

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Patrícia Schmidt**

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS SULFURADOS EM AMOSTRAS  
DE ASFALTO DE PETRÓLEO EMPREGANDO CROMATOGRAFIA  
LÍQUIDA COM DETECÇÃO PULSO-AMPEROMÉTRICA**

**Santa Maria, RS  
2018**

**Patrícia Schmidt**

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS SULFURADOS EM AMOSTRAS  
DE ASFALTO DE PETRÓLEO EMPREGANDO CROMATOGRÁFIA  
LÍQUIDA COM DETECÇÃO PULSO-AMPEROMÉTRICA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química Analítica da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Química**.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho

Santa Maria, RS  
2018

Schmidt, Patrícia

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS SULFURADOS EM AMOSTRAS DE  
ASFALTO DE PETRÓLEO EMPREGANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA COM  
DETECÇÃO PULSO-AMPEROMÉTRICA / Patrícia Schmidt.- 2018.  
77 p.; 30 cm

Orientador: Leandro Machado de Carvalho

Coorientador: Paulo Cícero do Nascimento

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de  
Pós-Graduação em Química, RS, 2018

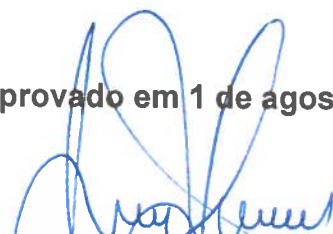
1. Detecção pulso-amperométrica 2. Asfalto de petróleo  
3. Compostos de enxofre 4. Eletrodo de ouro I. Machado  
de Carvalho, Leandro II. Cícero do Nascimento, Paulo  
III. Título.

**Patrícia Schmidt**


**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS SULFURADOS EM AMOSTRAS DE  
ASFALTO DE PETRÓLEO EMPREGANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA  
COM DETECÇÃO PULSO-AMPEROMÉTRICA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química Analítica da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Química**.

**Aprovado em 1 de agosto de 2018:**



**Leandro Machado de Carvalho, Dr. (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)



**Simone Stülp, Dra. (UNIVATES)**



**Maria Valnice Boldrin, Dra. (UNESP)**

Santa Maria, RS  
2018

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus pais Adílio e Arlete, por todo suporte e amor recebido em todos esses anos. E ao meu irmão, Jefferson, por ter encomendado uma irmã há 24 anos atrás. Todo esforço e dedicação foi por vocês.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer meus pais, Adílio e Arlete, se cheguei até aqui foi para ver vocês orgulhosos da pessoa que me tornei, e tentar retribuir, pelo menos um pouco, tudo aquilo que vocês já fizeram por mim. Ao meu irmão Jefferson, por ser o melhor irmão que eu poderia ter.

Ao meu orientador, Prof. Leandro Machado por todo apoio e ensinamentos durante essa caminhada, e por acreditar em mim quando nem mesmo eu acreditava. Tua confiança em mim me faz querer ir mais longe e ser sempre melhor. Obrigada pela orientação, ensinamentos e amizade.

Aos demais professores do grupo, Carine Viana e Denise Bohrer, obrigada pelas contribuições. E em especial ao Paulo Nascimento, por estar sempre disponível e disposto a responder nossas dúvidas.

A todos os amigos que encontrei durante a minha caminhada no LACHEM, todo meu carinho e consideração, afinal ninguém é feliz sozinho, e digo mais, ninguém faz pesquisa sozinho. Todos vocês que foram ombro amigo para momentos de reclamações, lágrimas e desespero. Mas também uma cabeça a mais, para resolver os problemas do dia a dia. Luis Ferraz por todo conhecimento transmitido, sobre os mais variados assuntos, levo para a vida muita coisa que aprendi contigo. Sandra Ribeiro, pela preocupação com todos e pelo carinho de sempre, tu és nossa mãe Sandra. Gêssica Silveira por toda orientação e ajuda não só nesses dois anos, mas desde que comecei nessa jornada.

Aos queridos Rejane Cargnin, Patrícia Mattiazzi, Gabriela Leal, Diana Muratt, Carolina Dolwitsch e Luis Claussen, em vocês encontrei um chão. Dizem que somos a média das pessoas que passamos mais tempo, tenho muita sorte de ser a média de vocês. Obrigada por tudo, mas principalmente pela amizade que construímos, vou levar vocês sempre comigo.

Aos meus sempre amigos e colegas, Natham Brittes e Vinícius Machado, vocês têm participação especial em toda minha caminhada na química. Se não fosse por vocês tenho certeza de que não seria tão divertido.

A Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade da realização do curso de mestrado. Ao CNPQ, pela bolsa concedida e ao CENPES/PETROBRAS, pelo financiamento deste projeto.

*Felicidade é um exercício constante, porque resolver problemas é um exercício constante — as soluções para os problemas de hoje serão a base dos problemas de amanhã, e assim por diante. A verdadeira felicidade só se dá quando você descobre quais problemas gosta de ter e de resolver.*

*(Mark Manson)*

## RESUMO

### DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS SULFURADOS EM AMOSTRAS DE ASFALTO DE PETRÓLEO EMPREGANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA COM DETECÇÃO PULSO-AMPEROMÉTRICA

AUTORA: Patrícia Schmidt

ORIENTADOR: Leandro Machado de Carvalho

Dentre os heteroátomos presentes no petróleo, o enxofre se destaca por ser o mais abundante. Sendo assim, este pode ser encontrado em grandes quantidades em derivados do petróleo, como o Cimento Asfáltico de Petróleo (CAP). A presença de compostos organossulfurados nas matrizes asfálticas é relacionada com processos de envelhecimento da matriz, tornando-a quebradiça e diminuindo o tempo de vida útil do pavimento. Além disto, alguns destes compostos podem ser utilizados como marcadores de poluição em análises ambientais e marcadores geológicos. Também podemos relacionar a presença destes compostos com problemas de saúde ocupacional, visto que alguns possuem conhecido potencial carcinogênico e mutagênico. Assim sendo, este trabalho teve o objetivo de desenvolver e validar um método de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção pulso amperométrica (HPLC-PAD), que permitisse a determinação de compostos de enxofre nas matrizes asfálticas. Utilizando um eletrodo de ouro como eletrodo de trabalho, foi desenvolvido um método com eluição isocrática que permite a determinação de 11 compostos organossulfurados. Foram abordadas duas metodologias de preparo de amostras, a fim de verificar a presença dos compostos organossulfurados na amostra bruta, através de um procedimento de extração em fase sólida (SPE) utilizando cartuchos de aminopropil, e na forma de voláteis, através de uma extração utilizando um dispositivo de extração e coleta (DEC). Além disto, foi realizado um estudo da detecção amperométrica de 22 compostos contendo enxofre, incluindo alguns em sua forma oxidada a fim de comparar a eficiência da reação em eletrodo de ouro e de carbono. O método cromatográfico desenvolvido e validado, apresentou limites de detecção baixos, variando de  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$  para o dibutil dissulfeto e  $0,95 \text{ mg L}^{-1}$  para o 4-metildibenzotiofeno. Este foi aplicado na caracterização de uma amostra bruta de cimento asfáltico, permitindo a determinação e quantificação do composto 3-feniltiofeno na forma de voláteis, na concentração de  $0,160 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Palavras-chave: Asfalto de petróleo. Compostos de enxofre. Detecção pulso-amperométrica. Eletrodo de ouro.



## ABSTRACT

### DETERMINATION OF SULFUR COMPOUNDS IN PETROLEUM ASPHALT SAMPLE USING LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH PULSED-AMPEROMETRIC DETECTION

AUTHOR: Patrícia Schmidt

ADVISOR: Leandro Machado de Carvalho

Among the heteroatoms present in petroleum, sulfur stands out as being the most abundant. Henceforth it can be found on many quantities in oil derivative, such as Petroleum Asphalt Cement (CAP). The presence of organosulfur compounds on asphalt matrix is related to the matrix aging processes, making it brittle and reducing the useful life of the pavement. Even more some of these compounds can be used as pollution markers in environmental analysis, and geological markers. We can also tie the presence of such elements as an occupational health hazard, seeing as some of them have a known carcinogenic and mutagenic potential. In face of that, this research had the objective of developing and validate a high performance liquid chromatography method with pulsed amperometric detection (HPLC-PAD), which allow the determination of sulfur compounds in asphalt matrices. Using a gold electrode as a working electrode, a method with isocratic elution was developed that allows the determination of 11 organosulfur compounds. Two methodologies of sample preparation were studied in order to verify the presence of the organosulphur compounds in the crude sample, through a procedure of solid phase extraction (SPE) utilizing aminopropyl cartridges, and in form of volatiles, through extraction using an extraction and collector device (DEC). In addition, a study of the amperometric detection of 22 compounds containing sulfur, including some in its oxidized form, was carried out in order to compare the reaction efficiency in a gold and carbon electrodes. The developed and validated chromatographic method present low detection limits, between  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$  for dibutyldisulphite and  $0,95 \text{ mg L}^{-1}$  for 4-metyldibenzothiophene. The method was applied in the characterization of a crude sample of asphalt cement, allowing to determine the 3-phenylthiophene compound in form of volatiles, in the concentration of  $0,160 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Key-words: Petroleum asphalt. Sulphur compounds. Pulsed amperometric detection. Gold electrode.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Molécula hipotética de asfalto .....	21
Figura 2 - Modelos de compostos organossulfurados encontrados no petróleo. ....	23
Figura 3 - Sequência de pulsos tipicamente utilizada em detecções empregando PAD. ....	32
Figura 4 - Cromatógrafo modelo 882 Compact IC Plus, acoplado a um detector de pulso amperométrico modelo 871 Advanced Bioscan e interface 771 IC Compact Interface. ....	33
Figura 5 - Eletrodo de carbono (A) e ouro (B), com especificações do diâmetro e espessura. ....	33
Figura 6 - Estrutura dos compostos organossulfurados utilizados neste trabalho. ....	35
Figura 7 - Dispositivo de extração e coleta - DEC. ....	40
Figura 8 - Comportamento eletroquímico dos compostos no eletrodo de carbono (A) e ouro (B), respectivamente, em pH 2,00. Os potenciais foram variados de acordo com a janela de potenciais correspondente a cada eletrodo. ....	43
Figura 9 - Varredura hidrodinâmica na ausência dos compostos organossulfurados, em pH 4,00 em eletrodo de ouro. ....	45
Figura 10 - Comportamento eletroquímico dos compostos reduzidos em pH 2, 4 e 7, com a aplicação de um potencial constante de +0,9 V. ....	46
Figura 11 - Comportamento eletroquímico dos compostos oxidados em pH 2,00, 4,00 e 7,00, com a aplicação de um potencial constante de +0,9 V. ....	46
Figura 12 - Esquema da reação de oxidação do enxofre catalisada por óxidos do metal do eletrodo. ....	47
Figura 13: Voltamograma cíclico de eletrodo de ouro com 50 mg L <sup>-1</sup> de Tiantreno em NaClO <sub>4</sub> 0,1 mol L <sup>-1</sup> em DMSO. Velocidade de varredura de 50 mV s <sup>-1</sup> ....	48
Figura 14 - Cromatograma dos compostos de enxofre na concentração de 10 mg L <sup>-1</sup> , nas seguintes condições: fase reversa – coluna C18, fase móvel fosfato de sódio 10 mmol L <sup>-1</sup> (pH 3,00); metanol 60 % (v/v); potencial de detecção: +0,9 V (0,4 s); potenciais de limpeza: +1,1 V (0,4 s) e -0,2 V (1,2 s). Fluxo da fase móvel: 1,0 mL min <sup>-1</sup> ; temperatura: não controlada. ....	51
Figura 15 - Cromatograma dos compostos de enxofre na concentração de 10 mg L <sup>-1</sup> , nas condições: fase reversa – coluna C18, fase móvel acetato amônio 10 mmol L <sup>-1</sup> (pH 3,00); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção: +0,9 V (0,4 s); potenciais de limpeza: +1,1 V (0,4 s) e -0,2 V (1,2 s). Fluxo: 1,0 mL min <sup>-1</sup> ; temperatura: não controlada. ....	53
Figura 16 - Cromatograma dos compostos de enxofre na concentração de 10mg L <sup>-1</sup> , nas condições: fase reversa – coluna bifenil, fase móvel acetato amônio 10 mmol L <sup>-1</sup> (pH 3,60); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção: +0,9 V (0,4 s); potenciais de limpeza: +1,1 V (0,4 s) e -0,2 V (1,2 s). Fluxo: 1,0 mL min <sup>-1</sup> ; temperatura: não controlada. ....	54
Figura 17 - Representação do ligante presente nas fases estacionárias C18 e Bifenil. ....	55
Figura 18 - Cromatograma dos compostos de enxofre na concentração de 10mg L <sup>-1</sup> , nas condições: fase reversa – coluna bifenil, fase móvel acetato amônio 10 mmol L <sup>-1</sup> (pH 3,00); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção: +0,9 V (0,4 s); potenciais de limpeza: +1,1 V (0,4 s) e -0,2 V (1,2 s). Fluxo: 1,0 mL min <sup>-1</sup> ; temperatura: não controlada. ....	56

- Figura 19 - Cromatograma dos compostos de enxofre na concentração de  $10\text{ mg L}^{-1}$ , nas condições: fase reversa – coluna bifenil, fase móvel acetato amônio  $10\text{ mmol L}^{-1}$  (pH 4,00); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção:  $+0,9\text{ V}$  (0,4 s); potenciais de limpeza:  $+1,1\text{ V}$  (0,4 s) e  $-0,2\text{ V}$  (1,2 s). Fluxo:  $1,0\text{ mL min}^{-1}$ ; temperatura: não controlada..... 56
- Figura 20 - Cromatograma dos compostos de enxofre: (1) 3 – Metil Tiofeno  $15\text{ mg L}^{-1}$  (2) Tianafteno  $4\text{ mg L}^{-1}$  (3) 3 – Metil Dibenzotiofeno  $4\text{ mg L}^{-1}$  (4) 3 - Fenil Tiofeno  $6\text{ mg L}^{-1}$  (5) Dibenzotiofeno  $5\text{ mg L}^{-1}$  (6) Difenil sulfeto  $10\text{ mg L}^{-1}$  (7) Dibutil dissulfeto  $0,2\text{ mg L}^{-1}$  (8) Tiantreno  $4\text{ mg L}^{-1}$  (9) 4 - Metil Dibenzotiofeno  $6\text{ mg L}^{-1}$  (10) 4,6 – Dimetil Dibenzotiofeno  $20\text{ mg L}^{-1}$  (11) Benzo (a) nafto [1,2-d] tiofeno  $14\text{ mg L}^{-1}$ , nas condições: fase reversa – coluna bifenil, fase móvel acetato amônio  $10\text{ mmol L}^{-1}$  (pH 3,50); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção:  $+0,9\text{ V}$  (0,4 s); potenciais de limpeza:  $+1,1\text{ V}$  (0,4 s) e  $-0,2\text{ V}$  (1,2 s). Fluxo:  $1,0\text{ mL min}^{-1}$ ; temperatura:  $27^{\circ}\text{C}$ ... 57
- Figura 21 - Perfil cromatográfico da amostra pós extração por SPE, nas condições: fase reversa – coluna bifenil, fase móvel acetato amônio  $10\text{ mmol L}^{-1}$  (pH 3,50); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção:  $+0,9\text{ V}$  (0,4 s); potenciais de limpeza:  $+1,1\text{ V}$  (0,4 s) e  $-0,2\text{ V}$  (1,2 s). Fluxo:  $1,0\text{ mL min}^{-1}$ ; temperatura:  $27^{\circ}\text{C}$ . ..... 64
- Figura 22: Vista frontal do DEC em funcionamento. .... 65
- Figura 23 - Perfil cromatográfico correspondente a amostra pós extração pelo DEC (1º frasco coletor), nas condições: fase reversa – coluna bifenil, fase móvel acetato amônio  $10\text{ mmol L}^{-1}$  (pH 3,50); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção:  $+0,9\text{ V}$  (0,4 s); potenciais de limpeza:  $+1,1\text{ V}$  (0,4 s) e  $-0,2\text{ V}$  (1,2 s). Fluxo:  $1,0\text{ mL min}^{-1}$ ; temperatura:  $27^{\circ}\text{C}$ . ..... 66
- Figura 24 - Perfil cromatográfico correspondente a amostra pós extração pelo DEC (1º frasco coletor). Condições otimizadas: Fase reversa – bifenil, fase móvel acetato de amônio  $10\text{ mmol L}^{-1}$  (pH 3,50); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção:  $+0,9\text{ V}$  (0,4 s); potenciais de limpeza:  $+1,1\text{ V}$  (0,4 s) e  $-0,2\text{ V}$  (1,2 s). Fluxo:  $1,0\text{ mL min}^{-1}$ ; temperatura:  $27^{\circ}\text{C}$ . ..... 67
- Figura 25 - Curva adição do padrão, 3 - feniltiofeno, sobre a amostra extraída pelo DEC (1º frasco coletor)..... 68
- Figura 26 - Perfil cromatográfico correspondente a amostra pós extração pelo DEC (2º frasco coletor). Condições otimizadas: Fase reversa – bifenil, fase móvel acetato de amônio  $10\text{ mmol L}^{-1}$  (pH 3,5); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção:  $+0,9\text{ V}$  (0,4 s); potenciais de limpeza:  $+1,1\text{ V}$  (0,4 s) e  $-0,2\text{ V}$  (1,2 s). Fluxo:  $1,0\text{ mL min}^{-1}$ ; temperatura:  $27^{\circ}\text{C}$ . ..... 68
- Figura 27 - Perfil cromatográfico correspondente a amostra pós extração pelo DEC (3º frasco coletor). Condições otimizadas: Fase reversa – bifenil, fase móvel acetato de amônio  $10\text{ mmol L}^{-1}$  (pH 3,5); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção:  $+0,9\text{ V}$  (0,4 s); potenciais de limpeza:  $+1,1\text{ V}$  (0,4 s) e  $-0,2\text{ V}$  (1,2 s). Fluxo:  $1,0\text{ mL min}^{-1}$ ; temperatura:  $27^{\circ}\text{C}$ . ..... 69

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Compostos testados como interferentes do método proposto.....	57
Tabela 2: parâmetros de linearidade do método desenvolvido.....	59
Tabela 3: Limites de detecção e quantificação para compostos de enxofre em estudo.....	62
Tabela 4: Precisão do método desenvolvido.....	61

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAP	Cimento Asfáltico de Petróleo
DEC	Dispositivo de Extração e Coleta
HPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
HPLC-PAD	<i>High Performance Liquid Chromatography with Pulsed Amperometric Detection</i>
NHPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos Nitrogenados
OHPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos Oxigenados
PTFE	Politetrafluoretileno
SHPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos Sulfurados

## LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A – Gráficos referentes as varreduras hidrodinâmicas dos compostos organossulfurados no eletrodo de ouro e carbono em pH 4,00 e 7,00.....	78
--	----

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>1.1 OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
1.1.1 Geral.....	17
1.1.2 Específicos .....	17
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>17</b>
2.1 ASFALTOS.....	17
2.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE AMOSTRAS DE ASFALTO .....	20
2.3 COMPOSTOS DE ENXOFRE EM MATRIZES ASFÁLTICAS DERIVADAS DE PETRÓLEO.....	22
2.4 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS NA DETERMINAÇÃO DE ENXOFRE .....	27
2.5 DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DE COMPOSTOS DE ENXOFRE .....	29
2.6 DETECÇÃO AMPEROMÉTRICA.....	31
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>32</b>
3.1 INSTRUMENTAÇÃO.....	32
3.2 MATERIAIS .....	34
3.3 REAGENTES E SOLUÇÕES .....	34
3.3 PROCEDIMENTO ANALÍTICO .....	36
<b>3.3.1 Determinações por HPLC</b> .....	<b>36</b>
<b>3.3.2 Parâmetros de validação</b> .....	<b>36</b>
<b>3.3.3 Preparo das amostras</b> .....	<b>38</b>
3.3.2.1 <i>Extração em fase sólida</i> .....	39
3.3.2.2 <i>Extração pelo DEC</i> .....	39
<b>3.3.3 Gestão de resíduos do laboratório</b> .....	<b>41</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>41</b>
4.1 ESTUDO DO COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DOS COMPOSTOS DE ENXOFRE .....	41
4.2. DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO COM DETECÇÃO PULSO AMPEROMÉTRICA.....	50
4.3. AVALIAÇÃO DE INTERFERENTES .....	58
4.4. VALIDAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO COM DETECÇÃO PULSO AMPEROMÉTRICO .....	59
4.4 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS SULFURADOS NAS AMOSTRAS.....	63
<b>4.4.1 Extração em fase sólida</b> .....	<b>63</b>
<b>4.4.2 Extração em fase gasosa via DEC</b> .....	<b>65</b>
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	<b>70</b>
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>71</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O asfalto é conhecido como um dos materiais mais versáteis da atualidade, podendo ser utilizado em setores distintos. Porém, é como revestimento de pavimentação que este é amplamente empregado. Visto que suas propriedades atendem à demanda, oferecendo baixa reatividade, impermeabilização e proporcionando resistência ao pavimento (BERNUCCI et al., 2010; FARAH, 2015).

Apesar da baixa reatividade, o asfalto passa por um processo de envelhecimento, tornando-o frágil e quebradiço. Vale ressaltar que em algumas situações a malha rodoviária brasileira encontra-se em condições insatisfatórias aos usuários em relação ao desempenho, à segurança e à economia, apresentando sulcos e rachaduras. E os investimentos realizados neste setor estão muito aquém das necessidades para manter as condições ideais (BERNUCCI et al., 2010).

Devido ao grande investimento associado ao uso do asfalto como pavimento, é interessante que se conheça melhor as suas propriedades e composição química. A fim de explicar os mecanismos que levam a degradação deste material, e assim melhorar o seu desempenho e durabilidade (BERNUCCI et al., 2010; REBELO et al., 2014).

Uma das linhas de estudo que visam explicar o envelhecimento do ligante asfáltico, considera a presença de heteroátomos na matriz como um dos precursores deste processo (PETERSEN, 2009). Dos heteroátomos presentes, o enxofre se destaca por ser o mais abundante, portanto estudar sua presença nestas matrizes pode levar a conclusões importantes quanto ao mecanismo de envelhecimento do ligante (GREEN et al., 1993; CARVALHO et al., 2015; REDELIUS; SOENEN, 2015).

Além disto, a presença de compostos de enxofre no asfalto e no petróleo também está relacionada com problemas ambientais, como a chuva ácida e doenças ocupacionais (ANDERSSON; HEGAZI; ROBERZ, 2006; HAN et al., 2018; ANDERSSON, 2001). Estes compostos também podem ser utilizados como marcadores de poluição, marcadores geológicos (MOUSTAFA; ANDERSSON, 2011) e serem relacionados com a maturidade do petróleo (CHAKHMAKHCHEV; SUZUKI; TAKAYAMA, 1997).

Neste contexto é interessante que sejam desenvolvidas metodologias analíticas para determinar qualitativamente e quantitativamente os compostos



organossulfurados presentes nestas matrizes. Já são descritos na literatura métodos de identificação e caracterização de enxofre em matrizes de asfalto e petróleo. Dentre as ferramentas analíticas disponíveis, os métodos cromatográficos são os mais utilizados (BARMAN; CEBOLLA; MEMBRADO, 2000; ANDERSSON; HEGAZI; ROBERZ, 2006; NIZIO; MCGINITIE; HARYNUK, 2012).

Além disto, alguns métodos eletroquímicos também já foram publicados com o mesmo propósito. Porém, sem o uso da cromatografia estes se tornam úteis apenas como ferramentas de *screening* e monitoramento (SILVEIRA, G. D., 2018). Até o momento da publicação deste trabalho não foram encontrados trabalhos que fizessem uso da cromatografia líquida com detecção eletroquímica para a determinação destes compostos.

Segundo Lacourse e Modi (2005) os métodos cromatográficos com detecção eletroquímica são reconhecidos como poderosas técnicas analíticas na determinação de compostos que contenham grupos eletroativos. Apresentando baixos limites de detecção e bons resultados quando se trabalha com amostras complexas. Neste contexto, a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção pulso-amperométrica (HPLC-PAD) parece ser uma ferramenta adequada para a caracterização dos compostos de enxofre em matrizes de asfalto.

Porém a caracterização exaustiva dos componentes do asfalto não é uma tarefa fácil, levando em consideração a complexidade da amostra. Visto que esta é resultado do resíduo de destilação do petróleo, e é composta por compostos polares, extremamente variados e complexos, além de diversos isômeros. Tendo conhecimento desta complexidade, encontrar compostos que possam ser considerados marcadores químicos presentes no ligante asfáltico é considerado o primeiro passo para prever a performance do material. Além de possibilitar um maior entendimento das transformações que ocorrem durante o processo de envelhecimento do ligante (CEBOLLA; MEMBRADO; VELA, 2013; REDELIUS; SOENEN, 2015).

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Geral

O objetivo geral deste trabalho é a determinação de compostos de enxofre presentes no ligante asfáltico através da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à detecção pulso-amperométrica com eletrodo de ouro. Busca-se encontrar possíveis marcadores químicos do envelhecimento das matrizes asfálticas.

### 1.1.2 Específicos

- Estudar o comportamento redox dos compostos de enxofre a fim de elucidar as reações que ocorrem nos eletrodos de ouro e carbono de forma comparativa.
- Desenvolver um método empregando HPLC-PAD para determinar os seguintes compostos de enxofre: dimetil sulfóxido, tianafteno, 3 – metil tiofeno, 3 – fenil tiofeno, 2 – fenil tiofeno, di-*p*-toluil sulfona, metil fenil sulfóxido, benzil sulfona, tiantreno, tianafteno, 4 – metil benzotiofeno, 3 – metil benzotiofeno, 4,6 – dimetil dibenzotiofeno, benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno, dibenzotiofeno, difenil sulfeto, hexil sulfeto e butil sulfeto.
- Avaliar duas metodologias de preparo de amostras, utilizando extração em fase sólida com cartuchos de aminopropil e a extração de voláteis utilizando o DEC (dispositivo de extração e coleta).
- Avaliar a possibilidade de aplicação do método utilizando amostras reais de asfalto bruto.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ASFALTOS

O asfalto, ou betume é um derivado do petróleo, composto por asfaltenos, resinas e hidrocarbonetos aromáticos. Este material, de elevada viscosidade e coloração escura possui propriedades adesivas e impermeabilizantes sendo conhecido por ser um dos materiais de construção mais antigos utilizados pelo homem (SPEIGHT, 2002; FARAH, 2015). Sua versatilidade permite que suas propriedades sejam aproveitadas por diversos setores, que vão desde a agricultura até a indústria.

Porém, dentre todas aplicações possíveis, a pavimentação asfáltica se destaca por ser a maior beneficiada com seu uso (BERNUCCI et al., 2010; FARAH, 2015).

No mundo todo, a maioria dos países conta com a pavimentação asfáltica como forma de revestimento de estradas e ruas. Um exemplo é o Brasil, que possui cerca de 95% de suas estradas constituídas de revestimento asfáltico. O grande uso do asfalto como ligante na pavimentação é justificado, pois este proporciona uma forte união dos agregados, flexibilidade controlável, alta resistência, durabilidade e impermeabilização (BERNUCCI et al., 2010).

Vale ressaltar que o termo asfalto é popularmente utilizado para designar o conjunto de materiais aplicados na pavimentação. Sendo este uma mistura entre cimentos asfálticos de petróleo (CAP), asfaltos diluídos e emulsões asfálticas com agregados de matéria mineral (FARAH, 2015).

Durante muito tempo o asfalto foi encontrado de forma natural em vários lugares do mundo. Porém o aumento da demanda de rodovias em bom estado e a ascensão do transporte automobilístico incentivou o uso extensivo do asfalto como pavimento. E esta demanda só foi atendida quando a produção do cimento asfáltico começou a ser realizada através da destilação de petróleo (REDELIUS; SOENEN, 2015).

Atualmente, no Brasil, o CAP é obtido através da destilação do petróleo bruto. Inicialmente é realizada uma destilação a pressão atmosférica a fim de separar as frações mais leves, como gás liquefeito de petróleo, nafta, querosene e gasóleo. Este primeiro resíduo é submetido a uma destilação a vácuo, que evita a decomposição dos componentes do petróleo. Com este processo são removidos gasóleos de vácuo e lubrificantes, e por final, o resíduo gerado nesta segunda destilação é classificado como asfalto (BODUSZYNSKI, 1987; SPEIGHT, 2002; FARAH, 2015).

Em virtude da grande variedade de petróleos explorados no mundo, e as diferenças da constituição entre estes, os asfaltos resultantes da destilação do petróleo são diferentes entre si quanto a sua composição e conseqüentemente em suas propriedades. Além disto, as plantas de produção de asfalto utilizam misturas de diferentes tipos de petróleo para o refino e a produção de asfaltos, tornando a composição destes bastante variada (SPEIGHT, 2002; BERNUCCI et al., 2010).

Entretanto, o CAP é constituído principalmente de hidrocarbonetos, e uma composição variável entre 5 e 10 % de heteroátomos como oxigênio, enxofre,

nitrogênio, vanádio, níquel, ferro e magnésio (REDELIUS; SOENEN, 2015; WIEHE, 2008). Dentre os heteroátomos presentes o enxofre se destaca por ser o mais abundante (GREEN et al., 1993). Sabe-se que os cimentos asfálticos de petróleo brasileiro caracterizam-se por conter baixo teor de enxofre e de metais, enquanto os de origem árabe e venezuelana possuem alto teor de enxofre (LEITE, 1999).

Um dos principais fatores que alavancou o uso do cimento asfáltico de petróleo como revestimento de rodovias é a sua baixa reatividade (CRAVO, 2016). Porém, sabe-se que este material passa por um processo de envelhecimento durante o seu preparo, a aplicação e uso. Sofrendo alterações químicas que afetam suas propriedades mecânicas, tornando a matriz dura e quebradiça, diminuindo assim sua resistência a esforços repetitivos (PETERSEN, 2009; REBELO et al., 2014). Esta degradação do pavimento impacta diretamente nos custos operacionais da manutenção das rodovias e aumenta o risco de acidentes (CRAVO, 2016).

A tendência que o asfalto apresenta a sofrer o processo de envelhecimento varia por aspectos intrínsecos e variáveis extrínsecas. Estas últimas se referem a condições externas às quais o asfalto é submetido, como temperatura durante o processo de mistura e aplicação, umidade, condições ambientais (por exemplo, radiação UV, temperatura) e tempo de uso. Já os aspectos intrínsecos se referem a composição e a ordenação das moléculas (agregados) na mistura (FERNÁNDEZ-GÓMEZ et al., 2014).

Dentre os mecanismos envolvidos durante o processo de envelhecimento, podemos destacar a volatilização de componentes, oxidação durante a aplicação e o uso do pavimento, e o endurecimento estérico (REBELO et al., 2014). A predisposição do asfalto a sofrer o processo de oxidação esta relacionada principalmente com a quantidade de heteroátomos presentes na sua composição. Sabe-se que uma maior concentração destes aumenta a susceptibilidade ao processo de oxidação. Dentre os heteroátomos envolvidos neste processo, destaca-se o enxofre (PETERSEN, 2009). O entendimento dos processos envolvidos na oxidação do asfalto é importante, pois a principal implicação decorrente do processo de oxidação é a fragilização do asfalto, que desencadeia rachaduras e buracos (REBELO et al., 2014).

## 2.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE AMOSTRAS DE ASFALTO

Como abordado anteriormente, o CAP é obtido a partir do resíduo de destilação do petróleo, ou seja, é a fração com maior temperatura de ebulição. A maior estabilidade térmica e insolubilidade do resíduo é consequência de que em sua composição se acumulam a maior porção dos heteroátomos (como enxofre, nitrogênio, vanádio e níquel) presentes no petróleo. Além das moléculas de maior peso molecular e compostos com maior quantidade de anéis aromáticos (WIEHE, 2008).

Há cerca de 40 anos atrás, Boduszynski escreveu uma teoria que presume representar todos tipos de petróleo existentes. Nesta, os pontos de ebulição das frações do petróleo são relacionadas com o peso molecular, e as estruturas dos compostos presentes em cada uma das frações do destilado. Como conclusão foi proposto que quanto maior o ponto de ebulição, maior o peso molecular, a aromaticidade e o conteúdo de heteroátomos presentes nas frações. Este estudo foi realizado com os produtos mais leves da destilação, porém os autores propuseram uma extrapolação do modelo, sugerindo que esta tendência se mantenha até as frações não destiláveis, ou seja, o resíduo da destilação (BODUSZYNSKI, 1987).

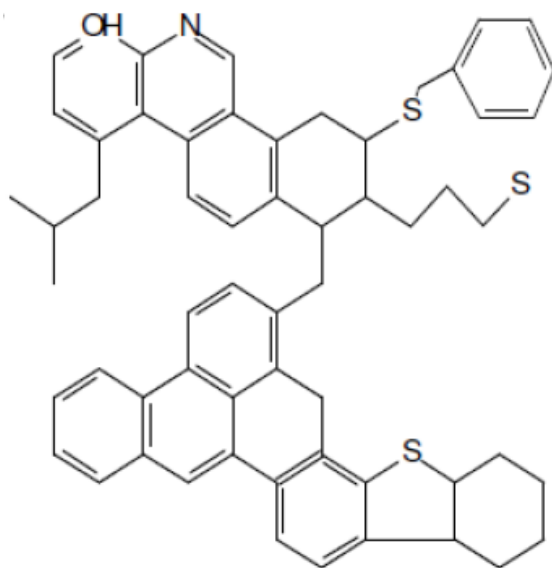
Esta teoria, chamada de teoria da continuidade ainda permanece em uso, e algumas de suas proposições já foram comprovadas por estudos utilizando técnicas analíticas mais recentes. McKenna e colaboradores, em 2010 realizaram um estudo utilizando a técnica de espectrometria de massas de alta resolução, para estudar as frações do petróleo, inclusive as frações pesadas e não destiláveis. De acordo com os resultados obtidos, a teoria da continuidade pode ser aplicada as frações não destiláveis, quando levamos em consideração o conteúdo de heteroátomos presentes nestas. Porém, apresenta algumas divergências em relação ao número de carbonos presentes nas moléculas.

Sendo assim, uma boa maneira de estimar a composição do asfalto é com base na composição dos destilados mais leves do petróleo, como a nafta e o gás natural. Estes já possuem sua composição definida, e a partir dela podemos predizer a composição das frações não destiláveis, mesmo sabendo que a complexidade do asfalto é muito maior, quando comparada com os destilados mais leves (REDELIUS; SOENEN, 2015).

A extrema diversidade composicional, alta polaridade e baixa volatilidade são algumas das características que tornam as análises da composição do resíduo de destilação um desafio para as técnicas analíticas convencionais (SPEIGHT, 2002; MCKENNA; MARSHALL; RODGERS, 2013).

Com base nos estudos já realizados, as moléculas constituintes do asfalto são hidrocarbonetos com pequenas quantidades de enxofre, nitrogênio, oxigênio e traços de metais como vanádio e níquel. Estes hidrocarbonetos são em sua maioria estruturas contendo anéis naftênicos saturados e insaturados e anéis aromáticos condensados. Além de ramificações constituídas de hidrocarbonetos saturados de diferentes comprimentos e diferentes padrões de substituição. Com todas essas possibilidades, o número de isômeros possíveis é quase ilimitado. Com base em dados analíticos, é possível sugerir uma provável molécula de asfalto, como ilustrado na Figura 1 (REDELIUS; SOENEN, 2015).

Figura 1 - Molécula hipotética de asfalto



Fonte: Adaptado de Claussen, L. E., 2013.

Mesmo que esta seja uma molécula hipotética, suas características estão de acordo com o que se espera encontrar no asfalto. O tamanho é grande o suficiente para que esta faça parte do resíduo de destilação. Contém enxofre na estrutura tiofênica, que é a estrutura mais comum para moléculas heterocíclicas à base de enxofre e outros heteroátomos como nitrogênio e oxigênio. Além disto, contém anéis

aromáticos e saturados em quantidades aceitáveis para as moléculas de asfalto (REDELIUS; SOENEN, 2015).

Quando analisamos a composição do asfalto, não devemos considerar a matriz como uma mistura de alguns tipos de compostos, mas sim um contínuo de moléculas, constituídas de hidrocarbonetos grandes, com diferentes polaridades e arranjos. Assim, os compostos de menor peso molecular devem ser definidos a partir do ponto de corte da destilação, e os maiores são dependentes da composição do petróleo bruto em uso (REDELIUS; SOENEN, 2015).

Apesar de todos os esforços para se obter a caracterização exaustiva do asfalto, estas informações são apenas a primeira etapa para prever suas propriedades físicas e seu comportamento durante o uso. Para prever o comportamento do ligante em uso, deve-se levar em consideração as interações moleculares que esta matriz está sujeita. De acordo com os constituintes do asfalto, as principais interações são as forças dipolo, as interações polares, ligações de hidrogênio e interações  $\pi$ - $\pi$  (REDELIUS; SOENEN, 2015).

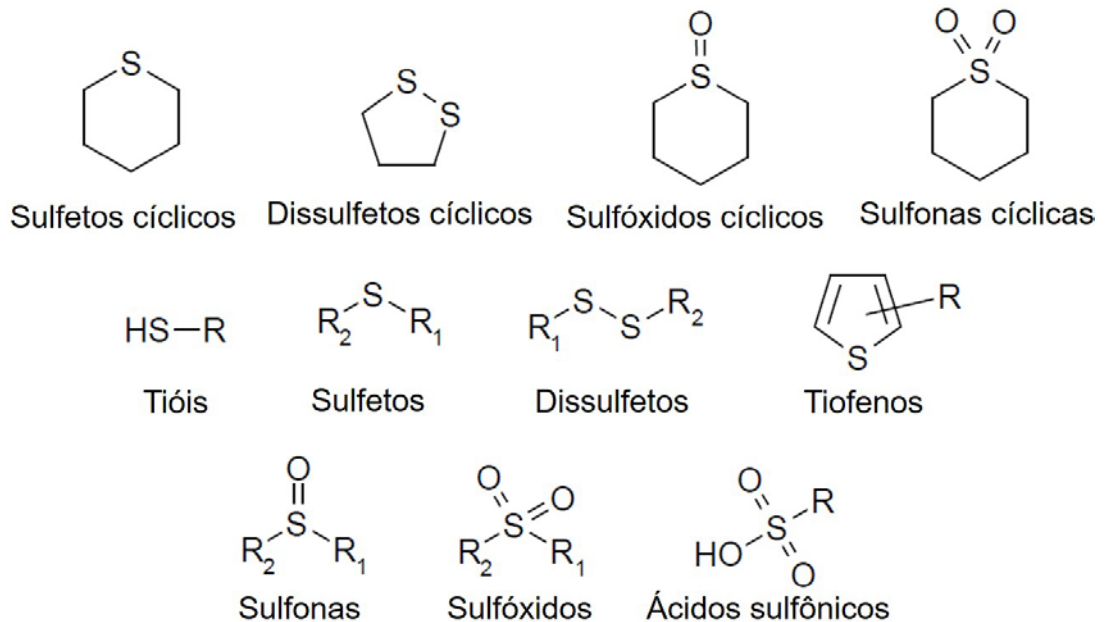
### 2.3 COMPOSTOS DE ENXOFRE EM MATRIZES ASFÁLTICAS DERIVADAS DE PETRÓLEO

Como já foi abordado anteriormente, o enxofre é o heteroátomo mais abundante encontrado nas matrizes asfálticas (GREEN et al., 1993). Podendo ser encontrado em concentrações que variam de 1 a 3% da sua composição em amostras de asfaltos brasileiros (CARVALHO et al., 2015). Sendo assim, o estudo destes compostos pode fornecer informações importantes sobre a reatividade e a composição destas amostras, ajudando a compreender os processos que ocorrem durante a oxidação e conseqüente envelhecimento do ligante asfáltico (HAN et al., 2018).

O enxofre pode ser encontrado no petróleo em diferentes estruturas, como compostos inorgânicos como formas de sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) e enxofre elementar. Estes são originados através da decomposição termoquímica de compostos orgânicos de enxofre, pela incorporação de enxofre inorgânico durante os processos de formação e processamento ou pela ação de bactérias (HAN et al., 2018).

Já na forma de compostos orgânicos, o enxofre é encontrado como mercaptanas (tióis), sulfetos (acíclicos e cíclicos), polissulfetos (dissulfetos, trissulfetos, etc.) e tiofenos. Outros compostos orgânicos são as sulfonas e sulfóxidos que são produtos gerados pela oxidação de compostos. No petróleo este processo ocorre nos reservatórios naturais, ou durante o transporte e armazenamento, nos casos em que a matriz se encontra em contato com oxigênio. A maioria dos compostos orgânicos de enxofre oxidados são concentrados em óleos pesados e asfaltos (HAN et al., 2018). Algumas estruturas dos compostos de enxofre encontrados no petróleo podem ser visualizadas na Figura 2.

Figura 2 - Modelos de compostos organossulfurados encontrados no petróleo.



Fonte: adaptado de HAN et al., 2018.

Independente da forma em que os compostos se encontram, alifática ou aromática. O enxofre pode ser encontrado em diferentes estados de oxidação, S<sup>-2</sup> (sulfetos, dissulfetos, tiofenos e tióis), S<sup>+2</sup> (sulfóxidos) e S<sup>+4</sup> (sulfonas, ácidos sulfônicos e sulfoximinas). Portanto, a especiação química do enxofre em CAPs envolve não somente a estrutura dos compostos, mas também seu estado de oxidação (CLAUSSEN, L. E. 2013; CARVALHO et al., 2016).

Dentre os compostos citados, podemos destacar o sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S), o enxofre elementar e as mercaptanas como corrosivos e reativos. Sendo causadores



de acidentes devido sua liberação acidental durante a exploração ou produção de derivados de petróleo (HAN et al., 2018).

Visto que a composição do petróleo varia de acordo com sua fonte de origem, a quantidade de compostos de enxofre presente nestes também é variável. Sendo influenciada pela fonte de origem (marinha ou terrestre) e a presença ou não de sulfato dissolvido no ambiente de origem (HAN et al., 2018). Como consequência, o conteúdo de enxofre presente no ligante asfáltico também varia de acordo com a fonte do petróleo e o processo de refinação que este é submetido (CRAVO, 2016).

Como mencionado anteriormente, a presença de heteroátomos no asfalto tem ligação com os processos de envelhecimento. Visto que a presença destes facilita a incorporação de oxigênio na matriz, através de associações intra e inter moleculares (PETERSEN, 2009).

Considerando que o enxofre é o heteroátomo mais abundante nestas matrizes, sua presença é considerada precursora do processo de oxidação do ligante (PETERSEN, 2009). Durante este processo as formas de sulfetos contidas no petróleo são oxidadas a óxidos de enxofre, sulfonas e sulfóxidos (GREEN et al., 1993; PETERSEN; HARNSBERGER, 1998).

Ainda não se sabe exatamente quais interações e reações tem maior relevância no processo de envelhecimento. Porém o monitoramento da formação de sulfóxidos se tornou um dos principais meios para monitorar o envelhecimento do asfalto (REDELIUS; SOENEN, 2015).

Além das reações de oxidação dos compostos organossulfurados, recentemente foram demonstrados que processos de polimerização também podem estar envolvidos no envelhecimento das matrizes asfálticas. Estudos voltamétricos indicam que há a possibilidade de que ocorram reações de polimerização nos compostos organossulfurados durante os processos de envelhecimento, principalmente envolvendo sulfetos aromáticos e tiofenos sob incidência de radiação UV. Estas espécies poliméricas formadas, como os politiofenos, contribuem para o teor de enxofre total. A partir dos dados obtidos, foi proposto que durante o envelhecimento poderia ocorrer uma competição entre as reações de oxidação e de polimerização das espécies sulfuradas (DOMÉNECH-CARBÓ et al., 2018; SILVEIRA et al., 2018).

Porém, a relevância de se medir teor de enxofre no petróleo e em seus derivados vai além da relação com a oxidação do asfalto. O enxofre também está relacionado com o envenenamento de catalisadores durante o processo de refinação do petróleo (HAN et al., 2018), com a diminuição da estabilidade de combustíveis e com a corrosão de equipamentos (PURCELL et al., 2007).

Do ponto de vista ambiental, a combustão dos compostos orgânicos de enxofre emite  $\text{SO}_3$  e  $\text{SO}_2$  que são os principais causadores da chuva ácida. Estes também interagem com os gases da atmosfera gerando substâncias tóxicas à saúde humana (ANDERSSON; HEGAZI; ROBERZ, 2006; HAN et al., 2018).

Dentre os compostos orgânicos contendo enxofre presentes no asfalto, também podemos destacar os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos contendo enxofre, conhecidos como SHPAs. Estes são derivados dos HPAs (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos) em que um ou mais dos anéis benzênicos são substituídos por um anel de tiofeno. Ou seja, quando uma função  $\text{HC}=\text{CH}$  for substituída por um átomo de enxofre, mantendo a aromaticidade do composto (ANDERSSON; HEGAZI; ROBERZ, 2006).

Estes SHPAs são encontrados principalmente em derivados do petróleo e derivados de combustão. A importância de se analisar estes compostos é sustentada por diversas razões, estes, além de possuírem um alto potencial carcinogênico e mutagênico, podem ser utilizados como marcadores de poluição em análises ambientais (ANDERSSON, 2001).

A avaliação dos SHPAs também pode ser usada para prever a maturidade do petróleo, pois sabe-se que quanto mais velho é o petróleo maior é a concentração das formas mais estáveis de alguns compostos, como o metil dibenzotiofeno (CHAKHMAKHCHEV; SUZUKI; TAKAYAMA, 1997). Além disto, concentrações de benzotiofenos e dibenzotiofenos podem ser utilizadas como indicadores da origem do petróleo, quanto ao tipo de rochas formadoras e reservatórios. Por exemplo, estudos indicam que a concentração de dibenzotiofeno é superior em óleos derivados de carbonatos marinhos, quando comparada a ambientes de água doce (MOUSTAFA; ANDERSSON, 2011).

Em análises ambientais os SHPAs podem ser importantes na verificação de fontes de vazamento de óleo, visto que estes possuem sua degradação fotoquímica e biológica mais lenta quando comparados aos HPAs (ANDERSSON, 2001, HEGAZI;

FATHALLA; ANDERSSON, 2016). Além disto, a razão entre HPAs/SHPAs é utilizada para rastrear origem de materiais fósseis e o intemperismo sofrido por estes (ANTLE et al., 2014).

Recentemente foi publicado um artigo que defende que os derivados nitrogenados, oxigenados e sulfurados dos HPAs, sejam adicionados à lista dos HPAs prioritários emitida pela Agência de Proteção Ambiental (EPA) dos Estados Unidos. Esta lista, criada em 1976, atingiu a autoridade de um documento legal, tornando os 16 HPAs que a compõem analitos de rotina investigados em um grande número de situações ambientais. Porém, estudos realizados indicam que a atualização desta lista é importante, pois muitos dos derivados substituídos dos HPAs oferecem maior risco a saúde e também são encontrados em concentrações variáveis em amostras ambientais (ANDERSSON; ACHTEN, 2015).

Como já foi citado, os riscos ao meio ambiente e de saúde ocupacional associados a presença de enxofre em derivados do petróleo são vários. Sendo assim, foi definida a necessidade de diminuir o conteúdo destes compostos presentes em derivados do petróleo, como os combustíveis. Para isto, durante o processo de refinamento, ocorre uma etapa de dessulfurização, com o intuito de manter a concentração de enxofre dentro de uma margem segura (STANISLAUS; MARAFI; RANA, 2010; HAN et al., 2018).

Existem diversas maneiras de realizar o processo de dessulfurização, através de catalisadores, processos de adsorção, entre outros. Cabe ressaltar que os compostos de enxofre apresentam reatividade diferente frente a este processo. Portanto, a fim de melhorar o desempenho da dessulfurização, é fundamental uma compreensão dos tipos de compostos de enxofre presentes na matriz, para predizer os mecanismos envolvidos e assim otimizar o processo (STANISLAUS; MARAFI; RANA, 2010).

Sabe-se que sob determinadas condições de dessulfurização, as classes dos tióis, sulfetos e dissulfetos são mais reativas, e, portanto, mais fáceis de serem removidas. Já os benzotiofenos e dibenzotiofenos substituídos são menos reativos e mais difíceis de serem removidos (LINK et al., 2003) . Além disto, a posição dos substituintes alquila na estrutura da molécula também influencia na facilidade de remoção dos compostos (MOUSTAFA; ANDERSSON, 2011).

Portanto, uma análise qualitativa dos compostos de enxofre presentes em derivados do petróleo, pode ser útil a fim de verificar o comportamento destes frente ao processo de dessulfurização, e até para desenvolver melhorias nos processos (HAN et al., 2018).

## 2.4 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS NA DETERMINAÇÃO DE ENXOFRE

Mediante o exposto neste trabalho, é inegável o interesse de se analisar compostos de enxofre em petróleo e em seus derivados. Vários são os motivos que justificam as análises, tanto do ponto de vista científico, tecnológico e ambiental. Para este fim, das metodologias analíticas disponíveis na literatura, os métodos cromatográficos são os que mais se destacam (BARMAN; CEBOLLA; MEMBRADO, 2000; ANDERSSON; HEGAZI; ROBERZ, 2006; NIZIO; MCGINITIE; HARYNUK, 2012; BRANTHAVER; HUANG, 2015). Sendo utilizados como formas de pré tratamento das amostras, ou caracterização molecular (HAN et al., 2018).

As análises cromatográficas com detecção por espectrometria de massas tem sido muito utilizadas como meios de identificação e confirmação de compostos de enxofre em amostras de petróleo e derivados (ANDERSSON; HEGAZI; ROBERZ, 2006; NIZIO; MCGINITIE; HARYNUK, 2012; DA SILVEIRA et al., 2016).

Todavia, alguns organossulfurados, não são facilmente detectados através de técnicas de espectrometria de massas, devido à dificuldade de ionização que estes apresentam. Compostos como os SHPAs não se submetem a mecanismos normais de ionização. Nestes casos devem ser utilizadas técnicas de derivatização ou fontes de ionização mais modernas (PURCELL et al., 2007; SILVEIRA et al., 2016).

Rudzinski et al. (2003) desenvolveram um método de cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas com ionização química a pressão atmosférica (HPLC-APCI-MS), que permite determinar com sensibilidade, compostos organossulfurados de 3 e 4 anéis em petróleo Árabe. Para isto, é adicionado um íon metálico, neste caso Pd (II), para melhorar a eficiência da ionização dos compostos antes da detecção.

Silveira et al. (2016) desenvolveram um método utilizando cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas em série com fotoionização a pressão atmosférica (UHPLC-APPI-MS / MS) para a determinação de 14 compostos organossulfurados em cimentos asfálticos brasileiros. Apontando a

fonte APPI como sendo efetiva para a ionização dos compostos, mas menos eficiente para os tiofenos e sulfetos.

Visto que a maior dificuldade nas análises dos SHPAs com detecção por espectroscopia por massas é a ionização destes compostos, Panda, Andersson e Schrader (2009), realizaram um estudo comparativo entre 5 fontes de ionização disponíveis e dois métodos de derivatização de amostras a fim de determinar a situação mais favorável. Ficou demonstrado que nenhuma das técnicas disponíveis é capaz de ionizar todos os compostos em análise com sucesso.

Além das dificuldades de ionização, equipamentos com detecção por massas são consideravelmente mais caros, requerem maior treinamento dos usuários e insumos de maior qualidade, aumentando o custo das análises.

Levando isto em consideração, a cromatografia com detecção amperométrica parece ser uma aliada na determinação destes compostos, tendo em vista que esta vem sendo amplamente utilizada na literatura para determinações de diversos compostos em matrizes complexas.

LaCourse e Dasenbrock (1999), desenvolveram uma metodologia analítica para a determinação de antibióticos contendo enxofre em diversas formulações farmacêuticas. Foi utilizado um eletrodo de trabalho de ouro, para a detecção amperométrica integrada pulsada, em que os limites de detecção encontrados foram da ordem de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Cataldi e Nardiello (2005), utilizaram a técnica de amperometria pulsada ativada para determinar aminoácidos contendo enxofre. Os limites de detecção atingidos foram de até 30 pg, sob condições otimizadas, utilizando um eletrodo de trabalho de ouro.

Lee e Yoe (2010), fizeram uso da amperometria integrada pulsada para determinar quantitativamente tiouréia como analito representando os compostos de enxofre. Nesta, além dos potenciais de detecção, oxidação e redução, é aplicado um quarto potencial, chamado de potencial de adsorção. Foi utilizado um sistema de três eletrodos, sendo o eletrodo de trabalho de ouro.

Carvalho et al. (2013), apresentaram um método de separação cromatográfica através da formação de par iônico, com detecção amperométrica pulsada, com eletrodo de trabalho de ouro. Este foi utilizado para a determinação de adulterantes em formulações farmacêuticas, em que alguns compostos apresentavam enxofre em

sua estrutura química. Os limites de detecção obtidos foram satisfatórios, da ordem de 0,08 a 0,98 mg L<sup>-1</sup>.

Dentre as aplicações encontradas na literatura, nenhuma foi realizada para a determinação de compostos de enxofre em petróleo ou derivados. Além disso, pode-se destacar que todas as análises de enxofre citadas foram realizadas com técnicas pulsadas. Isto se deve a forte tendência do enxofre em se adsorver no eletrodo, levando a sua desativação. Aspectos que serão melhor abordados nos próximos tópicos.

## 2.5 DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DE COMPOSTOS DE ENXOFRE

A detecção eletroquímica de compostos de enxofre se dá por uma reação catalisada por óxidos. O analito é adsorvido na superfície ativada do metal (livre de óxido), através do par de elétrons livre do átomo de enxofre. A oxidação destes compostos ocorre ao mesmo tempo em que ocorre a formação de óxidos do metal no eletrodo. Os intermediários lábeis envolvidos na formação de óxidos do metal facilitam a transferência do oxigênio anódico da água para o analito (LACOURSE; OWENS, 1995; JOHNSON; LACOURSE, 1990; LACOURSE; MODI, 2005).

Diz-se que a detecção de compostos de enxofre ocorre através de um mecanismo eletrocatalítico. Os processos eletroquímicos faradáicos levam este nome quando a superfície do eletrodo beneficia os mecanismos da reação. A principal característica destes processos é a dependência da reação com o estado em que a superfície do eletrodo se encontra (JOHNSON et al., 1993).

Lacourse e Modi (2005) afirmam que o sinal analítico provém principalmente da oxidação dos analitos pré-adsorvidos no eletrodo, porém a oxidação catalítica destes na camada de difusão também pode ocorrer. Os produtos da oxidação podem deixar a camada de difusão ou ficar impregnados na superfície do eletrodo. A readsorção dos analitos e dos produtos de detecção é facilitada quando a camada de óxidos está presente no eletrodo.

Uma consequência da forte adsorção das moléculas orgânicas e radicais no eletrodo, é a desativação com pouco tempo de uso, gerando instabilidades na linha base. No entanto esses adsorventes são geralmente desessorvidos oxidativamente de forma bastante eficiente pela aplicação de um grande potencial positivo para a formação anódica de óxidos superficiais. A aplicação subsequente de um potencial

negativo elevado consegue uma rápida dissolução catódica dos óxidos para recuperar a superfície limpa do eletrodo e conseqüentemente sua reatividade. Portanto, as análises amperométricas destes compostos usando pulsos de potencial apresentam maior sensibilidade quando comparadas com análises diretas (LACOURSE; OWENS, 1995; JOHNSON et al., 1993).

Além disto, outra característica destes mecanismos electrocatalíticos, é que a resposta electroquímica gerada por compostos da mesma família (diz-se dos compostos que reagem pelo mesmo mecanismo electrocatalítico) é controlada pela dependência do potencial aplicado. Portanto, misturas de compostos da mesma família não podem ser resolvidas com base em sua resposta voltamétrica. Mas necessitam de uma etapa de separação cromatográfica para se obter melhores resultados (JOHNSON et al., 1993).

Alguns autores afirmam que para que ocorra a adsorção dos compostos no eletrodo, é necessário que o enxofre contenha elétrons livres. Portanto compostos como sulfonas e derivados de ácidos sulfônicos não são detectados (JOHNSON et al., 1993).

A grande maioria dos estudos de oxidação de compostos de enxofre é realizada utilizando eletrodos de metais nobres, principalmente o ouro. Em eletrodos de carbono, sabe-se que o mecanismo de oxidação é o mesmo, porém a atividade catalítica é menos evidenciada. Além disto, a reação de oxidação depende do material de carbono de que o eletrodo é constituído, e do processo de ativação que este é submetido. Estes processos normalmente envolvem ativação através de polimento mecânico ou aplicação de potenciais. Que levam a formação de compostos de superfície contendo oxigênio, diminuindo a reprodutibilidade das análises (ZELINSKY; PIROGOV, 2017).

O grande uso de eletrodos de ouro na detecção de compostos contendo enxofre também pode ser justificada pela grande afinidade que estes apresentam, sendo muito utilizados na construção de monocamadas automontadas. Quando as moléculas contendo enxofre entram em contato com o metal, ocorre um processo de fisissorção entre estas, formando uma camada plana sobre a sua superfície, com o aumento da quantidade das moléculas adsorvidas, estas se organizam de forma que o átomo de enxofre forme uma ligação covalente com o metal, e a cadeia de

hidrocarbonetos fique estabilizada através de forças de van der Waals entre as moléculas (VERICAT et al., 2006; PENSA et al., 2012).

## 2.6 DETECÇÃO AMPEROMÉTRICA

Compostos que são passíveis de oxidação ou redução podem ser detectados em concentrações baixas com métodos de detecção amperométrica. Nesse tipo de detecção um potencial constante, e suficientemente alto para que a reação redox ocorra, é aplicado no eletrodo. Mede-se a corrente gerada pela reação em função da voltagem aplicada, sendo ela proporcional à concentração de analito que sofre a reação redox (SNYDER; KIRKLAND, 2009).

No caso das análises cromatográficas, o eletrodo de trabalho se localiza em uma célula em que o fluxo de eluente passa continuamente. Entretanto, a área do eletrodo de trabalho é pequena, cerca de 0,5 cm<sup>2</sup>, sendo que apenas uma fração do analito reage eletroquimicamente. Estima-se que em condições de vazão de 1 mL min<sup>-1</sup>, menos de 10 % do analito é oxidado ou reduzido (HADDAD; JACKSON, 1990).

Uma das condições para o uso de detectores amperométricos é o uso de fases móveis que conduzem eletricidade, porém esta limitação é pequena levando em consideração que a maioria das separações em HPLC são realizadas em fase reversa com uso de água ou tampões (SNYDER; KIRKLAND, 2009).

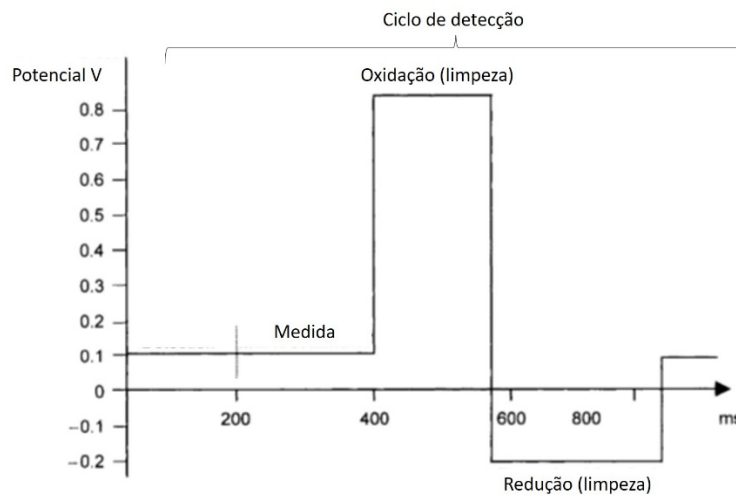
Dentre as vantagens da detecção amperométrica destaca-se o reduzido consumo de amostras e reagentes, custo de instrumentação relativamente baixo e baixo risco de contaminação. Além disto, os detectores amperométricos modernos possuem tempo de resposta rápido e boa sensibilidade. A principal desvantagem deste tipo de detector é a susceptibilidade ao acúmulo de produtos de reação e contaminantes na superfície do eletrodo, levando a sua desativação. A velocidade com que isto ocorre varia de acordo com a superfície do eletrodo, o modo de operação, o pH do meio, o eluente utilizado, o potencial aplicado e a matriz das amostras analisadas (FLANAGRAM; PERRETT; WHELPTON, 2005).

As técnicas de amperometria pulsada (PAD, do inglês, *Pulsed amperometric detection*) surgiram para superar essa limitação, comparando com a amperometria de corrente contínua, as técnicas PAD praticamente eliminam a necessidade de limpeza mecânica dos eletrodos de trabalho (TROJANOWICZ, 2011).



Uma seqüência típica de pulsos de potencial aplicados pode ser resumida em uma série de etapas. Inicialmente é aplicado o potencial de detecção, em que o analito é oxidado e os produtos de oxidação e impurezas são adsorvidos na superfície do eletrodo. Em seguida é aplicado um potencial de limpeza, em que ocorre a dessorção oxidativa destes produtos adsorvidos, gerando  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , ao mesmo tempo em que se formam óxidos do metal do eletrodo. O próximo degrau de potencial é o de reativação do eletrodo, em que os óxidos são reduzidos e a superfície do eletrodo volta a ser reativa. Em seguida, o potencial de detecção é reestabelecido. A figura 3 descreve esta seqüência de pulsos aplicada. (FLANAGRAM; PERRETT; WHELPTON, 2005; TROJANOWICZ, 2010).

Figura 3 - Sequência de pulsos tipicamente utilizada em detecções empregando PAD.



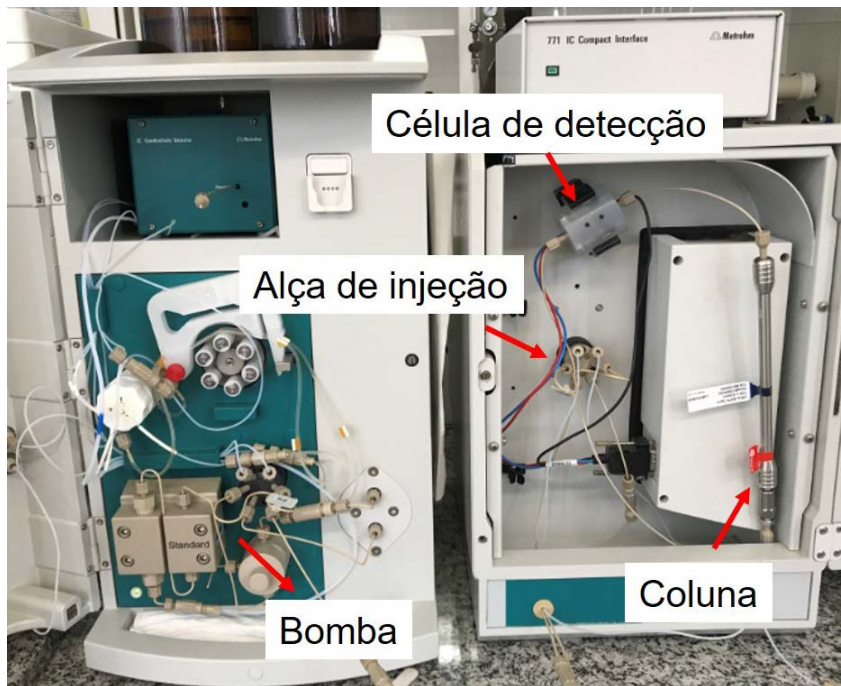
Fonte: Adaptado, Flanagan; Perrett; Whelpton, 2005.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 INSTRUMENTAÇÃO

Todas as medidas cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo modelo 882 Compact IC Plus, acoplado a um detector de pulso amperométrico modelo 871 Advanced Bioscan e interface 771 IC Compact Interface, Metrohm® (Herisau, Suíça), apresentado na Figura 4.

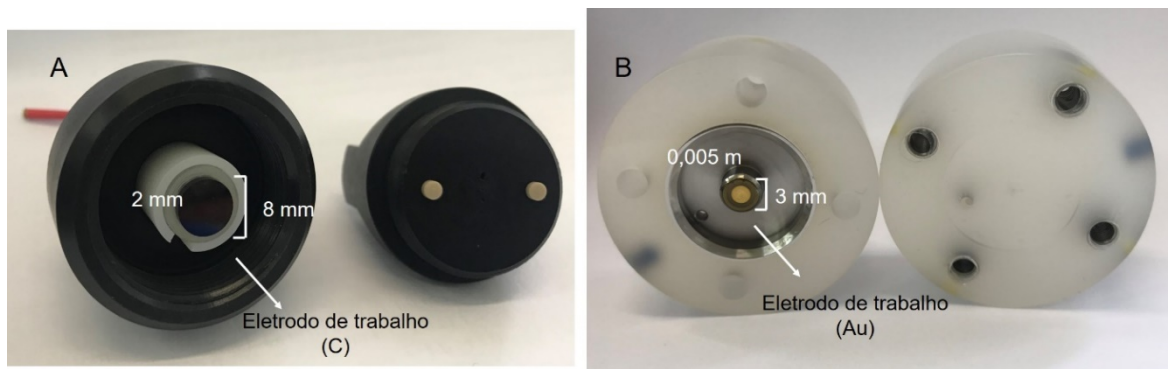
Figura 4 - Cromatógrafo modelo 882 Compact IC Plus, acoplado a um detector de pulso amperométrico modelo 871 Advanced Bioscan e interface 771 IC Compact Interface.



Fonte: autora.

Foi utilizado um eletrodo de trabalho de carbono, com um eletrodo auxiliar de platina e um eletrodo de referência de hidrogênio em fase sólida, Metrohm®. Operando na faixa de potenciais de -0,8 V a +1,3 V. O segundo eletrodo utilizado foi um eletrodo de ouro com um eletrodo de referência em estado sólido e eletrodo auxiliar em aço, Metrohm®. Operando na faixa de potenciais de -0,3 V a +1,1 V. Ambos representados na Figura 5.

Figura 5 - Eletrodo de carbono (A) e ouro (B), com especificações do diâmetro e espessura.



Fonte: autora.

As medidas de pH foram realizadas em pHmetro Metrohm®, calibrado diariamente com soluções tampão de pH 4,00 e 7,00.

### 3.2 MATERIAIS

- Coluna cromatográfica C18 Thermo scientific® com dimensões de 150 mm X 4,6 mm e tamanho de partícula de 5 µm;
- Coluna cromatográfica ultra bifenil Restek com dimensões de 150 mm X 4,6 mm e tamanho de partícula de 5 µm.
- Filtro para seringa de PTFE (Politetrafluoretileno) de 0,20 µm (Chromafil Xtra – Macherey-Nagel);
- Balança analítica com quatro casas de precisão (Shimatzu);
- Micropipetadores automáticos de volumes variados (10-100 µL; 100-1000 µL) (Brand);
- Sistema de purificação de água modelo Synergy UV 18,2 MΩ cm (Millipore).
- Sistema de filtração;
- Sonicador;
- Cartuchos de SPE aminopropil (SPE-NH2 60<sup>a</sup> – 63 µm; Sorbline Technologies®);
- Manifold Visiprep™ da Supelco Sigma Aldrich Co.

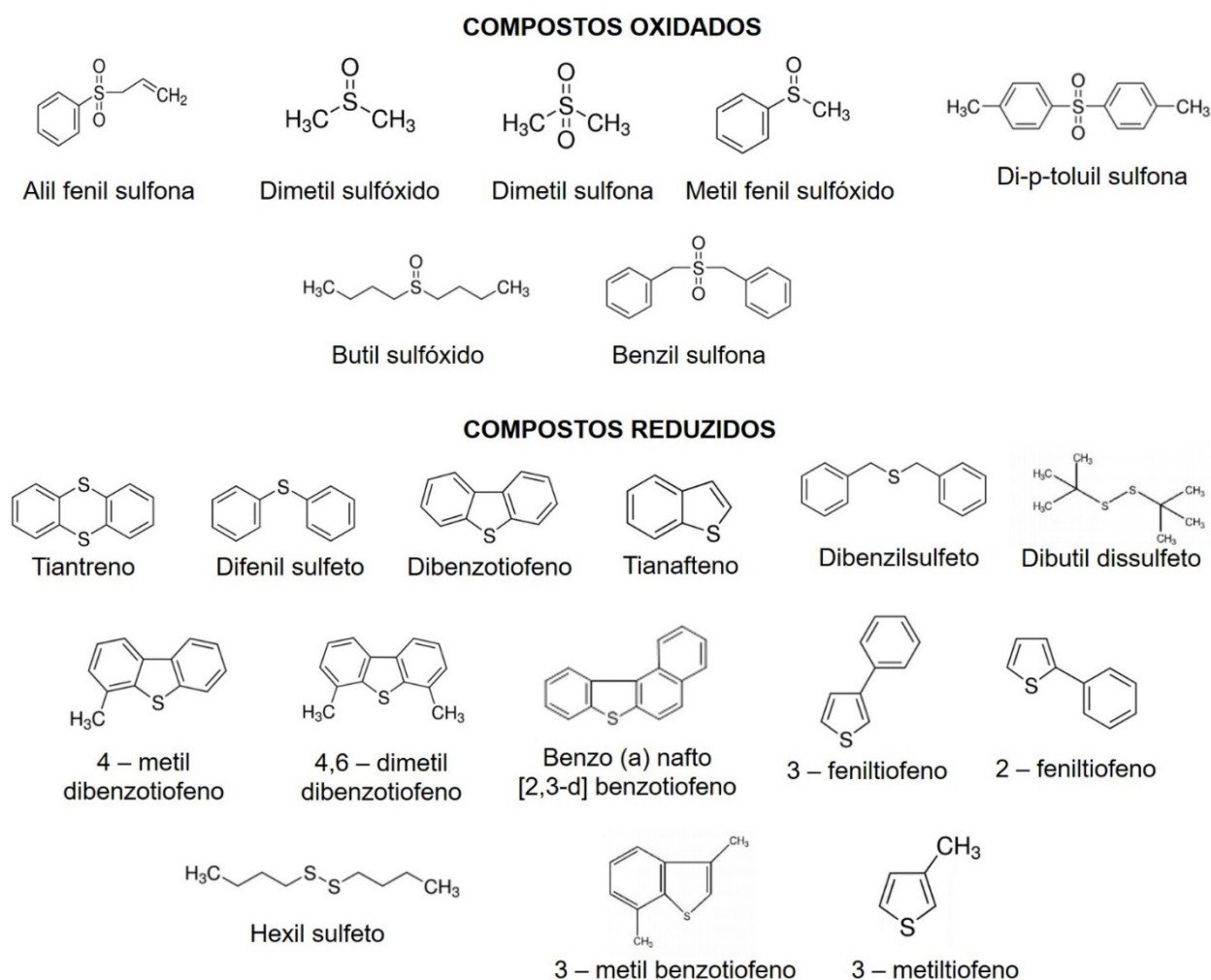
### 3.3 REAGENTES E SOLUÇÕES

O metanol utilizado para as medidas cromatográficas (grau HPLC) foi adquirido da Panreac (Castellar del Vallès, Espanha), o ácido acético para ajuste do pH foi adquirido da Neon (Suzano, Brasil), o diclorometano, da marca Chromasolv® grau HPLC foi adquirido da Sigma-Aldrich (St.Louis, MO, USA).

Os padrões organossulfurados: dimetil sulfóxido, tianafteno, 3 – metil tiofeno, 3 – fenil tiofeno, 2 – fenil tiofeno, di-*p*-toluil sulfona, metil fenil sulfóxido, benzil sulfona, tiantreno, tianafteno, 4 – metil benzotiofeno, 3 – metil benzotiofeno, 4,6 – dimetil dibenzotiofeno, benzo (a) nafto [2,3-*d*] benzotiofeno, dibenzotiofeno, difenil sulfeto, hexil sulfeto e butil sulfeto foram adquiridos da Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO, USA). Sendo todos os padrões de no mínimo 95% de pureza. As estruturas químicas dos compostos podem ser visualizadas na Figura 6.

As soluções padrão dos compostos ( $1 \text{ g L}^{-1}$ ) foram preparadas individualmente dissolvendo a quantidade necessária em diclorometano grau HPLC (solução estoque). Todas as soluções foram estocadas em frascos âmbar a  $-30^{\circ}\text{C}$ . As soluções de trabalho para o uso em cromatografia foram preparadas pela diluição da solução estoque na fase móvel otimizada. As concentrações de cada padrão variam com a detectabilidade dos mesmos nas análises.

Figura 6 - Estrutura dos compostos organossulfurados utilizados neste trabalho.



Fonte: autora.

### 3.3 PROCEDIMENTO ANALITICO

#### 3.3.1 Determinações por HPLC

As análises utilizando HPLC-PAD foram realizadas em modo isocrático, utilizando fase móvel otimizada composta por 65 % metanol e acetato de amônio 10 mmol L<sup>-1</sup> em pH 3,5. As separações eram realizadas em coluna bifenil, previamente descrita.

Anteriormente às medidas cromatográficas o sistema e a coluna eram condicionados com a fase móvel otimizada por 30 minutos, tempo suficiente para estabilizar a linha base. Após este intervalo de condicionamento, as amostras e soluções eram injetadas manualmente utilizando uma alça de injeção de 20 µL. Vale ressaltar que o primeiro teste antes da injeção das amostras consistia na injeção de uma solução do mix dos 11 compostos organossulfurados validados para verificação de pequenas variações no tempo de retenção.

No final das medidas a coluna era lavada com uma solução de 5 % metanol em água (V/V), por aproximadamente 30 minutos, com fluxo de fase móvel de 1,0 mL min<sup>-1</sup>, a fim de se retirar o sal utilizados nas medidas. Em seguida a coluna era lavada com uma solução 85 % metanol em água (V/V), por aproximadamente 30 minutos, com fluxo de fase móvel de 1,0 mL min<sup>-1</sup>.

A preparação da fase móvel era seguida de um ajuste de pH utilizando um pHmetro Metrohm® previamente calibrado com tampões de pH 4,00 e 7,00. Utilizando ácido acético P.A. e hidróxido de amônia. Em seguida a fase móvel era filtrada em membrana de celulose modificada com 0,45 µm de tamanho de poros. E por fim, sonicada por aproximadamente 40 minutos, para remoção do ar dissolvido.

A limpeza do eletrodo era realizada através de ciclos de potenciais durante as medidas, e quando necessário era realizado um processo de polimento manual do eletrodo conforme especificações da Metrohm®.

#### 3.3.2 Parâmetros de validação

A validação do método analítico é realizada a fim de garantir que o método proposto atenda o escopo para o qual este foi desenvolvido fornecendo resultados com precisão, exatidão e credibilidade (LANÇAS, 2004). O método de separação dos compostos organossulfurados foi avaliado segundo os seguintes parâmetros:

1. Linearidade: expressa através de um gráfico que relaciona a resposta do equipamento e a concentração dos compostos. Esta demonstra a capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito. É obtida por padronização interna ou externa e formulada como expressão matemática usada para o cálculo da concentração do analito a ser determinado na amostra real. Em geral, são necessários no mínimo cinco níveis de concentração, para construir a curva analítica. O número de replicatas em cada nível de concentração deve ser o mais próximo possível daquele empregado na rotina do laboratório (INMETRO, 2016).

A linearidade foi estudada pela regressão linear da curva analítica de cada composto em separado. Com base na resposta do equipamento em função da concentração obtida de seis pontos e a partir de três curvas analíticas, foram avaliados os coeficientes de correlação (R).

2. Exatidão: definida como a concordância entre o valor encontrado na análise e o valor real. Esta pode ser calculada através da comparação entre diferentes métodos analíticos ou análise de materiais de referência certificados. Quando estes não se encontram disponíveis, podem ser adotadas técnicas de adição de padrão. Para isto, são utilizadas amostras que não contenham os analitos em análise, em que é realizada uma fortificação com os padrões de interesse (LANÇAS, 2004).

Na ausência de amostras certificadas de cimento asfáltico de petróleo, a exatidão foi realizada a partir de ensaios de fortificação realizados para cada composto em separado. Foram escolhidas amostras que passaram pelo procedimento de SPE e não apresentaram os analitos. Estes foram adicionados em concentrações conhecidas, e a amostra foi analisada em triplicata. Foi realizada uma curva analítica de 3 pontos através da adição de padrão nesta amostra. A recuperação dos compostos foi avaliada através da recuperação analítica:

$$\text{Recuperação (\%)} = 100 \frac{\text{Valor observado}}{\text{Valor esperado}}$$

3. Precisão: A precisão é relacionada com a dispersão entre os resultados obtidos, para uma mesma amostra, sob condições definidas. A precisão foi avaliada em termos de repetibilidade com mesmo observador, mesmo procedimento de medição, mesmo instrumento sob mesmas condições e mesmo local. Pode ser expressa pelo desvio padrão e coeficiente de variação. O coeficiente de variância (CV, usualmente expresso em %), também conhecido como desvio padrão relativo (DPR), é calculado da seguinte forma:

$$CV = DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100$$

onde, DP é o desvio padrão e CMD é a concentração média determinada (INMETRO, 2016).

A precisão foi avaliada em termos de precisão intra dia, em que foram consideradas análises em triplicata de 6 diferentes concentrações de cada composto separadamente. E em precisão inter dia, em que foram realizadas medidas em triplicata em diferentes dias. Os valores foram expressos em função do CV%.

4. Limite de detecção e quantificação: o limite de detecção (LD) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada pelo método em questão, mas não necessariamente quantificada. Enquanto o limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser quantificada pelo método em questão. Estes podem ser expressos como:

$$LD = 3 \times \frac{S}{a} \quad \text{e} \quad LQ = 10 \times \frac{S}{a}$$

onde S, é o desvio padrão absoluto do branco, e “a” é o coeficiente angular (inclinação) da curva analítica (INMETRO, 2016). Ambos foram calculados de acordo com as fórmulas citadas acima, a partir de sucessivas leituras do branco.

### 3.3.3 Preparo das amostras

O preparo de amostras pode ser considerado uma das etapas principais do processo analítico. A necessidade de avaliar compostos orgânicos em baixas

concentrações e em amostras complexas torna imprescindível o uso de metodologias adequadas para diminuir interferências da matriz e permitir análises precisas e com limites de detecção razoáveis. Considerando a complexidade das amostras asfálticas, uma simples diluição pode não ser eficiente para evitar as interferências da matriz. Além disso, a posterior determinação através da cromatografia líquida requer cuidados especiais. Devemos observar a possibilidade de ocasionar problemas com o sistema cromatográfico, como aumento da pressão do sistema, problemas de contaminação e diminuir o tempo de vida útil da coluna (PAN et al., 2014; KATAOKA, 2017).

No presente trabalho foram abordadas duas metodologias de preparo de amostras, uma delas com extração em fase sólida, com cartuchos de SPE de aminopropil. E outra a partir de um dispositivo de extração e coleta, ambas serão abordadas em seguida.

### *3.3.2.1 Extração em fase sólida*

A limpeza das amostras utilizando o método de extração em fase sólida foi realizada de acordo com o procedimento desenvolvido e validado por Silveira et al. (2017). Foram pesados em balança analítica cerca de 1 grama das amostras que em seguida foram dissolvidas em 5 mL de tolueno. O solvente foi evaporado em chapa de aquecimento, até a secura. Em seguida, o resíduo sólido foi redissolvido em 5 mL de acetona e diluído 1:1 (v/v) em metanol grau HPLC. Desta solução, foram retirados 3 mL que foram amostrados no cartucho para extração em fase sólida de fase estacionária de aminopropil. Os cartuchos eram previamente condicionados com 5 mL de metanol e 3 mL de acetona. Para realizar a extração foi utilizando um Manifold, em que foi aplicado -5 kPa de pressão para a filtração com auxílio de uma bomba de vácuo. Após a amostragem, o conteúdo que passou pelo cartucho de SPE foi filtrado em filtros para seringa de PTFE para posterior análise no HPLC-PAD.

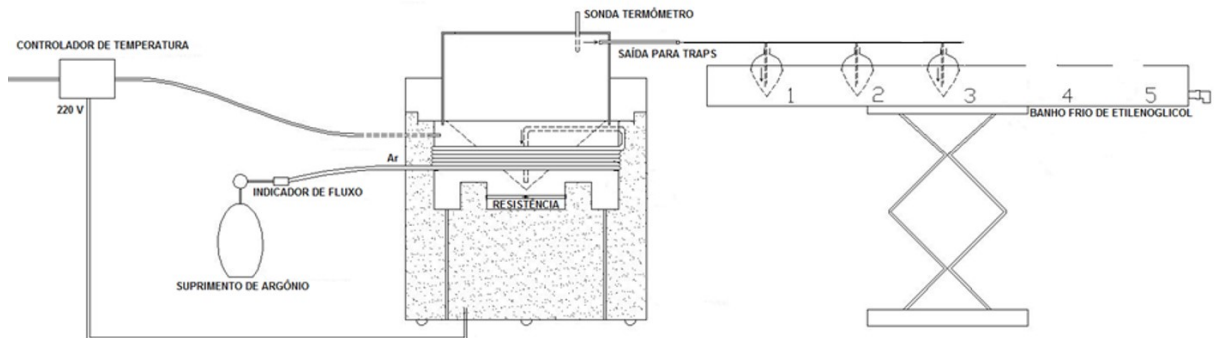
### *3.3.2.2 Extração pelo DEC*

Outra abordagem para o preparo de amostras foi o uso do DEC, desenvolvido por Ferraz (2015), representado na Figura 7. Este consiste em um sistema fechado, em que a amostra é submetida a aquecimento controlado e borbuhlada com argônio, para que os fumos gerados durante o aquecimento sejam carreados até o solvente



coletor. Para isto, o aquecimento é controlado eletricamente através de um termostato, a fim de garantir a estabilidade da temperatura. E o argônio usado como gás de arraste também é aquecido a partir de uma resistência elétrica localizada na parte inferior do sistema.

Figura 7 - Dispositivo de extração e coleta - DEC.



Fonte: adaptado de Ferraz (2015).

A extração das amostras era realizada a partir de cerca de 20 g de amostra, pesados em balança analítica, diretamente em uma frita de papel alumínio. Esta era inserida no DEC, e a amostra era levemente aquecida, até se tornar viscosa, para permitir a inserção do sistema que controla a entrada do gás de arraste. Em seguida o sistema era fechado e a extração realizada durante 4 horas a uma temperatura de 250 a 260°C.

Durante o procedimento de extração, a amostra era borbulhada com argônio em uma vazão de 0,4 L min<sup>-1</sup>. Os vapores gerados durante o processo eram coletados em 3 frascos coletores conectados em série, contendo 50 mL de metanol cada. Estes encontravam-se imersos em uma solução de etilenoglicol refrigerada a -20°C, para evitar a evaporação do solvente.

Para evitar uma perda significativa de compostos durante o período em que a amostra era aquecida até a temperatura estabelecida para as extrações, a vazão foi mantida em 0,12 L min<sup>-1</sup>. Quando a temperatura de extração era atingida a vazão era ajustada até a vazão de trabalho (0,40 L min<sup>-1</sup>), que era então mantida constante durante a extração.

Ao término da extração, o sistema era imediatamente desligado e após um período de resfriamento este era desmontado. A frita contendo a amostra era descartada em seguida.

O conteúdo dos frascos coletores era recolhido e suas soluções eram vertidas em balões volumétricos de 50 mL (volume inicial de metanol em cada um dos frascos coletores). E o volume era completado com metanol, a fim de corrigir a possível evaporação do solvente durante a extração. Em seguida, o conteúdo do frasco coletor foi filtrado em filtros para seringa de PTFE, para posterior injeção no sistema cromatográfico.

### 3.3.3 Gestão de resíduos do laboratório

Todos os resíduos gerados durante a elaboração deste trabalho foram coletados em frascos identificados, de acordo com seu conteúdo. Quando necessário estes eram destinados a tratamento químico adequado.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 ESTUDO DO COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DOS COMPOSTOS DE ENXOFRE

Para realizar o estudo do comportamento eletroquímico dos compostos de enxofre foram investigados os seus potenciais de oxidação ou redução nos eletrodos de ouro e de carbono, a fim de verificar a condição de maior detectabilidade. Para isto foi realizada uma varredura de potenciais através de um voltamograma hidrodinâmico de cada composto individualmente.

A varredura de potenciais é realizada no modo DC (corrente contínua, do inglês *direct current*) onde é aplicado um potencial constante no eletrodo de trabalho gerando uma corrente a partir das reações de troca de elétrons entre o composto e o eletrodo.

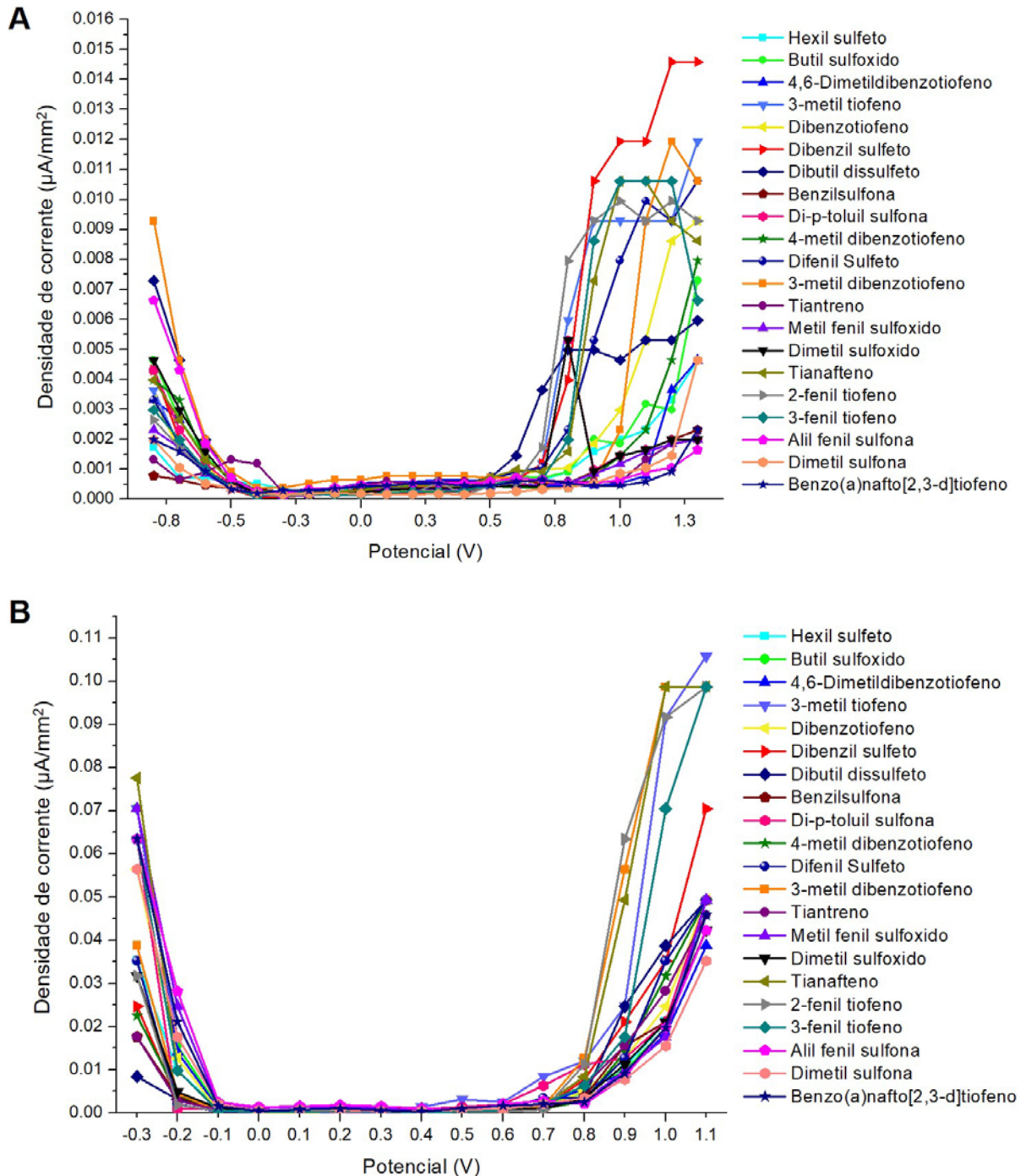
Todos os compostos foram injetados em concentração de 5 mg L<sup>-1</sup>, variando os potenciais em acréscimos de 0,1 V, de acordo com a faixa de trabalho de cada eletrodo. Sendo de -0,3 a +1,1 V para o eletrodo de ouro e -0,8 a +1,3 V para o eletrodo de carbono.

Visto que a detecção pode envolver o analito ionizado, o pH do meio também foi otimizado. O estudo dos potenciais foi realizado em solução fosfato de sódio 5 mmol L<sup>-1</sup>, 5 % metanol em pH 2,00, 4,00 e 7,00.

A Figura 8 mostra o voltamograma hidrodinâmico em pH 2,00 dos compostos elucidando o comportamento eletroquímico em cada potencial no eletrodo de ouro e carbono.

Tanto no eletrodo de ouro como no de carbono, foi possível observar que em pH 7,00 a reação de oxidação dos compostos foi menos favorecida. Pode-se perceber que o eletrodo de carbono foi mais sensível em relação a mudança de pH, em que a reação foi menos favorecida em pH 4,00 do que em pH 2,00. Podemos inferir que a reação de oxidação depende da concentração de oxigênio disponível no meio. Os gráficos referentes as varreduras hidrodinâmicas nos diferentes pH são encontrados no apêndice A.

Figura 8 - Comportamento eletroquímico dos compostos no eletrodo de carbono (A) e ouro (B), respectivamente, em pH 2,00. Os potenciais foram variados de acordo com a janela de potenciais correspondente a cada eletrodo.



Fonte: autora.

Pode-se observar pelos gráficos apresentados acima que o eletrodo de ouro apresentou maiores sinais de corrente, comprovando a maior eficiência de oxidação dos compostos de enxofre neste eletrodo, quando comparada com o eletrodo de

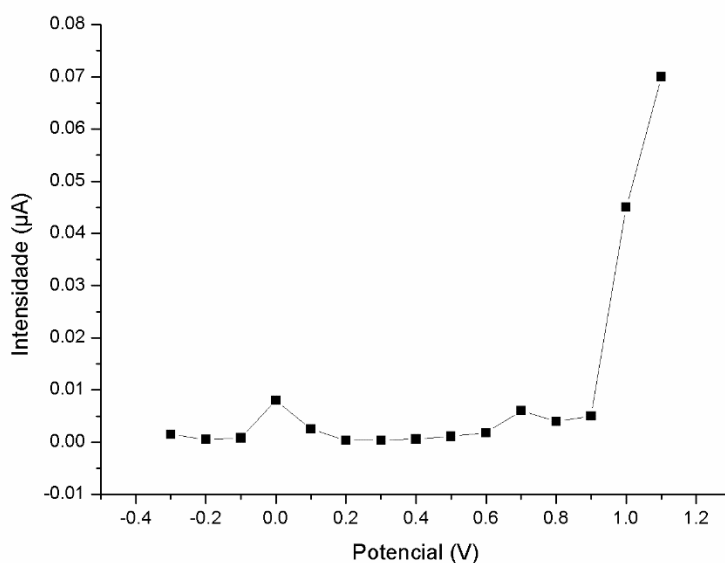
carbono. Além disto, o ouro apresenta alta afinidade com o enxofre, formando produtos de adsorção bastante estáveis (GODÍNEZ, 1999; PENSA et al., 2012). Assim, o eletrodo de ouro pode oferecer uma maior seletividade na detecção dos compostos organossulfurados nas matrizes asfálticas quando comparado ao eletrodo de carbono. Sendo assim, optou-se pela utilização do eletrodo de ouro para dar continuidade nos estudos, visto que este apresenta maior seletividade e sensibilidade aos compostos em estudos. Além disto, o comportamento eletroquímico destes compostos com o eletrodo de ouro já vem sendo amplamente estudado e encontra-se mais elucidado na literatura (LACOURSE; OWENS, 1995; JOHNSON; LACOURSE, 1990; LACOURSE; MODI, 2005).

Pode-se observar que em ambos eletrodos a região de potenciais intermediários (-0,3 V a +0,6 V para o eletrodo de carbono e +0,1 V a +0,6 V para o eletrodo de ouro) não gera valores significativos de corrente, ou seja, a reação redox ocorre em taxas muito baixas. Lacourse e Moldi (2005) ressaltam que em potenciais menores que +0,2 V a oxidação dos compostos ocorre com pouca ou nenhuma formação simultânea de óxidos na superfície do eletrodo. Indicando assim que a oxidação destes compostos depende de interações com a superfície do eletrodo, confirmando que a oxidação dos mesmos é um processo eletrocatalítico.

Além disto, pode-se observar que à medida que o potencial aumenta temos um aumento da corrente gerada para todos os compostos. Desta maneira, o potencial escolhido para a detecção dos compostos foi de +0,9 V. Deve-se levar em consideração que o uso de potenciais mais elevados acarreta em um aumento da relação sinal/ruído de fundo, visto que nesses potenciais um maior número de compostos sofrem oxidação ou redução, incluindo substâncias interferentes (FLANAGRAN R. J., PERRETT D., 2005).

Convém salientar, que acima do potencial +0,9 V ocorre um sinal de oxidação do meio. Como pode ser verificado na Figura 9, em que foi realizada a varredura hidrodinâmica de potenciais na ausência dos compostos de enxofre.

Figura 9 - Varredura hidrodinâmica na ausência dos compostos organossulfurados, em pH 4,00 em eletrodo de ouro.

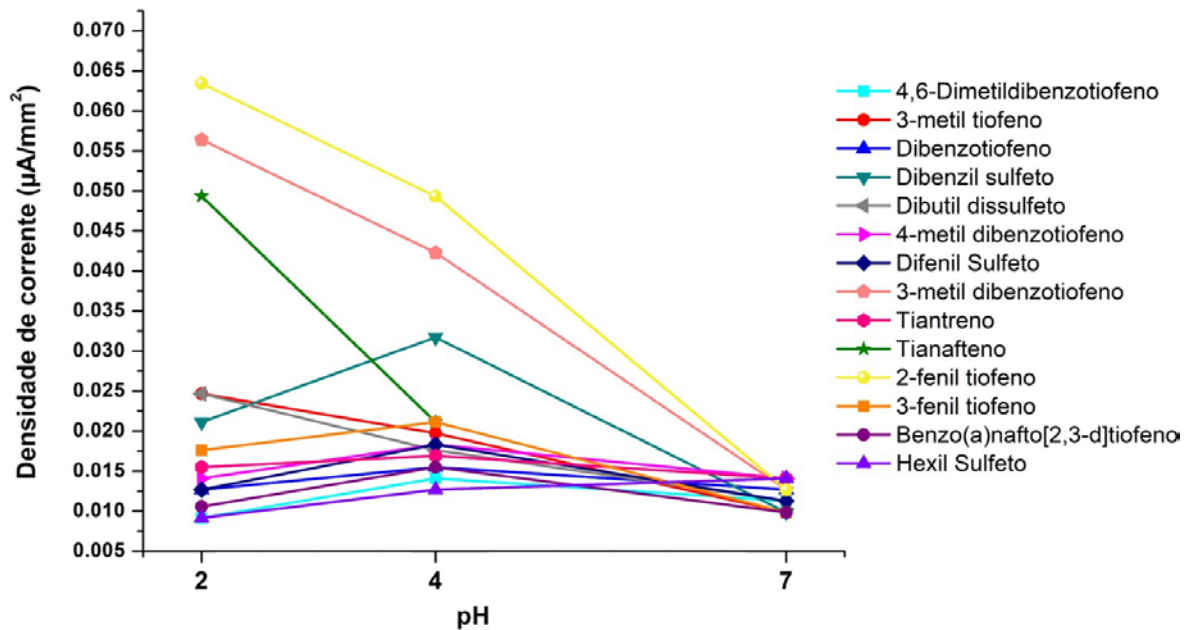


Fonte: Autora.

A partir dos voltamogramas obtidos, plotou-se um gráfico (Figura 10) corrente *versus* pH, a fim de definir qual a condição de maior detectabilidade, visto que a corrente gerada é proporcional à concentração do analito. Pode-se observar que o eletrodo de ouro em pH 2,00 mostrou-se mais sensível para alguns compostos em sua forma reduzida, sendo estes: 2 – fenil tiofeno, 3 – metil benzotiofeno, tianafteno, 3 – metil tiofeno e o dibutil disulfeto. Indicando que as reações de oxidação destes compostos são favorecidas por uma maior concentração de íons  $H^+$  no meio. Já os outros compostos em sua forma reduzida não apresentaram diferença significativa de corrente com a alteração do pH do meio.

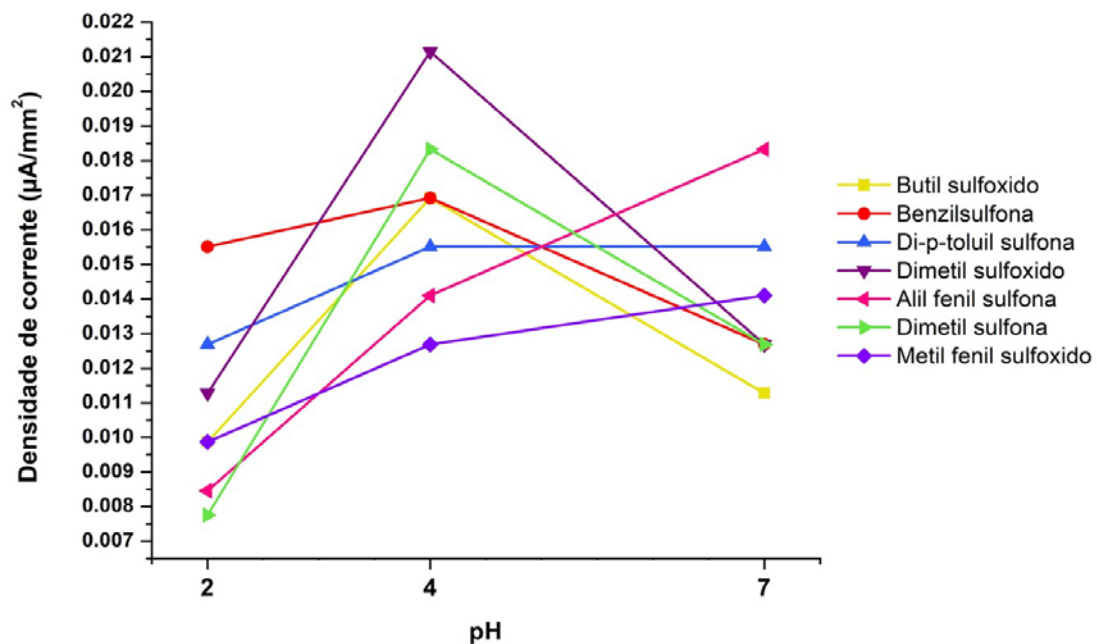
O mesmo gráfico, corrente *versus* pH, para os compostos oxidados pode ser observado na Figura 11. Neste caso, em pH 4,00 obtemos a situação de melhor detectabilidade, visto que uma maior intensidade de corrente foi observada nesse pH. A aplicação de um potencial positivo indica a oxidação dos compostos, no entanto, como os compostos benzil sulfona, di-p-toluil sulfona, dimetil sulfona e alil fenil sulfona já estão com o enxofre em sua forma mais oxidada S(IV), acredita-se que o sinal eletroquímico seja resultado do processo de dessorção física do enxofre do eletrodo.

Figura 10 - Comportamento eletroquímico dos compostos reduzidos em pH 2, 4 e 7, com a aplicação de um potencial constante de +0,9 V.



Fonte: autora.

Figura 11 - Comportamento eletroquímico dos compostos oxidados em pH 2,00 4,00 e 7,00, com a aplicação de um potencial constante de +0,9 V.

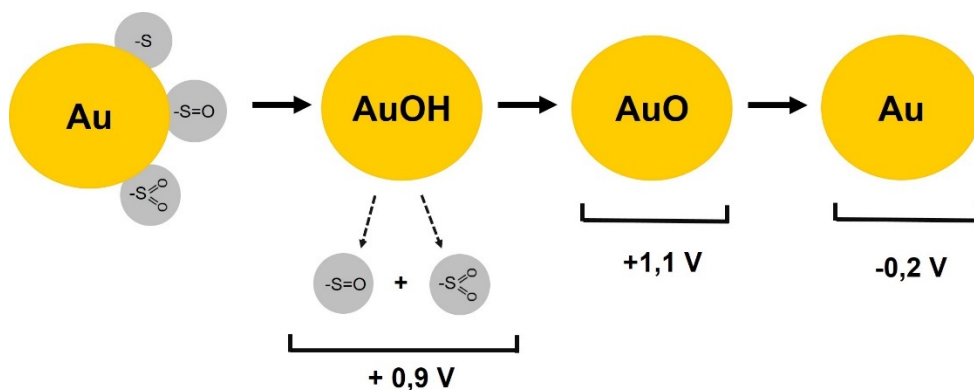


Fonte: autora.

Uma vez que a oxidação do enxofre no eletrodo de ouro é uma reação catalisada por óxidos, foi proposto o esquema da Figura 12 para elucidar o comportamento dos compostos em análise no eletrodo. Primeiramente ocorre a adsorção espontânea dos compostos no eletrodo de ouro, através átomo de enxofre, em um processo de fisiossorção. Em seguida, ocorre a formação de uma ligação covalente (quimiossorção) entre a superfície do eletrodo e o átomo de enxofre, através do par de elétrons livres presentes no átomo.

Com a aplicação de um potencial positivo, ocorre a formação de AuOH, o qual facilita a transferência de oxigênio para os compostos de enxofre. Em outras palavras, catalisa a oxidação dos compostos, que são então desorvidos ao meio. Após a desorção dos compostos, ocorre a formação de uma camada de óxido na superfície do eletrodo. Esta é responsável pela sua desativação, após o processo eletroquímico. Finalmente a superfície do eletrodo é restaurada através da aplicação de um potencial negativo.

Figura 12 - Esquema da reação de oxidação do enxofre catalisada por óxidos do metal do eletrodo.



Fonte: autora.

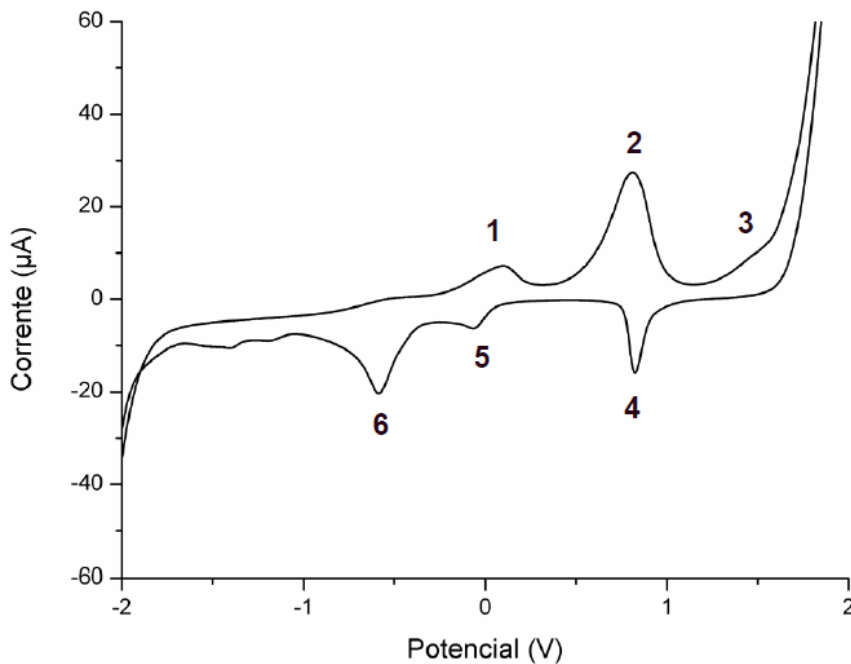
Os compostos em que o enxofre está nas formas S(-II) e S(+II) são passíveis de sofrer oxidação até a forma mais oxidada, gerando sinais de oxidação devido a transferência de elétrons, estes são atribuídos a uma corrente Faradaica. Enquanto nos compostos em que o enxofre já se encontra em sua forma mais oxidada acredita-se que o sinal obtido é gerado apenas pelo processo de desorção, por meio de uma corrente capacitiva, que não envolve transferência de elétrons.



Do mesmo modo, quando o enxofre já se encontra em sua forma mais oxidada, este não apresenta pares de elétrons livres. Portanto possivelmente ocorra apenas a fisiossorção entre os compostos e a superfície do eletrodo. Neste caso, as moléculas apenas se aderem à superfície do eletrodo, através de um processo físico.

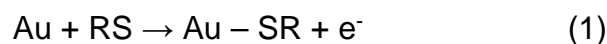
Já foram realizados estudos do comportamento voltamétrico de compostos sulfurados presentes em matrizes de asfalto de petróleo no eletrodo de ouro, em meio não aquoso. O voltamograma obtido pode ser visualizado na Figura 13, e corrobora com o mecanismo de oxidação proposto neste trabalho.

Figura 13: Voltamograma cíclico de eletrodo de ouro com  $50 \text{ mg L}^{-1}$  de Tiantreno em  $\text{NaClO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  em DMSO. Velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$



Fonte: GOULARTE, 2016.

O pico 1 refere-se a oxidação do Au e ao efeito de adsorção do tiofeno/sulfeto (reação 1):



O pico 2 refere-se a dessorção oxidativa e formação de polissulfetos intermediários (reação 2):



O pico 3 refere-se a formação de óxido de ouro (reação 3):



O pico 4 refere-se a redução das espécies de óxido de ouro (reação 4):



O pico 5 refere-se a adsorção de polissulfetos no ouro (reação 5):



O pico 6 refere-se a dessorção redutiva dos polissulfetos a RS (reação 6):



Após a adsorção dos compostos de enxofre na superfície do ouro, estes são removidos do eletrodo por oxidação. À medida que os potenciais se tornam mais positivos na varredura, a oxidação do composto adsorvido é favorecida e observa-se um pico em potenciais próximos a +0,6 V, provavelmente devido à dessorção oxidativa. Em paralelo, ocorre a formação de polissulfetos que são compostos intermediários de reação. Já no sentido de potenciais negativos ocorre a redução do óxido de ouro formado (GOULARTE, 2016).

Destaca-se que a diferença de potencial de oxidação obtida através do voltamograma e da varredura hidrodinâmica pode ser justificada devido a diferença de operação dos métodos. Visto que a detecção amperométrica se dá em fluxo, e a determinação voltamétrica através de um sistema em batelada. Do mesmo modo, a formação de polissulfetos não é evidenciada nas análises amperométricas, uma vez que a velocidade da reação é maior, diminuindo o tempo de contato dos analitos com o eletrodo.

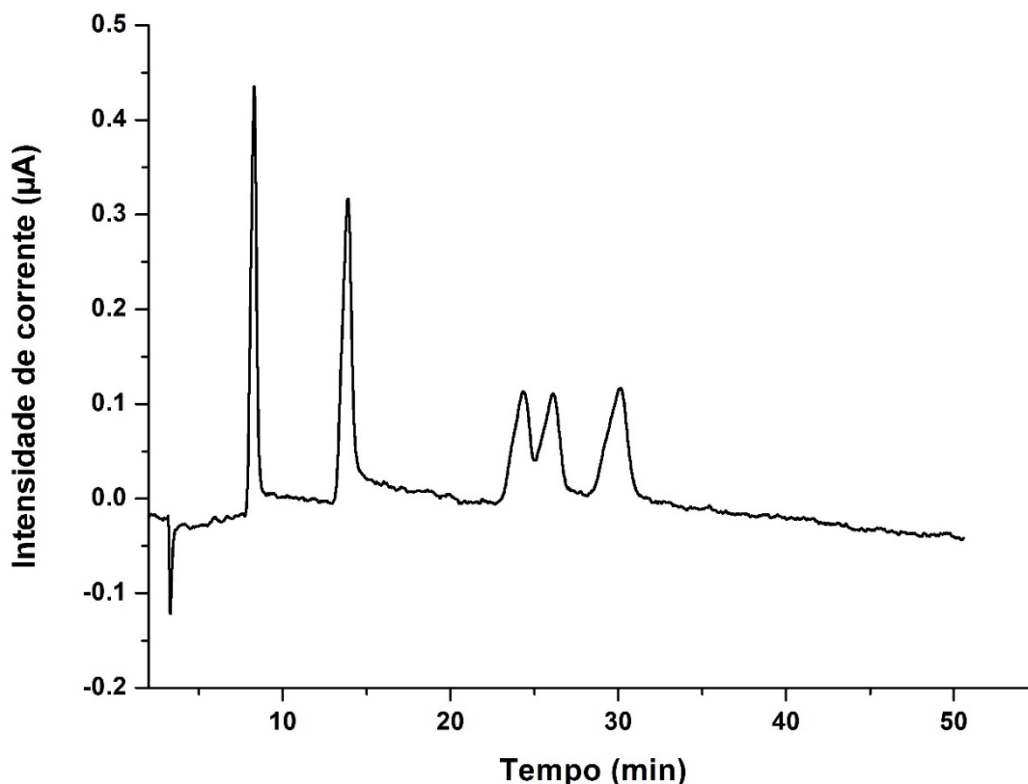
## 4.2. DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO COM DETECÇÃO PULSO AMPEROMÉTRICA

Após o estudo do comportamento eletroquímico dos compostos foi estabelecida a melhor condição para a determinação dos compostos em sua forma reduzida e oxidada. Para a otimização da separação cromatográfica foram avaliados: o sal utilizado (fosfato de sódio e acetato de amônio), a concentração destes, a concentração do solvente orgânico (metanol e acetonitrila) e aditivos da fase móvel ( $\beta$ -ciclodextrina e dodecilsulfato de sódio). O método de separação foi otimizado com o uso de uma mistura de 10 mg L<sup>-1</sup> dos padrões.

De acordo com o estudo eletroquímico o pH 2,00 fornece a melhor condição de detecção para a maioria dos compostos, porém a coluna C18 apresenta faixa útil de trabalho de pH 2,00 a 14,00. Dessa forma, a fim de evitar o desgaste da coluna, optou-se por utilizar pH 3,00, visto que a detectabilidade não foi seriamente afetada.

O primeiro parâmetro avaliado foi a concentração de solvente orgânico, de forma que a concentração de metanol foi variada de 20 a 70 % (V/V). A concentração de metanol de 60 % apresentou melhor compromisso entre separação dos compostos e tempo de análise. No entanto, a separação não se mostrou satisfatória como pode se observar na Figura 14, em que a corrida cromatográfica se mostrou demasiadamente longa e alguns compostos não chegaram a ser observados.

Figura 14 - Cromatograma dos compostos de enxofre na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup>, nas seguintes condições: fase reversa – coluna C18, fase móvel fosfato de sódio 10 mmol L<sup>-1</sup> (pH 3,00); metanol 60 % (v/v); potencial de detecção: +0,9 V (0,4 s); potenciais de limpeza: +1,1 V (0,4 s) e -0,2 V (1,2 s). Fluxo da fase móvel: 1,0 mL min<sup>-1</sup>; temperatura: não controlada.



Fonte: autora.

Em seguida a concentração de metanol foi mantida em 60 %, e concentração de fosfato de sódio foi variada de 10 a 50 mmol L<sup>-1</sup>. Pode se observar, que o aumento da concentração de fosfato diminuiu ligeiramente os tempos de retenção. Esta mudança está relacionada com o efeito do sal inorgânico na solubilidade dos compostos na fase móvel. Quando a adição de um sal aumenta a solubilidade dos compostos, o tempo de retenção dos mesmos diminui. Isto se deve a menor interação com a fase estacionária e maior interação com a fase móvel, este efeito é conhecido como *salting in* (KOMSTA et al., 2011).

Também foi avaliado o uso de acetonitrila como solvente orgânico, porém a troca do solvente proporcionou uma diminuição da sensibilidade dos compostos e um aumento do ruído da linha base. Segundo LACOURSE; DASENBROCK (1999) a acetonitrila apresenta grande afinidade com o eletrodo de ouro, bloqueando a

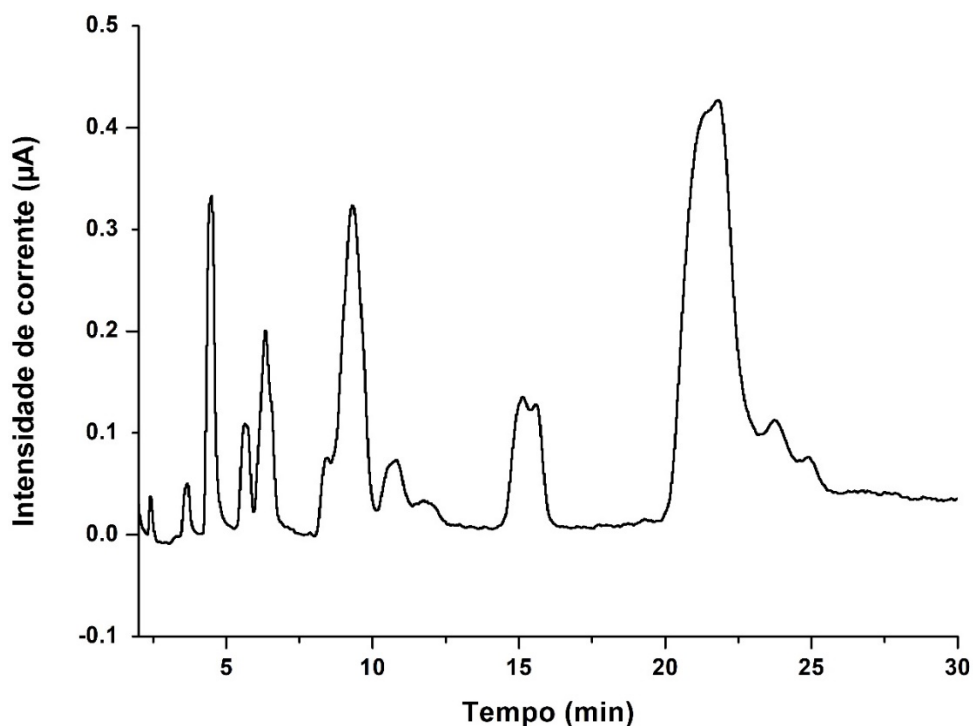
adsorção dos analitos ao eletrodo, levando a uma supressão do sinal destes. Ocorrendo, assim, a competição entre o enxofre e o solvente nos locais de adsorção.

Visto que a eficiência da separação dos compostos não era suficiente, optou-se por trocar o sal da fase móvel para acetato de amônio, mantendo a concentração em  $10 \text{ mmol L}^{-1}$ . Com a troca do sal da fase móvel, o tempo de retenção dos compostos diminuiu, e foi possível constatar a presença de mais picos cromatográficos em um menor tempo de análise.

Esta diminuição do tempo de retenção também pode ser explicada através do efeito *salting in*. Íons de maior diâmetro tendem a provocar maior efeito *salting in*, sendo assim, o íon amônio favorece a solubilidade dos compostos na fase móvel quando comparado com o íon sódio. Diminuindo os tempos de retenção dos compostos analisados (KOMSTA et al., 2011).

Entretanto a separação dos compostos ainda não se mostrou ideal, portanto foram reotimizados alguns parâmetros como a concentração de solvente orgânico da fase móvel, a concentração do sal utilizado e o pH do meio. A condição que apresentou melhor eficiência de separação em relação a composição do solvente orgânico foi de 65 % de metanol, conforme observado na Figura 15.

Figura 15 - Cromatograma dos compostos de enxofre na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup>, nas condições: fase reversa – coluna C18, fase móvel acetato amônio 10 mmol L<sup>-1</sup> (pH 3,00); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção: +0,9 V (0,4 s); potenciais de limpeza: +1,1 V (0,4 s) e -0,2 V (1,2 s). Fluxo: 1,0 mL min<sup>-1</sup>; temperatura: não controlada.



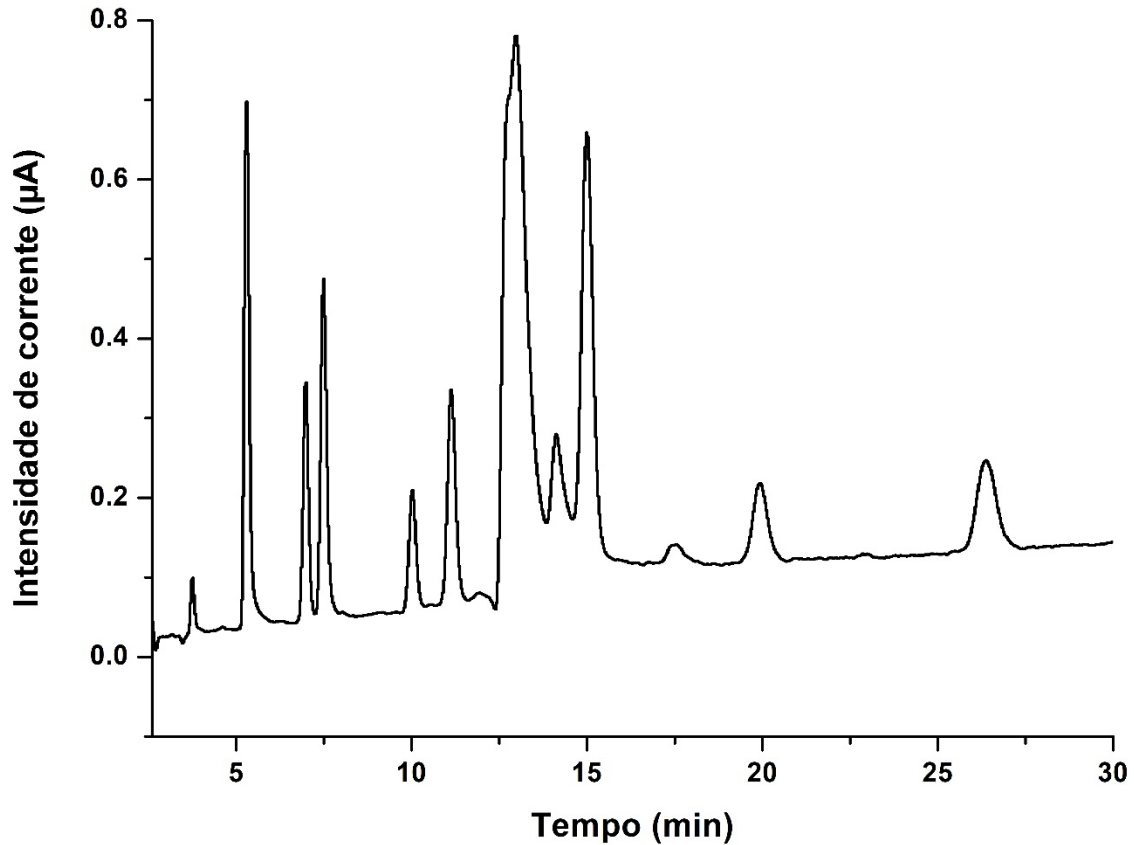
Fonte: autora.

A concentração do acetato de amônio, foi otimizada variando de 5 a 30 mmol L<sup>-1</sup>. Porém alterações na concentração do sal não foram suficientes para melhorar o perfil cromatográfico. Além disto, o aumento da concentração de sal ocasionou um aumento na corrente, invertendo a orientação de alguns picos.

Por fim, foi testado o uso de aditivos da fase móvel: dodecil sulfato de sódio para a formação de pares iônicos ao longo do processo de eluição, e beta-ciclodextrina, que altera a partição do soluto entra a fase estacionaria e o solvente. No entanto, não foram observadas melhorias na separação dos picos.

Visto que a eficiência da separação dos compostos ainda não se mostrou satisfatória, optou-se por trocar a coluna C18 por uma coluna bifenil. Assim foi observada uma melhora na separação dos picos, o cromatograma obtido com a troca da coluna pode ser observado na Figura 16.

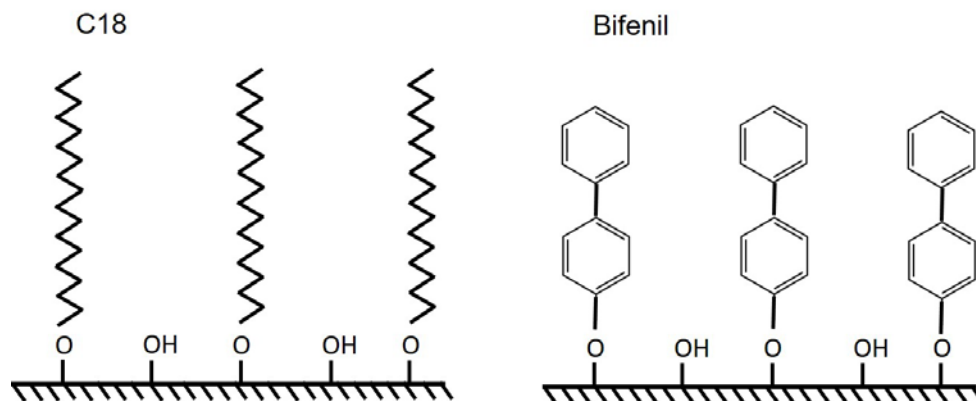
Figura 16 - Cromatograma dos compostos de enxofre na concentração de  $10\text{ mg L}^{-1}$ , nas condições: fase reversa – coluna bifenil, fase móvel acetato amônio  $10\text{ mmol L}^{-1}$  (pH 3,60); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção:  $+0,9\text{ V}$  (0,4 s); potenciais de limpeza:  $+1,1\text{ V}$  (0,4 s) e  $-0,2\text{ V}$  (1,2 s). Fluxo:  $1,0\text{ mL min}^{-1}$ ; temperatura: não controlada.



Fonte: autora.

A melhora da seletividade na separação pode ser explicada devido a menor polaridade da fase estacionária bifenil, quando comparada com a fase estacionária C18, como pode ser visto na Figura 17. Também podemos destacar, que com a troca da fase estacionária ocorre a formação de interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  entre os grupamentos fenil da fase estacionária, e os anéis aromáticos e os elétrons  $\pi$  dos compostos em análise, aumentando a seletividade da separação (STEVENSON et al., 2008; LONG; MACK, 2009).

Figura 17 - Representação do ligante presente nas fases estacionárias C18 e Bifenil.



Fonte: autora.

Com a mudança da fase estacionária, a concentração da fase orgânica novamente foi otimizada, porém alterações neste parâmetro não geraram resultados satisfatórios. E a concentração de fase orgânica de 65% de metanol seguiu oferecendo melhor compromisso entre tempo de análise e separação de picos.

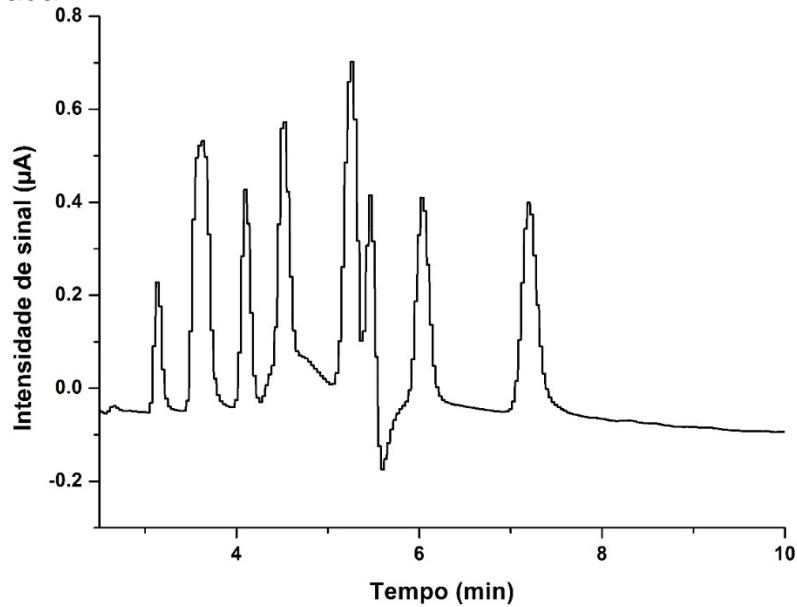
Após a troca da coluna, não foi novamente avaliado o uso de acetonitrila como solvente orgânico devido a diminuição da sensibilidade que esta causa, além de que este solvente altera a interação  $\pi$ - $\pi$ , da fase estacionário com os analitos, tornando o comportamento de retenção dos analitos mais parecido com uma coluna C18 (STEVENSON et al., 2008; LONG; MACK, 2009).

A vazão da fase móvel foi variada de 0,8 a 1,0 mL min<sup>-1</sup>, porém não foi constatada mudanças significativas na separação dos compostos. Além disto, foi otimizada a temperatura da coluna, variando de 25°C a 30°C, sendo 27°C a condição escolhida para as análises.

Por fim foi otimizada a faixa de pH, sendo 3,50 o pH ideal para as separações. Pode-se observar que pequenas alterações no pH modificam drasticamente o tempo de retenção dos compostos. Como podemos observar nas Figuras 18 e 19, em que a fase móvel é composta de 65 % metanol, 10 mmol L<sup>-1</sup> de acetato de amônio e valores de pH de 3,00 e 4,00, respectivamente. Em pH igual a 3,00 o tempo de retenção dos compostos diminui, causando perda de seletividade. No caso de pH igual a 4,00 a corrida se torna mais longa, e ainda apresenta problemas de seletividade, além de uma menor resolução dos picos.

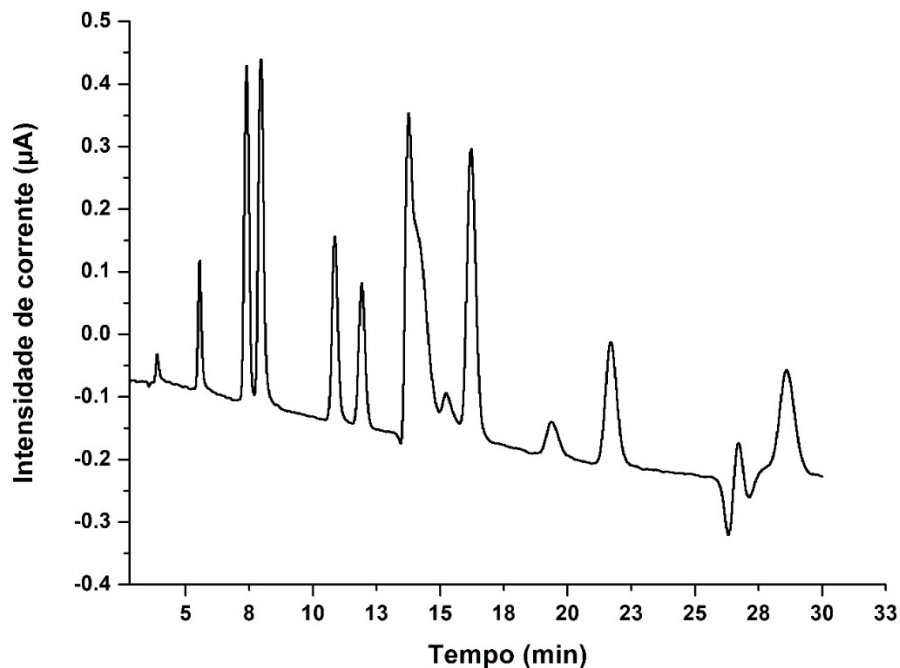


Figura 18 - Cromatograma dos compostos de enxofre na concentração de  $10\text{mg L}^{-1}$ , nas condições: fase reversa – coluna bifenil, fase móvel acetato amônio  $10\text{ mmol L}^{-1}$  (pH 3,00); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção:  $+0,9\text{ V}$  (0,4 s); potenciais de limpeza:  $+1,1\text{ V}$  (0,4 s) e  $-0,2\text{ V}$  (1,2 s). Fluxo:  $1,0\text{ mL min}^{-1}$ ; temperatura: não controlada.



Fonte: autora.

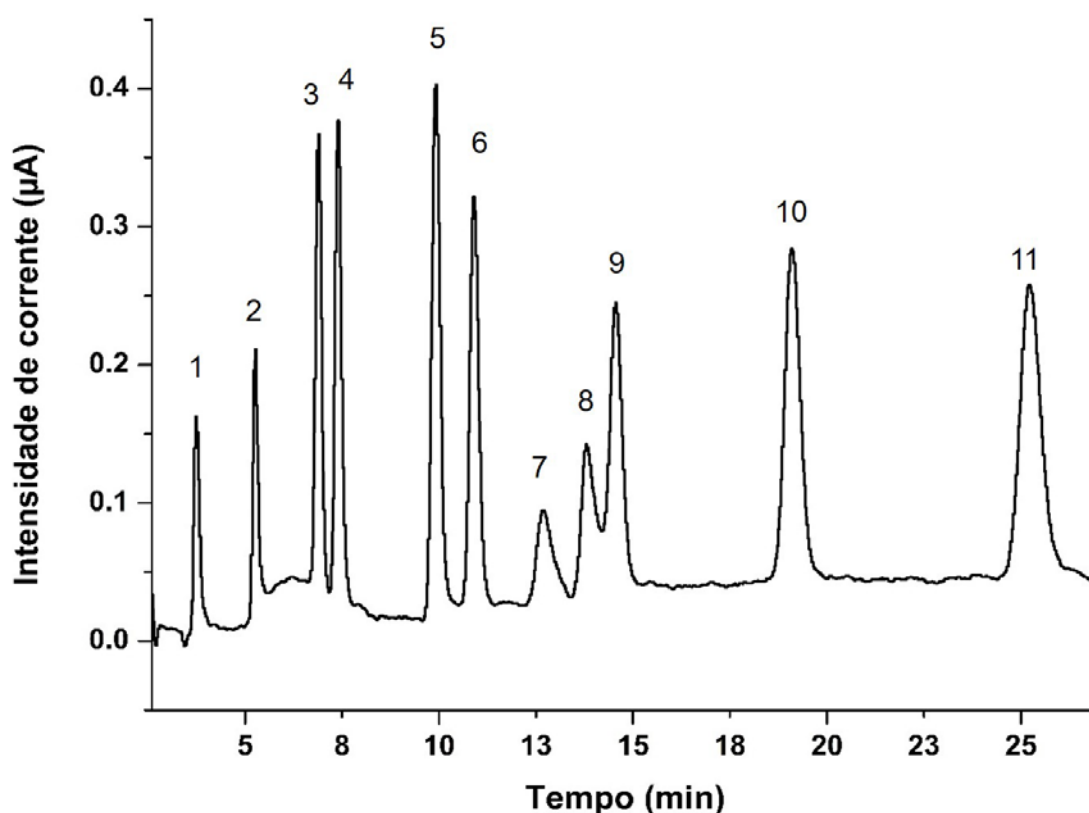
Figura 19 - Cromatograma dos compostos de enxofre na concentração de  $10\text{mg L}^{-1}$ , nas condições: fase reversa – coluna bifenil, fase móvel acetato amônio  $10\text{ mmol L}^{-1}$  (pH 4,00); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção:  $+0,9\text{ V}$  (0,4 s); potenciais de limpeza:  $+1,1\text{ V}$  (0,4 s) e  $-0,2\text{ V}$  (1,2 s). Fluxo:  $1,0\text{ mL min}^{-1}$ ; temperatura: não controlada.



Fonte: autora.

A Figura 20 mostra o cromatograma obtido a partir das condições otimizadas, sendo estas: metanol 65 %, acetato de amônio 10 mmol L<sup>-1</sup>, pH 3,50, e vazão 1,0 mL min<sup>-1</sup>, potencial de detecção 0,9 V e temperatura do forno de coluna igual a 27° C. Essas condições permitiram a separação isocrática dos compostos: 3 – metil tiofeno, 3 – fenil tiofeno, tiantreno, tianafteno, 4 – metil benzotiofeno, 3 – metil benzotiofeno, 4,6 – dimetil dibenzotiofeno, benzo (a) nafto [2,3-d] tiofeno, dibenzotiofeno, difenil sulfeto, dibutil disulfeto. Condições estas que proporcionaram melhor eficiência de separação, com maior compromisso entre resolução e seletividade.

Figura 20 - Cromatograma dos compostos de enxofre: (1) 3 – Metil Tiofeno 15 mg L<sup>-1</sup> (2) Tianafteno 4 mg L<sup>-1</sup> (3) 3 – Metil Dibenzotiofeno 4 mg L<sup>-1</sup> (4) 3 - Fenil Tiofeno 6 mg L<sup>-1</sup> (5) Dibenzotiofeno 5 mg L<sup>-1</sup> (6) Difenil sulfeto 10 mg L<sup>-1</sup> (7) Dibutil dissulfeto 0,2 mg L<sup>-1</sup> (8) Tiantreno 4 mg L<sup>-1</sup> (9) 4 - Metil Dibenzotiofeno 6 mg L<sup>-1</sup> (10) 4,6 – Dimetil Dibenzotiofeno 20 mg L<sup>-1</sup> (11) Benzo (a) nafto [1,2-d] tiofeno 14 mg L<sup>-1</sup>, nas condições: fase reversa – coluna bifenil, fase móvel acetato amônio 10 mmol L<sup>-1</sup> (pH 3,50); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção: +0,9 V (0,4 s); potenciais de limpeza: +1,1 V (0,4 s) e -0,2 V (1,2 s). Fluxo: 1,0 mL min<sup>-1</sup>; temperatura: 27°C.



Fonte: autora.

Durante o processo de otimização do método, optou-se por retirar alguns dos analitos, visto que nas condições que o método nos proporciona não seria possível a separação entre os isômeros 2 - fenil tiofeno e 3 – fenil tiofeno. Ou nos casos em que o formato do pico do analito se mostrava não era adequado, interferindo nos picos de outros compostos, como foi o caso dos analitos: hexil sulfeto e dibenzil sulfeto.

Além disto, devido a maior polaridade dos compostos oxidados, estes apresentavam pouca interação com a fase estacionária. Impossibilitando uma separação isocrática eficiente de todos os analitos. Dessa forma, optou-se por priorizar a separação dos compostos reduzidos tendo em vista que estes são precursores dos processos de oxidação e de polimerização durante o envelhecimento do ligante asfáltico.

#### 4.3. AVALIAÇÃO DE INTERFERENTES

Como já foi abordado anteriormente, os SHPAs são derivados dos HPAs, uma classe de compostos conhecida por seu potencial carcinogênico e grande estabilidade. Estes são introduzidos no meio ambiente por fontes naturais e antropogênicas, podendo ser encontrados no petróleo e seus derivados, incluindo o ligante asfáltico. Destaca-se que derivados dos HPAs contendo oxigênio e enxofre também podem ser encontrados nas mesmas matrizes. Estes são conhecidos como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nitrogenados (NHPAs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos oxigenados (OHPAs) (NASCIMENTO, P.C. et al., 2015).

Neste sentido, foi avaliada a presença de alguns destes compostos como possíveis interferentes do método. Para isto, cada um dos compostos foi injetado individualmente nas condições otimizadas. Os resultados obtidos são encontrados na Tabela 1. Nenhum composto testado apresentou tempo de retenção idêntico aos analitos, porém alguns podem representar interferências na cauda ou parte frontal dos picos, nestes casos, o analito cujo composto pode ser considerado um interferente este está apresentado na tabela.

Tabela 1 - Compostos testados como interferentes do método proposto.

Classe	Composto	Sinal analítico	Interfere no sinal
NHPAs	1-nitropireno		
	Fenazina	X	Tiantreno
	Acridina	X	
	2-nitrofluoreno		
	9-nitroantraceno		
	Quinolina	X	
	1-nitronaftaleno		
OHPAs	9-10 antraquinona		
	2-hidroxifluoreno	X	
	9-fenantreno carboxialdeido	X	Dibutil dissulfeto
	2-naftol	X	
	1-hidroxipireno	X	3-feniltiofeno
HPAs	Fluoranteno	X	
	Acenafteno	X	3 metil dibenzotiofeno e 3-feniltiofeno
	Naftaleno	X	Tianafteno
	Pireno	X	

Fonte: autora.

Visto que estes são compostos possíveis de estar presentes nas amostras em estudo, deve-se realizar uma análise confirmatória para evitar falsos positivos. Já que a técnica amperométrica apresenta apenas o potencial aplicado e o tempo de retenção como meio de identificação de compostos.

#### 4.4. VALIDAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO COM DETECÇÃO PULSO AMPEROMÉTRICO

O método cromatográfico foi validado através dos parâmetros de validação preconizados pelo INMETRO: linearidade, precisão inter-dia (precisão intermediária) e intra-dia (repetitividade), limite de detecção, limite de quantificação e exatidão.

Para verificar a faixa linear do método fez-se uso da regressão linear determinada pelo método dos mínimos quadrados, com base na relação área *versus* concentração. Cada composto foi avaliado separadamente, para isto, foram injetadas concentrações baixas até que o pico ficasse indistinguível da linha base. A partir desta concentração foram construídas curvas analíticas contendo 6 pontos cada. As medidas foram realizadas em triplicata, e o valor da média entre elas foi utilizado para a construção da regressão linear. A faixa linear foi definida para que os valores do coeficiente de correlação fossem maiores ou iguais a 0,99. Os resultados de linearidade são mostrados na Tabela 2.

De acordo com o estudo realizado, as faixas lineares encontradas foram pequenas, sendo que a maior variação foi encontrada para o 4-metildibenzotiofeno, sendo de 0,5 a 20 mg L<sup>-1</sup>. Isto pode ser atribuído ao comportamento do enxofre no eletrodo. Como já foi discutido anteriormente, a detecção se dá através da adsorção do enxofre na superfície do eletrodo. Assim, a resposta do eletrodo é fortemente influenciada pela concentração de átomos de enxofre adsorvidos. Para soluções diluídas a resposta concentração *versus* reação é linear. Porém, em soluções concentradas a superfície do eletrodo fica saturada de átomos adsorvidos, comprometendo a adsorção de todas as moléculas, afetando a linearidade das medidas. Além disto, a saturação da superfície do eletrodo dificulta a formação do óxido do metal, interferindo na continuidade do mecanismo de detecção (VANDEBERG, 1993).

Tabela 2 - Parâmetros de linearidade do método desenvolvido.

<b>Composto</b>	<b>Faixa Linear (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Equação da reta</b>
<b>3 – Metil Tiofeno</b>	1,00 – 15,00	0,991	$y = 0.0439x + 0.0609$
<b>Tianafteno</b>	0,25 – 4,00	0,997	$y = 0.5269x - 0.0178$
<b>3 – Metil Dibenzotiofeno</b>	0,50 - 12,00	0,993	$y = 0.2396x - 0.0286$
<b>3 - Fenil Tiofeno</b>	0,25 – 6,00	0,998	$y = 0.2822x - 0.0235$
<b>Dibenzotiofeno</b>	0,25 – 8,00	0,990	$y = 0.4459x - 0.0844$
<b>Difenil sulfeto</b>	0,50 – 15,00	0,994	$y = 0.2278x - 0.0441$
<b>Dibutil dissulfeto</b>	0,12 – 1,00	0,995	$y = 2.8236x + 0.2463$
<b>Tiantreno</b>	1,00 – 12,00	0,997	$y = 1.0544x - 0.8315$
<b>4-Metil Dibenzotiofeno</b>	0,50 – 20,00	0,990	$y = 0.0739x + 0.2265$
<b>4,6 – Dimetil Dibenzotiofeno</b>	3,00 – 20,00	0,995	$y = 0.123x + 0.0036$
<b>Benzo (a) nafto [1,2-d] tiofeno</b>	0,50 – 14,00	0,996	$y = 0.1681x + 0.1115$

Fonte: autora.

Para a determinação dos limites de detecção e quantificação foram injetadas 10 replicatas da linha base, e os valores foram calculados segundo as equações no capítulo 3.3.2. Os valores obtidos podem ser visualizados na tabela 3. Podemos destacar que o 4-metildibenzotiofeno apresentou os maiores valores de LQ e LD, sendo que este já havia apresentado maior faixa linear.

Tabela 3 - Limites de detecção e quantificação para compostos de enxofre em estudo.

<b>Composto</b>	<b>LD (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>LQ (mg L<sup>-1</sup>)</b>
<b>3 – Metil Tiofeno</b>	0,92	2,80
<b>Tianafteno</b>	0,15	0,50
<b>3 – Metil Dibenzotiofeno</b>	0,51	1,70
<b>3 - Fenil Tiofeno</b>	0,24	0,80
<b>Dibenzotiofeno</b>	0,09	0,30
<b>Difenil sulfeto</b>	0,28	0,95
<b>Dibutil dissulfeto</b>	0,05	0,18
<b>Tiantreno</b>	0,10	0,36
<b>4-Metil Dibenzotiofeno</b>	0,95	3,17
<b>4,6 – Dimetil Dibenzotiofeno</b>	0,49	0,16
<b>Benzo (a) nafto [1,2-d] tiofeno</b>	0,57	1,90

Fonte: autora.

A precisão foi avaliada em termos de repetibilidade, através da injeção em triplicata de 6 concentrações diferentes no mesmo dia (intra-corrída), e a precisão intermediária (inter-corrída) através da injeção em triplicata do ponto médio da faixa linear em três dias diferentes. Segundo Lanças (2004), o desvio padrão relativo ou CV (%) da precisão para amostras complexas pode ser aceito em valores de até 20%. Os resultados da precisão são mostrados na tabela 4.

A exatidão foi avaliada através de ensaios de fortificação, realizados para cada composto em separado. Os valores de exatidão obtidos podem ser encontrados na tabela 4. Os valores de exatidão obtidos estão dentro do esperado para matrizes complexas, sendo aceitáveis valores de 80 a 120 %.

Tabela 4 - Precisão e exatidão do método desenvolvido.

<b>Composto</b>	<b>Faixa do RSD (%) intra-corrida</b>	<b>RSD (%) Inter-corrida</b>	<b>Exatidão (%)</b>
<b>3 – Metil Tiofeno</b>	1,46 – 12,48	12,30	103,75
<b>Tianafteno</b>	1,00 – 8,54	12,33	109,45
<b>3 – Metil Dibenzotiofeno</b>	1,22 – 17,47	9,67	111,22
<b>3 - Fenil Tiofeno</b>	0,69 – 11,54	5,69	97,87
<b>Dibenzotiofeno</b>	1,74 – 18,32	1,19	95,70
<b>Difenil sulfeto</b>	1,21 – 17,58	5,31	110,43
<b>Dibutil dissulfeto</b>	1,39 – 5,72	2,73	116,32
<b>Tiantreno</b>	0,47 – 12,02	4,43	89,65
<b>4-Metil Dibenzotiofeno</b>	1,67 – 13,67	9,90	92,76
<b>4,6 – Dimetil Dibenzotiofeno</b>	2,35 – 11,72	7,72	89,86
<b>Benzo (a) nafto [1,2-d] tiofeno</b>	1,07 - 9,78	2,41	117,02

Fonte: autora.

#### 4.4 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS SULFURADOS NAS AMOSTRAS

Devido à complexidade das amostras em estudo, foi necessária uma atenção especial à etapa de preparo das mesmas. A fim de preservar o sistema cromatográfico e possibilitar a determinação dos compostos desejados. Foram investigadas duas abordagens para o preparo das amostras: uma extração em fase sólida usando cartuchos de aminopropil e uma extração de voláteis utilizando o DEC.

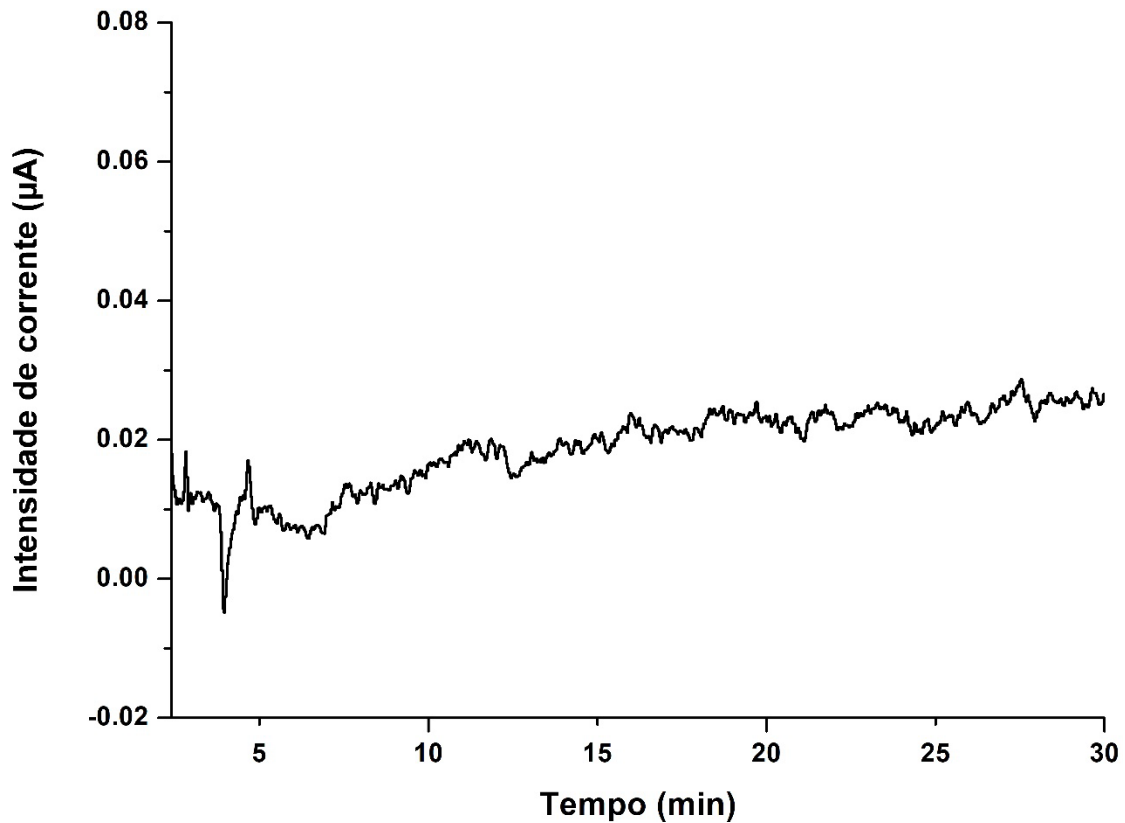
##### 4.4.1 Extração em fase sólida

A metodologia de extração em fase sólida utilizada neste trabalho, foi desenvolvida e otimizada por Silveira et al. (2017), para posterior determinação de compostos de enxofre em asfalto por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas, em que esta se mostrou eficiente, permitindo recuperações que variaram de 65,37 a 114,35% para os compostos de enxofre em análise.

As amostras que foram submetidas ao SPE e posteriormente analisadas apresentaram cromatogramas semelhantes a Figura 21. Em que não é verificada a presença de nenhum pico cromatográfico.



Figura 21 - Perfil cromatográfico da amostra pós extração por SPE, nas condições: fase reversa – coluna bifenil, fase móvel acetato amônio 10 mmol L<sup>-1</sup> (pH 3,50); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção: +0,9 V (0,4 s); potenciais de limpeza: +1,1 V (0,4 s) e -0,2 V (1,2 s). Fluxo: 1,0 mL min<sup>-1</sup>; temperatura: 27°C.



Fonte: autora.

Para avaliar a metodologia utilizada, as mesmas amostras previamente analisadas por Silveira et al. (2017) foram analisadas. A fim de utilizar os resultados já obtidos como método de confirmação. Porém, as amostras analisadas mantiveram o mesmo perfil cromatográfico, sem apresentar sinal dos compostos sulfurados.

Visto que os resultados não foram compatíveis com aqueles previamente obtidos, duas possíveis hipóteses foram criadas para explicar este comportamento. Uma delas é a possível degradação dos compostos das amostras, visto que estas já haviam sido utilizadas há um certo tempo.

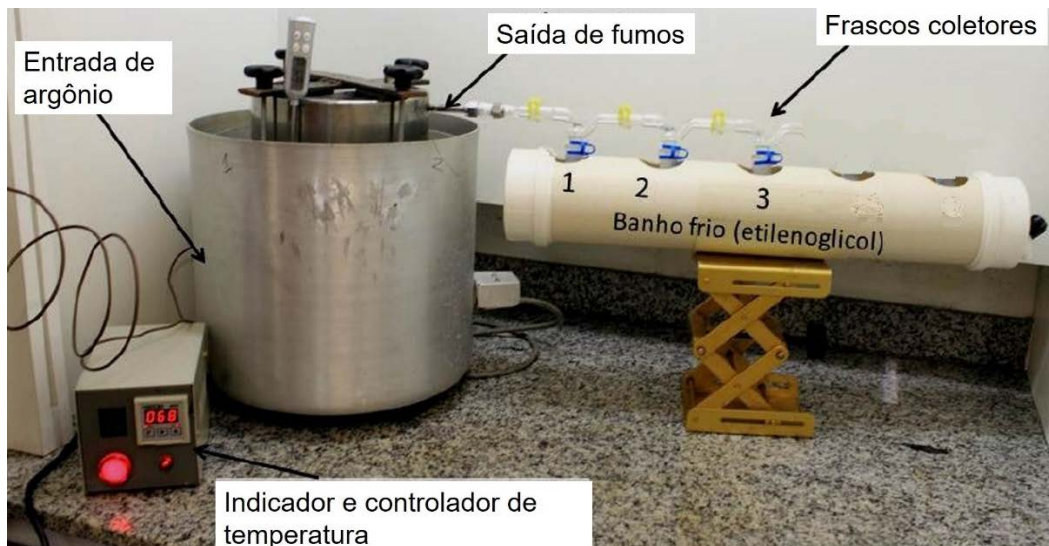
Uma segunda possibilidade leva em consideração a operação dos métodos utilizados. As análises com detecção por espectrometria de massas contam com uma etapa de ionização, em que uma fonte de íons através de mecanismos distintos ioniza as espécies em análise. O método desenvolvido por Silveira et al. (2017) utiliza a fotoionização a pressão atmosférica (AAPI) como fonte de ionização. Em que um feixe

de fótons provenientes de uma lâmpada interage com o vapor formado da nebulização do solvente proveniente do sistema de cromatografia. Supõem-se que a energia proveniente da lâmpada atue na matriz, deixando os compostos livres, para posterior detecção. Enquanto que nas análises amperométricas os compostos organossulfurados continuam confinados da matriz. Impedindo que o enxofre se adsorva no eletrodo e seja detectado.

#### 4.4.2 Extração em fase gasosa via DEC

A extração via DEC foi uma metodologia alternativa para a determinação dos compostos organossulfurados. Visto que este foi construído com o intuito de extrair os fumos do ligante asfáltico através do aquecimento, acreditou-se que as condições drásticas aplicadas por este fossem suficientes para extrair os analitos. Uma imagem do DEC em funcionamento pode ser vista na Figura 22.

Figura 22: Vista frontal do DEC em funcionamento.

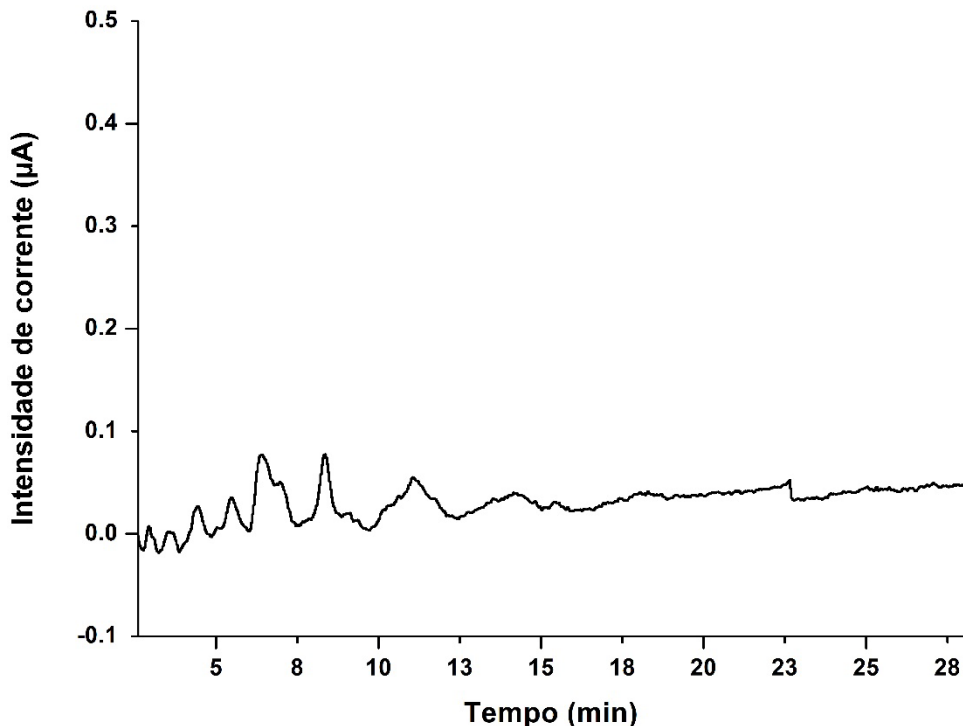


Fonte: adaptado de Ferraz (2015).

Para isto, uma amostra foi submetida a uma extração de 4 horas, a uma temperatura controlada de 250 a 260°C. O conteúdo dos 3 frascos coletores foi filtrado e em seguida analisados através do método proposto e pode se verificar a presença de sinais cromatográficos. Evidenciando que o DEC foi capaz de extrair compostos

eletroativos da amostra, e estes foram coletados nos frascos coletores, como mostrado na Figura 23, em que foi analisado o conteúdo do primeiro frasco coletor.

Figura 23 - Perfil cromatográfico correspondente a amostra pós extração pelo DEC (1º frasco coletor), nas condições: fase reversa – coluna bifenil, fase móvel acetato amônio 10 mmol L<sup>-1</sup> (pH 3,50); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção: +0,9 V (0,4 s); potenciais de limpeza: +1,1 V (0,4 s) e -0,2 V (1,2 s). Fluxo: 1,0 mL min<sup>-1</sup>; temperatura: 27°C.

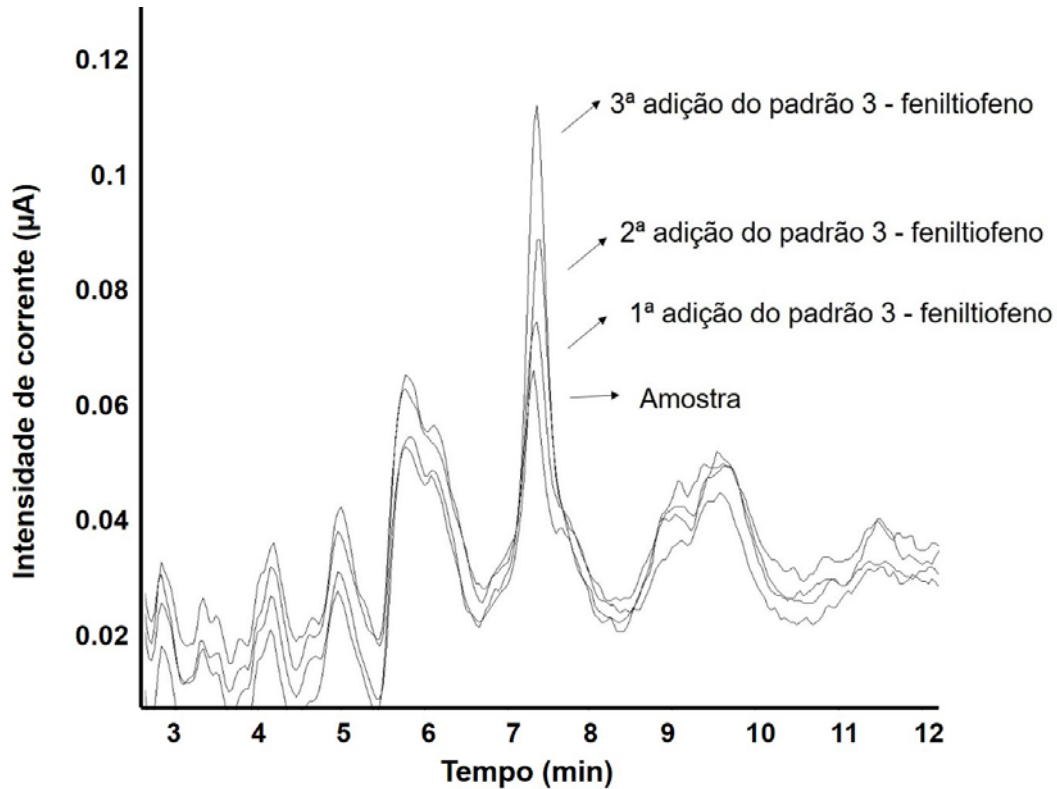


Fonte: autora.

Foi realizada uma diluição 1:2 (V/V) da amostra na fase móvel, e o perfil cromatográfico se manteve o mesmo, porém a área dos picos diminuiu. Evidenciando que os sinais obtidos são de compostos da amostra.

Dentre os sinais obtidos, pode se destacar um pico em 8 minutos, cujo tempo de retenção corresponde ao composto 3 -feniltiofeno. Este pode então ser quantificado, através da adição de padrão na amostra, e posterior construção de uma curva de calibração. Os cromatogramas sobrepostos confirmam a identidade do composto, como pode se verificar na Figura 24.

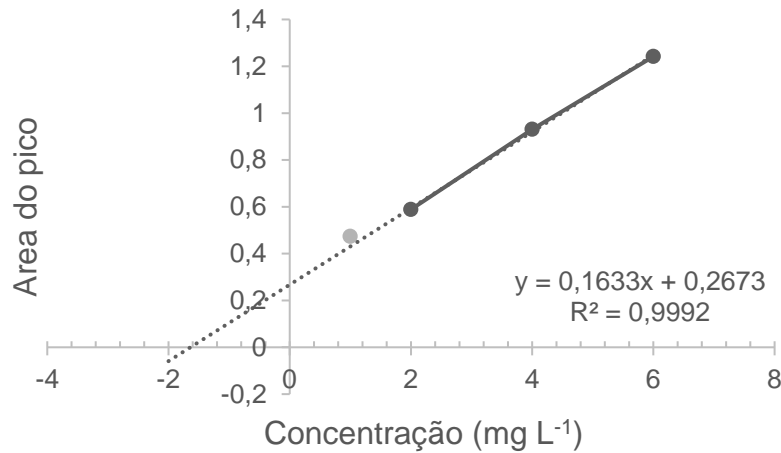
Figura 24 - Perfil cromatográfico correspondente a amostra pós extração pelo DEC (1º frasco coletor). Condições otimizadas: Fase reversa – bifenil, fase móvel acetato de amônio 10 mmol L<sup>-1</sup> (pH 3,50); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção: +0,9 V (0,4 s); potenciais de limpeza: +1,1 V (0,4 s) e -0,2 V (1,2 s). Fluxo: 1,0 mL min<sup>-1</sup>; temperatura: 27°C.



Fonte: autora.

Foi utilizado o método de adição do padrão para a quantificação do 3-feniltiofeno conforme pode ser visto no gráfico da Figura 25. De acordo com a quantificação realizada na amostra, foi detectada uma concentração de 0,160 mg kg<sup>-1</sup> de 3 - feniltiofeno na amostra.

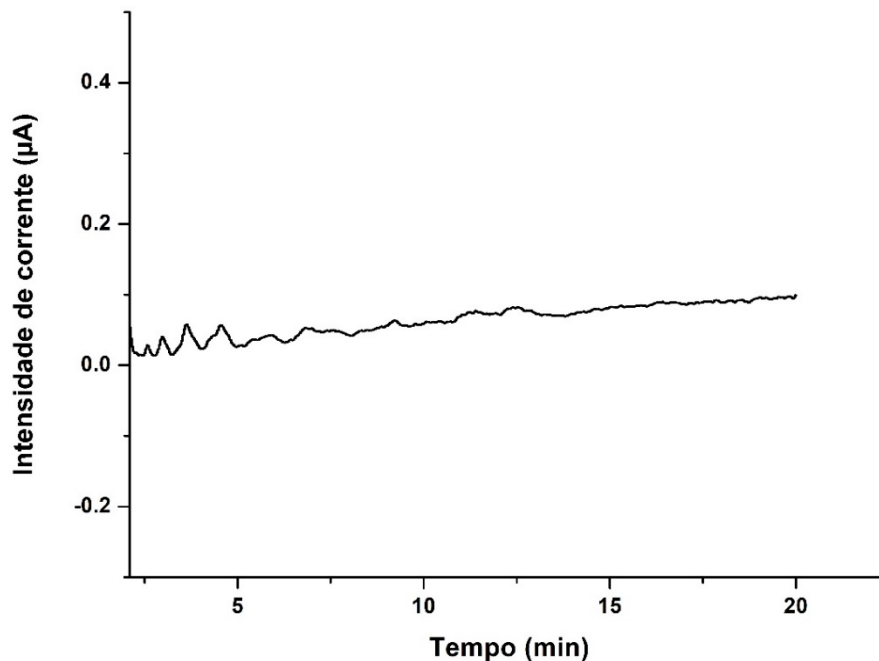
Figura 25 - Curva adição do padrão, 3 - feniltiofeno, sobre a amostra extraída pelo DEC (1º frasco coletor).



Fonte: autora.

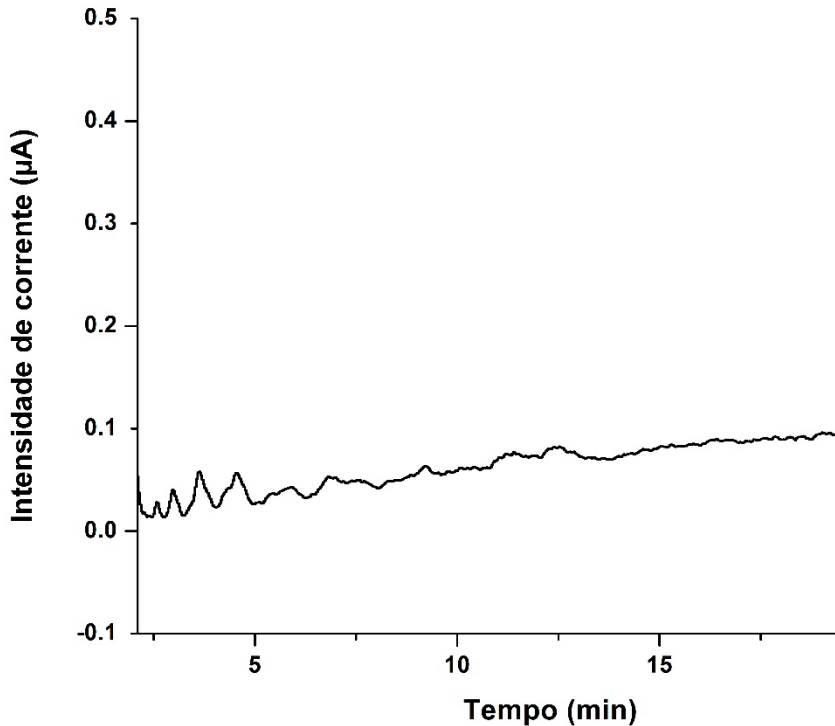
Foi realizada a análise do conteúdo dos frascos coletores 2 e 3, em que também pode ser verificada a presença de compostos eletroativos. Porém nenhum destes parece ser dos compostos organossulfurados do método. Como pode ser visualizado nas Figuras 26 e 27.

Figura 26 - Perfil cromatográfico correspondente a amostra pós extração pelo DEC (2º frasco coletor). Condições otimizadas: Fase reversa – bifenil, fase móvel acetato de amônio 10 mmol L<sup>-1</sup> (pH 3.5); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção: +0,9 V (0,4 s); potenciais de limpeza: +1,1 V (0,4 s) e -0,2 V (1,2 s). Fluxo: 1,0 mL min<sup>-1</sup>; temperatura: 27°C.



Fonte: autora.

Figura 27 - Perfil cromatográfico correspondente a amostra pós extração pelo DEC (3º frasco coletor). Condições otimizadas: Fase reversa – bifenil, fase móvel acetato de amônio 10 mmol L<sup>-1</sup> (pH 3.5); metanol 65 % (v/v); potencial de detecção: +0,9 V (0,4 s); potenciais de limpeza: +1,1 V (0,4 s) e -0,2 V (1,2 s). Fluxo: 1,0 mL min<sup>-1</sup>; temperatura: 27°C.



Fonte: autora.

A partir das análises do conteúdo dos frascos coletores, ficou comprovada a eficiência do DEC em remover compostos voláteis e eletroativos da amostra bruta de cimento asfáltico de petróleo.

Além disto, o aparecimento de compostos sulfurados voláteis na amostra em questão ressalta a importância de se avaliar a presença destes compostos em análises ambientais. Corroborando com a ideia apresentada por Andersson e Achten (2015), que exprime a importância de se avaliar não somente os HPAs, mas também seus derivados, os HPAs substituídos (como os SHPAs, NHPAs e OHPAs).

## 5. CONCLUSÕES

Podemos concluir que os asfaltos são misturas altamente complexas de uma ampla variedade de compostos químicos. Estabelecendo um desafio analítico até mesmo para os métodos de separação mais modernos, em que estes são capazes de produzir informações limitadas sobre a composição destas amostras.

Buscando encontrar uma metodologia alternativa, cujas análises sejam mais acessíveis, e que produzam uma separação apropriada dos compostos e limites de detecção razoáveis. Foi proposto um método de separação cromatográfica com detecção amperométrica, que permite a detecção de 11 compostos organossulfurados.

Além disto, foi possível estudar o comportamento eletroquímico dos compostos de enxofre em eletrodos de ouro e de carbono, através de varreduras hidrodinâmicas de potencial. Os resultados obtidos estão de acordo com o encontrado na literatura, evidenciando que o processo de oxidação do enxofre no eletrodo se dá por um processo eletrocatalítico.

Também foram examinadas duas metodologias de preparo de amostras, uma delas através da extração em fase sólida e outra baseada na evaporação de compostos voláteis. Mediante este estudo, ficou comprovada a importância desta etapa na análise de compostos de matrizes complexas.

Em virtude da matriz em questão, não foi possível realizar a análise dos compostos de enxofre presentes na amostra bruta através do SPE. Porém, foi possível realizar uma a quantificação de uma amostra utilizando a extração pelo DEC, em que foi observada a presença de compostos eletroativos, incluindo o 3 - feniltiofeno, cuja concentração encontrada foi de 0,160 mg kg<sup>-1</sup>. Porém, devido à baixa seletividade do método, é necessária que seja realizada uma análise confirmatória, através de outros métodos de quantificação.

## 6 REFERÊNCIAS

ANDERSSON, J. T.; ACHTEN, C. Time to Say Goodbye to the 16 EPA PAHs? Toward an Up-to-Date Use of PACs for Environmental Purposes. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 35 p. 330–354, 2015.

ANDERSSON, J.T. Separation methods in the analysis of polycyclic aromatic sulfur heterocycles. **Environmental Analysis Handbook of Analytical Separations**, v. 3, p. 75-98, 2001.

ANDERSSON, J.T.; HEGAZI, A.H.; ROBERZ, B. Polycyclic aromatic sulfur heterocycles as information carriers in environmental studies. **Analytical and Bioanalytical chemistry**, v. 386, p. 891-905, 2006.

ANTLE, P. M. et al. A more accurate analysis of alkylated PAH and PASH and its implications in environmental forensics. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 94, p. 332–347, 2014.

BARMAN, B. N.; CEBOLLA, V. L.; MEMBRADO, L. Chromatographic Techniques for Petroleum and Related Products. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 30, p. 75–120, 2000.

BERNUCCI, L.B.; MOTTA, L.M.G.; CERATTI, J.A.P. **Pavimentação asfáltica – Formação básica para engenheiros** – Rio de Janeiro: PETROBRAS: ADEBA, 3ª Reimpressão, 2010.

BRANTHAVER, J. F.; HUANG, S. C. **Analytical separation methods in asphalt research**. In: Woodhead Publishing Series. Advances in Asphalt Materials. Elsevier Ltd., Cambridge, 2015, cap 2, p. 31-57.

CARVALHO, L.M. et al. Distribution of total sulfur in acidic, basic, and neutral fractions on Brazilian asphalt cements and its relationship to aging process. **Energy & Fuel**, v. 29, p. 1431-1437, 2015.

CARVALHO, L. M. et al. Pulsed amperometric detection (PAD) of diuretic drugs in herbal formulations using a gold electrode following ion-pair chromatographic separation. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 17, p. 1601–1608, 2013.

CARVALHO, L. M. et al. Distribution of sulfur compounds in Brazilian asphalt cements and its relationship to short-term and long-term aging processes. **Construction and Building Materials**, v. 117, p. 72–79, 2016.

CEBOLLA, V. L.; MEMBRADO, L.; VELA, J. **Petroleum products - liquid chromatography**. Elsevier Inc., 2013.

CHAKHMAKHCHEV, A.; SUZUKI, M.; TAKAYAMA, K. Distribution of alkylated dibenzothiophenes in petroleum as a tool for maturity assessments. **Organic Geochemistry**, v. 26, p. 483–490, 1997.



CLAUSSEN, L. E. **Compostos sulfurados em asfalto: influência do processo de envelhecimento na composição das frações maltênicas e asfálticas**. 2013. Dissertação (Mestrado em Química Analítica – Programa de Pós-Graduação em Química), Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Santa Maria, RS, 2013.

CRAVO, M. C. C. **Efeitos Do Envelhecimento Térmico E Fotoquímico Em Ligantes Asfálticos, Mástique E Matriz De Agregados Finos**. Tese de doutorado, Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e pesquisa de engenharia (COPPE). Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, 2016.

DOMÉNECH-CARBÓ, A. et al. Polythiophenes as markers of asphalt and archaeological tar pitch aging. Characterization using solid-state electrochemistry. **Electrochemistry Communications**, v. 87, p. 18–21, 2018.

FARAH, M. A. **Petróleo e seus derivados: definição, constituição, aplicação, especificações, características de qualidade**. LTC livros técnicos científicos editora Ltda. 2015, p 234 – 236.

FERRAZ, L. M. R. **Desenvolvimento de dispositivo para extração e coleta de fumos de asfalto e aplicação na determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos**. 2015. 135 f. Tese (Doutorado em Química)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2015.

FERNÁNDEZ-GÓMEZ, W. D. et al. The effects of environmental aging on Colombian asphalts. **Fuel**, v. 115, p. 321–328, 2014.

FLANAGAN, R. J.; PERRETT, D.; WELPTON, R. **Electrochemical Detection in HPLC, Analysis of drugs and poisons**, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2005.

GODÍNEZ, L. A. Substratos modificados con monocapas autoensambladas: dispositivos para fabricar sensores y estudiar procesos químicos y fisicoquímicos interfaciales. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 43, p. 219–229, 1999.

GOULARTE, R. G. **Determinação voltamétrica de tiofenos e Sulfetos em matrizes asfálticas empregando Eletrodo de ouro em meio não aquoso**. 2016. Dissertação (Mestrado em Química Analítica – Programa de Pós-Graduação em Química), Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Santa Maria, RS, 2016.

GREEN, J. B. et al. Analysis of Sulfur Compound Types in Asphalt. **Energy and Fuels**, v. 7, p. 119–126, 1993.

HADDAD, P. R.; JACKSON, P.E. **Ion Chromatography: Principles and Applications**. Elsevier, 1990, p 8-35.

HAN, Y. et al. Molecular characterization of sulfur-containing compounds in petroleum. **Fuel**, v. 221, p. 144–158, 2018.

HEGAZI, A. H.; FATHALLA, E. M.; ANDERSSON, J. T. Environmentally weathered residues source diagnostic by high-molecular-weight polycyclic aromatic sulphur heterocycles. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 96,

p. 1469–1479, 2016.

INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Orientação sobre validação de métodos analíticos. Revisão 5, 2016. Disponível em: [http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8\\_05.pdf](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_05.pdf)  
Acesso em: 20 jun 2018.

JOHNSON, D. C. et al. Pulsed amperometric detection of carbohydrates , amines and sulfur species in ion chromatography- the current state of research. **Journal of Chromatography**, v. 640, p. 79–96, 1993.

JOHNSON, D. C.; LACOURSE, W. R. Liquid chromatography with pulsed electrochemical detection at gold and platinum electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 62, p. 589A–597A, 1990.

KATAOKA, H. **Sample preparation for liquid chromatography**. In: Liquid Chromatography - Handbooks in Separation Science Series. Elsevier Ltd., Cambridge, 2017, cap 1, p. 1-37.

KOMSTA, Ł. et al. Salting-Out Chromatography – A Practical Review. **Acta Chromatographica**, v. 232, p. 191–203, 2011.

LACOURSE, W. R.; DASENBROCK, C. O. Pulsed electrochemical detection of sulfur-containing antibiotics following high performance liquid chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 19, p. 239–252, 1999.

LACOURSE, W. R.; MODI, S. J. Microelectrode applications of pulsed electrochemical detection. **Electroanalysis**, v. 17, p. 1141–1152, 2005.

LACOURSE, W. R.; OWENS, G. S. Pulsed electrochemical detection of thiocompounds following microchromatographic separations. **Analytica Chimica Acta**, v. 307, p. 301–319, 1995.

LEE, J. W.; YEO, I. H. Integrated pulsed amperometry for the analysis of organic compounds. **Microchemical Journal**, v. 70, p. 173–177, 2001.

LEITE, L.F. **Estudo de preparo e caracterização de asfaltos modificados por polímeros**. Tese de Doutorado, instituto de macromoléculas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRS, Rio de Janeiro, RJ, 1999.

LINK, D. D. et al. Identification Techniques for the Characterization of the Sulfur Components of JP-8 Aviation Fuel. **Energy**, n. 3, p. 1292–1302, 2003.

LONG, W.; MACK, A. Comparison of selectivity differences among different Agilent ZORBAX Phenyl columns using acetonitrile or methanol. **Agilent Technologies Publication**, p. 12, 2009.

MCKENNA, A. M. et al. Heavy petroleum composition. 2. Progression of the boduszynski model to the limit of distillation by ultrahigh-resolution FT-ICR mass spectrometry. **Energy and Fuels**, v. 24, p. 2939–2946, 2010.

MCKENNA, A. M.; MARSHALL, A. G.; RODGERS, R. P. Heavy petroleum composition. 4. Asphaltene compositional space. **Energy and Fuels**, v. 27, p. 1257–1267, 2013.

METROHM, Manual 8.110.8004EN Metrohm ion analysis. IC Equipment Set variocell for Bioscan 6.5.331.1x0, 2007.

MOUSTAFA, N. E.; ANDERSSON, J. T. Analysis of polycyclic aromatic sulfur heterocycles in Egyptian petroleum condensate and volatile oils by gas chromatography with atomic emission detection. **Fuel Processing Technology**, v. 92, p. 547–555, 2011.

NASCIMENTO, P.C. et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in fractions in asphalt mixture using liquid chromatography coupled to mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization. **Journal of Separation Science**, v. 38, p. 2238-2244, 2015

NIZIO, K. D.; MCGINITIE, T. M.; HARYNUK, J. J. Comprehensive multidimensional separations for the analysis of petroleum. **Journal of Chromatography A**, v. 1255, p. 12–23, 2012.

PAN, J. et al. Analytica Chimica Acta Review of online coupling of sample preparation techniques with liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 815, p. 1–15, 2014.

PANDA, S. K.; ANDERSSON, J. T.; SCHRADER, W. Characterization of supercomplex crude oil mixtures: What is really in there? **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 48, p. 1788–1791, 2009.

PENSA, E. et al. The chemistry of the sulfur-gold interface: In search of a unified model. **Accounts of Chemical Research**, v. 45, p. 1183–1192, 2012.

PETERSEN, J.C. A review of the fundamentals of asphalt oxidation. Chemical, physicochemical, physical property, and durability relationships. **Transportation Research Circular**, n. E-C140, NW. Washington, DC 20001, 2009.

PETERSEN, J.C.; HARNSBERGER, P.M. Asphalt Aging: Dual Oxidation Mechanism and its interrelationships with asphalt composition and oxidative age hardening. **Journal of the transportation research board**, v. 1638, n. 98-0289, p. 47-55, 1998.

PURCELL, J. M. et al. Sulfur speciation in petroleum: atmospheric pressure photoionization or chemical derivatization and electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. **Energy & Fuel**, v. 21, p. 2869-2874, 2007.

REBELO, L.M.; SOUSA, J.S.; ABREU, A.S. Aging of asphaltic binders investigated with atomic force microscopy. **Fuel**, v. 117, p. 15-25, 2014.

REDELIUS, P.; SOENEN, H. Relation between bitumen chemistry and performance. **Fuel**, v.140, p. 34-43, 2015.

RUDZINSKI, W.E.; ZHANG, Y.; LUO, X. Mass spectrometry of polyaromatic sulfur compounds in the presence of palladium (II). **Journal of mass spectrometry**, v. 38, p. 167-173, 2003.

SILVEIRA, G. D. et al. A liquid chromatography–atmospheric pressure photoionization tandem mass spectrometric method for the determination of organosulfur compounds in petroleum asphalt cements. **Journal of Chromatography A**, v. 1457, p. 29–40, 2016.

SILVEIRA, G. D. et al. A cleanup method using solid phase extraction for the determination of organosulfur compounds in petroleum asphalt cements. **Fuel**, v. 202, p. 206–215, 2017.

SILVEIRA, G. D. et al. Evaluation of aging processes of petroleum asphalt cements by solid state electrochemical monitoring. **Electrochimica Acta**, v. 270, p. 461–470, 2018.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; DOLAN, J. W. **Introduction to modern liquid chromatography**. 3rd. John Wiley & Sons, 2009.

SPEIGHT, J. G. **Handbook of petroleum product analysis**. Wiley-interscience. 2002. Pag 323 – 331.

STANISLAUS, A.; MARAFI, A.; RANA, M. S. Recent advances in the science and technology of ultra low sulfur diesel (ULSD) production. **Catalysis Today**, v. 153, p. 1–68, 2010.

STEVENSON, P. G. et al. Effects of  $\pi$ - $\pi$  interactions on the separation of PAHs on phenyl-type stationary phases. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 31, p. 324–347, 2008.

TROJANOWICZ, M. Recent developments in electrochemical flow detections-A review Part II. Liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 688, p. 8–35, 2011.

VANDEBERG, P. J. **Pulsed electrochemical detection of organic sulfur compounds at gold electrodes**. Tese de doutorado, Iowa State University, Ames, Iowa. 1993.

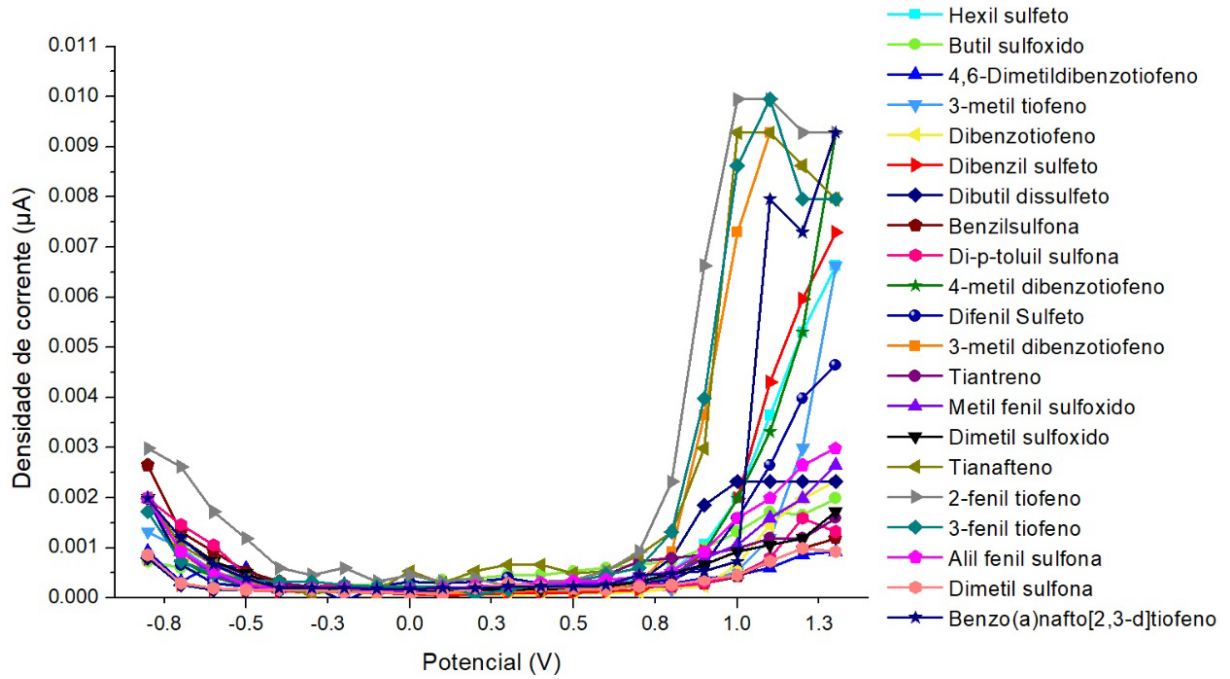
VERICAT, C. et al. Surface characterization of sulfur and alkanethiol self-assembled monolayers on Au(111). **Journal of Physics Condensed Matter**, v. 18, p. 867-900, 2006.

ZELINSKY, A. G.; PIROGOV, B. Y. Electrochemical oxidation of sulfite and sulfur dioxide at a renewable graphite electrode. **Electrochimica Acta**, v. 231, p. 371–378, 2017.

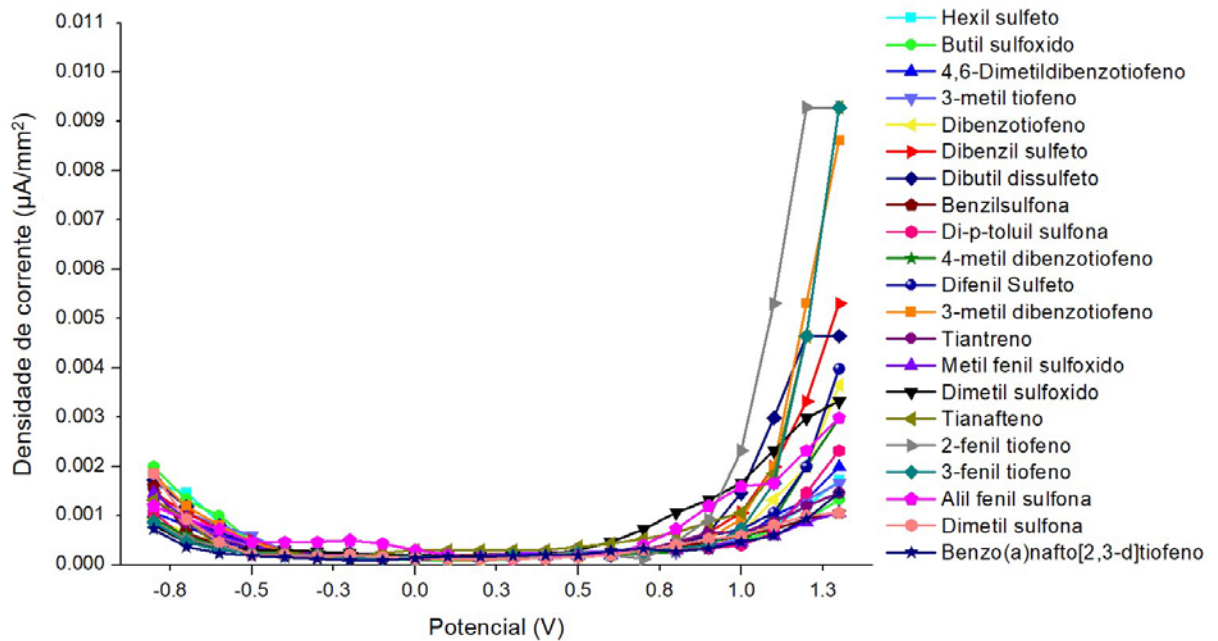
## APÊNDICE

### APÊNDICE A – Gráficos referentes as varreduras hidrodinâmicas

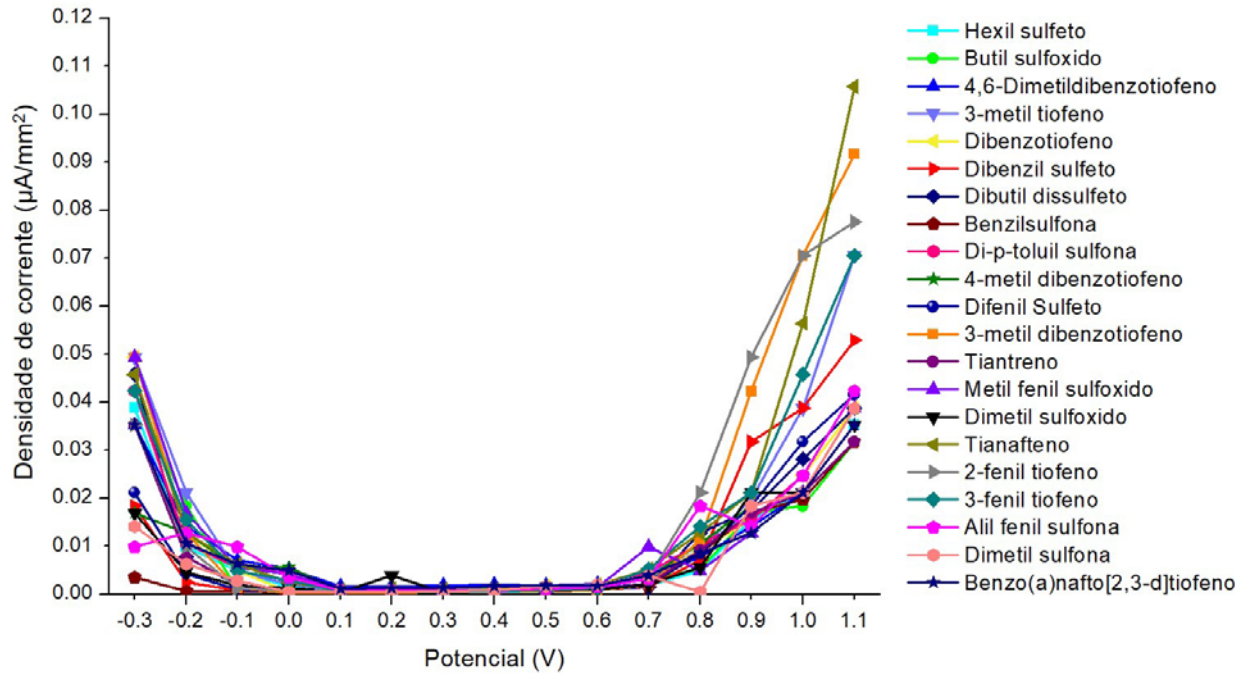
#### Eletrodo de Carbono – pH 4,00



#### Eletrodo de Carbono – pH 7,00



### Eletrodo de Ouro – pH 4,00



### Eletrodo de Ouro – pH 7,00

