

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

Igor Martinez Tessele

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS SULFURADOS EM AMOSTRAS
DE LIGANTE ASFÁLTICO EMPREGANDO CROMATOGRAFIA
LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA COM DETECÇÃO POR ARRANJO
DE FOTODIODOS**

Santa Maria, RS
2019

Igor Martinez Tessele

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS SULFURADOS EM AMOSTRAS
DELIGANTE ASFÁLTICO EMPREGANDO CROMATOGRAFIA
LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA COM DETECÇÃO POR ARRANJO
DE FOTODIODOS**

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
2019

Martinez Tessele, Igor

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS SULFURADOS EM AMOSTRAS DE
LIGANTE ASFÁLTICO EMPREGANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE
ALTA EFICIÊNCIA COM DETECÇÃO POR ARRANJO DE FOTODIODOS /
Igor Martinez Tessele.- 2019.

82 p.; 30 cm

Orientador: Leandro Machado de Carvalho
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Química, RS, 2019

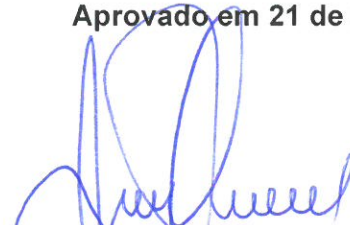
1. Asfalto de petróleo 2. Envelhecimento 3. Emissão de
contaminantes 4. Compostos organossulfurados 5.
Cromatografia líquida com detecção por arranjo de
fotodiodos I. Machado de Carvalho, Leandro II. Título.

Igor Martinez Tessele

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS SULFURADOS EM AMOSTRAS DE
LIGANTE ASFÁLTICO EMPREGANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE
ALTA EFICIÊNCIA COM DETECÇÃO POR ARRANJO DE FOTODIODOS**

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 21 de março de 2019:



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



Sérgio Roberto Mortari, Dr. (UNF)



Paulo Cícero do Nascimento, Dr. (UFSM)

Santa Maria, RS
2019

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, professor Leandro Machado, pela oportunidade, pela confiança, por todo aprendizado ao longo desta trajetória.

Aos demais professores, por todo suporte e ensinamentos.

Aos colegas de laboratório, por todo apoio.

A família, por todo apoio.

*“As if all this was something more
than another footnote on a postcard from nowhere
another chapter in the handbook for exercises in futility...”*

Mgla - Exercices in Futility VI

RESUMO

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS SULFURADOS EM AMOSTRAS DE ASFALTO DE PETRÓLEO EMPREGANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA COM DETECÇÃO POR ARRANJO DE FOTODIODOS

AUTOR: Igor Martinez Tessele
ORIENTADOR: Leandro Machado de Carvalho

A presença de compostos organossulfurados em asfaltos derivados de petróleo está relacionada a diversas características negativas, como o envenenamento de catalisadores e a corrosão de equipamentos durante o processo de refino, além da aceleração dos processos de envelhecimento, diminuindo a vida útil deste material na pavimentação asfáltica, levando a um grande impacto econômico, visto que o cimento asfáltico de petróleo é o material mais utilizado no mundo para este fim. Além disso, estudos recentes mostram que os compostos sulfurados são emitidos nos fumos do asfalto, podendo ser um grande poluidor ambiental, e causando ainda a intoxicação dos trabalhadores durante a aplicação, pois é nesta etapa que os fumos são emitidos em maior quantidade, e sabe-se do grande potencial carcinogênico e mutagênico que essas moléculas possuem. Nesse contexto, o desenvolvimento de uma metodologia de determinação de compostos organossulfurados em matrizes asfálticas foi feito utilizando a técnica analítica de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de fotodiodos (CLAE –DAD). Foi escolhido um grupo de compostos organossulfurados que são presentes em derivados de petróleo, podendo ser utilizados como marcadores de poluição em análises ambientais, marcadores geológicos e possíveis agentes causadores do envelhecimento. O método foi validado, e permitiu a separação e detecção de 16 analitos, com baixos limites de detecção. Diferentes abordagens de preparo de amostra foram estudadas, tendo em vista a alta complexidade da matriz. A limpeza com cartuchos de extração em fase sólida (SPE) foi realizada em frações asfálticas obtidas pelas metodologias de fracionamento de Green e Payzant. Com o uso do dispositivo de extração e coleta (DEC) foi possível identificar e quantificar o composto tianafteno na forma de voláteis, na concentração de 7,62 mg kg⁻¹. Os resultados obtidos mostraram que o DEC é mais apropriado para o estudo desta matriz, e que novos estudos utilizando diferentes metodologias de limpeza devem ser realizados, a fim de obter os analitos livres da matriz.

Palavras chave: Asfalto de petróleo. Envelhecimento. Emissão de contaminantes. Compostos Organossulfurados. Cromatografia líquida. Limpeza do asfalto. Detecção por arranjo de fotodiodos.

ABSTRACT

DETERMINATION OF SULFUR COMPOUNDS IN PETROLEUM ASPHALT SAMPLES USING HIGH EFFICIENCY LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH DIODE ARRAY DETECTION

AUTHOR: Igor Martinez Tessele
ADVISOR: Leandro Machado de Carvalho

The presence of organosulfur compounds in petroleum-derived asphalts is related to several negative characteristics, such as catalyst poisoning and corrosion of equipment during the refining process, as well the acceleration of aging processes, reducing the useful life of this material in the asphalt pavement, leading to a great economic impact, since the asphalt oil cement is the most widely used material in the world for this purpose. In addition, recent studies have shown that sulfur compounds are emitted in asphalt fumes, which can be a major environmental pollutant, and cause intoxication to the workers during application, because it is at this stage that fumes are emitted in greater quantity, and it is well known the great carcinogenic and mutagenic potential that these molecules possess. In this context, the development of a methodology for the determination of organosulfur compounds in asphalt matrices was done using the analytical technique high performance liquid chromatography with diode array detector (HPLC - DAD). A group of organosulfur compounds that are present in petroleum derivatives were chosen and could be used as pollution markers in environmental analyzes, geological markers and possible aging agents. The method was validated, allowing the separation and detection of 16 analytes, with low detection limits. Different approaches to sample preparation were studied in view of the high complexity of the matrix. The cleaning with solid phase extraction (SPE) cartridges carried out in asphalt fractions obtained by the Green and Payzant fractionation methodologies. With the use of the extraction and collection device (DEC) it was possible to identify and quantify the compound tianaftene in the form of volatiles, in the concentration of 7.62 mg kg⁻¹. The obtained results showed that the DEC is more appropriate for the study of this matrix, and that new studies using different cleaning methodologies must be done in order to obtain the analytes free in the matrix.

Keywords: Oil asphalt. Aging. Organosulfur compounds. Emission of contaminants
Liquid chromatography. Asphalt cleaning. Diode array detection.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema de obtenção do cimento asfáltico de petróleo a partir da destilação do óleo cru.....	20
Figura 2 - Molécula hipotética de asfalto.....	22
Figura 3 - Modelo micelar do asfalto.....	23
Figura 4 - Modelos de compostos organossulfurados encontrados no petróleo.....	25
Figura 5 - Modelo de cromatograma típico obtido com o uso da técnica de cromatografia líquida acoplada a um detector por arranjo de diodos.....	31
Figura 6 - Diagrama esquemático do sistema UHPLC-DAD usado na separação cromatográfica dos compostos organossulfurados.....	33
Figura 7 - Estrutura dos compostos organossulfurados utilizados neste trabalho.....	35
Figura 8 - Fluxograma etapa 1 e 2 - oxidação de sulfetos a sulfóxidos e oxidação de sulfetos a sulfonas.....	37
Figura 9 - Fluxograma etapa 3 e 4: redução da fração sulfonas a compostos tiofênicos e redução de sulfóxidos a sulfetos alifáticos.....	38
Figura 10 - Fluxograma de separação do asfalto em maltenos e asfaltenos.....	39
Figura 11 - Fluxograma de separação do asfalto frações ácidas, básicas e neutras, representação das colunas utilizadas (MP-1 e MP-50) e suas composições químicas.....	41
Figura 12 - Procedimento de limpeza da amostra utilizando a extração em fase sólida.....	42
Figura 13 - Dispositivo de extração e coleta - DEC.....	43
Figura 14 - Estrutura dos compostos que não apresentaram sinal no detector por arranjo de fotodiodos.....	49
Figura 15 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm com as condições iniciais. Picos - 1: injeção, 2: metil fenil sulfóxido, 3: acetonitrila 4: alil fenil sulfona, 5: benzil sulfona, 6: 3 metil tiofeno, 7: di-p-toluil sulfona, 8: tianafteno, 9: 3 fenil tiofeno, 10: 3 metil benzotiofeno, 11: 2 fenil tiofeno, 12: fenil sulfeto, 13: dibenzotiofeno, 14: dibenzil sulfeto, 15: tiantreno, 16: 4 metil dibenzotiofeno, 17: benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno, 18: 4,6 dimetil dibenzotiofeno, todos em concentração de 10 mg/L volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 3.....	51
Figura 16 - Fórmula da resolução entre picos cromatográficos.....	55
Figura 17 - Resolução entre picos dos compostos analisados (5 mg.L ⁻¹ cada). Picos - 1: injeção, 2: metil fenil sulfóxido, 3: acetonitrila 4: alil fenil sulfona, 5: benzil sulfona, 6: 3 metil tiofeno, 7: di-p-toluil sulfona, 8: tianafteno, 9: 3 fenil tiofeno, 10: 3 metil benzotiofeno, 11: 2 fenil tiofeno, 12: fenil sulfeto, 13: dibenzotiofeno, 14: dibenzil sulfeto, 15: tiantreno, 16: 4 metil dibenzotiofeno, 17: benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno, 18: 4,6 dimetil dibenzotiofenovolume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.....	56
Figura 18 - Espectros de absorção ultravioleta dos compostos utilizados neste trabalho ao longo da corrida cromatográfica.....	57
Figura 19 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 215 nm dos compostos estudados. Picos - 1: metil fenil sulfóxido, 2: alil fenil sulfona, 3: benzil sulfona, 4: 3 metil tiofeno, 5: di-p-toluil sulfona, 6: tianafteno, 7: 3 fenil tiofeno, 8: 3 metil benzotiofeno, 9: 2 fenil tiofeno, 10: fenil sulfeto, 11: dibenzotiofeno, 12: dibenzil sulfeto, 13: tiantreno, 14: 4 metil dibenzotiofeno, 15: benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno, 16: 4,6 dimetil dibenzotiofeno, todos em concentração de 5 mg/L volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.....	59
Figura 20 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm dos compostos estudados. Picos - 1: metil fenil sulfóxido, 2: alil fenil sulfona, 3: benzil sulfona, 4: 3 metil tiofeno, 5: di-p-toluil sulfona, 6: tianafteno, 7: 3 fenil tiofeno, 8: 3 metil benzotiofeno, 9: 2 fenil tiofeno, 10: fenil sulfeto, 11: dibenzotiofeno, 12: dibenzil sulfeto, 13: tiantreno, 14: 4 metil dibenzotiofeno, 15: benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno, 16: 4,6 dimetil dibenzotiofeno,todos em concentração de 5 mg/L,volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.....	59
Figura 21 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 250 nm dos compostos estudados. Picos - 1: metil fenil sulfóxido, 2: alil fenil sulfona, 3: benzil sulfona, 4: 3 metil tiofeno, 5:	

di-p-toluil sulfona, 6: tianafteno, 7: 3 fenil tiofeno, 8: 3 metil benzotiofeno, 9: 2 fenil tiofeno, 10: fenil sulfeto, 11: dibenzotiofeno, 12: dibenzil sulfeto, 13: tiantreno, 14: 4 metil dibenzotiofeno, 15: benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno, 16: 4,6 dimetil dibenzotiofeno, todos em concentração de 5 mg/L, volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.....	60
Figura 22 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm da fração saturados aromáticos da amostra de cimento asfáltico REGAP 50/70 (diluída 1:1 em metanol), previamente submetida ao procedimento de extração em fase sólida. Volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.....	65
Figura 23 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm da fração saturados aromáticos da amostra de cimento asfáltico REGAP 50/70 (diluída 1:1 em metanol), previamente submetida ao procedimento de extração em fase sólida em verde. Em azul, cromatograma obtido após a fortificação da mesma amostra com 2 mg.L ⁻¹ de cada composto estudado. Volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.....	66
Figura 24 - Em preto, espectro de absorção do composto encontrado na amostra com mesmo tempo de retenção do di-p-toluil sulfona. Em azul, espectro de absorção do composto di-p-toluil sulfona.	67
Figura 25 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm da fração saturados aromáticos pelo método de Green da amostra de cimento asfáltico REGAP 50/70 (diluída 1:1 em metanol), sem a utilização da extração em fase sólida para a limpeza da amostra. Volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.	68
Figura 26 - Dispositivo de extração e coleta (DEC) em funcionamento.	69
Figura 27 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm da amostra de cimento asfáltico REGAP 50/70 pós extração pelo DEC (1° frasco coletor). Volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.	70
Figura 28 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm da amostra de cimento asfáltico REGAP 50/70 pós extração pelo DEC (1° frasco coletor), com adições do padrão tianafteno. Volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.	72
Figura 29 - Espectro de absorção do composto encontrado na amostra no tempo mesmo tempo de retenção do tianafteno e cruzamento com o espectro de absorção de adições feitas na amostra de tianafteno (0,05 mg.L ⁻¹ cada).	72
Figura 30 – Curva de adição do padrão, tianafteno, sobre a amostra REGAP 50/70 extraída pelo DEC (1° frasco coletor).	73
Figura 31 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm da amostra de cimento asfáltico REGAP 50/70 pós extração pelo DEC (2° frasco coletor). Volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produtos da destilação do petróleo, número de carbonos e ponto de ebulição. .	19
Tabela 2 - Parâmetros cromatográficos e condições analíticas para a separação de compostos organossulfurados por UHPLC-DAD.....	45
Tabela 3 - Condições iniciais da metodologia analítica.....	48
Tabela 4 - Ordem de eluição e estrutura dos compostos estudados.	52
Tabela 5 - Parâmetros da metodologia otimizada.....	55
Tabela 6 - Comprimentos de onda de maior absorção para os compostos analisados.....	58
Tabela 7 - Faixa linear dos compostos estudados.....	61
Tabela 8 - Limites de detecção e quantificação para compostos de enxofre em estudo.....	62
Tabela 9 - Precisão e exatidão do método desenvolvido.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAP	Cimento Asfáltico de Petróleo
DEC	Dispositivo de Extração e Coleta
HPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
HPLC-DAD	<i>High Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection</i>
NHPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos Nitrogenados
OHPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos Oxigenados
PTFE	Politetrafluoretileno
SHPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos Sulfurados
APPI	Fotoionização a pressão atmosférica, do inglês Atmospheric pressure photo ionization
ANP	Agência Nacional do petróleo
ESI	Ionização por eletrospray, do inglês Electrospray ionization
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas
LC-MS/MS	Cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
RSD	Desvio padrão relativo
SPE	Extração em fase sólida
UV	Ultravioleta
UHPLC	Cromatografia líquida de ultra alta eficiência

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	18
2.1	Objetivo geral	18
2.2	Objetivos específicos.....	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1	Asfalto	19
3.2	Composição química dos CAPs	21
3.3	Compostos de enxofre em CAPs	24
3.4	Fracionamento químico dos CAPs	26
3.4.1	Método SARA.....	27
3.4.2	Método gravimétrico de PAYZANT	27
3.4.3	Cromatografia Líquida de Troca-Iônica em Meio Não-Aquoso (NIELC).....	28
3.5	Métodos cromatográficos na determinação de enxofre em matrizes asfálticas	28
3.5	Cromatografia líquida de ultra alta eficiência com detecção por arranjo de fotodiodos (UHPLC-DAD).....	30
4	MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1	Instrumentação.....	33
4.2	Materiais.....	33
4.3	Reagentes e soluções	34
4.4	Amostras de cimento asfáltico de petróleo.....	35
4.4.1	Separação de compostos saturados/aromáticos, tiofenos e sulfetos	36
4.4.2	Separação em asfaltenos e maltenos	39
4.4.3	Separação de maltenos e asfaltenos em frações ácidas, básicas e neutras a partir de resinas de troca iônica.	40
4.4.4	Extração em fase sólida	42
4.4.5	Extração pelo dispositivo de extração e coleta (DEC).....	43

4.5	Procedimento analítico	44
4.5.1	Determinações por UHPLC-DAD	44
4.5.2	Parâmetros de validação	45
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	48
5.1	Desenvolvimento das condições analíticas	48
5.1.1	Otimização da separação cromatográfica	54
5.1.2	Otimização da detecção por arranjo de fotodiodos dos compostos	57
5.1.3	Avaliação de interferentes	60
5.1.4	Validação do método cromatográfico com detecção por arranjo de fotodiodos	61
5.4	Limpeza das frações asfálticas obtidas pelo método de Payzant e Green.....	63
5.4.1	Extração em fase sólida de aminopropil.....	64
5.4.2	Extração em fase gasosa via DEC	69
6	CONCLUSÕES	75
7	BIBLIOGRAFIA	76

1 INTRODUÇÃO

O cimento asfáltico de petróleo (CAP) é um material oriundo do processo da destilação do petróleo. Todo o resíduo gerado é classificado como betume, este que quando nas proporções ideais de densidade é intitulado como CAP, sendo o material mais utilizado no mundo para a pavimentação, devido a suas características físicas excepcionais para este uso (viscosidade, elasticidade, resistência térmica) (BERNUCCI et al., 2010).

Por se tratar de um material proveniente do resíduo de petróleo, sua composição química é bastante complexa, com moléculas de grande peso molecular, grande aromaticidade e diversos heteroátomos. Com isso, possui um alto ponto de ebulição e uma grande estabilidade química. Mas mesmo possuindo baixa reatividade, o ligante asfáltico é suscetível a processos de envelhecimento, tornando-o frágil e quebradiço. Isto leva a um impacto econômico muito grande, visto que o investimento necessário para a manutenção desses pavimentos é muito alto. No Brasil, esse investimento é muito baixo, levando a condições precárias da malha rodoviária, causando insatisfação dos usuários em relação ao desempenho, à segurança, apresentando sulcos e rachaduras. (BERNUCCI et al., 2010).

Durante a aplicação do CAP como pavimento, ocorre o envelhecimento de curto prazo, devido principalmente a alta temperatura necessária a aplicação (cerca de 150 C°). Este envelhecimento em curto prazo é responsável por alterações severas na estrutura do material, como o enrijecimento, levando a diminuição das propriedades de viscoelasticidade e elasticidade, como consequência, torna a pavimentação quebradiça, além de diminuir o ponto de amolecimento e a penetração. Quimicamente, o processo de envelhecimento leva a diminuição da fração maltênica (menos polar) e ao aumento da fração asfáltica (mais polar), explicando as mudanças físicas causadas ao CAP. Além disso, sabe-se que a presença de heteroátomos está envolvida nos processos de envelhecimento, facilitando os mecanismos reacionais. O enxofre, por ser o mais abundante, pode levar a conclusões interessantes sobre estes processos, através do monitoramento das diferentes espécies organossulfuradas presentes no CAP, observando a conversão química destes compostos em compostos mais oxidados, além de elencar moléculas chave como marcadoras da sua origem. (REBELO et al., 2014).

Outro ponto importante durante a aplicação do CAP como pavimento, é a emissão de fumos de asfalto para atmosfera, devido à alta temperatura utilizada. Os fumos emitidos contêm uma série de compostos poluidores (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e seus derivados nitrogenados, oxigenados e sulfurados), que além de causar a poluição do meio ambiente, podem levar a intoxicação dos trabalhadores envolvidos. A presença de compostos organossulfurados nos fumos de asfalto vêm sido comprovada em trabalhos científicos (SCHMIDT 2018), evidenciando a necessidade de uma maior prevenção durante a aplicação do material nas rodovias (ANDERSSON, 2011; NIZIO, 2006).

Dentro destes contextos, é importante que sejam desenvolvidas metodologias analíticas para determinar os compostos organossulfurados presentes nos ligantes asfálticos. Na literatura já são descritos métodos de identificação e caracterização de compostos de enxofre em ligantes asfálticos, sendo que os métodos cromatográficos são os mais utilizados (BARMAN; MEMBRADO, 2000; ANDERSSON; HEGAZI, 2006;). A cromatografia a gás acoplada ao detector por espectrometria de massas (GC-MS) é uma técnica muito poderosa para a caracterização de compostos voláteis de enxofre. Porém, essa possui limitações críticas na determinação destes compostos em derivados de petróleo, principalmente devido à alta interferência causada por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), e a baixa volatilidade dos compostos (RUDZINSKI; RAY, 2005). Com a técnica de cromatografia líquida é possível contornar estas interferências, além de ser possível determinar compostos com baixa volatilidade. É a técnica ideal para ser utilizada na determinação de compostos sulfurados em matrizes de ligante asfáltico (RUDZINSKI; RAY, 2005).

Entretanto, a alta complexidade da matriz torna o desenvolvimento de metodologias para o estudo químico bastante difícil, principalmente devido ao grande excesso de matéria orgânica, com um número muito grande de diferentes estruturas. Visto que os equipamentos mais modernos necessitam de amostras mais limpas, fica evidente a necessidade de metodologias de tratamento de amostra. A melhor maneira de estudar o CAP é com o uso de metodologias de fracionamento do asfalto, levando a frações de complexidade menor. Diversas técnicas são descritas na literatura. Através da combinação de técnicas de fracionamento do asfalto em grupamentos químicos mais simples, com o desenvolvimento de novas

metodologias analíticas para a identificação e quantificação de compostos organossulfurados, pode-se chegar a respostas importantes quanto aos processos de envelhecimento e ao risco das emissões dos fumos de asfalto ao meio ambiente e aos trabalhadores envolvidos. (GREEN, 1984; PAYZANT, 1989; GUARÇONI, 1996).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho é desenvolver uma metodologia para a determinação de compostos de enxofre presentes no ligante asfáltico através da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à detecção por arranjo de fotodiodos. Busca-se elencar possíveis marcadores químicos do envelhecimento das matrizes asfálticas, além de confirmar a emissão de compostos sulfurados nos fumos de asfalto, fazendo relações com suas toxicidades e capacidade de poluição ambiental.

2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver um método empregando a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detecção por arranjo de fotodiodos (UHPLC-DAD) para a determinação simultânea dos seguintes compostos organossulfurados em ligante asfáltico: metil fenil sulfóxido, alil fenil sulfona, benzil sulfona, 3 metil tiofeno, di-p-toluil sulfona, tianafteno, 3 fenil tiofeno, 3 metil benzotiofeno, 2 fenil tiofeno, fenil sulfeto, dibenzotiofeno, dibenzil sulfeto, tiantreno, 4 metil dibenzotiofeno, benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno e 4,6 dimetil dibenzotiofeno.

- Aplicar a metodologia desenvolvida às frações ácidas, básicas e neutras do processo de fracionamento das amostras de cimento asfáltico de petróleo desenvolvido por Green, as frações saturados aromáticos, sulfetos alifáticos e compostos tiofênicos do processo de fracionamento desenvolvido por Payzant, e ao asfalto bruto, utilizando a extração em fase sólida como metodologia de limpeza das amostras, comparando os resultados obtidos com e sem o uso desta técnica de limpeza.

- Aplicar a metodologia em extrações de compostos voláteis das amostras de cimento asfáltico de petróleo feitas com o dispositivo de extração e coleta (DEC) em amostras brutas de cimento asfáltico.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Asfalto

Ligante asfáltico, ou cimento asfáltico de petróleo (CAP), é um material obtido de forma natural, localizado em depósitos na superfície da terra, por desasfaltação ou pela destilação do petróleo nas refinarias, cujo componente principal é o betume (SENÇO, 1997; PETERSEN, 2009). A tabela 1 mostra os diferentes produtos obtidos durante o processo de destilação.

Tabela 1 - Produtos da destilação do petróleo, número de carbonos e ponto de ebulição.

Ponto de ebulição (°C)	Número de carbonos	Produto
20	1 a 4	Gás
120	5 a 10	Gasolina
170	10 a 16	Querosene
270	14 a 20	Diesel
340	20 a 50	Lubrificante
500	20 a 70	Óleo
600	Acima de 70	Asfalto

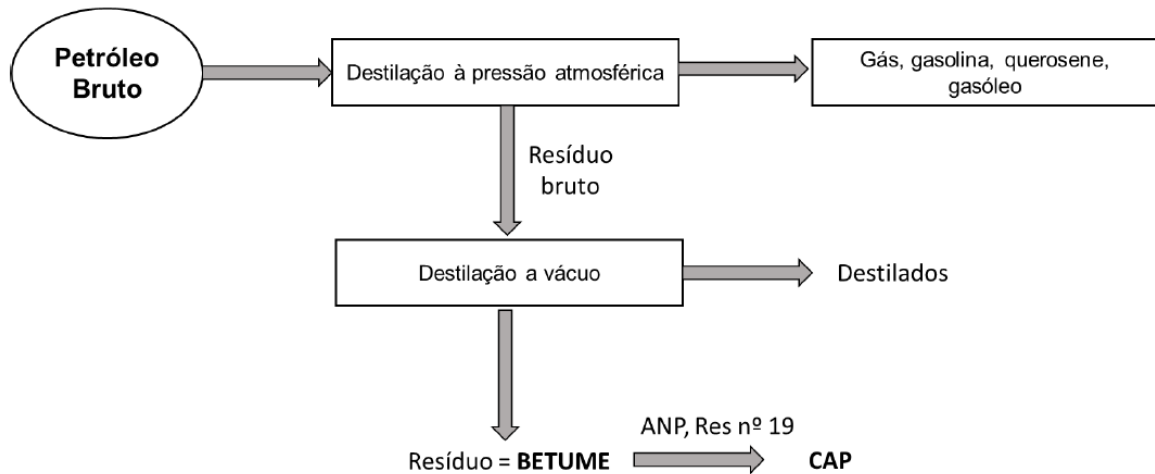
Fonte: Adaptado de SENÇO, 1997.

Antigamente, o cimento asfáltico era encontrado de forma “natural” em diversos locais do mundo, vindo de “lagos” formado de depósitos de petróleo que migraram para a superfície e após muitos processos naturais de perda e volatilização, resultaram em um material betuminoso. Mas foi somente após a produção a partir do óleo cru de petróleo que o asfalto se tornou amplamente utilizado na pavimentação, acompanhando o aumento na necessidade de rodovias em boas condições e o crescimento do uso de carros (século XX) (REBELO; SOUSA; ABREU, 2014; REDELIUS; SOENEN, 2015).

No Brasil, o CAP é obtido através da destilação do petróleo bruto. As frações mais leves (gás liquefeito de petróleo, nafta, querosene e gasóleo) são obtidas utilizando uma destilação a pressão atmosférica. O resíduo inicial obtido após este processo é então submetido a uma destilação a vácuo, evitando a decomposição dos componentes do petróleo, assim obtém-se o gasóleo de vácuo e lubrificante. Por fim, o resíduo gerado destes processos é intitulado como asfalto

(BODUSZYNSKI, 1987). O esquema da figura 1 apresenta de maneira geral e resumida a obtenção do asfalto.

Figura 1 – Esquema de obtenção do cimento asfáltico de petróleo a partir da destilação do óleo cru.



Fonte: (Adaptado de EL BEZE, 2008).

O asfalto é utilizado amplamente como ligante na pavimentação na maioria dos países, sendo que no Brasil cerca de 95% das estradas pavimentadas são de revestimento asfáltico. Este grande uso é justificado, pois este proporciona uma forte união dos agregados, isto faz com que ele haja como um ligante que permita uma boa flexibilidade, esta que pode ser controlada, além de uma alta resistência, durabilidade e impermeabilização. Existem diferentes terminologias para se referir ao ligante asfáltico, como por exemplo, asfalto e betume, que são muito encontrados na literatura. Porém, quando este material está dentro de uma determinada classificação particular, esta que é definida pela Agência Nacional do Petróleo, no qual se baseia em propriedades físicas que tem como o objetivo assegurar o bom desempenho, ele passa a ser denominado *cimento asfáltico de petróleo* (CAP) (BERNUCCI et al., 2010).

Analisando mundialmente a exploração do petróleo, observa-se a grande variedade de regiões ricas neste produto, assim as diferenças na composição são muito significativas, levando a propriedades distintas. Outro ponto importante, é que as grandes refinarias de petróleo normalmente utilizam misturas de diversos petróleos vindos de diferentes regiões do mundo, e essa combinação leva a uma diversidade nas propriedades muito significativa. O CAP é caracterizado segundo as normas brasileiro ABNT NBR e especificados pela Agência Nacional do Petróleo,

Gás Natural e Biocombustíveis - ANP. Atualmente há quatro tipos, classificados por penetração: CAP 30/45, CAP 50/70, CAP85/100 e CAP 150/200 (BERNUCCI et al., 2010).

A baixa reatividade do cimento asfáltico faz com que seja um excelente material para o uso na pavimentação de rodovias. Porém, durante seu preparo, a aplicação e uso ocorrem processos de envelhecimento, fazendo com que ocorram alterações químicas que afetam suas propriedades físicas, levando a um material duro e quebradiço, diminuindo a resistência a esforços repetitivos. Esta degradação tem um impacto muito grande nos custos envolvidos na pavimentação e manutenção, além de aumentar consideravelmente o risco de acidentes, em regiões na qual a manutenção não é feita frequentemente, algo muito comum em regiões do interior do Brasil (CRAVO 2016).

Os principais mecanismos envolvidos no processo de envelhecimento do CAP são a volatilização de componentes, oxidação durante a aplicação e o uso do pavimento (REBELO et al., 2014). A suscetibilidade de o asfalto sofrer estes processos está relacionada intrinsecamente com a concentração de heteroátomos presentes na sua composição, pois a presença de uma maior concentração aumenta a suscetibilidade a processos de oxidação, e essas mudanças químicas refletem diretamente nas propriedades físicas do material (PETTERSEN, 2009).

3.2 Composição química dos CAPs

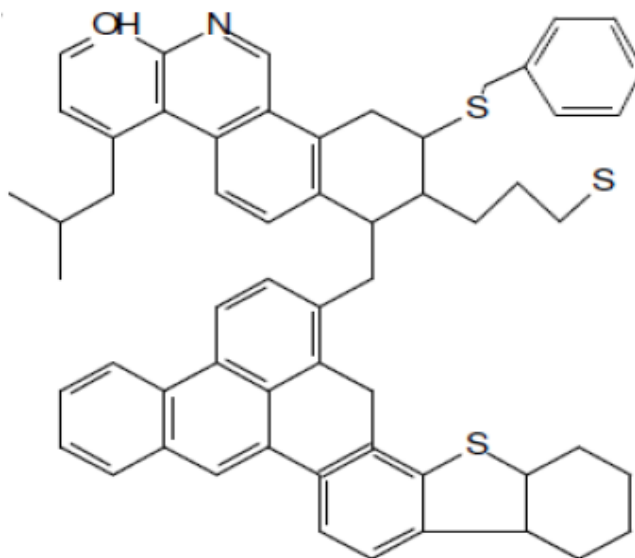
O CAP é obtido a partir do resíduo de destilação do petróleo, sendo a fração de maior temperatura de ebulição. Esta maior estabilidade térmica e insolubilidade do resíduo são devido à maior concentração de heteroátomos (como o enxofre, nitrogênio, oxigênio, vanádio e níquel) em relação às outras frações do petróleo. As moléculas de maior peso molecular e os compostos com maior quantidade de anéis aromáticos também se encontram no cimento asfáltico de petróleo (GREEN, 1993).

As frações mais leves do petróleo (nafta, gás natural) já possuem uma composição bem definida, pois tem menor complexidade química e são mais estudadas em relação ao asfalto. A partir da composição destas frações mais leves, podemos estimar a composição das frações não destiláveis (asfalto), mesmo

sabendo que sua complexidade é muito maior (REDELIUS, 2015). O asfalto é composto de uma maneira geral, por uma mistura de hidrocarbonetos de estruturas químicas complexas contendo diferentes unidades como, ramificações saturadas e insaturadas, anéis naftênicos saturados e insaturados, anéis aromáticos condensados, além de heteroátomos, já mencionados anteriormente (CRAVO, 2016). A composição inclui milhões de moléculas orgânicas de diferentes polaridades e peso molecular. Além de hidrocarbonetos, que corresponde de 90 a 95% do CAP, o restante desta porcentagem corresponde a heteroátomos, entre eles: oxigênio, enxofre, nitrogênio, e alguns metais. Enxofre é o heteroátomo mais abundante, perfazendo de 0,03 a 6% do peso total em petróleos de importância comercial (ROBINSON 2017). Além disso, o asfalto brasileiro possui menor teor de enxofre e de metais, enquanto os de origem árabe e venezuelana possuem alto teor de enxofre (REDELIUS; SOENEN, 2015).

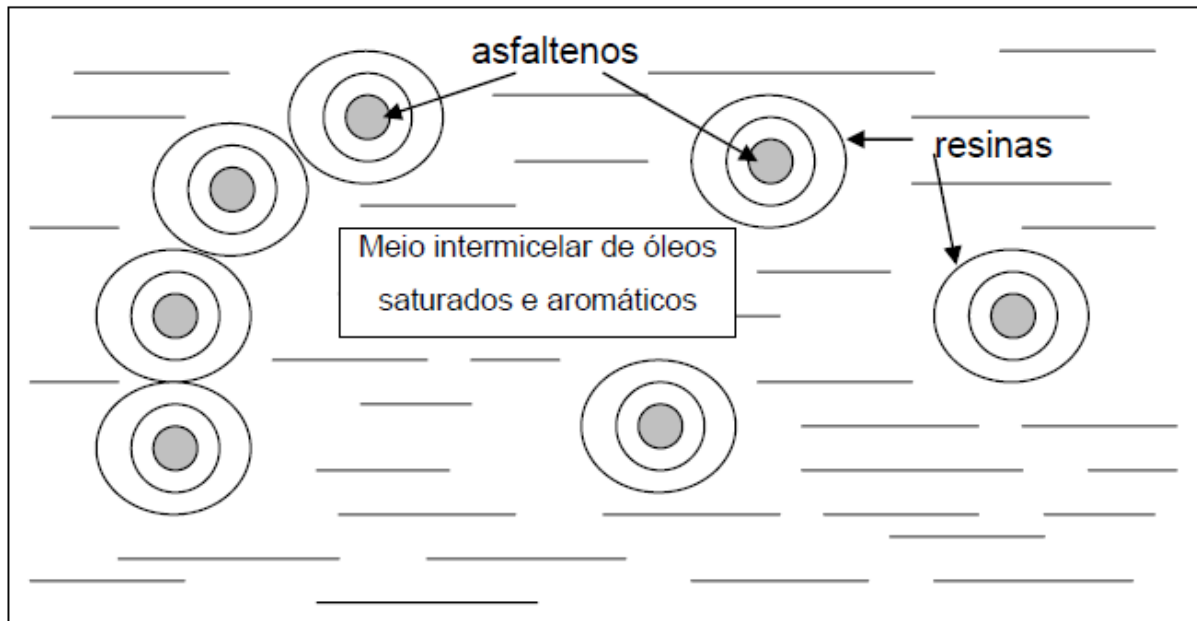
As propriedades físicas e químicas estão relacionadas com o balanço entre moléculas polares e não polares, e espécies de alto e baixo peso molecular (GREENFIELD, 2015). A figura 2 exemplifica uma molécula hipotética presente no betume. O tamanho é grande o suficiente para explicar o ponto de ebulição acima do destilado mais pesado, e contém enxofre em uma estrutura tiofênica, esta que é a estrutura mais comum para enxofre baseado em moléculas heterocíclicas (LEITE, 1999; BERNUCCI, 2010).

Figura 2- Molécula hipotética de asfalto.



O CAP é considerado uma dispersão coloidal de partículas de asfaltenos contendo em sua superfície resinas aromáticas que apresentam polaridade, em um meio oleoso denominado maltenos, formando a dispersão coloidal, como ilustrado no modelo de micelas na figura 3.

Figura 3 - Modelo micelar do asfalto.



Fonte: Adaptado de SILVA (2005).

Os maltenos, que também podem ser chamados de petrolenos, são hidrocarbonetos de menor peso molecular em comparação com os asfaltenos, possuem aspecto oleoso, e podem ser separados em outras frações, como as resinas, óleos saturados e óleos aromáticos. Possuem viscosidade menor que os asfaltenos e são sujeitos a oxidação. Os asfaltenos são hidrocarbonetos de peso molecular elevado, contendo maior teor de heteroátomos e quando isolados, possuem forma sólida e quebradiça, na cor preta apresentando alta viscosidade. Os asfaltenos são os componentes que mais influenciam no comportamento reológico do asfalto (LEITE, 1999).

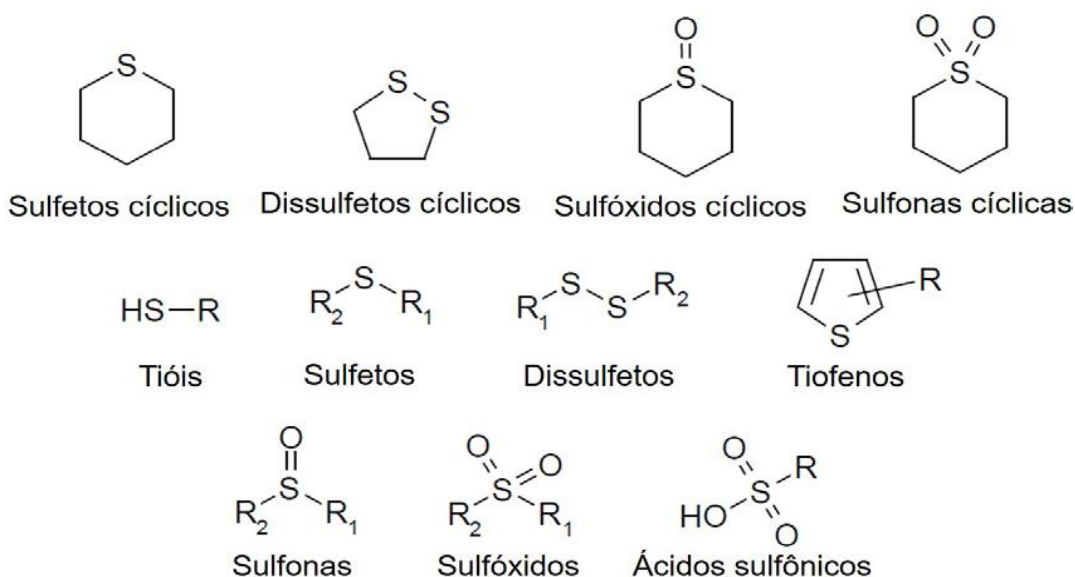
3.3 Compostos de enxofre em CAPs

O enxofre é o heteroátomo mais abundante encontrado no CAP, podendo ser encontrado em concentrações que variam de 1 a 3% da sua composição em amostras brasileiras (CARVALHO et al., 2015), sendo que sua concentração influencia diretamente na qualidade e no valor do petróleo. A quantidade de enxofre no petróleo pode variar de acordo com a fonte de origem (marinha ou terrestre) e o processo de refinação que é submetido, podendo ser encontrado nas mais variáveis estruturas no petróleo (HAN et al., 2018).

Na forma inorgânica, são encontrados compostos como formas de sulfeto de hidrogênio (H_2S) e enxofre elementar, que podem ter sido originados através da decomposição termoquímica de compostos orgânicos de enxofre, pela incorporação de enxofre inorgânico durante os processos de formação e processamento ou ainda pela ação de bactérias. Estes compostos são bastante corrosivos e reativos, podendo causar acidentes durante o refino do petróleo. Além disso, do ponto de vista ambiental, a combustão dos compostos orgânicos de enxofre emite SO_3 e SO_2 que são os principais causadores da chuva ácida (HAN et al., 2018).

Na forma orgânica, o enxofre é encontrado como mercaptanas (tióis), sulfetos (acíclicos e cíclicos), e tiofenos. Ainda podem ser encontrados sulfonas e sulfóxidos, estes que são produtos gerados pela oxidação dos compostos. Essa grande variedade de estruturas é atribuída aos diferentes estados de oxidação que o átomo de enxofre possui, como S^{-2} (sulfetos, dissulfetos, tiofenos e tióis), S^{+2} (sulfóxidos) e S^{+4} (sulfonas, ácidos sulfônicos e sulfoximinas) (BERNUCCI, 2010; CARVALHO, 2015). Sabe-se que compostos organossulfurados são emitidos para a atmosfera durante a aplicação do CAP na pavimentação, causando uma poluição ambiental e também levando a intoxicação dos trabalhadores. (ANDERSSON; HEGAZI; ROBERZ, 2006;). Algumas estruturas dos compostos de enxofre encontrados no petróleo podem ser visualizadas na Figura 4.

Figura 4 - Modelos de compostos organossulfurados encontrados no petróleo.



Fonte: adaptado de HAN et al., 2018.

A presença de compostos das classes dos sulfóxidos, sulfonas, óxidos de enxofre estão intimamente relacionadas ao processo de envelhecimento do CAP (oxidação das formas de sulfetos presentes). Porém, tendo em vista a grande complexidade da matriz, não se sabe quais são as reações mais importantes neste processo. O monitoramento da formação destes compostos é até o momento uma das principais estratégias para acompanhar o envelhecimento do asfalto, tendo em vista que o enxofre é o heteroátomo mais abundante nesta matriz, fazendo com que tenha suma importância nos processos de oxidação (GREEN et al., 1993; REDELIUS; SOENEN, 2015). Outro fenômeno bastante importante na química do asfalto é o processo de polimerização, estes que também podem estar envolvidos no envelhecimento do CAP, envolvendo sulfetos aromáticos e tiofenos sob incidência de radiação ultravioleta (SILVEIRA et al., 2018).

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos contendo enxofre, conhecidos como SHPAs, são compostos 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 HC=CH for substituída por um átomo de enxofre, mantendo a aromaticidade do composto. São encontrados principalmente em derivados do petróleo e derivados de combustão. Possuem um alto potencial carcinogênico e mutagênico e podem ser utilizados como marcadores de poluição em análises ambientais (ANDERSSON, 2001).

Os HPAs são mais conhecidos e mais estudados dentro deste tema. Existe uma lista criada pela Agência de Proteção Ambiental (EPA) dos Estados Unidos, criada em 1976, que inclui 16 HPAs como analitos de rotina a serem investigados em situações de riscos ambientais. A inclusão de HPAs substituídos deve ser feita, visto que estes podem oferecer um maior risco a saúde e problemas ambientais, e estudos já confirmaram a presença de diferentes moléculas destas classes presentes nos fumos do asfalto (ANDERSSON, 2015).

Tendo em vista todas as características negativas que da presença do enxofre em matrizes asfálticas, é de grande interesse econômico remover o máximo deste elemento nos derivados de petróleo. Para isso, existem os processos de hidrodessulfurização industrial, que incluem instalações para a captura e remoção do sulfeto de hidrogênio (H_2S) gasoso. Em refinarias de petróleo, o gás sulfeto de hidrogênio é subsequentemente convertido nos subprodutos enxofre elementar ou ácido sulfúrico. De fato, a vasta maioria das 64 milhões de toneladas de enxofre produzidas mundialmente em 2005 foi subproduto de refinarias e outras plantas processadoras de hidrocarbonetos (PURCELL et al., 2007). Porém, sabe-se que os compostos de enxofre possuem reatividade diferente frente a estes processos. 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, dibenzotiofenos e os HPAs são menos reativos e mais difíceis de serem removidos. Além disto, a posição dos substituintes alquila na estrutura da molécula também influencia na facilidade de remoção dos compostos (LINK et al., 2003).

3.4 Fracionamento químico dos CAPs

Devido à alta complexidade que possui os CAPs, é muito difícil a separação individual de seus componentes. Os métodos de fracionamento do ligante asfáltico baseiam-se na separação química por grupos funcionais. Através destas metodologias, é possível realizar uma posterior caracterização química dos componentes, podendo então obter relações com as propriedades físicas e químicas deste material. A base dos métodos de separação consiste em destruir a camada de proteção das micelas, fazendo com que ocorra a destruição do sistema coloidal,

levando a uma associação e precipitação pela gravidade (BERNUCCI, 2010). Existem diversas metodologias com este fim, cabe destacar aqui o método SARA, o método gravimétrico de PAYZANT e o NIELC (GREEN et al, 1984; PAYZANT, 1989), estes dois últimos que fazem a separação dos compostos de enxofre do CAP.

3.4.1 Método SARA

O método SARA (Fracionamento químico em saturados, aromáticos, resinas e asfaltenos), também chamado de Corbert, que é padronizado pela ASTM D-4124, baseia-se na separação de asfaltenos utilizando o solvente n-heptano, enquanto que os maltenos são adsorvidos em alumina para posterior eluição com maior polaridade. Estes podem ainda ser separados em outras três subclasses de acordo com a polaridade do solvente utilizado: separando em saturados, nafteno-aromáticos e polar-aromáticos. Temos como resultado quatro frações:

- Insolúveis em n-heptano – Asfaltenos;
- Solúveis em n-heptano – Maltenos;
 - Saturados (eluem com n-heptano);
 - Aromáticos naftênicos (eluem com tolueno e tolueno/metano);
 - Aromáticos polares (eluem com tricloroetileno).

3.4.2 Método gravimétrico de PAYZANT

Desenvolvido por PAYZANT (1989), esta metodologia baseia-se na oxidação seletiva dos compostos sulfurados. Primeiramente, tem-se a oxidação de sulfetos a sulfóxidos utilizando o periodato de tetrabutylamônio, e posterior redução destes compostos utilizando o hidreto de alumínio e lítio, obtendo-se os sulfetos alifáticos, que são posteriormente separados por cromatografia em colunas de sílica. Na oxidação dos sulfetos a sulfonas usando o ácido m-cloroperbenzóico, e posterior redução com hidreto de alumínio e lítio, obtendo-se os compostos tiofênicos. As eluições são feitas com solventes de polaridade específica para cada fração de interesse. Temos como resultado três frações:

- Sulfetos aromáticos e saturados;

- Compostos tiofênicos;
- Sulfetos alifáticos.

3.4.3 Cromatografia Líquida de Troca-Iônica em Meio Não-Aquoso (NIELC)

Desenvolvida por GREEN (1984), relaciona a obtenção das frações com a polaridade das resinas utilizadas e a consequente separação dos compostos de enxofre. A partir do fracionamento do asfalto com as resinas de troca iônica, obtêm-se três frações que são compostas pelos seguintes compostos de enxofre:

- Fração ácida: sulfóxidos, sulfetos alifáticos, sulfetos aromáticos, tiofenos, mercaptanas (sulfetos orgânicos), e ácidos sulfônicos;
- Fração básica: sulfóxidos, sulfetos alifáticos, sulfetos aromáticos e tiofenos;
- Fração neutra: sulfóxidos, sulfetos alifáticos, sulfetos aromáticos e tiofenos.

3.5 Métodos cromatográficos na determinação de enxofre em matrizes asfálticas

O interesse na determinação de compostos organossulfurados em matrizes asfálticas é tem aumentado nos últimos anos, já que estes compostos estão presentes no óleo cru de petróleo, e consequentemente nos produtos derivados, como o asfalto (GREEN, 1993). Fica evidente a importância científica e tecnológica na determinação destes compostos no cimento asfáltico de petróleo, tendo em vista que os compostos de enxofre são considerados agentes precursores das reações de oxidação do asfalto (CARVALHO et al., 2015).

Dentre as ferramentas analíticas disponíveis na literatura, os métodos cromatográficos são os preferidos para a identificação e caracterização de compostos organossulfurados em matrizes complexas como os derivados de petróleo, sendo utilizado no pré tratamento das amostras, com o intuito de diminuir a complexidade, levando a uma análise mais facilitada, ou na própria caracterização dos compostos organossulfurados (BARMAN et al., 2000; ANDERSSON; HEGAZI; ROBERZ, 2006; NIZIO et al., 2012; BRANTHAVER; HUANG, 2015). A técnica de cromatografia bidimensional abrangente tem sido utilizada na especificação de compostos de enxofre em petróleo (NIZIO et al., 2012). Porém, alguns compostos

voláteis podem ser caracterizados apenas de forma semi-quantitativa (AVILA et al., 2014).

A cromatografia é um método muito utilizado para a separação, identificação e determinação de compostos químicos em diferentes misturas com diferentes graus de complexidade. Em comparação com outras metodologias, a cromatografia possui um poder maior e uma maior gama de aplicações. Nesta técnica físico química de separação, o analito de interesse é distribuído em duas fases, uma fixa, chamada de fase estacionária, e outra móvel, que pode ser um gás ou líquido, dependendo da metodologia. Cada composto é seletivamente retido pela fase estacionária, resultando em diferentes tempos de migração ao longo da coluna de separação, sendo assim possível a identificação e possível quantificação. (COLLINS et al., 2006).

Dentro das técnicas de cromatografia, existem diversos tipos, baseados na interação do soluto com a fase estacionária como a cromatografia de adsorção, cromatografia de partição, cromatografia de troca iônica, cromatografia de exclusão molecular e cromatografia por afinidade (SKOOG, 2015). Na literatura, muitas destas técnicas já foram utilizadas no estudo de ligantes asfálticos. Porém, as técnicas de cromatografia a gás e cromatografia a líquido (adsorção) são as mais utilizadas para a separação e identificação de compostos organossulfurados específicos em misturas complexas, como os asfaltos. (BARMAN et al., 2000; ANDERSSON; HEGAZI; ROBERZ, 2006; NIZIO et al., 2012; BRANTHAVER; HUANG, 2015).

A cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas é uma das técnicas mais utilizadas para o estudo de derivados de petróleo, sendo uma poderosa ferramenta para a caracterização de componentes voláteis. Porém, esta técnica tem demonstrado algumas limitações na determinação de compostos sulfurados em derivados com maior peso molecular do petróleo, como o cimento asfáltico de petróleo. Além disso, sofre de uma grande interferência gerada pelos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HEGAZI, 2007; RUDZINSKI, 2005). Outro ponto importante é a dificuldade de ionização dos compostos organossulfurados através do detector de espectrometria de massas, sendo necessário o uso de técnicas mais modernas de ionização, como a ionização química a pressão atmosférica (APCI) (RUDZINSKI, 2003), ou a fotoionização a pressão atmosférica (APPI) (SILVEIRA 2016). Com o uso da cromatografia líquida é possível superar

estes problemas, permitindo a análise de compostos menos voláteis encontrados nas matrizes asfálticas (RUDZINSKI, 2005).

3.5 Cromatografia líquida de ultra alta eficiência com detecção por arranjo de fotodiodos (UHPLC-DAD)

Com o avanço da técnica de cromatografia líquida, percebeu-se que diminuindo o tamanho das partículas do material de empacotamento das colunas era possível obter uma diminuição significativa das alturas dos pratos teóricos. Esta diminuição leva a um aumento na resolução dos picos cromatográficos gerados pelos analitos, levando a um aumento na eficiência de separação dos compostos em uma mistura, através da diminuição da largura das bandas. No início dos anos 1970, foi possível desenvolver materiais de empacotamento com diâmetro de partículas na faixa de 3 a 10 μm . Porém, foi necessário um aprimoramento nos equipamentos, que pudessem fornecer pressões de bombeamento mais elevadas, visto que a diminuição do tamanho de partícula na coluna ocasiona uma grande elevação na pressão. Assim, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC, do inglês *high performance liquid chromatography*) começou a ser utilizada com a combinação de uma fase estacionária e uma fase móvel sob elevadas pressões (70 a 400 bar) forçando a passagem do solvente pela coluna contendo partículas de fase estacionária extremamente pequenas (SKOOG, 2015).

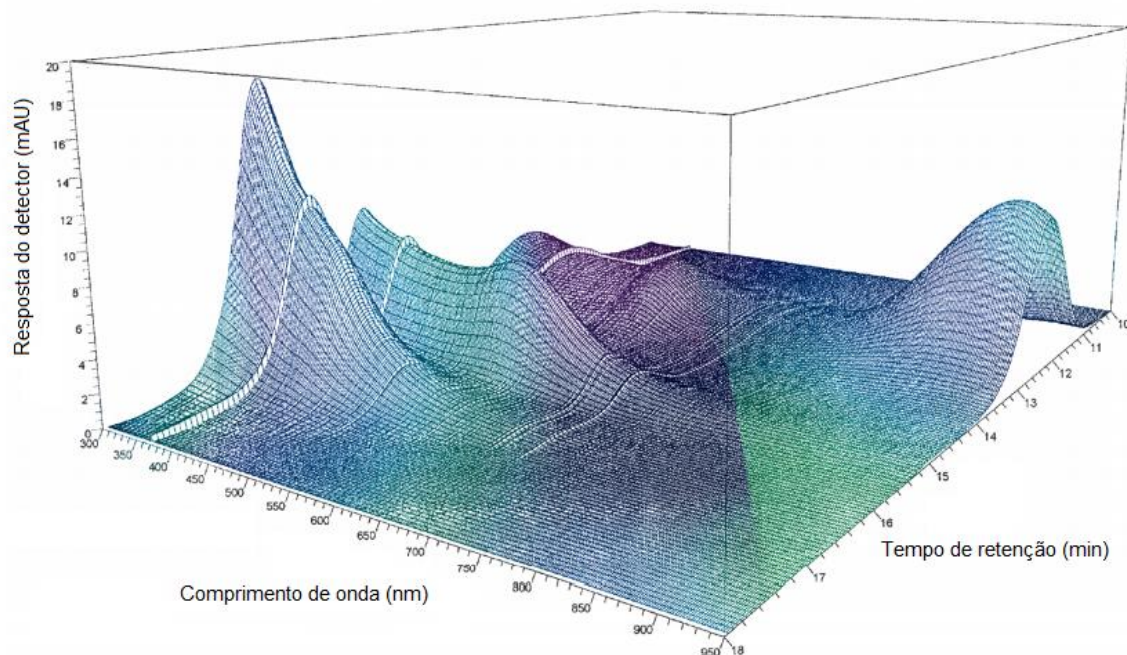
Anos depois, no início do século 21, tornou-se possível o uso de partículas ainda menores, na faixa de 1,5 a 2 μm , com pressões de até 1000 bar. Então, a técnica que faz uso de partículas menores que 3 μm e sob elevadas pressões passou a ser chamada de cromatografia líquida de ultra alta eficiência (CLUE ou UHPLC, do inglês *ultra high performance liquid chromatography*) e foi patenteada pela Waters Corporation® (HARRIS, 2015).

O primeiro detector por arranjo de diodos (DAD) para equipamentos de cromatografia líquida foram introduzidos em 1982. Desde o início, estava claro que este dispositivo, que monitora a absorbância em uma faixa ampla de luz UV e visível, ofereceu vantagens significativas com relação aos detectores monocromáticos e com comprimento de onda variável (VWDs do inglês *variable wavelength detectors*). DADs, também conhecidos como arranjo de fotodiodos,

inicialmente sofria com problemas de sensibilidade em relação aos VWDs mais modernos da época. Porém, em alguns anos, ocorreu a rápida evolução da tecnologia dos fotodiodos levou o detector DAD a melhores sensibilidades, competindo de frente com os mais modernos detectores. (JAMES 2000).

Hoje em dia, o detector por arranjo de diodos tornou-se bastante comum, e normalmente acompanha os equipamentos de cromatografia líquida, com um software que mostra os picos dos analito como uma função do tempo de eluição e o comprimento de onda em um arranjo de combinação de duas e três dimensões. Todos os equipamentos de DAD operam no mesmo princípio geral. Uma lâmpada gera uma luz policromática, que é direcionada para o fluxo da célula do cromatógrafo, no qual características dos comprimentos de onda do analito e o meio de eluição são absorvidos. A luz transmitida é espalhada em um espectro por um dispositivo de dispersão em direção a um arranjo de diodos fotossensíveis. A intensidade do espectro é comparada com o espectro de referência coletado de um eluente livre do analito de interesse (SKOOG, 2015; JAMES 2000). A figura 5 demonstra um cromatograma típico obtido com o uso da técnica de cromatografia líquida acoplada a um detector por arranjo de diodos.

Figura 5 – Modelo de cromatograma típico obtido com o uso da técnica de cromatografia líquida acoplada a um detector por arranjo de diodos.



Fonte: Adaptado de James, 2019.

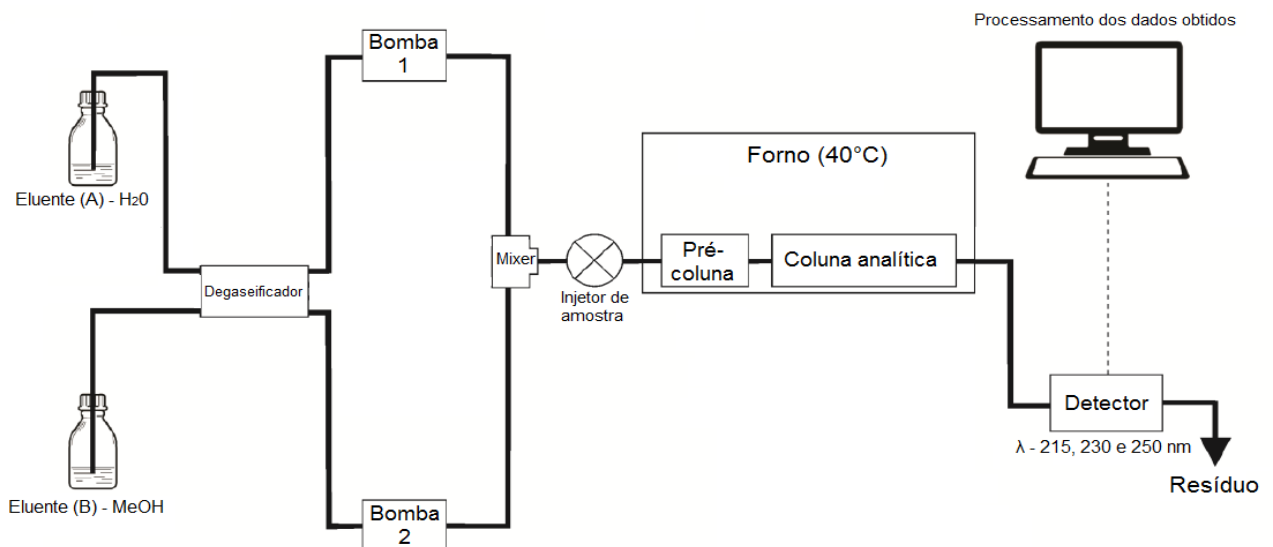
Para o estudo de compostos organossulfurados em derivados de petróleo, o detector por arranjo de fotodiodos possui duas limitações. A primeira é a necessidade de padrões sintéticos para a identificação dos compostos, necessário para obter o tempo de eluição e o espectro de absorção ultravioleta da substância de interesse (CEBOLLA 1997). A outra limitação é a interferência que matrizes complexas tem sobre o desenvolvimento de uma nova metodologia com este detector. Porém, com o uso de metodologias prévias de separação do ligante asfáltico em frações (GREEN et al 1993) (PAYZANT et al 1989), tem-se uma grande melhora na posterior análise desta matriz. Além disso, o uso de um processo de extração em fase sólida (SPE) com o intuito de limpar ainda mais a matriz, após aplicação das metodologias de Green ou Payzant, fornece uma amostra com as condições ideais para a injeção em equipamentos de cromatografia (SILVEIRA et al 2017). Outra maneira de contornar a interferência causada pela matriz, é capturando compostos voláteis emitidos com o aquecimento do CAP, em solventes compatíveis com o equipamento de cromatografia (FERRAZ 2015).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Instrumentação

Todos os ensaios cromatográficos foram realizados em um equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência, modelo Agilent Technology® L1260 Infinity (Santa Clara, CA, EUA) equipado com um sistema de bomba quaternária (G1311B), injetor automático (G1329B) e forno termostático para coluna (G1316A) (Figura 6). As separações cromatográficas foram realizadas em uma coluna analítica de fase reversa ZORBAX Eclipse Plus C18 (Agilent) (4,6 mm x 100 mm, 2,7 μm) acoplada a uma pré-coluna da mesma fase estacionária (Phenomenex, Califórnia, EUA). A detecção dos analitos foi realizada espectrofotometricamente por um detector de arranjo de diodos, modelo G4212B Agilent Technology®.

Figura 6 - Diagrama esquemático do sistema UHPLC-DAD usado na separação cromatográfica dos compostos organossulfurados.



Fonte: Adaptado de Colim, 2018.

4.2 Materiais

- Coluna analítica de fase reversa ZORBAX Eclipse Plus C18 (Agilent) (4,6 mm x 100 mm, 2,7 μm);
- Pré-coluna da fase estacionária C18 (Phenomenex, Califórnia, EUA);

- Filtro para seringa de PTFE (Politetrafluoretileno) de 0,20 μm (Chromafil Xtra – Macherey-Nagel);
- Balança analítica com quatro casas de precisão (Shimazu);
- Micro pipetadores automáticos de volumes variados (10-100 μL ; 100-1000 μL) (Brand);
- Sistema de purificação de água modelo Synergy UV 18,2 $\text{M}\Omega\text{ cm}$ (Millipore);
- Sistema de filtração;
- Sonicador;
- Cartuchos de SPE aminopropil (SPE-NH₂ 60^a – 63 μm ; Sorbline Technologies®);
- Manifold Visiprep™ da Supelco Sigma Aldrich Co.

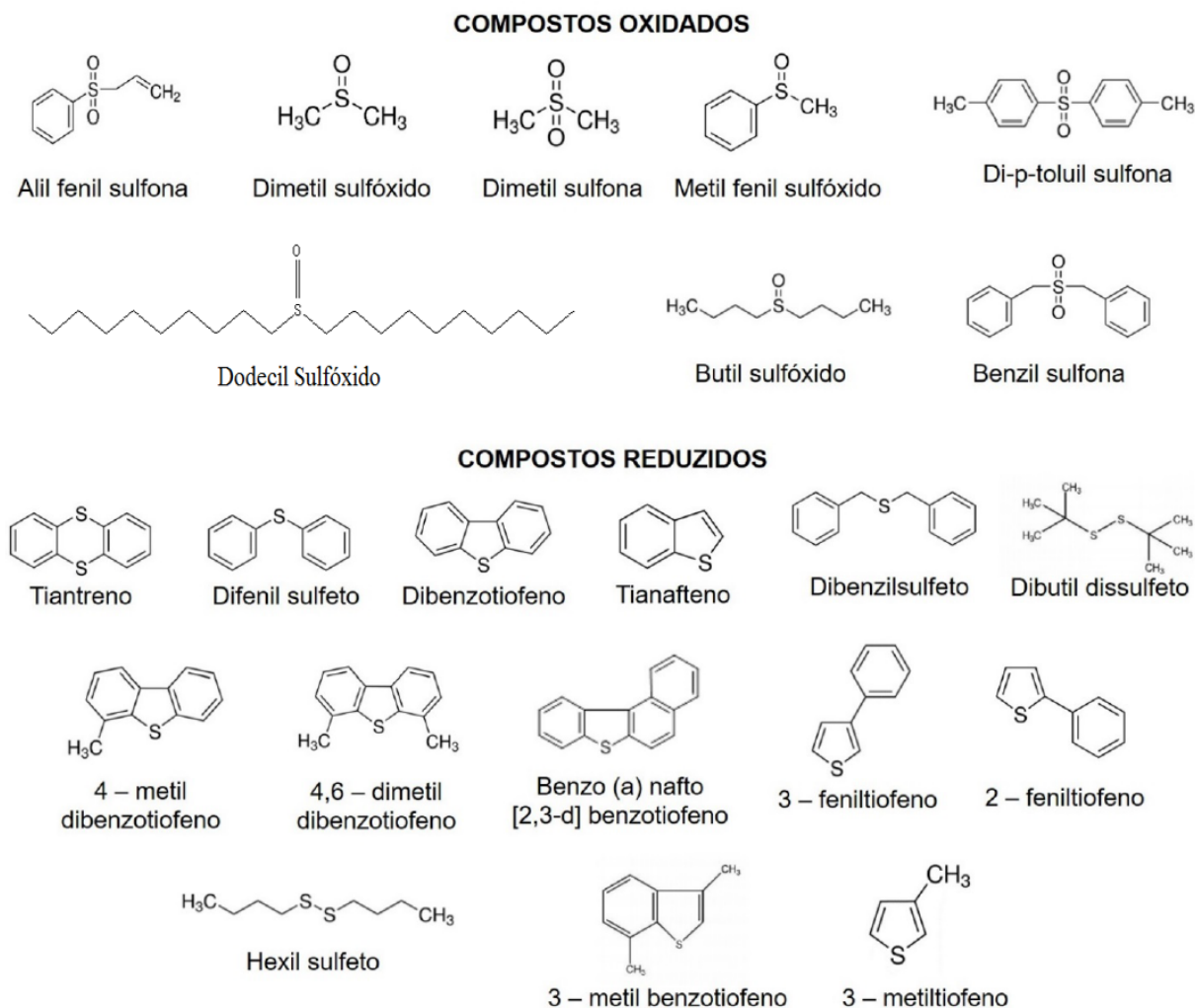
4.3 Reagentes e soluções

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

Os padrões organossulfurados: alil fenil sulfona, dimetil sulfóxido, dimetil sulfona, metil fenil sulfóxido, di-p-toluil sulfona, dodecil sulfóxido, butil sulfóxido, benzil sulfona, tiantreno, difenil sulfeto, dibenzotiofeno, tianafteno, dibenzil sulfeto, dibutil dissulfeto, 4 – metil benzotiofeno, 4,6 – dimetil dibenzotiofeno, benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno, 3 – fenil tiofeno, 2 – fenil tiofeno, hexil sulfeto, 3 – metil benzotiofeno e 3 – metil tiofeno 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 7.

As soluções padrão dos compostos (50 mL na concentração de 5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) foram preparadas individualmente dissolvendo a quantidade necessária em diclorometano grau HPLC (solução estoque). Todas as soluções foram estocadas em frascos âmbar a -10°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 7 - Estrutura dos compostos organossulfurados utilizados neste trabalho.



Fonte: Adaptado de SHIMIDT, 2018.

4.4 Amostras de cimento asfáltico de petróleo

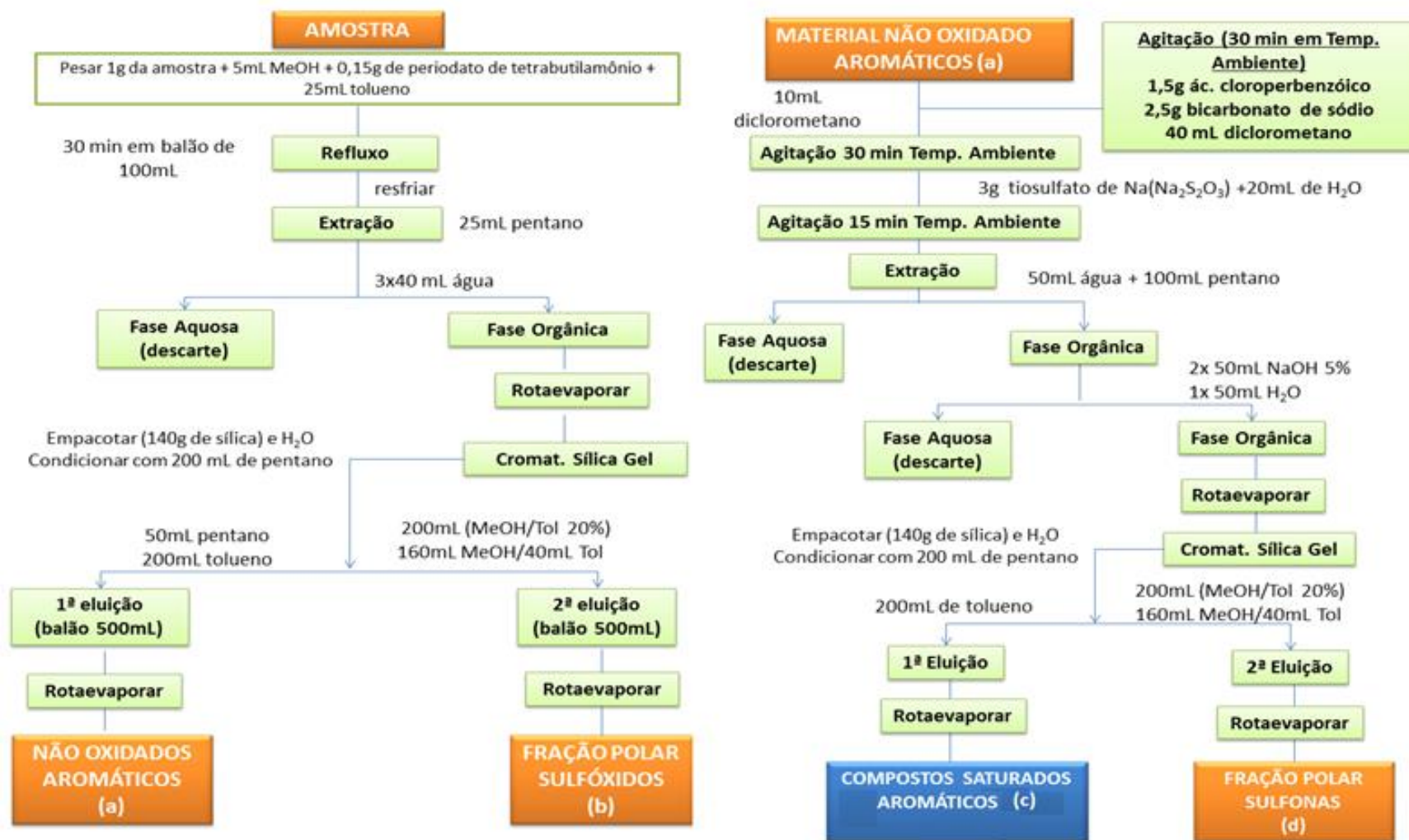
As amostras de cimento asfáltico de petróleo utilizadas nesse trabalho foram fornecidas pelo Centro de Pesquisa e Desenvolvimento da PETROBRAS (CENPES). Para uma ampla amostragem dos CAPs brasileiros, foram coletados CAPs em diferentes refinarias do Brasil localizadas em diferentes estados. Os CAPs utilizados nesta pesquisa são: LUBNOR 50/70 (Refinaria Lubrificantes e Derivados do Nordeste, localizada em Fortaleza - CE), REGAP50/70 (Refinaria Gabriel Passos, localizada em Betim, na região metropolitana de Belo Horizonte), REFAP 50/70 (Refinaria Alberto Pasqualini, localizada em Canoas - RS). A amostra REGAP 50/70

foi escolhida para o estudo com todas as frações obtidas pelos métodos de fracionamento do CAP, enquanto as restantes analisaram-se apenas as frações que possuem maior possibilidade teórica de conter os compostos de interesse (fração saturados aromáticos pelo método de Payzant, fração neutra dos maltenos e asfaltenos pelo método de Green), além da análise do asfalto bruto. Todas as amostras foram analisadas também pelo dispositivo de extração e coleta (DEC).

4.4.1 Separação de compostos saturados/aromáticos, tiofenos e sulfetos

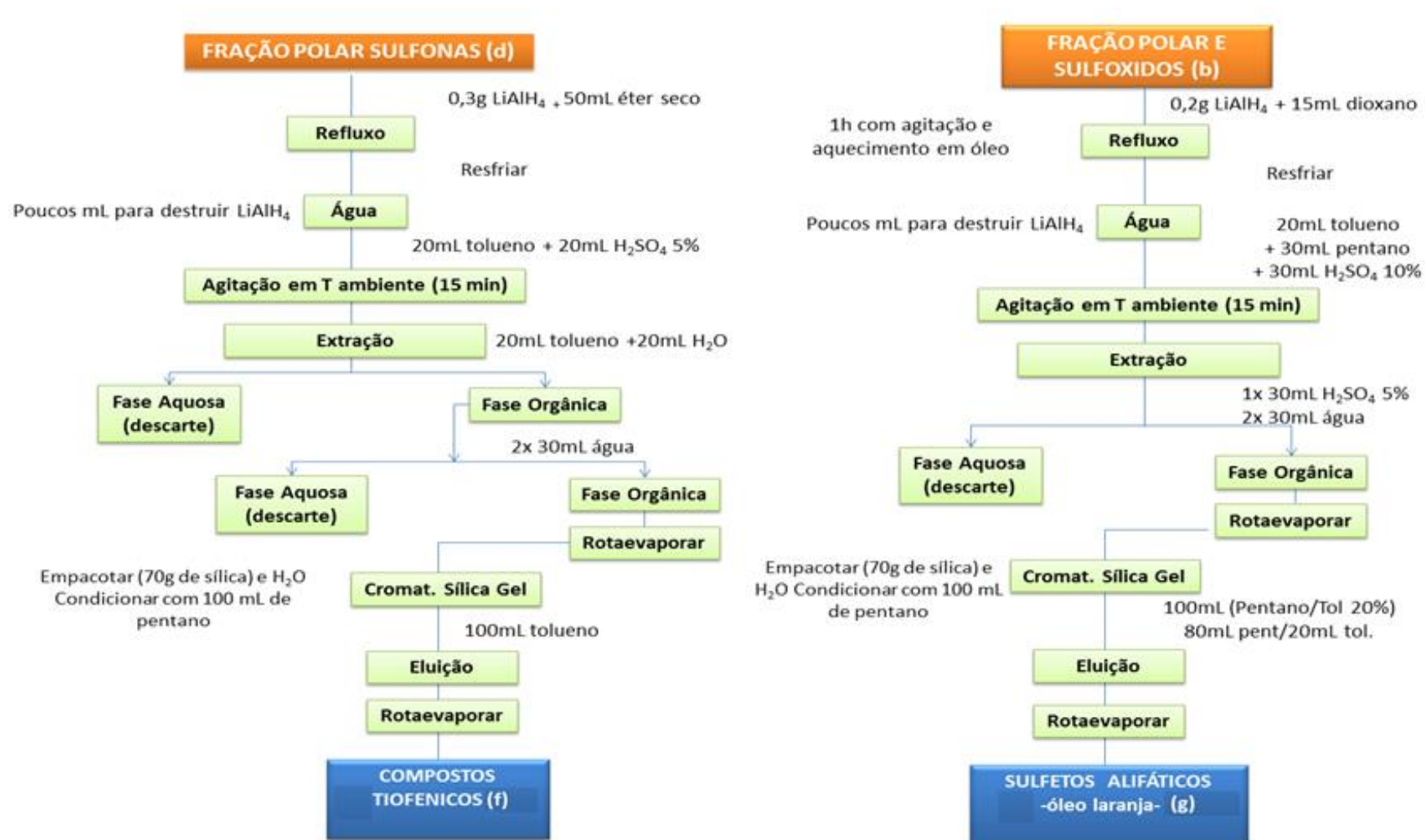
O fracionamento das amostras de cimento asfáltico de petróleo em compostos sulfurados aromáticos/saturados, tiofênicos e sulfetos alifáticos foi adaptado do método gravimétrico proposto por Payzant, Mojelsky e Strausz (1989) e dividido em 4 etapas, conforme Sant'Ana (2015). As figuras 8 e 9 mostram de forma geral, as etapas necessárias para o fracionamento do cimento asfáltico de petróleo nas frações mencionadas acima.

Figura 8 - Fluxograma das etapas um e dois - oxidação de sulfetos a sulfóxidos e oxidação de sulfetos a sulfonas.



Fonte: Adaptado de SANT'ANA, 2015

Figura 9 - Fluxograma das etapas três e quatro: redução da fração sulfonas a compostos tiofênicos e redução de sulfóxidos a sulfetos alifáticos.

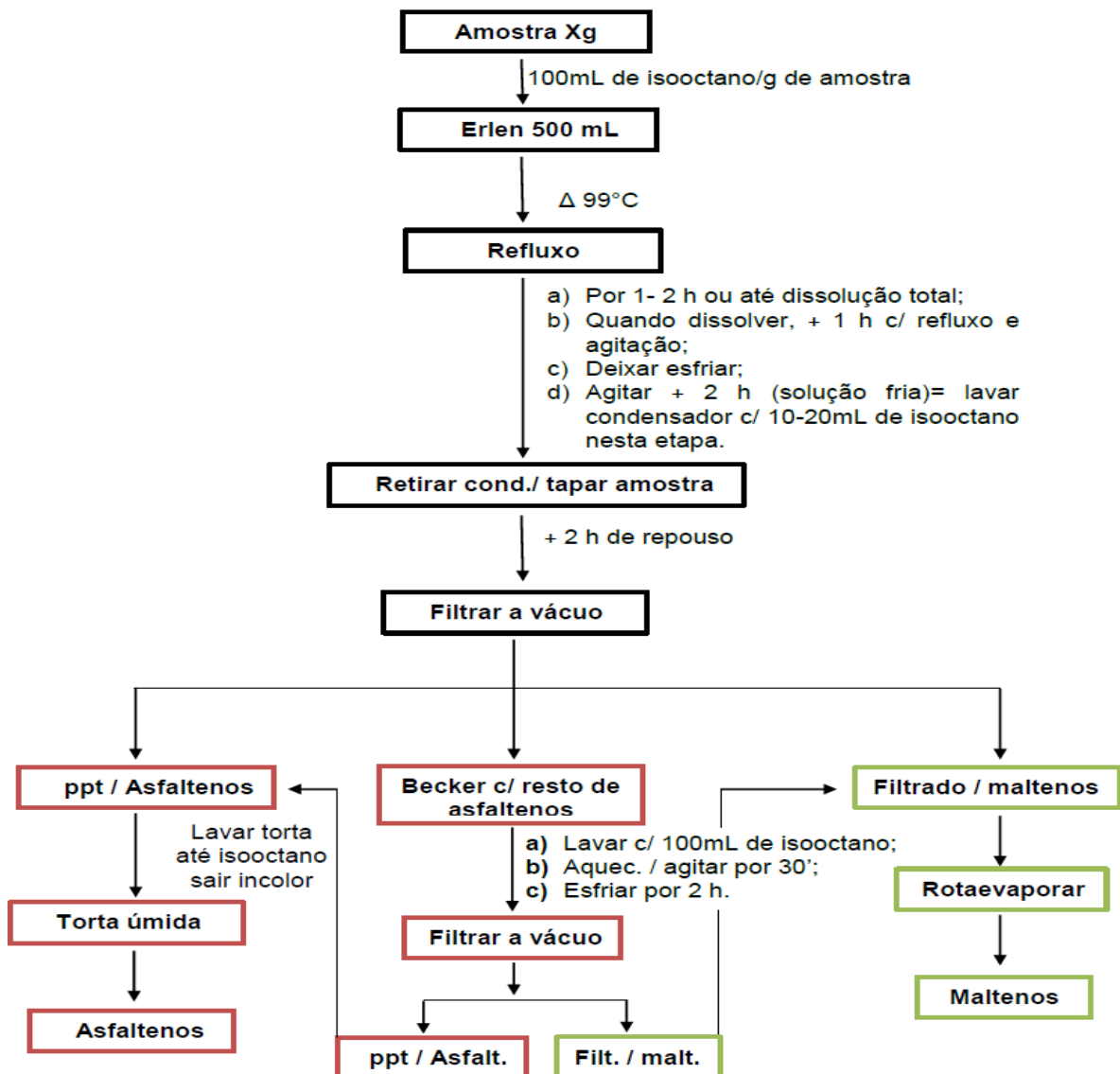


Fonte: Adaptado de SANT'ANA, 2015

4.4.2 Separação em asfaltenos e maltenos

As mesmas amostras fornecidas pela PETROBRAS foram submetidas à separação das frações asfaltenos e maltenos de acordo com a ASTM D 4124. O fluxograma da Figura 10 apresenta as etapas utilizadas para a separação das frações asfáltica e maltênica das amostras de CAP brasileiro.

Figura 10 - Fluxograma de separação do asfalto em maltenos e asfaltenos

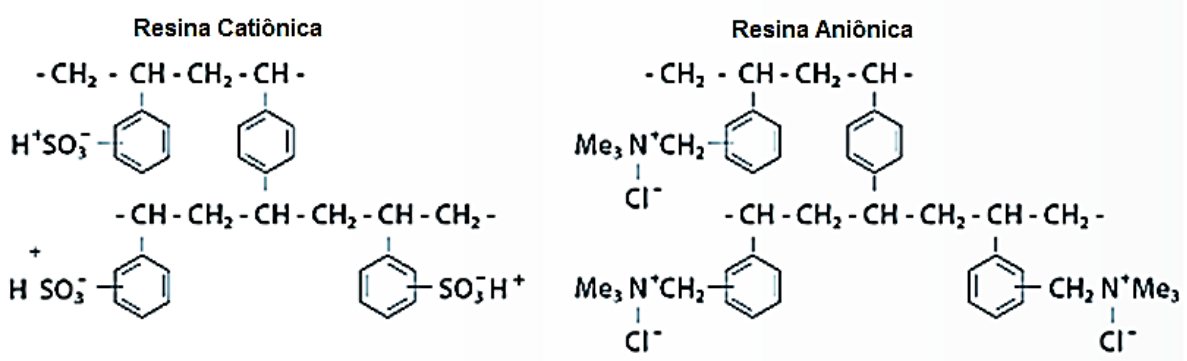
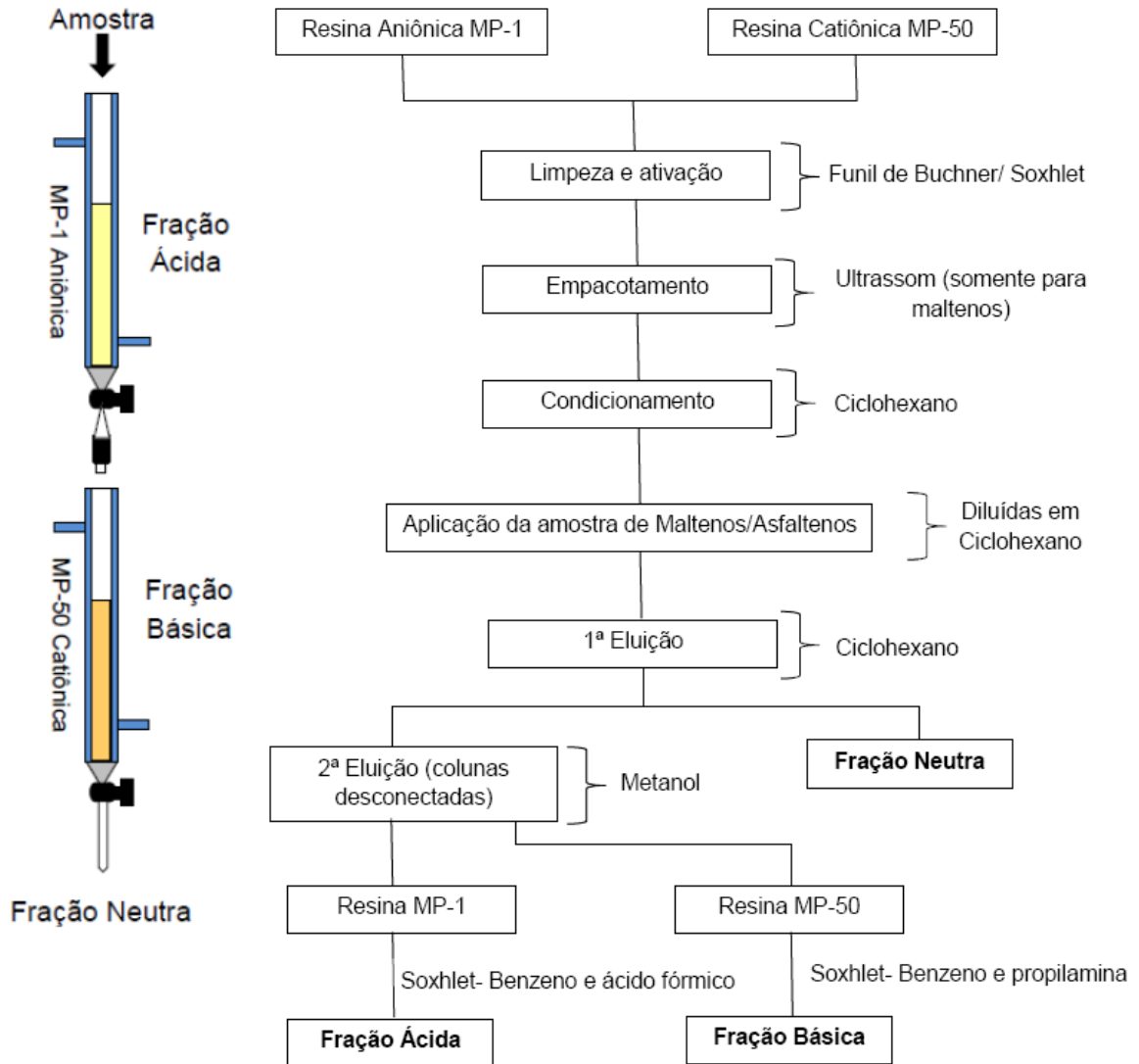


Fonte: Adaptado de CLAUSSEN, 2013.

4.4.3 Separação de maltenos e asfaltenos em frações ácidas, básicas e neutras a partir de resinas de troca iônica.

As frações de maltenos e asfaltenos das amostras estudadas foram então separadas em três subfrações (ácidas, básicas e neutras), com a utilização de resinas de troca iônicas MP-1 (aniônica) e MP-50 (catiônica). As colunas são preenchidas com as resinas que são constituídas por poliestireno, que forma uma estrutura reticulada com o divinilbenzeno. Esta matriz polimérica permite também a fixação do grupo funcional ácido ou base, que neste caso, amina quaternária para a resina aniônica e ácido sulfônico para a resina catiônica, que são trocadores fortes. Como contra íon, a resina aniônica possui íons Cl^- e a resina catiônica íons H^+ . Desta forma, a resina carregada positivamente (aniônica) interage com os grupos negativos da amostra, ficando retidos nesta coluna. Assim, os compostos carregados positivamente e neutros passam para a próxima coluna, carregada negativamente (catiônica), onde ficam retidos os grupos positivos. Por fim, o que passar pelas duas colunas, sem carga positiva ou negativa são os compostos neutros (CLAUSSEN, 2016). O fluxograma da figura 11 apresenta as etapas utilizadas para a separação das subfrações ácidas, básicas e neutras, assim como a representação das colunas utilizadas (MP-1 e MP-50) e suas composições químicas.

Figura 11 - Fluxograma de separação do asfalto frações ácidas, básicas e neutras, representação das colunas utilizadas (MP-1 e MP-50) e suas composições químicas.

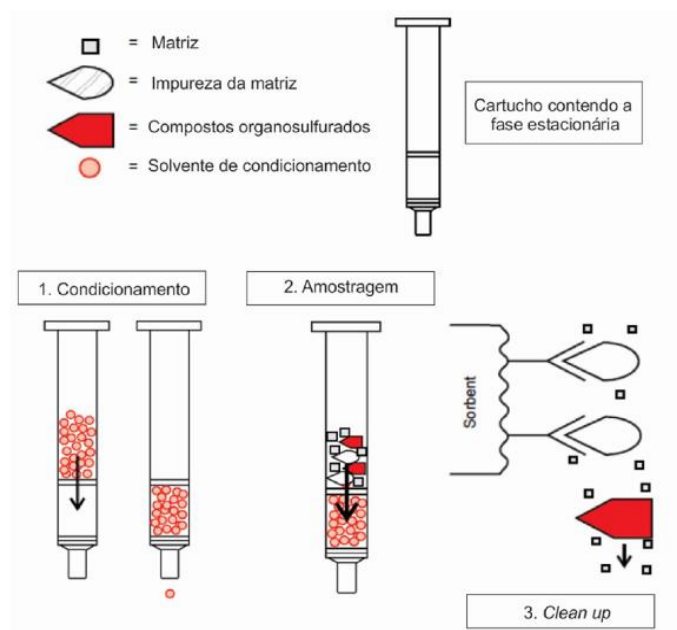


Fonte: Adaptado de CLAUSSEN, 2013.

4.4.4 Extração em fase sólida

As frações coletadas das metodologias apresentadas acima, assim como o cimento asfáltico de petróleo bruto, passaram por um processo de limpeza utilizando o método de extração em fase sólida, seguindo o procedimento desenvolvido por Silveira et al, 2017. Para o CAP bruto, foram pesados em balança analítica um grama das amostras que em seguida foram dissolvidas em 5 mL de tolueno, enquanto que para as frações, coletou-se 5 mL de cada uma, estas que já estão dissolvidas em 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 utilizou-se 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-DAD. A figura 12 ilustra de um modo geral procedimento de limpeza de amostra (*clean up*), a extração em fase sólida, desenvolvida por Silveira em 2017.

Figura 12 - Procedimento de limpeza da amostra utilizando a extração em fase sólida.

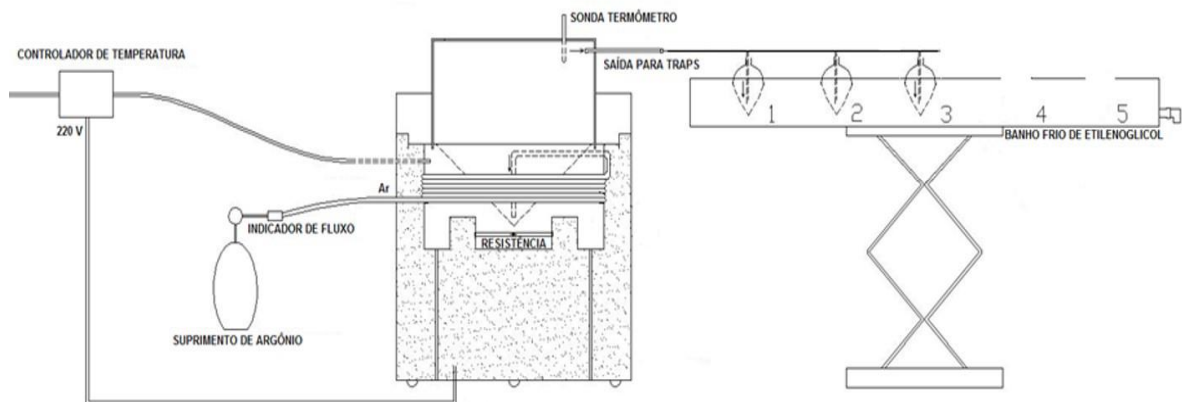


Fonte: adaptado de (BULLETIN 910, 1998).

4.4.5 Extração pelo dispositivo de extração e coleta (DEC)

O cimento asfáltico de petróleo foi estudado através outro procedimento de preparo de amostra. Desenvolvido por Ferraz (2015), o dispositivo de extração e coleta consiste em um sistema fechado, no qual a amostra é submetida a aquecimento controlado e borbulhada com argônio, para que os fumos gerados durante o aquecimento sejam carregados 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 13 - Dispositivo de extração e coleta - DEC.



Fonte: adaptado de Ferraz (2015).

O procedimento de extração das amostras era realizado a partir de cerca de 15 gramas de CAP bruto, 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 150 a 170 °C.

Durante o procedimento de extração, a amostra era borbulhada com argônio em uma vazão de 0,4 L min⁻¹. Os vapores gerados durante o processo eram coletados em três frascos coletores conectados em série, contendo 50 mL de metanol cada. Estes se encontravam 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 $0,12 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. Quando a temperatura de extração era atingida a vazão era ajustada até a vazão de trabalho ($0,40 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$), 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.

4.5 Procedimentos analíticos

4.5.1 Determinações por UHPLC-DAD

As análises utilizando UHPLC-DAD foram realizadas em modo de gradiente de eluição. A tabela 2 apresenta os parâmetros cromatográficos e condições analíticas para a separação dos compostos organossulfurados utilizadas do método.

Anteriormente às medidas cromatográficas o sistema e a coluna eram condicionados com a fase móvel otimizada por 45 minutos, tempo suficiente para estabilizar a linha base. Após este intervalo de condicionamento, as amostras e soluções padrão foram injetadas automaticamente com um volume de $10 \mu\text{L}$. O primeiro teste antes da injeção das amostras consistia na injeção de uma solução padrão contendo os 16 compostos organossulfurados validados para verificação de pequenas variações no tempo de retenção.

Entre as medidas a coluna era lavada com uma solução de 100 % metanol, por aproximadamente 3 minutos, com fluxo de fase móvel de $0,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, a fim remover qualquer composto que não tenha eluído ao longo da corrida. No final do dia, a coluna era lavada com uma solução 40 % metanol em água (V/V), por aproximadamente 10 minutos, com fluxo de fase móvel de $0,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, e depois

com 100% metanol por cerca de 30 minutos, para garantir uma maior longevidade da coluna.

Tabela 2 - Parâmetros cromatográficos e condições analíticas para a separação de compostos organossulfurados por UHPLC-DAD.

Parâmetros cromatográficos		Descrição		
Coluna analítica		ZORBAX Eclipse Plus C18; 4,6 x 100 mm (ID x comprimento); tamanho de partícula: 2,7 µm; Agilent Technologies		
Composição da fase móvel (FM)		FM (A) – Água (H ₂ O) FM (B) – Metanol (MeOH)		
Gradiente da fase móvel	Tempo(min)	A (%)	B (%)	Fluxo (mL.min ⁻¹)
	0	60	40	0,5
	1	57	43	0,5
	2	40	60	0,5
	3	38	62	0,5
	4	30	70	0,5
	6,5	28	72	0,4
	8	26	74	0,3
	9	25	75	0,3
	11	24	76	0,3
	13	22	78	0,3
	15	22	78	0,3
	17	25	75	0,3
	18	10	90	0,4
	19	5	95	0,4
	20	10	90	0,5
	21	15	85	0,4
	22	10	90	0,4
	23	0	100	0,5
Temperatura: 40°C (± 0,5). Tempo de reequilíbrio: 2 min.				
Modo de detecção		UV em λ: 215, 225 e 250 nm		
Volume de injeção		10 µL		

Fonte: autor.

4.5.2 Parâmetros de validação

A validação da metodologia analítica é de extrema importância, para fornecer garantia de que o método desenvolvido fornece resultados precisos e exatos (RIBANI, 2004). O método de separação dos compostos organossulfurados foi avaliado segundo os seguintes parâmetros:

Linearidade: este parâmetro fornece a resposta do equipamento em relação à concentração dos compostos, através de um gráfico. Com isso é possível descobrir se o método consegue fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito de interesse. Normalmente, é utilizado cinco níveis de concentração para a construção de uma curva analítica. O número de replicatas em cada nível de concentração deve ser o mais próximo possível daquele empregado em rotina no laboratório. (INMETRO, 2016).

A linearidade foi estudada com o uso da regressão linear da curva analítica de cada composto separado. Analisando a resposta do equipamento em função da curva obtida de dez pontos e a partir de três curvas analíticas, foram avaliados os coeficientes de correlação (R).

Exatidão: este parâmetro é definido como a concordância entre o valor encontrado na análise e o valor real. É possível ser calculada através da comparação entre diferentes métodos analíticos ou pela análise de materiais de referência certificados. Quando estes não se encontram disponíveis, a exatidão pode ser executada com técnicas de adição do padrão. Para realizar este procedimento, são utilizadas amostras que não contenham os analitos em análise, e então é realizada uma fortificação com os padrões de interesse (RIBANI, 2004).

Na ausência de amostras de referência certificadas de cimento asfáltico de petróleo, a exatidão foi feita a partir de ensaios de adição do padrão para cada composto de interesse. Para isso, foram escolhidas amostras que passaram pelo procedimento de extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*) e também os traps coletados no dispositivo de extração e coleta (DEC). Nas amostras escolhidas, os analitos estavam abaixo do limite de detecção. Estes foram adicionados em concentrações conhecidas, e a amostra foi analisada em triplicada. Foi realizada uma curva analítica de três pontos através da adição de padrão nesta amostra. A recuperação dos compostos foi avaliada através da recuperação analítica:

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

Precisão: Este parâmetro está relacionado com a dispersão entre os resultados obtidos, para uma mesma amostra, sob condições definidas (RIBANI, 2004). A precisão foi avaliada em termos de repetibilidade com mesmo analista,

mesmo procedimento de medição, mesmo equipamento, 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 seis 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%.

Limite de detecção e quantificação: 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 (RIBANI, 2004). 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.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Desenvolvimento das condições analíticas

A proposta deste trabalho foi de desenvolver um método analítico para a identificação e quantificação de inicialmente 22 compostos organossulfurados em matrizes de ligantes asfálticos por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de fotodiodos.

A aplicação da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência permite a separação dos componentes existentes na matriz do cimento asfáltico de petróleo dos compostos de interesse. Ainda, a detecção por arranjo de fotodiodos tem a grande vantagem de fornecer a verificação da pureza do pico cromatográfico através do espectro de absorção gerado para cada composto, conferindo uma maior seletividade ao método (ROCHA, 2015). O desenvolvimento do método cromatográfico baseou-se nas condições iniciais desenvolvida por Silveira em 2015. A tabela 3 ilustra estas condições de separação.

Tabela 3 - Condições iniciais da metodologia analítica.

% agua	% metanol	Fluxo (mL.min ⁻¹)	Temperatura (C°)	Tempo (min)
66	34	0,8	40	0 – 0,80
65 – 14	45 - 86	0,8	40	0,80 – 6,40
14 – 0	86 - 100	0,8	40	6,40 – 6,60
0	100	0,8	40	6,60 – 10

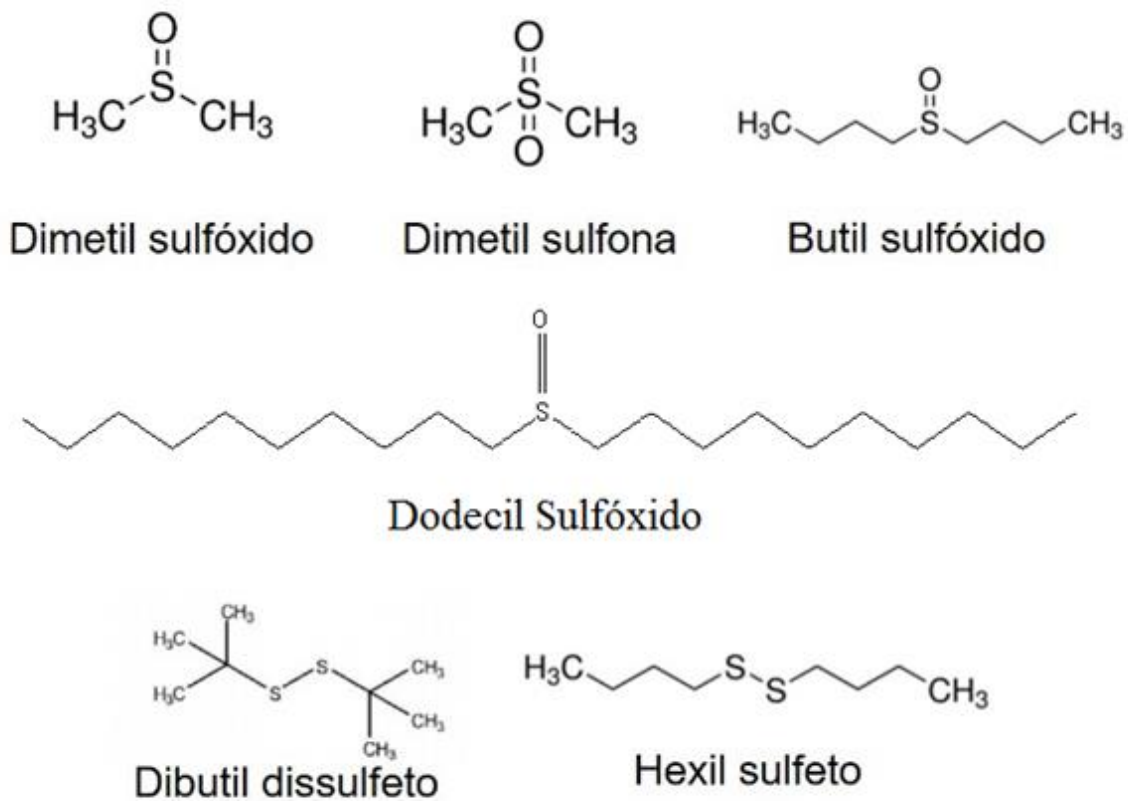
Adaptado de Silveira, 2015

O estudo iniciou com a utilização de 22 compostos organossulfurados, sendo eles: alil fenil sulfona, dimetil sulfóxido, dimetil sulfona, metil fenil sulfóxido, di-p-toluil sulfona, dodecil sulfóxido, butil sulfóxido, benzil sulfona, tiantreno, difenil sulfeto, dibenzotiofeno, tianafteno, dibenzil sulfeto, dibutil dissulfeto, 4 – metil benzotiofeno, 4,6 – dimetil dibenzotiofeno, benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno, 3 – feniltiofeno, 2 – fenil tiofeno, hexil sulfeto, 3 – metil benzotiofeno e 3 – metil tiofeno. Foi escolhida uma coluna de fase estacionária de C18, pois segundo Harris (2012), analitos que se dissolvem apenas em solventes apolares ou fracamente polares, como é o caso dos compostos de interesse neste estudo, a cromatografia em fase reversa é a ideal, e para isso, necessita-se de uma coluna com fase estacionária

polar. Uma pré-coluna de mesma natureza foi escolhida para a separação, fornecendo uma maior proteção e durabilidade a coluna.

Seis compostos não apresentaram sinal de absorção no detector por arranjo de fotodiodos em nenhum comprimento de onda (concentrações testadas: 1 a 40 mg.L⁻¹). A figura 14 ilustra suas estruturas moleculares. São eles: hexil sulfeto, dodecil sulfóxido, dimetil sulfóxido, butil dissulfeto, dimetil sulfona e butil sulfóxido.

Figura 14 - Estrutura dos compostos que não apresentaram sinal no detector por arranjo de fotodiodos.



Fonte: autor.

Os compostos dibutil dissulfeto e hexil sulfeto não apresentam sinal de absorção no detector por arranjo de fotodiodos na região que ele compreende (200 – 400 nm) devido à ausência de grupos cromóforos que absorvem radiação neste intervalo. Por não possuírem nenhuma ligação dupla, a energia necessária para qualquer fenômeno físico em ligações simples entre enxofre e carbono, e entre carbono e hidrogênio necessita de muita energia. Visto que a energia é inversamente proporcional ao comprimento de onda, seria necessário um valor de

onda muito pequeno, que se encontra na região do UV próximo (180-200 nm), e envolve a excitação de elétrons que requerem uma maior quantidade de energia para que ocorra este fenômeno (HARRIS, 2012). Além disso, qualquer possível absorção na região de 200 a 210 nanômetros é camuflada pela alta absorção do solvente metanol e do oxigênio presente na água nesta região. (EDWARD et al; 1950) (PASSERINI et al; 1956)

O restante dos compostos que não apresentaram sinal são classes oxidadas (sulfóxidos e sulfonas). A absorção destes grupos cromóforos também se dá em regiões suscetíveis as interferências espectrais causadas pelos solventes utilizados (200 – 210 nanômetros), e por possuírem um pequeno número de insaturações na estrutura molecular, a intensidade de absorção molecular é muito pequena (FROLOV 1978). Analisando a estrutura, observa-se que estes compostos possuem maior polaridade e um menor tamanho em relação aos demais compostos utilizados neste trabalho. Esta razão polaridade/tamanho faz com que a eluição da coluna cromatográfica seja muito rápida, pois a interação com a coluna de fase estacionária apolar é muito baixa, podendo eluir junto com o pico de injeção, sendo impossível de serem detectados pelo detector utilizado. Esta razão polaridade/tamanho também pode ser analisada através dos valores de coeficiente de partição octanol/água (K_{ow}) dos compostos.

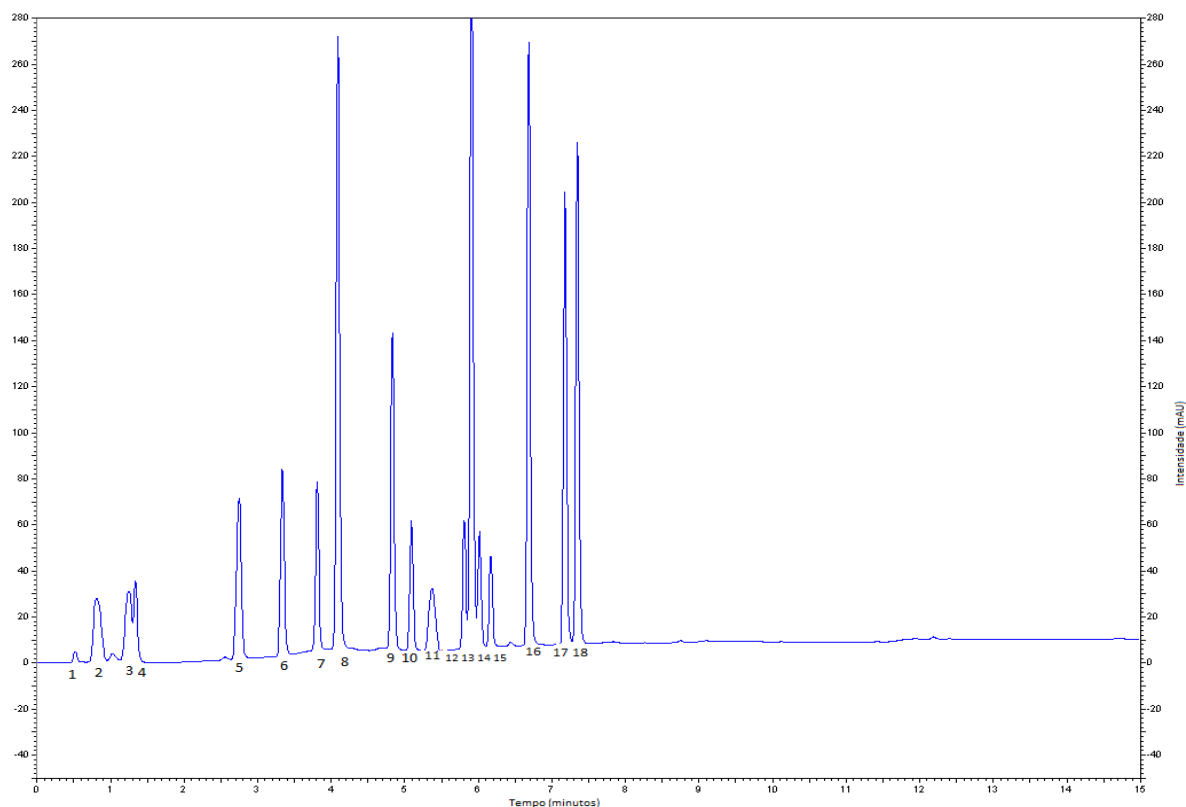
O Coeficiente de Partição octanol/água (K_{ow}) é definido como a razão entre a concentração de um produto químico em octanol e água em equilíbrio a uma temperatura especificada ($K_{ow} = \text{concentração em octanol}/\text{concentração em água}$). Os valores de K_{ow} não possuem unidade e são expressos como logaritmo de K_{ow} . O logaritmo de K_{ow} é inversamente relacionado à solubilidade em água e diretamente proporcional ao peso molecular de uma substância. Ou seja, os compostos que não apresentaram sinal, possuem valores logarítmicos de K_{ow} menores que o restante dos compostos estudados, sendo assim mais solúveis em água e com menor peso molecular (NOBLE, 1993).

Para uma possível separação destes compostos, o ideal seria o uso de uma coluna de maior polaridade, porém, isto prejudicaria a separação dos demais compostos. Poderia também ser utilizada uma condição inicial com maior porcentagem de água, porém, isso afetaria toda a separação cromatográfica, visto

que os compostos estudados possuem pouca interação com fases polares, e tem pouquíssima solubilidade em solventes desta natureza. (AZIM et al; 2013).

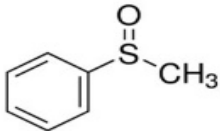
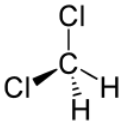
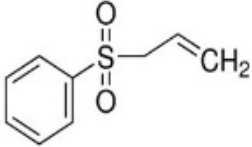
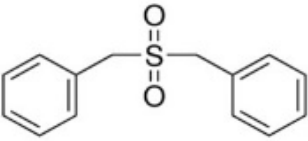
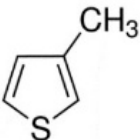
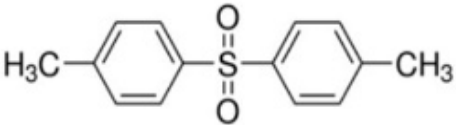
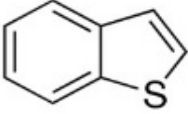
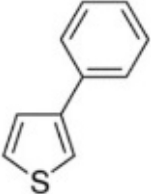
A figura 15 apresenta o cromatograma obtido dos 16 compostos que apresentaram sinal no detector por arranjo de fotodiodos, utilizando as condições iniciais, em uma solução de 10 mg.L⁻¹de cada composto. A tabela 4 ilustra a ordem de eluição dos compostos na corrida cromatográfica.

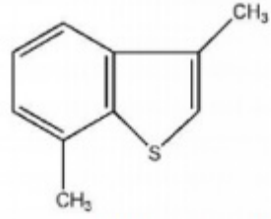
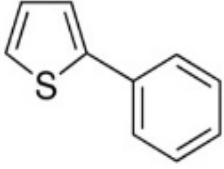
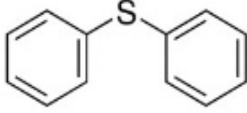
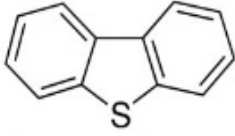
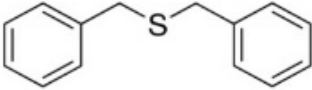
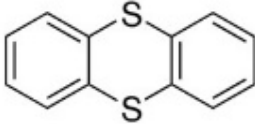
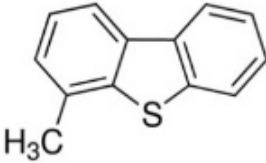
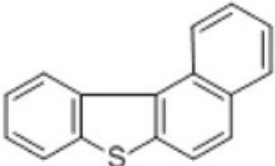
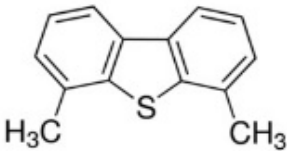
Figura 15 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm com as condições iniciais. Picos - 1: injeção, 2: metil fenil sulfóxido, 3: acetonitrila 4: alil fenil sulfona, 5: benzil sulfona, 6: 3 metil tiofeno, 7: di-p-toluil sulfona, 8: tianafteno, 9: 3 fenil tiofeno, 10: 3 metil benzotiofeno, 11: 2 fenil tiofeno, 12: fenil sulfeto, 13: dibenzotiofeno, 14: dibenzil sulfeto, 15: tiantreno, 16: 4 metil dibenzotiofeno, 17: benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno, 18: 4,6 dimetil dibenzotiofeno, todos em concentração de 10 mg/L volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 3.



Fonte: autor.

Tabela 4 - Ordem de eluição e estrutura dos compostos estudados.

Número	Composto	Estrutura
1	Pico de injeção	-
2	Metil fenil sulfóxido	
3	Acetonitrila (proveniente das soluções estoque)	
4	Alil fenil sulfona	
5	Benzil sulfona	
6	3 metil tiofeno	
7	Di-p-toluil sulfona	
8	Tianafteno	
9	3 fenil tiofeno	

- 10 3 metil benzotiofeno 
- 11 2 fenil tiofeno 
- 12 Difenil sulfeto 
- 13 Dibenzotiofeno 
- 14 Dibenzil sulfeto 
- 15 Tiantreno 
- 16 4 metil dibenzotiofeno 
- 17 Benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno 
- 18 4,6 dimetil dibenzotiofeno 

Analisando a ordem de eluição e as respectivas estruturas dos compostos, observa-se um comportamento padrão esperado. A razão polaridade/tamanho, ou, os valores logaritmos de Kow das moléculas governa o mecanismo de interação com a fase estacionária, ou seja, moléculas menores e com maior polaridade (menores valores logaritmos de Kow) são as primeiras a eluírem da coluna, pois possuem uma menor interação com a coluna de fase reversa C-18, e os compostos maiores e menos polares (maiores valores logaritmos de Kow) possuem uma maior interação com a coluna, fazendo com que demorem mais tempo para eluir da coluna. Este resultado está de acordo com os resultados teóricos esperados presentes na literatura (AZIM et al; 2013).

5.1.1 Otimização da separação cromatográfica

A partir das condições iniciais do método, iniciou-se o processo de otimização da separação cromatográfica, visto que diversos compostos estavam coeluinto e que a resolução entre os picos não estava satisfatória. Diversas modificações foram feitas, alterando o gradiente dos eluentes, a temperatura, o fluxo e o tempo de corrida.

Testaram-se temperaturas no intervalo de 20 - 60 °C, aonde se observou pouca mudança no comportamento cromatográfico dos compostos, assim a temperatura foi mantida em 40°C, onde a pressão da coluna durante a corrida manteve-se abaixo de 350 bar, visto que abaixo desta temperatura, a pressão ficava próxima de 400 bar em determinados momentos da corrida, e acima de 40 °C, começa a existir a possibilidade de volatilização e decomposição dos compostos e do metanol, além de um aumento das coeluições.

Em relação ao gradiente de composição do eluente, observou-se que aumentando o tempo de corrida, e expandindo o gradiente de forma mais lenta, a separação melhorou em todas as regiões da corrida cromatográfica. Em regiões com maior coeluição (17 – 21 minutos) obtiveram-se melhoras ao aumentar um pouco a polaridade da fase móvel.

Em relação ao fluxo, obteve-se grande melhora diminuindo, porém, com sua diminuição, o tempo de corrida aumentou consideravelmente. Observou-se que um fluxo menor que 0,3 mL.min⁻¹ ocasionou um alargamento dos picos

cromatográficos. Optou-se por utilizar um gradiente de fluxo, diminuindo-o em regiões com maior densidade de sinais, levando a uma boa melhora na separação cromatográfica.

Após a corrida, utilizou-se 3 minutos com 100% de metanol como *post run*, para garantir a saída de todos compostos da coluna cromatográfica. Todas as diferentes condições testadas foram feitas em triplicatas para garantir a uniformidade dos resultados, evitando efeitos anômalos. Como *pré run*, utilizou-se 60% água e 40% de metanol por 2 minutos. A tabela 5 ilustra os parâmetros da metodologia otimizada.

Tabela 5 - Parâmetros da metodologia otimizada.

Tempo (min)	% Água	% Metanol	Fluxo (mL.min ⁻¹)
0	60	40	0,5
1	57	43	0,5
2	40	60	0,5
3	38	62	0,5
4	30	70	0,5
6,50	28	72	0,4
8	26	74	0,3
9	25	75	0,3
11	24	76	0,3
13	22	78	0,3
15	22	78	0,3
17	25	75	0,3
18	10	90	0,4
19	5	95	0,4
20	10	90	0,5
21	15	85	0,4
22	10	90	0,4
23	0	100	0,5

Fonte: autor.

A eficiência da separação cromatográfica foi avaliada em função da resolução de picos, que é dada pela seguinte fórmula:

Figura 16 - Fórmula da resolução entre picos cromatográficos.

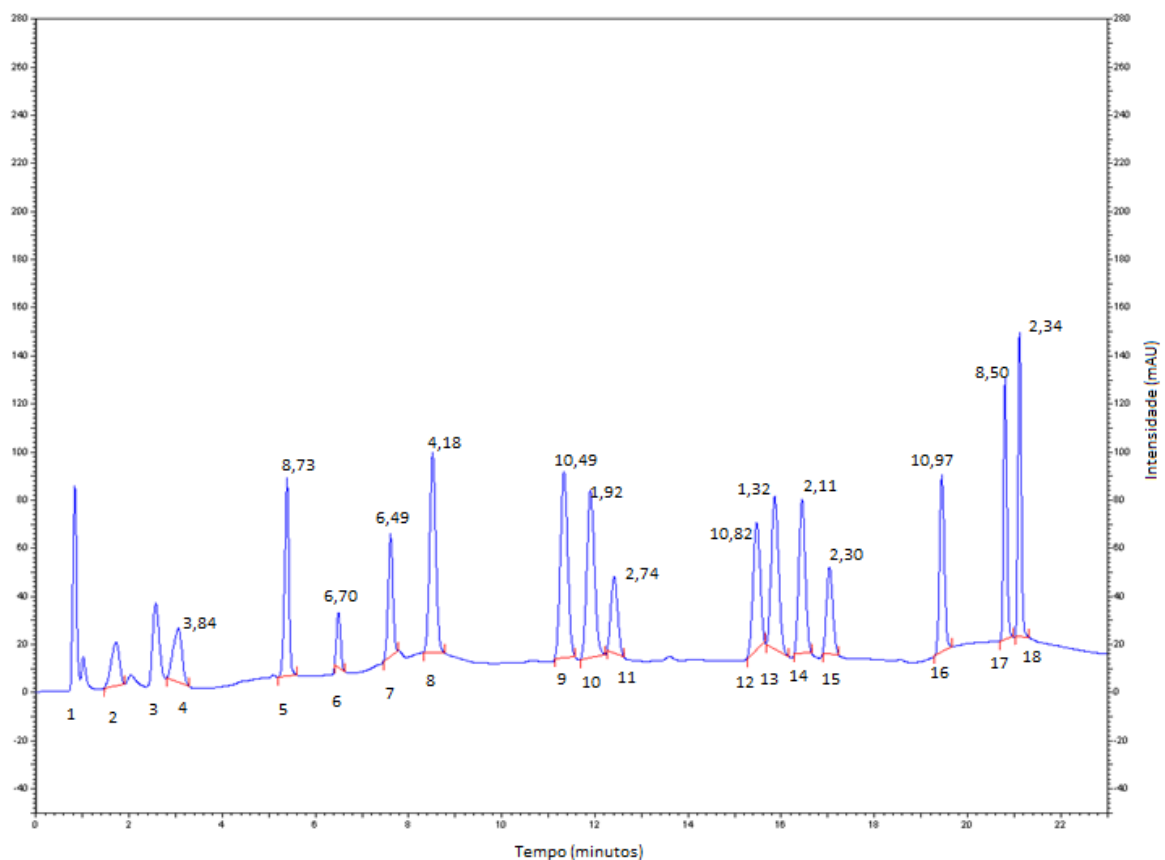
$$R_s = \frac{2(t_2 - t_1)}{1.7(w_{0.5,1} + w_{0.5,2})}$$

Fonte: adaptado de (JOHN 2014).

T_1 e t_2 são os tempos de retenção dos picos de interesse, $W_{0.5,1}$ e $W_{0.5,2}$ são as larguras dos picos medidos na metade de sua altura. O método de usar metade da altura para medir a resolução é usado comumente por softwares porque é muito mais fácil medir a largura na metade da altura do pico do que a largura na região da linha base. Esta técnica é também mais fácil de aplicar a picos que não estão totalmente resolvidos na linha base. O vale entre dois picos simétricos toca a linha base quando R é aproximadamente 1,5 (SNYDER 1997).

A figura 17 ilustra o cromatograma dos 16 compostos nas condições otimizadas de separação, com os respectivos valores de resolução. Nota-se que apenas um pico tem resolução um pouco abaixo da considerada perfeita, (dibenzotiofeno com resolução de 1,32).

Figura 17 - Resolução entre picos dos compostos analisados (5 mg.L^{-1} cada). Picos - 1: injeção, 2: metil fenil sulfóxido, 3: acetonitrila, 4: alil fenil sulfona, 5: benzil sulfona, 6: 3 metil tiofeno, 7: di-p-toluil sulfona, 8: tianafteno, 9: 3 fenil tiofeno, 10: 3 metil benzotiofeno, 11: 2 fenil tiofeno, 12: fenil sulfeto, 13: dibenzotiofeno, 14: dibenzil sulfeto, 15: tiantreno, 16: 4 metil dibenzotiofeno, 17: benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno, 18: 4,6 dimetil dibenzotiofeno volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.

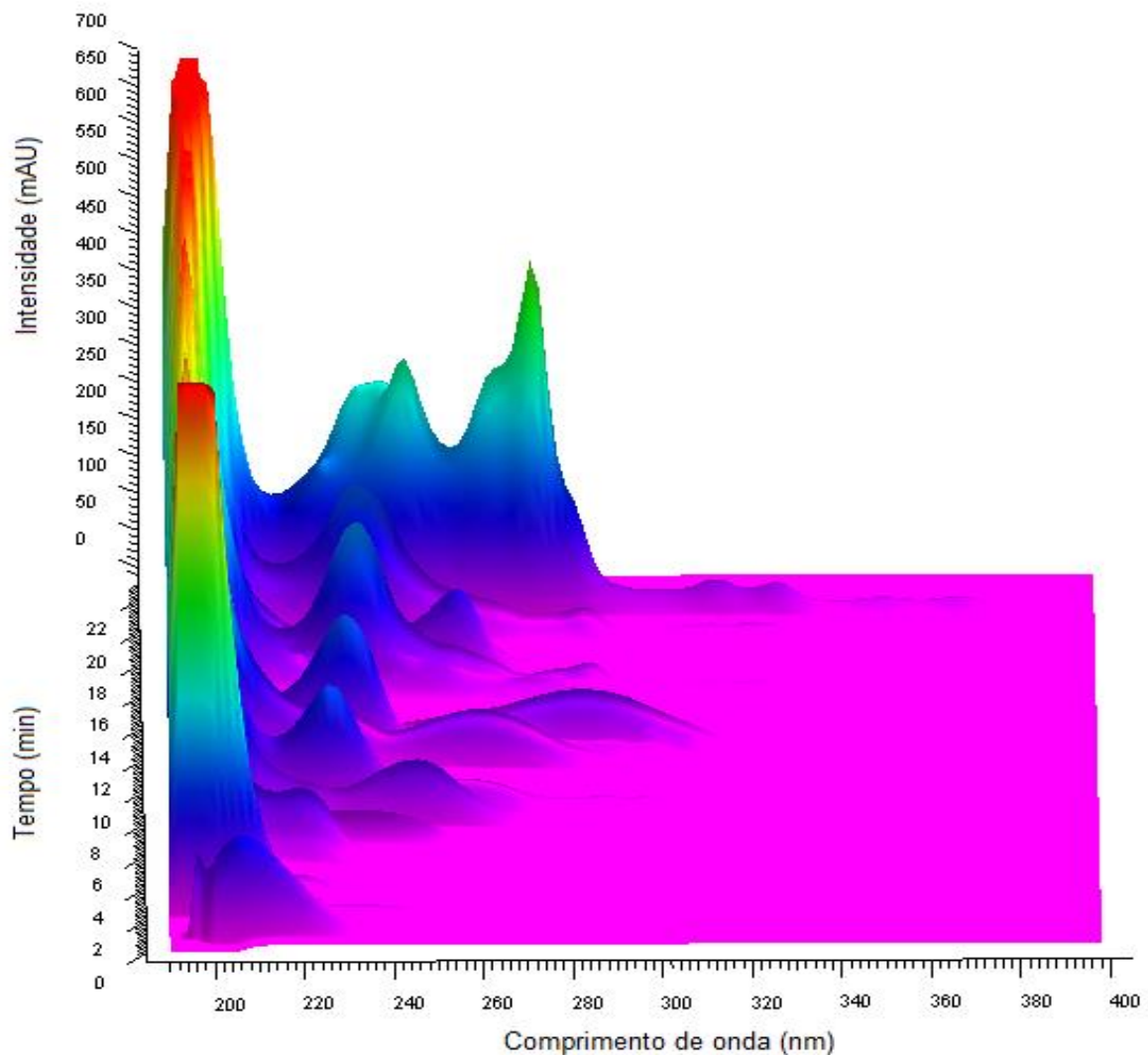


Fonte: autor.

5.1.2 Otimização da detecção por arranjo de fotodiodos dos compostos

Após a otimização da separação dos compostos, iniciou-se a otimização da detecção, visto que eles possuem espectros de absorção UV diferentes entre si. A figura 18 mostra o espectro de absorção UV dos compostos ao longo da corrida cromatográfica (na concentração de 5 mg L⁻¹ cada composto). Percebe-se que abaixo de 215 nm, a interferência dos eluentes (metanol e água) utilizado começa a se tornar crítica, logo, valores abaixo deste não são recomendados para a identificação e quantificação dos compostos.

Figura 18 - Espectros de absorção ultravioleta dos compostos utilizados neste trabalho ao longo da corrida cromatográfica.



Fonte: autor.

Analisando os espectros dos compostos, escolheu-se o comprimento de onda de 225 nanômetros como comprimento principal do método, visto que este fornece uma boa sensibilidade aos compostos estudados. Além disso, foi escolhido um comprimento de onda de maior sensibilidade para cada composto, a fim de utilizá-los como uma forma de confirmação. A tabela 6 apresenta os comprimentos de onda de melhor sensibilidade, assim como o tempo de eluição de cada composto, nas condições de separação cromatográfica otimizadas.

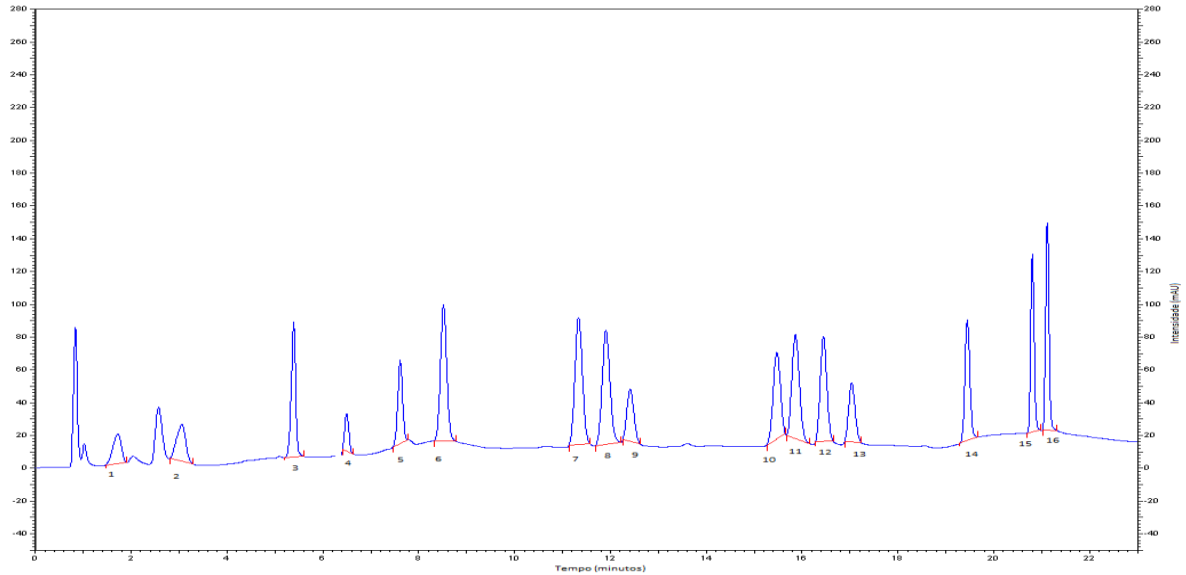
Tabela 6 - Comprimentos de onda de maior absorção para os compostos analisados.

Composto	Comprimento de onda (nm)	Tempo (min)
Metil fenil sulfóxido	215	1,720
Alil fenil sulfona	215	3,060
Benzil sulfona	215	5,393
3 metil tiofeno	225	6,705
Di-p-toluil sulfona	250	7,613
Tianafteno	225	8,513
3 fenil tiofeno	215	11,333
3 metil benzotiofeno	225	11,907
2 fenil tiofeno	215	12,413
Difenil sulfeto	215	15,473
Dibenzotiofeno	225	15,860
Dibenzil sulfeto	215	16,447
Tiantreno	250	17,033
4 metil dibenzotiofeno	225	19,447
Benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno	250	20,807
4,6 dimetil dibenzotiofeno	225	21,113

Fonte: autor.

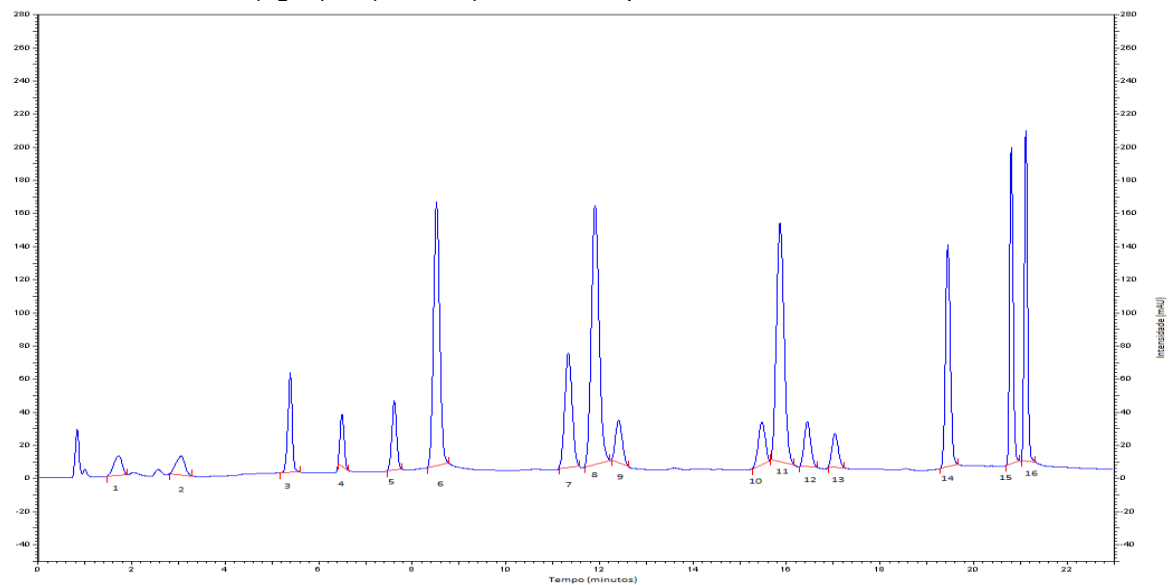
Analisando uma mistura dos padrões com concentrações de 5 g.L⁻¹ de cada composto, nos diferentes comprimentos de ondas escolhidos, observa-se o aumento do sinal analítico no comprimento de onda ideal para cada composto. As figuras 19, 20 e 21 ilustram os cromatogramas desta mistura nos comprimentos de onda de 215, 225 e 250 nanômetros.

Figura 19 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 215 nm dos compostos estudados. Picos - 1: metil fenil sulfóxido, 2: alil fenil sulfona, 3: benzil sulfona, 4: 3 metil tiofeno, 5: di-p-toluil sulfona, 6: tianafteno, 7: 3 fenil tiofeno, 8: 3 metil benzotiofeno, 9: 2 fenil tiofeno, 10: fenil sulfeto, 11: dibenzotiofeno, 12: dibenzil sulfeto, 13: tiantreno, 14: 4 metil dibenzotiofeno, 15: benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno, 16: 4,6 dimetil dibenzotiofeno, todos em concentração de 5 mg/L volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.



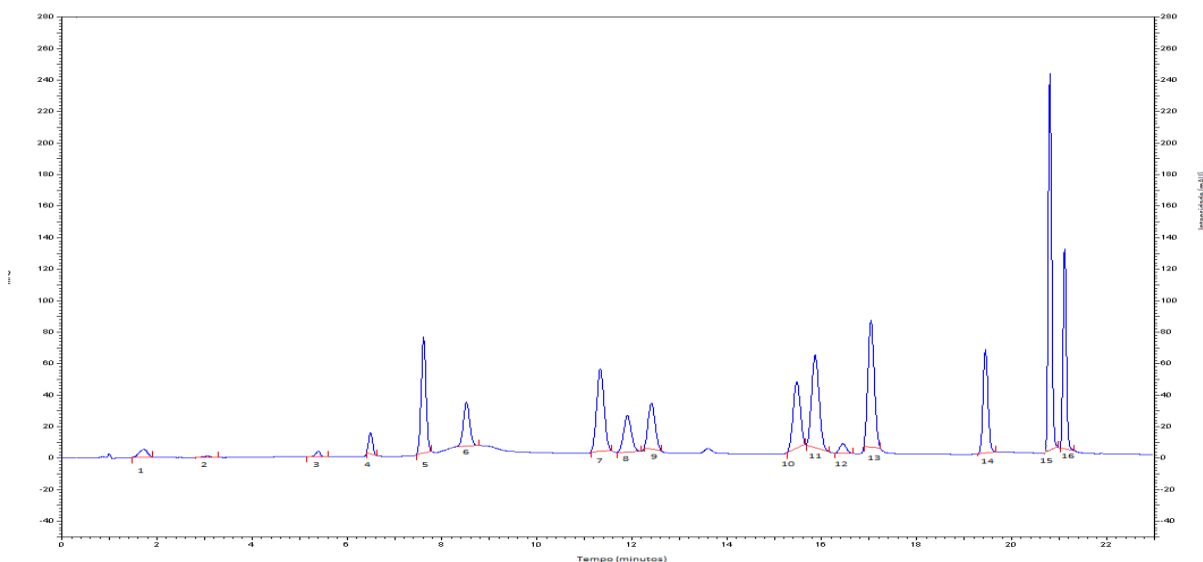
Fonte: autor.

Figura 20 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm dos compostos estudados. Picos - 1: metil fenil sulfóxido, 2: alil fenil sulfona, 3: benzil sulfona, 4: 3 metil tiofeno, 5: di-p-toluil sulfona, 6: tianafteno, 7: 3 fenil tiofeno, 8: 3 metil benzotiofeno, 9: 2 fenil tiofeno, 10: fenil sulfeto, 11: dibenzotiofeno, 12: dibenzil sulfeto, 13: tiantreno, 14: 4 metil dibenzotiofeno, 15: benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno, 16: 4,6 dimetil dibenzotiofeno, todos em concentração de 5 mg/L, volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.



Fonte: autor.

Figura 21 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 250 nm dos compostos estudados. Picos - 1: metil fenil sulfóxido, 2: alil fenil sulfona, 3: benzil sulfona, 4: 3 metil tiofeno, 5: di-p-toluil sulfona, 6: tianafteno, 7: 3 fenil tiofeno, 8: 3 metil benzotiofeno, 9: 2 fenil tiofeno, 10: fenil sulfeto, 11: dibenzotiofeno, 12: dibenzil sulfeto, 13: tiantreno, 14: 4 metil dibenzotiofeno, 15: benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno, 16: 4,6 dimetil dibenzotiofeno, todos em concentração de 5 mg/L, volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.



Fonte: autor.

5.1.3. Avaliação de interferentes

Devido à alta complexidade da matriz, a suscetibilidade a interferentes é elevada. Entre as inúmeras estruturas moleculares possíveis de serem encontradas no cimento asfáltico de petróleo, é possível destacar os HPAs. Como já mencionado, os SHPAs são derivados dos HPAs e possuem muita semelhança estrutural, além de ser uma classe de composto conhecida pelo seu potencial carcinogênico e grande estabilidade, podendo ser encontrado em derivados de petróleo. Além disso, também são possíveis encontrar derivados dos HPAs contendo oxigênio e nitrogênio, sendo chamados de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nitrogenados (NHPAs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos oxigenados (OHPAs) (NASCIMENTO, P.C. et al., 2015).

Avaliou-se a algumas moléculas destas classes de compostos como possíveis interferentes da metodologia analítica. São eles: 1-nitropireno, 2-nitrofluoreno, ferazina e acridina, pertencentes a classe de NHPAs; 2-hidroxi fluoreno, 2-naftol e 1-hidroxipireno, pertencentes a classe de OHPAs; fluoranteno acenafteno, naftaleno e pireno, pertencentes a classe de HPAs. Cada

molécula foi injetada individualmente nas condições otimizadas. Nenhum dos compostos testados apresentou tempo de retenção igual aos analitos.

5.1.4 Validação do método cromatográfico com detecção por arranjo de fotodiodos

O método cromatográfico foi através dos parâmetros de validação preconizados pela ANVISA e pelo INMETRO: linearidade, precisão inter-dia (precisão intermediária) e intra-dia (repetibilidade), limite de detecção, limite de quantificação e exatidão (RIBANI et al., 2004).

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 em conjunto para avaliar qualquer possível mudança de comportamento devido a interações entre eles, 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 7.

Tabela 7 - Faixa linear dos compostos estudados.

Composto	Faixa linear (mg L⁻¹)	R²	Equação da reta
Metil fenil sulfóxido	2,5 - 10	0,997	$y = 5E+06x - 835395$
Alil fenil sulfona	2,5 - 10	0,996	$y = 5E+06x + 327321$
Benzil sulfona	0,05 - 15	0,993	$y = 1E+07x - 4E+06$
3 metil tiofeno	0,05- 15	0,994	$y = 8E+06x - 3E+06$
Di-p-toluil sulfona	0,05 - 10	0,998	$y = 9E+06x + 329470$
Tianafteno	0,05 - 10	0,997	$y = 4E+07x + 3E+06$
3 fenil tiofeno	0,05 - 10	0,997	$y = 2E+07x + 2E+06$
3 metil benzotiofeno	0,05 - 15	0,990	$y = 5E+07x - 2E+07$
2 fenil tiofeno	0,05 - 10	0,993	$y = 6E+06x + 3E+06$
Difenil sulfeto	0,05 - 15	0,998	$y = 8E+06x + 415956$
Dibenzotiofeno	0,05 - 10	0,997	$y = 4E+07x + 1E+07$
Dibenzil sulfeto	0,05 - 10	0,997	$y = 8E+06x - 136693$
Tiantreno	0,05 - 10	0,9981	$y = 5E+06x - 165147$
4 metil dibenzotiofeno	0,05 - 10	0,9997	$y = 3E+07x + 3E+06$
Benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno	0,05 - 10	0,9995	$y = 2E+07x - 2E+06$
4,6 dimetil dibenzotiofeno	0,05 - 10	0,9996	$y = 3E+07x + 1E+06$

Fonte: autor.

A faixa linear foi analisada nos três comprimentos de onda selecionados (225, 215 e 250 nanômetros). As melhores faixas lineares estão nos comprimentos de ondas mais sensíveis de cada composto, porém em geral, todos respondem bem ao comprimento de onda de 225 nm, sendo este utilizado como o comprimento de onda primário do método, e os outros dois (215 e 250 nanômetros) são utilizados para confirmação, como já mencionados anteriormente, caso algum composto seja encontrado em alguma amostra de cimento asfáltico de petróleo. Observar-se uma menor sensibilidade nos dois primeiros compostos que eluem da coluna (metil fenil sulfóxido e alil fenil sulfona). Esta menor sensibilidade é explicada pela menor quantidade de grupos cromóforos em suas estruturas e sua pequena interação com a coluna de separação (pequeno valor logaritmo de K_{ow}). Acima de 15mg L^{-1} , observa-se uma significativa perda de linearidade de todos os compostos, assim como diminuição na resolução entre picos devido a alargamentos do sinal.

Para a determinação dos limites de detecção e quantificação foram injetadas 10 replicatas da linha base. Os valores podem ser visualizados na tabela 8.

Tabela 8 - Limites de detecção e quantificação para compostos de enxofre em estudo.

Composto	LD (mg.L-1)	LQ (mg.L-1)
Metil fenil sulfóxido	0,5	1,5
Alil fenil sulfona	0,5	1,4
Benzil sulfona	0,01	0,03
3 metil tiofeno	0,02	0,05
Di-p-toluil sulfona	0,04	0,08
Tianafteno	0,01	0,03
3 fenil tiofeno	0,02	0,05
3 metil benzotiofeno	0,03	0,07
2 fenil tiofeno	0,03	0,09
Difenil sulfeto	0,03	0,08
Dibenzotiofeno	0,01	0,04
Dibenzil sulfeto	0,03	0,07
Tiantreno	0,01	0,03
4 metil dibenzotiofeno	0,01	0,04
Benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno	0,01	0,04
4,6 dimetil dibenzotiofeno	0,01	0,03

Fonte: autor.

A precisão foi avaliada em termos de repetibilidade, através da injeção em triplicata de seis 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 9.

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 9. Os valores de exatidão obtidos estão dentro do esperado para matrizes complexas, sendo aceitáveis valores de 80 a 120 %.

Tabela 9 - Precisão e exatidão do método desenvolvido.

Composto	RSD (%) intra-corrída	RSD (%) Inter-corrída	Exatidão (%)
Metil fenil sulfóxido	1,70 – 6,44	12,18	89,20
Alil fenil sulfona	1,12 – 7,21	12,31	90,12
Benzil sulfona	0,50 – 4,33	8,76	96,43
3 metil tiofeno	1,11 – 5,29	5,21	102,80
Di-p-toluil sulfona	0,77 – 4,98	7,25	110,25
Tianafteno	0,43 – 4,22	2,27	102,40
3 fenil tiofeno	0,88 – 5,29	3,78	99,60
3 metil benzotiofeno	0,71 – 6,11	5,68	103,90
2 fenil tiofeno	1,21 – 5,98	4,89	101,28
Difenil sulfeto	1,64 – 6,29	7,95	111,17
Dibenzotiofeno	1,99 – 4,93	3,91	106,73
Dibenzil sulfeto	1,05 – 6,18	4,66	109,22
Tiantreno	0,65 – 3,78	3,78	102,19
4 metil dibenzotiofeno	0,53 – 3,98	2,77	113,30
Benzo (a) nafto [2,3-d] benzotiofeno	0,81 – 6,91	2,90	109,76
4,6 dimetil dibenzotiofeno	1,04 – 5,21	4,33	112,21

Fonte: autor.

5.4 Limpezas das frações asfálticas obtidas pelo método de Payzant e Green.

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 das frações obtidas pelas metodologias de Payzant e Green usando cartuchos de aminopropil, e uma extração de voláteis do asfalto bruto utilizando o DEC.

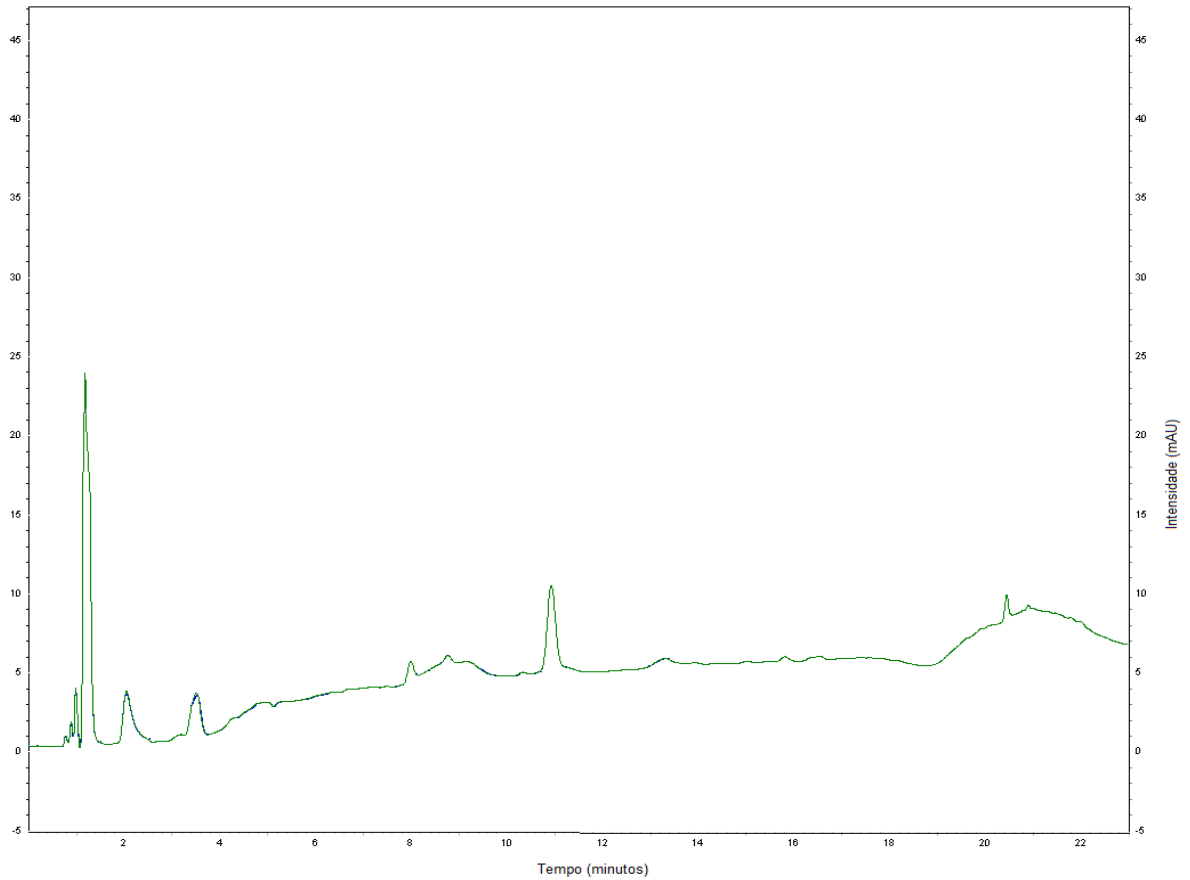
5.4.1 Extração em fase sólida de aminopropil

Após o fracionamento das amostras de cimento asfáltico de petróleo em saturados aromáticos, sulfetos alifáticos e compostos tiofênicos pelo método de Payzant, e o fracionamento em frações ácidas, básicas e neutras dos maltenos e asfaltenos de cada amostra, ainda era possível observar uma coloração bastante escura, além de estarem diluídas em tolueno. Essas condições da amostra não são as ideais para a injeção em um equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência, visto que poderia ocorrer a danificação do equipamento e da coluna cromatográfica.

A metodologia de extração em fase sólida utilizada neste trabalho foi previamente desenvolvida e otimizada por Silveira (2017), para posterior determinação de compostos sulfurados em cimento asfáltico de petróleo utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas utilizando a ionização APPI (fotoionização a pressão atmosférica, do inglês *atmospheric pressure photo ionization*). Este estudo mostrou-se eficiente, com recuperações que variaram de 65 a 114% para os compostos organossulfurados.

As amostras submetidas ao SPE e posteriormente analisadas apresentaram cromatogramas semelhantes à figura 22, que ilustra o cromatograma obtido da fração saturados aromáticos da amostra de cimento asfáltico REGAP 50/70. Os sinais analíticos encontrados não correspondem a nenhum dos compostos do método. Todas as amostras analisadas foram posteriormente fortificadas com os padrões da metodologia para a confirmação do resultado.

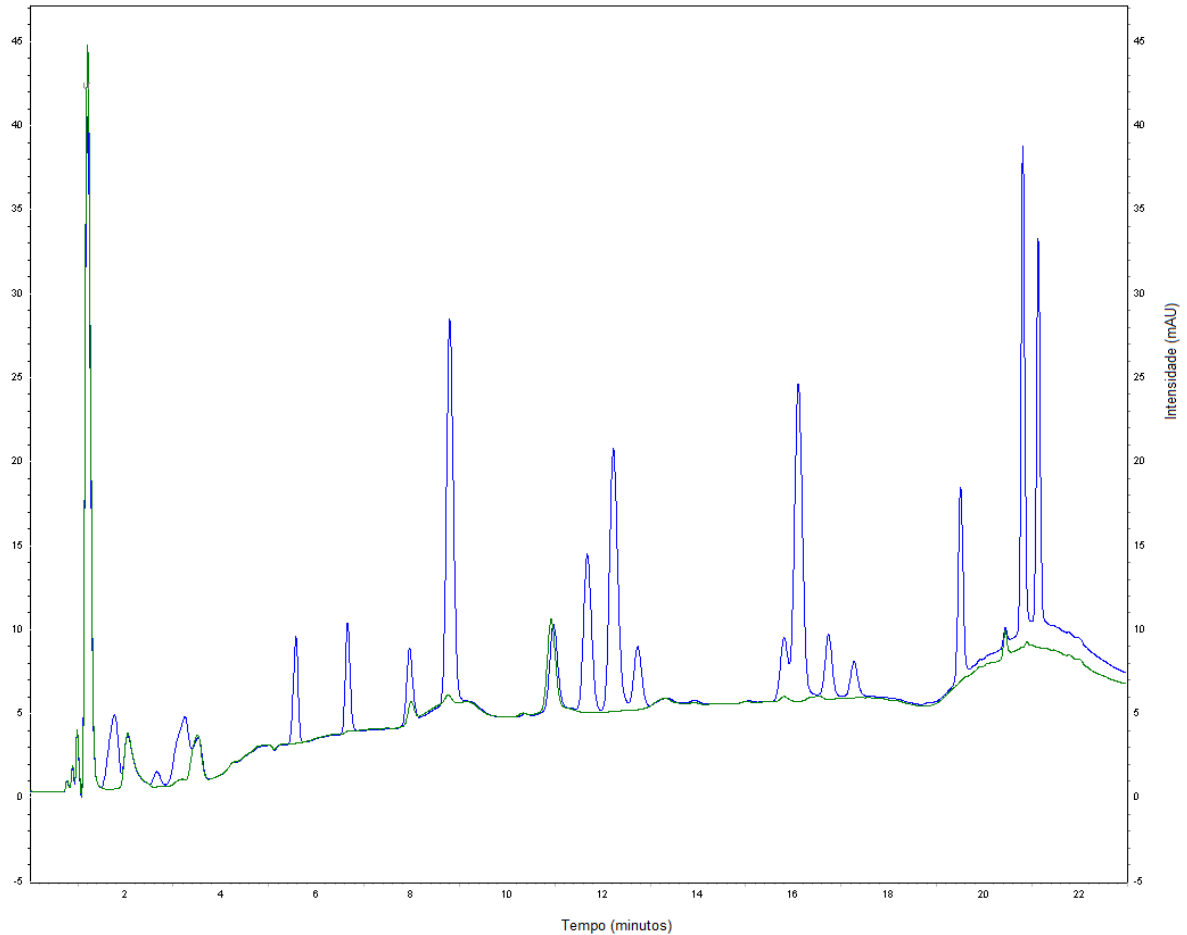
Figura 22 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm da fração saturados aromáticos da amostra de cimento asfáltico REGAP 50/70 (diluída 1:1 em metanol), previamente submetida ao procedimento de extração em fase sólida. Volume de injeção: 10 μ L. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.



Fonte: autor.

A figura 23 ilustra o cromatograma obtido após a fortificação da mesma amostra de cimento asfáltico de petróleo (REGAP 50/70, fração saturados aromáticos) com todos os 16 padrões sulfurados estudados na concentração de 2 mg.L^{-1} .

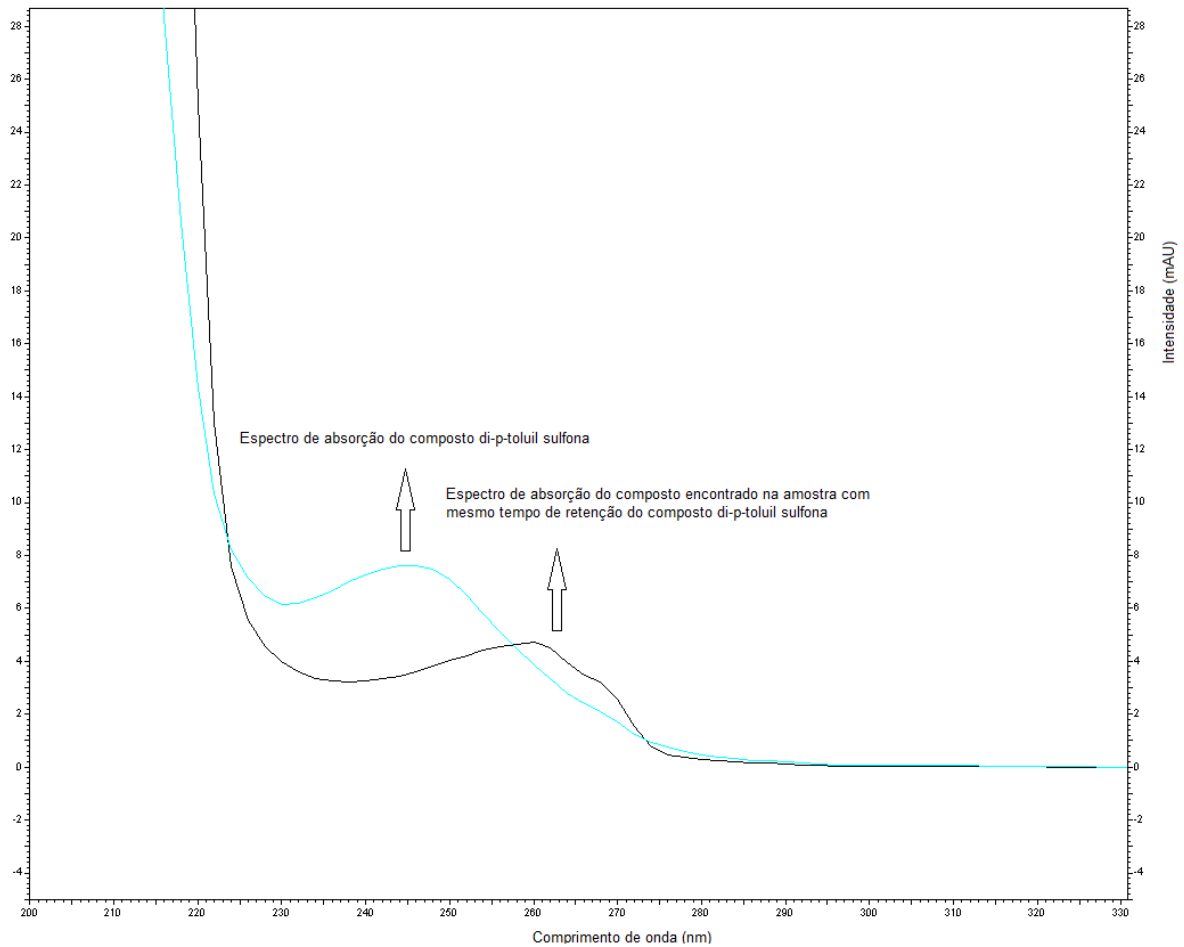
Figura 23 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm da fração saturados aromáticos da amostra de cimento asfáltico REGAP 50/70 (diluída 1:1 em metanol), previamente submetida ao procedimento de extração em fase sólida em verde. Em azul, cromatograma obtido após a fortificação da mesma amostra com 2 mg.L⁻¹ de cada composto estudado. Volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.



Fonte: autor.

Analisando o cromatograma acima, é possível observar o mesmo tempo (8 minutos) de retenção de um sinal analítico obtido na amostra, e após a fortificação com os padrões. Para obter a confirmação se o sinal analítico encontrado na amostra é o composto di-p-toluil sulfona, que possui o mesmo tempo de retenção, foram comparados os espectros de absorção do composto suspeito encontrado na amostra, comparando com o espectro de absorção do padrão de mesmo tempo de retenção. A figura 24 ilustra o cruzamento do espectro de absorção proveniente do composto encontrado na amostra com o espectro de absorção do composto di-p-toluil sulfona.

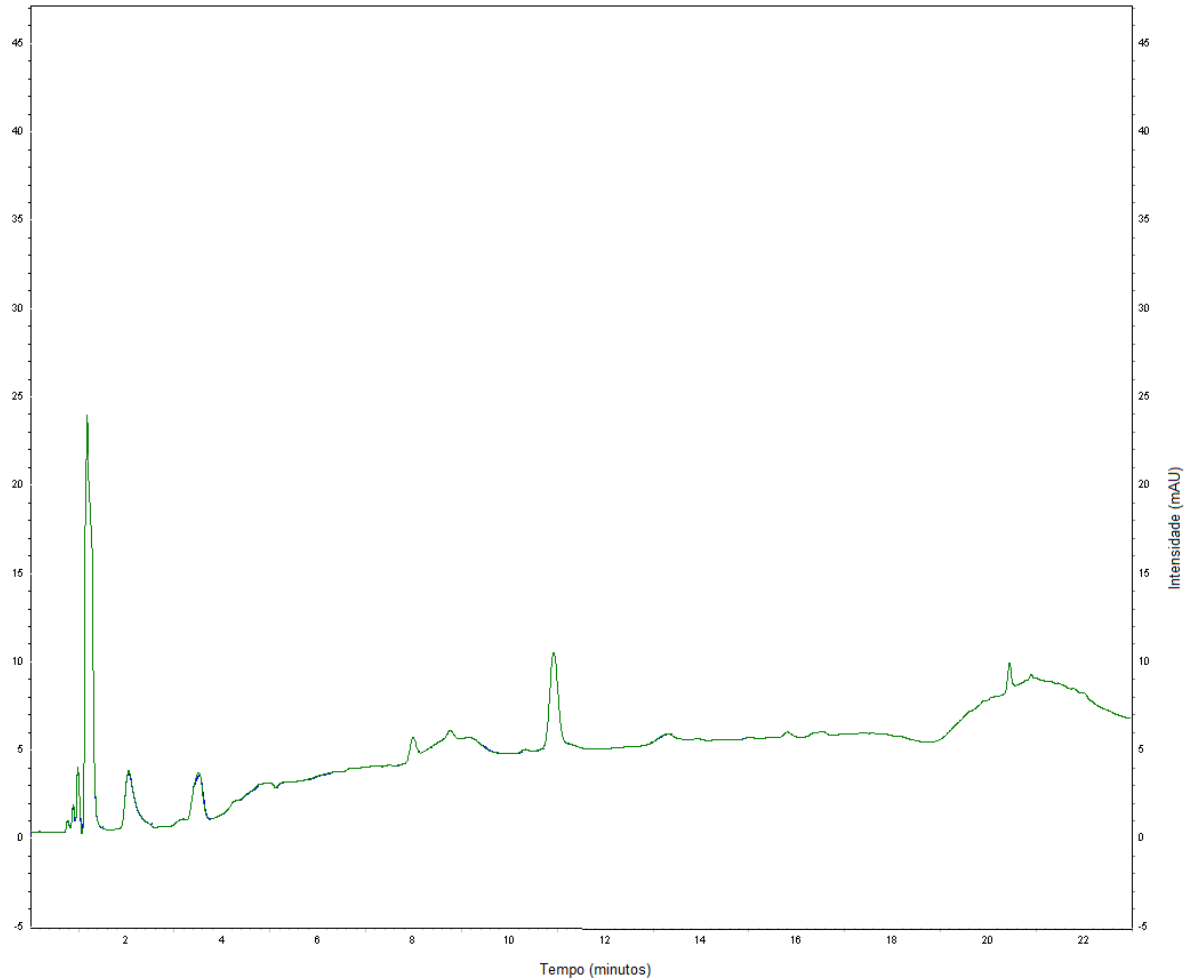
Figura 24 - Em preto, espectro de absorção do composto encontrado na amostra com mesmo tempo de retenção do di-p-toluil sulfona. Em azul, espectro de absorção do composto di-p-toluil sulfona.



Fonte: autor.

Todas as amostras de cimento asfáltico de petróleo analisadas pela metodologia, resultados semelhantes ao apresentado acima foram encontrados, cromatogramas com poucos sinais e que não provenientes dos compostos do estudo (diferentes tempos de retenção, diferentes espectros de absorção, todos confirmados pela técnica de adição do padrão nas amostras). Além disso, as amostras foram analisadas com o uso da extração em fase sólida e também sem, utilizando apenas uma filtragem prévia para evitar com que qualquer material particulado entre na coluna. A figura 25 ilustra o cromatograma obtido da mesma amostra, sem o uso do SPE (fração saturados aromáticos do cimento asfáltico de petróleo REGAP 50/70).

Figura 25 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm da fração saturados aromáticos pelo método de Green da amostra de cimento asfáltico REGAP 50/70 (diluída 1:1 em metanol), sem a utilização da extração em fase sólida para a limpeza da amostra. Volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.



Fonte: autor.

É possível observar que o cromatograma obtido sem o uso da extração em fase sólida é exatamente o mesmo ao obtido com o uso da mesma. Análises de confirmação foram feitas da mesma forma, com adição do padrão na amostra e comparação dos espectros de absorção dos sinais proveniente de compostos na amostra. Visto a extrema complexidade da amostra, esse resultado está de acordo com o esperado ao utilizar um detector de arranjo de fotodiodos.

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. (2017) utiliza a fotoionização à pressão atmosférica (APPI) como fonte de ionização. Em que um feixe de fótons provenientes de uma lâmpada interage com o vapor formado da

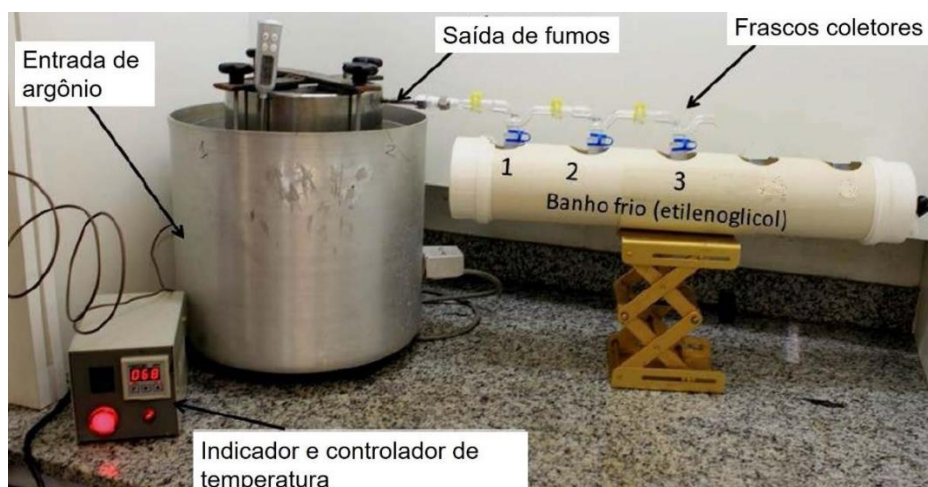
nebulização do solvente proveniente do sistema de cromatografia. Supõe-se que a energia proveniente da lâmpada atue na matriz, deixando os compostos livres, para posterior detecção. Enquanto que nas análises com o uso do detector de arranjo de fotodiodos os compostos organossulfurados continuam confinados da matriz, impedindo que absorvam radiação.

Para que seja possível identificar os compostos estudados nas frações de cimento asfáltico obtidas pelas metodologias de Payzant e Green com a metodologia desenvolvida, é necessário um tratamento de limpeza de amostra diferente do desenvolvido por Silveira (2018), que seja capaz de extrair estes compostos da matriz, permitindo com que fiquem livres e absorvam a radiação ultravioleta.

5.4.2 Extração em fase gasosa via DEC

A extração via dispositivo de emissão e coleta (DEC) foi utilizado como metodologia alternativa para a extração e determinação dos compostos organossulfurados. Esse sistema foi construído com o objetivo de extrair os fumos do ligante asfáltico através do aquecimento. Além dos fumos, é também possível extrair os compostos sulfurados. Schmidt em 2018 identificou e quantificou o composto 3 fenil tiofeno através desta metodologia de extração aplicada a amostras de cimento asfáltico de petróleo. A figura 26 ilustra o DEC em funcionamento.

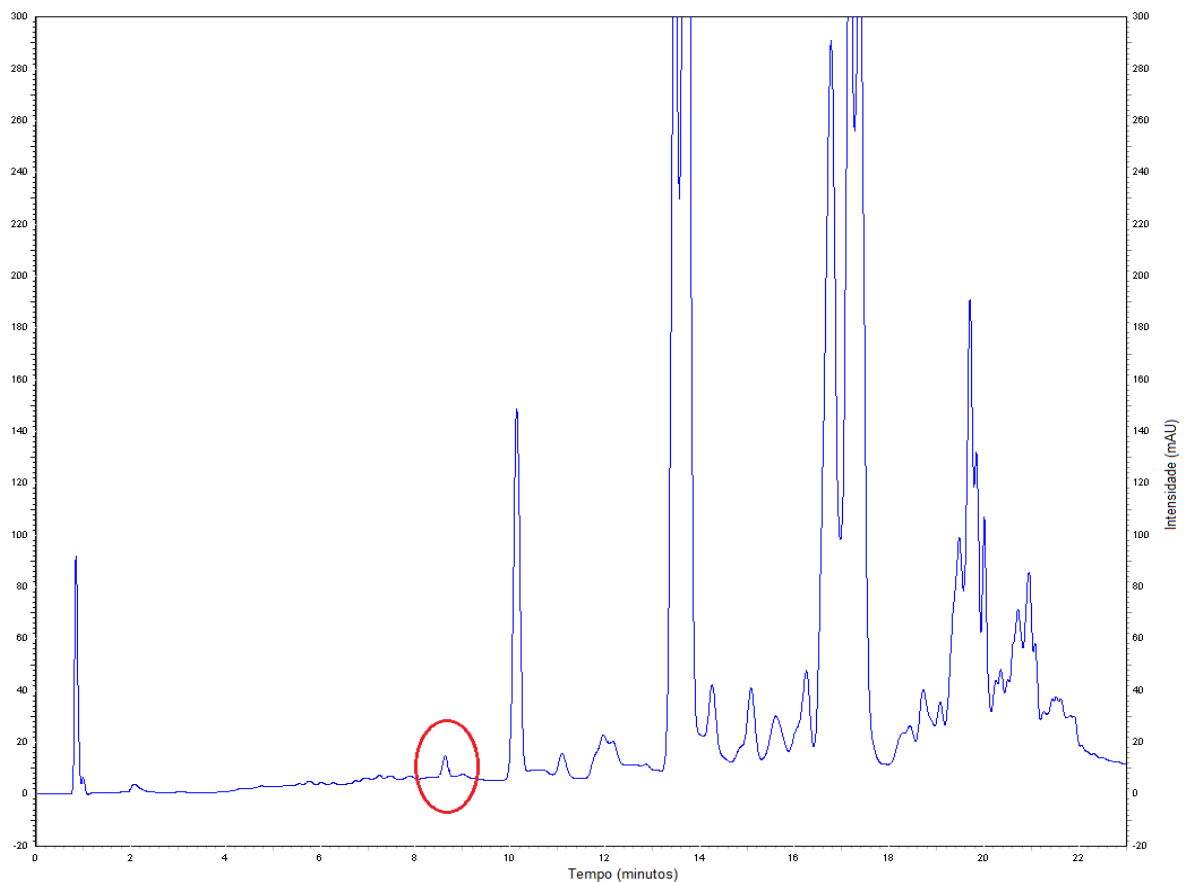
Figura 26 - Dispositivo de extração e coleta (DEC) em funcionamento.



Fonte: adaptado de Ferraz (2015).

As amostras foram submetidas a uma extração de 4 horas, a uma temperatura controlada de 150 a 160 °C. Esta temperatura tem o intuito de simular o momento de aplicação do cimento asfáltico de petróleo nas rodovias, mostrando que qualquer composto extraído durante este processo poderia ser inalado pelos trabalhadores durante sua aplicação. O conteúdo dos dois frascos coletores (50 mL de metanol em cada) foi filtrado e então analisado através da metodologia desenvolvida. Nos cromatogramas obtidos, é possível observar uma grande quantidade de sinais analíticos, evidenciando a capacidade do DEC em extrair compostos. A figura 27 ilustra o cromatograma obtido da análise do primeiro frasco coletor do processo de extração da amostra REGAP 50/70, com destaque ao sinal analítico entre oito e nove minutos.

Figura 27 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm da amostra de cimento asfáltico REGAP 50/70 pós extração pelo DEC (1° frasco coletor). Volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.

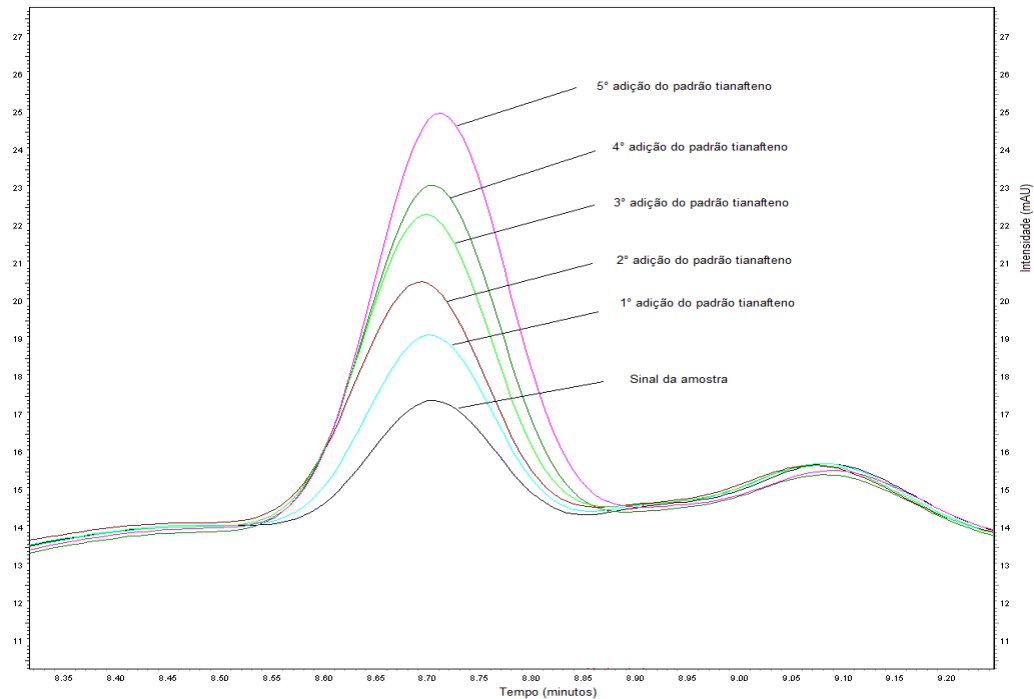


Fonte: autor.

Analisando o cromatograma obtido, é possível observar a grande intensidade de sinais obtidos nas regiões de menor polaridade da corrida cromatográfica. Visto que o cimento asfáltico de petróleo é composto predominantemente de compostos orgânicos de baixa polaridade, este já era o comportamento esperado. Devido à grande intensidade dos sinais, esta região de menor polaridade da metodologia (a partir de 12 minutos), é difícil identificar compostos, pois o sinal está muito poluído e com diversas coeluições. Foi realizada diluições 1:2 (V/V), 1:5 (V/V) e 1:10 (V/V) da amostra na fase móvel com o intuito de confirmar os sinais obtidos e também de obter sinais mais limpos e com menos coeluições na região mencionada. O perfil cromatográfico se manteve o mesmo, porém a área dos picos diminuiu, evidenciando que os sinais obtidos são de compostos da amostra. Não foi possível obter sinais mais limpos.

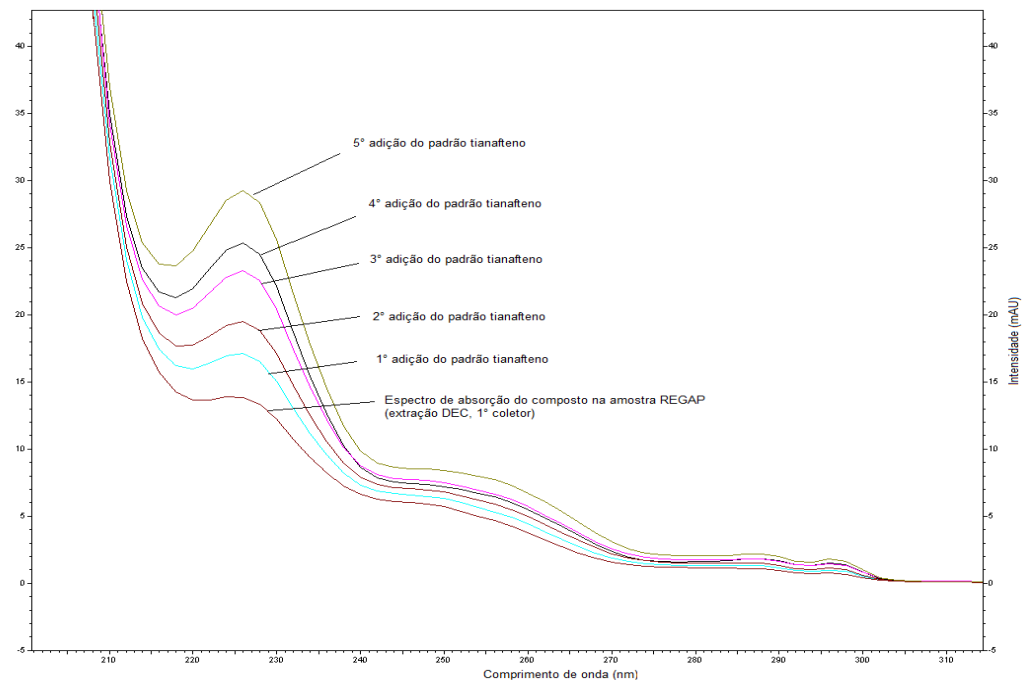
Dentre os sinais obtidos, pode se destacar um pico entre oito e nove minutos, cujo tempo de retenção corresponde ao composto tianafteno. Este pode então ser quantificado, através da adição de padrão na amostra, e posterior construção de uma curva de calibração. Os cromatogramas sobrepostos confirmam a identidade do composto, como pode se verificar na Figura 28. Para a confirmação, foi comparado o espectro de absorção ultravioleta do composto encontrado na amostra com o padrão, através da adição do padrão, confirmando a presença do composto na amostra. A figura 29 ilustra o espectro de absorção ultravioleta na amostra, e após as adições.

Figura 28 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm da amostra de cimento asfáltico REGAP 50/70 pós extração pelo DEC (1º frasco coletor), com adições do padrão tianafteno. Volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.



Fonte: autor.

Figura 29 - Espectro de absorção do composto encontrado na amostra no tempo mesmo tempo de retenção do tianafteno e cruzamento com o espectro de absorção de adições feitas na amostra de tianafteno (0,05 mg.L-1 cada).

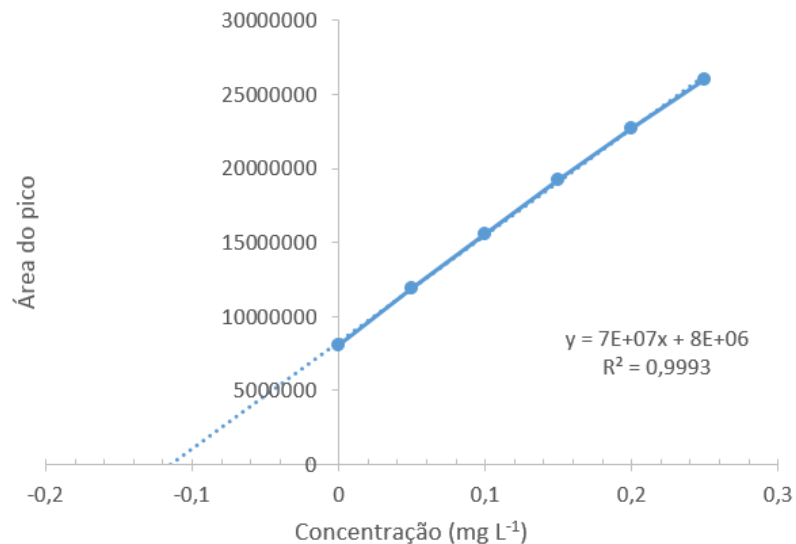


Fonte: autor.

Através do tempo de retenção e do espectro de absorção, foi possível identificar o composto tianafteno na amostra de cimento asfáltico REGAP 50/70. Nas outras amostras analisadas pelo DEC, não foi encontrado nenhum composto do método desenvolvido.

Foi utilizado o método de adição do padrão para a quantificação do tianafteno conforme pode ser visto no gráfico da Figura 30. De acordo com a quantificação realizada na amostra, foi detectada uma concentração de $7,62 \text{ mg.kg}^{-1}$ de tianafteno na amostra REGAP50/70.

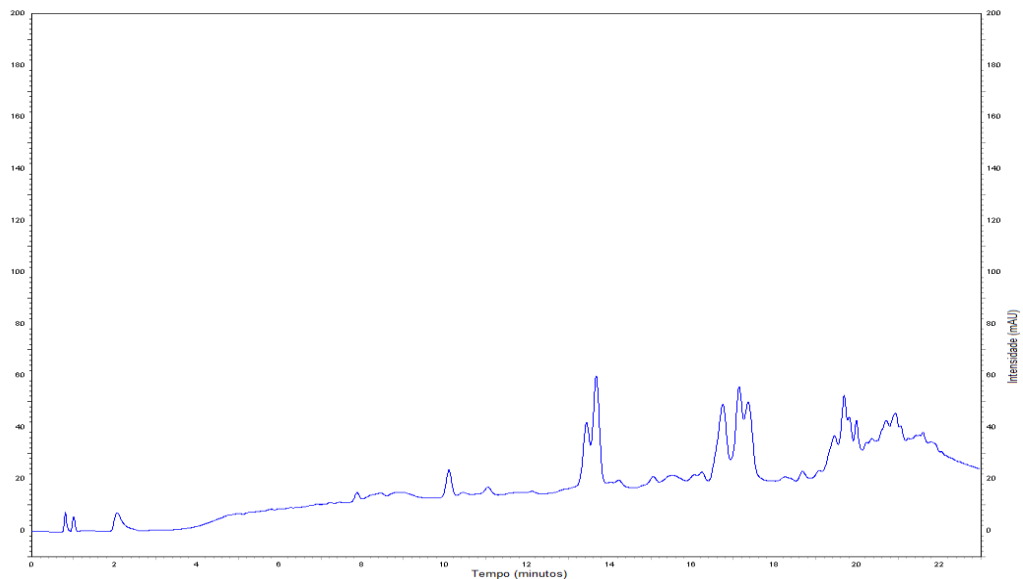
Figura 30 – Curva de adição do padrão, tianafteno, sobre a amostra REGAP 50/70 extraída pelo DEC (1º frasco coletor).



Fonte: autor.

Foi realizada a análise do conteúdo dos frascos coletor dois e três em todas as amostras. Nenhum composto organossulfurado do método foi encontrado, porém, ainda foi possível encontrar diversos sinais de analitos desconhecidos. A Figura 31 ilustra o cromatograma obtido da análise do segundo frasco coletor obtido pelo DEC da amostra de cimento asfáltico de petróleo REGAP 50/70.

Figura 31 - Cromatograma obtido no comprimento de onda de 225 nm da amostra de cimento asfáltico REGAP 50/70 após a extração pelo DEC (2º frasco coletor). Volume de injeção: 10 uL. Gradiente de A (água), B (metanol), fluxo e temperatura utilizados estão na tabela 2.



Fonte: autor.

A partir dos resultados obtidos, comprovou-se a eficácia de extração de compostos voláteis das amostras brutas de cimento asfáltico de petróleo através do uso do dispositivo de extração e coleta desenvolvido por Ferraz (2015). Portanto, além dos compostos organossulfurados estarem relacionados com processos de envelhecimento do CAP, estes devem também ser inseridos nas questões ambientais, visto que a temperatura utilizada no dispositivo, foi selecionada com o intuito de simular a aplicação do ligante nas rodovias, fica evidente o risco de inalação destes compostos pelos trabalhadores, assim como a contaminação ambiental. Estas ideias estão de acordo com as apresentadas em um estudo feito por Anderson (2015), no qual sinaliza a importância do estudo de compostos sulfurados derivados de HPAs. O composto tianafteno pertence à classe dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos contendo enxofre, e pouca informação tem-se a respeito de sua toxicidade, mas sabe-se que estruturas de HPAs substituídos com enxofre possuem um aumento na capacidade mutagênica/cancerígena, visto que este elemento é um facilitador das vias metabólicas envolvidas (ANDERSON, 2015). Com isso, fica evidente a necessidade de novos estudos com o objetivo de entender melhor o risco que os compostos organossulfurados aos trabalhadores e ao meio ambiente nas emissões dos fumos de asfalto.

6 CONCLUSÕES

Foi desenvolvido e validado um método de separação cromatográfica com detecção por arranjo de fotodiodos, que permite a detecção de 16 compostos organossulfurados. A metodologia deste trabalho teve como objetivo servir como uma técnica alternativa, com análises mais acessíveis e rápidas, mas que produzam uma separação eficiente dos compostos, com baixos limites de detecção, visto que a maioria das técnicas utilizadas para o mesmo propósito que este trabalho faz uso de equipamentos de alto custo, e demandam um longo tempo de análise.

Devido à alta complexidade da matriz mesmo após o fracionamento e limpeza com SPE, não foi possível identificar nenhum composto organossulfurado com o método desenvolvido. É necessário o desenvolvimento de diferentes metodologias de limpeza para obter os analitos de interesse livres da matriz, possibilitando que absorvam a radiação ultravioleta emitida pelo detector e possam ser identificados e quantificados. Com o uso do DEC, foi possível identificar e quantificar o composto tianafteno, que pertence à classe dos HPAs, na concentração de $7,62 \text{ mg.kg}^{-1}$. O sucesso com o uso do DEC foi devido à eliminação da matriz, visto que os fumos emitidos pela mesma são capturados em um solvente puro adequado para o equipamento de cromatografia. A presença do composto na amostra foi comprovada através da comparação do espectro de absorção ultravioleta do composto na amostra, com o espectro de absorção de adições feitas do padrão na amostra.

Este trabalho confirma a presença de compostos organossulfurados nas emissões dos fumos de matrizes asfálticas, fato que deve ser aprofundado em estudos futuros, visto o alto potencial cancerígeno que estas estruturas químicas possuem, além de serem grandes poluidores ambientais. Com isso fica evidente a necessidade da inclusão das classes substituídas dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos a lista de analitos de rotina a serem investigados em situações de riscos ambientais criada pela Agência de Proteção Ambiental (EPA) dos Estados Unidos.

7 BIBLIOGRAFIA

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.

AVILA, B.M.F. et al. **Speciation of organic sulfur compounds using comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry: a powerful tool for petroleum refining.** Fuel, v. 126, p. 188-193, 2014.

AZIM, M. D.; SABIR, M. M. **HPLC method development and validation: a review.** Internacional Research Journal of Pharmacy, v.4 (4), 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, 3ªReimpressão, 2010.

BODUSZYNSKI, M. M. **Composition of Heavy Petroleums. 1. Molecular Weight, Hydrogen Deficiency, and Heteroatom Concentration as a Function of Atmospheric Equivalent Boiling Point up to 1400 OF (760 °C).** Energy & Fuels, v. 1, p. 2-11, 1987.

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.

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 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.

CLAUSSEN, L. C. **Compostos sulfurados em asfaltos: influência do processo de envelhecimento nas frações maltênicas e asfálticas**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2013.

CLAUSSEN, L. E. **Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, níquel e vanádio em frações ácidas, básicas e neutras de asfalto virgens e envelhecidas**. Tese de doutorado em Química Analítica - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Santa Maria, RS, 2017.

COLLINS, C. et al., **Fundamentos de Cromatografia**, 1ª ed, UNICAMP, 2006.

CRAVO, M. C. C. **Efeitos Do Envelhecimento Térmico E Fotoquímico Em Ligantes Asfálticos**. 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.

EDWARD, Y.; FEHNEL, A.; MARVIN, C. **The Ultraviolet Absorption Spectra of Organic Sulfur Compounds**, 1950.

EL BEZE, L. **Recyclage à chaud des agregats d'enrobes bitumineux: Identification de traceurs d'homogénéité du mélange entre bitumen vieilli et bitumen neuf d'apport.** Tese de doutorado, Université Paul Cezanne Aix-Marseille III, Géosciences de l' Environnement, 2008.

FEHNEL, E. A.; CARMACK, M. **The Ultraviolet Absorption Spectra of Organic Sulfur Compounds.** Journal of the American Chemical Society, v. 72(3), p.1292–1297, 1950.

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

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.

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

GREENFIELD, M. L. et al., **XANES measurements of sulfur chemistry during asphalt oxidation.** Fuel, v. 162, p. 179-185, 2015.

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

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa.** Oitava edição traduzida e revisada, LTC, Rio de Janeiro, 2015.

HEGAZI, A.H.; ANDERSSON, J.T. **Characterization of polycyclic aromatic sulfur heterocycles for source identification.** Oil Spill Environmental Forensics, Fingerprinting and source identification, p. 147-168, 2007.

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

Acesso em: 20 jun 2018.

JAMES, R. R. **Diode Array Detectors for HPLC**. Analytical Chemistry, v. 72, p. 483-487, 2000.

LEITE, L. F. M. **Estudo de prepare 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.

MARCHI, I.; RUDAZ, S.; VEUTHEY, J-L. **Atmospheric pressure photoionization for coupling liquid-chromatography to mass spectrometry: a review**. Talanta, v.78, p. 1-18, 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.

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.

NOBLE, A. R. **Partition coefficients (n-octanol-water) for pesticides.** Journal of Chromatography, v. 642, p. 3-14, 1993.

PASSERINI, R. C. **Chapter 7 – Ultraviolet Absorption Spectra of Organic Sulfur Compounds.** Organic Sulfur Compounds, p.57-74, 1961.

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.

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.

REFAP, **Refinaria Alberto Pasqualini.** Disponível em: <<http://www.refap.com.br>>. Acesso em: 15 maio de 2017.

RIBANI, M. et al., **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos.** Química Nova, v. 27, n. 5, p. 771 - 780, 2004.

ROBINSON, P. R.; HSU, C. S. **Petroleum and its products.** Handbook of industrial chemistry and biotechnology, p. 13–106, 2017.

ROCHA, T. A. M. C. **Desenvolvimento e validação de um método de HPLC-DAD-FLD para a determinação de inibidores da enzima fosfodiesterase tipo-5 (PDE-5) em suplementos alimentares à base de plantas.** 2015. 82p. Dissertação (Mestrado em Controlo de Qualidade) – Universidade do Porto, Porto, 2015.

RUDZINSKI, W.E.; RAY, V. **Detection of polyaromatic sulfur heterocycles in crude oil using post column addition of tropylium and tandem mass spectrometry.** Energy & Fuel, v. 19, p. 1611-1618, 2005.

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.

SANT'ANA, C.S. **Especiação de compostos de enxofre, níquel e vanádio em cimento asfáltico de petróleo (CAP) e sua relação com os processos de envelhecimento.** 2015. Tese de doutorado (Doutorado em Química Analítica: Programa de Pós-Graduação em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Santa Maria/RS, Brasil, 2015.

SCHMIDT, P. **Determinação de compostos sulfurados em amostras de asfalto de petróleo empregando cromatografia líquida com detecção pulso-amperométrica.** 2018. 77 f. Tese (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2018.

SENÇO, W. **Manual de técnicas de pavimentação.** Pini, São Paulo, Vol.1, p. 1-746, 1997.

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.

SKOOG, D. A. et al., **Fundamentos de Química analítica,** Tradução da 9ª edição norte-americana, Cengage Learning, São Paulo, 2015.

SNYDER, L.R. **Practical HPLC Method Development.** John Wiley & Sons, New York, v. 2, p. 211-215, 1997.

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

YU, L.; FROLOV, L. M.; SINEGOVSKAYA, N. K.; GUSAROVA, G. G.; EFREMOVA.;
TROFIMOV, B. A. **UV Absorption Spectra of the Sulfoxides**. UDC, v. 541, p.
124:135, 1978.