustra os parâmetros cromatográficos em coordenadas polares. Desta forma, qualquer pico cromatográfico bidimensional seria caracterizado por uma distância r da origem e por uma direção θ em relação ao eixo x , ou seja, por um ponto (r, θ) , ao invés de um ponto com duas coordenadas ou dois tempos de retenção, $(^1t_R, ^2t_R)$.

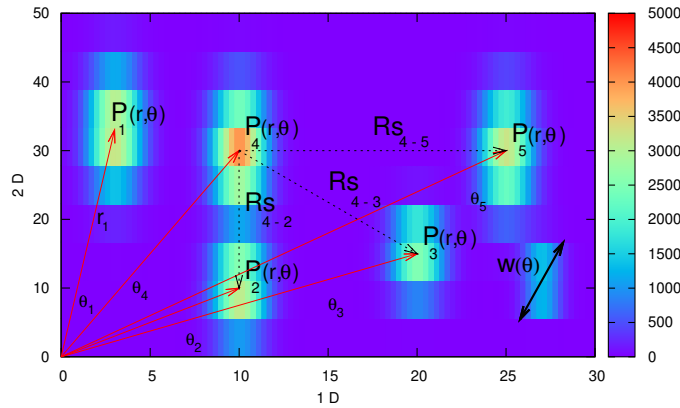


Figura 2.5: Representação dos parâmetros cromatográficos em **GCxGC**: (r_n, θ_n) tempo de retenção em coordenadas polares; (h) altura do pico; (W_b) largura do pico; (V) volume do pico; (R_s) resolução.

Utilizando o sistema de coordenadas polar, os parâmetros bidimensionais podem ser calculados em função da direção θ , o que possibilita, por exemplo, a caracterização da largura, $w(\theta)$, e da Resolução, $R_s(\theta)$, do pico com toda sua "vizinhança". Além disso, a utilização de vetores para caracterização dos pico possibilita associar o cálculo de R_s pela diferença vetorial em relação as suas larguras nesta direção θ . Conforme ilustrado na figura 2.5, o pico P_4 , representado pelo vetor (r_4, θ_4) , está separado do pico P_2 , (r_2, θ_2) , pelo vetor R_{s4-2} e do pico 3, pelo vetor R_{4-3} . A tabela 2.2 resume as principais equações utilizadas para o cálculo dos parâmetros cromatográficos no sistema convencional, bidimensionais cartesianas e suas análogas polares, dependentes ou não da direção θ .

Tabela 2.2: Equações de parâmetros cromatográficos convencionais, bidimensionais cartesianos²⁴ e polares.

Parâmetro	GC	GCxGC	
		Cartesianas	Polares
tempo de retenção (t_R)	$t'_R = t_R - t_M$ $P(t_R)$	${}^1t'_R = {}^1t_R - {}^1t_M$ ${}^2t'_R = {}^2t_R - {}^2t_M$ $P({}^1t_R, {}^2t_R)$	$r = \sqrt{{}^1t_R^2 + {}^2t_R^2}$ $\tan\theta = \frac{{}^2t_R}{{}^1t_R}$ $P(r, \theta)$
Fator de Retenção (k)	$k = \frac{t_R - t_M}{t_M}$	${}^1k = \frac{{}^1t'_R}{{}^1t_M}$ ${}^2k = \frac{{}^2t'_R}{{}^2t_M}$ $\bar{k} = \sqrt{{}^1k^2 + {}^2k^2}$	$k = \frac{ P(r, \theta) - P_M(r, \theta) }{ P_M(r, \theta) }$
Largura (w)	$w \approx 4\sigma$ $w_{1/2} = 2\sigma$	1w 2w $\bar{w} = \sqrt{{}^1w^2 + {}^2w^2}$	$w(\theta) = 2({}^1w \cos\theta + {}^2w \sin\theta)$
Resolução (R_s)	$R_s = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{(w_2 + w_1)}$	$R_s = \frac{2\sqrt{({}^1t_{R2} - {}^1t_{R1})^2 + ({}^2t_{R2} - {}^2t_{R1})^2}}{\sqrt{({}^1w_2^2 + {}^2w_2^2 + {}^1w_1^2 + {}^2w_1^2)}}$	$R(r, \theta) = \frac{P_2(r_2, \theta_2) - P_1(r_1, \theta_1)}{2(w_1(\theta) + w_2(\theta))}$

A utilização de coordenadas polares também pode amenizar alguns problemas encontrados na visualização de dados cromatográficos bidimensionais, como a presença de *Wrap-around* e o reconhecimento da Estruturação Cromatográfica. Por exemplo, a figura 2.6A apresenta um cromatograma de gasolina em coordenadas cartesianas. Este gráfico pode ser representado em coordenadas polares (r, θ), como ilustrado na figura 2.6B. E, assim, picos que sofreram *Wrap-around* são corrigidos e compostos homólogos são agrupados radialmente. Por exemplo, os picos agrupados radialmente em 0,33 rad são hidrocarbonetos alifáticos e naftênicos e em 0,52 rad são aromáticos.

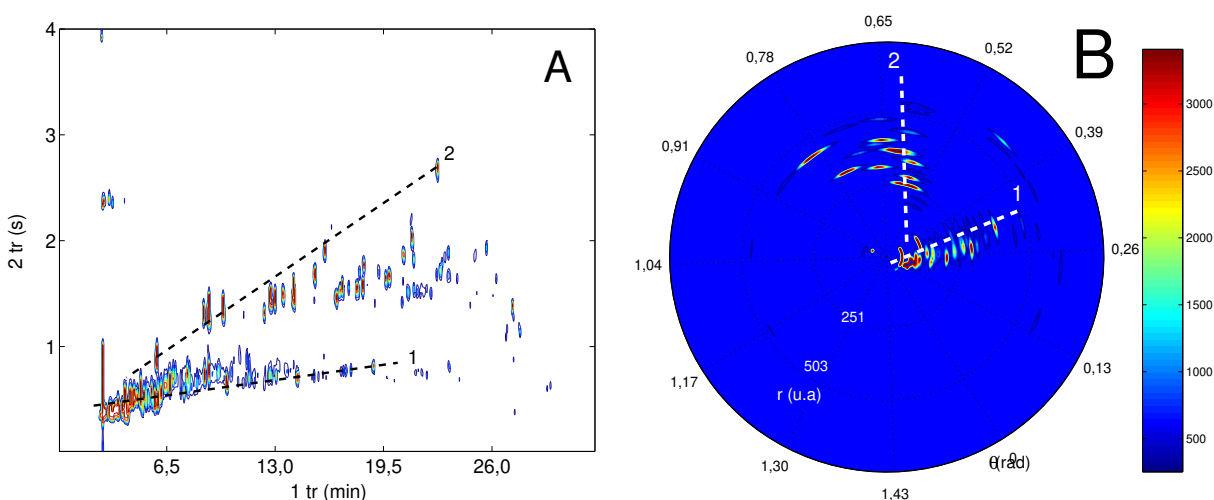


Figura 2.6: Representações de um cromatograma bidimensional de gasolina comum em coordenadas (A) cartesiana e (B) polar: (1) hidrocarbonetos alifáticos e naftênicos; e (2) aromáticos. Condições cromatográficas: HP-5 (25 m x 0,1 mm x 0,25 μm) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μm); modulador de 4 jatos; detector **FID** ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$); injeção manual 0,2 μL ($T = 270\text{ }^{\circ}\text{C}$, split 1:100).

Estas novas formas de representação dos dados bidimensionais podem ser uma ferramenta poderosa para reconhecimento de grupos em cromatogramas com milhares de picos detectáveis. Estas considerações ratificam a necessidade de organizar e tratar os dados bidimensionais por rotinas computacionais, como será descrito no capítulo 3.

Capítulo 3

Tecnologias de Informação em GCxGC

”... Não funciona?
Deixa eu ver ... Não dá para entender!
Também, escreve os programas em aramaico!!”

3.1 Desenvolvimento de *softwares* para GCxGC

Devido a grande quantidade de dados em um cromatograma bidimensional, o analista não consegue, visualmente, interpretar completamente todas as informações químicas contidas na amostra analisada. Esta complexidade está ligada, a princípio, na separação independente das duas colunas e modulação dos picos cromatográficos. A utilização de *softwares* para o tratamento dos dados e a criação de representações gráficas e matemáticas é indispensável para facilitar esta interpretação e aplicação desta técnica em análises de rotina³⁷.

No desenvolvimento destes *softwares*, Reichenbach e colaboradores³⁷ destacam os seguintes “desafios”: formatação e gravação dos dados, visualização multidimensional, processamento de ruído, análise quantitativa e identificação química, distribuição dos dados e confecção de relatórios. Pode-se adicionar mais algumas tarefas, como a aquisição e controle do sistema **GCxGC** em modo *real-time* e compactação dos dados. Além disso, o analista deve interagir com o *software* através de uma interface gráfica ou **GUI** (**G**raphic **U**ser **I**nterface) que possibilite visualizar, tratar e organizar os dados

cromatográficos para a criação de relatórios. Por fim, uma vez criada uma rotina de tratamento, o analista deveria desenvolver um *script* para realizar automaticamente o mesmo tratamento nas próximas replicatas³⁷. Assim, em um *software* de tratamento de dados **GCxGC**, o usuário deve poder abrir e salvar seus dados, visualizá-los graficamente, escolher opções de tratamento de ruído e reconhecimento de parâmetros cromatográficos e criar um relatório, como apresentado no diagrama 3.1.

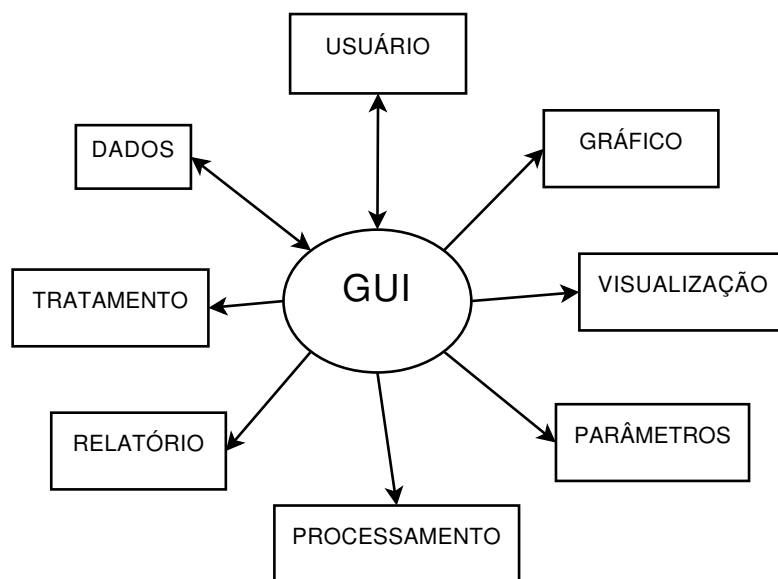


Figura 3.1: Diagrama ilustrativo do planejamento de *softwares* para **GCxGC**.

Estas tarefas somadas às características de um sistema **GCxGC** (como a alta frequência de aquisição e a grande quantidade de dados) não são usuais para as tecnologias de informação atuais e devem ser planejadas para otimizar velocidade e capacidade de processamento, como será discutido nos próximos itens.

3.1.1 Formatação e Armazenamento de dados

Depois de uma era tecnológica caracterizada pela ascensão do computador pessoal (**PC**, *Personal Computer*), está ocorrendo o ressurgimento da centralização do processamento e armazenamento de informações em servidores integrados em uma rede massiva, chamada *Computação em Nuvem*⁹³. Com isso, a utilização de mi-

crocomputadores conectados na rede mundial de computadores (*World Wide Web*, **Web**) tornou-se usual em laboratórios de pesquisa em todo mundo. A **Web** proporciona uma forma rápida de comunicação, possibilitando ao usuário realizar diversos serviços, como comércio eletrônico, movimentos bancários, telefonia, entre outros. Estas comunicações são realizadas em diferentes linguagens e *scripts* de programação que também são utilizados para formatação e armazenamento de dados científicos.

Algumas das vantagens desta implementação destes serviços são a fácil distribuição dos dados pela rede e o armazenamento padronizado que pode ser lida em qualquer sistema que possua um *Web Browser*^{10,94} ou ser convertida por *software* próprio³⁷. Alguns exemplos desta tecnologia são **HTML** (*Hyper-Text Marked Language*), **XML** (*eXtensible Marked Language*)⁹⁵⁻⁹⁷, *javascript*⁹⁸, **PHP** (*Hypertext Preprocessor*)⁹⁹, e o *Java*^{100,101}. Os primeiros são *scripts* e podem ser interpretados utilizando apenas um *Web Browser* e um servidor **HTML**, como o *Apache*. Já a linguagem *Java* necessita de compilador, *Web Browser* e uma ferramenta de execução e conversão para o sistema operacional do cliente. Mas, apresenta um grande número de recursos e bibliotecas que auxiliam na programação e no desenvolvimento de interfaces gráficas (bibliotecas *swing*, *java2D* e *java3D*)³⁷.

Outras formas de armazenamento, como binários e arquivos de texto, podem ser também utilizados. Contudo, binários limitam a utilização dos dados para sistemas computacionais com *softwares* específicos que possam lê-los e arquivos textos, mesmo podendo ser importados por diversos *softwares* matemáticos, geralmente, não são otimizados para transferir todas as informações relevantes, como dados cromatográficos, resultados de integração, e as condições experimentais, em uma só tarefa computacional^{95,102,103}.

Para grande quantidade de dados, como em sistemas **GCxGC**, a formatação dos dados podem ser um limitante para o armazenamento e o desempenho de *softwares* utilizados para o tratamento e visualização dos resultados¹⁰⁴. Os dados obtidos na conversão A/D (bits) podem ser convertidos e armazenados em diferentes tipos, como *integer* (16 bits, 2 bytes, 65.536 combinações), ou *double* (32 bits, 4 bytes, 4.294.967.296 combinações). E, muitas vezes, quando a resolução do conversor é menor que a do tipo de dado utilizado, aloca-se uma quantidade de memória ou disco desnecessária para armazenar ou tratar os dados científicos. Por exemplo, uma corrida cromatográfica univariada com 360.000 pontos pode ser armazenado em formato

integer ou *double* em um arquivo de 720 Kbytes ou 1.440 Kbytes, respectivamente. Mas, se os dados multivariados (por exemplo, detecção por Espectrometria de Massa) ou for necessário um grande número de corridas, estes arquivos podem chegar aos Gbytes.

3.1.2 Visualização de dados

Como já comentado no capítulo 1, a quantidade de dados obtidos em uma análise de **GCxGC** é algumas dezenas de vezes maior que a técnica convencional. Isto compromete a capacidade de *softwares* comerciais, geralmente, planejados para uma quantidade de dados não superior a 65536, como planilhas eletrônicas, como *Microsoft Excel*, *Microcal Origin*, *OpenOffice Calc*, entre outros. Assim, outros *softwares* matemáticos específicos, como *MatLab*, *R*, *gnuplot* e *Mathematica* podem ser utilizados para a construção de imagens e gráficos científicos tridimensionais. Contudo, o tratamento e a visualização destes dados tridimensionais são comprometidos pela velocidade de processamento e possível instabilidade para alguns sistemas operacionais (**OS**, *Operational System*) quando uma resolução gráfica maior é requerida.

Desta forma, existe a necessidade de desenvolver *softwares* específicos para o tratamento e a visualização destes dados^{12,16,37}. Este desenvolvimento pode ser realizado em diversas linguagens de programação com bibliotecas gráficas próprias, como *Java*, *.Net*, *C/C++*, *Python*, ou em associação com aplicativos matemáticos gráficos, como será discutido no capítulo 7. Alguns dos primeiros *softwares* de tratamento e visualização foram criados em linguagem *Java* por Reichenbach e colaboradores³⁷. Por exemplo, o *software GC Image* apresenta um **GUI** para visualizar e reconhecer os picos cromatográficos bidimensionais através da intensidade de cor dos *pixels* ou pontos da imagem. Além disso, apresenta outros **GUI** para criar o relatório e exportá-lo em formato **XML**. Contudo, a utilização destas bibliotecas gráficas requer a criação de funções ou métodos próprios para a ampliação, interpolação, criação de eixos e de escalas ou paletas de cores, entre outros.

Outras possibilidades de linguagens de programação são *OpenDx* e **NI Labview** (*National Instruments Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench*). A linguagem *OpenDx* é baseada em um modelo abstrato de dados suportados por três componentes de programação: um *editor gráfico*, que permite o usuário criar seus pro-

gramas como fluxogramas; um conjunto de *núcleos* ou funções, para transformar os dados em imagens; e um *controle* do fluxo de dados pelo usuário, permitindo a divisão dos processamentos em máquinas diferentes por rede¹⁰⁵. A linguagem **NI Labview** é ambiente gráfico de desenvolvimento (**IDE**, *Interface Development Environment*) com fluxogramas para criação de *softwares* para medidas experimentais, controle de processos laboratoriais e industriais e tratamento e gravação de dados científicos^{106–108}. Estas linguagens são realmente consideradas visuais, pois utilizam blocos de funções ligadas como fluxogramas para realizar as tarefas computacionais. Suas aplicações serão discutidas com mais detalhes nos capítulos 7 e 8.

3.1.3 Tratamento de Ruído

Como toda técnica analítica, a cromatografia não está livre da presença de ruído na aquisição e conversão do sinal analítico. Geralmente, o ruído é uma soma de interferências de campos magnéticos e elétricos com a própria variação das propriedades físicas dos dispositivos eletrônicos utilizados com a temperatura e a frequência de monitoramento^{109–111}. Geralmente, instrumentos e *softwares* de **GC** têm filtros para suavizar o ruído dos dados obtidos e apresentá-los como ícones, ou seja, representações gráficas suaves e estreitas²³. Estes filtros podem ser analógicos, como circuitos **RC** e amplificadores operacionais (Filtros de Butterworth e de Chebyshev), ou digitais, através de microprocessadores ou de *softwares* em microcomputadores^{110,111}, sendo ambos utilizados em sistemas **GC**. Os filtros analógicos são incorporados aos circuitos de amplificação e conversão A/D do sinal do instrumento de **GC**, geralmente na construção deste, não havendo necessidade do analista ter controle. Por outro lado, os filtros digitais por *software* devem ser aplicados após a aquisição do sinal e seus parâmetros de controle são escolhidos pelo analista para otimizar a razão sinal/ruído e reduzir a perda do sinal pela filtragem.

Em Química Analítica, a maioria dos filtros digitais utilizados são não-recursivos¹¹⁰, ou seja, cada sinal filtrado é obtido exclusivamente dos sinais brutos e não de outros sinais filtrados. E, estes filtros podem ser aplicados sobre o sinal ou sobre as frequências que o compõem. Exemplos de filtros que suavizam diretamente a intensidade do sinal são Filtro de Média, Filtro de Média Móvel e Filtro polinomiais ou de Savitzky-Golay. Exemplos de filtros que atuam na frequência de aquisição são Filtro de Transformada

de Fourier, Filtro de Transformada de Hadamard e de Transformada de Onda (*wavelet transform*)^{109,110,112}.

Os filtros de média e média móvel são os mais simples de compreender e aplicar, como ilustra a figura 3.2. No filtro de média ou *box average*¹¹⁰, calcula-se a média aritmética de sinais adquiridos dentro de intervalo de tempo para criar cada ponto, minimizando ruídos de alta frequência ou *spikes*. No caso do Filtro da Média Móvel, é calculado a média dos pontos de um intervalo fixo e ímpar cujo valor substitui o ponto médio deste intervalo. Já os filtros polinomiais ou de Savitzky-Golay utilizam um algoritmo mais complexo para tratar o ruído. Invés de calcular a média, realiza-se uma regressão polinomial dentro de intervalos fixos. A desvantagem destes filtros é a pouca seletividade entre o sinal e o ruído e, por isso, reduzem a intensidade do sinal após a filtragem.

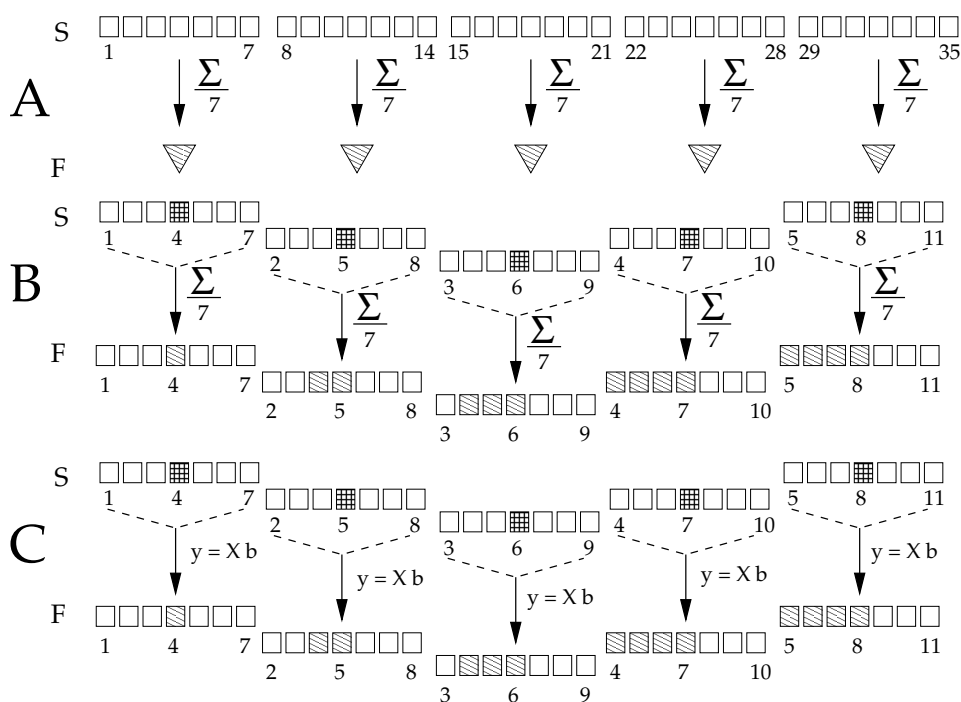


Figura 3.2: Diagrama ilustrativo dos algoritmos dos filtros: (A) de Média ou *box average*; (B) de Média Móvel; e (C) de Savitzky-Golay.

Por outro lado, os filtros baseados no corte de frequências são mais adequados para sinais mais estreitos. Em Química Analítica, o filtro de Transformada de Fourier é o mais utilizado¹¹⁰ e consiste na transformação da função do sinal dependente do

tempo, $f(t)$, para uma função dependente das frequências de aquisição do sinal, $F(w)$, como apresentado na equação 3.1.

$$F(w) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} f(t) e^{jtw} dt \quad (3.1)$$

Sendo w , a frequência, e j , o número imaginário. Para aplicar o filtro, $f(t)$ deve ser convolvida por uma função de apodização, $h(t)$, para realizar os cortes das frequências características do ruído:

$$F(S) = \mathfrak{S}(f(t)h(t)) = \mathfrak{S}(f(t))\mathfrak{S}(h(t)) = F(w)H(w) \quad (3.2)$$

Sendo $F(S)$, a função que representa a transformada direta de $f(t)$ convolvida por $h(t)$, e $H(w)$, a função que representa a transformada direta de $h(t)$ e realiza os cortes das frequências indesejadas. Realizando-se a transformada inversa de $F(S)$, recuperando o sinal analítico sem o ruído:

$$f(t) = \mathfrak{S}^{-1}(F(w)H(w)) = \mathfrak{S}^{-1}(F(S)) \quad (3.3)$$

Uma vez que o sinal analítico é discreto, não é possível utilizar esta transformada contínua para filtrar o ruído. Na prática, utiliza-se a Transformada de Fourier Discreta (**DFT**, *Discret Fourier Transform*) que pode ser calculada pelas equações 3.4, 3.5 e 3.6.

$$R(w) = \frac{1}{N} \sum_{k=0}^{N-1} F(t) \cos\left(\frac{2\pi kt}{N}\right) \quad (3.4)$$

$$I(w) = \frac{1}{N} \sum_{k=0}^{N-1} F(t) \sin\left(\frac{2\pi kt}{N}\right) \quad (3.5)$$

$$F(t) = \frac{1}{N} \left\{ \sum_{k=0}^{N-1} \left[R(w) \cos\left(\frac{2\pi kt}{N}\right) - I(w) \sin\left(\frac{2\pi kt}{N}\right) \right] \right\} \quad (3.6)$$

Sendo $R(w)$ e $I(w)$, a parte real e a parte imaginária da resolução da equação 3.1 na forma discreta, $F(t)$, respectivamente, e N , o número de dados. Os demais tipos de filtro de Transformada, utilizam-se no mesmo princípio, porém com outras equações matemáticas para realizar a transformação para o domínio das frequências.

Inicialmente, a desvantagem dos filtros de Transformada foi a alta capacidade com-

putacional requerida para sua aplicação. Atualmente, esta dificuldade já foi superada com diminuição dos custos de *hardware* e pela utilização de algoritmos otimizados, como Transformada de Fourier Rápida (**FFT**, **Fast Fourier Transform**).

3.1.4 Controle de Sistemas *real-time*

Devido a pequena largura dos sinais, um sistema **GCxGC** deve apresentar erros temporais menores que 1 ms na aquisição de dados e no controle das válvulas do modulador. Este controle pode ser obtido por *hardware* ou por *software*. No caso de *hardware*, pode-se utilizar um microprocessador industrial associado com uma quantidade de memórias **RAM** (**R**andom **A**ccess **M**emory) e **ROM** (**R**ead **O**nly **M**emory)²⁵ que monitora o detector e aciona as válvulas em períodos regulares controlados por um *microchip* gerador de pulsos ou *clock*. No caso de *software*, utiliza-se um microcomputador controlado por um **OS** compilado para realizar suas tarefas em ordem de prioridade de execução temporal, ou seja, um **OS** *real-time*¹¹³. Comparando-se, o controle por *hardware* pode se tornar mais complicado já que o seu desenvolvimento requer a construção de circuitos sofisticados para estes microprocessadores. Por outro lado, o controle por *software* já apresenta estes circuitos eletrônicos inclusos no próprio microcomputador quando este é associado a uma placa conversora ou controladora externa A/D D/A.

Um **OS** *real-time* deve apresentar um controle temporal das tarefas em processamento, ou seja, existe um tempo limite ou *deadline* para finalizar o uso da **CPU** (**C**entral **P**rocessing **U**nit). Sistemas determinísticos têm o controle temporal do *hardware* restritamente no período programado, ou seja, cada tarefa sendo executada até o *deadline*, como em um avião¹¹³, em uma usina nuclear^{114–118}, em equipamentos de prototipagem rápida^{119,120} ou uma planta industrial^{107,116,121–123}, e necessitam de um **OS** denominado de *hard real-time*. Nesta configuração, a tarefa em processamento será finalizada ao fim do *deadline* para que outra tarefa agendada seja processada pela **CPU**. Caso a tarefa seja interrompida pelo tempo, outras tarefas subsequentes e dependentes desta podem corromper o sistema e, por isso, apresentam uma exatidão na ordem de dezenas de *ns*.

Quando o tempo limite não é restritamente necessário, mas um objetivo a ser alcançado, as tarefas são agendadas na **CPU** de forma a serem processadas mais

rápido possível, e se houver um atraso, são processadas sincronizadamente em ordem de prioridade, mas sem comprometer os prazos das tarefas¹¹³. Este tipo de **OS** é denominado *soft real-time* e é aplicado em telefonia por rede ou **VoIP** (**Voice Over IP**)¹²⁴, reconhecimento de imagens¹²⁵ e instrumentos analíticos remotos¹²⁶. Como existe uma maior flexibilidade no processamento e gerenciamento das tarefas, este **OS** apresenta exatidão na ordem de dezenas de μs . A comparação entre os processamentos destes sistemas pode ser ilustrado pela figura 3.3. Quando há um atraso em uma tarefa na **CPU**, **OS hard real-time** termina a tarefa no tempo limite (Δ), enquanto que os sistemas *soft real-time* e convencional sincronizam-a com a nova tarefa.

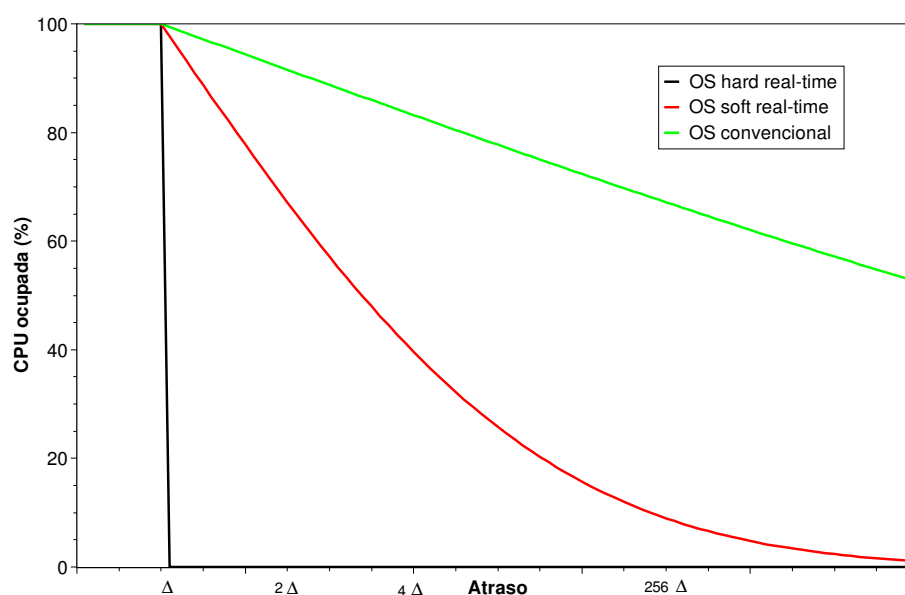


Figura 3.3: Comparação ilustrativa do retorno do processamento de uma tarefa após o tempo limite (Δ) entre **OS** convencional, *soft real-time* e *hard real-time*.

Além disso, **OS** apresenta duas funções fundamentais e distintas: estender a máquina e gerenciar recursos²⁵. Devido à complexidade e diversidade dos *hardwares* existentes, o sistema operacional deve apresentar ao usuário uma **máquina estendida** ou virtual mais fácil de programar que o *hardware* em si. Além disso, ele deve gerenciar a alocação ordenada e controlada de processadores, memórias e dispositivos de **I/O** (**Input/Output**) entre vários programas que competem por estes²⁵. Dos diversos siste-

mas operacionais disponíveis comercialmente e gratuitamente, o sistema operacional *Linux* (no caso, o *Debian* distribuído pela **GNU** ou Fundação do *Software* Livre) vem se destacando como uma alternativa viável para utilização em diferentes arquiteturas (Intel, Macintosh, AMD64, Solaris, entre outras). Baseado no sistema operacional *UNIX*, apresenta inúmeros recursos para programação em alto nível, recursos seguros de rede, ambientes gráficos, entre outras características, que não deixam dúvidas sobre sua confiabilidade¹²⁷.

Na escolha de um **OS** adequado, procura-se, muitas vezes, o caminho mais fácil ou aparentemente único. Desta forma, sistemas operacionais comerciais, como o Microsoft Windows, podem ser cogitados para esta escolha, pois suas configurações são realizadas em ambiente gráfico, apresentam suporte e documentação comerciais e, atualmente, apresentam sistemas estáveis de processamento 32 bits. Contudo, interfaces "amigáveis" de configuração e outros recursos da **GUI** podem consumir grande parte da capacidade de processamento. E, para algumas tarefas, como no caso do sistema **GCxGC**, esta disputa pelo processador pode gerar diferenças nos tempos de processamento.

O *Linux* é um sistema operacional desenvolvido inspirado no *MINIX* por Linus Torvalds na década de 90²⁵ para processadores de arquitetura 386. Desta maneira, apresenta a maioria das vantagens dos sistemas operacionais baseados no *UNIX*: credibilidade, segurança e modularidade¹²⁷. Conquistou esta credibilidade sendo um clone do *UNIX* e na prática como servidor de serviços em rede e como *desktop*. Sua segurança é exemplificada pela invulnerabilidade da maioria dos vírus e outras "pragas" existentes na rede mundial. O gerenciamento de recursos dos programas é realizada de forma simples e otimizada, fazendo com que máquinas com este tipo de sistema operacional conseguiram continuar operando por mais de um ano sem parar. E atualmente, o *Linux* já é implementado em diferentes arquiteturas de processadores e distribuído gratuitamente e comercialmente por mais de 50 empresas e instituições¹²⁷.

Por isso, o *Linux* pode ser apresentado como um sistema *UNIX* (SystemV, BSD, Solaris, entre outros), ou seja, um sistema interativo projetado para tratar múltiplos processos e usuários²⁵. Assim, a organização do *Linux* pode ser ilustrada na forma de uma pirâmide ou de camadas, como apresentado na figura 3.4²⁵. Na primeira camada há o *hardware*: processador ou *CPU*, memórias, discos, terminais e outros dispositivos. Acima deste, está, realmente, o sistema operacional que controla o *hardware* e

fornece uma interface de chamadas ao sistema para que os programas possam gerenciar processos, arquivos e outros recursos²⁵. Estes programas utilizam bibliotecas padrão de linguagem de máquina (como *open*, *fork*, *close*,...) para poderem mudar do modo usuário para o modo núcleo, transferindo argumentos nos registradores e instruções de interrupção de processos no sistema operacional. Além disso, todos os sistemas *UNIX* apresentam programas especificados pelo padrão *POSIX* 1003.2, como os interpretadores de comando ou *shells*, compiladores, editores de texto e utilitários de manipulação de arquivos²⁵. Esta flexibilidade de trabalhar em módulos distintos sem comprometer a capacidade de processamento da máquina e gerenciamento dos processos, demonstra o porquê da popularidade destes tipos de sistema operacional. Além disso, estes tipos de sistemas são mais "leves" que os comerciais, o que pode ser decisivo na implementação.

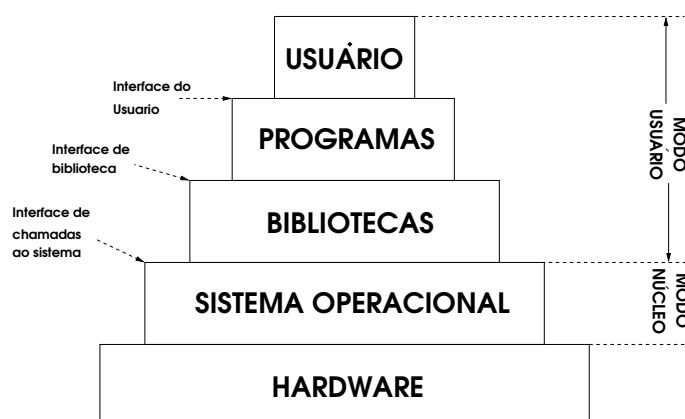


Figura 3.4: As camadas de um sistema **UNIX**²⁵.

Assim, a escolha de um **OS** depende das tarefas a serem realizadas. Por exemplo, no sistema **GCxGC**, as características necessárias são: controle temporal em *ms*, interface gráfica do usuário, comunicação e serviços em rede, e tratamento de grande volume de dados bidimensionais. Desta forma, **OS** deve apresentar robustez (estabilidade durante as corridas cromatográficas), bom desempenho (bom gerenciamento de recursos gera precisão temporal) e boa capacidade de processamento e disco. Todas estas características indicam a possibilidade de controle de sistemas **GCxGC** pela aplicação de **OS soft real-time** baseado no *Linux*, como será discutido no capítulo 7.

3.1.5 Interfaces Gráficas

Nas décadas de 70 e 80, o desenvolvimento de aplicações gráficas se limitava a instituições que possuíam computadores com *hardware* específicos para Computação Gráfica. Com popularização de **PC** e de placas gráficas, surgiram diversas bibliotecas, como *OpenGL*, cujo desenvolvimento disseminou a criação de diversos **GUI** em jogos e sistemas de visualização¹²⁸. Atualmente, as linguagens de programação "visuais" utilizam bibliotecas gráficas nativas do **OS** para desenvolvimento de **GUI**. Exemplos destas linguagens são as famílias *.NET* (Visual Basic, Visual C/C++, Visual C# e Mono), Borland (Delphi, Kylix, C/C++), *Suns* (*NetBeans Java* e *Eclipse*). Contudo, o desenvolvimento de *software* utilizando estas ferramentas depende muito de suas **IDEs** e do **OS** que estão sendo executadas. Outra forma de criar **GUIs** com os recursos nativos do **OS** é utilizar *scripts* em **HTML** e executá-los em um *Web Browser*. Este aplicativo apresenta a maioria dos elementos gráficos necessários para construir uma **GUI** de controle e automação, como botões, seleções, entradas e saídas de texto, e apresentação de gráficos. E, associados a outros *scripts*, como **PHP** e *javascript*, esta **GUI** pode apresentar recursos dinâmicos para se comunicar por rede ou, diretamente, a um instrumento analítico.

No desenvolvimento de uma **GUI**, deve-se considerar sua aplicação, os recursos disponíveis para o controle do usuário, geralmente eventos do **OS**, como um *click* do *mouse* sobre um botão, e as formas de resposta, como representações gráficas, sonoras, textos, mensagens, entre outras. Assim, esta interatividade do usuário deve torná-la fácil de aprender e usar e altamente configurável³⁷.

No caso de sistemas **GCxGC**, deve haver duas interfaces distintas: a de controle do sistema durante a corrida e a de tratamento de dados adquiridos. A interface de controle deve apresentar elementos gráficos para iniciar e interromper a corrida cromatográfica, ajustar o tempo total da corrida e o período de modulação e apresentar os dados adquiridos através de representações gráficas do sinal com o tempo de corrida. A interface de tratamento deve apresentar representações gráficas tridimensionais, interatividade e seleção de ferramentas para tratamento da imagem obtida, como filtros digitais, escalas logarítmicas e arquivar imagens em alta resolução. Em vista destas características, justifica-se a necessidade de criar *softwares* para aquisição, visualização, arquivamento e tratamento de dados obtidos por **GCxGC**^{37,39,40}.

Parte II

Objetivos

Capítulo 4

Objetivos a serem alcançados

Neste trabalho, os objetivos gerais são controlar os sistemas **GCxGC** desenvolvidos por Augusto e colaboradores^{11,60,129}, monitorar, tratar e arquivar os dados cromatográficos obtidos.

Estes objetivos podem ser divididos em etapas mais específicas:

- Amplificar e Filtrar, eletronicamente, os dados analógicos;
- Adquirir e Digitalizar os dados analógicos do cromatógrafo a gás;
- Controlar o início da corrida cromatográfica simultaneamente no cromatógrafo e no microcomputador;
- Controlar duas válvulas solenóides usadas para o controle dos fluidos crioscópicos dos moduladores;
- Construir representações gráficas bidimensionais (Sinal x tempo) e tridimensionais (sinal x tempo de retenção da 1ª dimensão x tempo de retenção da 2ª dimensão) durante a corrida cromatográfica e ao seu final;
- Reportar parâmetros cromatográficos e Arquivar os dados cromatográficos obtidos em rede para distribuição entre os colaboradores;
- Tratar os dados obtidos, Reconhecer e Calcular parâmetros cromatográficos importantes, como volume, tempo de retenção nas duas dimensões, entre outros.

Parte III

Parte Experimental

Capítulo 5

Condições Cromatográficas e Instrumentação

5.1 Condições Cromatográficas

As soluções padrão foram preparadas a partir da diluição de massas adequadas de reagentes de hidrocarbonetos (*HPLC*, Sigma-Aldrich) utilizando balança analítica (AE-200, Metler) e frascos herméticos (2 mL, Agilent). Os reagentes padrões utilizados foram n-hexano, n-heptano, n-octano, n-nonano, n-decano, n-undecano, benzeno, tolueno, etil-benzeno, orto-xileno e uma mistura de hidrocarbonetos comercial (C8-C20, Sigma-Aldrich). As amostras petroquímicas analisadas foram Gasolina tipo C, Gasolina Aditivada tipo C, Querosene Comercial e Nafta Leve, sendo diluídas em etanol absoluto (10 %, Sigma) ou injetadas puras. E, foram também analisadas duas amostras de óleo essencial das cascas de virola (*Virola surinamensis*) e de cataia (*Drimys winterii*), cedidas em colaboração pelo Prof. Dr. L. E. S. Barata.

As condições cromatográficas utilizadas nas análises não se modificaram na maioria das misturas injetadas (*split* 1:100, $p_{H_2,detector} = 30psi$ e $p_{ar,detector} = 40psi$, $T_{inj} = 250\text{ }^{\circ}C$, $T_{det} = 270\text{ }^{\circ}C$, Rampa de Aquecimento: $40-120\text{ }^{\circ}C @ 4\text{ }^{\circ}C/min$; $120-240\text{ }^{\circ}C @ 8\text{ }^{\circ}C/min$; $v_{arraste} = 0,6$ a $1,0\text{ mL min}^{-1}$). Foram utilizadas microseringas de 5,0 e 10,0 μL para injetar volumes entre 0,10 a 2,00 μL nos cromatógrafos a gás utilizados.

5.2 Aplicativos e Softwares

No desenvolvimento dos sistemas de controle e seus respectivos programas, foram utilizados softwares e aplicativos da Fundação do Software Livre (**FSF**, **Free Software Foundation**) e comerciais. Ambos estão listados abaixo:

- **FSF:**

1. Debian Linux (v 4.1, kernel 2.6 compilado com módulo *real-time*),
2. Compilador C GNU (*gcc* v. 4.1),
3. Servidor HTML/PHP Apache (v. 2.2),
4. OpenDx (v. 4.4),
5. Mozilla Firefox (v. 1.5),
6. GNUPLOT (v. 4.2),
7. OCTAVE (v. 2.0),
8. BASH (v. 3.2).
9. Cygwin com *X server* (v. 2.573.2.3),
10. OpenDx (v. 4.4 para Microsoft Windows).

- **Comerciais:**

1. Microsoft Windows Server 2003 SP1,
2. MatLab (v. 6),
3. NI Labview (v. 8.5).

Capítulo 6

Descrição dos sistemas GCxGC

6.1 Sistema GCxGC com Duplo Jato Crioscópio¹¹

O primeiro sistema **GCxGC** desenvolvido e controlado consistia em um cromatógrafo a gás (Hewlett-Packard 5890 series II com detector de ionização em chama, **FID**, *Flame Ionisation Detector*) com duas colunas *in tandem* (conectadas em série, HP-1 25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m, DB-Wax 1 m x 0,10 mm x 0,10 μ m, respectivamente). A modulação do sistema foi realizada através de jatos crioscópicos com N_2 resfriado com N_2 líquido (300 $Lmin^{-1}$, 40 psi) controlados por duas válvulas solenóides (Ascoval Ind. e Com. Ltda) e um soprador térmico (Steinel HHL 1800E, 400 °C, 150 $Lmin^{-1}$, 14 psi) dentro de um forno confeccionado no laboratório¹¹. A figura 6.1 apresenta um esquema ilustrativo do sistema **GCxGC** com duplo jato crioscópico.

O sinal analógico adquirido do detector do cromatógrafo foi amplificado por um circuito montado no laboratório, conforme ilustra a figura 6.2A. Este amplificador apresenta duas fontes simétricas (12 V e 5 V) para alimentar dois amplificadores operacionais *OP-07*, cujos objetivos são amplificar 10 vezes o sinal e ajustar a ddp adquirida pela placa A/D (limites entre $-5V$ a $+5V$). O controle das válvulas foi realizado através de dois TRIACs (RS 346-895) cujos engatilhamentos eram realizados por dois canais, como ilustrado na figura 6.2C. O início da corrida cromatográfica era controlada por outro relê interno e um circuito ilustrado na figura 6.2B.

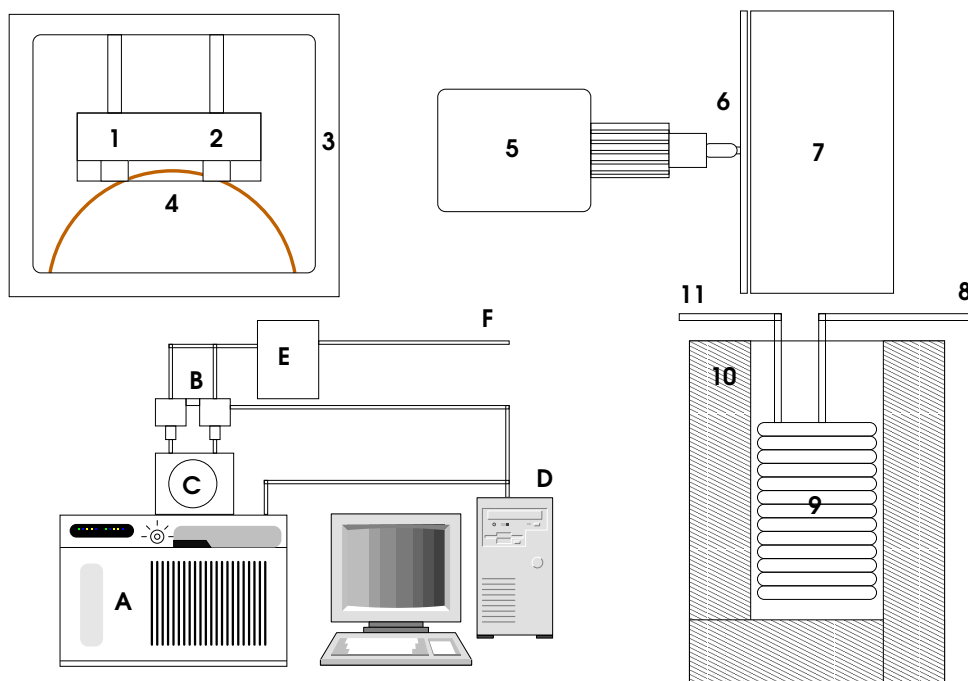


Figura 6.1: Esquema do sistema **GCxGC** estudado: (*vista interna do modulador*) (1,2) cabeçote dos jatos criogênicos; (3) isolamento térmico do forno; (4) coluna cromatográfica; (*vista do modulador montado*) (5) soprador térmico; (6) tampa do forno; (7) forno; (*vista interna do sistema de resfriamento do gás criogênico*) (8) linha de N_2 ; (9) Espiral de Cobre; (10) Dewar; (11) saída de gás resfriado; (*sistema completo*) (A) cromatógrafo a gás; (B) válvulas solenóides; (C) modulador criogênico; (D) microcomputador; (E) sistema de resfriamento; (F) linha de N_2 .

O controle do cromatógrafo e das válvulas foi realizado através de um microcomputador (IBM-PC K7 700 MHz, 452 MB RAM, HD IDE 40 GB) com uma placa A/D D/A (Advantech PCL-711B, 12 bits, 25 kHz). O sistema operacional escolhido foi o Linux (distribuição Debian Linux GNU/FSF v 4.0, kernel 2.6.18 com *patch Real-Time*) com recursos gráficos (**X11R6**, com gerenciador de janelas *Enlightment*), com recursos de rede (servidor **HTML** apache v. 2.2.3 e **PHP** v. 4.4.4-8) e alguns aplicativos (**Mozilla Firefox**, **OpenDx**, **OCTAVE**, **GNU PLOT**, entre outros). Além disso, o compilador *gcc* (v. 4.1.2) foi utilizado para criar os binários dos programas em linguagem **C** e *scripts* em **BASH** (v. 3.1.17) foram criados para algumas tarefas dentro do sistema operacional. Para a comunicação com a placa A/D D/A, foi utilizado um *driver* escrito e disponibilizado pelo Sr. Llamas¹³⁰. O conjunto de programas criados para este sistema foi denominado **CROMATOGRAFIA**.

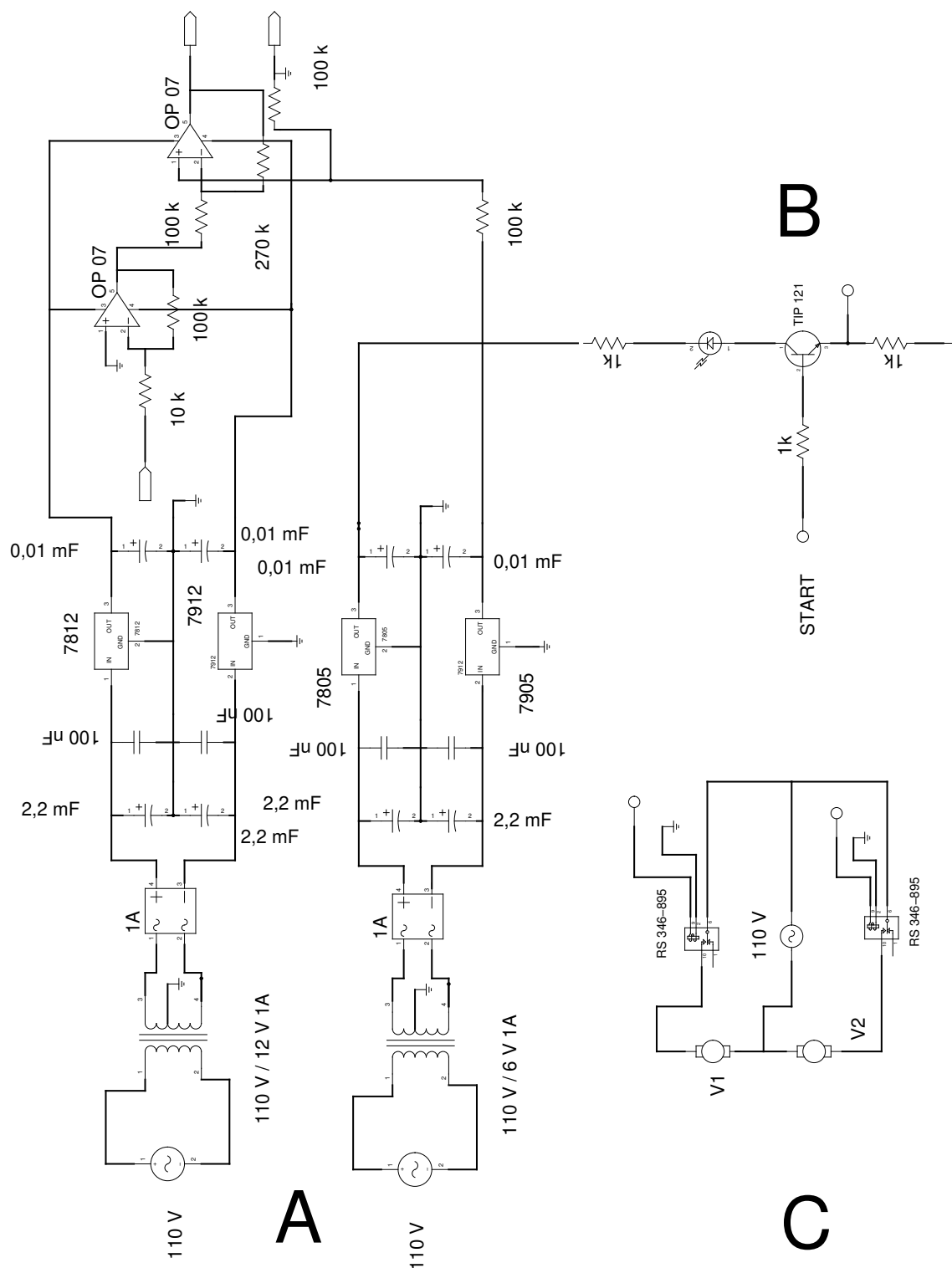


Figura 6.2: Esquema ilustrativo dos circuitos de amplificação e controle do sistema **GCxGC** com Duplo Jato Crioscópico: (A) fontes simétricas de 5 e 12 V e circuitos de amplificação; (B) circuitos de controle de válvulas; e (C) circuito para monitoramento do início da corrida.

6.2 Sistema GCxGC com 4 Jatos

O segundo sistema **GCxGC** utilizado para o desenvolvimento dos programas com Labview consistia em um cromatógrafo a gás (Hewlett-Packard 6890 com detector de ionização em chama, **FID**) com duas colunas *in tandem* (HP-1 25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m - DB-Wax 1 m x 0,10 mm x 0,10 μ m e HP-5 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m - HP-50 1 m x 0,10 mm x 0,10 μ m). A modulação do sistema foi realizada através de jatos com N_2 controlados por duas válvulas solenóides de 3 vias (Ascoval Ind. e Com. Ltda): 2 resfriados por $N_{2(l)}$ ($4Lmin^{-1}$, 40 psi) e 2 aquecidos por uma caixa de areia aquecida por dois cartuchos de aquecimentos em série ($400W$, $350\text{ }^{\circ}C$, $40Lmin^{-1}$, 40 psi)¹¹. A figura 6.3 apresenta um esquema ilustrativo do sistema **GCxGC** com 4 jatos.

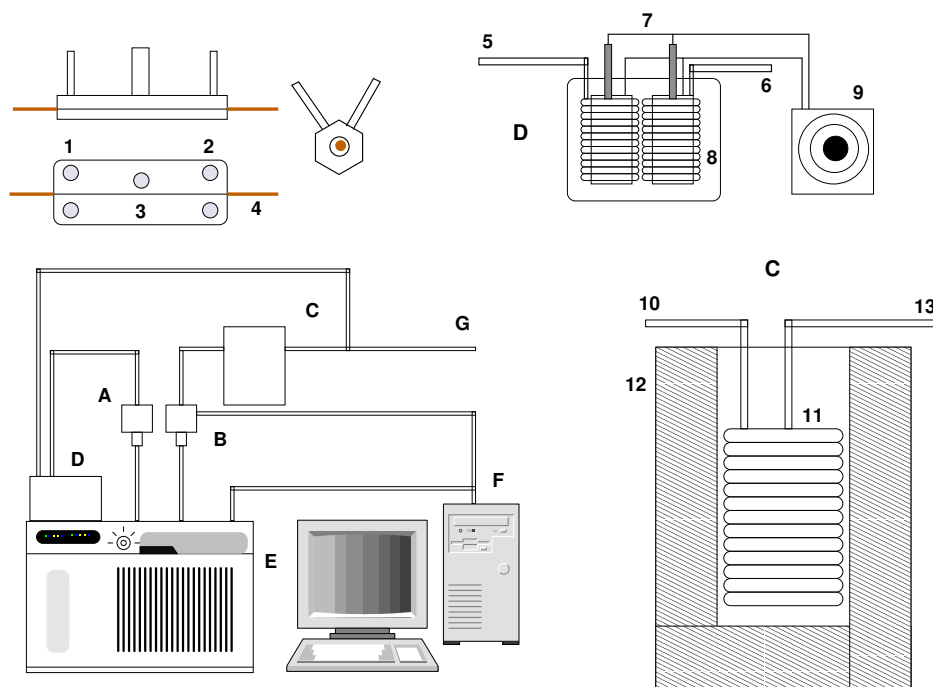


Figura 6.3: Esquema do sistema **GCxGC** estudado: (*vista do modulador*) (1,2) entrada de gás resfriado e aquecido; (3) saída de gases; (4) coluna cromatográfica; (*vista do sistema de aquecimento*) (5) entrada de N_2 ; (6) saída do gás aquecido; (7) cartuchos de aquecimento; (8) isolamento; (9) controle eletrônico; (*vista interna do sistema de resfriamento do gás criogênico*) (10) linha de N_2 ; (11) Espiral de Cobre; (12) Dewar; (13) saída de gás resfriado; (*sistema completo*) (A, B) válvulas de 3 canais; (C) sistema de resfriamento; (D) sistema de aquecimento; (E) cromatógrafo a gás; (F) microcomputador; (G) linha de N_2 .

O sinal cromatográfico foi adquirido através de uma saída analógica amplificada (portas 1 e 2, conector serial 1, 0 a 10 V) do próprio cromatógrafo. Além disso, o sinal de início da corrida foi monitorado através de uma saída digital (porta 5, conector serial 1), também, do cromatógrafo. As válvulas solenóides foram controladas por sinais de onda quadrada analógicos variando de 0 a 5 V. O controle do sistema foi realizado por um microcomputador (AMD Dual Core 4400+, 4 GB RAM, HD 160 GB, Microsoft Windows 2003 Server) utilizando a linguagem de programação visual *Labview* (v. 8.5) e uma controladora A/D D/A externa (National Instruments, NI-DAQPad 6015, 16 bits) conectada a uma entrada **USB** (***U**niversal **S**erial **B**us*). O sistema desenvolvido foi denominado **LABVIEW**.

Capítulo 7

Sistema de controle CROMATOGRAFIA

"Existem dois tipos de programadores:
aqueles que fazem e
aqueles que copiam!"

7.1 Desenvolvimento de software

Como apresentado no capítulo 6, o primeiro sistema **GCxGC** apresenta um cromatógrafo e duas válvulas do modulador para ser controlado. O cromatógrafo apresenta uma saída com sinal analógico do eletrômetro do **FID** (0 a 1 V) e uma saída digital **TTL** que envia um sinal quando o botão *START* é apertado. Já as válvulas são acionadas por dois relês eletrônicos controlados por duas entradas digitais. Assim, o *software* para este sistema deve controlar um dispositivo de conversão A/D D/A para adquirir os sinais analógico e digital do cromatógrafo e enviar sinais digitais para o controle das válvulas do modulador. Além disso, deve-se poder monitorar os dados obtidos, através de representações gráficas, reiniciar o sistema por eventuais erros de operação, e, ao final da corrida, realizar o tratamento dos dados, cálculo dos parâmetros cromatográficos e visualização em alta definição dos cromatogramas.

Devido às diferentes tarefas a serem realizadas, decidiu-se dividi-las em programas

menores ou módulos cujas execuções podem ser realizadas independentemente ou em paralelo e em ordem de prioridade configurada no **OS**. Desta forma, o controle do sistema **GCxGC** foi dividido em 5 módulos:

- **CROMAT** controle do cromatógrafo e válvulas do modulador;
- **CROMATO** criação de representações gráficas durante a corrida;
- **CROMATOG** reinício do sistema e módulos durante a corrida;
- **CROMATOGR** tratamento dos dados e cálculo dos parâmetros cromatográficos;
- **CROMATOGRA** visualização em alta definição dos cromatogramas.

Estes módulos foram controlados utilizando os recursos de rede do **OS** *real-time* em conjunto com alguns aplicativos para a criação dos cromatogramas. Este grupo de programas foi denominado **CROMATOGRAFIA** e seus módulos serão discutidos nos próximos itens.

7.1.1 O Módulo CROMAT

O módulo **CROMAT** foi desenvolvido para controlar os *hardwares* do primeiro sistema **GCxGC**. A grande dificuldade deste módulo foi a aquisição e o controle temporal precisos requeridos para as técnicas cromatográficas ($\leq 0,1\%$)⁸⁵ e com a frequência necessária para realizar uma análise por **GCxGC** (pelo menos 100 Hz). Contudo, utilizando os recursos do sistema operacional **Linux** *real-time*, esta dificuldade foi contornada. A figura 7.1 apresenta um diagrama lógico para o módulo. Inicialmente, cria-se um serviço de rede em uma porta de comunicação pré-configurada pelo administrador (22222/tcp, máquina 143.106.13.55). Associando-se o endereço da máquina servidora e esta porta, o **CROMAT** espera a comunicação de cliente pela rede para iniciar o controle do sistema **GCxGC** através de um *looping* infinito. Então, o usuário pode entrar em comunicação através de qualquer recurso que possibilite a utilização de protocolo cliente-servidor criado. Neste caso, foi criado **GUI** com os recursos gráficos em **HTML** (apresentados por um *Web Browser*) em conjunto com um *script* em **PHP** realizado por um servidor *Apache* na própria máquina. Uma vez iniciado, o módulo gera uma cópia de si mesmo para atender ao cliente (*child*) e volta ao estado inicial esperando novos clientes (*parent*). Já que o sistema não pode ser controlado por mais clientes, cria-se

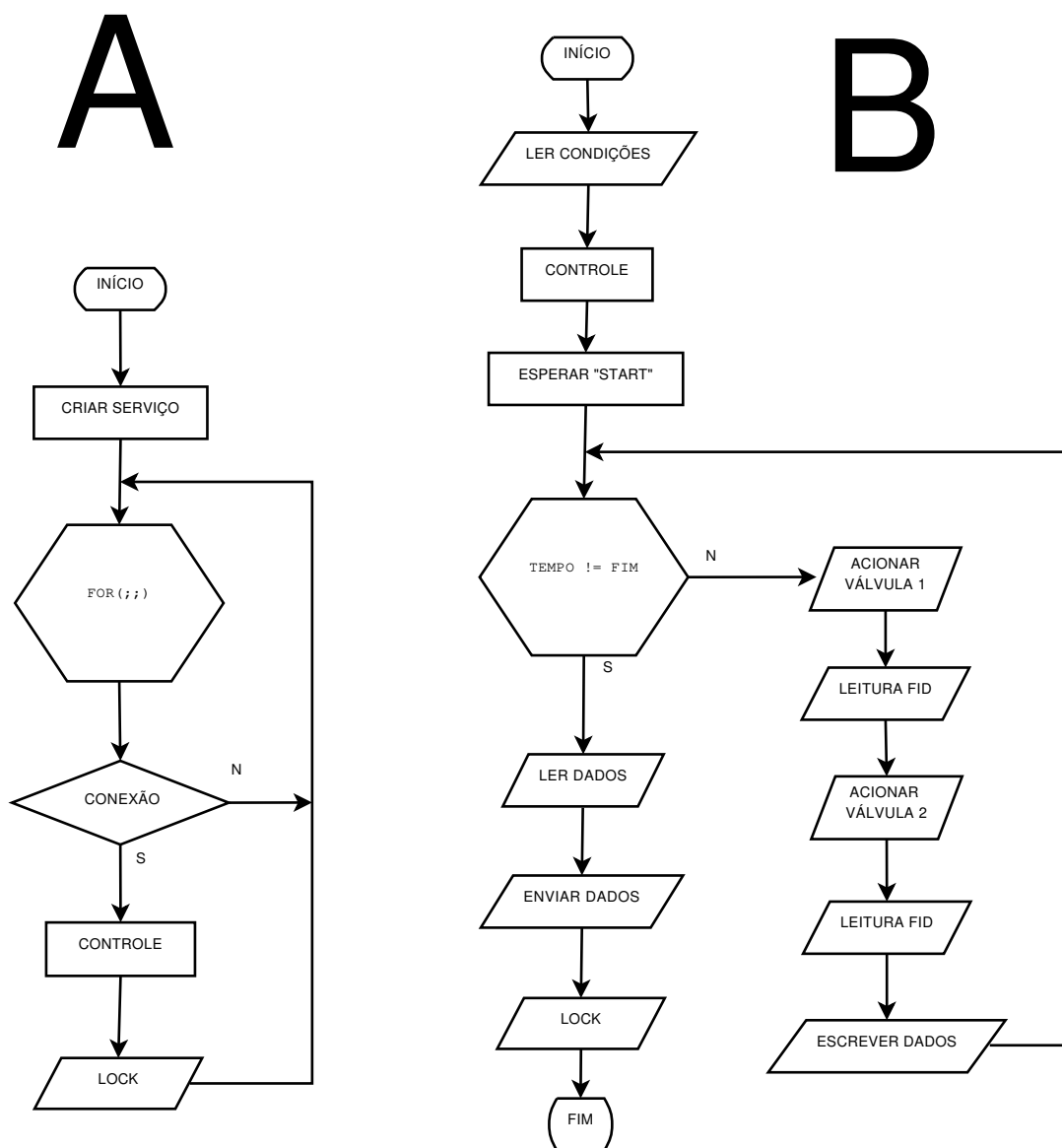


Figura 7.1: Diagrama lógico do programa **CROMAT**: (A) serviço tipo *cliente-servidor* (*parent*); (B) controle do sistema (*child*). Código em C apresentado em **Anexo 1**.

um arquivo *lock* para não executar novas conexões. No processo *child*, inicia-se a comunicação tipo cliente-servidor¹³¹, onde os parâmetros cromatográficos selecionados na **GUI** pelo usuário são transferidos para o servidor, conferidos e mensagens de confirmação da chegada dos dados são enviados para o cliente.

Após a verificação se os parâmetros cromatográficos estão corretos, estes são utili-

zados para iniciar o controle do sistema **GCxGC**. Inicialmente, cria-se um arquivo para salvamento dos dados denominado de acordo com o horário do pedido do cliente. Com o período de modulação e o tempo total da corrida, inicia-se controle da placa A/D D/A e espera-se o acionamento do botão "START" monitorando a entrada digital 0. Uma vez acionado, cria-se um sinal *high* (5 V) na saída digital 0, acionando o relê da primeira válvula, abrindo-a e iniciando a modulação. E, pela porta analógica 0, inicia-se o monitoramento do cromatógrafo para leitura do sinal do detector. Cada dado é obtido por 100 leituras consecutivas e cálculo da média, sendo gravado na memória RAM ou disco dentro do tempo limite de $10ms$. Após o período da primeira válvula, baixa-se o nível lógico da saída digital 0 e inicia-se a segunda válvula pelo envio de um sinal *high* na saída digital 1. Continua-se a leitura da entrada analógica 0 e repete-se esta rotina até que o tempo total seja alcançado. O controle da placa A/D D/A é realizado através de funções descritas nas bibliotecas *pcl711.h* e *pcl711.c*¹³⁰ em linguagem **C**.

Por fim, após o reinício da placa A/D para zerar as saídas digitais e desligar as válvulas criogênicas, os dados são transmitidos por rede para o cliente e movidos para o diretório *Www* para serem disponibilizados pelo servidor *Apache* da máquina. E, os dados finais poderão ser visualizados através de representações gráficas 2D e 3D obtidos pelo módulo **CROMATOGR** em conjunto com o aplicativo **GNUPLLOT**¹³².

7.1.2 O Módulo CROMATO

Como foi apresentado no item 7.1.1, o módulo **CROMAT** controla o sistema **GCxGC** do início ao fim da corrida cromatográfica. Contudo, as únicas interações com o usuário são no início da corrida (escolha dos parâmetros cromatográficos) e no final (apresentação dos resultados finais). Durante a corrida, o usuário não tem como visualizar os dados e salvar dados intermediários. Para estas tarefas, o módulo **CROMATO** foi desenvolvido. Este cria e apresenta gráficos dos dados obtidos pelo módulo **CROMAT** durante a corrida cromatográfica. A figura 7.2 apresenta um diagrama lógico do módulo. Semelhante a **CROMAT**, o módulo **CROMATO** também é realizado através de um protocolo de rede tipo cliente-servidor. O usuário inicia e comunicação deste módulo através de **GUI (HTML / PHP)** onde os dados transmitidos são validados e confirmados pelo servidor.

Inicialmente, o módulo **CROMATO** necessita adquirir os dados obtidos pelo **CRO-**

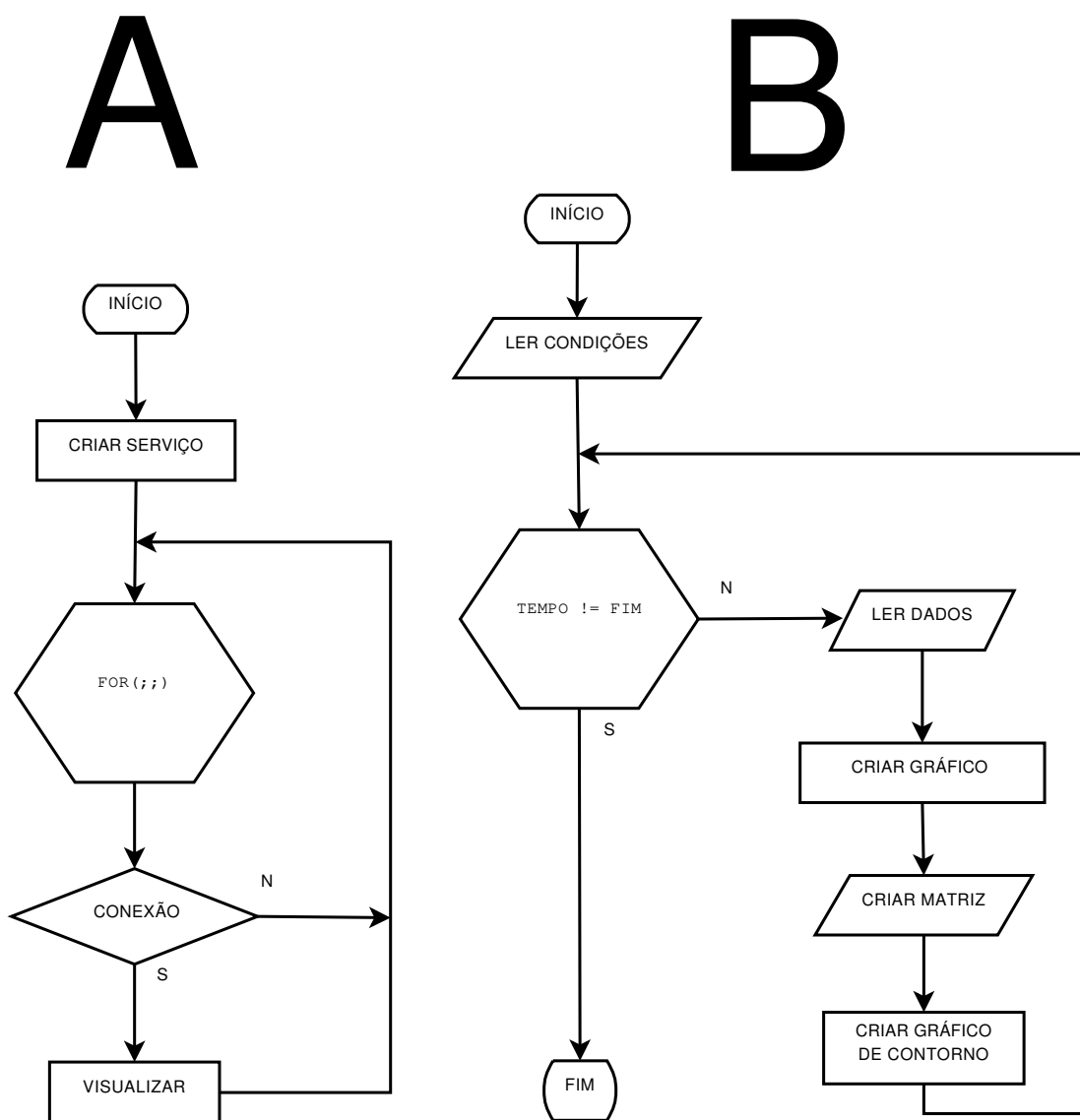


Figura 7.2: Diagrama lógico do módulo **CROMATO**: (A) serviço *cliente-servidor*; (B) visualizar cromatograma. Código apresentado em **Anexo 2**.

MAT que são armazenados em um arquivo durante o processo de aquisição dos dados cromatográficos. Utilizando os recursos do sistema operacional (o comando *tail* do **BASH**), **CROMATO** adquire, em períodos regulares, uma cópia dos últimos 14.000 dados e armazena-os em um arquivo próprio durante toda a corrida. Estes dados arquivados são utilizados pelos aplicativos **OCTAVE** e **GNU PLOT** para a construção dos gráficos (exportados em formato **PNG**, *Portable Network Graphics*). O aplicativo **OCTAVE** transforma os dados obtidos em uma matriz enquanto **GNU PLOT** cria os gráficos 2D e 3D, ambos em *background*.

A apresentação dos gráficos ao usuário é realizada a partir de um *script* em **HTML**, ou seja, através de um *Web Browser*. Além disso, o *script* em **HTML** atualiza em períodos constantes as páginas com os gráficos, dando ao usuário a impressão de um monitoramento em tempo real.

7.1.3 O Módulo CROMATOG

O módulo **CROMATOG** tem como objetivo reiniciar o sistema **GCxGC** caso haja a necessidade de parar uma corrida cromatográfica ou pela queda da rede elétrica durante uma corrida. Para isto, há a necessidade da eliminação dos processos dos módulos **CROMAT** e **CROMATO**, da mudança do arquivo de dados do diretório principal para o diretório *backup* e, posteriormente, do reinício dos módulos anteriores. Desta forma, o sistema estará pronto para uma nova corrida cromatográfica em cerca de 90 s. A figura 7.3 apresenta o diagrama lógico deste módulo. Como os demais módulos, **CROMATOG** se comunica através de um protocolo cliente-servidor e utilizando **GUI** em **HTML** e **PHP**.

Iniciando a comunicação com o usuário, o módulo **CROMATOG** utiliza os recursos do sistema operacional (através de comandos em **BASH**) para realizar algumas tarefas. O comando *pskill cromat* realiza a eliminação dos processos que possuem a *string* "cromat" como identificadora. O comando *mv *.dat data* move os arquivos de dados criados pelo módulo **CROMAT** para o diretório de *backup* ("data"). E, por fim, os módulos são reiniciados através dos comandos *nice 15 /root/pcl711/cromat &* e *nice 5 /root/pcl711/cromato &*.

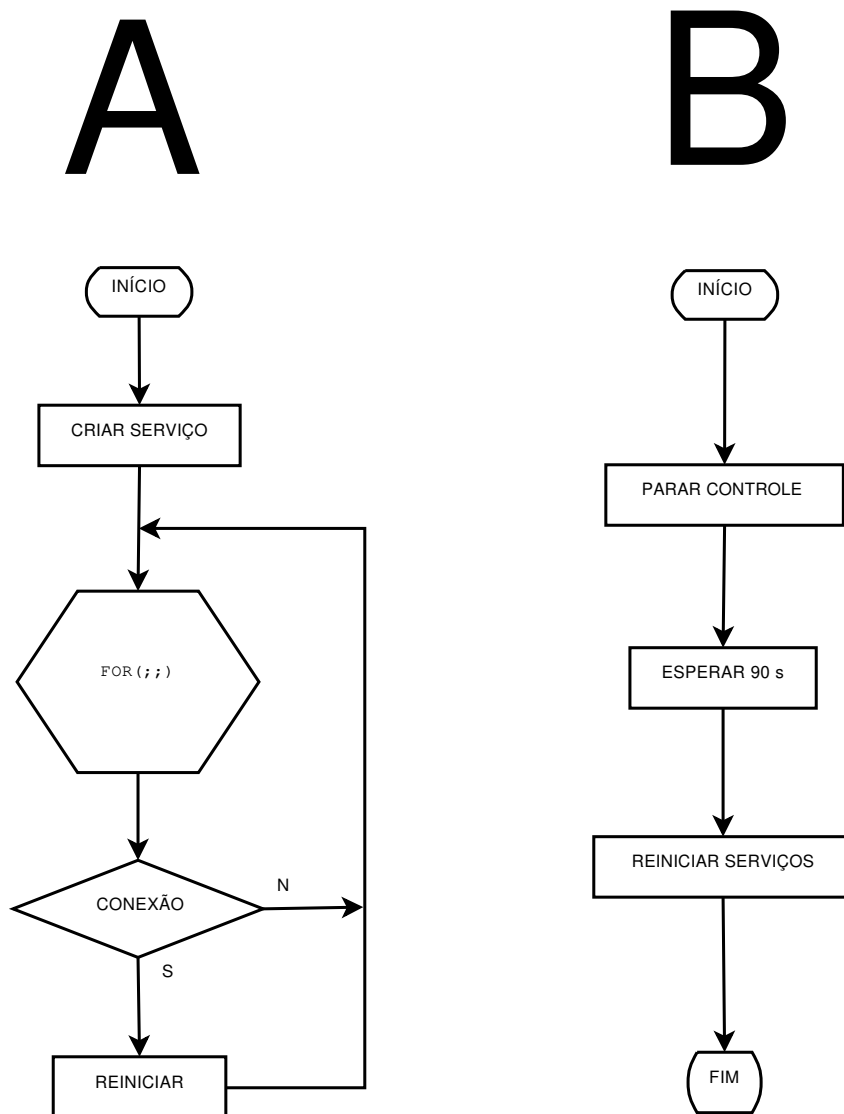


Figura 7.3: Diagrama lógico do módulo **CROMATOG**: (A) serviço *cliente-servidor*; (B) reiniciar serviços. Código apresentado em **Anexo 3**.

7.1.4 O Módulo CROMATOGR

Este módulo foi desenvolvido para tratamento dos dados cromatográficos bidimensionais e tem como objetivos calcular propriedades cromatográficas importantes como: *volume*, *tempos de retenção*, *variância*, e *assimetrias*. Para o reconhecimento dos picos, foi realizado um algoritmo que utiliza os cálculos de ruído e das primeira e segunda derivadas nas duas dimensões para o reconhecimento dos picos. Para cálculo dos parâmetros cromatográficos, foi utilizado a teoria dos momentos estatísticos^{23,83} para avaliar os dados nas duas dimensões. A figura 7.4 ilustra como é realizado o reconhecimento e o cálculo dos parâmetros cromatográficos em dados bidimensionais. Primeiramente, calcula-se o ruído médio e a derivada média dos dados. E, a partir destes valores iniciais e alguns parâmetros selecionados usuário (como será discutido no capítulo 9), inicia-se a busca de picos na segunda dimensão comparando-se os valores dos dados com o ruído e derivada média. Para picos reconhecidos ($signal > ruido$ e $\nabla > \nabla_{media}$), calcula-se as áreas e outros parâmetros para esta dimensão, reservando estes valores para a próxima busca na primeira dimensão. Após, inicia-se a busca de picos na primeira dimensão com os valores de área e calcula-se os volumes e outros parâmetros desta dimensão. Os máximos dos picos são calculados a partir da segunda derivada ($\nabla^2 \approx 0$).

Todos os resultados obtidos pelo cálculo dos parâmetros cromatográficos são escritos em arquivos textos e em arquivos formatados em *dx* para serem lidos no próximo módulo **CROMATOGRA**. Nos arquivos *dx*, os dados são formatados como objetos e podem ser associados para criar diferentes representações gráficas dos parâmetros cromatográficos calculados e interações com o usuário, como será apresentado no próximo item. Novamente, este módulo também utiliza os recursos de rede e **GUI** em **HTML/PHP** para a visualização dos dados representados através de gráficos criados pelo aplicativo **GNUPLLOT**.

A figura 7.5 apresenta o diagrama lógico do algoritmo utilizado. Para realização destes cálculos, o usuário define configurações iniciais, como $\frac{s}{n}$, o volume de corte e o número de pontos para cálculo das derivadas ou janela. E, a partir dos dados cromatográficos, são criados os arquivos *dx* com os dados cromatográficos da amostra e dos padrões. A partir das configurações iniciais, são calculados o ruído médio dos dados (média aritmética de todos os dados) e a derivada média (derivada da média

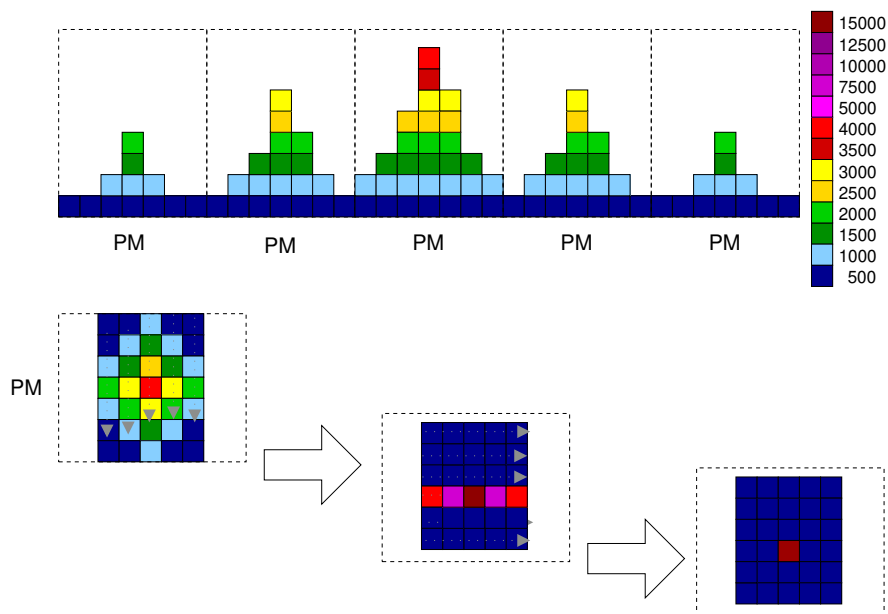


Figura 7.4: Diagrama ilustrativo do módulo **CROMATOGR**. **PM**: Período de Modulação.

aritmética das derivadas dos primeiros 100 pontos e dos 100 últimos pontos). Após, procura-se valores de sinal maiores que o ruído médio e com derivada maior que a derivada média. Em caso negativo, os dados são utilizados para o cálculo do ruído local e continua-se a busca de picos para os próximos pontos. Em caso positivo, inicia-se o cálculo das áreas e parâmetros cromatográficos da segunda dimensão, reservando estes valores em uma matriz bidimensional cujos índices dos elementos são os tempos de retenção na segunda e primeira dimensão das área calculadas, respectivamente. Com o fim da busca na segunda dimensão, inicia-se a busca na primeira dimensão utilizando os valores de áreas gravados na matriz anterior. Caso o elemento da matriz seja diferente de 0, ou seja, a área naquele ponto seja diferente de zero, inicia-se o cálculo do volume e dos parâmetros cromatográficos da primeira dimensão. Ao fim da busca, os valores de volume e dos tempos de retenção são gravados em arquivos dx para ser utilizados no próximo módulo.

Os cálculos de momentos estatísticos possibilitam a avaliação dos parâmetros cromatográficos acima descritos independente da simetria dos picos, contudo a razão s/n utilizada deve ser alta para isto ($\frac{s}{n} = 100$)²³. Além disso, o mapeamento dos picos é de difícil lógica e, muitas vezes, gera resultados com aproximações consideráveis³⁷.

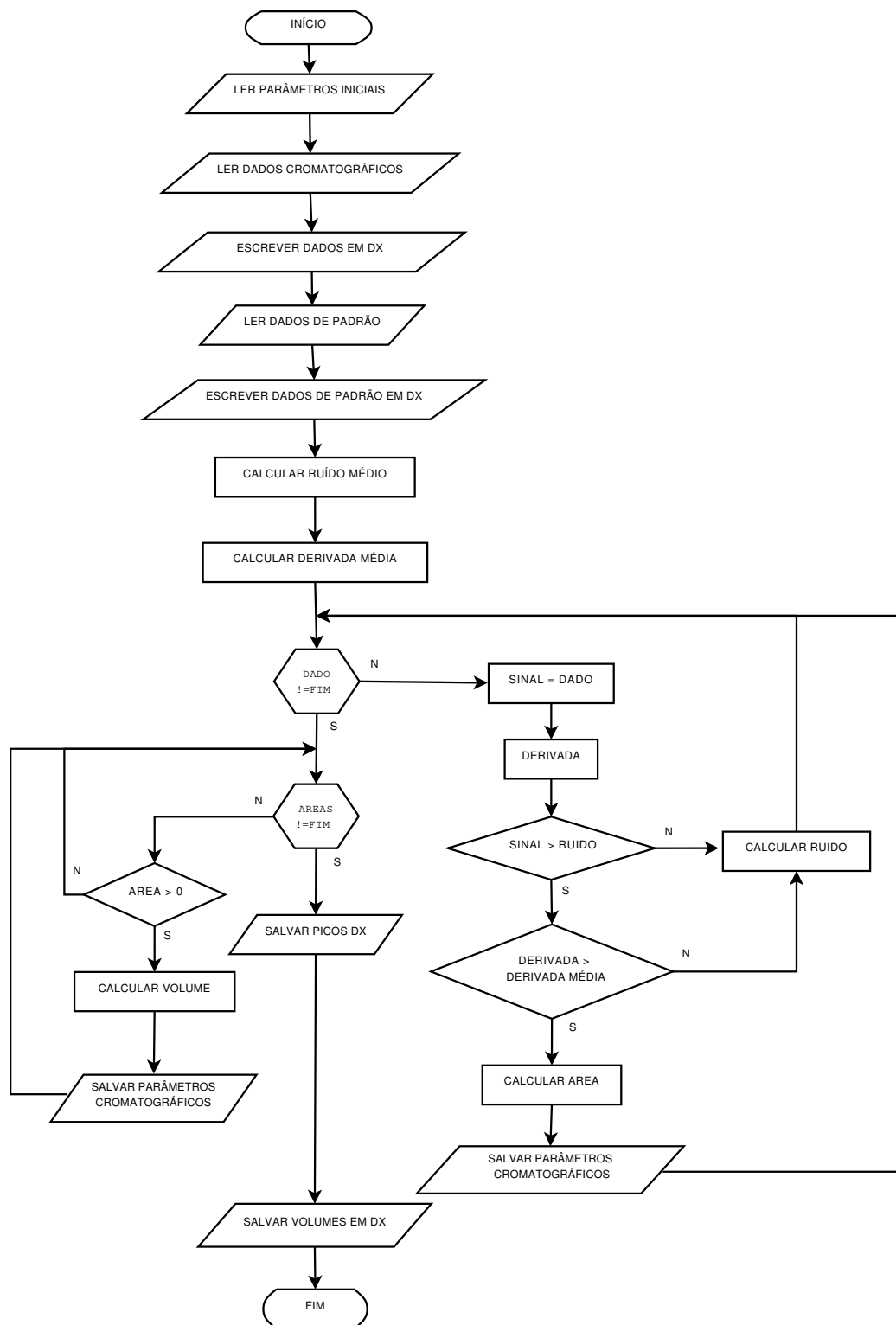


Figura 7.5: Diagrama lógico do módulo **CROMATOGR**. Código apresentado em **Anexo 4**.

7.1.5 O Módulo CROMATOGR

Para a visualização dos dados cromatográficos, foi desenvolvido um módulo com a linguagem *Opendx*¹⁰⁵ denominado **CROMATOGR**. A linguagem *Opendx* apresenta uma **IDE** que possibilita a fácil programação através de fluxogramas e blocos pré-definidos para tratamento e criação de imagens gráficas científicas de alta resolução de forma otimizada e rápida. Além disso, possibilita ao usuário avançado criar seus próprios blocos para representação e tratamento mais específico dos dados através de um ferramenta compilação denominado *dx-builder*¹⁰⁵.

A figura 7.6 apresenta o diagrama lógico do algoritmo deste módulo. Inicialmente, o módulo **CROMATOGR** é executado e os arquivos *dx* gerados são importados. Após, o módulo lê as configurações escolhidas pelo usuário (escala logaritma, filtros, arquivo de saída, linhas de contorno e cor das linhas) e cria o gráfico e objetos selecionados. Ao mesmo tempo, cria uma lista de picos encontrados pelo módulo **CROMATOGR**, possibilitando ao usuário a seleção do pico e representação do volume calculado. Por fim, o módulo fica à espera de novas configurações do usuário para novamente ser executado.

A figura 7.7 apresenta uma ilustração da **GUI** do módulo criado. Este módulo apresenta uma melhor resolução de cores para diferenciar visualmente as intensidades registradas, possibilitando ao analista uma pré-avaliação dos resultados obtidos. Além disso, apresenta diversos recursos para modificação da imagem construída, como *zoom*, mudança de câmera, interações com *mouse*, configuração de eixos, configuração da paleta de cores da legenda, cor de fundo e exportação do cromatograma em diferentes formatos (**TIFF**, *Tagged Image File Format*, **PS**, *PostScript*, **EPS**, *Encapsulated PostScript*, entre outros). A **GUI** principal (figura 7.7A) apresenta a imagem do cromatograma de contorno colorido ou seus resultados pela interação do usuário. Esta possibilita o arquivamento da imagem e outros controles inclusos no *Opendx*, como *zoom*, configuração de eixos, câmeras e paletas de cores. Já a **GUI** de controle (figura 7.7B) possibilita ao usuário a escolha do pico cromatográfico e de outras configurações já descritas. Por fim, a última **GUI** apresenta a lista de picos encontrados e mensagens de erros do módulo.

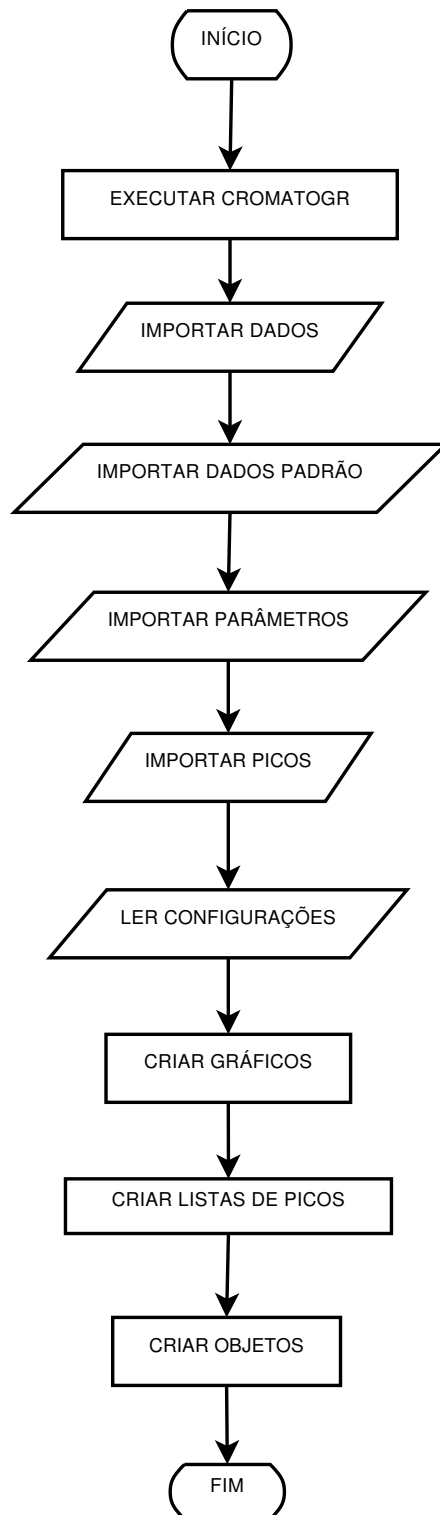


Figura 7.6: Diagrama lógico do módulo **CROMATOGR**. Diagramas apresentados em **Anexo 5**.

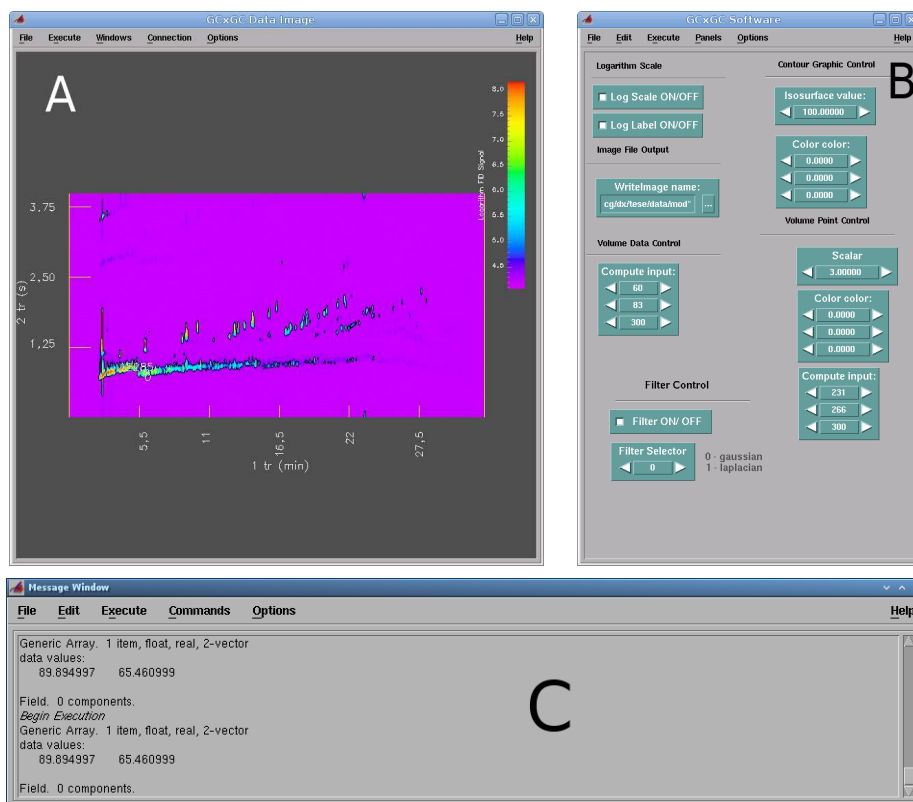


Figura 7.7: **GUI** do módulo **CROMATOGRAPH**: (A) apresentação de representação gráfica de contorno colorido; (B) controle de ferramentas gráficas; e (C) lista de picos encontrados.

7.1.6 GUI do sistema CROMATOGRAFIA

Para a interação do usuário com o conjunto de módulos descritos, foi desenvolvido uma série de janelas ilustradas na figura 7.8. Como já citado, estas janelas foram desenvolvidas com *scripts* em **HTML** (elementos gráficos), *Javascript* (validação de configurações) e **PHP** (comunicação cliente-servidor), sendo executadas por um *Web Browser* e um servidor de interpretação destes *scripts* (no caso, *Apache*). A execução destes iniciam os serviços de controle do sistema **CROMATOGRAFIA**. A janela principal (figura 7.8A) inicia a comunicação com o módulo **CROMAT**, enviando as condições cromatográficas (tempo de corrida, período de modulação e frequência de aquisição). A janela da figura 7.8B inicia a comunicação com o módulo **CROMATO** que cria os gráficos durante a corrida. As demais janelas (figuras 7.8C, 7.8D, 7.8E e 7.8F) servem

como monitores de tempo, controle de **CROMATOG** e dos dados, respectivamente. Ao final da análise, o usuário poderia escolher em salvar os dados transmitidos pelo servidor e iniciar o tratamento e cálculos dos parâmetros cromatográficos. Esta seleção era realizada na janela principal, que ao final da análise criava uma nova página com estes controles cujo acionamento iniciava a comunicação com o módulo **CROMATOGR**. A resposta deste módulo gerava uma nova página com os gráficos obtidos e tratados, com os resultados apresentados em uma tabela.

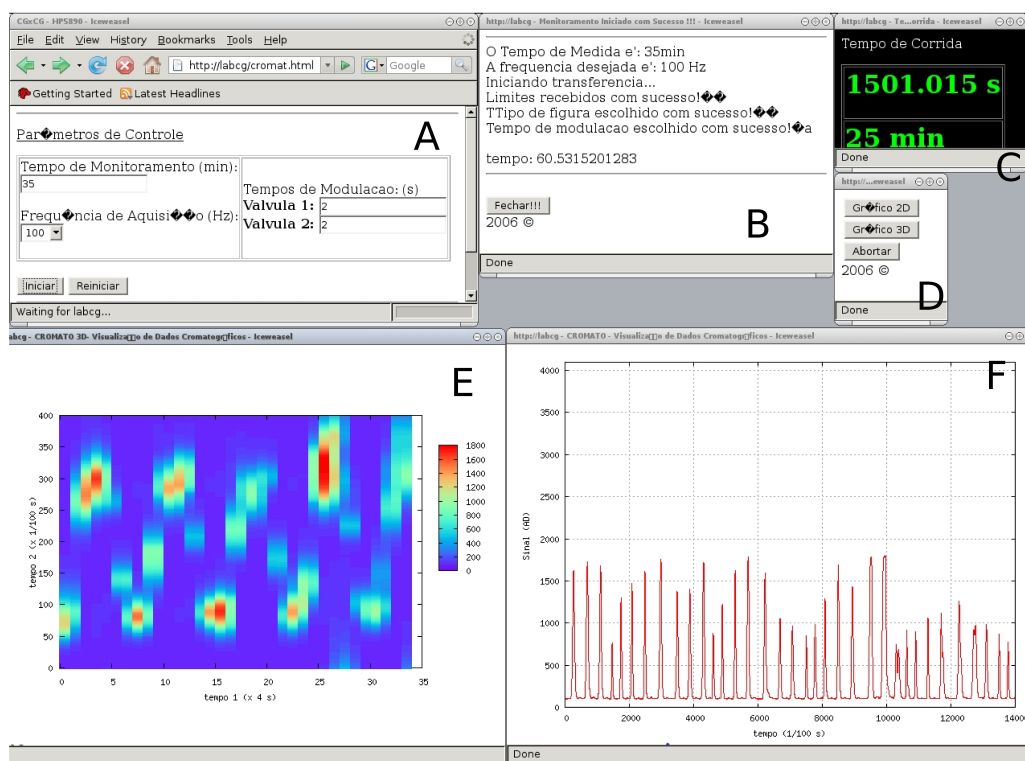


Figura 7.8: **GUI** do sistema **CROMATOGRAFIA**: (A) Controle de **CROMAT**; (B) Controle de **CROMATO**; (C) Monitor de Tempo de Corrida; (D) Seletor de Monitores de Gráficos e Controle de **CROMATOGR**; (E) e (F) Monitores de Aquisição de dados. *Scripts* apresentados em **Anexo 6**.

Por fim, o sistema **CROMATOGRAFIA** foi testado e aplicado ao controle do primeiro sistema **GCxGC** desenvolvido neste laboratório em análises de produtos petroquímicos. Esta avaliação do desempenho deste sistema frente controle temporal na aquisição e acionamento das válvulas do modulador do **OS** será discutido no capítulo 9.

Capítulo 8

Sistema de Controle LABVIEW

8.1 Desenvolvimento de software

O sistema **LABVIEW** foi desenvolvido utilizando os recursos da linguagem de programação visual **NI Labview** para realizar o controle do sistema **GCxGC**. Como descrito no capítulo 3, esta linguagem proporciona a programação e o desenvolvimento da **GUI** simultâneos, o que diminui bastante o tempo de desenvolvimento. Além disso, possibilita a criação de programas através de diagramas, similar a linguagem **OpenDx**. A figura 8.1 apresenta o diagrama lógico do sistema. Inicialmente, o usuário escolhe as condições cromatográficas, como tempo de corrida, frequência de aquisição e período de modulação, através da **GUI**. Simultaneamente, cria-se portas lógicas para a comunicação com a conversora A/D: uma entrada analógica para o monitoramento do detector, duas saídas analógicas para controle das válvulas do modulador, e uma entrada digital para monitorar o início ou *start* do cromatógrafo. Além disso, configura-se *clock* de controle a partir da frequência e tempo de corrida escolhidos. Após, inicia-se as portas de controle das válvulas utilizando sinais de onda quadrada para estabilização das temperaturas do modulador e inicia-se o monitoramento do *start* ou início da corrida. A partir do acionamento do *start*, inicia-se a leitura do detector e controle das válvulas de acordo com as escolhas do usuário. Ao fim do controle, o sistema espera pelo início de uma nova corrida.

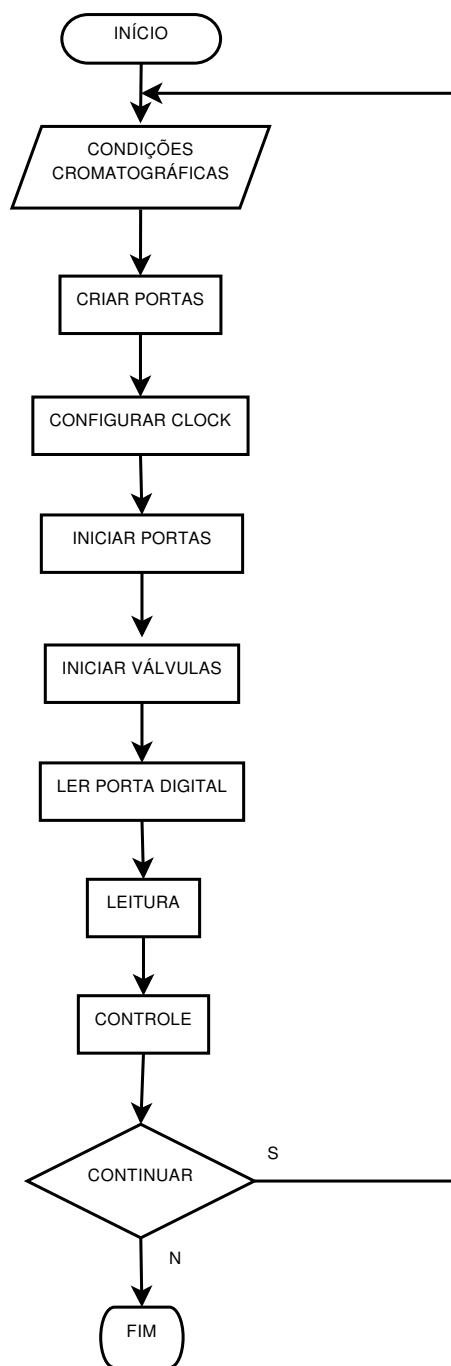


Figura 8.1: Diagrama lógico do sistema **LABVIEW**. O Diagrama na linguagem **NI Labview** está apresentado no **Anexo 7**.

Com mais detalhes, as funções de *iniciar*, de *leitura* e de *controle* podem ser ilustrados na figura 8.2. A função *iniciar* realiza a leitura digital esperando pelo acionamento do *start* do cromatógrafo, como ilustra a figura 8.2A. Quando este é acionado, retorna com um valor "verdadeiro" para iniciar as demais funções. Com o início da corrida, a função *leitura* inicia o monitoramento do detector enquanto o número de amostras calculado pela frequência e pelo tempo de corrida não for alcançado, como ilustrado na figura 8.2B. A cada etapa, cria-se uma representação gráfica da corrida e salvam-se os dados adquiridos. Deve-se salientar que o processo de leitura é controlado pelo *clock* da conversora A/D.

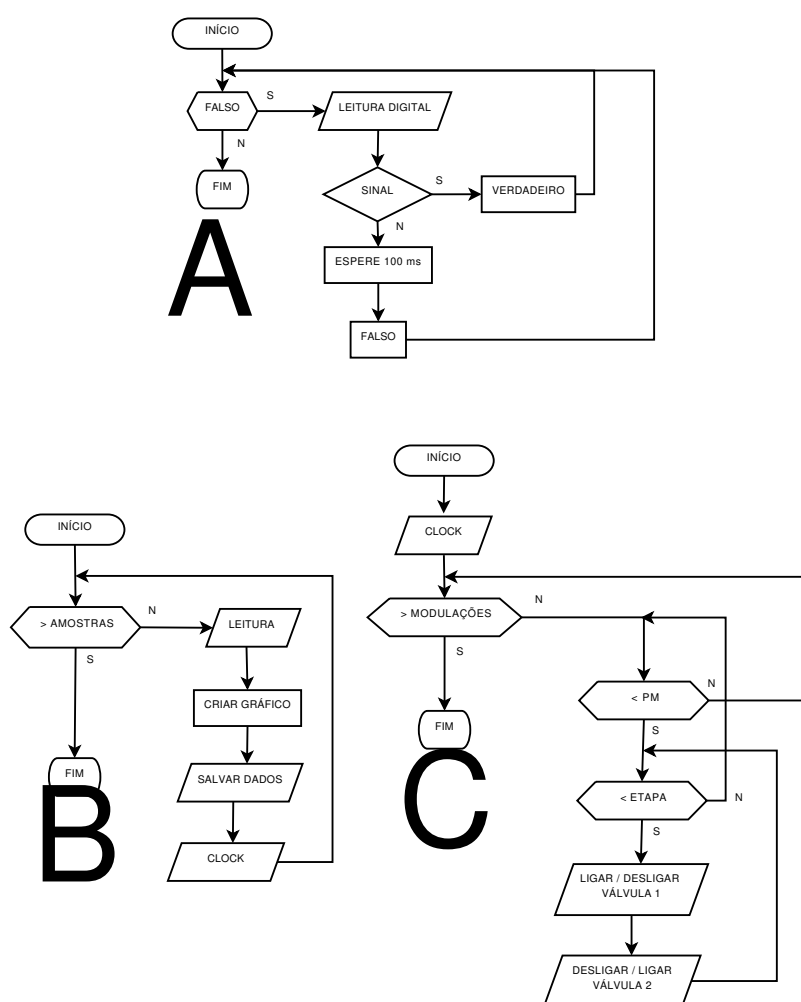


Figura 8.2: Diagramas lógicos das funções (A) *iniciar*, (B) *leitura* e (C) *controle* do sistema **LABVIEW**.

Simultaneamente, o controle do acionamento das válvulas é realizado em 4 ciclos dentro de P_M escolhido, como ilustrado na figura 8.2C. Dentro do ciclo, o usuário pode selecionar o período em que as válvulas estarão abertas e/ou fechadas com precisão de ms. Como **OS** utilizado é convencional, este controle também é realizado pelo *clock* da conversora A/D. Ao fim das modulações calculadas, as válvulas voltam ao controle de sinais de onda quadrada, esperando nova corrida ou desligamento do sistema **GCxGC**.

Por fim, a figura 8.3 ilustra **GUI** desenvolvida. Nesta interface, o usuário pode visualizar a ampliação do cromatograma no intervalo de P_M (figura 8.3A) para verificar a eficiência do modulador. A figura 8.3B apresenta o controle do cromatógrafo cujas seleções podem controlar o comportamento modulador em 4 ciclos de abertura e fechamento das válvulas, a frequência e o tempo de corrida e monitorar o tempo decorrido. A figura 8.3C ilustra o monitoramento do cromatograma.

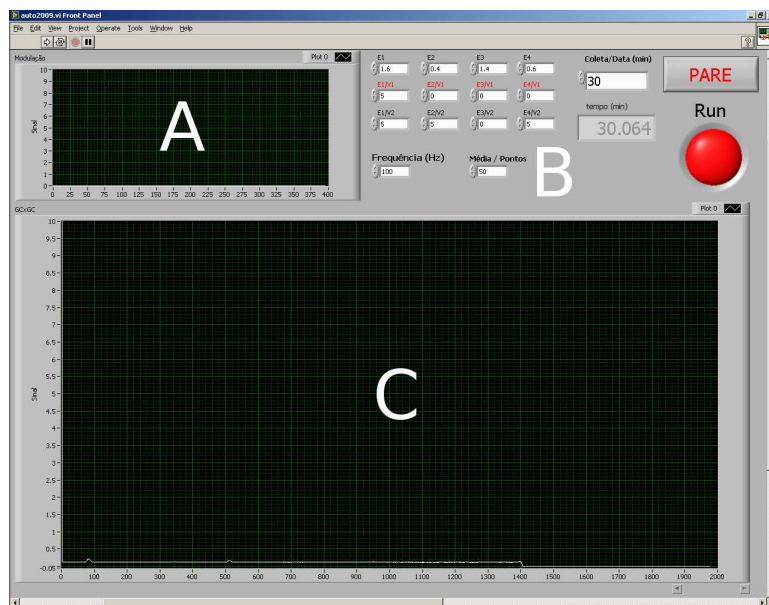


Figura 8.3: **GUI** criada com a linguagem *Labview*: (A) gráfico ampliado no P_M ; (B) controle da corrida cromatográfica; e (C) gráfico principal.

Além disso, a **GUI** possibilita o tratamento dos dados adquiridos através de um filtro de média fixa cujo número de pontos utilizados para o cálculo da média é selecionado pelo usuário no controle do cromatógrafo (figura 8.3B). A validação deste programa no controle do sistema **GCxGC** é discutida no próximo item.

Parte IV

Resultados e Discussão

Capítulo 9

Validação dos sistemas de controle

9.1 Validação do sistema CROMATOGRAFIA

9.1.1 Validação do módulo CROMAT

Os resultados obtidos pelo módulo **CROMAT** foram avaliados em relação ao tempo de abertura das válvulas, ao tempo total da análise e ao sinal monitorado. Para a validação temporal, monitorou-se o desempenho do programa utilizando o *clock* (1,19 MHz) dos **OS** convencional e *real-time* a partir das bibliotecas *time.h*. A figura 9.1 apresenta a variação dos tempos de abertura e fechamento das válvulas criogênicas com a execução do sistema **CROMATOGRAFIA** utilizando **OS** convencional na máquina servidora e através de outra em rede. Avaliando-se o desempenho do sistema sem o monitoramento gráfico dos dados e controle por rede (somente o módulo **CROMAT** sendo executado, figura 9.1A), percebe-se que o controle não apresenta erro temporal significativo. Contudo, quando a execução do módulo **CROMAT** é realizado na própria máquina, o período limite de controle das válvulas é ultrapassado, conforme ilustra a figura 9.1B. E, este erro só aumenta quando o sistema todo entra em operação, mesmo quando o controle é realizado através de outro microcomputador em rede (figura 9.1C). Por fim, o erro temporal ilustrado na figura 9.1D é devido a execução de todos os módulos na mesma máquina cujas prioridades e execuções são idênticas e

em paralelo no **OS** convencional, respectivamente. Estes atrasos são decorrentes à repartição do processador com outros aplicativos, como o servidor de **HTML/PHP**, o *Web Browser* utilizado no controle e na visualização dos dados, **GNUPLLOT** e **OCTAVE** utilizados para a criação dos gráficos pelo módulo **CROMATO** e os demais serviços e tarefas inerentes de um **OS**.

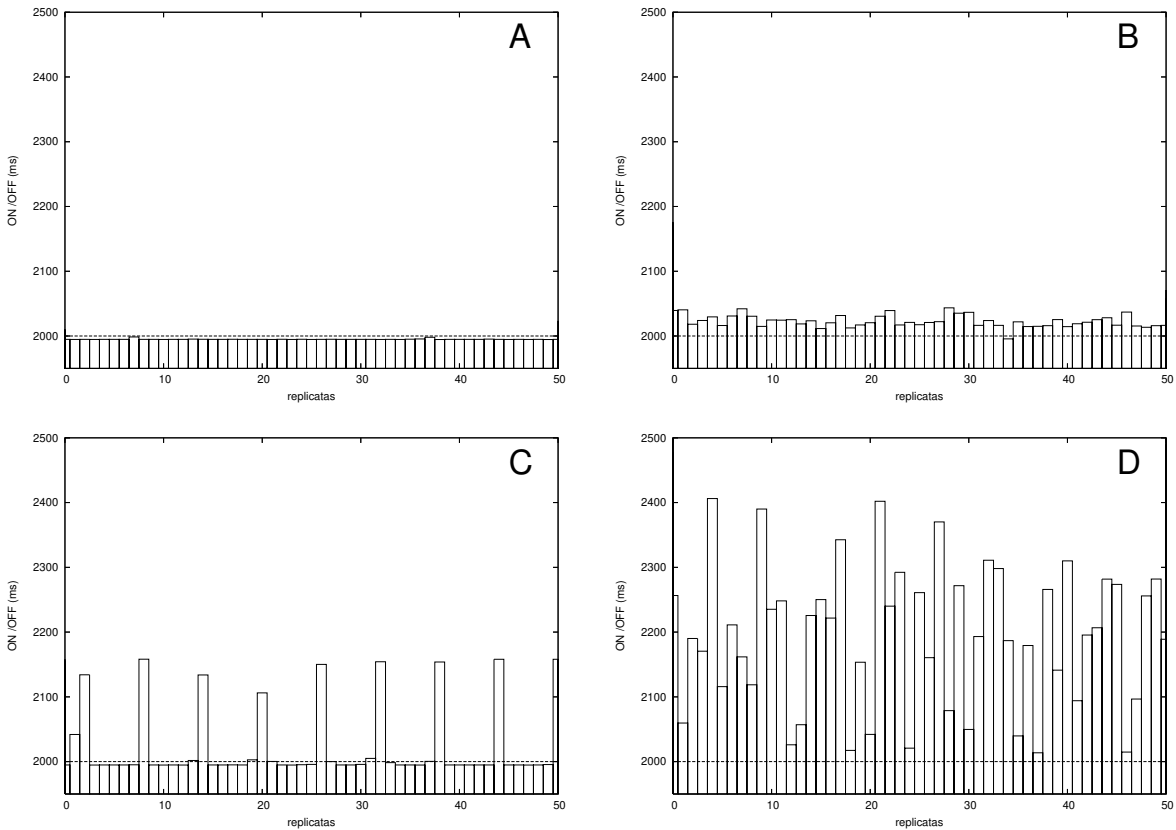


Figura 9.1: Variação no período de abertura das válvulas criogênicas ($t_m = 2$ s) comparando-se a execução dos programas de monitoramento: (A) apenas **CROMAT** por rede; (B) apenas **CROMAT**; (C) **CROMAT** e **CROMATO** por rede; e (D) **CROMAT** e **CROMATO**.

As consequências destes erros temporais consecutivos cria um cromatograma deslocado nos tempos de retenção em ambas as dimensões que pode ser identificado por uma inclinação acentuada de todos os picos. E, mesmo quando os resultados são precisos, qualquer evento do **OS** pode comprometer a repetibilidade do erro e gerar um cromatograma deslocado diferentemente. A figura 9.2 apresenta o erro temporal relativo, atraso acumulado e os cromatogramas com erro temporal e corrigidos pelo

período registrado no **OS** de abertura das válvulas de coleta e de focagem em uma análise de gasolina comum. Normalmente, com conjunto de colunas apolar x polar, espera-se que os hidrocarbonetos alifáticos estejam distribuídos no início da dimensão polar e alinhados em uma reta paralela ao eixo x e os hidrocarbonetos aromáticos estariam distribuídos em tempos de retenção maiores por causa da sua polaridade. Conforme apresentados nas figuras 9.2A e B, o erro temporal do controle das válvulas tem valores menores que 10% e seu atraso acumulativo pode chegar a dezenas de segundos. Consequentemente, o cromatograma com erro temporal apresenta todos os solutos distribuídos pela 2ª dimensão e alinhados em retas inclinadas, como ilustra a figura 9.2C. Se a precisão for mantida, este cromatograma pode ser ajustado utilizando os períodos de atraso, conforme ilustrado na figura 9.2D.

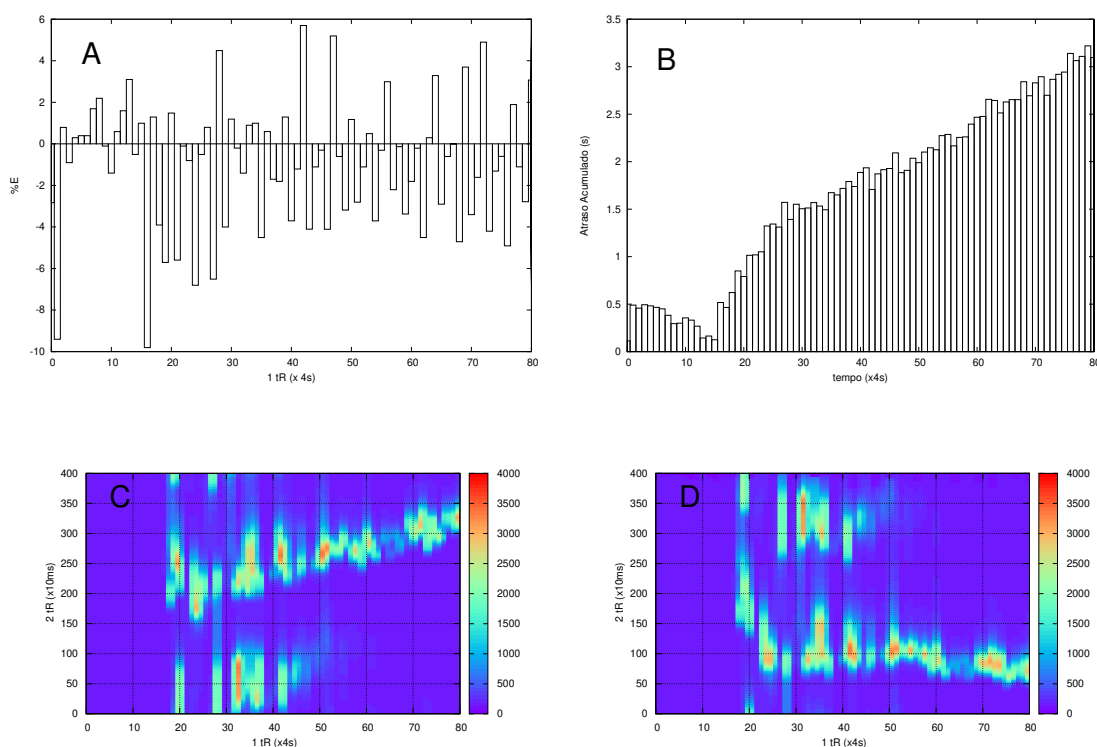


Figura 9.2: Impacto do erro temporal no controle das válvulas do modulador: (A) erro temporal relativo; (B) atraso acumulado durante a corrida; (C) ampliação de cromatograma com erro temporal; (D) ampliação de cromatograma de contornos corrigido. Amostra de Gasolina Comum. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de duplo-jato; detector **FID** ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$); injeção manual 0,2 μ L ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$, split 1:100).

Por isso, a utilização de **OS** *real-time* mostra-se necessária para minimizar ou anular o erro temporal do sistema. A figura 9.3 apresenta o erro temporal das válvulas, o atraso acumulado, a variação nos períodos de abertura das válvulas e no tempo total de corrida utilizando um **OS** *soft real-time*. Como ilustra a figura 9.3A, o erro no período das válvulas diminuiu para valores menores que 0,5 %. E, conseqüentemente, o atraso acumulado não ultrapassou 20 ms, como ilustra a figura 9.3B. Em valores absolutos, o atraso no período das válvulas não ultrapassa a barreira dos 10 ms (100 Hz) e o período total de monitoramento da corrida não ultrapassa 200 ms, como ilustram as figuras 9.3C e 9.3D, respectivamente.

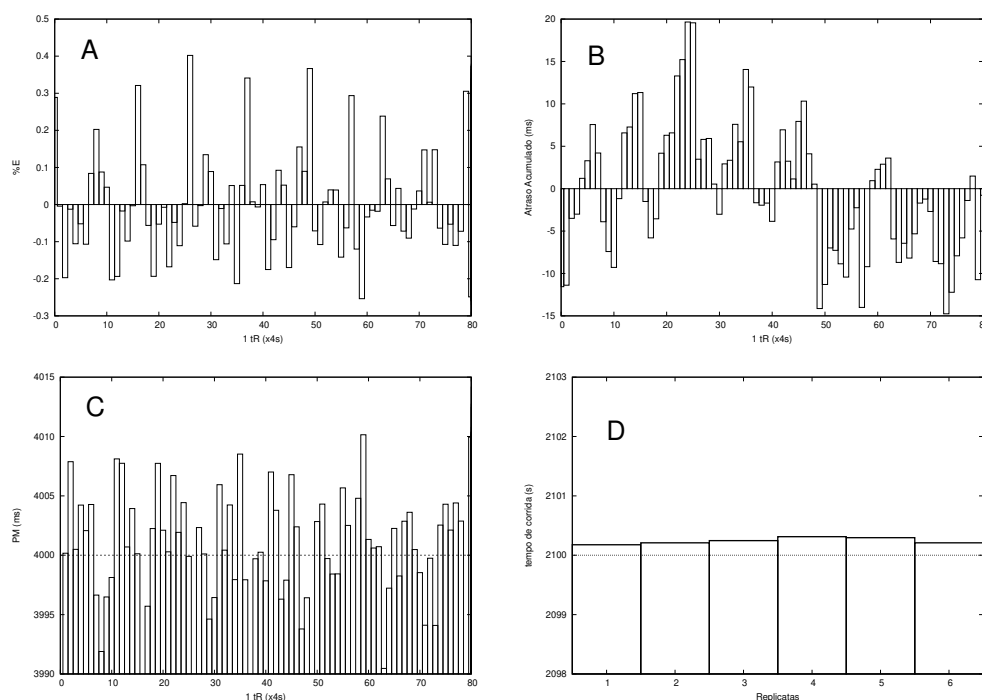


Figura 9.3: Desempenho do sistema **CROMATOGRAFIA** com **OS** *soft real-time*: (A) erro temporal relativo; (B) atraso acumulado durante a corrida; (C) variação no período de abertura das válvulas criogênicas; e (D) variação no tempo de corrida cromatográfica.

Para comparação do sinal monitorado, foram realizados experimentos utilizando o sinal de teste de impressão para integradores (*Test Plot*) armazenado no cromatógrafo e produtos petroquímicos. A figura 9.4 apresenta os resultados obtidos para monitoramento do *Test Plot* e para análise cromatográfica de gasolina comum. Avaliando-se o monitoramento do *Test Plot* com sistema **CROMATOGRAFIA**, verificou-se que a

variação da precisão não ultrapassa 0,005 min ($\sigma = 0,3\%$) e os tempos de retenção obtidos (1,50 min, figura 9.4A) foram confirmados com o sinal esperado ilustrado na figura 9.4B. As figuras 9.4C e 9.4D ilustram cromatogramas obtidos na análise de gasolina comum com injeção de volumes diferentes. Pode-se observar a organização esperada para os hidrocarbonetos alifáticos no início da segunda dimensão e para os hidrocarbonetos aromáticos.

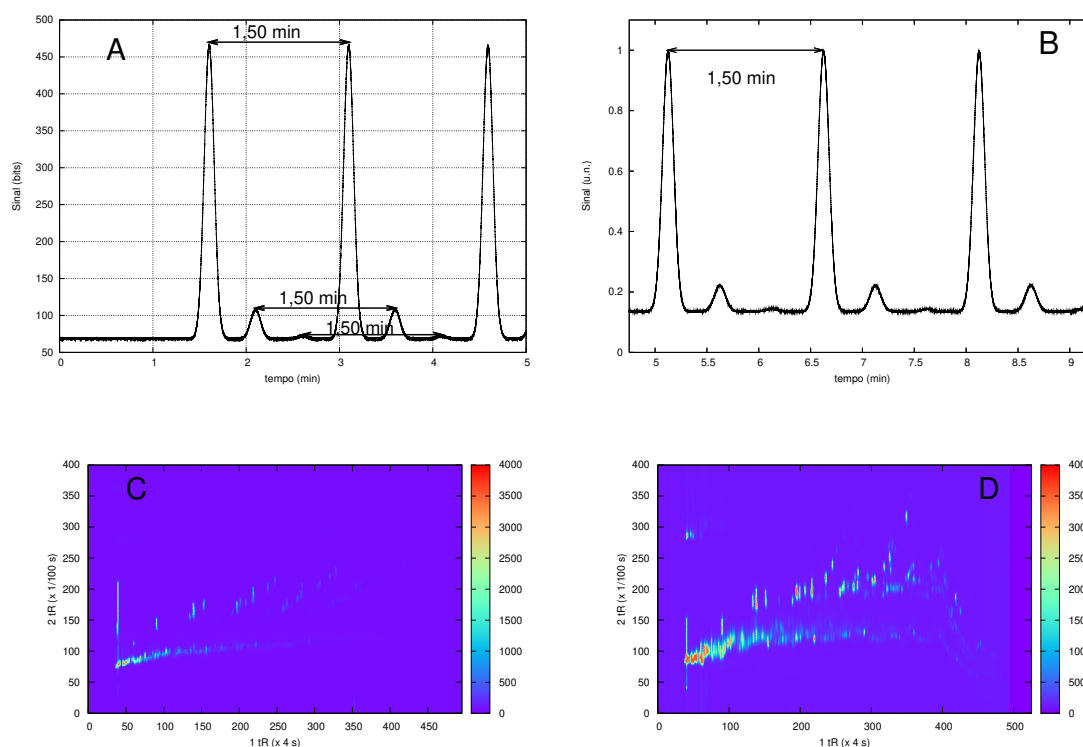


Figura 9.4: Monitoramento de sinal cromatográfico: (A) sinal 'TEST PLOT' obtido pelo sistema; (B) sinal 'TEST PLOT' esperado; (C) cromatograma de gasolina comum; e (D) cromatograma de gasolina comum. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μm); modulador de 4 jatos; detector **FID** ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$); injeções manuais de (C) 0,2 μL e (D) 1,0 μL ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$, split 1:100).

Com estes resultados, concluiu-se que o sistema **CROMATOGRAFIA** apresenta exatidão e precisão temporal necessárias para o controle de um sistema **GCxGC**. Porém, a visualização simultânea dos dados na mesma máquina de controle é lenta, sendo que o mais adequado seria monitorá-los através de outra máquina em rede.

9.1.2 Validação do módulo CROMATOGR

Os parâmetros cromatográficos calculados pelo módulo **CROMATOGR** foram validados utilizando dados tridimensionais gaussianos simulados a partir da equação 9.1:

$$f(x, y) = \frac{I}{2\pi\sigma_x\sigma_y} \exp\left[-\left(\frac{(x-\mu_x)^2}{2\sigma_x^2} + \frac{(y-\mu_y)^2}{2\sigma_y^2}\right)\right] + r(x, y) \quad (9.1)$$

onde σ_x^2 , σ_x , μ_x , σ_y^2 , σ_y e μ_y são as variâncias, os desvios-padrão e os tempos de retenção médios do pico cromatográfico em x e y , I a amplitude do pico e $r(x, y)$, o ruído randômico adicionado, respectivamente.

Como já discutido no capítulo 2, a determinação inadequada dos limites de integração dos picos de um cromatograma pode comprometer o resultado da análise. Para melhor ajustar os limites de integração calculados pelo módulo **CROMATOGR**, foram definidos 4 parâmetros iniciais para o reconhecimento dos picos baseados nas técnicas convencionais: **JD**, janela de derivação ou número de pontos utilizados para os cálculos das derivadas, **FR** e **FD**, fatores de ruído e de derivada ou porcentagem da soma do ruído calculado e a linha base e porcentagem da inclinação do cromatograma utilizados para diferenciar a linha base do pico, e **CT**, fator de corte ou patamar do valor de área considerado um pico. Estes parâmetros são configurados pelo usuário e podem variar dependendo da variação do ruído e da linha base.

A figura 9.5 apresenta a representação dos parâmetros iniciais de integração no pico cromatográfico (figura 9.5A) e as variações do erro de integração em relação a estes parâmetros. Conforme a figura 9.5B, a variação na janela ou intervalo de derivação (**JD**) não modifica o erro relativo em relação a V/σ , somente interfere na velocidade de processamento. Além disso, ilustra que o aumento em V/σ diminui o erro na integração e que acima de 8, estes valores são menores que 5 %. Relacionando-se os parâmetros **FR** e **FD**, o erro de integração não ultrapassou os 5 % para valores menores que 100, conforme ilustra a figura 9.5C. Contudo, quando há grande aumento do ruído no cromatograma ($A/r < 100$), o erro relativo chega aos 20 %, conforme a figura 9.5D. Assim, os parâmetros iniciais, **JD**, **FR**, **FD** e **CT**, escolhidos para as demais avaliações foram 5, 0, 50, 0, 95 e 5000, respectivamente.

A figura 9.6 apresenta um cromatograma simulado, os erros relativos da integração em relação às resoluções nas duas dimensões, cromatograma simulado em relação ao

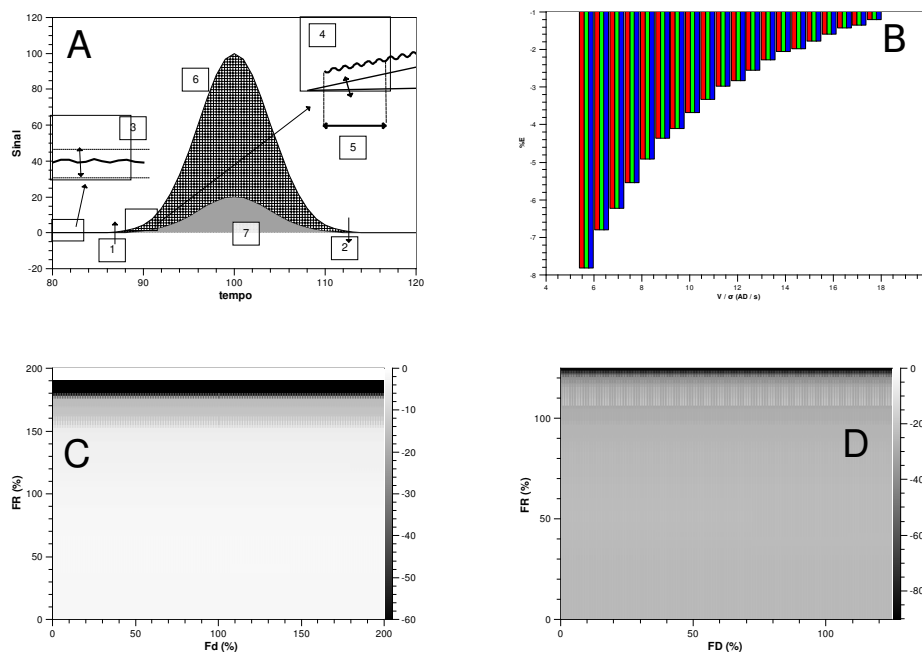


Figura 9.5: Determinação dos parâmetros iniciais de integração: (A) pico gaussiano e os parâmetros: (1) início do pico, (2) fim do pico, (3) patamar de ruído, **FR**, (4) patamar de inclinação, **FD**, (5) janela de derivação, **JD**, (6) Área do pico e (7) patamar de Corte de Área, **CT**; (B) erro relativo da integração em relação à janela de derivação (**JD**) usada: (vermelho: 3, verde: 5 e azul: 7); (C) erro relativo da integração em relação a **FR** e **FD** para cromatograma 1; (D) variação da integração em relação a **FR** e **FD** para cromatograma 2. Cromatograma 1: $V = 70000$; $\sigma_x = 1,0$; $\sigma_y = 3,0$; $^1t_R = 90$; $^2t_R = 90$; $^1t_R = 110$; $^2t_R = 110$, $A/r = 1241$. Cromatograma 2: valores de V , 1t_R e 2t_R iguais ao anterior; $\sigma_x = 2,75$; $\sigma_y = 7,5$; $A/r = 77$.

tempo total e os erros relativos da integração em relação ao desvio padrão (σ_x e σ_y) dos picos nas duas dimensões. A figura 9.6A apresenta um cromatograma simulado com dois picos adjacentes ($R = 0,65$) e integrados com erro menor que 2%. Como pode ser observado na figura 9.6B, o erro relativo da integração não ultrapassa 5 % quando as resoluções são maiores que 5,0. A exatidão é perdida, principalmente, quando a resolução na primeira dimensão é bem menor 1,0. Como pode ser observado na figura 9.6C, as fatias menores dos picos, resultantes da modulação, são as que apresentam menor resolução e apresentam menor amplitude, consequentemente, apresentam maior erro na integração. Além disso, estas amplitudes e a resolução entre estas fatias são inversamente proporcionais aos desvios padrão do pico. Como ilustrado na figura

9.6D, para maiores desvios, ou seja menor amplitude e menor resolução, o erro de integração chega aos 5 % para σ_x e σ_y de 1,0 e 5,0, respectivamente. Para os dados reais (frequência de 100 Hz e $P_M = 4$ s), estes valores de desvio padrão correspondem a picos com largura em x e y de 24 s e 300 ms, respectivamente.

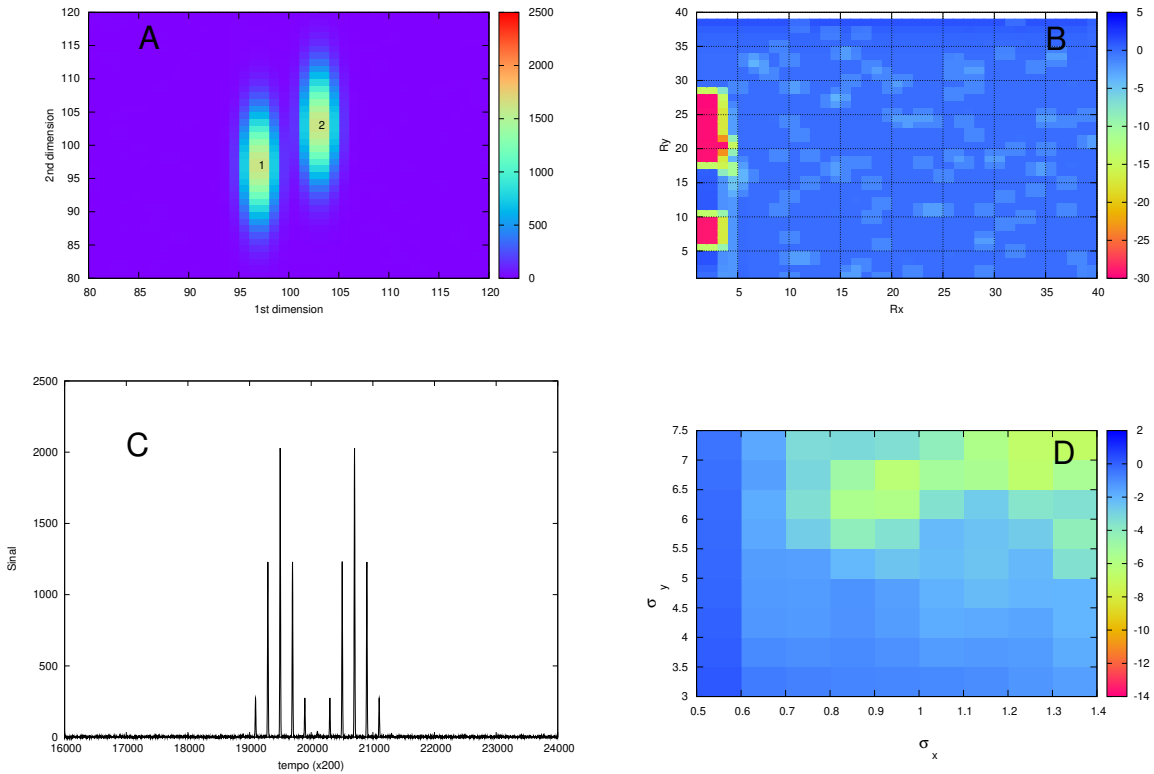


Figura 9.6: Avaliação do módulo **CROMATOGR**: (A) cromatograma simulado com a equação 9.1 ($s/r = 405$; $\sigma_x = 1,0$; $\sigma_y = 5,5$; $R = 0,65$; $V = 70000$); (B) erro relativo da integração em relação às resoluções nas duas dimensões; (C) cromatograma simulado monodimensional; e (D) variação da integração em relação ao desvio-padrão do pico nas duas dimensões. Integração: Fator de Derivada, **FD**: 0,95; Fator de Ruído, **FR**: 0,50; Janela de Derivação, **JD**: 5; Corte, (**CT**): 5000.

Por outro lado, o erro na integração pode ainda ser avaliado pela razão entre o volume do pico e seu desvio padrão (V/σ) e, conseqüentemente, pela razão sinal-ruído (s/r). A figura 9.7 apresenta o erro relativo na integração em relação à razão largura e ruído (w/r), à razão entre a amplitude do pico e ruído (A/r), à razão entre volume e ruído (V/r) e erro relativo em relação ao valor de ruído randômico adicionado à linha base do cromatograma. Conforme a figura 9.7A, o erro relativo não ultrapassa 5 %

quando w/r é menor que 4,5. Na figura 9.7B, para valores de A/r acima de 100, o erro relativo é menor que 5 %. Contudo, erros maiores podem ocorrer dependendo da variação do ruído próximo as fatias com amplitude menor que compromete o reconhecimento do início do pico. Como esperado, a variação do erro na integração com V/r é semelhante a variação com relação a A/r , e, com valores acima de 1000, o erro não ultrapassa 5 %. Além disso, a figura 9.7D apresenta a variação do erro na integração de dois picos adjacentes em relação ao aumento do ruído. Para estes picos, as fatias menores apresentam uma amplitude de 1170 e o erro relativo ultrapassa 5 % para ruído maiores que 100, ou seja, $s/r < 12$. Isto demonstra que o módulo **CROMATOGR** apresenta um limite de reconhecimentos de picos próximo de *softwares* comerciais ($s/r > 5$) para integração de cromatogramas convencionais.

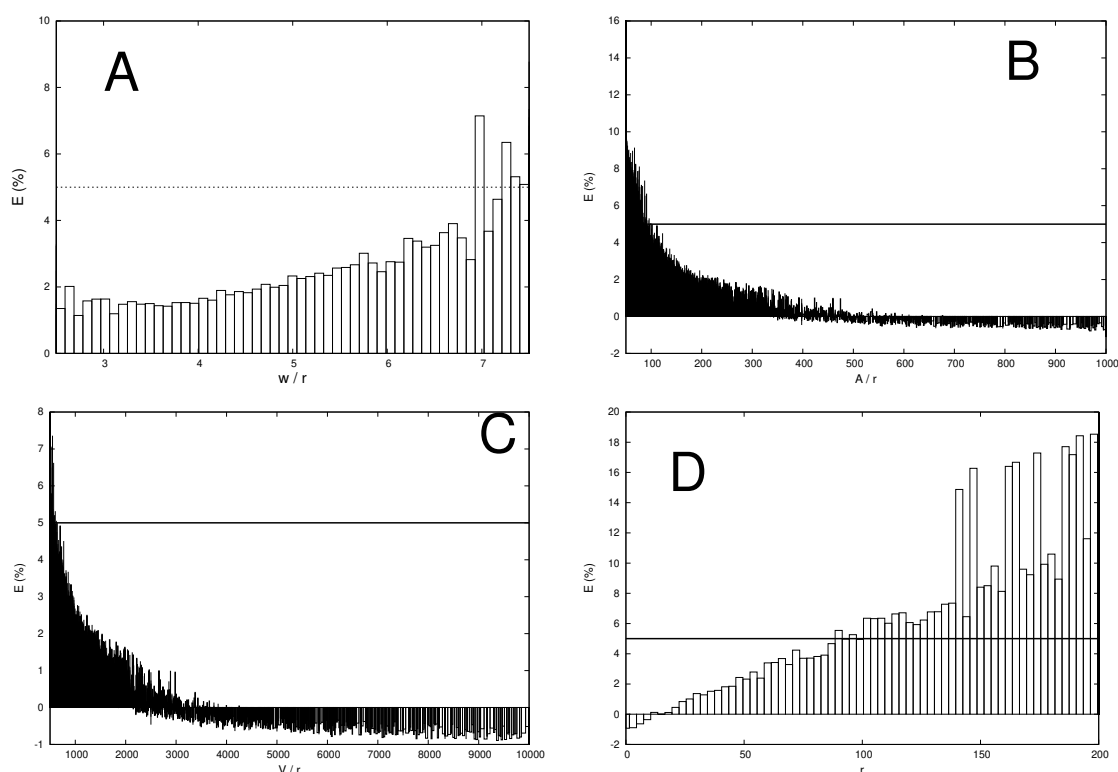


Figura 9.7: Avaliação do módulo **CROMATOGR**: (A) erro relativo da integração em relação à razão da largura pelo ruído, w/r ; (B) erro relativo da integração em relação a razão sinal-ruído (A/n); (C) variação da integração em relação à razão volume e desvio-padrão do pico (V/σ); e (D) variação da integração em relação ao ruído simulado. Integração: **FD**: 0,95; **FR**: 0,50; **JD**: 5; **CT** = 5000. Cromatograma de 2 picos simulados: $V = 70000$; $\sigma_x = 0,5$; $\sigma_y = 3,0$; $^1t_R = 90$; $^2t_R = 90$; $^1t_R = 105$; $^2t_R = 105$.

Por fim, estas simulações demonstraram que o módulo **CROMATOGR** apresenta limites para picos com $R < 1,0$ e $s/r < 12$. Além disso, os valores iniciais dos patamares de inclinação e ruído devem ficar abaixo de 1,0 ou 100 %. E, por fim, os resultados de integração dependem ainda das limitações instrumentais e operacionais, como o desempenho do modulador, a frequência de aquisição dos dados e escolha adequada das condições experimentais.

9.2 Validação do sistema LABVIEW

O sistema **LABVIEW** foi avaliado pelo sinal monitorado e pelo controle das válvulas do modulador. A aquisição dos dados foi avaliada utilizando o sinal obtido do *TEST PLOT* do cromatógrafo e pela análise de produtos petroquímicos. A figura 9.8 apresenta o monitoramento do *TEST PLOT* e cromatogramas de uma mistura comercial de alcanos.

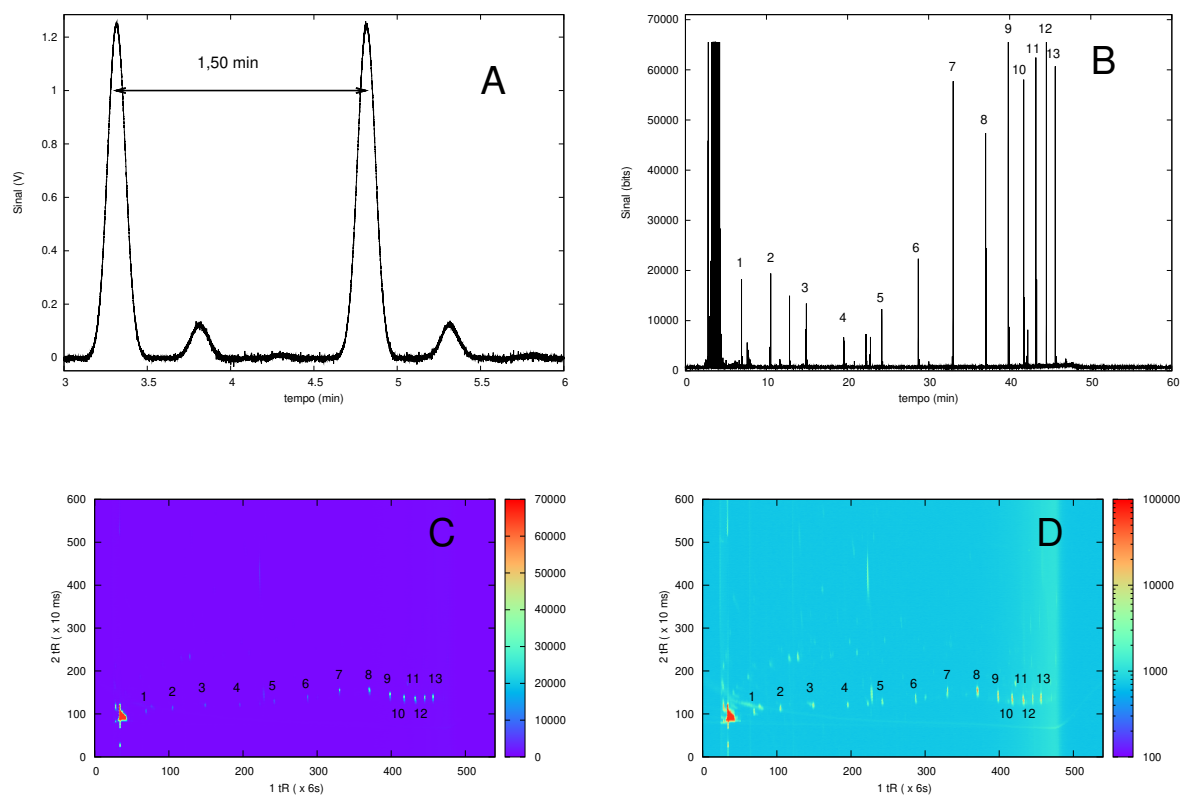


Figura 9.8: Monitoramento de sinal cromatográfico: (A) sinal 'TEST PLOT' obtido pelo sistema; (B) cromatograma modulado de mistura de alcanos alifáticos (C8 – C20, **1-13**, respectivamente); (C) cromatograma da mistura de alcanos; e (D) cromatograma da mistura de alcanos em escala logarítma. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x SPWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; detector **FID** (T = 250 °C); injeção automática (T = 250 °C, *split* 1 : 100; 1,0 μ L).

Como pode-se observar na figura 9.8A, o sinal *TEST PLOT* foi monitorado no período correto e esperado pelo manual do cromatógrafo (período entre os picos de 1,50 min). Comparando-se com cromatogramas reais, as figuras 9.8B, C e D apresentam o cromatograma de uma mistura comercial de alcanos ($C_8 - C_{20}$) em diferentes representações: sinal em relação ao tempo total da corrida, sinal em relação aos tempos de retenção das duas colunas e este com sinal em escala logarítma. Pode ser observado, com o conjunto de colunas apolar e polar e uma programação de temperatura linear do forno, os alcanos estão alinhados a uma reta paralela ao eixo x , como esperado. Dentro da mesmo gradiente de temperatura, a distância entre os picos destes alcanos é semelhante em todas as representações. E, ao representar o cromatograma em escala logarítma, é possível observar outros picos decorrentes de isômeros e contaminantes em baixas concentrações.

Ao contrário do sistema **CROMATOGRAFIA**, o sistema **LABVIEW** não depende diretamente do **OS** para realizar o controle do cromatógrafo e das válvulas do modulador. Este utiliza um *clock* externo da própria controladora **A/D**, como já descrito no item 8.1. Além disso, esta controladora possui uma memória ou *buffer* para o armazenamento dos dados adquiridos antes de transmiti-los através da porta **USB** ao microcomputador. Esta transferência depende da disponibilidade do **OS** a atender a transmissão e pode ser comprometida por outras tarefas agendadas no processador, mesmo em um microcomputador com grande velocidade de processamento e quantidade memória **RAM**, como neste sistema. A figura 9.9 apresenta cromatogramas de gasolina comum adquiridos com erro temporal devido a este problema e seus respectivos cromatogramas corrigidos com erro médio por modulação. A figura 9.9A apresenta um cromatograma com erro de cerca de 70 ms por modulação. Este erro é variável devido ao **OS** ser convencional. Por isso, uma correção com este valor não corrige totalmente o cromatograma, como pode ilustrado na figura 9.9B. Este erro também não é sistemático, pois em outra análise este erro médio se altera, como ilustrado nos cromatogramas das figuras 9.9C e D (erro de cerca de 60 ms por modulação). Duas alternativas podem ser usadas para corrigir este fenômeno: utilizar um **OS real-time** (como Microsoft Windows CE¹³³) ou minimizar o número de aplicativos e tarefas do **OS** convencional. A segunda alternativa foi escolhida e foram retirados aplicativos como anti-vírus, servidor *Apache*, tarefas de gravação de **CD**, entre outros, fazendo com que o microcomputador fosse utilizado como um terminal exclusivo para o controle do cromatógrafo.

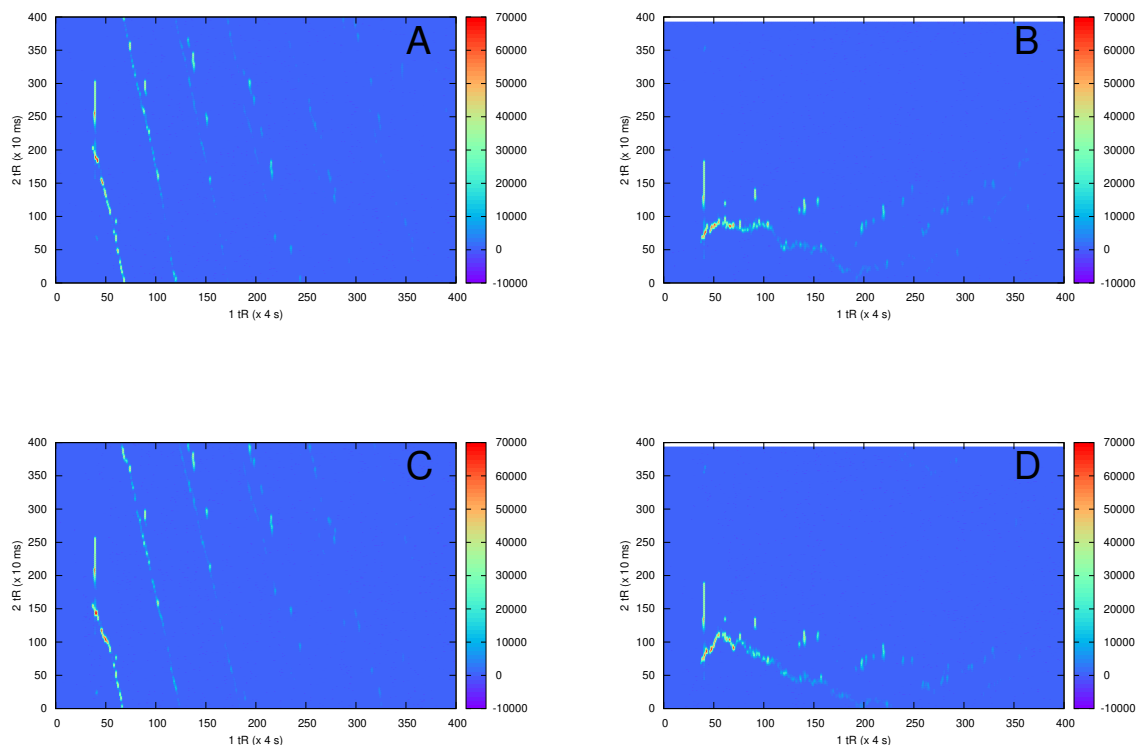


Figura 9.9: Avaliação do sistema **LABVIEW**: (A) cromatograma de gasolina comum com erro temporal de aquisição; (B) cromatograma corrigido com 70 ms de atraso; (C) cromatograma de gasolina comum com erro temporal; (D) cromatograma corrigido com 60 ms de atraso. Condições cromatográficas: DB-1 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x DB-50 (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; detector **FID** ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$); injeção manual ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$, *split* 1 : 100; 1,0 μ L).

Com estas modificações, o sistema **LABVIEW** apresentou precisão, exatidão temporal e robustez para o controle do cromatógrafo e do modulador. O tratamento dos dados adquiridos foram também realizados através dos módulos **CROMATOGR** e **CROMATOGRA** nas suas versões para o *Microsoft Windows* em conjunto com emulador de **Linux** (**CYGWIN**). Suas aplicações analíticas estão apresentados no capítulo 10.

Capítulo 10

Aplicações dos Softwares Desenvolvidos

No decorrer do desenvolvimento dos sistemas **GCxGC**, diferentes estudos foram realizados pelo grupo de trabalho, desde de análise de produtos petroquímicos e aromas em alimentos e óleos essenciais. E, com a ajuda destes doutorandos, os *softwares* de controle e tratamento de dados foram se alterando buscando melhor atender as necessidades do grupo. Neste capítulo, serão abordadas as aplicações dos dois sistemas nas análises qualitativas e quantitativas em produtos petroquímicos (gasolina, querosene e nafta leve) e análises qualitativas de alguns óleos essenciais.

10.1 Sistema CROMATOGRAFIA

Dentre os estudos desenvolvidos, podem ser salientadas a análise qualitativa de gasolina e querosene por **GCxGC**¹⁰, análise quantitativa de **BTEX** (**B**enzeno, **T**olueno, **E**til-benzeno e **o-X**ileno) em gasolina¹², análise qualitativa de contaminação de solos por derivados de petróleo²⁰, otimização do modulador crioscópico (desenvolvido por Augusto e colaboradores¹¹) pelo estudo de parâmetros cromatográficos¹³ e análise quimiométrica de adulteração de gasolina por querosene^{14,18}. Alguns destes trabalhos serão abordados em detalhes nos itens a seguir.

10.1.1 Análise Qualitativa de Produtos Petroquímicos

Para realizar a validação do sistema, avaliou-se os cromatogramas obtidos de gasolina e querosene nas mesmas condições, conforme as figuras 10.1 e 10.2. A partir dos resultados, verificou-se a presença de dois alinhamentos: o primeiro de hidrocarbonetos alifáticos normais e cíclicos, paralelo ao eixo x (menor interação com a fase polar da 2^a dimensão); e o segundo de hidrocarbonetos aromáticos (maior interação com a fase polar). Pode-se também verificar que na gasolina há cerca de 450 picos detectáveis, como ilustra a figura 10.1B. Isto torna-se mais evidente quando utiliza-se uma escala logarítmica do sinal e um diagrama de bolhas⁴⁴, conforme figuras 10.1C e 10.1D.

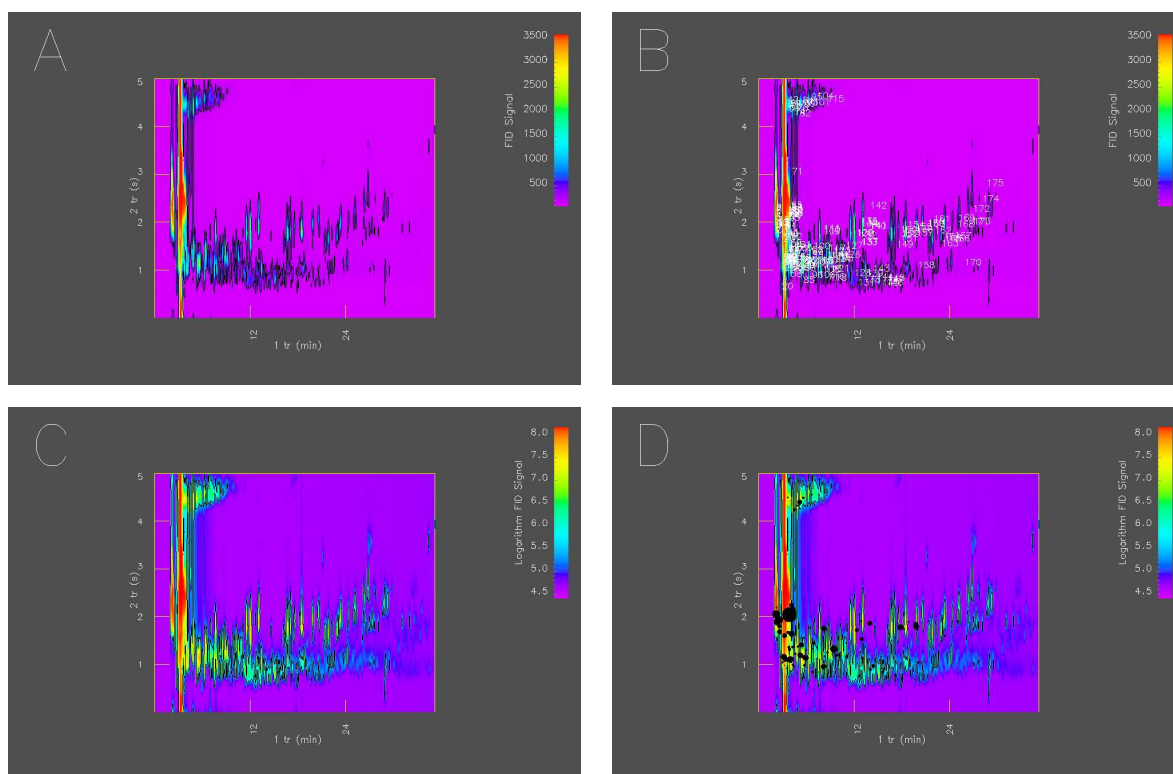


Figura 10.1: Análise qualitativa de gasolina comum: (A) cromatograma; (B) cromatograma com picos numerados; (C) cromatograma em escala logarítmica; (D) cromatograma em escala logarítmica com gráfico de bolhas. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de duplo-jatos; detector **FID** ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$); injeção manual ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$, *splitless*; 0,2 μ L). Integração: **FD**= 0,95; **FR** = 0,50; **JD** = 5; **CT** = 500 bits. Curvas de Contorno em 250 bits.

A figura 10.2 apresenta um cromatograma de querosene em diferentes representações. Novamente, existe dois alinhamentos separando os hidrocarbonetos alifáticos (menos polares) dos aromáticos (mais polares). Conforme a figura 10.2B, foram detectados cerca de 200 picos. Ao contrário da gasolina, o querosene não apresentou picos com baixa intensidade, como ilustram os cromatogramas em escala logarítmica nas figuras 10.2C e D. Contudo, as diferenças acentuadas dos cromatogramas, devido a presença de hidrocarbonetos com massas molares maiores no querosene, indicaram a possibilidade da utilização da técnica em estudos qualitativos (*fingerprint*) ou quantitativos quimiométricos para a avaliação de adulteração de gasolina. Estes estudos preliminares também mostraram a capacidade do sistema **GCxGC** de ser utilizada para amostras mais complexas, como óleos essenciais e alimentos.

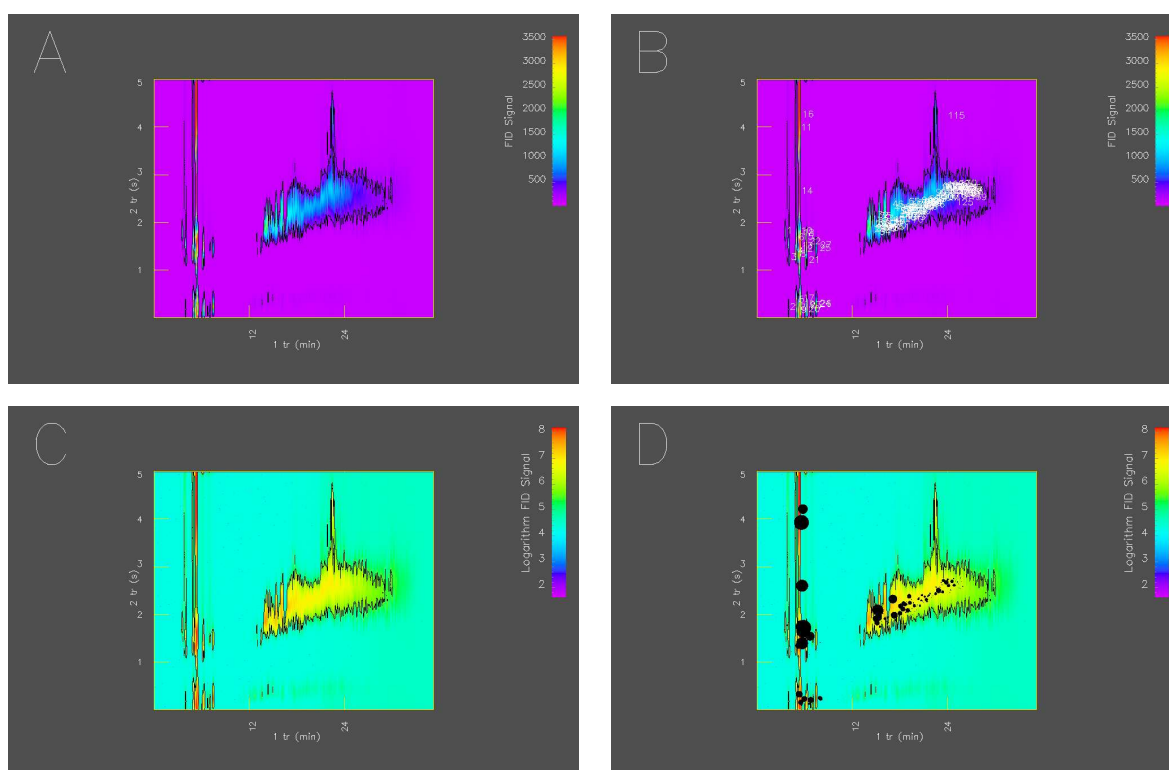


Figura 10.2: Análise qualitativa dos cromatogramas de querosene: (A) cromatograma; (B) cromatograma com picos numerados; (C) cromatograma em escala logarítmica; (D) cromatograma em escala logarítmica com gráfico de bolhas. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de duplo-jatos; detector **FID** ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$); injeção manual ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$, *splitless*; 0,2 μ L). Integração: **FD**= 0,95; **FR** = 0,50; **JD** = 5; **CT** = 10000 bits. Curvas de Contorno em 250 bits.

Para o reconhecimento dos hidrocarbonetos presentes nestas amostras, foram analisadas soluções padrão de hidrocarbonetos alifáticos (C_8 – C_{20}) e aromáticos (C_6 – C_8) nas mesmas condições cromatográficas. Com a utilização do módulo **CROMATOGRA**, pode-se adicionar o cromatograma dos padrões (figuras 10.3A e B) através de linhas de contorno, impressos em preto e vermelho nos cromatogramas apresentados na figura 10.3C e D. Desta forma, o analista pode identificar o possível pico da espécie de interesse com mais precisão.

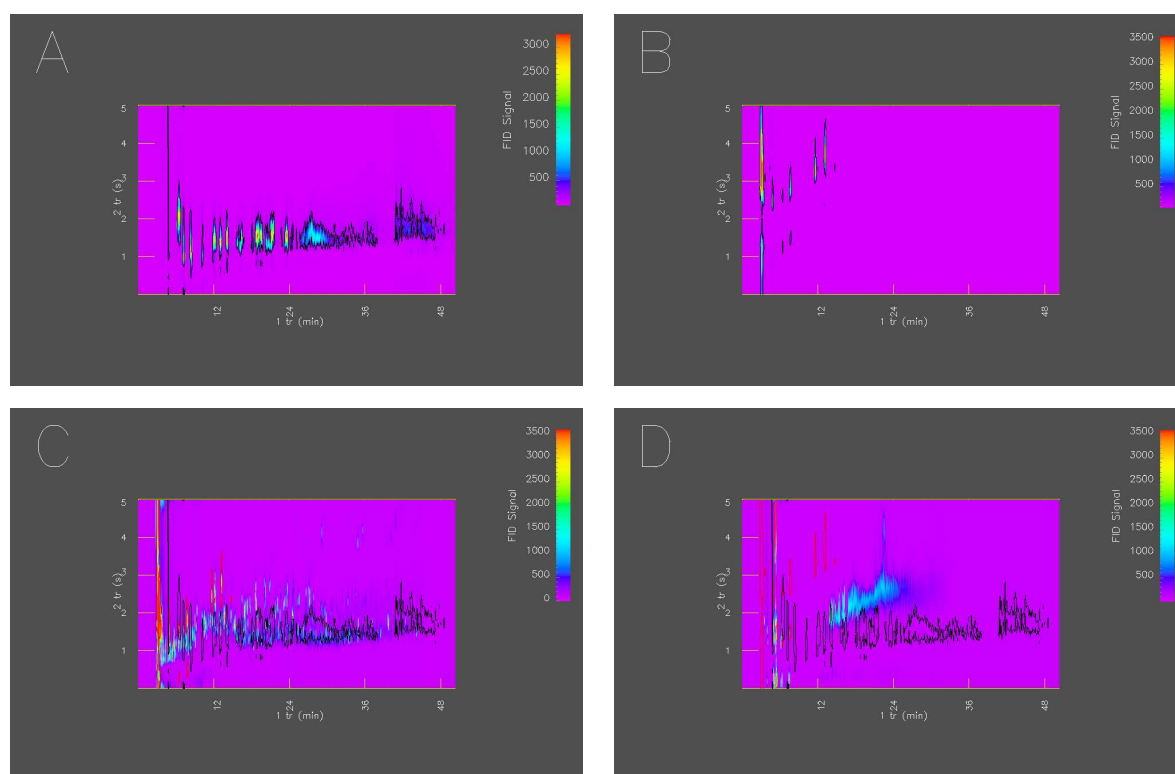


Figura 10.3: Análise qualitativa por *fingerprint*: (A) cromatograma de padrões de alcanos (C_8 – C_{20}); (B) cromatograma de padrões de aromáticos (**BTEX**); (C) cromatograma de gasolina comum com curvas de contorno de alcanos; (D) cromatograma de querosene com curvas de contorno de aromáticos. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x DBWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de duplo-jatos; detector **FID** ($T = 250$ °C); injeção manual ($T = 250$ °C, *splitless*; 0,2 μ L). Integração: **FD**= 0,95; **FR** = 0,50; **JD** = 5; **CT** = 10000 bits. Curvas de Contorno em 250 bits.

Por fim, estes resultados demonstraram a possibilidade de utilizar o sistema **GCxGC** para estudos quantitativos. Continuando com amostras petroquímicas, avaliou-se e quantificou-se a presença de hidrocarbonetos aromáticos em amostras de gasolina, como discutido no próximo item.

10.1.2 Análise Quantitativa de BTEX em gasolina

Para verificar a aplicabilidade do sistema **CROMATOGRAFIA** na análise quantitativa, utilizou-se a técnica de adição de padrão para determinação de aromáticos ($C_6 - C_8$, **BTEX**) em gasolina. Esta técnica foi escolhida para garantir o reconhecimento dos padrões de aromáticos já que os picos modulados apresentaram largura maior (de 200 a 800 ms em 2t_R) que o esperado para a técnica de **GCxGC** (de 80 a 300 ms em 2t_R). Este comportamento pode ser explicado principalmente pelo eletrômetro do cromatógrafo **HP 5890** não apresentar uma velocidade adequada (40 ms / ponto, 25 Hz) para adquirir os dados do detector na frequência requerida (10 ms / ponto, 100 Hz). A confirmação desta hipótese foi realizada após o término do estudo deste sistema.

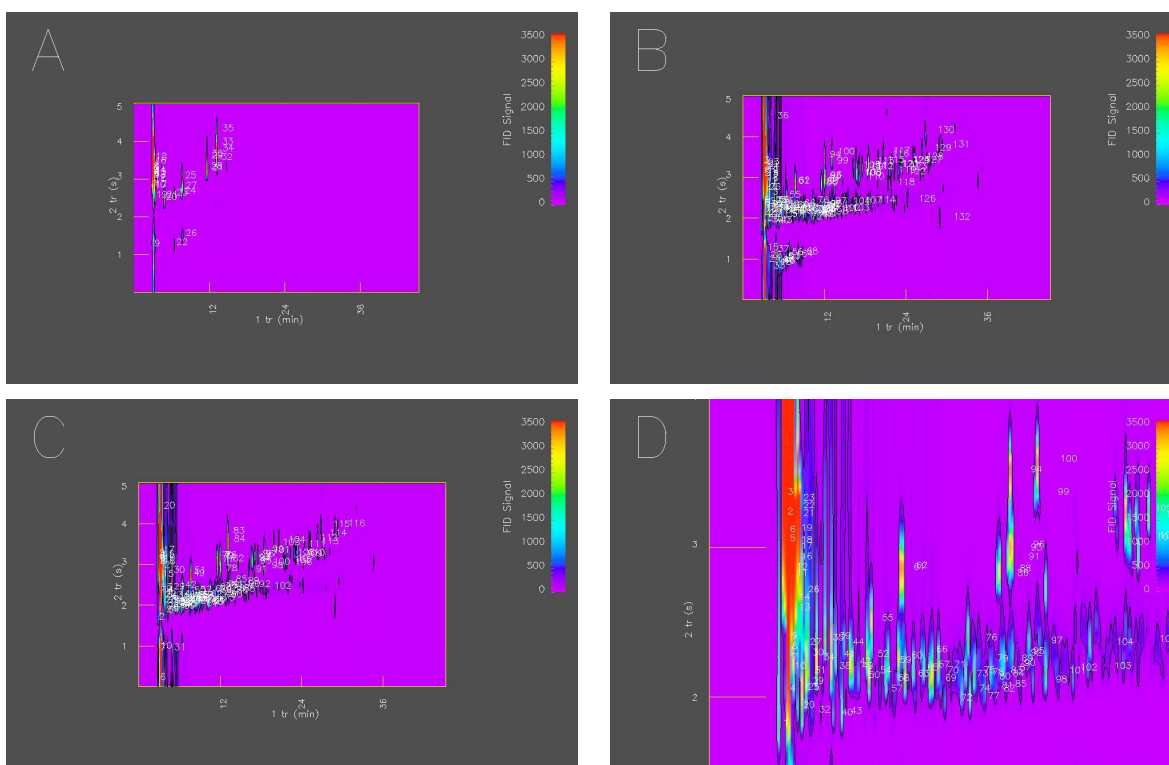


Figura 10.4: Cromatogramas da mistura de **BTEX** e da gasolina com adição dos padrões: (A) Mistura de aromáticos **BTEX** (10,00 %); (B) gasolina comum sem adição; (C) gasolina comum com adição de padrão (10,00 %); (D) ampliação do cromatograma B.

Tabela 10.1: Picos detectados na análise quantitativa de aromáticos com sistema **CROMATOGRAFIA**.

Amostra	Soluto	Pico	¹ t _R (min)	² t _R (s)	Volume (bits)	Volume Total (bits)
Padrão (10,00 %)	B	20	4,75	2,45	82.908	178.470
		21	4,83	2,51	95.562	
	T	24	7,50	2,62	50.113	234.187
		25	7,58	3,02	146.399	
		27	7,67	2,75	37.675	
	E	29	11,50	3,55	148.194	219.200
		30	11,50	3,60	71.006	
	X	33	13,00	3,92	203.937	355.961
		34	13,08	3,74	152.024	
Amostra de Gasolina	B	39	4,83	2,39	74.606	74.606
	T	61	7,58	2,85	68.040	141.802
		62	7,67	2,86	73.762	
	E	91	11,83	2,92	27.209	119.463
		93	11,92	2,82	48.014	
		94	11,92	3,50	26.450	
		95	12,00	2,29	17.790	
	X	99	12,92	3,35	17.484	118.060
		100	13,00	3,57	100.576	
Amostra de Gasolina + Padrão (10,00 %)	B	29	4,83	2,39	60.244	60.244
	T	49	7,58	2,72	97.986	227.227
		51	7,67	2,79	129.241	
	E	74	11,83	3,12	37.563	163.790
		76	11,92	3,17	126.227	
	X	83	13,00	3,76	222.212	362.840
		84	13,08	3,56	140.628	

Apesar desta limitação, foram adicionadas alíquotas conhecidas da mistura destes aromáticos à gasolina tipo C e avaliou-se a variação do volume calculado dos picos com o aumento da quantidade destes padrões na faixa de 0 a 10 %, valores compatíveis para gasolinas brasileiras (de 8 a 25 % de aromáticos¹³⁴). A figura 10.4 apresenta alguns cromatogramas deste estudo. A figura 10.4A ilustra um cromatograma de uma solução padrão com concentração de 10,00 % (m/m) dos aromáticos estudados. Os tempos de retenção calculados foram utilizados para identificá-los nas amostras de gasolina com adição de padrão, conforme apresentado na tabela 10.1. A figura 10.4B apresenta a amostra sem adição de padrão e os 132 picos detectados. A figura 10.4C apresenta a amostra de gasolina com adição de padrão de 10,00 % e 116 picos detectados. Por fim, a figura 10.4D apresenta uma ampliação do cromatograma de gasolina sem adição de padrão entre os tempos de retenção dos aromáticos estudados.

A partir dos cromatogramas da figura 10.4 e da tabela 10.1, pode-se verificar que foram detectados de 1 a 4 picos para cada soluto. Estes resultados podem ser explicados pela variação de temperatura do forno durante a modulação, pela lentidão do eletrômetro ou pelo alargamento demasiado dos picos na detecção. A diminuição de 2t_R nas modulações adjacentes do pico é devido ao aumento gradual da temperatura do forno do cromatógrafo. Por exemplo, os picos do *o*-Xileno do padrão (33 e 34) e da amostra de gasolina com adição de padrão (83 e 84) apresentam este comportamento. O aumento de 2t_R nas modulações adjacentes do pico deve ser devido ao atraso da medição no eletrômetro do cromatógrafo utilizado. Por exemplo, os picos de Tolueno na amostra de gasolina (61 e 62) e na amostra de gasolina com adição de padrão (49 e 51). Mas, este comportamento também pode ser pelo alargamento do pico e diminuição da resolução cromatográfica. Por exemplo, os picos de Benzeno (39) e Etil-Benzeno na gasolina (91, 93, 94 e 95) se confundem visualmente e matematicamente com outros solutos presentes. Estes comportamentos influenciaram significativamente os resultados obtidos pelas curvas de calibração com adição de padrão ilustradas na figura 10.5.

Para os solutos de menor massa molecular, verificou-se que as curvas não representam quantitativamente a variação de massa adicionada à amostra, como ilustra as figuras 10.5A e B. Esta limitação do programa **CROMATOGR** no reconhecimento dos picos referentes ao Benzeno e ao Tolueno está relacionada com as suas larguras e com a baixa resolução para estas substâncias nesta matriz. Para os padrões de maior massa

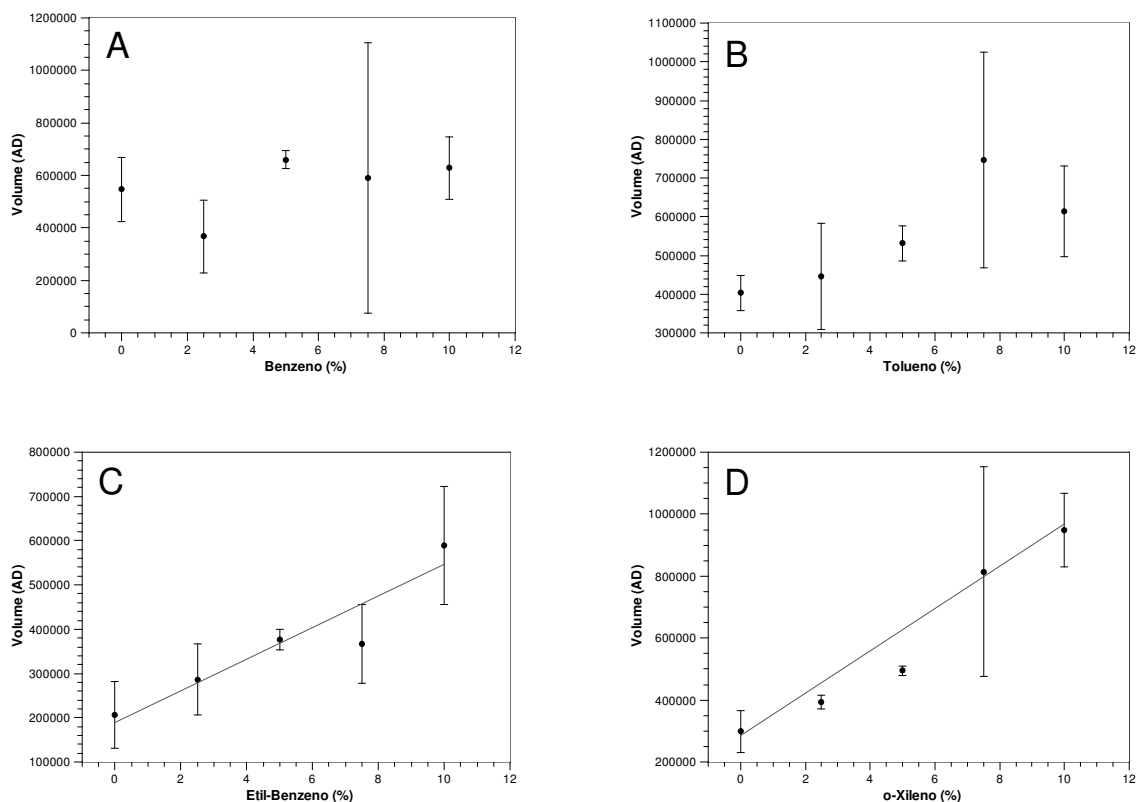


Figura 10.5: Variação do volume calculado em relação a concentração de aromáticos pelo método de adição de padrão de **BTEX** em gasolina: (A) Benzeno (B) Tolueno; (C) Etil-Benzeno ($V = 1,88 \cdot 10^5 + 3,582 \cdot 10^4 [E]$, $r^2 = 0,8895$); (D) *o*-Xileno ($V = 2,86 \cdot 10^5 + 6,829 \cdot 10^4 [X]$ ($r^2 = 0,9873$)). Integração: **FD**: 0,05; **FR**: 0,05; **JD**: 5; **CT**: 5000.

molar, a resolução foi maior, porém a relação entre o volume calculado e a massa adicionada de padrão não apresentou linearidade adequada para uma avaliação precisa. Assim, as massas calculadas de Etil-benzeno e *o*-Xileno pelas curvas obtidas foram de 5,25 % e 4,19 % na gasolina, valores acima do esperado.

Conclusivamente, o sistema **CROMATOGRAFIA** apresentou limitações iniciais na aquisição devido a eletrônica do cromatógrafo, o que prejudicou a análise quantitativa. Por outro lado, o sistema pôde ser aplicado na análise qualitativa. Além do cromatógrafo, o consumo e o controle da temperatura do modulador também fizeram com que o desenvolvimento da técnica fosse direcionada para o sistema **LABVIEW** discutido no próximo item.

10.2 Sistema LABVIEW

Dentro dos estudos desenvolvidos com este sistema, podem ser salientados a análise qualitativa de hidrocarbonetos em produtos petroquímicos, análise por *fingerprint* de terpenos em óleos essenciais e análise quantitativa de aromáticos em produtos petroquímicos. Além destes trabalhos, o sistema **LABVIEW** foi utilizado para outros trabalhos do grupo de pesquisa, como um modulador criogênico aperfeiçoado^{60,129}, a identificação de adulteração de gasolina utilizando **GCxGC** associado com Processamento de Dados Multivariados (**PARAFAC** e **N-PLS**)^{14,19}, e da identificação de compostos voláteis em abacaxi¹³⁵. Alguns destes estudos são apresentados a seguir.

10.2.1 Análise Qualitativa de Produtos Petroquímicos

Semelhante ao sistema **CROMATOGRAFIA**, os produtos petroquímicos foram escolhidos para iniciar o estudo e desenvolvimento de novo sistema **GCxGC**. As principais diferenças deste sistema foram o tipo de modulador (4 jatos), o cromatógrafo utilizado (Agilent 6890N) e o conversor A/D D/A, como citado no capítulo 6. Nesta configuração, a frequência do eletrômetro deste cromatógrafo (5 ms / ponto, 200 Hz) foi adequada para a aquisição dos dados (10 ms / ponto, 100 Hz), não havendo mais o alargamento artificial dos picos detectados. Além disso, o controle de temperatura do modulador de 4 jatos foi mais eficiente, possibilitando a coleta e reinjeção adequada tanto para solutos com menor massa molecular quanto para com maior massa molecular.

Assim, o sistema **LABVIEW** foi avaliado pela análise qualitativa de hidrocarbonetos através de padrões comerciais (*C8 – C20*). A figura 10.6 ilustra as representações do cromatograma de uma solução padrão de hidrocarbonetos alifáticos (*C8 – C20*) utilizada normalmente para o cálculo do Índice de Kovats. Os módulos **CROMATOGR**, para integração dos parâmetros cromatográficos, e **CROMATOGRA**, para visualização e tratamento dos cromatogramas, foram compilados em ambiente *Microsoft Windows* e utilizados para criar representações gráficas de contorno, com identificação numérica dos picos, em escala logarítmica e por *bubble plot*, conforme ilustram as figuras 10.6A, B, C e D, respectivamente.

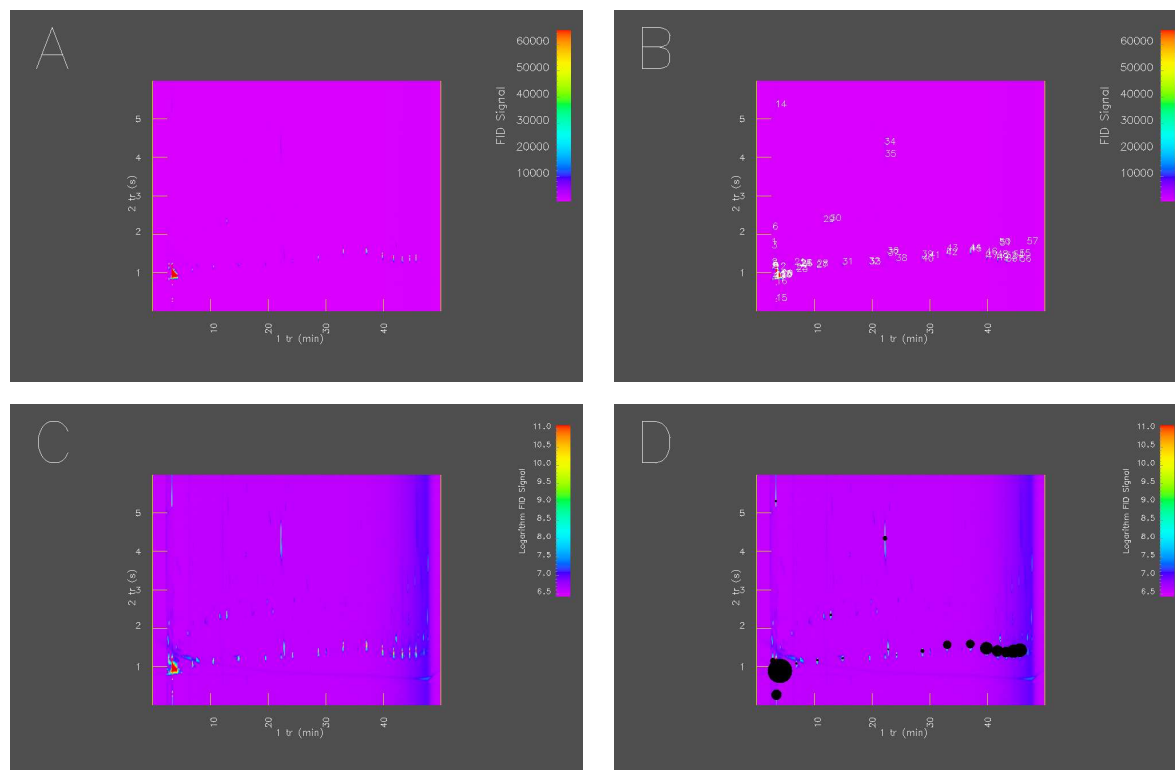


Figura 10.6: Cromatograma de solução de padrão de alcanos ($C_8 - C_{20}$): (A) cromatograma; (B) cromatograma com picos numerados; (C) cromatograma em escala logarítmica; (D) cromatograma em escala logarítmica com gráfico de bolhas. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm) x SPWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μm); modulador de 4 jatos; detector **FID** ($T = 250^\circ\text{C}$); injeção automática ($T = 250^\circ\text{C}$, *split* 1 : 100; 1,0 μL). Integração: **FD**= 0,95; **FR** = 0,50; **JD** = 5; **CT** = 500 bits. Curvas de Contorno em 250 bits.

Para este conjunto de colunas, os hidrocarbonetos alifáticos se agrupam paralelamente ao eixo x . O que pode ser observado, que mesmo o padrão comercial apresenta impurezas detectadas pelo sistema **GCxGC**, como picos 29 e 30, 34 e 35 da figura 10.6B, possivelmente, de solutos mais polares, como aromáticos. Estes interferentes são mais evidentes quando utiliza-se a escala logarítmica para visualizar o cromatograma, como ilustrado na figura 10.6C.

A figura 10.7 apresenta cromatogramas de diferentes amostras petroquímicas: gasolina comum, nafta leve, querosene e gasolina aditivada. Devido a diferentes polaridades das fases das duas colunas utilizadas, pode-se verificar o alinhamento dos solutos alifáticos paralelo ao eixo x (alcanos, olefinas e alicíclicos, apolares) e alinhamento em diagonal de solutos aromáticos. Avaliando-se visualmente os cromatogramas das

figuras 10.9 A, B e D, as gasolinas e a nafta leve apresentam muita semelhança em seus solutos em número e quantidade. E, isto pode ser um dos motivos da nafta leve ser utilizada na adulteração de gasolina no Brasil^{18,134}. Por outro lado, o querosene apresenta solutos com maior massa molecular e pode ser diferenciado visualmente, como ilustra a figura 10.9C.

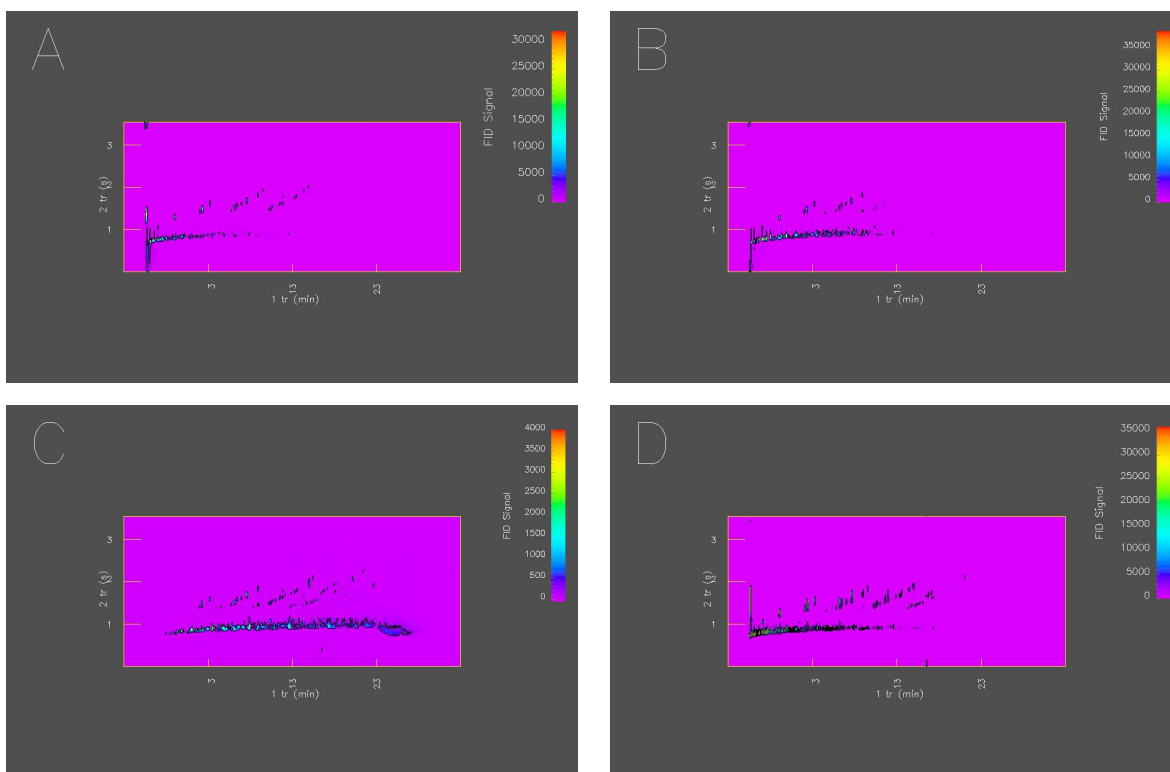


Figura 10.7: Análise qualitativa de produtos petroquímicos: (A) cromatograma de gasolina comum; (B) cromatograma de nafta leve; (C) cromatograma de querosene (atenuado 4 vezes); (D) cromatograma de gasolina aditivada. Condições cromatográficas: HP-5 (25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x HP-50 (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; detector **FID** ($T = 250^{\circ}\text{C}$); injeção automática ($T = 250^{\circ}\text{C}$, *split* 1 : 100; 1,0 μ L). Curvas de Contorno em 1500 bits para os cromatogramas A, B e D e 250 bits para C.

Além disso, pode-se verificar visualmente que a largura (80 a 400 ms em $2^{\circ}t_R$) e a resolução dos picos detectados foram menor e maior que as obtidas pelo outro sistema **GCxGC**, respectivamente. E, conclusivamente, este sistema pode ser aplicado para a análise qualitativa para o reconhecimento de grupos de solutos em amostras complexas, como, por exemplo, em óleos essenciais, como discutido no próximo item.

10.2.2 Análise Qualitativa de Produtos Naturais

Os óleos essenciais usualmente são uma mistura de compostos de variadas funções químicas, como álcoois, aldeídos, ácidos carboxílicos, fenóis, cetonas, ésteres, lactonas, e hidrocarbonetos podendo estar presentes nas folhas, frutos e cascas de plantas^{136–145}. Devido sua complexidade, a análise de compostos voláteis destas amostras é um desafio apropriado para um sistema **GCxGC**. Assim, para avaliação do sistema **LABVIEW** em análise qualitativa, foram analisadas duas amostras de óleo essencial das cascas de virola (*Virola surinamensis*) e de cataia (*Drimys winterii*), cedidas em colaboração pelo Prof. Dr. L. E. S. Barata, conforme ilustra a figura 10.8.

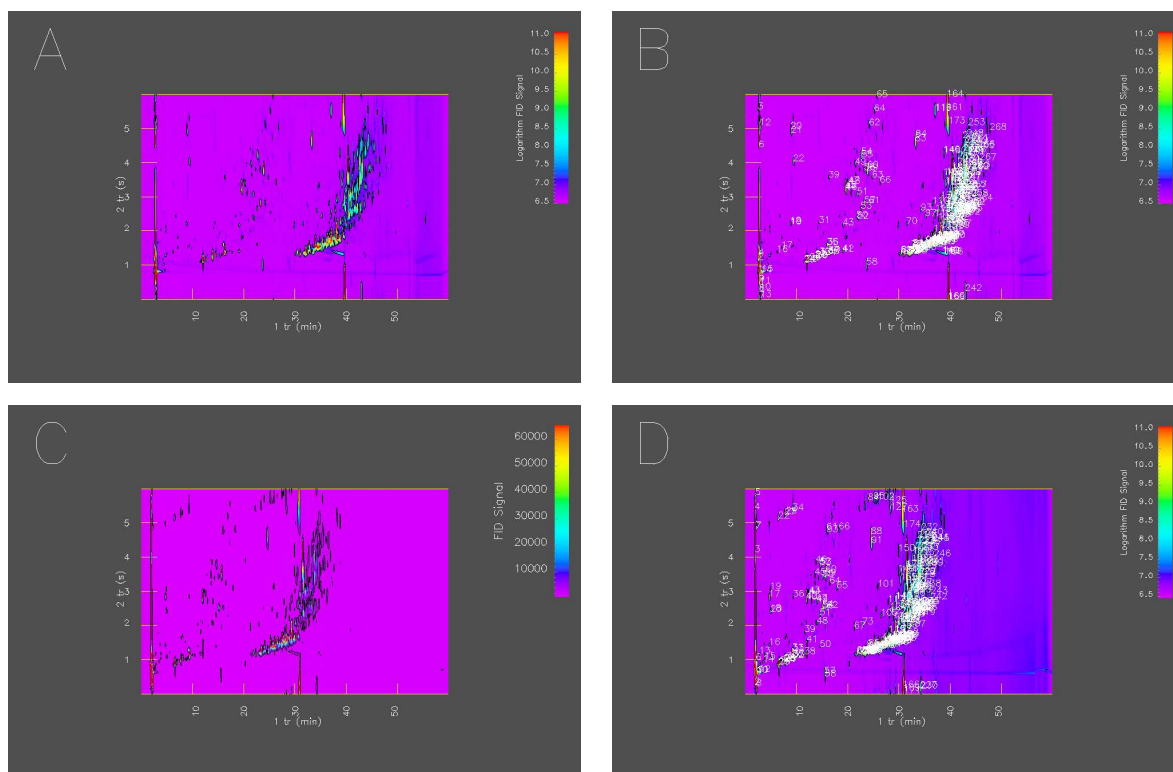


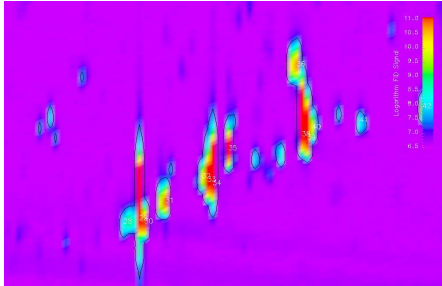
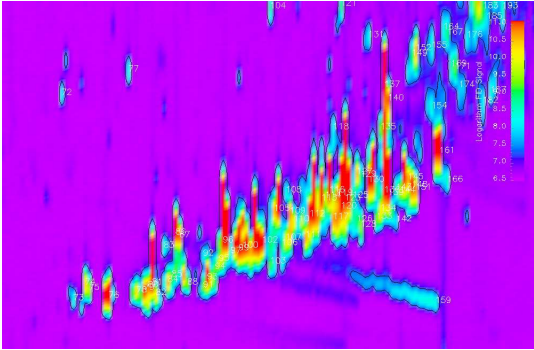
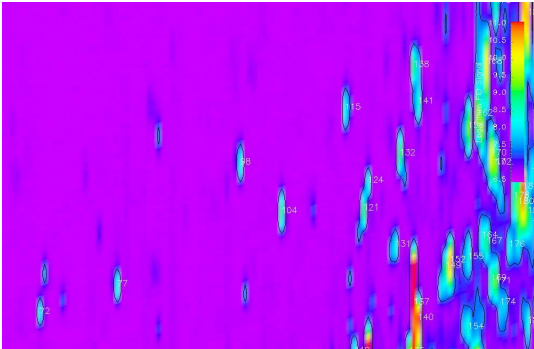
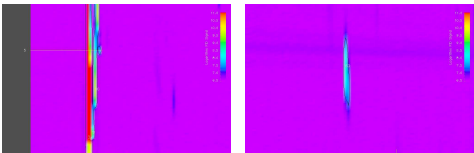
Figura 10.8: Análise qualitativa de produtos naturais: (A) cromatograma de óleo essencial de virola (*Virola surinamensis*); (B) reconhecimento de picos do cromatograma **A**; (C) cromatograma de óleo essencial de cataia (*Drimys winterii*); (D) reconhecimento de picos do cromatograma **C**. Condições cromatográficas: HP-5 MS (25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x SPWax (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; detector **FID** (T = 250 °C); injeção automática (T = 250 °C, *split* 1 : 100; 1,0 μ L). Integração: **FD**= 0,95; **FR** = 0,50; **JD** = 5; **CT** = 500 bits. Curvas de Contorno em 250 bits.

Avaliando-se os cromatogramas dos óleos essenciais de virola e cataia (figuras 10.8A e B, e C e D, respectivamente), os solutos com maior polaridade (ácidos, aldeídos, álcoois, ésteres e cetonas) tenham tempos de retenção maiores na segunda dimensão que os solutos de menor polaridade (hidrocarbonetos). Além disso, ácidos e aldeídos podem apresentar ainda o fenômeno de *Wrap-around* por serem os mais polares. Enquanto que hidrocarbonetos devem apresentar menor 2t_R e se agrupar paralelamente ao eixo x para este conjunto de colunas.

A figura 10.8A apresenta o cromatograma do óleo essencial de virola em escala logarítmica. Para esta amostra, foram detectados cerca de 260 picos, conforme ilustra a figura 10.8B. Avaliando-se graficamente o cromatograma, pode-se encontrar alguns picos agrupados cujos parâmetros cromatográficos estão apresentados na tabela 10.2. Para este conjunto de colunas, há dois mecanismos de separação: a primeira dimensão apolar separa os compostos pela volatilidade; e a segunda, polar, separa por polaridade. Para compostos apolares, como terpenos, pode-se propor alguns possíveis grupos ou classes de solutos nesta amostra através da associação dos parâmetros cromatográficos da amostra com os de um cromatograma de padrão de hidrocarbonetos.

Por exemplo, os grupos dos picos 28, 29, 30 e dos picos 38, 39 e 40 apresentam 2t_R baixos e 1t_R entre os hidrocarbonetos alifáticos com 8 a 9 Carbonos. Assim, estes solutos devem ser, na sua maioria, monoterpenos não-oxigenados, ou seja, terpenos com 10 Carbonos sem oxigênio. Este comportamento pode ser verificado também para os terpenos apolares de maior massa molecular, possivelmente sequiterpenos, (73, 96 e 136; 81 e 112; 74, 102 e 161; 78, 111 e 166), como apresentado e ilustrado nas ampliações de cromatogramas na tabela 10.2. Com aumento de 2t_R , pode-se encontrar outros grupos, como terpenos aromáticos (72, 77, 98, 104, 115, 121, 124, 132, 138 e 141) até ácidos carboxílicos (10 e 63). Estes apresentam forma característica (muito largos por causa da forte interação com a coluna polar) e *Wrap-around*. Outros compostos presentes nesta amostra apresentam média polaridade, como aldeídos e cetonas (45 e 46, 60 e 62), fenóis e álcoois (158, 165, 177 e 179), possivelmente monoterpenos e sequiterpenos oxigenados, como ilustrado na figura 10.8B. O maior agrupamento na região central do cromatograma, pode ser reconhecida por sequiterpenos polares, ou seja, com funções ésteres, álcoois, fenóis, cetonas e aldeídos (picos com numeração entre 130 a 260 na figura 10.8B).

Tabela 10.2: Picos detectados do cromatograma da figura 10.8B.

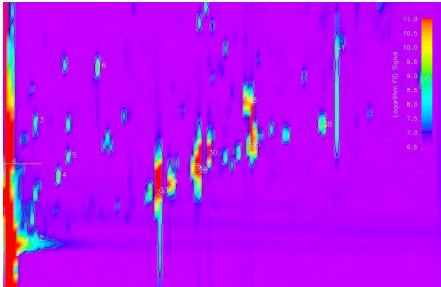
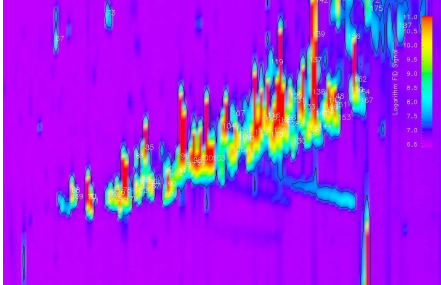
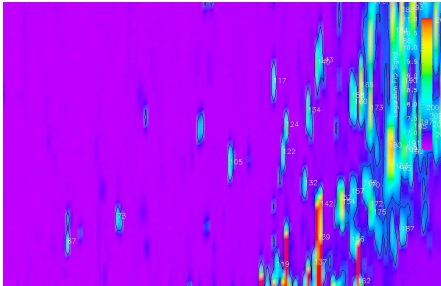
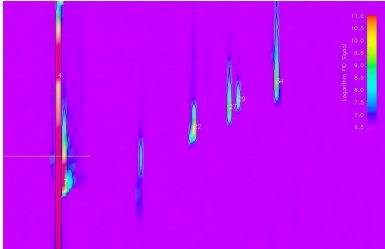
Pico	1t_R (min)	2t_R (s)	Volume (bits)	Compostos Possíveis	Ampliação do Cromatograma
28	7,70	1,03	6.582	Monoterpenos	
29	8,00	1,04	264.113		
30	8,10	1,03	300.125		
38	11,10	1,28	234.417		
39	11,20	1,27	236.614		
40	11,30	1,30	83.067		
73	23,60	1,29	9.435	Sesquiterpenos	
96	27,40	1,51	621.743		
136	31,50	1,70	368.537		
81	25,60	1,35	271.800		
112	29,60	1,61	1.572.898		
74	23,90	1,35	179.509		
102	28,40	1,51	535.588		
161	32,90	1,85	689.666		
78	25,20	1,32	171.651		
111	29,50	1,53	252.402		
166	33,10	1,74	13.873		
72	23,30	2,07	4.765	Sesquiterpenos Aromáticos	
77	25,00	2,16	9.079		
98	27,70	2,56	10.145		
104	28,60	2,40	24.051		
115	30,00	2,74	10.847		
121	30,40	2,41	31.210		
124	30,50	2,50	7.280		
132	31,20	2,59	36.922		
138	31,50	2,88	30.155		
141	31,60	2,76	20.038		
10	2,70	4,75	271.767	Ácidos	
63	17,50	0,73	39.076		

A figura 10.8C apresenta o cromatograma do óleo essencial de cataia em escala logarítmica. Para esta amostra, foram detectados cerca de 250 picos, conforme ilustra a figura 10.8D. Visualmente, pode-se perceber que o cromatograma desta amostra é muito semelhante ao da virola. Este comportamento é esperado, pois a composição dos dois óleos essenciais apresenta grande semelhança, apenas diferenciando-se nas concentrações de alguns grupos. Consequentemente, a identificação destes solutos e a diferenciação entre estas amostras somente seria confirmada através da comparação com Índice de Kovats calculados ou pela detecção por Espectrometria de Massa e por Análise Quimiométrica, respectivamente.

Da mesma forma, os picos detectados nesta amostra podem ser analisados qualitativamente. A tabela 10.3 apresenta os parâmetros cromatográficos de alguns grupos e séries. Por exemplo, os picos 23 e 24, e 35 e 37 devem representar a mesma série de monoterpenos da amostra anterior. Semelhantemente, os grupos de sequeiterpenos apolares (70, 71, 108, 109, 159 e 164), os sequeiterpenos aromáticos (67, 73, 105, 117, 122, 124 e 134) e os ácidos carboxílicos (7, 22, 27, 29 e 34) também foram reconhecidos e as ampliações dos cromatogramas estão ilustrados na tabela 10.3. Outros compostos presentes nesta amostra apresentam média polaridade, como aldeídos e cetonas (40, 42 e 59, 60), fenóis e álcoois (163, 178 e 179), possivelmente, monoterpenos oxigenados, como ilustrado na figura 10.8D. Além destes picos, o maior agrupamento na região central do cromatograma, pode ser reconhecida por sequeiterpenos oxigenados (picos com numeração entre 120 a 260 na figura 10.8D) característica comum para estes tipos de plantas.

Com estes resultados, pôde-se verificar a potencialidade da técnica na aplicação na análise qualitativa em amostras complexas e reconhecimento dos principais grupos de solutos através da Estruturação Química dos cromatogramas bidimensionais. A identificação própria do soluto pode ser realizada por *fingerprint*, pela aplicação de Índices de Kovats ou pela utilização de um Espectrômetro de Massas. Para diferenciação destas amostras complexas, a análise quimiométrica pode ser considerada uma possível resposta baseadas em outros estudos do grupo¹⁴. Assim, o sistema **LABVIEW** mostrou-se eficiente para análise qualitativa de óleos essenciais, e sua avaliação em análises quantitativas é foco do próximo item.

Tabela 10.3: Picos detectados do cromatograma da figura 10.8D.

Pico	1t_R (min)	2t_R (s)	Volume (bits)	Compostos Possíveis	Ampliação do Cromatograma
23	6,60	0,87	266.084	Monoterpenos	
24	6,90	0,91	399.751		
35	9,40	1,08	210.535		
37	9,50	1,11	379.580		
70	22,30	1,18	255.739	Sesquiterpenos	
71	22,40	1,16	412.851		
108	26,90	1,49	611.298		
109	27,00	1,46	171.749		
159	30,50	1,68	15.226		
164	30,70	1,67	143.688		
67	21,30	1,92	6.458	Sesquiterpenos Aromáticos	
73	22,90	2,04	4.130		
105	26,50	2,30	20.159		
117	27,90	2,69	13.119		
122	28,20	2,35	12.248		
124	28,30	2,48	23.532		
134	29,00	2,55	30.480		
7	2,10	4,86	247.079	Ácidos	
22	6,50	5,14	140.341		
27	7,70	5,24	56.466		
29	8,00	5,28	15.051		
34	9,30	5,37	95.342		

10.2.3 Análise Quantitativa de BTEX em produtos petroquímicos

A partir dos resultados obtidos nas análises qualitativas, o sistema **LABVIEW** foi avaliado na análise quantitativa de aromáticos ($C_6 - C_8$) em gasolina comum e aditivada, nafta leve, querosene. A figura 10.9 apresenta ampliações de cromatogramas destas amostras petroquímicas na região de interesse.

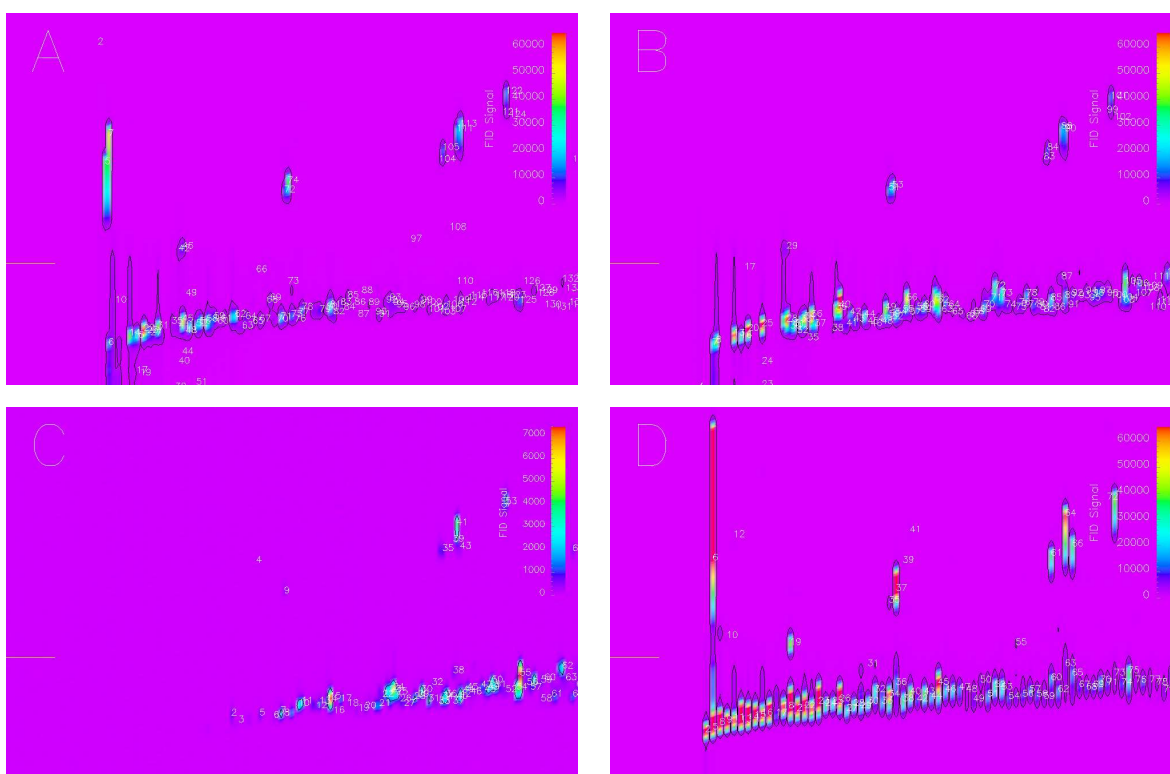


Figura 10.9: Análise de aromáticos em produtos petroquímicos: (A) ampliação de cromatograma de gasolina comum; (B) ampliação de cromatograma de nafta leve; (C) ampliação de cromatograma de querosene (atenuado 4 vezes); (D) ampliação de cromatograma de gasolina aditivada. Condições cromatográficas: HP-5 (25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) x HP-50 (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m); modulador de 4 jatos; detector **FID** ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$); injeção automática ($T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$, *split* 1 : 100; 1,0 μ L). Integração: **FD** = 0,95; **FR** = 0,50; **JD** = 5; **CT** = 500 bits. Curvas de Contorno em 1500 bits para os cromatogramas A, B e D e 250 bits para C.

A tabela 10.4 apresenta os resultados obtidos no reconhecimento e na integração dos picos de Benzeno, Tolueno, Etil-Benzeno e *o*-Xileno. Os tempos de retenção de um padrão de aromáticos 1,00 % foram utilizados no reconhecimento dos solutos.

Tabela 10.4: Picos detectados na análise quantitativa de aromáticos com sistema **LABVIEW**.

Amostra	Soluto	Pico	¹ t _R (min)	² t _R (s)	Volume (bits)	Volume Total (bits)	% (m/m)
Padrão (1 %)	B	17 18	4,00 4,07	1,18 1,19	64.502 102.510	167.012	1,12
	T	25 26	6,00 6,07	1,43 1,44	84.455 97.870	182.325	1,10
	E	46 47	8,93 9,00	1,57 1,64	18.953 168.129	187.082	1,11
	X	54	9,27	1,69	154.009	154.009	0,97
Gasolina	B	42 46	4,00 4,07	1,18 1,19	45.081 58.506	103.587	0,72
	T	72 74	6,00 6,07	1,43 1,47	78.360 276.877	355.237	2,08
	E	111 113	9,27 9,33	1,69 1,71	156.706 264.180	420.886	2,41
	X	121 122	10,13 10,20	1,76 1,85	5.966 139.217	145.183	0,92
Nafta Leve	B	29	4,07	1,19	19.905	19.905	0,20
	T	51 53	6,00 6,07	1,44 1,45	93.552 150.099	243.651	1,44
	E	88 90	9,27 9,33	1,70 1,69	165.584 161.594	327.178	1,89
	X	99 101	10,13 10,20	1,77 1,83	6.090 109.338	115.428	0,75
Querosene (Atenuado 4x)	B	-	-	-			
	T	9	6,00	1,40	1.680	1.680	0,06
	E	39 41	9,20 9,27	1,62 1,69	2.315 35.165	353.965	2,04
	X	53	10,2	1,78	9.464	9.464	0,14
Gasolina Aditivada	B	19	4,13	1,18	251.766	251.766	1,65
	T	37	6,13	1,41	374.880	374.880	2,19
	E	64	9,33	1,73	1.057.293	1.057.293	5,93
	X	72	10,13	1,80	1.036	1.036	0,10

Os volumes encontrados foram utilizados para determinar a concentração destes solutos nas amostras petroquímicas estudadas através de curvas de calibração apresentadas na figura 10.10. Ao contrário do sistema **CROMATOGRAFIA**, estas curvas apresentam coeficiente de correlação ($r^2 > 0,99$), precisão ($s < 5,0\%$, $n = 3$), limite de detecção (0,18 a 0,30 %) e quantificação (0,56 a 0,92 %) adequados para a análise quantitativa destes solutos nesta faixa de concentração estudada (0,25 a 10,00 %, m/m). Avaliando-se os resultados da tabela 10.4, não foi detectado a presença de Benzeno na amostra de querosene. Além disso, a amostra de gasolina aditivada apresenta uma concentração maior que 1,00 % de Benzeno, o que pode ser um indício de adulteração por solventes. A concentração de aromáticos encontrada nas demais amostras foi compatível com a literatura, variando de 0,50 a 6,00 %^{56,146}.

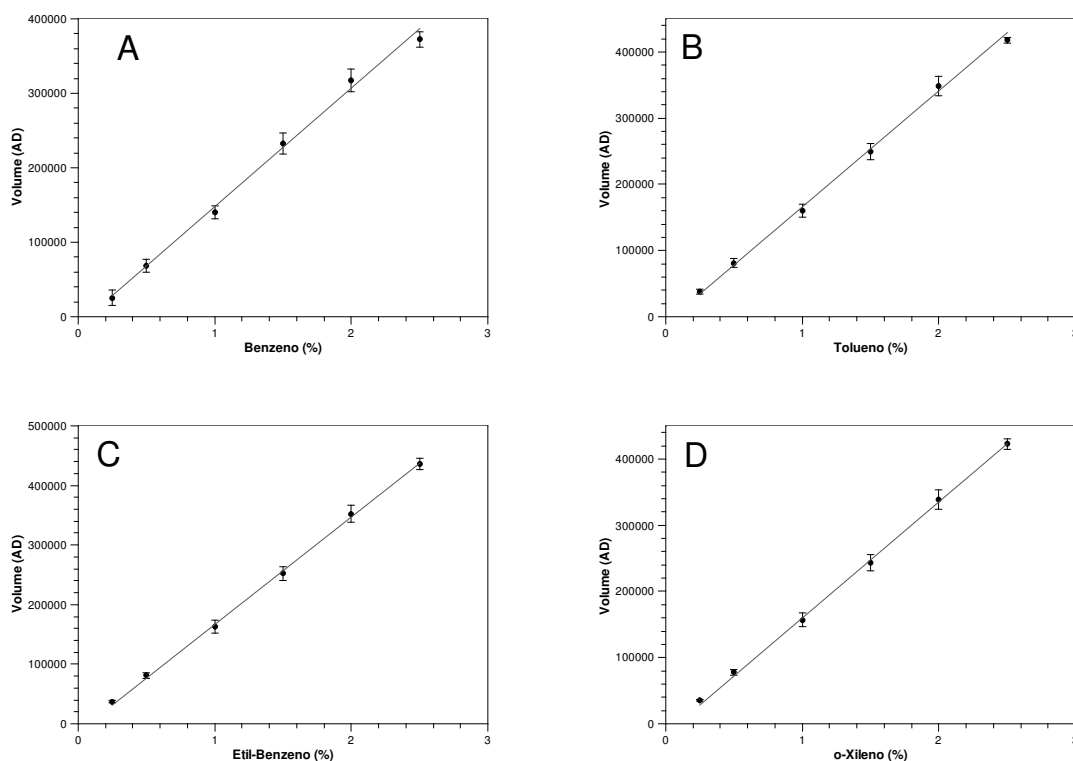


Figura 10.10: Curvas de calibração obtidas para a análise de **BTEX** em gasolina: (A) $V = -1,15 \cdot 10^4 + 1,593 \cdot 10^5$ [B] ($r^2 = 0,9956$, **LD** = 0,23 %, **LQ** = 0,72 %); (B) $V = -9,82 \cdot 10^3 + 1,754 \cdot 10^5$ [T] ($r^2 = 0,9974$, **LD** = 0,18 %, **LQ** = 0,56 %); (C) $V = -1,42 \cdot 10^4 + 1,808 \cdot 10^5$ [E] ($r^2 = 0,9989$, **LD** = 0,26 %, **LQ** = 0,78 %); (D) $V = -1,62 \cdot 10^4 + 1,758 \cdot 10^5$ [X] ($r^2 = 0,9991$, **LD** = 0,30 %, **LQ** = 0,92 %);. Integração: **FD**: 0,95; **FR**: 0,50; **JD**: 5; **CT**: 5000. **LD** e **LQ** calculados baseados nos parâmetros da curva analítica²⁶.

Estes resultados confirmaram o bom desempenho do sistema **LABVIEW** e indicam como uma possibilidade da sua aplicação para análises quantitativas.

Capítulo 11

Comparação entre sistemas

11.1 Objetivos Alcançados

A partir dos resultados obtidos com os dois sistemas montados, pode-se avaliar seus desempenhos classificados em 3 categorias principais: controle do cromatógrafo e do modulador, tratamento e visualização dos cromatogramas, e aplicação em análises qualitativas e quantitativas. A tabela 11.1 apresenta um *checklist* dos objetivos alcançados nesta pesquisa até o momento.

Em relação ao Controle do Cromatógrafo, o sistema **LABVIEW** apresentou aquisição dos dados analógicos adequada (sem deformação dos picos), monitoramento automático do início da corrida e acionamento das válvulas do modulador. Por outro lado, apesar de seu desempenho satisfatório no controle, o sistema **CROMATOGRAFIA** apresentou limitações na aquisição dos dados devido ao modelo do cromatógrafo utilizado. O diferencial deste sistema foi organização dos dados adquiridos (*backup* dos dados, relatórios em **HTML**, apresentação e tratamento dos dados finais) e o controle por rede. Contudo, **IDE** da linguagem **NI Labview** apresenta também recursos de serviços por rede automáticos para controle e visualização dos dados durante a análise em **HTML**.

Comparando-se o Tratamento de Dados, o sistema **CROMATOGRAFIA** apresentou visualização dos cromatogramas em diferentes representações (superfícies, su-

Tabela 11.1: *Checklist* dos objetivos alcançados. ● Total; ● Parcial; ● Não Alcançado

Categoria	Objetivo	CROMATOGRAFIA	LABVIEW
Controle do Cromatógrafo e Modulador	Aquisição e Controle	●	●
	Apresentação durante a análise	●	●
	Controle da Corrida	●	●
	Controle por Rede	●	●
	Apresentação Final	●	●
	Pré-tratamento e Reportagem	●	●
	Backup e Acesso de dados	●	●
Tratamento de Dados	Cálculo de Parâmetros Cromatográficos	●	●
	Visualização de Cromatogramas	●	●
	Tratamento de Cromatogramas	●	●
	Visualização de Padrões	●	●
Aplicações	Análise Qualitativa	●	●
	Identificação de Padrões	●	●
	Análise Quantitativa	●	●

perfícies de contorno, adição de contornos de padrões, numeração dos picos e *bubble plots*) e cálculo dos parâmetros cromatográficos bidimensionais (tempos de retenção, volumes, larguras e assimetrias em ambas dimensões). Comparando-se com outros *softwares* comerciais de tratamento e visualização de dados, os módulos **CROMATOGR** e **CROMATOGRA** apresentaram melhor desempenho em velocidade e qualidade de visualização. Por isso, estes módulos foram adicionados ao sistema **LABVIEW** e este também alcançou estes objetivos.

E, em relação as Aplicações Analíticas, o sistema **LABVIEW** foi utilizado em análises qualitativas de amostras petroquímicas e em óleos essenciais e quantitativas com sucesso. Por outro lado, o sistema **CROMATOGRAFIA** não apresentou resultados satisfatórios para ser aplicado em análises quantitativas. Apesar disto, as análises qualitativas de produtos petroquímicos por *fingerprint* tiveram sucesso.

Parte V

Conclusões e Perspectivas

Capítulo 12

Conclusões

Os sistemas **GCxGC** desenvolvidos pelo grupo de pesquisa foram aplicados com sucesso no estudo desta técnica. O primeiro sistema, **CROMATOGRAFIA**, foi controlado por rede através do conjunto de módulos desenvolvidos (**CROMAT**, **CROMATO**, **CROMATOG**, **CROMATOGR** e **CROMATOGRA**). Suas limitações foram consequência principalmente do modelo de cromatógrafo utilizado. A partir deste sistema, pôde-se desenvolver diferentes trabalhos neste laboratório^{13,18,20,21}. Além disso, os resultados obtidos por este sistema abriram espaço para novos trabalhos: como o desenvolvimento de novos moduladores, a associação da técnica de **GCxGC** em análise Quimiométricas Multidimensionais (como o **PARAFAC** e **N-PLS**)¹⁴ e o desenvolvimento do sistema **LABVIEW**. Com este novo sistema, as limitações foram superadas e diversos trabalhos foram realizados com o mesmo desempenho da literatura^{19,60,129,135}.

Por fim, os *softwares* desenvolvidos em ambos os sistemas foram apresentados em congressos nacionais e internacionais^{12,15,16}. E, verificou-se que existe um interesse por programas nesta área de cromatografia e que a proposta deste trabalho é uma das alternativas viáveis para laboratórios de pesquisa e empresas de pequeno e médio porte.

Capítulo 13

Perspectivas

Com os resultados obtidos, pôde-se verificar que a técnica **GCxGC** apresenta grandes perspectivas na aplicação na análise de amostras complexas, como óleos essenciais e voláteis em alimentos. Além disso, a associação desta técnica com a Quimiometria é viável e abre novas perspectivas na análise quantitativa. Por fim, a utilização da Espectrometria de Massas para detecção da técnica **GCxGC** deve combinar o melhor da seletividade com a melhor resolução cromatográfica.

Em relação a tecnologia de moduladores, a otimização das temperaturas dos novos modelos criogênicos deve melhorar o desempenho da coleta e focalização de solutos com diferentes massas moleculares. Acredito que os modelos por válvulas não serão descartados e que o ótimo de eficiência das colunas cromatográficas utilizadas será alcançado pela hibridização destes dois modelos.

A respeito de *softwares* de tratamento de dados cromatográficos, estes deverão ser planejados para o tratamento e visualização dos cromatogramas com a adição dos espectros de massas dos picos cromatográficos.

Anexos

Anexo 1: Código em C do módulo **CROMAT**

```
// CROMAT : modulo para controle remoto
// LCG - IQ - UNICAMP - Tese de Doutorado
// 11/01/2009 - Versao: 1.0
//
//
//
//

#include<stdio.h>
#include<string.h>
#include<stdlib.h>
#include<time.h>
#include<sys/time.h>
#include<linux/timex.h>
#include<sys/types.h>
#include<sys/socket.h>
#include<netinet/in.h>
#include<arpa/inet.h>
#include<unistd.h>
#include<sys/io.h>
#include "pcl711.h"
#include<sys/stat.h>
#include<fcntl.h>

#define SERV_UDP_PORT 2222
#define SERV_TCP_PORT 2222
#define SERV_HOST_ADDR "143.106.13.55"
#define BUFFER_SIZE 1000
#define NAME 55
#define TRUE 1
#define FALSE 0

char *pname,resposta[8];
int ADbuffer[BUFFER_SIZE];
unsigned DIbuffer[BUFFER_SIZE];
FILE *file, *file1, *extra;
enum operations {AI,DI,A0,DO} operation;
```



```

unsigned i, gain;
int samples, seconds, input=0, addr, newsockfd, DOBit, bValue, val1, val2, loop, r, ttot, d;
char FileName[NAME], diretorio[19]="/root/pc1711/data/", nome[NAME];
struct timeval tv, tv0, tv1, tv2, tv3, tv4, tv5;
struct tm *data;
time_t dia;
long int diff, diff1, diff2, diff5, diff6;
double difftotal;
pid_t pid;

WriteBuffer(unsigned i){
    unsigned j;
    for(j=0; j<i; j++){
        fprintf(file, "%d\n", ADbuffer[j]);
    }
}
/*
Inicio(){
    DOBit = 1;
    gettimeofday(&tv6, NULL);
    diff6 = 0;
    do{
        InitCard(0x220);
        operation=D0;
        bValue = 0;
        Write_D0(DOBit, bValue);
        DOBit = 0 | DOBit;
        CloseCard();
    }while(diff6 < 10000000);
    gettimeofday(&tv7, NULL);
    diff5=1000000*(tv7.tv_sec-tv6.tv_sec)+(tv7.tv_usec-tv6.tv_usec);
    diff6 = diff6 + diff5;
}*/

Ctrl(gain, samples, seconds, DOBit, bValue, FileName){
    float fTotalSamples, fCurrentSamples;
    long int fMicroWait;
    input=0;
    operation=A1;
    addr=0x220;
    InitCard(addr);
    Write_D0(DOBit, bValue);

```

```

    fTotalSamples=((float)samples)*seconds;
//    fMicroWait=(seconds/fTotalSamples)*1000000.0;
    if( !(file=fopen(fileName,"a+")) ){
        printf("ERRO: 0 arquivo %d nao pode ser criado!\n",FileName);
        exit(-1);
    }
    SetGain(gain);
    i=0;
    fCurrentSamples=0.0;
    while( fCurrentSamples < fTotalSamples){
gettimeofday(&tv4,NULL);
        if( !(Read_AD(0,&(ADbuffer[i]))) ){
            printf("ERRO I/O: Lendo a placa AD no endereco %X!\n",addr);
            exit(-1);
        }
        if( ++i == BUFFER_SIZE ){
            WriteBuffer(i);
            i=0;
        }
gettimeofday(&tv5,NULL);
        diff6=1000000*(tv5.tv_sec-tv4.tv_sec)+(tv5.tv_usec-tv4.tv_usec);
fMicroWait=10000-diff6*1.4115;
        if( fMicroWait < 0) fMicroWait = 0;
        else fMicroWait = fMicroWait;
        fprintf(extra,"%ld\t%ld\n",fMicroWait,diff6);
        /*if( fCurrentSamples > (0.85*fTotalSamples) ){
            DOBit = 0 | DOBit;
            Write_DO(DOBit,bValue);
        }*/
        if( ++fCurrentSamples < fTotalSamples){
            usleep(fMicroWait);
        }
    }
    if( i>0) WriteBuffer(i);
    fclose(file);
    CloseCard();
    InitCard(addr);
    CloseCard();
}

int main(argc,argv)
    int argc;

```

```

    char argv[];
{
    int sockfd,newsockfd,clilen,childpid,sys,mkdir,hmod,mv;
    struct sockaddr_in cli_addr,serv_addr;
    char ganho[10], tempo[10], amostras[10], tvalv1[10], tvalv2[10], syst[NAME],
        blank[NAME], modula[3], graf[3], Www[NAME], dire[NAME],backup[NAME], back[NAME],
        timefile[NAME];
    FILE *tme,*output,*www;
    pname=argv[0];
    if( (sockfd = socket(AF_INET, SOCK_STREAM,0)) < 0){
        perror("server: can't open stream socket");
        exit(1);
    }
    bzero((char *) &serv_addr, sizeof(serv_addr));
    serv_addr.sin_family = AF_INET;
    serv_addr.sin_addr.s_addr = htonl(INADDR_ANY);
    serv_addr.sin_port = htons(SERV_TCP_PORT);
    if( (bind(sockfd,(struct sockaddr *) &serv_addr,sizeof(serv_addr))) < 0 ){
        perror("server: can't bind local address");
        exit(1);
    }
    listen(sockfd,5);
    for(;;){
        clilen=sizeof(cli_addr);
        newsockfd = accept(sockfd,(struct sockaddr *) &cli_addr, &clilen);
        if( newsockfd < 0){
            perror("server: accept error");
            exit(1);
        }
        if( (pid = fork()) < 0){
            perror("server:fork error");
            exit(1);
        }
        else if( pid != 0) exit(0);
        setsid();
        extra=fopen("/root/pc1711/data/time.dat","w");
        write(newsockfd,"Iniciando transferencia...",27);
        read(newsockfd,ganho,sizeof(ganho));
        gain=atoi(ganho);
        fflush(NULL);
        write(newsockfd,"A variavel 'ganho' foi recebida!",33);
        read(newsockfd,tempo,sizeof(tempo));
    }
}

```

```

ttot=atoi(tempo);

write(newsockfd,"A variavel 'tempo' foi recebida!",33);
fflush(NULL);
read(newsockfd,amostras,sizeof(amostras));
samples=atoi(amostras);
write(newsockfd,"A variavel 'amostras' foi recebida!",36);
read(newsockfd,tvalv1,sizeof(tvalv1));
fflush(NULL);
write(newsockfd,"A variavel 'tvalv2' foi recebida!",34);
read(newsockfd,tvalv2,sizeof(tvalv2));
fflush(NULL);
val1=atoi(tvalv1);
val2=atoi(tvalv2);
loop=ttot/(val1+val2);
r=0;

time(&dia);
data=localtime(&dia);
strftime(FileName,17,"%y%m%d%H%M%S.dat",data);
strftime(timefile,17,"%y%m%d%H%M%S.tmp",data);
strftime(dire,22," /mirror/CGxCG/%y%m%d",data);
strftime(backup,27,"mkdir /mirror/CGxCG/%y%m%d",data);
strftime(back,32,"chmod 0755 /mirror/CGxCG/%y%m%d",data);
strftime(Www,52,"mv /root/pcl711/%y%m%d%H%M%S.* /mirror/CGxCG/%y%m%d",data);
tme=fopen(timefile,"w+");
mkdir = system(backup);
hmod = system(back);
gettimeofday(&tv0,NULL);
difftotal = 0;
// Inicio();

do {
    seconds=val1;
    DOBit=1;bValue=0;
gettimeofday(&tv1,NULL);
    Ctrl(gain,samples,seconds,DOBit,bValue,FileName);
gettimeofday(&tv2,NULL);
    seconds=val2;
    DOBit=0;bValue=0;
    diff1=1000000*(tv2.tv_sec-tv1.tv_sec)+(tv2.tv_usec-tv1.tv_usec);
    fprintf(tme,"%ld\t",diff1);
    difftotal = difftotal + diff1;
    Ctrl(gain,samples,seconds,DOBit,bValue,FileName);
gettimeofday(&tv3,NULL);

```

```

        diff2=1000000*(tv3.tv_sec-tv2.tv_sec)+(tv3.tv_usec-tv2.tv_usec);
        fprintf(tme,"%ld\n",diff2);
        difftotal = difftotal + diff2;
        r++;
    } while (r<loop);
    InitCard(addr);
    CloseCard();
    gettimeofday(&tv,NULL);
    diff=1000000*(tv.tv_sec-tv0.tv_sec)+(tv.tv_usec-tv0.tv_usec);
    fprintf(tme,"# %e (micros) \n # %d %d %d\n",difftotal,val1,val2,ttot);
    output=fopen(FileName,"r");
/*      srtcat(Www,dire);
      srtcat(Www,Filename);
      www = fopen(Www,"w");*/
while( (fgets(resposta,7,output)) != NULL ){
    write(newsockfd,resposta,7);
//      fprintf(www,"%s\n",resposta);
}

    fclose(tme);
fclose(output);
    fclose(extra);
    mv = system(Www);
//      fclose(www);
close(newsockfd);
}
}

```

Anexo 2: Código em C do módulo CROMATO

```

/// CROMATO : modulo para visualizacao de dados on-line
// LCG - IQ - UNICAMP - Tese de Doutorado
// 11/01/2009 - Versao: 1.0
//
//
//
//

#include<stdio.h>
#include<sys/types.h>
#include<sys/socket.h>
#include<netinet/in.h>
#include<arpa/inet.h>
#include<stdlib.h>
#include<string.h>
#include<time.h>
#include<linux/timex.h>
#include<sys/stat.h>
#include<fcntl.h>
#include<unistd.h>

#define SERV_UDP_PORT 22223
#define SERV_TCP_PORT 22223
#define SERV_HOST_ADDR "143.106.13.55"
#define NAME 100

char *pname,resposta[8],ok[NAME],linhas[NAME], limites[NAME], mod[NAME],tempo[NAME],
    amostras[NAME], ado[NAME], analise[NAME];
FILE *logo, *arq;
struct timeval tv, tv0, tv1, tv2;
struct tm *data;
time_t dia;
long int diff, diff1, diff2, difftotal;
pid_t pid;

int main(argc,argv)
    int argc;
    char argv[];

```

```

{
    int sockfd,newsockfd,clilen,childpid,head,i,gnuplot,mtime,ttime,samples,
        gimp,R,dx,gnuplot2,head2,mv,cp,fim,k;
    long int utime;
    struct sockaddr_in cli_addr,serv_addr;
    pname=argv[0];
    if( (sockfd = socket(AF_INET, SOCK_STREAM,0)) < 0){
        perror("server: can't open stream socket");
        exit(1);
    }
    bzero((char *) &serv_addr, sizeof(serv_addr));
    serv_addr.sin_family = AF_INET;
    serv_addr.sin_addr.s_addr = htonl(INADDR_ANY);
    serv_addr.sin_port = htons(SERV_TCP_PORT);
    if( (bind(sockfd,(struct sockaddr *) &serv_addr,sizeof(serv_addr))) < 0 ){
        perror("server: can't bind local address");
        exit(1);
    }
    listen(sockfd,5);
    for(;;){
        clilen=sizeof(cli_addr);
        newsockfd = accept(sockfd,(struct sockaddr *) &cli_addr, &clilen);
        if( newsockfd < 0){
            perror("server: accept error");
            exit(1);
        }
        if( (pid = fork()) < 0){
            perror("server:fork error");
            exit(1);
        }
        else if( pid != 0) exit(0);
        setsid();
        gettimeofday(&tv0,NULL);
        time(&dia);
        data=localtime(&dia);
        strftime(analise,17,"%y%m%d%H%M%S.dat",data);
        write(newsockfd,"Iniciando transferencia...",27);
        fflush(NULL);
        read(newsockfd,tempo,sizeof(tempo));
        write(newsockfd,"Limites recebidos com sucesso!",33);
        fflush(NULL);
        read(newsockfd,amostras,sizeof(amostras));
    }
}

```

```

write(newsockfd,"Tipo de figura escolhido com sucesso!",39);
fflush(NULL);
read(newsockfd,mod,sizeof(mod));
write(newsockfd,"Tempo de modulacao escolhido com sucesso!",43);
fflush(NULL);
read(newsockfd,ok,sizeof(ok));
fflush(NULL);
logo=fopen("/mirror/.log","a+");
arq=fopen("/root/pcl711/cromato/tempo.dat","w");
i=0;
mtime=atoi(mod);
utime=mtime;
ttime=atoi(tempo);
diff2 = 1000*ttime;
samples=atoi(amostras);
fprintf(arq,"Corrida:\n data:%s \n Parametros:\n tempo: %s\t
amostras: %s\t modulacao: %s\n Tempo Inicial: %ld (ms)\n",
analise,tempo,amostras,mod,diff2);
gettimeofday(&tv,NULL);
difftotal = 1000000*(tv.tv_sec-tv0.tv_sec)+(tv.tv_usec-tv0.tv_usec);
difftotal = difftotal /1000;
do{
    gettimeofday(&tv1,NULL);
    if( (head=system("tail -14000 /root/pcl711/*.dat > /mirror/cromato.txt")) < 0 )
        fprintf(logo,"\nhead fault: %d\n",head);
    if( (gnuplot=system("gnuplot /mirror/cromato.gnu")) < 0 )
        fprintf(logo,"\ngnuplot fault!: %d\n",gnuplot);
    if( (R=system("octave /mirror/cromato3d.oct")) < 0 )
        fprintf(logo,"\nOctave fault!: %d\n",R);
    if( (dx=system("gnuplot /mirror/cromato3d.gnu")) < 0 )
        fprintf(logo,"\ngnuplot fault!: %d\n",dx);
    gettimeofday(&tv2,NULL);
    diff1 = 1000000*(tv2.tv_sec-tv1.tv_sec)+(tv2.tv_usec-tv1.tv_usec);
    diff1 = diff1/1000;
    difftotal = difftotal + 2*diff1;
    fprintf(arq,"\nTempo: %ld (ms)\t",diff1);
    usleep(diff1*1000);
}while(difftotal < diff2);
write(newsockfd,"ok",3);
if( (head2=system("tail -180000 /root/pcl711/*.dat > /mirror/cromato.dat")) < 0 )
    fprintf(logo,"\nhead 2 fault: %d\n",head2);
if( (gnuplot2=system("gnuplot /mirror/cromatof.gnu")) < 0 )

```



```

        fprintf(logo, "\ngnuplot 2 fault!: %d\n", gnuplot2);
if( (gimp=system("octave /mirror/cromatof.oct && gnuplot /mirror/cromatof.gnu")) < 0 )
    fprintf(logo, "\nOctave e gnuplot fault!: %d\n", gimp);
    if( (cp=system("cp /root/pcl711/*.dat /mirror/mod.dat")) < 0 )
        fprintf(logo, "\nMove fault: %d\n", cp);
        //if( (mv=system("mv /root/pcl711/*.dat /root/pcl711/data")) < 0 )
            fprintf(logo, "\nMove fault: %d\n", mv);
fclose(logo);
close(newsockfd);
    for(k=0; k<100; k++) fim = system("beep");
    fprintf(arq, "\nTempo Total: %ld (ms)\n\n", difftotal);
fclose(arq);
}
    }

```

Anexo 3: Código em C do módulo CROMATOG

```

// CROMATOG : modulo para reiniciar o sistema
// LCG - IQ - UNICAMP - Tese de Doutorado
// 11/01/2009 - Versao: 1.0
//
//
//
//

#include<stdio.h>
#include<sys/types.h>
#include<sys/socket.h>
#include<netinet/in.h>
#include<arpa/inet.h>
#include<stdlib.h>
#include<string.h>

#define SERV_UDP_PORT 22224
#define SERV_TCP_PORT 22224
#define SERV_HOST_ADDR "143.106.13.55"
#define NAME 100

char *pname,resposta[8],ok[NAME],linhas[NAME], limites[NAME], mod[NAME],tempo[NAME],
    amostras[NAME], ado[NAME];
FILE *logo;

int main(argc,argv)
    int argc;
    char argv[];
{
    int sockfd,newsockfd,clilen,childpid,head,i,gnuplot,mtime,ttime,samples,gimp,R,dx,
        gnuplot2,head2,mv,cp,fim,k;
    long int utime;
    struct sockaddr_in cli_addr,serv_addr;
    pname=argv[0];
    if( (sockfd = socket(AF_INET, SOCK_STREAM,0)) < 0){
        perror("server: can't open stream socket");
        exit(1);
    }
    bzero((char *) &serv_addr, sizeof(serv_addr));
    serv_addr.sin_family = AF_INET;

```

```

serv_addr.sin_addr.s_addr = htonl(INADDR_ANY);
serv_addr.sin_port = htons(SERV_TCP_PORT);
if( (bind(sockfd,(struct sockaddr *) &serv_addr,sizeof(serv_addr))) < 0 ){
    perror("server: can't bind local address");
    exit(1);
}
listen(sockfd,5);
for(;;){
    clilen=sizeof(cli_addr);
    newsockfd = accept(sockfd,(struct sockaddr *) &cli_addr, &clilen);
    if( newsockfd < 0){
        perror("server: accept error");
        exit(1);
    }
    if( (childpid = fork()) < 0){
        perror("server:fork error");
        exit(1);
    }
    else if( childpid == 0) {
        close(sockfd);
        write(newsockfd,"Iniciando transferencia...",27);
        fflush(NULL);
        read(newsockfd,tempo,sizeof(tempo));
        write(newsockfd,"Limites recebidos com sucesso!",33);
        fflush(NULL);
        read(newsockfd,ok,sizeof(ok));
        fflush(NULL);
        write(newsockfd,"ok",3);
        logo = fopen("/mirror/mortes.txt","a+");
        if( (mv=system("mv /root/pcl711/*.dat /root/pcl711/data")) < 0 )
            fprintf(logo,"\nMove Fault: %d\n",mv);
        if( (gimp=system("pkill cromat")) < 0 ) fprintf(logo,"\nKill Fault: %d\n",gimp);
        sleep(90);
        if( (dx=system("/root/pcl711/cromat &")) < 0 )
            fprintf(logo,"\nCromat Fault: %d\n",dx);
        if( (R=system("/root/pcl711/cromato/cromato &")) < 0 )
            fprintf(logo,"\nCromato Fault: %d\n",R);
        fclose(logo);
        close(newsockfd);
    }
}
}

```

Anexo 4: Código em C do módulo CROMATOGR

```

// CROMATOGR : modulo para Calculo de Parametros Cromatograficos
// LCG - IQ - UNICAMP - Tese de Doutorado
// 11/01/2009 - Versao: 1.0
//
//
//
//

#include<stdio.h>
#include<math.h>

#define MAX 600

// Variaveis Globais de Controle
// i --> numero de linhas
// j --> numero de colunas
// fd --> fator inicial de multiplicacao da derivada media
// fr --> fator inicial de multiplicacao do ruido medio
// ct --> fator de corte de Volumes baixos
// jd --> numero de pontos para calculo das derivadas
// Todos escolhidos pelo usuario e registrados no arquivo 'parametros.dat'
// Formato: i j fd fr ct jd (separados por TAB ou \t)

int i,j,fd,fr,ct,jd;

// Variaveis Globais

int a,b,c,d,e,f,g,k,l,h;
long int volume_,dados;
FILE *entrada,*saida;
long int Vetor[MAX*MAX];
double Volume[MAX][MAX],Final[MAX][MAX],Vdx[MAX*MAX],Pickpeaks[MAX][MAX];
double derivm,ruido,ruidom;

// Criando a estrutura par:
//      --> Volume
//      --> Tempo de retencao medio
//      --> Tempo de retencao
//      --> Largura

```

```

//      --> Inicio
//      --> Fim
//      --> Variancia
//      --> Skew
//      --> Excesso

struct Pico {
    double volume;
    double pico;
    int max;
    int w;
    int ini;
    int fim;
    double var;
    double skew;
    double exc;
};

// Declarando funcoes com retorno nao inteiras

double Ruido(int p,int q),Derivada(int p,int q),SegundaDerivada(int p,int q,int r);
struct Pico CalcularVolume(int p,int q), CalcularArea(int p);

// Leitura do arquivo de configuracao 'parametros.dat'

int LerParametros(){
    entrada=fopen("parametros.txt","r");
    fscanf(entrada,"%d\t%d\t%d\t%d\t%d\t%d\t%d\n",&i,&j,&fd,&fr,&ct,&jd);
    fclose(entrada);
    return(0);
}

// Leitura de Arquivo de dados: 'mod.dat'
//

int LerDados(int p){
    if(p == 0) entrada = fopen("mod.dat","r");
    else entrada = fopen("padrao.dat","r");
    char cg[12];
    for(b=0;b<j;b++){
        for(a=0;a<i;a++){

```

```

        fgets(cg,12,entrada);
dados = atoi(cg);
Vetor[a+b*i] = dados;
    }
}

fclose(entrada);
return(0);
}

// Gravacao de Arquivo dx nativos
//

int Dx(int p){
    if( p == 0 ){
        saida = fopen("modv.dx","w");
        fprintf(saida," # GCxGC data \n # %d x %d \n # OPENDX \n object 1
            class gridpositions counts %d %d \norigin\t0\t0\ndelta\t%d\t0\ndelta\t0\t%d\n
            object 2 class gridconnections counts %d %d \n object 3 class array type
            float rank 1 shape 1 items %d data follows\n",i,j,j,i,i*3/200,i*3/300,
            j,i,i*j);
    }
else if( p == 1 ){
        saida = fopen("modp.dx","w");
        fprintf(saida,"# GCxGC data \n # Picos \n # OPENDX \n\n object 1 class
            gridconnections counts 3 %d\n\n ",(h/3+1));
        fprintf(saida," \n\n object 2 class array type float rank 1 shape 2 items
            %d data follows\n",h);
    }
else if( p == 2 ){
        saida = fopen("mod.dx","w");
        fprintf(saida," # GCxGC data \n # %d x %d \n # OPENDX \n object 1 class
            gridpositions counts %d %d \norigin\t0\t0\ndelta\t%d\t0\ndelta\t0\t%d\n
            object 2 class gridconnections counts %d %d \n object 3 class array type
            float rank 1 shape 1 items %d data follows\n",i,j,j,i,i*3/200,i*3/300,
            j,i,i*j);
    }
else if( p == 3 ){
        saida = fopen("modpk.dx","w");
        fprintf(saida," # GCxGC data \n # %d x %d \n # OPENDX \n object 1 class
            gridpositions counts %d %d \norigin\t0\t0\ndelta\t%d\t0\ndelta\t0\t%d\n
            object 2 class gridconnections counts %d %d \n object 3 class array type

```

```

        float rank 1 shape 1 items %d data follows\n",i,j,j,i,i*3/200,i*3/300,
            j,i,i*j);
    }
else if( p == 4 ){
    saida = fopen("modpn.dx","w");
    fprintf(saida,"# GCxGC data \n # Picos \n # OPENDX \n\n object 1 class
        gridconnections counts 3 %d\n\n ",(h/3+1));
    fprintf(saida," \n\n object 2 class array type float rank 1 shape 2 items
        %d data follows\n",h);
    }
else{
    saida = fopen("padrao.dx","w");
    fprintf(saida," # GCxGC data \n # %d x %d \n # OPENDX \n object 1 class
        gridpositions counts %d %d \norigin\t0\t0\ndelta\t%d\t0\ndelta\t0\t%d\n
        object 2 class gridconnections counts %d %d \n object 3 class array type
        float rank 1 shape 1 items %d data follows\n",i,j,j,i,i*3/200,i*3/300,
            j,i,i*j);
    }
    d = 0;
    for(b=0;b<j;b++){
for(a=0;a<i;a++){
    if( p == 0 ){
        fprintf(saida,"%f\n",Final[a][b]);
    }
    else if( p == 1 || p == 4 ){
        dados = Final[a][b];
        if( dados > 0 ){
            fprintf(saida,"%d\t%d\n", (b*i*3/200), (a*i*3/300));
            Vdx[d] = dados;
            d++;
        }
    }
    else if(p == 3){
        fprintf(saida,"%f\n",Pickpeaks[a][b]);
    }
    else{
        dados = Vetor[(b*i + a)];
        fprintf(saida,"%ld\n",dados);
    }
}
}
}

if( p == 1 ){

```

```

        fprintf(saida, "\n attribute 'dep' string 'positions' \n\n object 3 class
        array type float rank 0 items %d data follows\n", h);
        for(d=0; d<h; d++){
            fprintf(saida, "%f\n", Vdx[d]);
        }
        fprintf(saida, "\n attribute 'dep' string 'positions' \n\n object 'Picos' class
        field\n component 'connections' value 1\n component 'positions' value 2\n
        component 'data' value 3\n\n end \n#Fim do Arquivo");
    }
    else if( p == 4 ){
        fprintf(saida, "\n attribute 'dep' string 'positions' \n\n object 3 class
        array type float rank 0 items %d data follows\n", h);
        for(d=0; d<h; d++){
            fprintf(saida, "%d\n", (d+1));
        }
        fprintf(saida, "\n attribute 'dep' string 'positions' \n\n object 'Picos' class
        field\n component 'connections' value 1\n component 'positions' value 2\n
        component 'data' value 3\n\n end \n#Fim do Arquivo");
    }
    else{
        fprintf(saida, "\n attribute 'dep' string 'positions' \n");
        fprintf(saida, "\n\n object 'GCxGC' class field\n component 'positions' value 1\n
        component 'connections' value 2\n component 'data' value 3\n\n end\n#Fim do
        Arquivo");
    }
}
fclose(saida);
return(0);
}

// Calculo de Ruído
// d --> inicio
// e --> fim
//

double Ruído(int p, int q){
    long int n;
    double _ruído = 0.0;
    for(n=p; n < q; n++){
        _ruído = _ruído + Vetor[n];
    }
    _ruído = _ruído / (q-p);
    return(_ruído);
}

```



```

    }

// Calculo da primeira derivada

double Derivada(int p,int q){
    int n = 1;
    double _deriv = 0.0;
    while( n < (q*jd+1) ){
        _deriv = _deriv + Vetor[p + n] - Vetor[p];
        n++;
    }
    _deriv = _deriv / (jd*q);
    return(_deriv);
}

// Calculo da segunda derivada

double SegundaDerivada(int p, int q, int r){
    int n = 1;
    double _deriv = 0.0;
    if( q == 0 ){
        while( n < (jd+1) ){
            _deriv = _deriv + (Volume[r][p + n] - Volume[r][p])
                - (Volume[r][p] - Volume[r][p - n]);
        }
        _deriv = _deriv / (jd);
        printf("%d %d %f\n",p,q,Volume[r][p]);
    }
    else{
        while( n < (q*jd+1) ){
            _deriv = _deriv + (Vetor[p + n] - Vetor[p]) - (Vetor[p] - Vetor[p - n]);
            n++;
        }
        _deriv = _deriv / (jd*q);
    }
    return(_deriv);
}

// Funcao para Calculo de Parametros Cromatograficos
// Integracao em x
//

```

```

struct Pico CalcularVolume(int p,int q){
    int _ini,_fim,_w,_max;
    double _sderiv = 0.0,_ssderiv=0.0,_pico=0.0, _exc = 0.0,_skew = 0.0,
        _var = 0.0, _volume=0.0, _sinal = 0.0,_maximo=0.0;
    struct Pico par;
    _ini = q;
    _max = 0;
    par.max = 0;
    ruido = 0.0;
    do{
        _sinal = Volume[p][q];
        if( _maximo < _sinal ){
            _max = q;
            _maximo = _sinal;
        }
        _volume = _volume + _sinal;
        _pico = _pico + q*_sinal ;
        /* _sderiv = SegundaDerivada(q,0,p);
        _ssderiv = SegundaDerivada((q+jd),0,p);
        if( _sderiv > derivm && _ssderiv < derivm ) par.max = q; */
        q++;
    }while(_sinal > 0 && q < j);
    _fim = q + 1;
_w = _fim - _ini;
    _pico = _pico / _volume;
    if( par.max == 0 ) par.max = _max;
    for(k=_ini;k<_fim;k++){
        _var = _var + (k - _pico)*(k - _pico)*(Vetor[k] - ruido);
        _skew = _skew + (k - _pico)*(k - _pico)*(k - _pico)*(Vetor[k] - ruido);
        _exc = _exc + (k - _pico)*(k - _pico)*(k - _pico)*(k - _pico)*(Vetor[k] - ruido);
    }
    _var = _var / _volume;
    _skew = _skew / _volume;
    _skew = (_skew / (_var * sqrt(_var)));
    _exc = _exc / _volume;
    _exc = (_exc / pow(_var,2) - 3);
    par.volume = _volume;
    par.pico = _pico;
    par.ini = _ini;
    par.fim = _fim - 1;
    par.w = _w;
    par.var = _var;
}

```

```

        par.skew = _skew;
        par.exc = _exc;
        return(par);
    }

// Funcao para Calculo de Parametros Cromatograficos
// Integracao em y

struct Pico CalcularArea(int p){
    int _ini,_fim,_w,_max;
    double _deriv=0.0,deriv=0.0, sderiv=0.0,_pico=0.0, _exc = 0.0,_skew = 0.0,
        _var = 0.0, _ruido = 0.0, _area=0.0,_maximo=0.0;
    long int _sinal=0;
    struct Pico par;
    _ini = p;
    _ruido = ruido + ruidom;
    _max = 0;
    par.max = 0;
    do{
        _sinal = Vetor[p];
        if( _maximo < _sinal ){
            _max = p;
            _maximo = _sinal;
        }
        _area = _area + (_sinal - _ruido);
        _pico = _pico + p*(_sinal - _ruido);
        _deriv = Derivada(p,1);
        if( _deriv < 0 ) _deriv = - _deriv;
        f = p + jd;
        deriv = Derivada(f,1);
        //sderiv = SegundaDerivada(p,1,0);
        if( _deriv > 0.0 && deriv < 0.0 && sderiv < 0 ){
            par.max = p - jd;
        }
        p++;
    }while( _deriv > derivm && _sinal > _ruido && a < (i*j) );
    _fim = p + 1;
    _w = _fim - _ini;
    _pico = _pico / _area;
    if( par.max == 0 ) par.max = _max;
    for(k=_ini;k<_fim;k++){
        _var = _var + (k - _pico)*(k - _pico)*(Vetor[k] - ruido);
    }
}

```

```

    _skew = _skew + (k - _pico)*(k - _pico)*(k - _pico)*(Vetor[k] - ruido);
    _exc = _exc + (k - _pico)*(k - _pico)*(k - _pico)*(k - _pico)*(Vetor[k] - ruido);
}

    _var = _var / _area;
    _skew = _skew / _area;
    _skew = (_skew / (_var * sqrt(_var)));
    _exc = _exc / _area;
    _exc = (_exc / pow(_var,2) - 3);
    par.volume = _area;
    par.pico = _pico;
    par.ini = _ini;
    par.fim = _fim - 1;
    par.w = _w;
    par.var = _var;
    par.skew = _skew;
    par.exc = _exc;
    return(par);
}

// Salvar Parametros cromatograficos

int SalvarParametros(struct Pico par, int p){
    if( p == 0 ) saida = fopen("momentos.y", "a+");
    else if( p == 1 ) saida = fopen("momentos.x", "a+");
    else saida = fopen("momentos.xy", "a+");
    fprintf(saida, "%d\t%d\t%f\t%f\t%f\t%f\t%d\t%d\t%d\t%d\t%d\n",
        d, f, par.pico, par.volume, par.var, par.skew, par.exc, par.max, par.w, par.ini, par.fim);
    fclose(saida);
    return(0);
}

// Criar arquivos para GNUPLOT

int SalvarGnuplot(struct Pico par, int p, int q){
    if( p == 0 ){
        saida = fopen("mod.txt", "w");
        for(a=0; a<i; a++){
            for(b=0; b<j; b++){
                fprintf(saida, "%ld\t", Vetor[a+b*i]);
            }
            fprintf(saida, "\n");
        }
    }
}

```

```

    else{
        saida = fopen("gcgc.gnu","a+");
        if( q == 0 ){
            fprintf(saida,"set pm3d map;set palette model RGB;set palette maxcolors 0;
                set palette rgbformulae 33,13,10;unset key;set xlabel '1st dimension';
                set ylabel '2nd dimension';");
        }
        else if( q == 1 ){
            fprintf(saida,"set terminal postscript color; set output 'mod.ps';
                splot [] [0:%d] [] 'mod.txt' matrix w pm3d;",i);
        }
        else fprintf(saida,"set label %d '%d' at %d,%d front;",h,h,f,d);
    }
    fclose(saida);
    return(0);
}

//

int main(){
    long int sinal;
    double deriv,volume,area,ruidoi;
    int Largura[MAX*MAX];
    struct Pico par;
    LerParametros();
    LerDados(1);
    Dx(5);
    LerDados(0);
    Dx(2);
    SalvarGnuplot(par,0,0);
    SalvarGnuplot(par,1,0);
    d = 0;
    e = i*j;
    ruidom = 0.0;
    ruidom = Ruido(d,e);
    ruidoi = Ruido(d,100);
    ruido = 0.0;
    e = 20;
    d = i*j - jd*e;
    derivm = Derivada(d,e);
    if( derivm < 0.0 ) derivm = (-1.0) * derivm;

```

```

        l = 0;
for(a = 0; a < (i*j) ; a++){
    sinal = Vetor[a];
    d = a;
    deriv = Derivada(d,l);
    if( deriv > (fr*derivm/100) && sinal > (fr*(ruido+ruido1)/100) ){
        par = CalcularArea(a);
        a = a + par.w;
        if( par.max > i ){
            f = par.max / i;
            d = par.max - f*i;
        }
        else if( par.max > 0 && par.max < i ){
            d = par.max;
            f = 0;
        }
        else {
            f = a / i;
            d = a - f*i;
        }
        Volume[d][f] = par.volume;
        SalvarParametros(par,0);
    }
    else{
        ruido = Ruido(a,(a+1));
        volume = 0;
        f = a / i;
        d = a - f * i;
        Volume[d][f] = 0;
    }
}

f = 0;
e = 0;
d = 0;
h = 0;
for(a=0;a<i;a++){
    for(b=0;b<j;b++){
        area = Volume[a][b];
        if( area > 0 ){
            par = CalcularVolume(a,b);
            b = b + par.w;
            if( par.volume > ct){

```

```

        f = par.max;
        d = a;
        Largura[h] = par.w;
        h++;
        SalvarGnuplot(par,1,2);
    SalvarParametros(par,1);
        Final[d][f] = par.volume;
    }

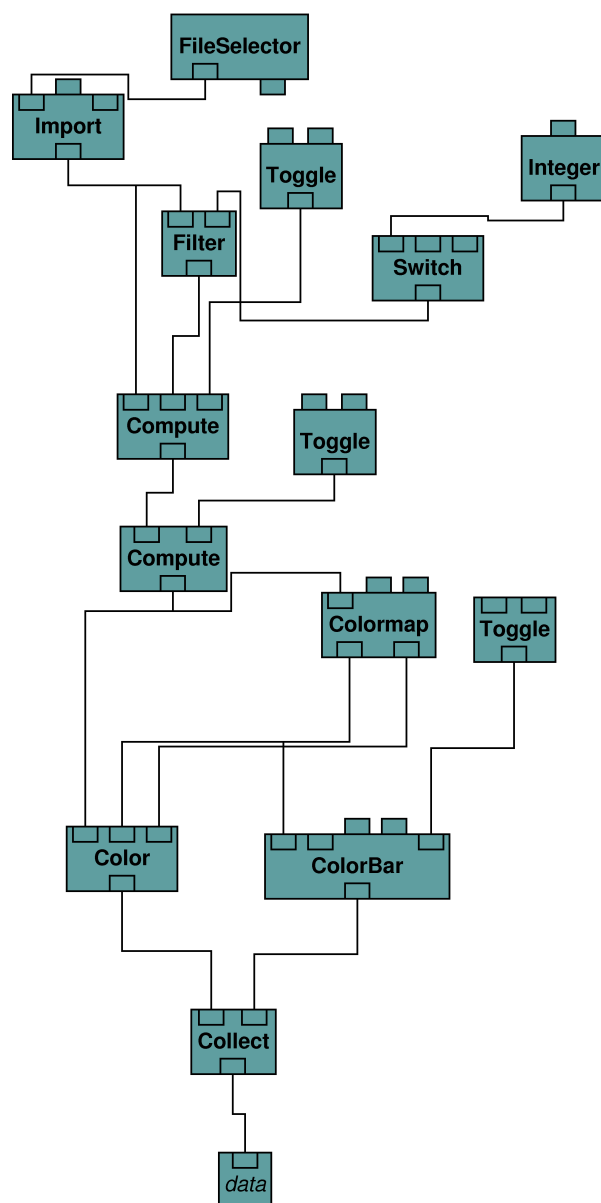
}

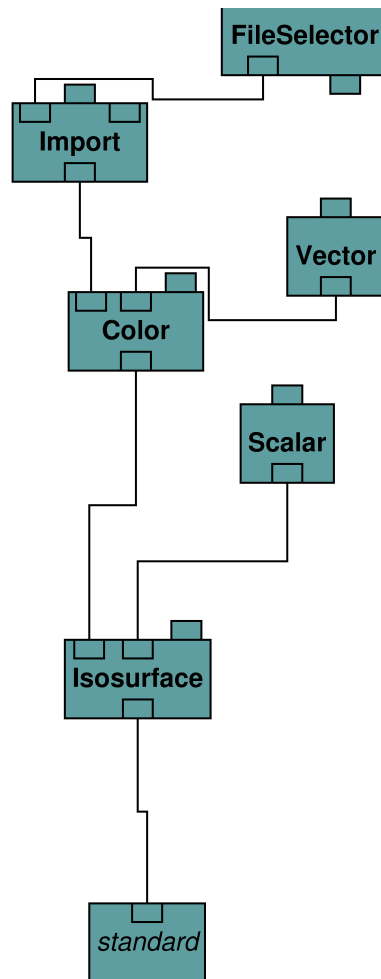
    else Final[a][b] = 0;
}

}

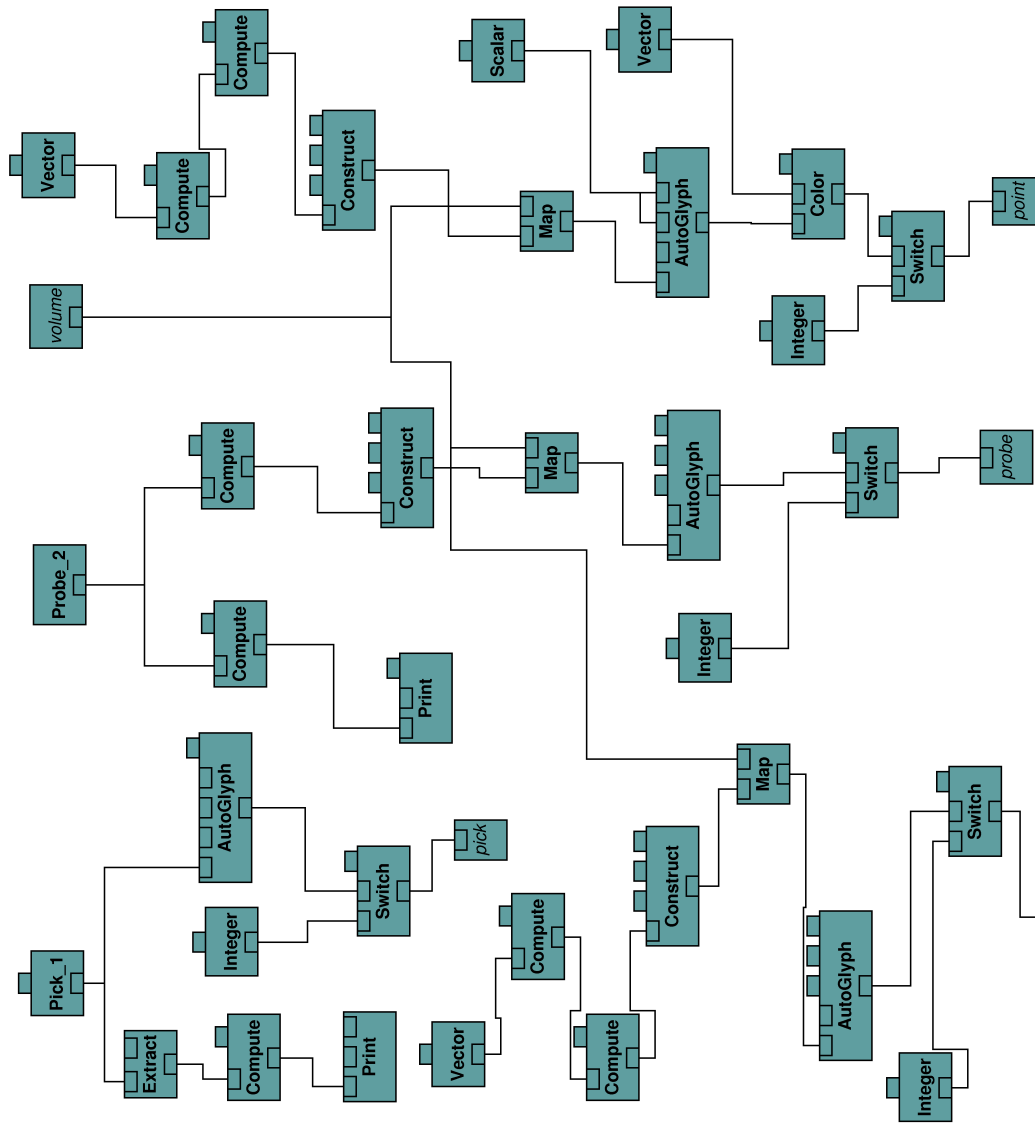
    SalvarGnuplot(par,1,1);
    Dx(0);
    Dx(1);
    Dx(4);
    c = 0;
    d = 0;
    e = 0;
    for(a=0;a<i;a++){
        for(b=0;b<j;b++){
            volume = Final[a][b];
            if( volume > 0 ){
                for(d=(a-Largura[c]);d < (a + 2*Largura[c]);d++)
                {
                    for(e=(b-Largura[c]);e<(b+2*Largura[c]);e++)
                    {
                        Pickpeaks[d][e] = volume;
                        c++;
                    }
                }
            }
        }
    }
    Dx(3);
    exit(0);
}

```

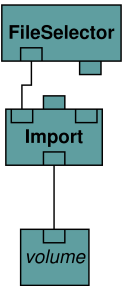
Anexo 5: Diagramas em *OpenDx* do módulo **CROMATOGRA****tab-1:** *Data importer.*



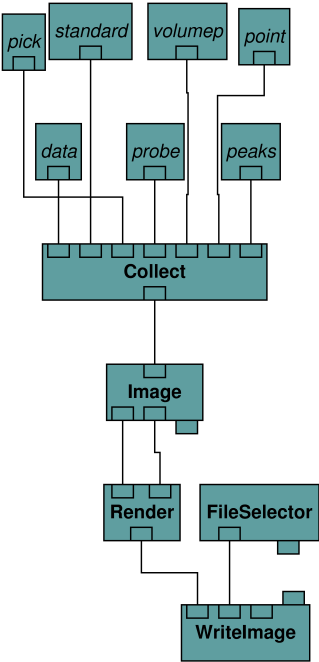
tab-2: *Data standard importer.*



tab-3: Pick and Probe Control.



tab-4: Volume importer.



tab-5: Main.

Anexo 6: Scripts em HTML/PHP do sistema CROMATOGRAFIA

Anexo 6.1: cromat.html.

```
<html>
<head>
<title>CGxCG - HP5890 </title>
<style type="text/css">
  h4 {color:red}
</style>
<script language="javascript" type="text/javascript">
  <!--
    function janela(){
      amplia=window.open("cromatop.html", "grafico", "width=440,height=280")
      amplia.focus()
    }
    function crono(){
      amplia=window.open("cronus.html", "tempoc", "width=240,height=149")
      amplia.focus()
    }
    function validate_required(field,alerttxt)
    {
      with (field)
      {
        if (value==null||value=="")
        {alert(alerttxt);return false}
        else {return true}
      }
    }

    function validate_form(thisform)
    {
      with (thisform)
      {
        if( validate_required(tempo,"Tempo da Corrida deve ser escolhido!")==false)
          {tempo.focus();return false}
        if( validate_required(tval1,"Tempo da válvula 1 deve ser escolhido!")==false)
          {tval1.focus();return false}
        if( validate_required(tval2,"Tempo da válvula 2 deve ser escolhido!")==false)
          {tval2.focus();return false}
      }
    }
  //-->
</script>
</head>
```

```

<hr></hr>
<body bgcolor="#FFFFFF" link="#0000FF" vlink="#800080" class="Normal" font="18">
<form method="post" action="cromat.php" name="client" onsubmit="return validate_form(this)">
  <p><u> Parâmetros de Controle </u></p>
  <table border=""><tr>
    <td>
      <head>Tempo de Monitoramento (min):<br></head>
      <input type="text" name="tempo" value=""><br><br>
      <head>Frequência de Aquisição (Hz):<br></head>
      <select name="amostras"><br><br>
        <option value="100">100
        <option value="10">10
      </select><br><br>
    </td>
    <td><head>Tempos de Modulacao: (s) <br></head>
      <b>Valvula 1: </b><input type="text" value="" name="tval1"><br>
      <b>Valvula 2: </b><input type="text" value="" name="tval2"><br>
    </td>
  </tr>
</table>
<br>
<INPUT type="submit" Onclick="javascript:janela();crono()" value="Iniciar" >
<INPUT type="reset" value="Reiniciar">
<hr></hr>
</form><br>
&copy 2006
</body>
</html>

```

Anexo 6.2: cromat.php.

```

<html>
<head>
  <title>AQUISIÇÃO DE DADOS ANALÓGICOS - Adquirindo ...</title>
  <style type="text/css">
    h1 {color:red}
  </style>
</head>
<body bgcolor="#FFFFFF" link="#0000FF" vlink="#800080" class="Normal">
  <hr></hr>
  <?
    echo "<table><tr><td><h2>Variáveis Escolhidas</h2><br><br>";

```

```

echo $_POST['survey'];
echo "O Tempo de Medida e': ", $_POST['tempo'], "min <br>";
echo "A frequencia desejada e': ", $_POST['amostras'], " Hz<br>";
$tempomin=$_POST['tempo'];
$tempo=60*$tempomin;
$amostras=100;
$ganho = 1;
$val1=$_POST['tval1'];
$val2=$_POST['tval2'];
$modulacao=$val1+$val2;
$valid = $tempo % $modulacao;
$plot= 0;
echo "</td><td><h2>Mensagens</h2><br><br>";
$lock = "/mirror/chave/.lock";
if(file_exists($lock)){
    echo "<h1>Cromatógrafo em uso. Tente mais tarde!</h1><br>";
}
elseif($valid != 0){
    echo "<h1>Valores de Tempo Incompatíveis!!</h1><br>";
}
else {
    $fp = fsockopen("tcp://143.106.13.55",22222,&$errno,&$errstr);
    if(!$fp) {
        echo "$errstr ($errno)<br>\n";
    }
    else {
        $chave = fopen($lock,"w");
        $line=fgets($fp,27);
        echo $line,"<br>";
        fputs($fp,$ganho);
        fflush($fp);
        $line=fgets($fp,35);
        echo $line,"<br>";
        fputs($fp,$tempo);
        fflush($fp);
        $line=fgets($fp,34);
        echo $line,"<br>";
        fputs($fp,$amostras);
        fflush($fp);
        $line=fgets($fp,37);
        echo $line,"<br>";
        fputs($fp,$val1);
    }
}

```

```

fflush($fp);
$line=fgets($fp,34);
echo $line,"<br>";
fputs($fp,$val2);
fflush($fp);
$rd=$tempo*$amostras;
$output=fopen("cromat.txt","w");
for($k=0;$k<$rd;$k++){
    $line=fgets($fp);
    $null=chr(0);
    if( (strlen($line)) > 10){
        $line3=substr_replace($line,'',1,4);
        $line1=str_replace($null,'',$line3);
        $line2=rtrim($line1);
        $line1=ltrim($line2);
    }
    else{
        $line1=str_replace($null,'',$line);
        $line2=ltrim($line1);
        $line1=rtrim($line2);
    }
    fputs($output,"$line1\n");
    fflush($fp);
}
fclose($fp);
fclose($chave);
unlink($lock);
fclose($output);
$copy = system("cp /root/pcl711/*.dat /mirror/mod.dat",$oct);
if( $plot == 0 ){
    if( (system("gnuplot lines2.gnu",$xplot)) > 0 ) echo "Erro em gnuplot<br>";
}
else if( $plot == 1 ){
    if( (system("gnuplot points.gnu",$xplot)) > 0 ) echo "Erro em gnuplot<br>";
}
else{
    if( (system("gnuplot linespoints.gnu",$xplot)) > 0 ) echo "Erro em gnuplot <br>";
}
}
}
?>
</td></tr></table>

```

```

<hr></hr>
<a href="cromat.txt"><button>Salvar Dados</button></a><br><br><br>
<form method="post" action="cromatof.php" name="grafico3d">
  <p><i>Post - Run</i></p>
  <?
    # $filename=time("YmdHis");
    # $dirname=time("Ymd");
    echo "Tempo de Corrida: <input type='text' name='tempo' value='', $tempomin, ''> min<br>";
    echo "Tempo de Modulação: <input type='text' name='mod' value='', $modulacao, ''> s<br>";
    # $dirname = "/mirror/".$dirname;
    # $cp = "cp /root/pcl711/*.dat " . $dirname . $filename;
    # echo $cp, "<br>";
    # $page = system($cp);
    # $chmod = "chmod 0755".$dirname;
    # echo $chmod, "<br>";
    # $chm = system($chmod);
    # $chmod = "chmod 0755". $dirname . $filename;
    # echo $chmod, "<br>";
    # $chm = system($chmod);
  ?>
  <input type="submit" value="Gerar Resultados Finais"><br>
</form>
<hr></hr>
</body>
2007 &copy;<br>
</html>

```

Anexo 6.3: cromato.html.

```

<html>
<head>
  <title> CROMATO - Visualização de Dados Cromatográficos </title>
  <meta http-equiv="refresh" content="6"/>
</head>
<body>
  <table>
    <tr><td> </td></tr>
    <tr><td> <a href="cromato.txt" class="roll">Salvar dados momentâneos</a><br><br> </td></tr>
  </table>
</body>
&2006
</html>

```


Anexo 6.4: *cromato.php*.

```

<html>
<head>
  <title>Monitoramento Iniciado com Sucesso !!!</title>
</head>
<body bgcolor="#FFFFFF" link="#0000FF" vlink="#800080" class="Normal">
  <hr></hr>
  <?
    function getmicrotime()
    {
      list($usec, $sec) = explode(" ", microtime());
      return ((float)$usec + (float)$sec);
    }
    $temi=getmicrotime();
    echo "O Tempo de Medida e': ", $_POST['tempo'], "min <br>";
    echo "A frequencia desejada e': ", $_POST['amostras'], " Hz<br>";
    $tempo=$_POST['tempo'];
    $tempo=$tempo*60;
    $amostras=$_POST['amostras'];
    $mod=$_POST['mod'];
    $fp = fsockopen("tcp://143.106.13.55",22223,&$errno,&$errstr);
    if(!$fp) {
      echo "$errstr ($errno)<br>\n";
    }
    else {
      $line=fgets($fp,27);
      echo $line,"<br>";
      fputs($fp,$tempo);
      fflush($fp);
      $line=fgets($fp,34);
      echo $line,"<br>";
      fputs($fp,$amostras);
      fflush($fp);
      $line=fgets($fp,41);
      echo $line,"<br>";
      fputs($fp,$mod);
      fflush($fp);
      $line=fgets($fp,44);
      echo $line,"<br>";
      fputs($fp,"OK");
      fflush($fp);
    }
  >

```

```

        $line=fgets($fp,3);
        echo $line, "<br>";
    }
    #sleep($tempo);
    $temf=getmicrotime();
    $tem=$temf-$temi;
    echo "tempo: $tem<br>";
    fclose($fp);
    ?>
<hr></hr>
<br><button Onclick="javascript:window.close()">Fechar!!!</button><br>
</body>
2006 &copy<br>
</html>

```

Anexo 6.5: *monitorar.html*.

```

<html>
<head>
    <title> Aquisição de Dados </title>
    <script language="javascript" type="text/javascript">
    <!--
        function janela(trabalho){
        amplia=window.open(trabalho,"Monitorando . . .","width=1280,height=960")
        amplia.focus()
        }
    //-->
    </script>
</head>
<body>
    <form method="post" action="cromato.php" name="monitorar">
    <table border="2">
        <tr>
            <td> Parâmetros do Gráfico </td>
        </tr>
        <tr>
            <td> Limites do Gráfico: </td>
        </tr>
    <td> Tipo de Gráfico:</td>
    <td> Tempo de Modulação (valvula1+valvula2, s)</td>
    <td> Tempo de Corrida (min):</td>
    </tr>

```

```

        <td>
        <select name="limites">
            <option value="1000">1000
            <option value="2000">2000
            <option value="5000">5000
            <option value="10000">10000
            <option value="50000">50000
        </select><br><br>
        </td>
    <td>
        <input type="radio" name="tipo" value="1">2D (linhas)<br>
        <input type="radio" name="tipo" value="2">3D (contorno)<br>
        <input type="radio" name="tipo" value="3">3D (superfície)<br>
    </td>
    <td>
        <input type="text" name="tempo" value=""><br>
    </td>
    <td>
        <input type="text" name="ttotal" value=""><br>
    </td>
</tr>
</table>
    <input type="submit" value="Monitorar" onClick="javascript:janela('cromato.html')">
    <input type="reset" value="Limpar"><br>
</form>
</body>
&2005
</html>

```

Anexo 6.6: *monitor.html*.

```

<html>
    <head>
        <title> Monitor CGxCG </title>
        <script language="javascript" type="text/javascript">
            <!--
                function Texto(){
                    document.env.value= "Monitorando ..."
                }
                function janela2D(){
                    grafico2D = window.open("cromato.html","monitor2D","width=660,height=500")

```

```

    }
    function janela3D(){
        grafico3D = window.open("cromato3D.html","monitor3D","width=660,height=500")
    }
    function abort(){
        morte = window.open("reset.html","Confirmando","width=280,height=320")
    }
-->
</script>
</head>
<body>
<table>
<tr><td><button Onclick="javascript:janela2D()"> Gráfico 2D </button></td></tr>
<tr><td><button Onclick="javascript:janela3D()"> Gráfico 3D </button></td></tr>
<tr><td><button Onclick="javascript:abort()"> Abortar </button></td></tr>
</table>
</body>
2006 &copy;
</html>

```

Anexo 6.7: *reset.html*.

```

<html>
<head>
    <title> Reiniciar CROMAT e CROMATO </title>
</head>
<body>
<form method="post" action="reset.php" name="suicidio">
    <h4> Tem certeza que deseja reiniciar os programas CROMAT e CROMATO?</h4><br><br>
    <input type="submit" value="    OK    ">
    <button Onclick="javascript>window.close()">Cancelar</button><br><br>
</form>
</body>
2006 &copy;
</html>

```

Anexo 6.8: *reset.php*.

```

<html>
<head>

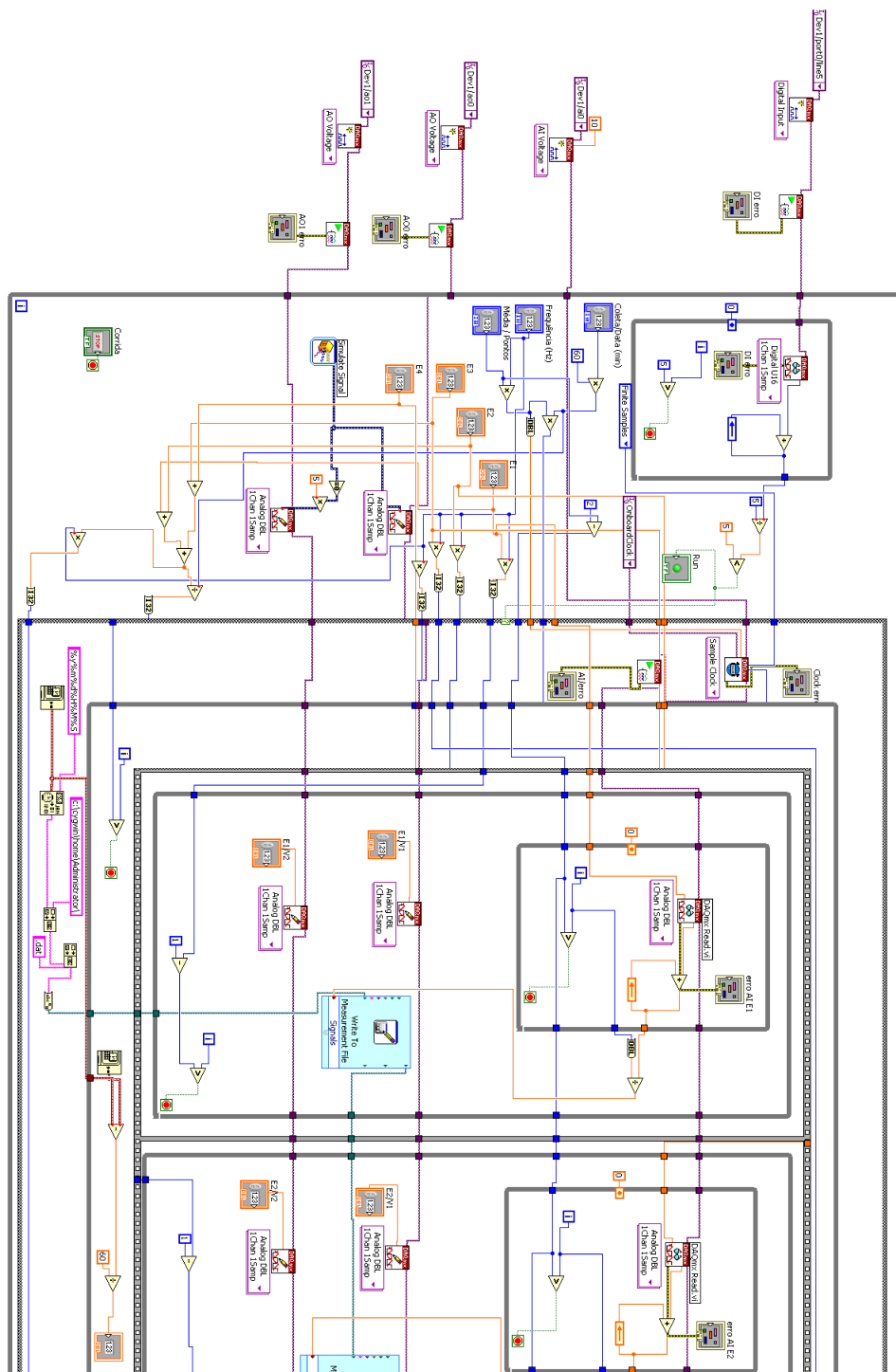
```

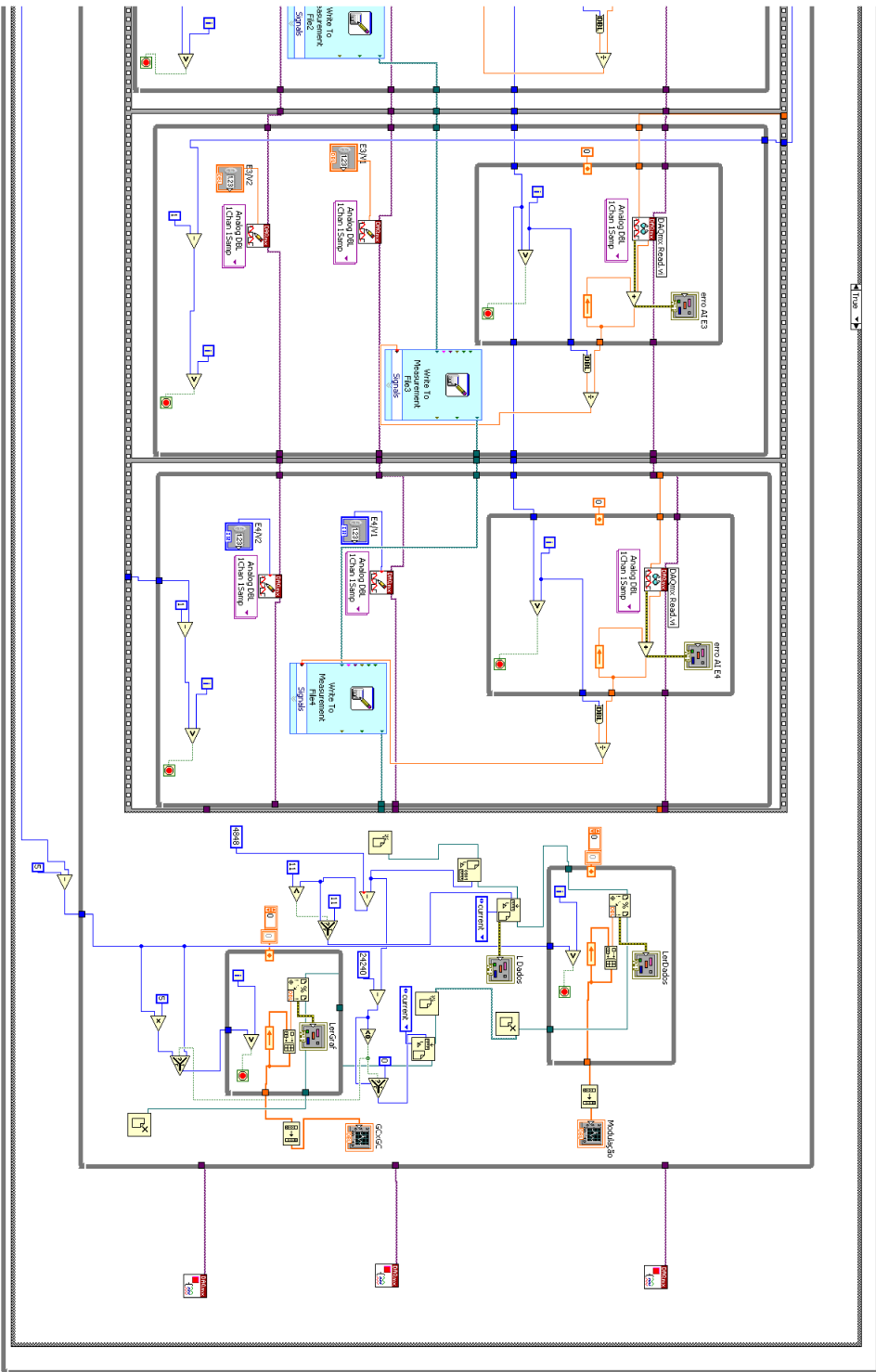
```

        <title> Reiniciando CROMAT e CROMATO </title>
</head>
<body>
<?
function getmicrotime()
{
list($usec, $sec) = explode(" ", microtime());
return ((float)$usec + (float)$sec);
}
$temi=getmicrotime();
$pedido ="Reiniciar";
$fp = fsockopen("tcp://143.106.13.55",22224,&$errno,&$errstr);
if(!$fp) {
    echo "$errstr ($errno)<br>\n";
}
else {
    $line=fgets($fp,27);
    echo $line,"<br>";
    fputs($fp,$pedido);
    fflush($fp);
    $line=fgets($fp,33);
    echo $line, "<br>";
    fputs($fp,"OK");
    fflush($fp);
    $line=fgets($fp,3);
    echo $line, "<br>";
    fflush($fp);
}
$temf=getmicrotime();
$tem=$temf-$temi;
echo "tempo: $tem<br>";
echo "<h2>Reiniciando o Sistema CGxCG. Em 90 s o sistema estarah pronto!</h2><br>";
fclose($fp);
?>
<button onclick="javascript:window.close()">Fechar</button><br>
</body>
2007 &copy
</html>

```

Anexo 7: Diagrama em NI Labview do sistema LABVIEW





Referências Bibliográficas

1. Ferreira, E. C.; Rossi, A. V. Sistema de Injeção Simultânea de Reagentes Líquidos para Monitoramento Cinético com Aplicações Analíticas. In *20ª RA SBQ*; SBQ: Poços de Caldas, 1997.
2. Ferreira, E. C.; Rossi, A. V. Determinação de Vitamina C em Sucos e Polpas de Frutas através de Análise Cinética de Ácido Ascórbico. In *21ª RA SBQ*; SBQ: Poços de Caldas, 1998.
3. Ferreira, E. C.; Rossi, A. V. Dosagem de Vitamina C em Suco de Acerola através de Titulação Espectrofotométrica. In *22ª RA SBQ*; SBQ: Poços de Caldas, 1999.
4. Ferreira, E. C.; Rossi, A. V. Estudo Analítico do Ácido Ascórbico como Agente Modificador da Luminescência da Reação do Luminol com H₂O₂ em Meio Alcalino na Presença de Cu(II). In *23ª RA SBQ*; SBQ: Poços de Caldas, 2000.
5. Ferreira, E. C.; Rossi, A. V. Determinação cinética de ácido ascórbico em medicamentos com técnica quimiluminescente. In *24ª RA SBQ*; SBQ: Poços de Caldas, 2001.
6. Ferreira, E. C.; Rossi, A. V.; Rohwedder, J. J. R. Sistema de medidas para monitoramento cinético de reações quimiluminescentes. In *24ª RA SBQ*; SBQ: Poços de Caldas, 2001.
7. Ferreira, E. C.; Alkschbirs, M. I.; Sabadini, E.; Rossi, A. V. Monitoramento de Quimiluminescência por Câmera de CCD: Determinação de Ácido Ascórbico em Medicamentos. In *26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*; SBQ: Poços de Caldas, 2003.
8. Ferreira, E. C.; Rossi, A. V. *Quim. Nova* **2002**, 25, 1003-1011.
9. Ferreira, E. C.; Augusto, F.; Rossi, A. V. Sensor Óptico de pH obtido por Processo Sol-Gel. In *27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química e XXVI Congresso Latinoamericano de Química*; SBQ: Salvador, 2004.
10. Ferreira, E. C.; Vazquez, P. A. M.; Augusto, F. Aquisição de Dados Analógicos através de uma Interface Gráfica em HTML. In *27ª Reunião Anual da Sociedade*

Brasileira de Química e XXVI Congresso Latinoamericano de Química; SBQ: Salvador, 2004.

11. Fidelis, C. H. V.; Rohwedder, J. J. R.; Augusto, F. Desenvolvimento e Aplicação de um Sistema de Baixo Custo para Cromatografia Gasosa Bidimensional Compreensiva (CGxCG). In *13º Encontro Nacional de Química Analítica e 1º Congresso Ibero-Americano de Química Analítica*; DQA e PPGQ-UFF: Niterói, 2005.
12. Ferreira, E. C.; Fidelis, C. H. V.; Vazquez, P. A. M.; Augusto, F. Software para Controle e Aquisição de Dados de Cromatografia Bidimensional Compreensiva. In *13º Encontro Nacional de Química Analítica e 1º Congresso Ibero-Americano de Química Analítica*; DQA e PPGQ-UFF: Niterói, 2005.
13. Fidelis, C. H. V.; Ferreira, E. C.; Pedroso, M. P.; Augusto, F. Otimização das condições de operação de um modulador crisocópico *home-made* para CGxCG. In *30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*; SBQ: Águas de Lindóia, 2007.
14. Godoy, L. A. J.; Fidelis, C. H. V.; Ferreira, E. C.; Pedroso, M. P.; Poppi, R.; Augusto, F. Identification of Gasoline Adulteration Using Comprehensive Two Dimensional Gas Chromatography (GCxGC) combined to Multivariate Data Processing. In *HTC-10 & EXTECH-10 & Public Safety and Security*; KVCV, C&EG e RSC: Bruges, 2008.
15. Ferreira, E. C.; Fidelis, C. H. V.; Pedroso, M. P.; Vazquez, P. A. M.; Augusto, F. A software package for Comprehensive Bidimensional Gas Chromatography: 1 Real Time Data Acquisition and System Control. In *HTC-10 & EXTECH-10 & Public Safety and Security*; KVCV, C&EG e RSC: Bruges, 2008.
16. Ferreira, E. C.; Fidelis, C. H. V.; Pedroso, M. P.; Vazquez, P. A. M.; Augusto, F. A software package for Comprehensive Bidimensional Gas Chromatography: 2 Peak Detection and Integration. In *HTC-10 & EXTECH-10 & Public Safety and Security*; KVCV, C&EG e RSC: Bruges, 2008.
17. Pedroso, M. P.; de Godoy, L. A. F.; de V. Fidelis, C. H.; Ferreira, E. C.; Poppi, R. J.; Augusto, F. *Quim. Nova* **2009**, 32, 421-430.
18. de Godoy, L. A.; Ferreira, E. C.; Pedroso, M. P.; Fidelis, C. H. V.; Augusto, F.; Poppi, R. J. *Anal. Lett.* **2008**, 41, 1603-1614.
19. Pedroso, M. P.; de Godoy, L. A.; Ferreira, E. C.; Poppi, R. J.; Augusto, F. *J. Chromatogr.* **2008**, 1201, 176-182.
20. Fidelis, C. H. V.; Ferreira, E. C.; Augusto, F. Identificação de Contaminação de Solos por Derivados de Petróleo por Cromatografia Gasosa Bidimensional Compreensiva (GC x GC). In *29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*; SBQ: Águas de Lindóia, 2006.

21. de Godoy, L. A. F. J.; Ferreira, E. C.; Pedroso, M. P.; Poppi, R. J.; Augusto, F. Quantificação de Querosene em Gasolina através de CGxCG combinada com Análise Multivariada de dados de ordem superior. In *14º ENQA*; SBQ: João Pessoa, 2007.
22. Ferreira, E. C.; ; Pedroso, M. P.; Vazquez, P. A. M.; Augusto, F. Software para Cálculo Estocástico de Parâmetros para Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente. In *COLACRO XI - Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas*; UNICAMP: Águas de São Pedro, 2007.
23. Dyson, N. *Chromatographic Integration Methods*; RCS Chromatography Monographs The Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1992.
24. Harynuk, J.; Vlaeminck, B.; Zaher, P.; Marriott, P. J. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *386*, 602-613.
25. Tanenbaum, A. S. *Sistemas Operacionais Modernos*; Pearson Education do Brasil: São Paulo, 2ª ed.; 2003.
26. Valderrama, P.; Braga, J. W. B.; Poppi, R. J. *Quim. Nova* **2009**, *32*, 1278-1287.
27. Adahchour, M.; Beens, J.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U. A. T. *Trends Anal. Chem.* **2006**, *25*, 438-454.
28. Grob, R. L.; Barry, E. F. *Modern Practice of Gas Chromatography*; John Wiley & Sons Inc.: Hoboken, 4ª ed.; 2004.
29. Beens, J.; Tijssen, R.; Blomberg, J. J. *J. Chromatogr. A* **1998**, *822*, 233-251.
30. Mondello, L.; Lewis, A. C.; Bartle, K. D. *Multidimensional Chromatography*; John Wiley & Sons: Chichester, 2002.
31. Dyson, N. *J. Chromatogr. A* **1999**, *842*, 321-340.
32. Adahchour, M.; Beens, J.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U. A. T. *Trends Anal. Chem.* **2006**, *25*, 540-553.
33. Khummueng, W.; Trenerry, C.; Rose, G.; Marriott, P. J. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1131*, 203-214.
34. Haglund, P.; Korytár, P.; Danielsson, C.; Diaz, J.; Wiberg, K.; Leonards, P.; Brinkman, U. A. T.; de Boer, J. *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, *390*, 1815-1827.
35. de Weghe, H. V.; Vanermen, G.; Gemoets, J.; Lookman, R.; Bertels, D. J. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1137*, 91-100.
36. Cordero, C.; Rubiolo, P.; Sgorbini, B.; Galli, M.; Bicchi, C. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1132*, 268-279.

37. Reichenbach, S. E.; Ni, M.; Kottapalli, V.; Visvanathan, A. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2004**, *71*, 107-120.
38. Cardeal, Z. L.; de Souza, P. P.; da Silva, M. D. R. G.; Marriott, P. J. *Talanta* **2008**, *74*, 793-799.
39. Ni, M.; Reichenbach, S. E.; Visvanathan, A.; TerMaat, J.; Jr., E. B. L. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 165-170.
40. Reichenbach, S. E.; Kottapalli, V.; Ni, M.; Visvanathan, A. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1071*, 263-269.
41. Pierce, K. M.; Hoggard, J. C.; Mohler, R. E.; Syvonec, R. E. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1184*, 341-352.
42. Sinha, A. E.; Hope, J. L.; Prazen, B. J.; Fraga, C. G.; Nilsson, E. J.; Synovce, R. E. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1056*, 145-154.
43. van Mispelaar, V. G.; Tasa, A. C.; Smildea, A. K.; Schoenmakersb, P. J.; van Asten, A. C. *J. Chromatogr. A* **2003**, *26*, 15-29.
44. von Mühlen, C.; Zini, C. A.; Caramão, E. B.; Marriott, P. J. *Quim. Nova* **2007**, *30*, 682-687.
45. Hollingsworth, B. V.; Reichenbach, S. E.; Tao, Q.; Visvanathan, A. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1105*, 51-58.
46. Mayadunne, R.; Nguyen, T.-T.; Marriott, P. J. *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *382*, 836-847.
47. Tranchida, P. Q.; Dugo, P.; Dugo, G.; Mondello, L. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1054*, 3-16.
48. Ryan, D.; Morrison, P.; Marriott, P. J. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1071*, 47-53.
49. Ong, R. C. Y.; Marriott, P. J. *J. Chromatogr. Sci.* **2002**, *40*, 276-291.
50. Hyötyläinen, T.; Kallio, M.; Hartonen, K.; Jussila, M.; Palonen, S.; Riekkola, M.-L. *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 4441-4446.
51. Kallio, M.; Hyötyläinen, T.; Jussila, M.; Hartonen, K.; Palonen, S.; Shimmo, M.; Riekkola, M.-L. *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, *375*, 725-731.
52. Junge, M.; Bieri, S.; Huegel, H.; Marriott, P. J. *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 4448-4454.
53. Poliak, M.; Kochman, M.; Amirav, A. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1186*, 189-195.
54. Cai, H.; Stearns, S. D. *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 6064-6076.

55. Seeley, J. V.; Micyus, N. J.; Bandurski, S. V.; Seeley, S. K.; McCurry, J. D. *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 1840-1847.
56. Micyus, N. J.; McCurry, J. D.; Seeley, J. V. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 115-121.
57. Sinha, A. E.; Johnson, K. J.; Prazen, B. J.; Lucas, S. V.; Fraga, C. G.; Synovec, R. E. *J. Chromatogr. A* **2003**, *983*, 195-204.
58. Beens, J.; Adahchour, R. J. J.; Vreuls, K.; van Altena, U. A. T.; Brinkman, J. *J. Chromatogr. A* **2001**, *919*, 127-132.
59. Phillips, J. B.; Beens, J. *J. Chromatogr. A* **1999**, *856*, 331-347.
60. Pedroso, M. P.; Fidelis, C. H. V.; Ferreira, E. C.; Augusto, F. An Improved Cryogenic Modulator for GCxGC. In *27th International Symposium on Chromatography*; GDCH: Münster, 2008.
61. von Mühlen, C.; Zini, C. A.; Caramão, E. B.; Marriott, P. J. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1105*, 39-50.
62. Reddy, C. M.; Nelson, R. K.; Sylva, S. P.; Xu, L.; Peacock, E. A.; Raghuraman, B.; Mullins, O. C. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1148*, 100-107.
63. Marsman, J. H.; Wildschut, J.; Mahfud, F.; Heeres, H. J. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1150*, 21-27.
64. Wang, Z.; Li, K.; Lambert, P.; Yang, C. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1139*, 14-26.
65. Korytár, P.; Leonards, P. E. G.; de Boer, J.; Brinkman, U. A. T. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 29-44.
66. Rochat, S.; de Saint Laumer, J.-Y.; Chaintreau, A. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1147*, 85-94.
67. Dunn, M. S.; Vulic, N.; Shellie, R. A.; Whitehead, S.; Morrison, P.; Marriott, P. J. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1130*, 122-129.
68. Jover, E.; Adahchour, M.; Bayona, J. M.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U. A. T. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1086*, 2-11.
69. Mohler, R. E.; Tu, B. P.; Dombek, K. M.; Hoggard, J. C.; Young, E. T.; Syvonec, R. E. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1186*, 401-411.
70. Mohler, R. E.; Dombek, K. M.; Hoggard, J. C.; Young, E. T.; Syvonec, R. E. *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 2700-2709.
71. Sinha, A. E.; Hope, J. L.; Prazen, B. J.; Nilsson, E. J.; Jack, R. M.; Synovec, R. E. *J. Chromatogr.* **2004**, *1058*, 209-215.

72. Vendeuvre, C.; Bertoncini, F.; Duval, L.; Duplan, J.-L.; Thiébaud, D.; Hen-
nion, M.-C. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1056*, 155-162.
73. Cavagnino, D.; Magni, P.; Zilioli, G.; Trestianu, S. *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*,
211-220.
74. Williams, A.; Ryan, D.; Guasca, A. O.; Marriott, P. J.; Pang, E. *J. Chromatogr. A*
2005, *817*, 97-107.
75. Adahchour, M.; Wiewel, J.; Verdel, R.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U. A. T. *J.*
Chromatogr. A **2005**, *1086*, 99-106.
76. Panic, O.; Górecki, T. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *386*, 1013-1023.
77. Ieda, T.; Horii, Y.; Petrick, G.; Yamashita, N.; Ochiai, N.; Kannan, K. *Environ. Sci.*
Technol. **2005**, *39*, 7202-7207.
78. Watson, N. E.; Siegler, W. C.; Hoggard, J. C.; Synovec, R. E. *Anal. Chem.* **2007**,
79, 8270-8280.
79. Prazen, B. J.; Johnson, K. J.; Weber, A.; Synovec, R. E. *Anal. Chem.* **2001**, *73*,
5677-5682.
80. Libardoni, M.; Stevens, P. T.; Waite, J. H.; Sacks, R. *J. Chromatogr. B* **2006**, *842*,
13-21.
81. Zrostíková, J.; Hajslová, J.; Cajka, T. *J. Chromatogr. A* **2003**, *1019*, 173-186.
82. Sinha, A. E.; Fraga, C. G.; Prazen, B. J.; Synovec, R. E. *J. Chromatogr.* **2004**,
1027, 269-277.
83. Grubner, O. *Anal. Chem.* **1971**, *43*, 1934-1937.
84. Grimalti, J. O.; Olivé, J. *Anal. Chim. Acta* **1991**, *248*, 59-70.
85. Kaiser, R. E.; Rackstraw, A. J. *Computer Chromatography*; Chromatographic
Methods Dr. Alfred Hüthig Verlag GmbH Heidelberg: Birkenau, 1983.
86. Luo, J.; Ying, K.; Bai, J. *Signal Processing* **2005**, *85*, 1429-1434.
87. Luo, J.; Ying, K.; He, P.; Bai, J. *Digital Signal Processing* **2005**, *15*, 122-136.
88. Jönsson, J. A. *Chromatography Theory and basic Principles*; Chromatographic
Science: A Series of Monographs Marcel Dekker Inc.: New York, 1987.
89. McQuarrie, D. A. *J. Chem. Phys.* **1963**, *38*, 437-445.
90. Spangenberg, B. *Fresenius J. Anal. Chem.* **1998**, *360*, 148-151.
91. Schure, M. R. *J. Micro Sep.* **1997**, *9*, 169-176.

92. Peters, S.; Vivó-Truyols, G.; Marriott, P. J.; Schoenmakers, P. J. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1146*, 232-241.
93. Taurion, C. *Cloud Computing: computação em nuvem, transformando o mundo da tecnologia da informação.*; Brasoft Ltda: Rio de Janeiro, 2009.
94. Aarnio, P. A.; Ala-Heikkilä, J. J.; Hakulinen, T. T.; Nikkinen, M. T.; Routti, J. T. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2005**, *264*, 255-258.
95. Williams, M. E.; Consolazio, G. R.; Hoit, M. I. *Advances in Engineering Software* **2005**, *36*, 709-719.
96. Sundaresan, N.; Moussa, R. *Computer Networks* **2002**, *39*, 681-697.
97. Brás, N. B.; Ramos, P. M.; Serra, A. C. *Measurement* **2008**, *41*, 320-326.
98. Negrino, T.; Smith, D. *Java Script for the world wide web*; Peachpit Press: Berkeley, 4^a ed.; 2001.
99. Converse, T.; Park, J. *PHP a Bíblia*; Elsevier: Rio de Janeiro, 2^a ed.; 2003.
100. Schildt, H.; Holmes, J. *A Arte do Java*; Elsevier: Rio de Janeiro, 2003.
101. Deitel, H. M.; Deitel, P. J. *Java como programar*; Pearson Education do Brasil: São Paulo, 6^a ed.; 2005.
102. Wessel, P. *Computer & Geosciences* **2003**, *29*, 665-671.
103. Montanarella, L.; Facchetti, S. *Laboratory Automation and Information Management* **1995**, *31*, 99-107.
104. Kernighan, B. W.; Pike, R. *The Practice of Programming*; Addison-Wesley: Boston, 1989.
105. Thompson, D.; Braun, J.; Ford, R. *OpenDx: Paths to Visualization*; Visualization and Imagery Solutions, Inc: Missoula, 2^a ed.; 2004.
106. Bishop, R. H. *Learning with Labview 8*; Pearson Education Inc.: Upper Saddle River, 2007.
107. Beck, D.; Brand, H.; Karagiannis, C.; Rauth, C. *IEEE Transactions on Nuclear Science* **2006**, *53*, 930-935.
108. Essick, J. *Advanced Labview Labs*; Pretice-Hall Inc.: Upper Saddle River, 1999.
109. Cerqueria, E. C.; Poppi, R. J.; Kubota, L. T. *Quim. Nova* **2000**, *23*, 690-698.
110. Wentzell, P. D.; Brown, C. D. Signal Processing in Analytical Chemistry. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Vol. 11; Meyers, R. A., Ed.; Wiley: Chichester, 2000.

111. Horowitz, P.; Hill, W. *The Art of Eletronics*; Cambridge University Press: Cambridge, 2^a ed.; 1989.
112. Mittermayr, C. R.; Frischenschlager, H.; Rosenberg, E.; Grasserbauer, M. *Fresenius J. Anal. Chem.* **1997**, 358, 456-464.
113. Abbott, D. *Linux for Embedded and Real-Time Applications*; Elsevier: Oxford, 2^a ed.; 2006.
114. Centioli, C.; Iannone, F.; Ledauphin, M.; Panella, M.; Pangione, L.; Podda, S.; Vitale, V.; Zaccarian, L. *Fusion Engineering and Design* **2005**, 74, 593-597.
115. Vitale, V.; Centioli, C.; Iannone, F.; Mazza, G.; Panella, M.; Pangione, L.; Podda, S.; Zaccarian, L. *Fusion Engineering and Design* **2004**, 71, 71-76.
116. Penaflor, B. G.; Ferron, J. R.; Piglowski, D. A.; Johnson, R. D.; Walker, M. L. *Fusion Engineering and Design* **2006**, 81, 1923-1926.
117. Barrera, E.; Ruiz, M.; López, S.; Machón, D.; Vega, J. *IEEE Transactions on Nuclear Science* **2006**, 53, 923-926.
118. Shibaev, S.; Counsell, G.; Cunningham, G.; Manhood, S. J.; Thomas-Davies, N.; Waterhouse, J. *Fusion Engineering and Design* **2006**, 81, 1789-1793.
119. Zhang, C.; Wang, H.; Wang, J. *Journal of Materials Processing Technology* **2003**, 139, 286-290.
120. Bucher, R.; Balemi, S. *Control Engineering Practice* **2006**, 14, 185-192.
121. Wang, L. *IEEE AEES Systems Magazine* **2004**, Fevereiro, 14-17.
122. Cruz, N.; Batista, A. J. N.; Alves, D.; Sousa, J.; varandas, C. A. F.; Joffrin, E.; Felton, R.; Farthing, J. W. *Fusion Engineering and Design* **2006**, 81, 1933-1937.
123. José, R. S.; Pérez, J. L.; González, R. M. *Environmental Modelling and Software* **2007**, 22, 297-307.
124. Marchesin, A. *IEEE Software* **2004**, Setembro/Outubro, 18-20.
125. Bakic, A. M.; Mutka, M. W. *Real-Time Systems* **2005**, 30, 163-185.
126. Zhou, Q.; Wang, L.; Wang, Y.; Zhao, H.; Zhou, R. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* **2004**, 215, 577-580.
127. Smith, R. W. *Linux no Mundo do Windows*; Editora Alta Books Ltda: Rio de Janeiro, 2005.
128. Cohen, M.; Manssour, I. H. *OpenGL: uma abordagem prática e objetiva*; Nova-tech Editora: São Paulo, 2006.

129. Pedroso, M. P.; Fidelis, C. H. V.; Ferreira, E. C.; Augusto, F. Um Modulador Criogênico Aperfeiçoado para Cromatografia Gasosa Bidimensional Abragente. In *COLACRO XII - Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas*; UFSC: Florianópolis, 2008.
130. Llamas, A. PCL711. In <http://www.ibiblio.org/pub/linux/libs/pcl711.lsm>; Ibiblio: Chapel Hill, 1999.
131. Stevens, W. R. *Advanced Programming in the UNIX Environment*; Addison-Wesley: Reading, 1993.
132. Williams, T.; Kelley, C. Gnuplot Homepage. In <http://www.gnuplot.info/>; GNU: Iowa, 2004.
133. Muench, C. *The Windows CE technology tutorial: windows powered solutions for the developer*; Addison-Wesley: Boston, 2000.
134. Wiedemann, L. S. M.; d'Avila, L. A.; de A. Azevedo, D. J. *Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 139-146.
135. Pedroso, M. P.; Ferreira, E. C.; Augusto, F. Identificação de compostos voláteis de abacaxi (*Ananas comosus*) por GCxGC-FID e GC-MS. In *XV Encontro Nacional de Química Analítica*; UFBA: Salvador, 2009.
136. Lima, R. K.; Cardoso, M. G.; Moraes, J. C.; Vieira, S. S.; Melo, B. A.; Filgueiras, C. C. *BioAssay* **2008**, *3*, 1-6.
137. Limberger, R. P.; Sobral, M.; Henriques, A. T.; Menut, C.; Bessière, J. M. *Quim. Nova* **2004**, *27*, 916-919.
138. Baldoqui, D. C.; da S. Bolzani, V.; Furlan, M.; Kato, M. J.; Marques, M. O. M. *Quim. Nova* **2009**, *32*, 1107-1109.
139. Estrela, J. L. V.; Fazolin, M.; Catani, V.; Alécio, M. R.; de Lima, M. S. *Pesq. Agropec. Bras.* **2006**, *41*, 217-222.
140. Mesquita, J. M. O.; Cavaleiro, C.; Cunha, A. P.; Lombardi, J. A.; Oliveira, A. B. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2005**, *15*, 6-12.
141. Prates, H. T.; Oliveira, A. B.; Leite, R. C.; Craveiro, A. A. *Pesq. Agropec. Bras.* **1993**, *28*, 621-625.
142. de Castro, H. G.; de Oliveira, L. O.; de A. Barbosa, L. C.; Ferreira, F. A.; da Silva, D. J. H.; Mosquim, P. R.; Nascimento, E. A. *Quim. Nova* **2004**, *27*, 55-57.
143. Vallilo, M. I.; Bustillos, O. V.; de Aguiar, O. T. *Rev. Inst. Flor.* **2006**, *18*, 15-22.

144. Stasi, L. C. D.; Hiruma-Lima, C. A. *Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*; Editora UNESP: São Paulo, 2^a ed.; 2002.
145. Moraes, S. K. R.; Teixeira, A. F.; dos S. Torres, Z. E.; Nunomura, S. M.; Yamashiro-Kanashiro, E. H.; Lindoso, J. A. L.; Yoshida, M. *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 1110-1118.
146. Diehl, J. W.; Sanzo, F. P. D. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1080*, 157-165.