

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

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE
ENXOFRE EM DIFERENTES MATRIZES VIA MOLÉCULA
DIATÔMICA DE SiS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO
MOLECULAR DE ALTA RESOLUÇÃO COM FONTE CONTÍNUA E
FORNO DE GRAFITE EMPREGANDO ANÁLISE DIRETA DE
AMOSTRAS SÓLIDAS**

CARLA FERNANDA GRASEL FROIS

Porto Alegre, Junho/2021.

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

CARLA FERNANDA GRASEL FROIS

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE
ENXOFRE EM DIFERENTES MATRIZES VIA MOLÉCULA
DIATÔMICA DE SiS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO
MOLECULAR DE ALTA RESOLUÇÃO COM FONTE CONTÍNUA E
FORNO DE GRAFITE EMPREGANDO ANÁLISE DIRETA DE
AMOSTRAS SÓLIDAS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do grau de Mestre em Química

Prof.^a Dr.^a Márcia Messias da Silva
Orientador

Porto Alegre, Junho/2021

*Aos meus maiores exemplos, minha mãe Claudete
por me ensinar força e resiliência; e meu pai
Maximiano (in memoriam) por me ensinar
bondade e simplicidade.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Max (*in memorian*) e Claudete, aos meus irmãos, Caroline “Nini”, Dudu e Gabriel e aos meus cunhados Jéssica e Marcos por todo suporte, incentivo e compreensão.

À Cheron por toda paciência e por sempre fazer o impossível para me apoiar e incentivar.

À professora Dra. Márcia Messias da Silva, pela orientação e apoio nos últimos cinco anos, e por ter acreditado em mim para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Dr. Wiliam Boschetti, por toda ajuda, incentivo e confiança que tornaram possível a realização deste trabalho.

Às professoras Maria Goreti Rodrigues Vale e Morgana Dessuy, pela ajuda e por terem fornecido todas as condições para o desenvolvimento do trabalho.

Aos meus amigos, colegas e ex-colegas do Grupo de Análise de Traços: Álvaro, Deninha, Édina, Eliseu, Ingrid, Juvane Leandro, Léo, Letícia, Mari Potes, Susane e Xicó.

Em especial a Carol, Nati e Thais, por todas as conversas e conselhos compartilhados.

Aos meus amigos e colegas de Graduação e Pós Graduação que me acompanharam desde o início, Ana Júlia, Carol Weber e Renan.

Aos professores, funcionários e ao PPGQ da UFRGS, pela oportunidade.

Ao CNPq pela bolsa concedida (processo 132081/2019-9)

A todos que de alguma forma contribuíram para esse trabalho.

Muito obrigada.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA POR ESTE TRABALHO

TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS

1. Boschetti, W.; Frois C.F.G.; Vale, M.G.R; Silva, M.M; Santos, J.H.Z. Sulfur determination using the SiS molecule via HR-CS-GF MAS and direct solid samples analysis: a reliable method for different matrices; **15th Rio Symposium on Atomic Spectrometry, Mendoza, Argentina, 2019. (Oral)**
2. Frois C.F.G.; Boschetti, W.; Vale, M.G.R; Silva, M.M. Desenvolvimento de método para a determinação de enxofre através da molécula de SiS via HR-CS GF MAS empregando a análise direta de sólidos; **26º Encontro de Química da Região Sul – SBQ-Sul, Caxias do Sul, RS, Brasil, 2019. (Pôster)**

ARTIGO COMPLETO PUBLICADO EM PERIÓDICO

1. Boschetti, W.; Frois C.F.G.; Vale, M.G.R; Silva, M.M.; Santos, J.H.Z. Sulfur determination using the SiS diatomic molecule via HR-CS GF MAS and direct analysis of solid samples: A versatile method for different matrices. *Talanta*. **2020**, 220, 121337.

DEMAIS TRABALHOS PUBLICADOS DURANTE O MESTRADO

Artigo completo publicado em periódico

1. Frois C.F.G.; Boschetti, W.; dos Passos, A.S.; Potes, M.L.; Vale, M.G.R; Silva, M.M. A comparison between chemical and photochemical vapor generation techniques for mercury determination using univariate and multivariate optimization. *Microchem. J.* **2020**, 157, 105029.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS	viii
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	3
2.1 Enxofre	3
2.2 Técnicas para determinação de enxofre	4
2.3 Espectrometria de absorção atômica	6
2.3.1 Histórico da AAS	6
2.3.2 Princípio da AAS.....	8
2.3.3 Espectrometria de absorção atômica com fonte de linha (LS AAS)	9
2.4. Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS).....	11
2.5. Espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua (HR-CS MAS)	14
2.6 Determinação de enxofre por MAS	17
2.7 Objetivos.....	27
3. Procedimento experimental	28
3.1 Instrumentação	28
3.2 Reagentes e materiais de referência certificado	29
3.3 Procedimento para a investigação do SiS	30
3.4 Parâmetros de mérito.....	31
4. Resultados e discussão	32
4.1 Desenvolvimento de método para determinação de enxofre via molécula diatômica de SiS	32

4.1.1 Estudos preliminares.....	32
4.1.2 Estudo de modificadores permanentes	34
4.1.3 Estudo de massa de reagente formador	37
4.1.4 Investigação da interferência do flúor na formação da molécula de SiS.....	39
4.1.5 Programa de temperatura	41
4.1.6 Estudo de massa de amostra.....	43
4.1.7 Parâmetros de mérito	44
4.1.8 Análise de CRM	46
5. Sugestões e Etapas futuras.....	48
6. Considerações finais.....	49
7. Referências	50

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema dos componentes principais de um espectrômetro de absorção atômica com fonte de linha. 9
- Figura 2.** Representação de uma lâmpada de cátodo oco. Adaptado de Skoog *et al.*³⁹. 10
- Figura 3.** Esquema dos principais componentes de um espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (Adaptado de Welz *et al.*⁴¹) 12
- Figura 4.** Representação de uma transição eletrônica (linhas pretas) em uma molécula, com: a) contribuições vibracionais (linhas contínuas); b) contribuições rotacionais (linhas tracejadas). E_0 representa o estado fundamental e E_1 o estado excitado. (Adaptado de Struve⁴⁵)..... 15
- Figura 5.** Espectro da molécula diatômica de PO apresentando as contribuições vibracionais para uma transição eletrônica. (Adaptado de Welz *et al.*⁴¹) 16
- Figura 6.** Efeito de diferentes modificadores permanentes na formação da molécula de SiS. a) Valores de A_{int} para 1 μg de enxofre a partir de: Na_2SO_4 (linhas horizontais) e tioureia (linhas verticais) e b) sinais analíticos para plataformas recobertas com Zr ou Rh empregando 1 μg de enxofre a partir de: Na_2SO_4 (linha preta e linha verde, respectivamente) e tioureia (linha vermelha e linha azul, respectivamente). 400 μg de modificadores permanentes, 5 e 20 μg Si (nas Figuras 6a e 6b, respectivamente), T_{pir} 1200 °C, T_{vap} 2000 °C. Barras de erro correspondem ao desvio padrão ($n = 5$). 36
- Figura 7.** Influência de diferentes massas de modificador permanente Zr no sinal analítico do SiS empregando 1 μg de enxofre a partir de: Na_2SO_4 (■), tioureia (●), CRM wheat flour (□) e CRM lake sediment (○). Reagente formador de molécula = 20 μg de Si em meio básico, $T_{pir} = 1200$ °C e $T_{vap} = 2000$ °C. Barras de erro correspondem ao desvio padrão ($n = 5$). 37
- Figura 8.** Influência de diferentes massas de reagente formador de molécula Si no sinal analítico do SiS empregando 1 μg de enxofre a partir de: Na_2SO_4 (■), tioureia (●), CRM wheat flour (□) e CRM lake sediment (○). 400 μg de Zr como modificador permanente,

$T_{\text{pir}} = 1200\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $T_{\text{vap}} = 2000\text{ }^{\circ}\text{C}$. Barras de erro correspondem ao desvio padrão ($n = 5$).
..... 38

Figura 9. Curvas de temperaturas de pirólise e vaporização para o SiS, avaliando 1 μg de enxofre a partir de: Na_2SO_4 (■), tioureia (●), CRM wheat flour (□) e CRM lake sediment (○). 400 μg de Zr como modificador permanente e 20 μg de Si em meio básico como reagente formador de molécula. $T_{\text{vap}} = 2000\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $T_{\text{pir}} = 1200\text{ }^{\circ}\text{C}$, empregadas durante as otimizações de T_{pir} e T_{vap} , respectivamente. Barras de erro correspondem ao desvio padrão ($n=5$). 42

Figura 10. Espectro de absorvância resolvido no tempo para a molécula diatômica de SiS, avaliando 1 μg de enxofre partir de: a) Na_2SO_4 ; b) tioureia; c) CRM Lake sediment e d) CRM Wheat flour, mostrando todos os sinais analíticos do SiS entre 282,748 nm e 283,072 nm. Empregando 400 μg Zr, 20 μg Si, $T_{\text{pir}} = 1200\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $T_{\text{vap}} = 2000\text{ }^{\circ}\text{C}$ 43

Figura 11. Estudo de massa de amostra para determinação de enxofre via molécula diatômica de SiS através da técnica de HR-CS GF MAS. a) CRM LKSD-4 b) CRM Wheat Flour. 44

Figura 12. Estudo da influência da massa de fluoreto no sinal de absorvância da molécula diatômica de SiS. Avaliando 0,5 μg a partir Na_2SO_4 (■), tioureia e empregando 400 μg de Zr como modificador permanente, 10 μg de Si em meio básico como reagente formador de molécula, $T_{\text{vap}} = 2000\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $T_{\text{pir}} = 1200\text{ }^{\circ}\text{C}$. Barras de erro correspondem ao desvio padrão ($n=3$). 40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resumo dos parâmetros empregados na determinação de enxofre por LS AAS (adaptado de Ozbek <i>et al.</i> ¹⁷)	18
Tabela 2. Revisão dos trabalhos reportados na literatura para a determinação de enxofre por HR-CS F MAS.....	19
Tabela 3. Revisão de trabalhos reportados na literatura para a determinação de enxofre por HR-CS GF-MAS.	21
Tabela 4. Resumo das massas características para enxofre obtidas por Huang <i>et al.</i> ²⁰ e respectivas energias de dissociação para as diferentes moléculas empregadas.....	25
Tabela 5. Programa de temperatura empregado para a determinação de S, via molécula diatômica de SiS, por HR-CS GF MAS e análise direta de amostras sólidas.	29
Tabela 6. Programa de aquecimento empregado no forno de grafite para o recobrimento da plataforma com os modificadores permanentes Rh, Ru, W, Zr, Ir.	31
Tabela 7. Parâmetros de mérito para os seis padrões de enxofre obtidos usando a linha de 282,910 nm do SiS e 3 pixels via HR-CS GF MAS.	45
Tabela 8. Parâmetros de mérito para duas fontes de enxofre diferentes, obtidos usando dez linhas analíticas do SiS vizinhas ao 282,910 nm, totalizando 30 pixels (via HR-CS GF MAS).....	46
Tabela 9. Determinação de enxofre em nove CRM via molécula de SiS por HR-CS GF MAS e análise direta de amostras sólidas. Usando 400 µg Zr, 20 µg Si, T _{pir} = 1200 °C T _{vap} = 2000 °C, n = 5 e t _{crítico} = 2,78.	47

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica (<i>atomic absorption spectrometry</i>)
AFS	Espectrometria de Fluorescência Atômica (<i>atomic fluorescence spectrometry</i>)
A_{int}	Absorvância integrada
ANOVA	Análise de Variância (<i>analysis of variance</i>)
BSA	Albumina de soro bovino (<i>Bovine serum albumin</i>)
CCD	Dispositivo de carga acoplada (<i>charge coupled device</i>)
CP	Pixel central (<i>central pixel</i>)
CRM	Material de referência certificado (<i>certified reference material</i>)
ET AAS	AAS com atomização eletrotérmica (<i>electrothermal atomizer</i>)
F AAS	AAS com chama (<i>flame atomic AAS</i>)
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GF AAS	AAS com forno de grafite (<i>graphite furnace AAS</i>)
HCL	Lâmpada de cátodo oco (<i>hollow cathode lamp</i>)
HR-CS	Alta resolução com fonte contínua (<i>high resolution continuum source</i>)
IC	Cromatografia iônica (<i>ionic chromatography</i>)
ICP	Plasma indutivamente acoplado (<i>inductively coupled plasma</i>)
INAA	Análise por ativação de nêutrons (<i>neutron activation analysis</i>)
LA	Ablação por laser (<i>laser ablation</i>)
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
LS	Fonte de linha (<i>line source</i>)
LSBS	Correção de fundo por mínimos quadrados (<i>Least-square background correction</i>)
MAS	Espectrometria de absorção molecular (<i>molecular absorption spectrometry</i>)
m_0	Massa característica
OES	Espectrometria de emissão óptica (<i>optical emission spectrometry</i>)
PM ₁₀	Partículas com diâmetro aerodinâmico igual ou inferior a 10 μm
PMT	Tubo fotomultiplicador (<i>photomultiplier tube</i>)

QT AAS	AAS com tubo de quartzo (<i>quartz tube AAS</i>)
RSD	Desvio padrão relativo (<i>relative standard deviation</i>)
SS	Análise direta de sólidos (<i>solid sampling</i>)
STPF	Forno com plataforma e temperatura estabilizada (<i>stabilized temperature plataform furnace</i>)
T _{pir}	Temperatura de pirólise
T _{vap}	Temperatura de vaporização
XRF	Fluorescência de raios-x (<i>x-ray fluorescence</i>)

RESUMO

Neste trabalho, a molécula diatômica de SiS foi utilizada para a determinação de enxofre em diferentes matrizes por meio da espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite empregando análise direta de sólidos. Na literatura isso geralmente é alcançado por meio da molécula diatômica de CS. Então, devido à falta de trabalhos reportando o uso do SiS, foi realizado um estudo completo para a otimização das condições de formação dessa molécula. O sinal analítico foi avaliado no comprimento de onda de 282,910 nm, e a absorvância integrada foi obtida usando a área do pico de três *pixels*, o *pixel* central e dois adjacentes ($CP \pm 1$). As temperaturas de pirólise e vaporização empregadas foram de 1200 e 2000 °C, respectivamente, usando 400 µg de Zr como modificador permanente e 20 µg de Si em meio básico como reagente formador. Seis soluções padrão contendo espécies diferentes de enxofre foram investigadas (Na_2S , Na_2SO_4 , BeSO_4 , tioureia, L-cisteína e ácido sulfâmico) e as sensibilidades obtidas para as seis soluções foram estatisticamente iguais, de acordo com o teste ANOVA, demonstrando que a formação do SiS independe da forma química do enxofre. Curvas de calibração com padrões aquosos foram construídas e o limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e massa característica obtidos foram 8,8 ng mg^{-1} e 29 ng mg^{-1} e 9,8 ng, respectivamente. A estratégia de utilizar a soma de múltiplas linhas do SiS (10 linhas analíticas, ou seja, 30 *pixels*) vizinhas a de 282,910 nm (dentro da janela espectral de $282,910 \pm 0,162$ nm) resultou em sensibilidade dez vezes maior e LD e LQ quatro vezes menores. A exatidão foi avaliada por meio da análise de nove materiais de referência certificados (CRM) com matrizes distintas. Os resultados obtidos para os CRM foram concordantes com os valores certificados, de acordo com os testes t-Student e t de Welch, demonstrando que o método desenvolvido é eficiente, versátil e confiável permitindo a quantificação de enxofre em diferentes matrizes. Portanto, a molécula de SiS se mostrou uma excelente alternativa ao CS, com base experimentos realizados.

Palavras chave: Determinação de enxofre; HR-CS MAS; molécula de SiS.

ABSTRACT

In this work, a method for sulfur determination in different matrices using the diatomic molecule SiS *via* high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry (HR-CS GF MAS) and direct analysis of solid samples was developed. This is usually accomplished through the CS diatomic molecule. And, due to the lack of studies describing the SiS molecule for analytical purposes, a complete investigation and optimization of the experimental conditions for the SiS molecule formation was necessary. All measurements were performed using the SiS analytical line at 282.910 nm, and the integrated absorbance was obtained using three pixels, the central and its two adjacent ($CP \pm 1$). The pyrolysis and vaporization temperatures used were 1200 and 2000 °C, respectively. 400 µg of Zr and 20 µg of Si in alkaline medium were used as permanent modifier and molecule forming reagent, respectively. Six sulfur standard solutions (Na₂S, Na₂SO₄, BeSO₄, thiourea, L-cysteine and sulfamic acid) were investigated, and there was no statistically difference between their A_{int} values through the ANOVA analysis. This shows that the formation of the SiS molecule is independent of the chemical species of sulfur. Calibration curves with aqueous sulfur standard solutions were used to achieve the limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) and the characteristic mass of 8.8ng mg⁻¹, 29 ng mg⁻¹ e 9.8 ng, respectively. The sum of multiple lines of the SiS molecule (10 analytical lines, *i.e.* 30 pixels) resulted in a 10-fold increase in sensitivity and a 4-fold decrease in the LOD and LOQ values. Nine certified reference materials (CRM) with distinct matrix were analyzed, and the concentrations were in agreement with the certified values through Student's t-test and Welch t-test. These results show that the developed method is efficient, reliable and versatile for sulfur determination in distinct matrices. Therefore, the SiS molecule is an excellent alternative to the CS molecule, based on the experiments performed.

Key words: Sulfur determination; HR-CS MAS; SiS molecule.

1. Introdução

O enxofre está presente em proteínas, vitaminas e coenzimas que são essenciais para todos os organismos vivos por desempenharem funções biológicas fundamentais para o funcionamento normal dos seres vivos^{1,2}. Além disso, o enxofre tem importante aplicação na indústria, principalmente como fertilizante, conservante, e no desenvolvimento de fármacos^{3,4}. Em contrapartida, em determinadas concentrações, algumas espécies de enxofre podem apresentar efeitos tóxicos aos seres humanos. O dióxido de enxofre, por exemplo, pode agravar os sintomas de asma, além de causar reações alérgicas em pessoas hipertensas⁵. Outro aspecto importante do dióxido de enxofre é do ponto de vista ambiental, já que sua liberação na atmosfera devido à queima de combustíveis fósseis tem grande impacto negativo pela formação da chuva ácida, o que é prejudicial também no ambiente aquático⁵. Por esses motivos são estabelecidos, por meio de diferentes legislações, limites máximos de enxofre permitidos em diversas amostras⁶⁻⁸.

Nesse contexto, há um grande interesse pelo desenvolvimento de métodos analíticos visando à determinação de enxofre em diferentes matrizes. Na literatura, a maioria dos métodos emprega etapas de preparo de amostra, resultando em maiores custos para a análise e geração de resíduos. Além disso, problemas de contaminação e/ou perda do analito são comuns nessa etapa e geralmente há um alto fator de diluição da amostra, com conseqüente perda de sensibilidade. A análise direta de amostras se torna, neste sentido, uma alternativa vantajosa em termos de tempo e custo de análise⁹⁻¹¹. As técnicas baseadas na combustão em alta temperatura e detecção por infravermelho ou fluorescência molecular^{12,13}, a análise por ativação de nêutrons (INAA)¹⁴, a fluorescência de raios-x (XRF)¹⁵, e recentemente a técnica de espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) em combinação com a técnica de ablação por laser (LA)¹⁶ se destacam para a determinação de enxofre por serem técnicas que utilizam análise direta de amostras. Entretanto, necessitam calibração com materiais de referência certificado (CRM), constituindo uma grande desvantagem desses métodos devido ao alto custo desses materiais⁹.

A espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite (HR-CS GF MAS) é outra técnica que permite a análise direta de amostras sólidas e líquidas. Apresenta como ponto positivo a possibilidade de calibração com padrões aquosos, mesmo para a análise direta de amostras sólidas⁹. A

determinação de enxofre por essa técnica é feita por meio da sua conversão em uma molécula diatômica adequada, já que suas linhas de absorção atômica se encontram na região do UV de vácuo. Na literatura, a molécula diatômica de CS é amplamente reportada para a determinação de enxofre via HR-CS GF-MAS¹⁷. Porém, visto que não é possível controlar a disponibilidade de agente formador de molécula (carbono) no meio (forno de grafite) e que a formação do CS é dependente da espécie química do enxofre¹⁷, diferentes métodos são reportados, adaptando-se as condições experimentais de acordo com a matriz da amostra. Em outras palavras, não há, até o presente momento, um método robusto para determinação de enxofre via HR-CS GF-MAS com análise direta de amostras sólidas em diferentes matrizes. Dessa forma, é de fundamental importância a busca por novos métodos analíticos que sejam capazes de determinar enxofre em diferentes matrizes.

Diferentes moléculas já foram reportadas na literatura para a determinação de enxofre por HR-CS MAS além do CS, entre elas SH, SnS, GeS e PbS¹⁸⁻²⁰. Em 2017, Huang *et al*²⁰ propuseram pela primeira vez o uso da molécula diatômica de SiS, além de comparar, em termos de massa característica, os resultados obtidos para o SnS, GeS, PbS, SiS e CS. Nesse estudo as moléculas de SiS e GeS foram as mais promissoras. Entretanto, a escolha do Si pode ser mais vantajosa frente ao Ge como reagente formador, já que é o segundo elemento mais abundante na crosta terrestre, e a utilização do Ge pode ser suscetível a competições com Si para a formação das moléculas. Outro ponto importante é que poucos estudos foram reportados por Huang *et al*²⁰ com relação às condições de formação do SiS e não foi descrito nenhum resultado utilizando amostras, apenas soluções padrão.

Assim, o escopo desse trabalho é desenvolver um método analítico para determinação de enxofre em diversas matrizes via molécula de SiS por HR-CS GF MAS utilizando a análise direta de sólidos.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Enxofre

O enxofre é o décimo elemento mais abundante na Terra. Na natureza pode ser encontrado na forma elementar e em estados de oxidação que variam de $-II$ a $+VI$, além de diversos compostos químicos orgânicos e inorgânicos encontrados em solos, água, minerais, atmosfera e organismos vivos. O enxofre é considerado um elemento químico essencial para vida^{1,2}. Assim como outros elementos biogênicos, o enxofre também possui seu ciclo biogeoquímico onde é metabolizado e interconvertido na natureza. A partir desse ciclo, espécies de enxofre são liberadas naturalmente na atmosfera; porém, atividades antropogênicas como a queima de combustíveis fósseis constituem a principal forma de emissão de compostos de enxofre na atmosfera, principalmente na forma de óxidos de enxofre (SO_x)²¹. Os SO_x em contato com vapor de água se transformam em ácido sulfuroso e sulfúrico que precipitam na forma de chuva ácida⁵. Essa precipitação é nociva ao meio ambiente, pois causa danos à vida aquática por diminuição do pH da água e aos solos, no qual interfere na solubilidade de alguns compostos indispensáveis ao desenvolvimento vegetal, podendo alterar o metabolismo das plantas, o que tende a ocasionar uma depreciação em sua taxa de crescimento⁵.

O dióxido de enxofre (SO_2), além de estar envolvido no processo de formação da chuva ácida, contribui também para o efeito estufa. Enquanto o SO_2 presente na atmosfera pode se transformar em sulfato, que é um dos principais componentes da classe de poluentes atmosféricos denominada partículas inaláveis (MP_{10} –partículas com diâmetro $< 10 \mu m$) e podem causar diversos problemas ao sistema respiratório humano, como a bronco-constricção, além de agravar os sintomas de asma^{1,5}. Nesse contexto, o enxofre é considerado um poluente atmosférico responsável por ocasionar graves impactos ambientais e, por isso, é de grande importância o seu monitoramento em amostras como solo, água, sedimentos e ar. Da mesma forma, os combustíveis fósseis também são alvo de atenção por serem os principais emissores de SO_2 na atmosfera, e seus níveis permitidos nesse tipo de amostra são controlados por diferentes órgãos reguladores⁶.

Na forma orgânica, o enxofre é necessário para o desenvolvimento normal de plantas, animais e humanos, nos quais desempenha funções biológicas essenciais atuando como aminoácidos, proteínas, vitaminas e coenzimas (p. ex. cisteína, timina e coenzimas A), além de outras biomoléculas². Além disso, o enxofre principalmente na

forma de compostos organossulfurados possui atividade biológica importante, apresentando ações anticâncer, antiviral, anti-inflamatória, antimicrobiana, entre outras, e por isso tem ampla aplicação na indústria farmacêutica. Atualmente, existem mais de 250 drogas aprovadas pelo *Food and Drug Administration* (FDA) que contêm o enxofre em sua estrutura³.

O enxofre e seus compostos, em especial os sulfitos e o SO₂, também têm aplicação na indústria de alimentos como conservantes, uma vez que esses compostos têm ação antioxidante, atuam como inibidores de crescimento bactericida e controlam reações indesejadas em alimentos, como o escurecimento enzimático⁴. Entretanto, devido aos efeitos adversos que essas espécies podem causar nos seres humanos, os níveis permitidos em diferentes tipos de alimentos são controlados por órgãos reguladores. Os níveis estabelecidos pelas diferentes legislações variam de acordo com o tipo de alimento, levando em consideração fatores como solo, armazenamento e embalagem dos produtos^{7,8}.

2.2 Técnicas para determinação de enxofre

O desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de enxofre em diferentes matrizes é de grande interesse científico, devido tanto ao caráter essencial desse analito para os seres vivos como de poluente ambiental, destacado anteriormente. Nesse contexto, diversas técnicas são reportadas na literatura, empregando desde abordagens clássicas, como titulação, até instrumentações mais sofisticadas, dependendo da sensibilidade desejada, tipo de matriz e concentração do analito^{17,22}.

Um dos métodos mais antigos e conhecidos consiste na precipitação do sulfato como sulfato de bário e posterior determinação gravimétrica²³. Outras metodologias clássicas propostas por Ripper e Rakine se baseiam na titulação. O método de Ripper é referência para determinação de SO₂ em vinho e se baseia na titulação com iodo, empregando amido como indicador, porém sofre de efeito de matriz, baixa precisão, erros sistemáticos e pode levar a falsos positivos²⁴. Já o método de Rakine consiste na reação de SO₂ com H₂O₂ para formação de H₂SO₄ que é titulado com uma base²⁵. A turbidimetria também é uma alternativa bem estabelecida para aumentar a frequência analítica e a precisão dos métodos, em relação à gravimetria e titulação²⁶. Porém, de forma geral, os métodos clássicos são limitados devido ao tempo das análises, baixa sensibilidade, precisão e exatidão, além de altos riscos de contaminação e efeito de matriz²⁴⁻²⁶.

Do ponto de vista instrumental, as principais técnicas reportadas na literatura são a espectrometria de massas (MS)^{27,28} e espectrometria de emissão óptica (OES)^{27,29}, ambas com plasma indutivamente acoplado (ICP), e a cromatografia iônica (IC)^{29,30}. Essas técnicas têm em comum a necessidade de empregar etapas prévias de preparo de amostras, o que torna o método suscetível à contaminação, perdas do analito por volatilização ou adsorção, além de aumentar o tempo e o custo das análises⁹⁻¹¹. Outro ponto negativo é que as técnicas de ICP-MS e ICP OES podem sofrer interferência na presença de oxigênio²⁸.

Devido às problemáticas relacionadas principalmente ao preparo de amostras, atualmente se busca cada vez mais alternativas que permitam a análise direta de amostras sólidas, por apresentarem algumas vantagens como: menor risco de contaminação e perdas do analito; maior sensibilidade, já que há mínima ou nenhuma diluição da amostra; o aumento da frequência analítica, porque as análises são mais rápidas e práticas; e o favorecimento da química verde, pois reagentes corrosivos e perigosos, como ácidos, não são utilizados, contribuindo também para a menor geração de resíduos⁹⁻¹¹. Entre as técnicas mais utilizadas para o enxofre, destacam-se a análise por fluorescência molecular no ultravioleta¹³, ativação de nêutrons (INAA)¹⁴, a fluorescência de raios-x (XRF)¹⁵, ICP-MS acoplado com ablação por laser¹⁶ e a combustão em alta temperatura e detecção por infravermelho ou fluorescência, na qual a amostra contendo enxofre é completamente oxidada a SO₂ em um forno a 1350 °C, então o gás é arrastado para uma cela onde é feita a medida de absorção no infravermelho ou fluorescência do SO₂^{12,13}. Porém, essas técnicas (com exceção da técnica de XRF) necessitam ou de calibração com CRM, aumentando consideravelmente o custo das análises, ou de acoplamento com outras técnicas para tornar a análise direta de amostras sólidas viável⁹.

Em contrapartida, o desenvolvimento da espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua (HR-CS MAS) trouxe uma nova possibilidade para a determinação de enxofre, já que a sua determinação empregando a instrumentação convencional de AAS era um desafio. A HR-CS MAS empregando forno de grafite como atomizador tem a vantagem de permitir a análise de amostras sólidas empregando calibração com padrões aquosos, o que torna a técnica uma alternativa atraente pelo menor custo e maior praticidade, além de não precisar do acoplamento com outras técnicas. De acordo com uma revisão publicada por Mketto *et*

al.²² em 2019, a HR-CS GF-AAS foi a técnica mais utilizada para a determinação de enxofre nos últimos 10 anos.

2.3 Espectrometria de absorção atômica

2.3.1 Histórico da AAS

A espectroscopia óptica teve início com as observações de Joannes Marcus Marci (1648) de que havia difração e espalhamento da luz solar sobre gotas de água dando origem ao arco-íris e, posteriormente, com Newton (1672) ao observar que a luz solar incidida sobre um prisma se dispersava em diferentes cores. Isso serviu de inspiração para outros pesquisadores da época realizarem diversos experimentos baseados na luz solar. Wollaston descobriu que havia linhas escuras no espectro solar, o que serviu de base para Fraunhofer aprofundar seus estudos e caracterizar essas linhas. Brewster designou as linhas escuras a processos de absorção na atmosfera do sol. Entretanto, foi a partir dos experimentos de Kirchhoff e Bunsen em 1860 que se teve um avanço na área, ao postularem a primeira relação entre a absorção e a emissão, estabelecendo que todo material que emite radiação em um determinado comprimento de onda também irá absorver essa mesma radiação. Em 1900, Planck demonstrou matematicamente a relação entre a radiação emitida/absorvida pelos átomos e sua estrutura. Com base nisso, e nas demais observações realizadas pelos pesquisadores até o momento, Bohr propôs em 1913 seu modelo atômico e que os níveis de energia de um átomo são quantizados^{31,32}.

Apesar do desenvolvimento e do avanço das pesquisas na área de espectroscopia óptica, a absorção atômica teve pouco reconhecimento frente à emissão atômica devido às limitações instrumentais existentes no início do século XX. No período de 1952 a 1962 Alan Walsh propôs uma série de inovações com relação à fonte de radiação, atomizador, monocromador e detector que serviram de base para o desenvolvimento do primeiro espectrômetro de absorção atômica³¹⁻³³. Inicialmente, Walsh concluiu que para utilizar uma fonte contínua em absorção atômica, era necessário empregar monocromadores com resolução na ordem de 2 pm para separação das linhas do espectro, exigindo uma alta resolução dos espectrômetros, o que não era instrumentalmente possível na época. Isso era considerado um dos principais motivos da até então preferência que existia pela técnica de emissão atômica, já que é mais fácil

registrar o surgimento de uma radiação em um fundo negro do que o de uma linha escura em um espectro contínuo³¹⁻³⁴.

Dessa forma, Walsh propôs o uso de lâmpadas de catodo oco (HCL) como fonte de radiação, adaptando o modelo proposto por Paschen em 1916. Essas lâmpadas são chamadas de fontes de linha, pois emitem radiação específica de acordo com o material (metal) com que elas são produzidas, o que torna desnecessário o uso de monocromadores de alta resolução^{31,33,34}. Apesar de resolver um grande problema da AAS, a utilização da fonte de linha também traz uma grande desvantagem, tornando a técnica monoelementar. Walsh também postulou que a radiação emitida pela fonte deveria ser modulada para evitar que a radiação emitida pela amostra no atomizador fosse registrada como sinal analítico^{31,34}. Como atomizador, Walsh propôs a utilização do queimador de Lundegardh que atinge temperaturas próximas a 2000 K, tornando o ambiente adequado para a formação da nuvem atômica no estado fundamental³³. Por fim, para a aquisição dos dados, foi sugerido o emprego de células fotoelétricas ou tubos fotomultiplicadores³⁵, em conjunto com um osciloscópio, que possibilitou o registro de sinais eletrônicos ao invés da impressão fotográfica da radiação que era empregado anteriormente³¹⁻³³.

Outro pesquisador que teve contribuições importantes para o desenvolvimento da AAS foi Boris L'vov³⁶, que propôs o uso de um forno de grafite com aquecimento elétrico como atomizador no final da década de 50. Apesar de inicialmente a proposta ter recebido pouco reconhecimento, ela serviu de base para Hans Massmann³⁷ apresentar um modelo mais simplificado que se tornou comercial. A introdução da espectrometria de absorção atômica com forno de grafite ou atomização eletrotérmica (GF AAS ou ET AAS) conferiu à técnica uma melhoria na sensibilidade de três ordens de grandeza em comparação ao atomizador de chama. Entretanto, era observado significativo efeito de matriz, o que diminuiu o sucesso que poderia ter sido atingido na época. A consolidação da GF AAS só foi alcançada após Walter Slavin³⁸ estabelecer em 1981 as condições adequadas de análise que deveriam ser empregadas, ou como ficaram conhecidos, os conceitos de forno com plataforma e temperatura estabilizada (STPF). Alguns pontos destas condições são: o uso de fornos de grafite com plataforma com recobrimento pirolítico, o emprego de altas taxas de aquecimento na etapa de atomização, interrupção do fluxo de gás durante a etapa de atomização e o uso de modificadores químicos³⁸.

2.3.2 Princípio da AAS

A AAS se baseia na propriedade de que átomos livres (gasosos) absorvem a energia emitida por uma fonte de radiação eletromagnética, passando de um estado eletrônico de menor energia (fundamental) para um estado eletrônico de maior energia (excitado). A energia necessária para essa transição é relacionada ao comprimento de onda pela equação de Planck, segundo a qual um átomo absorve somente radiação de comprimento de onda (λ) ou frequência (ν) específica. Nessa equação, “E” corresponde à energia necessária para que a transição eletrônica ocorra, “h” corresponde à constante de Planck e “c” é a velocidade da luz no vácuo (Equação 1)³¹.

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad \text{Equação 1}$$

Cada átomo possui uma configuração eletrônica específica. Assim, as diferentes transições permitidas entre os níveis eletrônicos resultam em espectros de absorção/emissão característicos de cada elemento, sendo que a probabilidade de que cada transição ocorra depende da ocupação dos diferentes estados eletrônicos. Na AAS, apenas os átomos no estado fundamental são mensurados. Dessa forma, no atomizador é necessário produzir átomos livres no estado fundamental. A população relativa de átomos no estado fundamental (N_0) e no estado excitado (N_e) em função da temperatura é fornecida pela Equação de Maxwell-Boltzmann (Equação 2), na qual, g_e e g_0 são os pesos estatísticos para os estados excitado e fundamental, respectivamente; E_e e E_0 são as energias nos dois estados; k é a constante de Boltzmann; e T a temperatura absoluta. Nas temperaturas (inferiores a 3000 °C) e comprimento de onda normalmente utilizadas na AAS, a fração de átomos no estado excitado para a maioria dos elementos é desprezível em relação à fração de átomos que permanece no estado fundamental, e portanto são adequadas para a AAS³¹.

$$\frac{N_e}{N_0} = \frac{g_e}{g_0} e^{-\frac{(E_e - E_0)}{kT}} \quad \text{Equação 2}$$

A relação entre a atenuação da radiação eletromagnética, resultante da absorção atômica, e a concentração de átomos no estado fundamental é fornecida pela lei de Lambert-Beer (Equação 3). Nessa equação, “A” é a absorvância; “ I_0 ” e “ I_t ” as

intensidades de radiação emitida e transmitida (ou não absorvida), respectivamente; “ ϵ ” é o coeficiente de absorvidade molar do meio; “ b ” é o comprimento do caminho óptico; e “ c ” é a concentração de átomos no estado fundamental³¹.

$$A = \log I_0/I_t = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Equação 3

2.3.3 Espectrometria de absorção atômica com fonte de linha (LS AAS)

Os espectrômetros de absorção atômica convencionais comercializados atualmente utilizam a mesma configuração proposta por Walsh³³, sendo os componentes básicos a fonte de radiação, o atomizador, o monocromador e um detector, como apresentado na Figura 1.

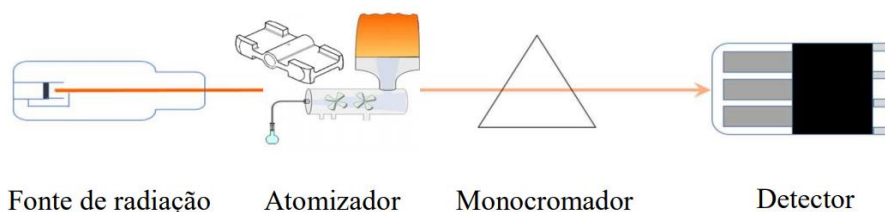


Figura 1. Esquema dos componentes principais de um espectrômetro de absorção atômica com fonte de linha.

A fonte de radiação é responsável por promover a excitação dos átomos gasosos e, no caso da AAS com fonte de linha (LS), consiste de uma lâmpada que emite um comprimento de onda específico do analito com o qual ela foi fabricada, sendo a HCL a mais utilizada. A HCL consiste de um cátodo, confeccionado com o elemento de interesse, e um ânodo de zircônio ou tungstênio, selados em um tubo de vidro preenchido com gás inerte (Ne, Ar ou He). Ao aplicar uma diferença de potencial entre o cátodo e o ânodo, o gás ionizado positivamente é atraído ao cátodo colidindo contra a sua superfície e liberando átomos gasosos do elemento que o constitui por um processo denominado *sputtering*. Então, esses átomos gasosos se chocam com os íons do gás de preenchimento, passando para um estado excitado, emitindo radiação do seu comprimento de onda característico ao retornar ao estado fundamental^{31,33,34}. Uma representação da HCL é apresentada na Figura 2.

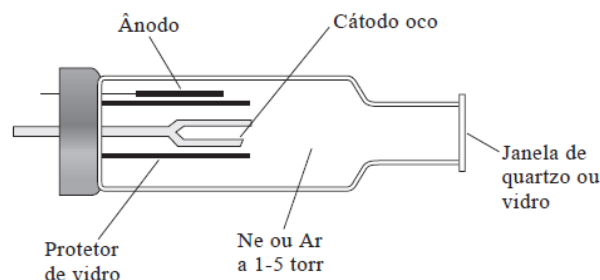


Figura 2. Representação de uma lâmpada de cátodo oco. Adaptado de Skoog *et al.*³⁹

A radiação emitida pela fonte passa pelo atomizador, onde os átomos gasosos no estado fundamental irão absorvê-la, passando para o estado excitado. A atomização do analito para formação dos átomos livres no estado fundamental pode ser promovida na chama (F AAS), no forno de grafite (GF AAS) ou no tubo de quartzo (QT AAS). Nos dois primeiros casos, a atomização ocorre por dissociação térmica devido às altas temperaturas empregadas. No tubo de quartzo, como temperaturas menores são empregadas (~ 900 °C), o mecanismo de atomização ocorre por meio de colisões do analito com radicais $H\cdot$ ³¹.

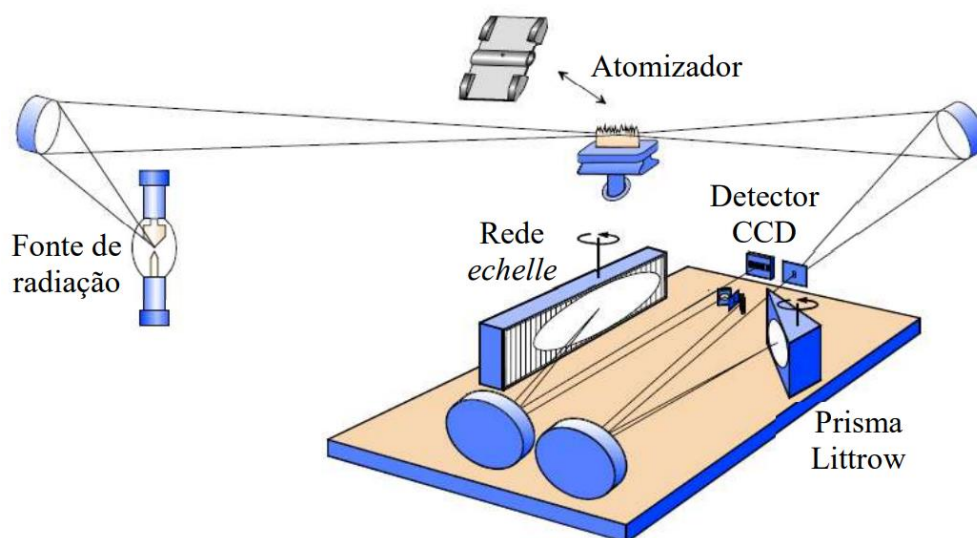
Além da absorção pelos átomos gasosos, a atenuação da radiação incidente no atomizador também pode ocorrer devido à absorção por moléculas ou pelo espalhamento da radiação sobre partículas presentes na amostra, resultando no sinal de fundo. Nesses casos, a absorção total resultante (A_T) corresponde à soma da absorção atômica (AA) e da absorção de fundo (BG), levando a erros na determinação da concentração de analito na amostra. A correção do fundo pode ser feita realizando uma segunda medida, sequencialmente à medida de A_T . Subtraindo esses dois valores, é possível determinar o valor referente apenas a AA. Os principais sistemas utilizados para correção de fundo são a correção com fonte contínua (principalmente com lâmpada de deutério) e correção baseada no efeito Zeeman^{31,34}.

O monocromador tem como função isolar a linha analítica de interesse das demais linhas de emissão (p. ex., emitidas pelo atomizador). Em LS AAS, isso é realizado principalmente com o uso de redes de difração, nas quais a radiação é decomposta em discretos comprimentos de onda. Por fim, o detector irá converter a radiação luminosa recebida em sinal elétrico. Os detectores mais comumente empregados são as fotomultiplicadoras^{31,34}.

2.4. Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS)

Desde os primeiros passos da espectroscopia óptica, empregava-se a fonte contínua como fonte de radiação. Esse foi o caso de Kirchhoff e Bunsen que empregaram luz branca (proveniente de uma fonte contínua) para realizar seus experimentos e de vários outros pesquisadores da época^{31,32}. Isso era comum porque a fonte contínua era a única disponível e confiável na época. Porém, mesmo após Walsh postular que a utilização de uma lâmpada desse tipo exigiria um monocromador de alta resolução e, então, propor a utilização de fontes de linha para a AAS, os cientistas da época persistiram nas pesquisas utilizando fonte contínua e na busca pelo desenvolvimento de componentes compatíveis com a resolução necessária. Em 1989, ainda com pouco avanço nessa área, Hieftje⁴⁰ declarou em um artigo publicado, que para a AAS manter a competitividade com outras técnicas espectroscópicas, era necessário rever aspectos como a utilização de fonte contínua, monocromadores de alta resolução e detectores com maior capacidade de processamento, ou seja, seria necessária uma reinvenção do ponto de vista instrumental.

Até então, os principais problemas da AAS com fonte contínua eram a baixa intensidade das lâmpadas disponíveis, principalmente na região do UV distante, e a falta de componentes comerciais que fossem compatíveis com a alta resolução requerida^{34,41}. Apenas em 1996, Becker Ross *et al.*⁴² estabeleceram os requisitos necessários para se empregar uma fonte contínua em AAS e desenvolveram a instrumentação necessária para atender esses requisitos. Em 2004, passou a ser comercializado pela empresa alemã Analytik Jena, o primeiro espectrômetro de HR-CS AAS, o ContrAA 300, empregando a chama como atomizador. Mais tarde em 2007, passou a ser comercializado o ContrAA 700, com as opções de chama e forno de grafite como atomizadores. A Figura 3 mostra a representação de um espectrômetro de HR-CS AAS, composto por uma lâmpada de arco curto de Xe, como fonte de radiação contínua, um monocromador duplo, e como detector um CCD. Com relação aos atomizadores empregados, não houve alteração em relação a LS AAS, permanecendo a chama e o forno de grafite como as principais opções⁴¹.



Monocromador de alta resolução

Figura 3. Esquema dos principais componentes de um espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (Adaptado de Welz *et al.*⁴¹)

Em contraste com a LS utilizada na AAS convencional, que emite apenas radiação com comprimentos de onda específicos, a fonte de radiação empregada em HR-CS AAS emite em uma faixa contínua entre 190 e 900 nm. Para esse fim, a companhia alemã GLE desenvolveu uma lâmpada de arco curto de Xe, operando em modo *hot spot* (modo caracterizado por um ponto de plasma extremamente concentrado próximo à superfície do cátodo de tungstênio). A lâmpada é operada a uma potência de 300 W e é constituída por dois eletrodos de tungstênio, cuja distância é de 1 mm entre si. A potência radiante dessa lâmpada excede a de uma HCL convencional em 1- 3 ordens de grandeza em toda faixa espectral em que opera. Essa alta intensidade de emissão da lâmpada faz com que a razão sinal/ruído melhore consideravelmente, o que resulta também em melhores limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para a técnica^{34,41}.

O monocromador duplo de alta resolução é composto por um prisma Littrow e por uma rede de difração *echelle*. No prisma ocorre a pré-dispersão da radiação contínua, sendo que apenas a parte do espectro de interesse (entre 0,3 a 3 nm, aproximadamente) é selecionada e direcionada à rede *echelle*, onde ocorre uma segunda dispersão da radiação. Esse arranjo fornece a alta resolução necessária para se empregar uma fonte contínua, correspondendo a uma largura média de linha de 2 a 8 pm, dependendo do comprimento de onda (maior resolução por *pixel* para menores

comprimentos de onda). Outro aspecto importante da óptica do espectrômetro é a estabilização do comprimento de onda, visto que pequenas oscilações podem interferir no encaminhamento da radiação do monocromador ao detector. Para corrigir essas possíveis flutuações, é empregada uma lâmpada de Ne. As linhas emitidas por essa lâmpada são resolvidas pela rede *echelle* e incididas sobre determinados *pixels* do detector, e o software avalia se as linhas estão posicionadas nos *pixels* esperados para o intervalo espectral selecionado^{34,41}.

A radiação, resolvida no monocromador duplo, chega ao detector que é constituído de um arranjo linear de CCD com 588 *pixels*, dos quais 200 são utilizados para fins analíticos, e os demais para ajustar a posição do prisma durante as trocas de comprimento de onda. Em um detector de CCD, cada *pixel* corresponde a uma região fotossensível e funciona como um detector independente. Dessa forma, cada *pixel* converte a radiação incidida em uma absorvância correspondente, possibilitando a visualização de ± 200 pm (na região do UV) e ± 500 pm (no visível) ao redor da linha analítica. Isso possibilita visualizar não apenas o espectro de absorvância *versus* tempo como é obtido em LS AAS, mas também uma terceira dimensão: o comprimento de onda^{34,41}.

Esse novo aspecto da HR-CS AAS traz uma série de inovações para a técnica, já que é possível observar em detalhes a vizinhança da linha analítica. Entre as principais características, podemos citar as determinações multielementares, a identificação e correção de interferências espectrais e as determinações moleculares⁴¹.

As determinações multielementares podem ser tanto simultâneas como sequenciais e são possíveis uma vez que se consegue monitorar mais de um comprimento de onda no mesmo intervalo espectral (de 0,2 a 1 nm). Para as determinações simultâneas, dois aspectos importantes devem ser considerados: primeiro, a sensibilidade das linhas analíticas avaliadas deve ser compatível com a concentração dos analitos na amostra; e segundo, como em toda análise multielementar, pode ser necessário empregar uma condição compromisso. Para a determinação sequencial, é possível empregar condições otimizadas independentemente para cada analito, sendo necessária apenas a troca da linha analítica entre os ciclos de atomização^{9,34,41}.

Outro recurso que a técnica possibilita é a observação e correção de interferências espectrais. Na literatura são reportadas principalmente situações de interferências devido à sobreposição de espectros de moléculas diatômicas com linhas

atômicas. A sobreposição de linhas atômicas é rara, porém também pode ocorrer. A correção é feita através de um algoritmo de mínimos quadrados (LSBC), baseando-se em um espectro de referência do interferente (gerado em uma segunda medida) que é subtraído do intervalo espectral avaliado, restando apenas o sinal referente ao analito^{9,34,41}.

Outra abordagem interessante e inovadora da HR-CS AAS é a obtenção de espectros moleculares não apenas para correção de interferências, mas também tratando essas moléculas como analitos. Nesse caso, a técnica passa a ser chamada de HR-CS MAS⁴¹. Essa estratégia é importante principalmente pela dificuldade de se obter espectros de absorção atômica de não-metais como F, S, Br, Cl, I e N. Esses elementos possuem suas linhas de ressonância na região do UV de vácuo (abaixo de 190 nm), na qual ocorre forte absorção da radiação por moléculas de O₂ presentes no ar, e dessa forma torna inviável sua determinação com instrumentação convencional^{41,43,44}. Nesse contexto, a obtenção de espectros de moléculas geradas por esses elementos e que absorvam em uma região adequada para os espectrômetros de AAS é uma alternativa que permite a quantificação desses não-metais^{42,43}.

Mesmo antes da HR-CS AAS, essa abordagem já havia sido reportada na literatura para a AAS por alguns autores. Entretanto, limitações instrumentais dos espectrômetros comerciais impediram o avanço das pesquisas nessa área. Isso porque a avaliação de moléculas, seja como interferência ou analito, é bastante diferente da atômica, devido à maior complexidade dos espectros e também às condições necessárias para a formação dessas moléculas no atomizador⁴¹.

2.5. Espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua (HR-CS MAS)

Os espectros atômicos são resultado das diferentes transições eletrônicas que ocorrem nos átomos livres ao passarem de um estado de menor energia para um estado de maior energia (excitado), sendo que pela lei de Planck (Equação 1), cada transição eletrônica está relacionada com um comprimento de onda³¹. Como mencionado anteriormente, a probabilidade de cada transição ocorrer depende da ocupação dos diferentes níveis eletrônicos, sendo essa fornecida pela Equação de Maxwell-Boltzmann (Equação 2). Nas condições empregadas em AAS, o estado fundamental é o de maior população e, portanto, a transição mais provável que ocorra é entre o estado

fundamental e o estado excitado de menor energia, dando origem à “linha principal” de absorção ou “linha de ressonância”. As demais transições resultam nas “linhas alternativas” ou “linhas secundárias”, que apresentam menor sensibilidade³¹.

As moléculas, por sua vez, possuem além da energia de transição eletrônica (E_{el}), energias de transições vibracionais (E_{vib}) e rotacionais (E_{rot})^{41,43,44}. Assim, diferente do observado nos átomos, os elétrons de uma molécula podem ocupar diferentes níveis vibracionais e rotacionais, ao realizarem uma transição eletrônica, como mostrado na Figura 4, sendo que a diferença entre as energias é de aproximadamente duas ordens de grandeza (seguindo a ordem $E_{el} > E_{vib} > E_{rot}$)⁴⁰. A E_{el} de uma molécula é comparável a de um átomo, ou seja, ambos absorvem na mesma região do espectro eletromagnético (UV-Vis). E como essa energia é dividida em diversos níveis vibracionais, se observa o desdobramento dos níveis eletrônicos em uma banda vibracional com largura na ordem de nm (Figura 5). Da mesma forma um único nível vibracional é dividido em diversos níveis rotacionais, dando origem a uma banda estruturada formada por várias linhas com largura de 10-25 pm (mesma largura de uma linha atômica). Entretanto, para conseguir observar o desdobramento das bandas vibracionais em estruturas finas rotacionais (também chamada de banda estruturada) é necessário um instrumento com alta resolução e, por isso, não era possível obter o espectro de moléculas utilizando LS AAS^{41,43,44}.

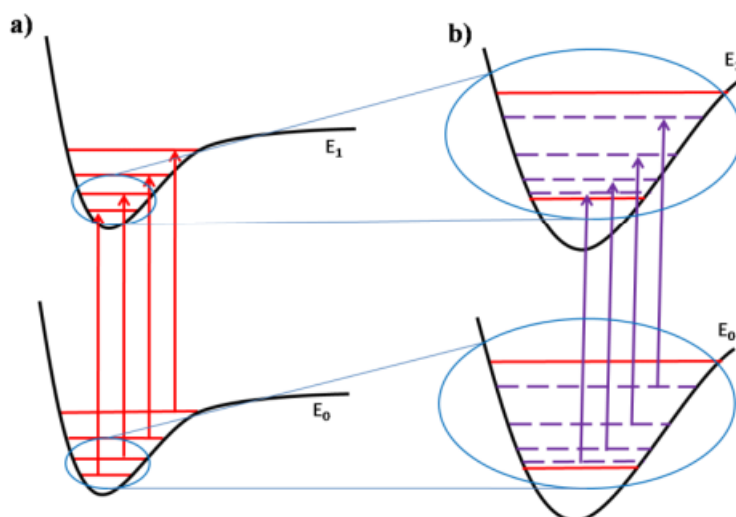


Figura 4. Representação de uma transição eletrônica (linhas pretas) em uma molécula diatômica com a) contribuições vibracionais (linhas contínuas) e b) contribuições

rotacionais (linhas tracejadas). E_0 representa o estado fundamental e E_1 o estado excitado (Adaptado de Struve⁴⁵).

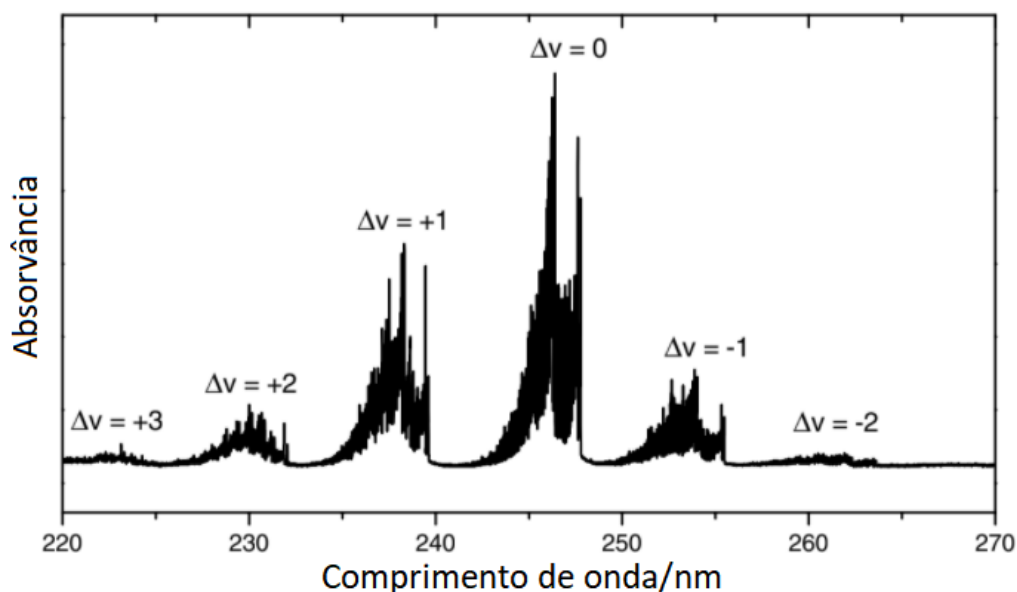


Figura 5. Espectro da molécula diatômica de PO apresentando as contribuições vibracionais para uma transição eletrônica (Adaptado de Welz *et al.*⁴¹).

No caso de moléculas com três ou mais átomos, sua rotação pode ocorrer em três eixos (x, y e z), resultando em maior desdobramento de níveis de energia e, conseqüentemente, aumentando o número de transições possíveis. Assim, no espectro rotacional não são observadas bandas estruturadas, mas sim bandas contínuas.

Dessa forma, a HR-CS MAS permite a obtenção de espectros de moléculas diatômicas e, por meio do seu sinal analítico, a determinação de elementos que não podem ser detectados com a instrumentação de AAS convencional. Entretanto, alguns fatores importantes devem ser considerados:

1) Apenas um dos átomos da molécula é o alvo, o outro átomo é necessário para que a molécula seja formada e é referido como reagente formador. Como exemplo, podemos citar a determinação de enxofre via molécula de CS, sendo o enxofre o átomo de interesse e o carbono o reagente formador, que viabiliza a quantificação de S por HR-CS MAS. A proporção reagente formador:analito é um dos parâmetros a ser otimizado durante o desenvolvimento do método, para garantir a conversão total do analito em molécula diatômica^{43,44}.

2) É importante ressaltar que altas temperaturas são empregadas nos atomizadores, o que pode levar ao rompimento das ligações das moléculas. Então, é um requisito que as moléculas diatômicas apresentem alta energia de dissociação para manterem suas ligações, já que quanto maior a força de ligação, maior a probabilidade da molécula se formar e permanecer estável sob elevadas temperaturas. As energias de dissociação podem ser encontradas na literatura, e estima-se que essa energia deve ser superior a 500 kJ mol^{-1} para a molécula ter uma boa estabilidade térmica. Essa propriedade restringe significativamente o número de moléculas que são adequadas para aplicação HR-CS MAS^{43,44}.

3) Outro aspecto importante a ser considerado é que, devido aos diferentes níveis energéticos possíveis em uma molécula, a distribuição dos elétrons nesses diferentes níveis de energia acaba afetando a sua sensibilidade. Como regra geral, para os átomos a sensibilidade será sempre maior em comparação às moléculas. Isso se reflete nos limites de detecção obtidos, enquanto em HR-CS F AAS e GF AAS temos LD da ordem de mg L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, em HR-CS F MAS e GF MAS temos LD da ordem de g L^{-1} e mg L^{-1} , respectivamente^{43,44}.

2.6 Determinação de enxofre por MAS

As linhas atômicas principais de absorção do enxofre se encontram em 181,974 e 182,565 nm, na região do UV distante e, por isso, a sua determinação por AAS não era possível com a instrumentação convencional¹⁷. Como alternativa, L'vov⁴⁶ propôs o uso de condições especiais de análise para poder realizar a determinação de enxofre por AAS, utilizando purga de gás inerte, monocromador operando no vácuo e forno de grafite. Entretanto, essa abordagem era muito complicada e cara para ser usada em análises de rotina. Outras tentativas de empregar a instrumentação convencional de AAS se baseavam na obtenção de espectros moleculares. Isso era realizado por meio da formação de moléculas diatômicas contendo enxofre e posterior medida de absorção molecular em uma das linhas da estrutura fina rotacional da molécula. Como fontes de radiação, foram empregadas HCL (monitorando uma linha de emissão adequada) ou lâmpadas de D_2 e H_2 . Na Tabela 1 está apresentado em resumo dos trabalhos empregando absorção molecular para determinação de enxofre por LS AAS.⁴⁷⁻⁴⁹

Tabela 1. Resumo dos parâmetros empregados na determinação de enxofre por LS AAS (adaptado de Ozbek *et al.*¹⁷)

Molécula diatômica	Lâmpada	Comprimento de onda/nm	Atomizador	Ref.
GeS	H ₂	285,0	Forno de grafite	46
		215,2		
AlS	HCL (Fe)	219,2	Forno de grafite	47
InS	HCL (Pt)	243,7	Forno de grafite	47
		241,8		
SnS	HCL (W)	273,6	Forno de grafite	47
CS	D ₂	257,6	Forno de grafite	48

Entretanto, essa abordagem também teve pouco sucesso devido a diversas limitações referentes à instrumentação utilizada (como já discutido na sessão 3.3), resultando em problemas como baixa sensibilidade, elevados LD e interferências espectrais. A determinação de enxofre por meio de moléculas diatômicas só se tornou viável após o desenvolvimento da técnica de HR-CS AAS, que permitiu a observação de estruturas finas rotacionais em espectros moleculares⁴¹. Em 2017, Ozbek *et al.*¹⁷ publicaram uma revisão dos trabalhos realizados empregando HR-CS MAS para determinação de enxofre, mostrando que a técnica tem ampla aplicação e se consolidou para essa finalidade.

Através de pesquisas bibliográficas utilizando a base *Web of Science*, foram encontrados 38 artigos publicados reportando o uso da HR-CS MAS para a determinação de enxofre. Desses, 12 empregaram chama como atomizador, 25 o forno de grafite e apenas um utilizou tubo de quartzo⁵⁰. Essa revisão está apresentada em detalhes na Tabela 2 e na Tabela 3. O primeiro trabalho empregando HR-CS MAS para a determinação de enxofre foi publicado por Huang *et al.*⁵¹ em 2005, empregando o CS como molécula alvo. A partir disso, a grande maioria dos autores também optou por empregar o CS, correspondendo a 78% dos casos. A preferência por essa molécula se deve principalmente a dois fatores: i) a sua alta energia de dissociação (713,4 kJ mol⁻¹) que é um fator importante a ser levado em consideração na escolha da molécula; e ii) a facilidade de formação dessa molécula tanto na chama como no forno de grafite, já que o agente formador “C” está presente em excesso nos dois ambientes e dessa forma não é necessário adicionar nenhum reagente externo.

Tabela 2. Revisão dos trabalhos reportados na literatura para a determinação de enxofre por HR-CS F MAS.

Matriz	Molécula	Chama	Altura de observação/mm	λ /nm	pixel	Padrão	LD/mg L ⁻¹	Ref
Vinho	CS	ar/C ₂ H ₂ 3,8/17	6-9	258,056	CP ± 1	(NH ₄) ₂ SO ₄ Na ₂ SO ₃	2,4	51
Vinho	CS	ar/C ₂ H ₂ 3,8/17	6-9	258,056	CP ± 1	(NH ₄) ₂ SO ₄ Na ₂ SO ₄	1,8	53
Alimentos	CS	ar/C ₂ H ₂ 90 L h ⁻¹	11	258,056	CP ± 2	H ₂ SO ₄	1,2	54
Vinagre	CS	ar/C ₂ H ₂ 90 L h ⁻¹	10	258,056	CP ± 1	Na ₂ S ₂ O ₅ Na ₂ S ₂ O ₃ Na ₂ SO ₄	11,6	55
Leite e fertilizantes	CS	ar/C ₂ H ₂ 434/120 L h ⁻¹	7	257,958	CP ± 1	MgSO ₄ (NH ₄) ₂ SO ₄	10	56
Fungicida e fertilizante	CS	ar/C ₂ H ₂ 521/110 L h ⁻¹	7	257,596 257,958 258,056	CP	(NH ₄) ₂ SO ₄	21,8	18
	SH	ar/C ₂ H ₂ 521/110 L h ⁻¹	7	332,658 324,064 327,990	-	(NH ₄) ₂ SO ₄	-	18
Plantas medicinais	CS	ar/C ₂ H ₂ 594/120 L h ⁻¹	-	257,958 257,595 257,958+ 257,595	CP/CP±1/CP±2/CP±3	MgSO ₄	53,5/54,9/73,8/138,5 40/38,7/34,7/49,8 30,5/31,2/39,3/54,3	57

Albumina de soro bovino (BSA) e L-cisteína	CS	ar/C ₂ H ₂ 7,5/2	12	258,056	CP ± 2	BSA L-cisteína	18 12	58
Ferro Fundido	CS	ar/C ₂ H ₂ 17/3,8	7	258,056	CP ± 1	(NH ₄) ₂ SO ₄ (NH ₄) ₂ S H ₂ SO ₄ KHSO ₄ Na ₂ S Na ₂ S ₂ SO ₃	2,4	59
Produtos petrolíferos	CS	ar/C ₂ H ₂ 75/70 L h ⁻¹	9	258,056	CP ± 2	Sulfeto de dibutil Polissulfeto de tert-nonil CS ₂	18*	60
Alimentos	CS	ar/C ₂ H ₂ 120 L h ⁻¹	8	258,056	CP ± 1	DL-cisteína L-cisteína H ₂ SO ₄ Na ₂ SO ₄ NH ₄) ₂ SO ₄ Na ₂ SO ₃ Na ₂ S	10,9	61
Carvão	CS	ar/C ₂ H ₂ 80/70 L h ⁻¹	10	258,056	CP ± 2	H ₂ SO ₄ Na ₂ SO ₄ Na ₂ SO ₃ Na ₂ S ₂ O ₃ Na ₂ S	0,01% m m ⁻¹	62

(NH₄)₂SO₄

* LD em mg kg⁻¹

Tabela 3. Revisão de trabalhos reportados na literatura para a determinação de enxofre por HR-CS GF-MAS.

Matriz	Molécula	λ/nm	Pixel	Tp/Ta / °C	Modificador	Tempo de análise	Padrão	LD	Ref
Cabelo humano	CS	257,961 258,033	CP±2 CP±2	900/2400	W + Pd/Mg	59	L-cisteína Tioureia H ₂ SO ₄	0,21 mg g ⁻¹ 0,40 mg g ⁻¹	63
Damasco e uva	CS	257,958	CP±1	900/2500	Pd/Mg	40	K ₂ SO ₄ Na ₂ SO ₄ Tioureia	23ng	64
Vegetais	CS	258,056	NI	1000/2400	Ru + Pd + ácido cítrico	NI	Tioureia Tioacetamida	7,5ng	65
Nozes	CS	257,959 258,056	NI	800/2200	W + Pd + ácido cítrico	47	L-cisteína Tioureia K ₂ S ₂ O ₇	3,51 mg L ⁻¹	66
Partículas suspensas no ar	CS	258,056	CP±1	850/2400	-	34	H ₂ SO ₄	10ng	67
Amostras biológicas	CS	258,033	CP±1	900/2500	W + Pd	50	(NH ₄) ₂ SO ₄ H ₂ SO ₄ MgSO ₄ Na ₂ SO ₃ Tioureia	0,03mg g ⁻¹	68

							Ácido sulfâmico Sulfanilamida		
Folhas de pêssego, espinafre	CS	258,056	CP±1	700/2400	Zr + Ca	58	(NH ₄) ₂ SO ₄	2,3ng	⁶⁹
Diesel	CS	258,056	CP±1	500/2400	Nanopartículas de PdCl ₂	80	Na ₂ SO ₄ Tioureia 2-mercaptoetanol	120 mg kg ⁻¹	⁷⁰
Diesel	CS	258,056	CP±1	200/2500	Nanopartículas de PdCl ₂	85	Na ₂ SO ₄ Tioureia 2-mercaptoetanol	3 mg kg ⁻¹	⁷⁰
Alimentos e urina	CS	258,056	CP±2	600/2300	Zr + Pd+ Ca	56	(NH ₄) ₂ SO ₄	0,6 mg L ⁻¹	⁷¹
Coque de petróleo Amostra biológica Aço polietileno	CS	257,958	CP±1	800/2400	Ru + nanoparticulas de Pd	45	Na ₂ SO ₄ Na ₂ SO ₃ Tioureia Ácido mercaptopropionico	9ng	⁷²
Alimentos	CS	258,056	CP±2	400/2300	Zr + Pd + Ca	50	(NH ₄) ₂ SO ₄ L-cisteína Tioureia	10 ng	⁷³
Cebola e Alho	CS	258,056	NI	1000/2500	Ir	56	Na ₂ S	3,5ng	⁷⁴
Formulações farmacêuticas	CS	258,034+ 258,056	CP±1	1000/2400	Pd/Mg	94	L-cisteína	0,4mg kg ⁻¹	⁷⁵
Coque verde de	CS	258,033	NI	1000/2600	W + KOH	77	(NH ₄) ₂ SO ₄	0,87mg g ⁻¹	⁷⁶

petróleo							Tioureia L-cisteína		
Diesel	CS	258,056	CP±1	1100/2500	Ir + Pd/Mg	129	L-cisteína	1,4 mg kg ⁻¹	77
							Ácido Sulfâmico		
Produtos petrolíferos	CS	258,056	CP±2	400/2400	Pd/Mg	92	Sulfeto de dibutil Polissulfeto de tert- nonil CS ₂	14ng	60
Carvão e cinzas	CS	257,591	CP±1	300/2500	-	59	(NH ₄) ₂ SO ₄	0,15mg L ⁻¹	78
Cabelo humano	CS	258,056	-	1000/2400	-	57	BSA	0,018%	79
Óleo de xisto	CS	258,288	CP±1	800/2200	Pd/Mg	104	L-cisteína Ácido sulfâmico Tioureia	0,01%	80
Carvão	CS	258,053	CP±1	500/2200	Ru	39	L-cisteína	0,03 µg	81
Água	SnS	271,578	CP±2	500/1850	Zr	74	Na ₂ S ₂ O ₈ Na ₂ SO ₄ Tioureia	18 µg L ⁻¹	19
Carvão	SnS	271,578	CP±2	500/2100	Ir + Pd	59	Na ₂ SO ₄ Tioureia L-cisteína	10ng	82
Petróleo bruto pesado	GeS	295,205	CP±2	400/1000	ZrO ₂	93	(NH ₄) ₂ SO ₄	0,16mg kg ⁻¹	83
Soluções padrão de S	SiS	282,910	CP±2	500/2200	Zr	68	(NH ₄) ₂ SO ₄	-	20
	SnS	271,578	CP±2	500/1300	Zr	68	(NH ₄) ₂ SO ₄	-	
	GeS	295,209	CP±2	600/1300	Zr	68	(NH ₄) ₂ SO ₄	-	

	PbS	335,085	CP±2	500/1600	Zr + Borato de sódio	68	(NH ₄) ₂ SO ₄	-	
Petróleo bruto	SnS	271,624	CP±2	600/2000	Pd		Na ₂ SO ₄	5,8ng	⁸⁴

Entretanto, a utilização do CS para a determinação de enxofre não é um consenso e alguns obstáculos foram observados por diferentes autores, principalmente com relação às condições para a sua formação. Um dos pontos abordados é o fato de não ser possível controlar nem otimizar a quantidade de carbono (reagente formador) que deve ser utilizada para garantir a formação do CS, ou avaliar o efeito que diferentes massas desse reagente tem no sinal analítico da molécula. Além disso, vários autores reportaram que a formação da molécula de CS depende da forma química que o enxofre se encontra na amostra. Assim, geralmente é realizada uma avaliação para a escolha do padrão de enxofre mais adequado para a calibração, avaliando os comportamentos dos padrões e amostras. Também pode ser necessário empregar condições experimentais diferentes dependendo da matriz analisada, resultando em diferentes métodos analíticos¹⁷.

Nesse contexto, moléculas diatômicas que contornem esses problemas vêm sendo investigadas como alternativa ao CS. Em 2011, Virgilio *et al.*¹⁸ investigaram a possibilidade de usar SH, empregando chama como atomizador. Porém, devido à menor sensibilidade e maior razão sinal ruído, a quantificação de S por SH não foi possível. Além disso, o SH apresenta baixa energia de dissociação (344 kJ mol^{-1})¹⁷, o que também pode ter prejudicado o seu desempenho. Em 2013, Baumbach *et al.*¹⁹ propuseram o uso bem sucedido do SnS para determinação de S em água por forno de grafite, obtendo LD similar aos reportados para o CS. Por fim, em 2017, Huang *et al.*²⁰ publicaram um artigo avaliando diferentes elementos do grupo 14 da tabela periódica (Si, Sn, Ge, Pb) como reagentes formadores para a determinação de S, também por forno de grafite. Os autores fizeram um comparativo entre as massas características (m_0) obtidas para o CS e as demais moléculas (GeS, SiS, SnS e PbS). Como pode ser observado na Tabela 4, as moléculas com resultados mais promissores foram o SiS e o GeS, que apresentaram valores de m_0 de 15,7 e 9,4 ng, respectivamente.

No entanto, o SiS apresenta alguns aspectos interessantes que podem tornar sua escolha mais atrativa: i) O Si é o segundo elemento mais abundante na crosta terrestre e, portanto, pode ser um interferente nas análises através das moléculas de GeS, SnS e PbS, devido à competição com o Si para a formação de SiS, o que pode comprometer o desenvolvimento do método. Empregando o Si como reagente formador, esses riscos podem ser minimizados. Além disso, é válido lembrar que a energia de dissociação é outro parâmetro importante a ser considerado, pois por meio dela se avalia se a molécula diatômica possui estabilidade térmica suficiente para manter sua ligação

durante todo programa de aquecimento empregado, sendo que quanto maior a energia de dissociação, maior a estabilidade da molécula⁴¹. Na Tabela 4 também são apresentadas energias de dissociação das moléculas reportadas por Huang *et al.*²⁰ e, como pode ser visto, o SiS apresenta a segunda maior energia de dissociação, estando abaixo apenas do CS.

Barrow e Jevons⁵² foram os primeiros autores a investigar o espectro de absorção/emissão do SiS em 1938. Mesmo essa molécula parecendo ser uma alternativa promissora ao CS, o trabalho publicado por Huang *et al.*²⁰ é o único reportando uso dessa molécula para determinação de enxofre, empregando tanto fonte de linha como fonte contínua. Além disso, os autores não apresentaram nenhum resultado referente à aplicação do método em amostras, e relataram que um estudo detalhado para encontrar as condições ótimas para a formação da molécula de SiS deveria ser realizado.

Tabela 4. Resumo das massas características para enxofre obtidas por Huang *et al.*²⁰ e respectivas energias de dissociação para as diferentes moléculas empregadas.

Ligação	m ₀ /ng	Energia de dissociação/kJ mol ⁻¹
C-S	12	713
Si-S	15,7	619
Ge-S	9,4	551
Sn-S	20	464
Pb-S	220	346

2.7 Objetivos

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar a formação da molécula de SiS e desenvolver um método analítico, simples, confiável e versátil para a determinação de enxofre em diferentes matrizes via molécula de SiS pela técnica de espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite utilizando análise direta de sólidos.

Os objetivos específicos do trabalho foram:

(I) Avaliar a viabilidade de utilizar a molécula diatômica de SiS como uma alternativa à molécula de CS na determinação de enxofre por HR-CS GF MAS.

(II) Realizar estudos para estabelecer as condições experimentais adequadas para a formação da molécula de SiS, investigando diferentes modificadores permanentes e diferentes massas de reagente formador. Investigar a formação da molécula a partir de diferentes fontes de enxofre.

(III) Otimizar os parâmetros instrumentais, como temperaturas de pirólise e de vaporização, bem como estabelecer os parâmetros de mérito tais como a massa característica (m_0), o limite de detecção (LD), o limite de quantificação (LQ).

(IV) Avaliar a exatidão do método desenvolvido por meio da análise de materiais de referência certificados e aplicação de testes estatísticos.

(V) Avaliar a versatilidade do método desenvolvido por sua aplicação na análise de diversos CRM com matrizes bem distintas.

3. Procedimento experimental

3.1 Instrumentação

Todas as medidas foram realizadas utilizando um espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua, modelo contrAA 700 (Analytik Jena AG, Jena, Alemanha), que permite o uso de chama e forno de grafite aquecido transversalmente como atomizadores, sendo esse último utilizado nos experimentos. Esse equipamento é equipado com uma lâmpada de arco curto de xenônio de alta intensidade operando no modo *hot-spot* e emitindo um espectro contínuo entre 190 e 900 nm; um monocromador duplo com prisma para pré-dispersão da radiação e uma rede de difração *echelle*; e um arranjo linear de CCD.

Todos os experimentos foram realizados utilizando tubos de grafite com recobrimento pirolítico para análise de amostras sólidas, sem o orifício de injeção (Analytik Jena, Part N° 407- A81.303). As amostras sólidas foram pesadas em uma microbalança M2P (Sartorius, Göttingen, Alemanha), diretamente em plataformas de amostragem sólida - SS (AnalytikJena, Part N°. 407-152.023). Essa era introduzida no tubo de grafite utilizando um par de pinças pré-ajustado, a qual é parte do acessório SSA 6 para introdução manual de sólidos (Analytik Jena AG). Soluções aquosas de calibração e soluções de modificador foram pipetadas manualmente na plataforma SS, com o auxílio de uma micropipeta (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha).

O sinal analítico do SiS foi avaliado no comprimento de onda de 282,910 nm, e a absorvância integrada (A_{int}) foi obtida usando a área do pico de três *pixels*, o *pixel* central e dois adjacentes ($CP \pm 1$). Com o objetivo de aumentar a sensibilidade e a faixa de trabalho do método, foi avaliada a possibilidade de usar a soma dos valores de A_{int} de dez linhas analíticas vizinhas a de 282,910 nm (dentro da janela espectral de $282,910 \pm 0,162$ nm), resultando em um total de 30 *pixels* (3 *pixels* para cada linha).

Argônio com pureza de 99,996% (White Martins, São Paulo, Brasil) foi utilizado como gás de purga e proteção, com um fluxo de $2,0 \text{ L min}^{-1}$ durante todas as etapas, exceto durante a etapa de vaporização quando o fluxo interno de Ar foi interrompido para a determinação do analito. O programa de temperatura do forno de grafite utilizado neste estudo encontra-se na Tabela 5.

Tabela 5. Programa de temperatura empregado para a determinação de S via molécula diatômica de SiS por HR-CS GF MAS e análise direta de amostras sólidas.

Etapa	Temperatura/°C	Rampa/°C s ⁻¹	Permanência/s	Fluxo de gás/L min ⁻¹
Secagem	150	10	40	2
Pirólise	1200	300	15	2
Vaporização	2000	3000	10	0
Limpeza	2500	1000	5	2

3.2 Reagentes e materiais de referência certificado

Todos os reagentes utilizados neste trabalho eram de grau analítico. Água ultrapura (18,2 MΩ cm) obtida a partir de um sistema de purificação de água Milli-Q® (Millipore, Bedford, EUA) foi utilizada para preparar todas as soluções e diluições.

As soluções estoque de S, de 10 g L⁻¹, foram preparadas pela dissolução de quantidades adequadas de Na₂S, Na₂SO₄, BeSO₄, tiourea, L-cisteína e ácido sulfâmico. (todos Sigma-Aldrich, Missouri, EUA) em água ultrapura. As soluções-padrão de S utilizadas para as curvas de calibração e as soluções de trabalho foram obtidas pela diluição da solução estoque.

Como reagente formador de molécula foram investigadas duas soluções estoque de 1000 mg L⁻¹ Si, uma em meio ácido (HNO₃ 10% e HF 1%, Specsol, São Paulo, Brasil) e outra em meio básico, com pH de 13,7 (NaOH 2% m v⁻¹, Sigma-Aldrich).

Como modificadores permanentes, foram investigados Ir (Bernd Kraft, Duisburg, Alemanha), Rh (SpecSol), Ru (Sigma-Aldrich), W (SpecSol) e Zr (Sigma-Aldrich), em todos os casos foi empregada uma solução estoque de 1000 mg L⁻¹.

Foi utilizado NaF (Sigma-Aldrich) para investigar a interferência do flúor na formação da molécula de SiS.

Durante o desenvolvimento do método, foram avaliados nove materiais de referência certificado (CRM) provenientes do NIST –*National Institute of Standards and Technology* (NIST, Gaithersburg, EUA), CCRMP –*Canadian Certified Reference Materials Project* (CCRMP, Ottawa, Canadá) e NACIS –*National Analysis Center for Iron and Steel* (NACIS, Pequim, China). Os CRM *bovine liver* NIST 1577b, *bovine*

muscle NIST 8414, *non-fat Milk powder* NIST 1549, *wheat flour* NIST 1567a, *rice flour* NIST 1568a, *citrus leaves* NIST 1572, *tea* NACIS DC 73014, *lake sediment* CCRMP LKSD-4 e *stream sediment* CCRMP STSD-3 foram empregados para avaliar a exatidão do método. Os CRM *lake sediment* LKSD-4 e *wheat flour* NIST 1567a foram escolhidos para otimizar as condições experimentais do método, por apresentarem matrizes distintas.

3.3 Procedimento para a investigação do SiS

Nesse trabalho, foram empregadas seis soluções padrão diferentes de enxofre para investigar a formação da molécula diatômica de SiS (Na_2S , Na_2SO_4 , BeSO_4 , tiourea, L-cisteína e ácido sulfâmico). Em todos os casos, foi usada a concentração de 100 mg L^{-1} de S na presença de $20 \text{ }\mu\text{g}$ de Si em meio básico. As medidas foram realizadas no comprimento de onda de $282,910 \text{ nm}$, usando plataformas de grafite recobertas com $400 \text{ }\mu\text{g}$ de Zr. As temperaturas de pirólise (T_{pir}) e vaporização (T_{vap}) empregadas foram 1200 e $2000 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Em cada medida eram pipetados $1 \text{ }\mu\text{g}$ de S de uma das soluções-padrão de S ($10 \text{ }\mu\text{L}$ de uma solução 100 mg L^{-1}) e $20 \text{ }\mu\text{g}$ de Si ($20 \text{ }\mu\text{L}$ de uma solução de 1000 mg L^{-1} de Si em meio básico). Para a análise dos CRM, $20 \text{ }\mu\text{g}$ de Si ($20 \text{ }\mu\text{L}$ de uma solução de 1000 mg L^{-1} de Si em meio básico) eram pipetados sobre uma massa de CRM previamente pesada na plataforma. Após isso, a plataforma era introduzida no forno de grafite.

Como modificadores permanentes, foram investigados Rh, Ru, W, Zr e Ir. O estudo foi realizando recobrindo plataformas com $400 \text{ }\mu\text{g}$ de cada um dos modificadores e empregando plataformas diferentes para cada um deles. Para isso, foram pipetados $40 \text{ }\mu\text{L}$ de uma solução estoque de 1000 mg L^{-1} de cada um dos modificadores nas plataformas, que eram então submetidas ao programa de aquecimento descrito na Tabela 6. Esse procedimento foi repetido dez vezes para cada modificador. O programa de aquecimento empregado foi adaptado dos procedimentos descritos na literatura por Osbek *et al.*⁷⁴ para Ir, Boschetti *et al.*⁸⁵ para Rh e Mior *et al.*⁸¹ para Ru, W e Zr.

Tabela 6. Programa de aquecimento empregado no forno de grafite para o recobrimento da plataforma de grafite com os modificadores permanentes Rh, Ru, W, Zr, Ir.

Etapa	Temperatura/°C	Rampa/°C s⁻¹	Permanência/s
1	130	10	40
2	160	10	40
3	350	20	40
4	1000	200	25
5	2000	200	10

3.4 Parâmetros de mérito

Nesse trabalho os parâmetros de mérito estimados para o método desenvolvido foram: limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), massa característica (m_0), precisão, exatidão e sensibilidade.

O limite de detecção é a quantidade mínima detectável, com uma dada certeza analítica. É uma medida da concentração ou massa do analito, que quando excedida, permite o reconhecimento, com uma dada certeza estatística, que o teor de analito na amostra é maior que no branco³¹. Os limites de detecção instrumentais foram determinados pela Equação 4, na qual σ_{10} é o desvio padrão de 10 medidas do branco e S é o coeficiente angular da regressão linear obtida a partir da curva de calibração, também conhecido como sensibilidade.

$$LD = 3\sigma_{10}/S \quad \text{Equação 4}$$

O limite de quantificação é definido como a menor massa ou concentração de analito que pode ser determinada quantitativamente com uma certeza estatística de 95%³¹. O LQ instrumental foi calculado pela Equação 5.

$$LQ = 10\sigma_{10}/S \quad \text{Equação 5}$$

As medidas do branco foram realizadas de acordo com a técnica de “resposta de massa zero”⁸⁶, em que a plataforma de grafite recoberta com 400 μg Zr foi introduzida repetidamente no atomizador, com a adição de 20 μg Si em meio básico, e submetida ao programa de aquecimento apresentado na Tabela 5.

O LD e LQ do método foram obtidos a partir dos LD e LQ instrumentais (calculados a partir das Equações 4 e 5) e levando em consideração a massa máxima de amostra introduzida no forno de grafite.

A massa característica é definida como a massa de analito necessária para resultar em um sinal de 1% de absorção (que corresponde a um sinal de absorvância integrada de $0,0044 \text{ s}$)³¹ e foi calculada pela Equação 6. A_{int} corresponde ao sinal de absorvância integrada produzido por uma massa m de analito, que representa um ponto intermediário da curva de calibração.

$$m_0 = 0,0044m/A_{\text{int}} \quad \text{Equação 6}$$

A precisão é usada para avaliar a dispersão entre os resultados de medidas de amostras ou padrões em condições definidas, e geralmente é expressa por meio da repetitividade e reprodutibilidade. Nesse trabalho a precisão foi avaliada através do desvio padrão relativo (RSD), sendo considerados precisos os resultados que apresentaram RSD abaixo de 10%. A exatidão do método representa a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor verdadeiro. Nesse trabalho a exatidão foi acessada através da análise de nove CRM, listados na sessão 3.2. E por fim, a sensibilidade é representada como a inclinação (slope) da curva de calibração.

4. Resultados e discussão

4.1 Desenvolvimento de método para determinação de enxofre via molécula diatômica de SiS

4.1.1 Estudos preliminares

Os primeiros estudos foram realizados com base no trabalho reportado por Huang *et al.*²⁰ Os autores foram os primeiros a reportar o uso da molécula de SiS para fins analíticos. Algumas observações importantes foram relatadas pelos autores:

1) A escolha da solução de Si empregada como reagente formador é um parâmetro crítico. A primeira opção testada foi uma solução ácida de $(\text{NH}_4)_2\text{SiF}_6$ e, devido à presença do fluoreto, não foi adequada. A melhor opção encontrada pelos autores foi Na_2SiO_3 , mas ainda com algumas restrições, já que, devido ao alto teor de sódio e

silicatos, era observado um alto sinal de fundo. Além disso, a quantidade de reagente adicionada deve ser limitada a 5 μL , contendo de 0,1 a 0,5% m m^{-1} Si.

2) A utilização da plataforma de grafite recoberta com Zr se mostrou essencial para garantir a formação eficiente da molécula de SiS. A massa de 200 μg Zr foi utilizada.

3) O uso do SiS para aplicações analíticas ainda não havia sido reportado até o momento e uma investigação detalhada deve ser realizada a fim de se encontrar as condições experimentais para a utilização dessa molécula.

A partir dessas observações, foram realizados alguns estudos preliminares para avaliar a formação do SiS. As plataformas de grafite foram recobertas com 200 μg Zr e 5 μg de Si (5 μL de uma solução de 1000 mg L^{-1}) em meio ácido ou básico foi empregado como reagente formador de molécula para investigar a formação do SiS a partir de 1 μg (10 μL de uma solução 100 mg L^{-1}) de seis fontes de enxofre diferentes: Na_2S , Na_2SO_4 , BeSO_4 , tioureia, ácido sulfâmico e L-cisteína.

Como foi reportado por Huang *et al.*²⁰, a formação da molécula de SiS era comprometida quando $(\text{NH}_4)_2\text{SiF}_6$ em meio ácido era empregado como reagente formador (proporção mássica 5:1/Si:S), provavelmente devido a reações paralelas entre F e Si. Nesse trabalho, um comportamento similar foi observado quando Si em meio ácido foi utilizado como reagente formador de molécula, devido à presença de HF, não ocorrendo a formação da molécula de SiS para nenhuma das seis fontes de enxofre investigadas nas condições empregadas. Entretanto, utilizando Si em meio básico (na mesma proporção 5:1/Si:S), foi possível observar a formação da molécula de SiS para todos os padrões de enxofre. Um estudo mais aprofundado sobre a influência da presença de flúor na formação do SiS será apresentado na sessão 4.1.4.

Com o objetivo de avaliar se os sinais analíticos obtidos por meio das seis fontes de enxofre eram estatisticamente iguais, foi realizado um teste de ANOVA a um nível de confiança de 95%, e o resultado obtido ($F_{\text{cal}} = 3,41 < F_{\text{tab}} = 3,48$) indicou a igualdade dos valores de A_{int} . Dessa forma, para realizar as demais otimizações foram escolhidos um padrão de S inorgânico (Na_2SO_4) e um orgânico (tioureia), empregando Si em meio básico na proporção 5:1/Si:S como reagente formador.

Com base nos resultados obtidos para a molécula de SiS utilizando os diferentes padrões de enxofre e Si em meio básico, nove CRM diferentes foram investigados. Uma estimativa da concentração de enxofre encontrada nos CRM foi realizada comparando os valores de A_{int} de cada CRM com os valores obtidos usando 1 μg de enxofre como Na_2SO_4 e tioureia, mantendo a proporção 5:1/Si:S. Como resultado, foi observado que

apenas algumas das concentrações de enxofre encontradas foram concordantes com as reportadas pelos CRM (*tea* NACIS DC 73014, *lake sediments* CCRMP LKSD-4 e *stream sediment* CCRMP STSD-3).

Os resultados encontrados para os CRM mostraram que, mesmo empregando o meio básico, a formação da molécula de SiS não é garantida. Por isso, para assegurar a sua formação, foi realizada uma série de investigações para otimização e desenvolvimento de um método analítico para a determinação de S por meio da molécula de SiS, e quantificação de enxofre em diferentes CRM. Para essas investigações, foram empregadas as duas soluções padrão mencionadas anteriormente (Na_2SO_4 e tioureia) e dois CRM (*Lake sediment* e *Wheat flour*) que possuem composição e matrizes bem distintas, e inicialmente a proporção de 5:1/Si:S, utilizando sempre Si em meio básico.

4.1.2 Estudo de modificadores permanentes

O uso de modificadores permanentes é um dos parâmetros importantes a ser investigado para garantir a formação da molécula de SiS, uma vez que pode haver competição para formação de outras moléculas. Um exemplo conhecido é a reação do enxofre com o carbono da plataforma de grafite, formando as moléculas de CS ou CS_2 ^{17,20,41}. Assim, o uso de modificadores permanentes pode minimizar essas interações entre enxofre e carbono, facilitando a interação entre enxofre e silício e a formação da molécula de SiS.

Dessa forma, a partir dos resultados preliminares obtidos para a formação da molécula de SiS, foi realizado um estudo de modificadores permanentes, empregando Si em meio básico e inicialmente apenas os dois padrões de enxofre, Na_2SO_4 e tioureia. Para as investigações, cinco plataformas de grafite foram recobertas com 400 μg de Ir, Rh, Ru, Zr ou W, e foram monitorados os valores de A_{int} para o SiS a partir de 1 μg de S (Na_2SO_4 ou tioureia) e 5 μg de Si em meio básico. Como pode ser visto na Figura 6, o uso de Zr como modificador permanente resultou em maiores valores de A_{int} para o SiS, além de um sinal analítico mais simétrico.

A partir desse resultado, foi realizada a otimização para encontrar a massa de Zr mais adequada para formação da molécula de SiS. Esse estudo também foi feito monitorando os valores de A_{int} para dois padrões de S (Na_2SO_4 e tioureia), além dos dois CRM (*lake sediment* – LKSD-4 e *wheat flour* – NIST 1567a). Foram investigadas plataformas sem nenhum recobrimento e recobertas com massas de Zr entre 100 e 400

μg . A condição sem Zr resultou em baixa sensibilidade, como era esperado, o que reafirma a necessidade do recobrimento como um dos requisitos para garantir a formação adequada do SiS. Para a massa de 100 μg , houve um aumento no sinal analítico, que atingiu um patamar para massas maiores que 200 μg . Inicialmente a condição de 400 μg foi escolhida para os experimentos seguintes, para garantir a formação da molécula de SiS. Entretanto, como será discutido em detalhes na sessão 4.1.3, ao realizar o estudo de massa de reagente formador se observou que a condição de 5 μg de Si, empregada até o momento, não era adequada para o CRM *wheat flour*, sendo 20 μg de Si a condição ótima escolhida. Por esse motivo, a fim de garantir que a escolha da massa de Zr adequada não fosse comprometida pelo resultado do estudo de massa de reagente formador, os experimentos para a otimização da massa de Zr foram repetidos, agora empregando 20 μg de Si em meio básico. Vale ressaltar que as demais condições permaneceram as mesmas, sendo utilizado 1 μg de S (Na_2SO_4 ou tioureia) e os dois CRM (*Lake sediment* e *Wheat flour*). Esses resultados estão apresentados na Figura 7, e o mesmo comportamento foi observado em relação a quando 5 μg foi usado. Assim, a escolha da condição ótima permaneceu a mesma, sendo escolhido 400 μg de Zr, para garantir a formação do SiS e também visando maior tempo de vida útil da plataforma. Nessas condições, o tempo de vida útil médio da plataforma era de 200 queimas (antes de ser necessário recobrir novamente) e dois recobrimentos, antes de ser necessário descartá-la.

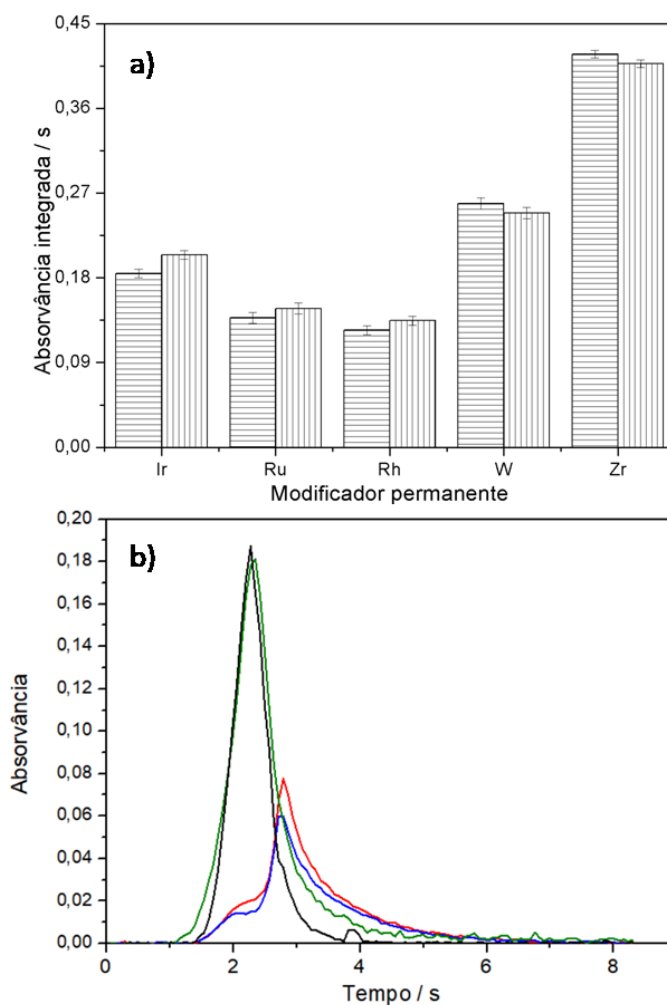


Figura 6. Efeito de diferentes modificadores permanentes na formação da molécula de SiS. a) Valores de A_{int} para 1 μg de enxofre a partir de: Na_2SO_4 (linhas horizontais) e tioureia (linhas verticais) e b) sinais analíticos para plataformas recobertas com Zr ou Rh empregando 1 μg de enxofre a partir de: Na_2SO_4 (linha preta e linha vermelha, respectivamente) e tioureia (linha verde e linha azul, respectivamente). 400 μg de modificadores permanentes, 5e 20 μg Si (nas Figuras 6a e 6b, respectivamente), T_{pir} 1200 °C, T_{vap} 2000 °C. Barras de erro correspondem ao desvio padrão ($n = 5$).

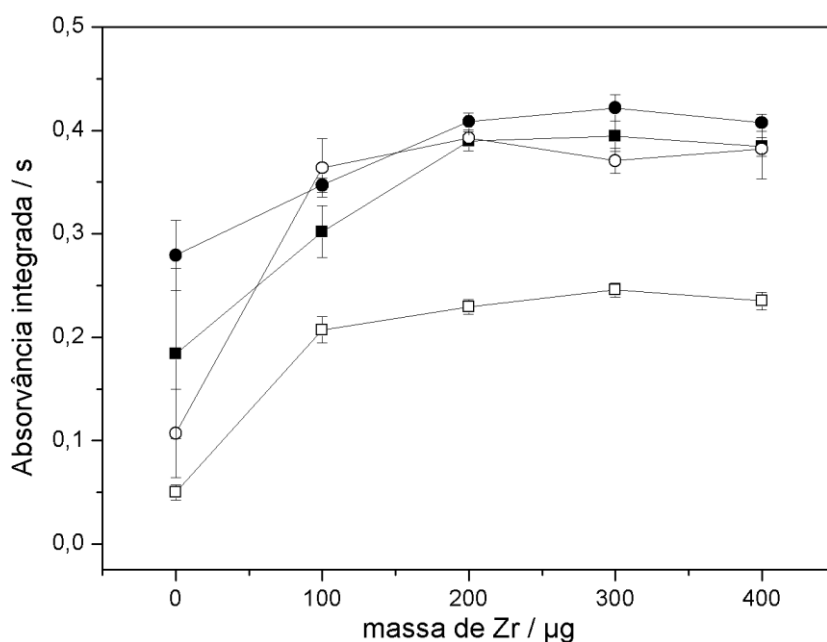


Figura 7. Influência de diferentes massas de modificador permanente Zr no sinal analítico do SiS empregando 1 µg de enxofre a partir de: Na₂SO₄ (■), tioureia (●), CRM *wheat flour* (□) e CRM *lake sediment* (○). Reagente formador de molécula =20 µg de Si em meio básico, T_{pir} = 1200 °C e T_{vap} = 2000 °C. Barras de erro correspondem ao desvio padrão (n = 5).

4.1.3 Estudo de massa de reagente formador

Para otimizar a massa de reagente formador, foi avaliado o efeito de diferentes massas de Si em meio básico no sinal analítico da molécula de SiS, a partir de dois padrões de S (Na₂SO₄ e tioureia) e dois CRM (*lake sediment* e *wheat flour*). O intervalo investigado variou de 0 a 40 µg Si em meio básico. Como pode ser visto na Figura 8, na ausência de Si não foi observada a formação do SiS para os dois padrões e para o CRM *wheat flour*. Entretanto, para o CRM *lake sediment*, a formação do SiS foi observada mesmo sem a adição externa de Si em meio básico, e o sinal de A_{int} para o enxofre permaneceu constante quando diferentes massas de Si foram adicionadas. Esse comportamento pode ser justificando levando em consideração a composição dos CRM, o *lake sediment* apresenta na sua composição SiO₂ (aproximadamente 42% m m⁻¹, valor reportado no certificado de concentrações), fornecendo Si suficiente para garantir a formação do SiS, sem a necessidade de adicionar o reagente externamente. Para o CRM *wheat flour*, não é reportado no certificado de concentrações a presença de Si, porém, o

resultado sugere que ele não apresenta em sua composição Si suficiente para promover a formação do SiS, sendo necessário adicionar o reagente externamente. Na Figura 8 também é possível observar que para esse CRM (*wheat flour*), os valores máximos de A_{int} foram obtidos apenas quando foram usadas massas de Si maiores que 10 μg (proporção 10:1/Si:S). Esse comportamento é diferente do observado para os padrões, para os quais uma massa de Si de 5 μg (proporção 5:1/Si:S) já é suficiente para atingir máxima sensibilidade. Esse resultado explica porque os valores de S encontrados nos CRM não foram concordantes com os valores certificados nos testes preliminares realizados (como discutido na sessão 4.1.1), já que naquelas condições empregadas não havia Si suficiente para garantir a formação do SiS nos CRM. Quando massas de Si maiores que 25 μg foram usadas, o valor de A_{int} dos CRM apresentou um decréscimo de 40%, enquanto para os padrões o sinal se manteve constante. Para explicar melhor esse comportamento observado, seria necessário realizar mais estudos. Dessa forma, para garantir a formação da molécula de SiS nos padrões e nos CRM, a massa de 20 μg de Si foi escolhida, pois apresentou maior sensibilidade com menor RSD.

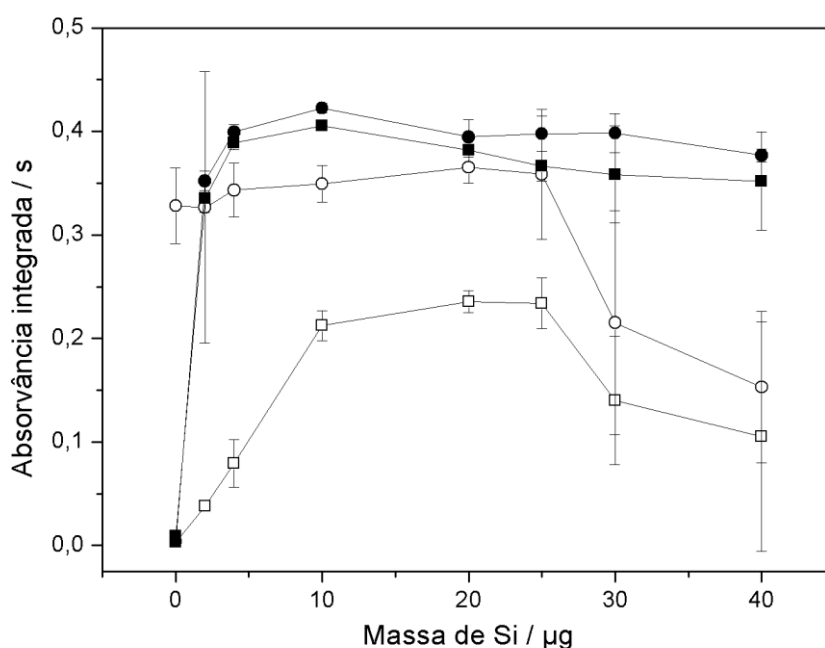
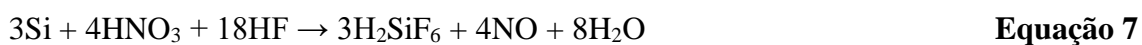


Figura 8. Influência de diferentes massas de reagente formador de molécula Si no sinal analítico do SiS empregando 1 μg de enxofre a partir de: Na_2SO_4 (■), tioureia (●), CRM

wheat flour (□) e CRM lake sediment (○). 400 µg de Zr como modificador permanente, $T_{\text{pir}} = 1200\text{ °C}$ e $T_{\text{vap}} = 2000\text{ °C}$. Barras de erro correspondem ao desvio padrão (n = 5).

4.1.4 Investigação da interferência do flúor na formação da molécula de SiS

Após investigar a massa de Si adequada para a formação do SiS, foram realizados estudos para investigar em mais detalhes a extensão da interferência do flúor na formação da molécula. Como foi reportado por Huang *et al.*²⁰, a formação da molécula de SiS é comprometida quando solução de $(\text{NH}_4)_2\text{SiF}_6$ em meio ácido é empregada como reagente formador, devido à presença de flúor. Como alternativa, os autores empregaram uma solução de Na_2SiO_3 para garantir a formação da molécula. Nesse trabalho, testes semelhantes foram realizados, empregando uma solução ácida de Si e da mesma forma não foi observada a formação da molécula de SiS, sendo necessário empregar uma solução de Si em meio básico como alternativa. A solução ácida de Si apresenta HF 1% (v/v) e HNO_3 10% (v/v) na composição da solução. Como reportado por Steinert *et al.*⁸⁷, Rich *et al.*⁸⁸ e Preedy *et al.*⁸⁹, nessas condições, o Si reage com esses ácidos levando à formação do ácido hexafluorossilícico (H_2SiF_6), conforme apresentado na Equação 7. Esse, por sua vez, se decompõe em SiF_4 e HF (Equação 8) em temperaturas superiores a 108,5 °C. Dessa forma, essas reações podem levar a perdas de Si, já que no ambiente do forno de grafite todos esses compostos são vaporizados e arrastados para fora do tubo pelo gás de purga, durante as etapas de secagem e pirólise⁹⁰. Assim, não há Si disponível no forno para a formação do SiS.



Para confirmar que o flúor atua como um interferente na formação do SiS, foi investigada a influência de diferentes massas de fluoreto (adicionado como uma solução de NaF) no sinal analítico da molécula de SiS. Esse estudo foi realizado empregando 10 µg de Si em meio básico como reagente formador, 0,5 µg de Na_2SO_4 ou tioureia como fontes de enxofre, e 10 µL de soluções com concentrações diferentes de NaF (correspondendo a massas de fluoreto na faixa de 25-200 µg). É importante destacar que

a proporção 1:20 S:Si otimizada nesse trabalho foi mantida, representando um excesso de Si.

Como pode ser visto na Figura 12, ocorreu um pequeno decréscimo no sinal quando massas de até 50 μg de fluoreto foram empregadas, provavelmente devido ao excesso de Si no meio. Quando a massa de fluoreto aumentou para 75 μg esse efeito foi ainda mais pronunciado levando a um decréscimo no sinal do SiS de aproximadamente 40%. A inibição por completo do sinal do SiS foi atingida na presença de 200 μg de fluoreto. Com esses resultados, é possível mostrar que o fluoreto é um interferente na determinação de enxofre via molécula de SiS e, portanto, em amostras com alto teor de flúor, pode ser necessária a adaptação do método para tornar adequada a quantificação. Entretanto, vale destacar que esse não era o caso de nenhum dos nove CRM analisados.

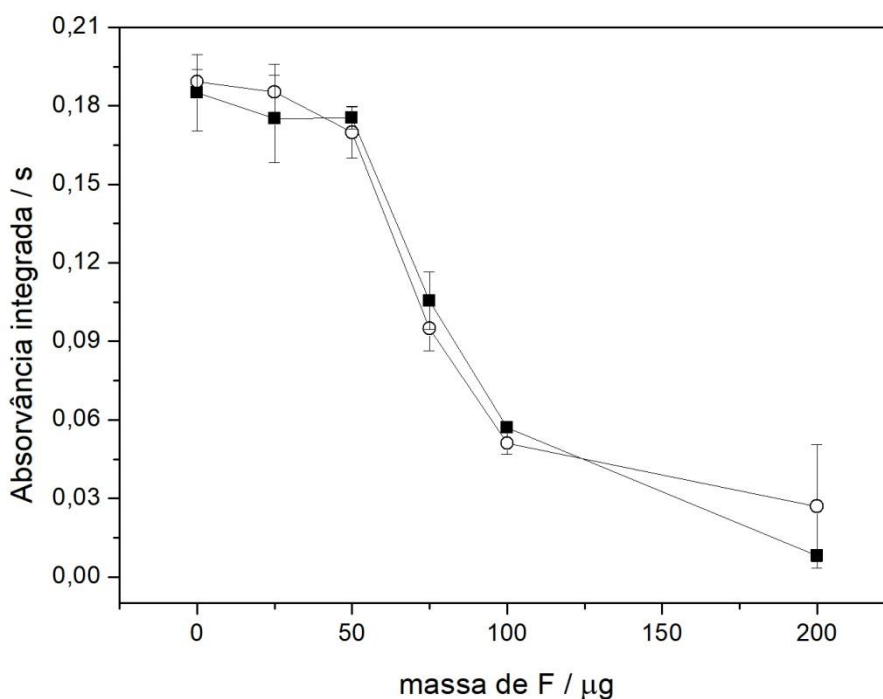


Figura 9. Estudo da influência da massa de fluoreto no sinal de absorvância da molécula diatômica de SiS. Avaliando 0,5 μg a partir Na_2SO_4 (■), tioureia e empregando 400 μg de Zr como modificador permanente, 10 μg de Si em meio básico como reagente formador de molécula, $T_{\text{vap}} = 2000$ $^{\circ}\text{C}$ e $T_{\text{pir}} = 1200$ $^{\circ}\text{C}$. Barras de erro correspondem ao desvio padrão ($n=3$).

4.1.5 Programa de temperatura

Considerando que até o momento não há trabalhos na literatura que relatem o comportamento térmico da molécula de SiS, foi realizado um estudo detalhado com o intuito de avaliar o efeito das temperaturas de pirólise (T_{pir}) e vaporização (T_{vap}) no sinal analítico do SiS. Para isso, foram empregados dois padrões de S (1 μg de Na_2SO_4 e tioureia) e dois CRM (*lake sediment* e *wheat flour*), na presença de 20 μg de Si em meio básico e 400 μg de Zr como modificador permanente. Os intervalos de temperatura investigados foram de 300 a 1700 °C para a T_{pir} e 1400 a 2600 °C para a T_{vap} . As curvas obtidas estão apresentadas na Figura 9.

Com relação a T_{pir} , observou-se um comportamento atípico para moléculas diatômicas quando se empregou temperaturas baixas, sendo que o valor de A_{int} aumentou com o aumento da temperatura, (até 600 °C para os padrões de S, e até 400 °C para os CRM) e então atingiu um patamar até 1300 °C. Esse comportamento provavelmente está relacionado com o mecanismo de formação da molécula de SiS e indica que, em temperaturas baixas, não ocorre a interação adequada entre S e Si para a formação da molécula de SiS. Para T_{pir} maiores que 1300 °C, a molécula de SiS começou a vaporizar e os valores de A_{int} diminuíram, já que parte do SiS vaporizado era arrastado para fora do tubo de grafite pelo gás de purga. Dessa forma, a temperatura de 1200 °C foi escolhida, visando minimizar possíveis efeitos de matriz que podem surgir devido à complexidade das amostras investigadas nesse trabalho.

Os resultados obtidos para a T_{vap} indicaram um aumento nos valores de A_{int} com o aumento da temperatura, até atingir um máximo em 1700 °C. Entretanto, nessa temperatura o tempo de integração necessário para o sinal retornar à linha base era de aproximadamente 15 segundos. Como o tempo de integração diminuía com o aumento da temperatura, a condição de 2000 °C foi escolhida por resultar em um sinal mais simétrico para o SiS, reduzir o tempo de análise e aumentar a vida útil do tubo. O perfil do sinal analítico do SiS, obtido nas condições adotadas, é apresentado na Figura 10.

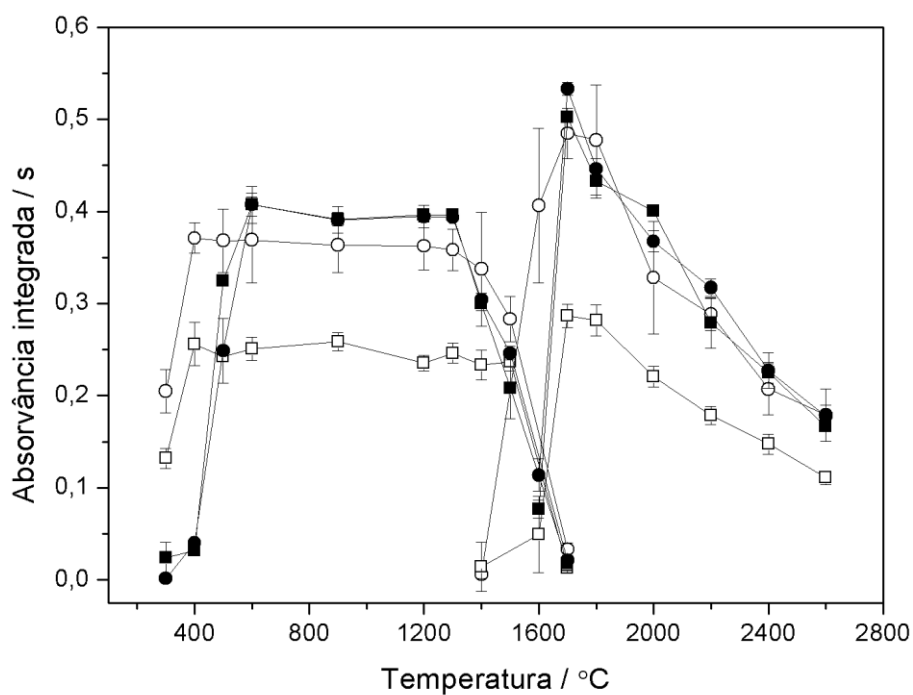


Figura 10. Curvas de temperaturas de pirólise e vaporização para o SiS, avaliando 1 μg de enxofre a partir de: Na_2SO_4 (■), tiourea (●), CRM *wheat flour* (□) e CRM *lake sediment* (○). 400 μg de Zr como modificador permanente e 20 μg de Si em meio básico como reagente formador de molécula. $T_{\text{vap}} = 2000\text{ }^\circ\text{C}$ e $T_{\text{pir}} = 1200\text{ }^\circ\text{C}$, empregadas durante as otimizações de T_{pir} e T_{vap} , respectivamente. Barras de erro correspondem ao desvio padrão ($n=5$).

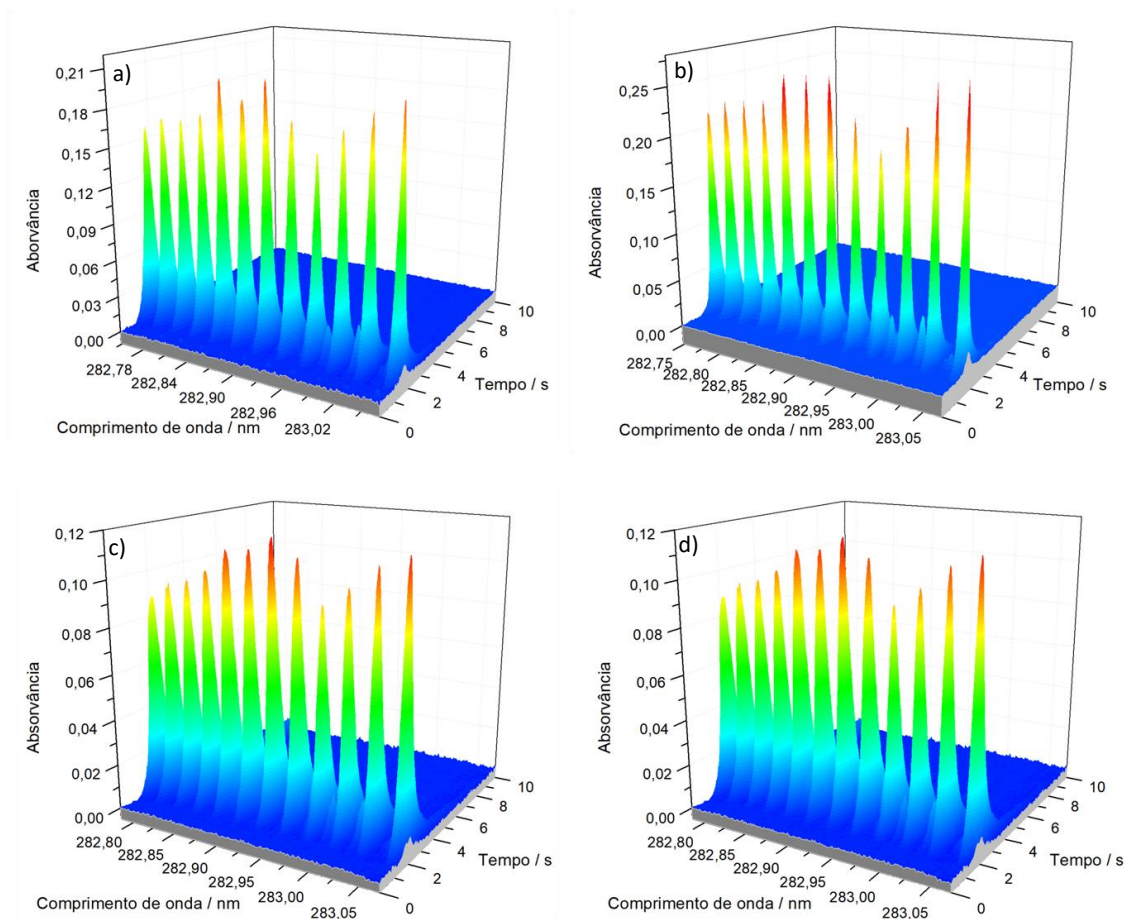


Figura 11. Espectro de absorvância resolvido no tempo para a molécula diatômica de SiS, avaliando 1 µg de enxofre partindo de: a) Na₂SO₄; b) tiourea; c) CRM *Lake sediment* e d) CRM *Wheat flour*, mostrando todos os sinais analíticos do SiS entre 282,748 nm e 283,072 nm. Empregando 400 µg Zr, 20 µg Si, T_{pir} = 1200 °C e T_{vap} = 2000 °C.

4.1.6 Estudo de massa de amostra

Para avaliar a correlação entre a massa de amostra introduzida no forno de grafite e os valores de A_{int} obtidos para o SiS, foram realizadas medidas empregando os CRM *lake sediment* e *wheat flour*. Diferentes massas desses CRM foram pesadas diretamente na plataforma recoberta com 400 µg de Zr na presença de 20 µg de Si em meio básico. Como apresentado na Figura 11, o CRM *lake sediment* apresentou boa correlação ($R = 0,9978$) para massas entre 0,03 e 0,4 mg, para massas maiores era observado perda de linearidade devido à efeitos de matriz e à grande quantidade de S. Para o CRM *wheat flour*, que apresenta menor teor de S, foram avaliadas massas entre 0,10 e 1,2 mg, no entanto, era observado efeito de matriz quando massas maiores que

1,0 mg eram analisadas. Considerando o intervalo de massa de 0,10 a 1,0 mg foi obtida uma boa correlação ($R = 0,9972$).

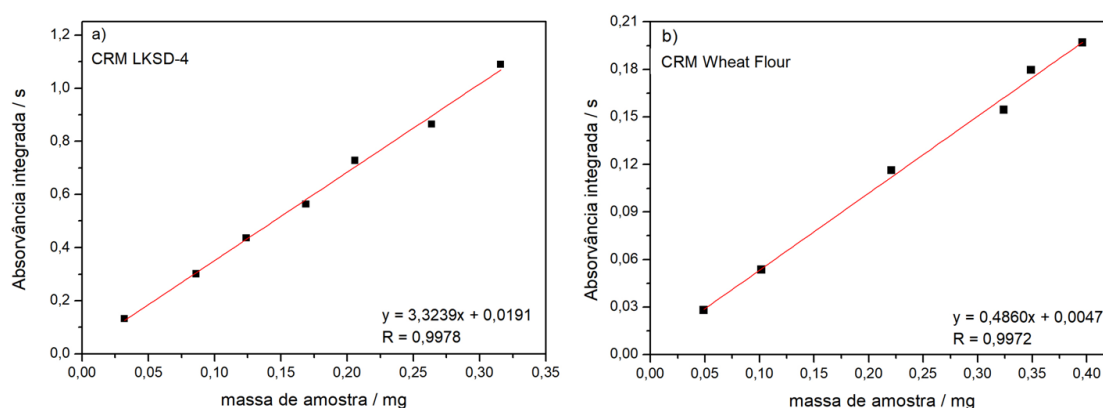


Figura 12. Estudo de massa de amostra para determinação de enxofre via molécula diatômica de SiS através da técnica de HR-CS GF MAS. a) CRM LKSD-4 b) CRM *Wheat Flour*.

4.1.7 Parâmetros de mérito

Após realizar as otimizações, foram construídas curvas de calibração para obter os parâmetros de mérito e realizar a quantificação de enxofre nas amostras. Para isso foram empregadas seis soluções padrão diferentes de enxofre em meio aquoso (Na_2S , Na_2SO_4 , BeSO_4 , tiourea, ácido sulfâmico e L-cisteína) com massas na faixa de 0,1 – 2,5 μg . Esses resultados estão apresentados na Tabela 7. As m_0 obtidas para as seis fontes de enxofre foram comparadas por meio do teste ANOVA e podem ser consideradas estatisticamente iguais a um nível de confiança de 95% ($F_{\text{cal}} = 3,28 < F_{\text{tab}} = 3,48$). Isso mostra que a formação da molécula de SiS é independente da forma química em que o enxofre se encontra, diferentemente do que é reportado na literatura para a molécula de CS.

Até o momento, esse é o único trabalho reportando o uso da molécula de SiS para a determinação quantitativa de enxofre. Huang *et al.*²⁰ avaliaram a possibilidade de usar o SiS para determinar enxofre, no entanto, os autores não apresentaram nenhum procedimento de otimização nem resultados obtidos para amostras. Além disso, reportaram uma $m_0 = 15,7$ ng para o SiS, maior que as encontradas nesse trabalho, 9,8-

10,5 ng (Tabela 7). Como não há outros trabalhos na literatura para o SiS, a m_0 obtida nesse trabalho (3 pixels em 282,910 nm) foi comparada com as reportadas na literatura para o CS (3 pixels em 258,056 nm), molécula comumente usada na determinação de enxofre. Heitmann *et al.*⁶⁹ e Kowalewska⁶⁰ empregaram a molécula de CS para determinar enxofre em amostras biológicas e produtos de petróleo, respectivamente, e ambos obtiveram a m_0 de 12 ng. Vieira *et al.*⁷³ determinou enxofre em diferentes CRM usando a molécula de CS e reportou a m_0 de 11 ng. Esses resultados confirmam que a m_0 obtida nesse trabalho é similar, ou melhor, que as reportadas para o CS, o que mostra que a molécula de SiS é uma excelente alternativa para a determinação de enxofre.

Tabela 7. Parâmetros de mérito para os seis padrões de enxofre obtidos usando a linha de 282,910 nm do SiS e 3 pixels via HR-CS GF MAS.

Fonte de enxofre	Regressão linear	R	m_0 /ng	LD*/ng mg ⁻¹	LQ*/ng mg ⁻¹
Na ₂ SO ₄	$A_{\text{int}} = 0,404m + 0,009$	0,9997	10	10	33
Tioureia	$A_{\text{int}} = 0,459m + 0,006$	0,9951	9,8	8,8	30
L-cisteína	$A_{\text{int}} = 0,436m + 0,008$	0,9953	10	9,3	31
BeSO ₄	$A_{\text{int}} = 0,406m + 0,013$	0,9972	10	10	33
Ácido sulfâmico	$A_{\text{int}} = 0,413m + 0,012$	0,9929	10	9,8	33
Na ₂ S	$A_{\text{int}} = 0,464m + 0,008$	0,9966	9,8	8,8	29

*LD e LQ calculados para a massa de 1 mg de amostra.

Com o objetivo de aumentar a sensibilidade e a faixa de trabalho do método, foi avaliada a possibilidade de usar a soma dos valores de A_{int} de dez linhas analíticas vizinhas a de 282,910 nm (dentro da janela espectral de $282,910 \pm 0,162$ nm), resultando em um total de 30 *pixels* (3 *pixels* para cada linha). Nessas condições, foram realizadas novas curvas de calibração com massas de enxofre variando na faixa de 0,01-0,20 µg e empregando os padrões de Na₂SO₄ e tioureia. Os parâmetros de mérito obtidos (Tabela 8) foram comparados com os descritos na Tabela 7 (obtidos usando a linha de 282,910 nm e 3 *pixels*). A sensibilidade (inclinação da curva de calibração) aumentou dez vezes enquanto a m_0 diminuiu na mesma proporção, uma vez que as dez linhas analíticas investigadas apresentaram A_{int} e perfis semelhantes. Entretanto, o mesmo não foi observado para os valores do LD e LQ, que foram apenas quatro vezes

menores usando 30 *pixels*. Esse comportamento pode ser justificado considerando o aumento do ruído quando se avaliam 30 *pixels*. Dessa forma, é possível determinar massas de enxofre na faixa de 0,01 – 2,5 µg. Essa estratégia de empregar múltiplas linhas analíticas para calibração não é novidade. Heitmann *et al.*⁶⁹ e Resano *et al.*⁷² utilizaram a soma de cinco e seis linhas, respectivamente, do espectro de absorção do CS na determinação de S através da técnica de GF-HR-CS MAS. Como resultado, os autores conseguiram reduzir os LD em duas e três vezes, respectivamente, e Resano *et al.*⁷² reportou uma redução de quase cinco vezes na massa característica.

Tabela 8. Parâmetros de mérito para duas fontes de enxofre diferentes, obtidos usando dez linhas analíticas do SiS vizinhas ao 282,910 nm, totalizando 30 *pixels* (via HR-CS GF MAS).

Fonte de S	Regressão linear	R	m ₀ /ng	LD*/ng mg ⁻¹	LQ*/ng mg ⁻¹
Na ₂ SO ₄	A _{int} = 4,35m+0,007	0,9965	1,01	2,62	8,75
Tiourea	A _{int} = 4,50m+0,009	0,9995	0,98	2,53	8,44

*LD e LQ calculados para a massa de 1 mg de amostra.

4.1.8 Análise de CRM

Para avaliar a exatidão do método desenvolvido, foram analisados nove CRM que apresentam matrizes distintas, listados a seguir: *bovine liver* NIST 1577b, *bovine muscle* NIST 8414, *non-fat milk powder* NIST 1549, *wheat flour* NIST 1567a, *rice flour* NIST 1568a, *citrus leaves* NIST 1572, *tea* NACIS DC 73014, *lake sediments* CCRMP LKSD-4 e *stream sediment* CCRMP STSD-3. Para avaliar se os valores encontrados nesse trabalho foram concordantes com o reportado no certificado de concentrações, foram empregados os testes F, t-Student e t de Welch. Inicialmente, foi realizado o teste F para comparação das variâncias reportadas nos certificados com as variâncias calculadas nesse trabalho. A partir disso, foi empregado o teste t-Student quando as variâncias comparadas eram estatisticamente iguais e teste-t de Welch quando as variâncias comparadas eram estatisticamente diferentes⁹¹.

Como está apresentado na Tabela 9, as concentrações de enxofre determinadas nos nove CRM empregando a molécula de SiS foram concordantes com os valores certificados, a um nível de confiança de 95%, com base nos testes t-Student e t de

Welch. A precisão do método foi estimada pelo RSD obtido para todas as medidas, que foram sempre abaixo de 10%, que de acordo com Kurfürst⁸⁶ e Welz *et al.*³¹ é adequado para análises de amostras sólidas.

Tabela 9. Determinação de enxofre em nove CRM via molécula de SiS por HR-CS GF MAS e análise direta de amostras sólidas. Usando 400 µg Zr, 20 µg Si, $T_{\text{pir}} = 1200 \text{ }^{\circ}\text{C}$ $T_{\text{vap}} = 2000 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $n = 5$ e $t_{\text{crítico}} = 2,78$.

CRM	Valor certificado/% m m ⁻¹	Valor encontrado/% m m ⁻¹	$t_{\text{calculado}}$
<i>Lake Sediment</i> (LKSD-4)	0,990 ± 0,091	0,964 ± 0,111	0,63
<i>Stream Sediment</i> (STSD-3)	0,140 ± 0,040	0,142 ± 0,005	0,47
<i>Tea</i> (NCSZC 73014)	0,300 ± 0,030	0,299 ± 0,026	0,14
<i>Citrus Leaves</i> (NIST 1572)	0,407 ± 0,009	0,413 ± 0,038	0,43
<i>Bovine muscle</i> (NIST 8414)	0,795 ± 0,041	0,788 ± 0,064	0,31
<i>Bovine liver</i> (NIST 1577b)	0,785 ± 0,006	0,777 ± 0,084	0,27
<i>Wheat flour</i> (NIST 1567a)	0,165 ± 0,002	0,162 ± 0,005	1,92
<i>Rice flour</i> (NIST 1568a)	0,120 ± 0,002	0,123 ± 0,006	1,38
<i>Non Fat Milk Powder</i> (NIST 1549)	0,351 ± 0,005	0,367 ± 0,032	1,43

5. Sugestões e Etapas futuras

Esse trabalho teve como objetivo principal desenvolver pela primeira vez um método para a determinação de enxofre empregando a molécula diatômica de SiS. Para isso, foram realizados diversos estudos para otimizar as condições de formação dessa molécula.

Entretanto, devido à inexistência de trabalhos na literatura reportando o comportamento dessa molécula e seu emprego para fins analíticos, seria de grande interesse abordar com mais profundidade alguns resultados obtidos, realizando estudos adicionais. Abaixo estão listadas algumas sugestões de etapas futuras que podem ser realizadas:

- i) Nesse trabalho, foi investigada a interferência do F na formação do SiS. Um estudo complementar importante seria avaliar potenciais interferentes na formação do SiS e a extensão dessas interferências. Alguns exemplos são Sn, Pb, C, Ge, que podem competir com o Si pelo enxofre formando moléculas de SnS, PbS, CS e GeS que já foram reportadas na literatura para determinação de enxofre;
- ii) Investigar o comportamento distinto observado para os CRM e os padrões quando massas de Si maiores que 25 µg foram empregadas (sessão 4.1.3). É importante destacar que isso não interfere nos resultados obtidos, visto que a condição ótima escolhida de 20 µg não se encontra nessa faixa.
- iii) Investigar o comportamento térmico da molécula de SiS para compreender melhor a sua formação. Os estudos realizados nesse trabalho indicaram que a formação dessa molécula ocorre na fase vapor e pode ser bastante sensível a alterações de temperatura ou tempo de permanência nas etapas de secagem e pirólise.
- iv) Avaliar a possibilidade de estender o método desenvolvido para outras matrizes, além das investigadas nesse trabalho. Os combustíveis são um exemplo, por ser de grande relevância à quantificação de enxofre nessas amostras.

6. Considerações finais

O método analítico desenvolvido mostrou que a molécula de SiS é uma excelente alternativa para a determinação de enxofre via HR-CS GF MAS e análise direta de sólidos. O sinal analítico do SiS não apresentou variação significativa para as seis fontes de enxofre investigadas (Na_2SO_4 , BeSO_4 , Na_2S , tioureia, L-cisteína e ácido sulfâmico), segundo teste ANOVA realizado, o que também demonstra que a formação da molécula é independente da forma química do enxofre.

A otimização das condições experimentais de análise se mostrou essencial para garantir a formação da molécula de SiS e o sucesso do método desenvolvido, principalmente a utilização de 400 μg de Zr (como modificador químico) e 20 μg de Si em meio básico (como agente formador da molécula).

Os estudos realizados empregando soluções de Si em meio de HNO_3 e HF indicaram que a presença do F pode ser um interferente na formação da molécula de SiS. Isso foi confirmado por meio de um estudo investigando a influência de diferentes massas de F no sinal analítico do SiS. Dessa forma, a análise de amostras com F em sua composição pode ser problemática, necessitando otimização principalmente das quantidades de agente formador e modificador químico.

As características únicas da HR-CS GF MAS permitem a visualização da vizinhança da linha analítica e possibilitaram realizar a soma dos valores de A_{int} de dez linhas analíticas vizinhas a de 282,910 nm (dentro da janela espectral de $282,910 \pm 0,162$ nm), aumentando a sensibilidade do método, diminuindo o LD e ampliando a faixa de trabalho (0,008-2,5 μg).

Por meio da molécula de SiS, foi realizada a quantificação de enxofre em nove CRM com matrizes distintas (sedimentos, plantas e alimentos), e os valores encontrados em todas as análises foram concordantes com os valores certificados, apresentando RSD < 10%. Dessa forma, esse método pode ser considerado simples, versátil e confiável para a determinação de enxofre em diferentes matrizes (com composição similar às exploradas nesse trabalho).

7. Referências

1. Kuklińska, K.; Wolska, L.; Namieśnik, J.; Cieszynska, M.; Wolska, L. Analytical and bioanalytical problems associated with the toxicity of elemental sulfur in the environment. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2013**, 48, 14.
2. Raab, A.; Feldmann, J. Biological sulphur-containing compounds – Analytical challenges. *Anal. Chim. Acta.* **2019**, 1079, 20.
3. Scott, K.A.; Njardarson, J.T. Analysis of US FDA-Approved Drugs Containing Sulfur Atoms. *Top. Curr. Chem.* **2018**, 376, 1.
4. Lück, E.; Jager, M. *Antimicrobial Food Additives: Characteristics, Uses, Effects*. 2nd ed. springer-verlag; 1995.
5. Manaham S. *Química Ambiental*. Bookman; 2013.
6. ANP.- Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (Brasil) *Resolução Anp N° 764, 2018*.
7. Council of the European Union, in: Commission regulation (EU) N° 1129/2011 of 11 November 2011 Amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by Establishing a Union List of Food Additives, 2011, 1129/2011.
8. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC N° 5 de 2013. D.O.U - Diário Oficial da união, 2013.
9. Resano, M.; Aramendía, M. Belarra, M.A. High-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for direct analysis of solid samples and complex materials: A tutorial review. *J. Anal. At. Spectrom.* 2014, 29, 2229.
10. Welz, B.; Vale, M.G.R.; Borges, D.L.G.; Heitmann, U. Progress in direct solid sampling analysis using line source and high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, 389, 2085.

11. Vale, M.G.R.; Oleszczuk, N., dos Santos W.N.L. Current status of direct solid sampling for electrothermal atomic absorption spectrometry - A critical review of the development between 1995 and 2005. *Appl. Spectrosc. Rev.* 2006, 41, 377.
12. ASTM - American Society for Testing Materials. *ASTM D7679: Standard Test Method for Sulfur Content in Carbon Black Feedstock Oils*. ASTM International. 2013.
13. ASTM - American Society for Testing Materials. *ASTM D5453: Standard Test Method for Determination of Total Sulfur in Light Hydrocarbons , Spark Ignition Engine Fuel , Diesel Engine Fuel , and Engine Oil by Ultraviolet Fluorescence*. ASTM International. **2012**.
14. Avino, P.; Capannesi, G.; Renzi, L.; Rosada, A. Instrumental neutron activation analysis and statistical approach for determining baseline values of essential and toxic elements in hairs of high school students. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2013**, 92, 206.
15. ASTM. - American Society for Testing Materials. *ASTM D4294: Standard Test Method for Sulfur in Petroleum and Petroleum Products by Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometry*. ASTM International. 2010.
16. Limbeck, A.; Galler, P.; Bonta, M.; Bauer, G.; Nischkauer, W.; Vanhaecke, F. Recent advances in quantitative LA-ICP-MS analysis: Challenges and solutions in the life sciences and environmental chemistry ABC Highlights: Authored by Rising Stars and Top Experts. *Anal. Bioanal. Chem.* **2015**, 407, 6593.
17. Ozbek, N.; Baysal, A. Determination of sulfur by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry: Review of studies over the last 10 years. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2017**, 88, 62.
18. Virgilio, A.; Raposo, J.L.; Cardoso, A.A.; Nóbrega, J.A.; Gomes, J.A. Determination of total sulfur in agricultural samples by high-resolution continuum source flame molecular absorption spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, 59, 2197.
19. Baumbach, G.; Limburg, T.; Einax, J.W. Quantitative determination of sulfur by high-resolution graphite furnace molecular absorption spectrometry. *Microchem. J.* **2013**;106:295.
20. Huang, M.D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Abad, C.; Okruss, M. Investigation

of high-resolution absorption spectra of diatomic sulfides of group 14 elements in graphite furnace and the comparison of their performance for sulfur determination. *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* **2017**, 135, 15.

21. Brimblecombe, P. *Biogeochemical Cycles: Sulfur Cycle*. 2nd Ed. Elsevier, Londres, Reino Unido. **2015**.

22. Tjabadi, E.; Mketi, N. Recent developments for spectrometric, chromatographic and electroanalytical determination of the total sulphur and halogens in various matrices. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2019**, 118, 207.

23. Norwitz, G.; Gordon, H. Spectrophotometric and gravimetric determination of sulfur in sebacate-base lubricants. *Anal. chim. acta.* **1975**, 77, 239.

24. Vahl, J.M.; Converse, J.E. Ripper procedure for determining sulfur dioxide in wine: collaborative study. *J. Assoc. Off Anal. Chem.* **1980**, 63, 194.

25. Rankine, B.C.; Pocock, K.F. Alkalimetric determination of sulphur dioxide in wine. *Aust Wine, Brew. Spirit Rev.* **1970**, 88, 40.

26. Chesnin, L.; Yien, C.H. Turbidimetric Determination of Available Sulfates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1951**, 15, 149.

27. Amais, R.S.; Donati, G.L.; Nobrega, J.A. Sulfur determination in fuels by ICP OES and ICP-MS to meet increasingly stricter legislation requirements. *Spectroscopy.* **2014**, 24.

28. Yu, L.L.; Kelly, W.R.; Fassett, J.D.; Vocke, R.D. Determination of sulfur in fossil fuels by isotope dilution electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **2001**, 16, 140.

29. Nunes, T.S.; Muller, C.C.; Balestrin, P. Determination of chlorine and sulfur in high purity flexible graphite using ion chromatography (IC) and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) after pyrohydrolysis sample preparation. *Anal. Methods.* **2015**, 7, 2129.

30. Zhong, Z.; Li, G.; Zhu, B.; Luo, Z.; Huang, L.; Wu, X. A rapid distillation method coupled with ion chromatography for the determination of total sulphur dioxide in foods. *Food Chem.* **2012**, 131, 1044.

31. Welz, B.; Sperling, M. *Atomic Absorption Spectrometry*. Wiley-VCH, Weinheim, 1999.
32. Koirtyoarm, S.R. A History of Atomic Absorption Spectrometry. *Anal. Chem.* **1991**, 63, 1024.
33. Walsh, A. The application of atomic absorption spectra to chemical analysis. *Spectrochim. Acta.* **1955**, 7, 108.
34. Welz, B.; Vale, M.G.R.; Pereira, É.R.; Castilho, I.N.B.; Dessuy, M.B. Continuum source atomic absorption spectrometry: Past, present and future aspects-a critical review. *J. Braz. Chem. Soc.* **2014**, 25, 799.
35. Iams, H.; Salzberg, B. The secondary phototube. *proc IRE.* **1935**, 23, 55.
36. L'vov, B.V. The analytical use of atomic absorption spectra. *Spectrochim Acta - Part B At. Spectrosc.* **1961**, 17, 761.
37. Massmann, H. Vergleich von Atomabsorption und Atomfluoreszenz in der Graphitküvette. *Spectrochim. Acta.* **1968**, 23, 215.
38. Slavin, W.; Manning DC, Carnock GR. The stabilized temperature platform furnace. *At. Spectrosc.* **1981**, 2, 137.
39. Skoog, D.A.; West, D.M.; Holler, F.J., Couch SR. *Fundamentos de Química Analítica*. 8th ed. Cengage Learning; 2013.
40. Hieftje, G.M. Atomic absorption spectrometry – Has it gone or where is it going? *J. Anal. At. Spectrom.* **1989**, 4, 117.
41. Welz, B.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; High-Resolution Continuum Source AAS, Wiley-VCH: Weinheim, 2005.
42. Becker-Ross,H.; Florek, S.; Tischendorf, R.; Schmecher, G.R. Flashlamp continuum AAS: time resolved spectra. *J. Anal. At. Spectrom.* **1995**, 10, 61.
43. Welz, B.; Lepri, F.G.; Araujo, R.G.O. Determination of phosphorus, sulfur and the halogens using high-temperature molecular absorption spectrometry in flames and furnaces - a review. *Anal. Chim. Acta.* **2009**, 647, 137.

44. Butcher, D.J. Molecular absorption spectrometry in flames and furnaces: A review. *Anal. Chim. Acta.* **2013**, 804, 1.
45. Struve, W.S. *Fundamentals of Molecular Spectroscopy*. John Wiley e sons: New York, 1989.
46. L'vov, B.V. *Absorption Spectrochemical Analysis*. Adam Hilger; 1970.
47. Dittrich, K.; Vorberg, B. Molekülabsorptionsspektrometrie bei elektrothermischer verdampfung in einer graphitrohrküvette : Teil 8. Untersuchung der GeS-Molekülabsorption und Bestimmung von S-Species durch Lichtabsorption von GeS-Molekülen. *Anal. Chim. Acta.* **1983**, 152, 149.
48. Parvinen, P.; Lajunen, L.H.J. Determiation of sulphur by tin, aluminium and indium monosulphide molecular absorption spectrometry using sharp line irradiation sources. *Anal. Chim. Acta.* **1994**, 295, 205.
49. Tittarelli, P.; Lavorato, G. Determiation of sulphur in fuel oils by absorption spectrometry of electrothermally generated carbon sulphide molecules. *Anal. Chim. Acta.* **1987**, 201, 59.
50. Oliveira, M.L; Brandao, G.C.; Andrade, J.B.; Ferreira, S.L.C. Determiation of free and total sulfur(IV) compounds in coconut water using high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry in gas phase. *Talanta.* **2018**, 179, 810.
51. Huang, M.D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; Okruss, M. Direct determination of total sulfur in wine using a continuum-source atomic-absorption spectrometer and an air-acetylene flame. *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, 382, 1877-1881.
52. Barrow, R.F.; Jevons, W. The band spectrum of silicon monosulphide and its relation to the band spectra of similar molecules. *Proc. R. Soc. London Ser A Math Phys Sci.* **1938**, 169, 45.
53. Huang, M.D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; Okruss, M.; Patz C.D. Determiation of sulfur forms in wine including free and total sulfur dioxide based on molecular absorption of carbon monosulfide in the air-acetylene flame. *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, 390, 361.
54. Ozbek, N.; Baysal, A. A new approach for the determination of sulphur in food

samples by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometer. *Food Chem.* **2015**, 168, 460.

55. Ozbek, N. Akman, S. Determination of total sulfur concentrations in different types of vinegars using high resolution flame molecular absorption spectrometry. *Food Chem.* **2016**, 213, 529.

56. Vieira, A.L.; Gonçalves, D.A.; Virgilio, A. Multi-energy calibration for the determination of non-metals by high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **2019**, 34, 972.

57. Bechlin, M.A.; Gomes, J.A.; Nóbrega, J.A. Evaluation of lines of boron, phosphorus and sulfur by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry for plant analysis. *Microchem. J.* **2013**, 109, 134.

58. Andrade-Carpente, E.; Peña-Vázquez, E.; Bermejo-Barrera, P. Determination of sulfur in bovine serum albumin and L-cysteine using high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry of the CS molecule. *Spectrochim Acta - Part B At. Spectrosc.* **2016**, 122, 188.

59. Huang, M.D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; Okrus, M. Determination of sulfur by molecular absorption of carbon monosulfide using a high-resolution continuum source absorption spectrometer and an air-acetylene flame. *Spectrochim Acta - Part B At. Spectrosc.* **2006**, 61, 181.

60. Kowalewska, Z. Feasibility of high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry in flame and furnace for sulphur determination in petroleum products. *Spectrochim Acta - Part B At. Spectrosc.* **2011**, 66, 546.

61. Zambrzycka, E.; Godlewska-Zytkiewicz, B. Determination of sulfur in food by high resolution continuum source flame molecular absorption spectrometry. *Spectrochim Acta - Part B At. Spectrosc.* **2014**, 101, 234.

62. Baysal, A.; Akman, S. A practical method for the determination of sulphur in coal samples by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry. *Talanta.* **2011**, 85, 2662.

63. Marrocos, V.C.P.; Gonçalves, R.A.; Lepri, F.G.; Saint’Pierre, T.D. Chemical

modification for sulfur determination in human hair by high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry. *Spectrochim Acta - Part B At. Spectrosc.* **2020**, 174.

64. Arslan, Y.; Broekaert, J.A.C; Kula, I. Determination of sulfur in grape and apricot samples using high-resolution continuum source electrothermal molecular absorption spectrometry. *Anal. Sci.* **2018**, 34, 831.

65. Gunduz, S.; Akman, S. Determination of sulphur in various vegetables by solid sampling high-resolution electrothermal molecular absorption spectrometry. *Food Chem.* **2015**, 172, 213.

66. Gunduz, S.; Akman, S. Sulfur determination in some nuts and dried fruits sold in Turkey by high resolution graphite furnace molecular absorption spectrometry. *LWT - Food Sci. Technol.* **2014**, 59, 718.

67. Ozbek, N.; Baysal, A. A new approach for the determination of sulphur in airborne particles by HR-CS ETAAS. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2016**, 96, 505.

68. Ferreira, H.S.; Lepri, F.G.; Welz, B.; Carasek, E.; Huang, M.D. Determination of sulfur in biological samples using high-resolution molecular absorption spectrometry in a graphite furnace with direct solid sampling. *J. Anal. At. Spectrom.* 2010, 25, 1039.

69. Heitmann, U.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Huang, M.D.; Okruss, M. Determination of non-metals via molecular absorption using high-resolution continuum source absorption spectrometry and graphite furnace atomization. *J. Anal. At. Spectrom.* **2006**, 21, 1314.

70. Nakadi, F.V.; Carcinoni, A.L.; Veiga M.M.S. Determination of sulfur in diesel via CS molecule by high-resolution molecular absorption spectrometry applying palladium nanoparticles as chemical modifier. *J. Anal. At. Spectrom.* **2014**, 29, 1871.

71. Pereira, É.R.; Welz, B.; Vieira, A.A. A systematic look at the carbon monosulfide molecule and chemical modifiers for the determination of sulfur by HR-CS GF MAS. *J. Anal. At. Spectrom.* **2018**, 33, 1394.

72. Resano, M.; Flórez, M.R. Direct determination of sulfur in solid samples by means of high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption

spectrometry using palladium nanoparticles as chemical modifier. *J. Anal. At. Spectrom.* **2012**, 27, 401.

73. Vieira, A.A.; Pereira, É.R.; Carasek, E.; Welz, B. The use of Ca + Pd + Zr as modifiers in the determination of sulfur by HR-CS GF MAS with solid sampling. *J. Anal. At. Spectrom.* **2019**, 34, 498.

74. Ozbek, N.; Akman, S. Determination of total sulfur in food samples by solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, 61, 4816.

75. Almeida, J.S.; Meira, L.A.; Teixeira, L.S.G. Indirect determination of cysteine in pharmaceutical formulations by high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry. *Microchem. J.* **2018**, 143, 155.

76. Camera, A.S.; Arcênio, P.P.; Filho O.P.; Maranhão A.T.; Oliveira, F.J.S.; Frescura, V.L.A. Method development and validation for sulfur determination via CS molecule in petroleum green coke by high resolution continuum source molecular absorption spectrometry. *Microchem. J.* **2017**, 134, 301.

77. Huber, C.S.; Vale, M.G.R.; Welz, B.; Andrade, J.B.; Dessuy, M.B. Investigation of chemical modifiers for sulfur determination in diesel fuel samples by high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry using direct analysis. *Spectrochim Acta - Part B At. Spectrosc.* **2015**, 108, 68.

78. Nakadi, F.V.; Rosa, L.R.; Veiga M.M.S. Determination of sulfur in coal and ash slurry by high-resolution continuum source electrothermal molecular absorption spectrometry. *Spectrochim Acta - Part B At. Spectrosc.* **2013**, 88, 80.

79. Ozbek, N.; Baysal, A. Determination of sulfur in human hair using high resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry and its correlation with total protein and albumin. *Spectrochim Acta - Part B At. Spectrosc.* **2017**, 130, 17.

80. Passos, A.S.; Dessuy, M.B.; Nakadi, F.V.; Andrade, J.B.; Vale, M.G.R. Investigation of different chemical modifiers based on the Pd/Mg mixture for the determination of sulfur in shale oil by high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry. *Talanta.* **2019**, 204, 206.

81. Mior, R.; Moreś, S.; Welz, B.; Carasek, E.; Andrade, J.B. Determination of sulfur in coal using direct solid sampling and high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry of the CS molecule in a graphite furnace. *Talanta*. **2013**, 106, 368.
82. Baumbach, G.; Einax, J.W. Determination of sulfur in coal by solid sampling graphite furnace high-resolution molecular absorption spectrometry. *Microchem. J.* **2014**, 117, 89.
83. Abad, C.; Florek, S.; Becker-Ross, H. Shake, shut, and go – A fast screening of sulfur in heavy crude oils by high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry via GeS molecule detection. *Spectrochim Acta - Part B At. Spectrosc.* **2019**, 160, 105671.
84. Cadornim, H.R.; Pereira, É.R.; Carasek, E.; Welz, B.; Andrade, J.B. Determination of sulfur in crude oil using high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry of the SnS molecule in a graphite furnace. *Talanta*. **2016**, 146, 203.
85. Boschetti, W.; Dalagnol, L.M.G.; Dullius, M.; Zmozinski, A.V.; Becker, E.M.; Vale, M.G. R.; Andrade, J.B. Determination of silicon in plant materials using direct solid sample analysis with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Microchem. J.* **2016**, 124, 380.
86. Kurfürst, U. *Solid Sample Analysis: Direct and Slurry Sampling Using GFAAS and ETV-ICP*. Springer; 1998.
87. Steinert, M.; Acker, J.; Henßge, A.; Wetzig, K. Experimental Studies on the Mechanism of Wet Chemical Etching of Silicon in HF/HNO₃ Mixtures. *J. Electrochem. Soc.* **2005**, 152, 843.
88. Rich, R. *Inorganic Reactions in Water*, 1st ed, springer, 2007.
89. Preedy, V.R. *Fluorine: Chemistry, Analysis, Function and Effects*. Royal Society of Chemistry; 2015.
90. Bücken, S.; Acker, J. Spectrometric analysis of process etching solutions of the photovoltaic industry - Determination of HNO₃, HF, and H₂SiF₆ using high-resolution

continuum source absorption spectrometry of diatomic molecules and atoms. *Talanta*. **2012**, 94, 335.

91. Ruxton, G.D. The unequal variance t-test is an underused alternative to Student's ttest and the Mann–Whitney U test. *Behav. Ecol.* **2006**, 17, 668.