



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



Maisa Cristina Lázaro

**Avaliação de estratégias para melhoria da sensibilidade em análises por
espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser**

**Araraquara - SP
2017**

MAISA CRISTINA LÁZARO

Avaliação de estratégias para melhoria da sensibilidade em análises por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof. Dra. Edilene Cristina Ferreira

**Araraquara - SP
2017**

FICHA CATALOGRÁFICA

L431a Lázaro, Maisa Cristina
Avaliação de estratégias para melhoria da sensibilidade em análises por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser / Maisa Cristina Lázaro. – Araraquara : [s.n.], 2017
68 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Edilene Cristina Ferreira

1. Espectroscopia de emissão com plasma induzido por laser.
2. Detecção de sinais. 3. Preparo de amostras (Química).
4. Temperatura. 5. Aquecimento. I. Título.

MAISA CRISTINA LÁZARO

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Química.

Araraquara, 09 de agosto de 2017.

BANCA EXAMINADORA



Prof^a Dr^a Edilene Cristina Ferreira (Orientadora)
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Prof^a Dr^a Raquel Fernandes Pupo Nogueira
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Prof. Dr. Marcos Yassuo Kamogawa
Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz / USP / Piracicaba - SP

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Data de nascimento: 03 de novembro de 1991

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: Tabatinga – SP

Filiação: Nilcéia Ferreira da Cruz Lázaro

Vanderlei Aparecido Lázaro

Nome em Citações Bibliográficas: Lázaro, M. C.

FORMAÇÃO ACADÊMICA

Graduação: Bacharelado em Química Tecnológica. Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Araraquara – SP.

Período: 03/2011 – 06/2015

Estágio Supervisionado: LIFE INDÚSTRIA E COMÉRCIO DE SUCOS LTDA-ME, 240 horas, 2015.

Participação em Eventos Científicos

LÁZARO, M. C.; MORAIS, C. P.; SANTOS JUNIOR, D.; GOMES NETO, J. A.; FERREIRA, E. C. Pré-aquecimento como estratégia para aumentar a sensibilidade em análises por LIBS. 18º Encontro Nacional de Química Analítica, 2016, Florianópolis - SC.

LÁZARO, M. C.; CATELANI, T.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L. Desenvolvimento de metodologia analítica limpa acoplada à sistemas multibombas para a determinação de sulfonamidas em águas. Segunda fase do XXV Congresso de Iniciação Científica da Unesp, 2014, Águas de Lindóia-SP.

LÁZARO, M. C.; CATELANI, T.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L. Desenvolvimento de metodologia analítica limpa acoplada à sistemas multibombas para a determinação de sulfonamidas em águas. Primeira fase do XXV Congresso de Iniciação Científica da Unesp, 2014, Araraquara-SP.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pela minha família e por todas as bênçãos concedidas.

Aos meus pais, Vanderlei Aparecido Lázaro e Nilcéia Ferreira da Cruz Lázaro, por serem minha base, meu porto seguro. Obrigada pelo apoio e amor incondicional em todos os momentos.

Ao meu namorado, Felipe, por sempre acreditar em mim, pela força, carinho e companheirismo. Obrigada por sempre tentar me fazer enxergar as coisas da melhor maneira possível.

A toda minha família, por compartilharem todos os momentos, pelo carinho e apoio de sempre.

A professora Edilene pela excelente orientação de mestrado. Obrigada por estar sempre disposta a ajudar e por fazer das nossas as suas preocupações, pelos ensinamentos, pela paciência, carinho e dedicação.

A todo grupo de Espectroanalítica e Automação (Gea) pelo acolhimento, por serem tão queridos, prestativos e acima de tudo carinhosos. Aos amigos que fiz, professor José Anchieta, Alan, Tiago, Felipe, Marcos, Diêgo, Thália, Samia, Carla e Ariane.

As minhas amigas Milena e a Camila, por terem aparecido na minha vida no momento certo e terem se tornado as melhores companheiras de casa e de vida que eu poderia ter nesses dois anos.

Aos meus amigos Jackeline, Jéssica R., Lucas, Aninha, Vanessa, Ash, Natália, Jéssica S., Lais, Vagner e a todos os meus queridos amigos, que estão sempre ao meu lado, que torcem por mim e me apoiam em cada etapa da vida.

Ao Instituto de Química da UNESP, pela infraestrutura e por ter me proporcionado experiências únicas e enriquecedoras.

Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida.

RESUMO

A espectrometria de emissão óptica em plasma induzido por laser (LIBS) é uma técnica que vem se desenvolvendo cada vez mais para determinações analíticas multielementares, com aplicações em diversas áreas. Possui várias vantagens, como por exemplo, ser uma técnica de análise rápida, minimamente destrutiva e ambientalmente amigável, enquanto que a maior dificuldade está baseada na sua relativa baixa sensibilidade. Muitos estudos têm sido desenvolvidos com a finalidade de melhorar a sensibilidade, porém os aprimoramentos elaborados demandam equipamentos mais sofisticados, aumentando o custo e comprometendo a portabilidade da técnica. O presente trabalho avaliou estratégias simples para melhorar a sensibilidade das medidas em LIBS, permitindo o uso de instrumentos compactos de pulso simples. As estratégias desenvolvidas se baseiam na proposição da introdução de uma etapa simples de pré-tratamento da amostra, capaz de agir na fragilização de estruturas químicas que por consequência levem ao aumento das intensidades de emissão das espécies componentes da amostra. As etapas de pré-tratamentos buscam em sua essencialidade não descaracterizar as vantagens analíticas de LIBS, tais como a simplicidade e a não utilização de reagentes potencialmente tóxicos, além de serem aplicáveis à diversos tipos de amostras. A ação da temperatura sobre a modificação de estruturas químicas foi avaliada utilizando aquecimento em mufla para amostra de material vegetal, solo e liga metálica e em forno de micro-ondas para amostra vegetal. Os tratamentos empregados utilizando aquecimento em mufla resultaram em aumentos nas intensidades de emissão em toda região espectral para todas as amostras avaliadas; para a amostra de folha, material para o qual foram obtidos os melhores resultados, foram verificados aumentos de 47x com relação à área de pico da linha de Ca I em 612,14 nm, além do aparecimento de linhas antes não observadas, como a de Sr II em 407,82 nm. Para a amostra de liga, a área da linha de Fe I em 489,22 nm teve um aumento de 8x e para a amostra de solo, a linha de Na em 588,89 nm, por exemplo, teve seu valor de área aumentado em 4x com a aplicação do tratamento térmico. O aquecimento em micro-ondas forneceu incrementos de intensidade menos pronunciados, comparados ao aquecimento em mufla. Adicionalmente foi avaliada a introdução de fundente à amostra de solo com o intuito de melhorar processos físicos, os quais poderiam culminar em aumento dos processos de emissão dos analitos da amostra, entretanto, esta estratégia não atingiu o objetivo proposto. Por fim, o tratamento térmico em mufla foi aplicado no desenvolvimento de um método para determinação de Sr em material foliar utilizando LIBS. O método desenvolvido apresentou curva analítica linear com coeficiente de correlação igual a 0,997, limite de detecção igual a 4,23 mg kg⁻¹ e limite de quantificação igual a 14,09 mg kg⁻¹. A análise de material de referência certificado foliar pelo método proposto indicou que a concentração de Sr determinada é concordante com o valor certificado a 95% de confiança (test t pareado).

Palavras-chave: LIBS. Sensibilidade. Tratamento térmico. Preparo de amostra.

ABSTRACT

Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) is an analytical technique in development, increasingly applied for multielemental determinations in several areas. It shows several advantages, such as rapidity, minimally destructive and environmentally friendly, although the greatest difficulty is based on its relatively low sensitivity. Many efforts have been expended to improve LIBS sensitivity, but several proposals require more sophisticated equipment, increasing the cost and compromising the portability of the technique. The present work evaluated simple strategies to improve the sensitivity of LIBS measurements allowing the use of compact single pulse instruments. The proposed strategies are based on a simple sample pretreatment, able to promote simplification of chemical structures, which could lead to an increase of emission intensities. The proposed pretreatment steps aimed to preserve the interesting LIBS analytical advantages, such as its simplicity and non-use of toxic reagents, and its applicability to several types of samples. Then the temperature action on the simplification of chemical structures was evaluated using conventional muffle oven, for samples of plant leaves, soil and metal alloy. Additionally, microwave oven heating was evaluated for plant leaves. The muffle oven treatments resulted in important increases of the emission intensities for all spectral region of all evaluated samples; for the plant leaves, material for which the best results were observed, the integrated peak area of the Ca I line at 612.14 nm was increased about 47x after the thermic treatment. Moreover, new emission lines, not observed before, such as Sr II line at 407.82 nm, appeared. In the alloy sample, the integrated area of Fe I line at 489.22 nm showed an increase of 8x and in soil sample the Na I line at 588.89 nm, showed an increasing of 4x. The microwave heating provided less pronounced intensity increments compared to the muffle heating. The mixture of the soil sample with chemical modifier was also evaluated in order to improve physical processes, which could lead to an increasing of the emission signals. Nevertheless, this strategy did not reach the expected. Finally, the heat treatment in muffle was applied in the development of a method for determination of Sr in leaf material using LIBS. The developed method presented a linear analytical curve with correlation coefficient of 0.997, limit of detection of 4.23 mg kg⁻¹ and limit of quantification of 14.09 mg kg⁻¹. Analysis of leaf reference material by the proposed method indicated the determined concentration of Sr is in agreement with the certified value at 95% confidence (paired t-test).

Keywords: LIBS. Sensitivity. Heat treatment. Sample preparation.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Número de publicações em periódicos que envolvem os tópicos “Laser induced breakdown spectroscopy” por ano de 1998 a 2016 | 15 |
| Figura 2 - Representação esquemática de um espectrômetro LIBS | 15 |
| Figura 3 - Número de publicações em periódicos que envolvem os tópicos “Laser induced breakdown spectroscopy” e “sensitivity” por ano de 1998 a 2016 | 18 |
| Figura 4 - Configuração experimental do equipamento LIBS utilizado | 26 |
| Figura 5 - Espectros médios de emissão (n= 3) da amostra de folha com e sem tratamento térmico para a região espectral de 514,88 nm a 620,00 nm | 38 |
| Figura 6 - Gráficos de efeitos principais para a temperatura, razão de aquecimento e tempo de residência considerando como resposta as áreas de a) potássio, b) estrôncio, c) cálcio, d) sódio, e) cobre | 40 |
| Figura 7 - Espectros médios (n= 3) para a linha de cálcio atômico em 612,14 nm para a amostra de folha de laranjeira sem tratamento térmico e aquecido à temperatura de 600 °C, razão de aquecimento de 30 °C min ⁻¹ e tempo de residência de 20 minutos..... | 41 |
| Figura 8 - Espectros médios (n= 3) para a linha de Sr iônico em 407,82 nm para a amostra de folha de laranjeira sem tratamento térmico e aquecido à temperatura de 600 °C, razão de aquecimento de 30 °C min ⁻¹ e tempo de residência de 20 minutos..... | 42 |
| Figura 9 - Intensidades totais de emissão médias (n= 3) para a amostra de folha de laranjeira sem tratamento térmico (Experimento 0) e correspondentes aos experimentos do planejamento fatorial de 1 a 8..... | 43 |
| Figura 10 - Liga de aço carbono antes (1) e depois (2) do tratamento térmico | 45 |
| Figura 11 - Espectros médios (n=3) para a linha de Fe atômico em 489,22 nm para a amostra de aço carbono com e sem tratamento térmico | 46 |
| Figura 12 - Intensidades totais de emissão médias (n= 3) para a amostra de aço carbono com e sem tratamento térmico | 46 |
| Figura 13 - Diagrama das estruturas cristalinas do ferro puro..... | 47 |
| Figura 14 - Espectros de emissão da amostra de solo sem tratamento térmico e com tratamento térmico (Temperatura= 800 °C, razão de aquecimento= 30 °C | |

| | |
|---|----|
| min ⁻¹ e tempo de residência= 20 minutos) no intervalo de comprimento de onda de 515,70 nm a 544,08 nm..... | 49 |
| Figura 15 - Gráficos de efeitos principais para a temperatura, razão de aquecimento e tempo de residência considerando como resposta as áreas de a) potássio, b) sódio, c) titânio | 50 |
| Figura 16 - Espectros médios (n= 3) para a linha de sódio atômico em 588,89 nm para a amostra de solo sem tratamento térmico e aquecido à temperatura de 1000°C, razão de aquecimento de 10°C min ⁻¹ e tempo de residência de 20 minutos..... | 51 |
| Figura 17 - Intensidades totais de emissão médias (n= 3) para a amostra de solo sem tratamento térmico (Experimento 0) e correspondentes aos experimentos do planejamento fatorial..... | 52 |
| Figura 18 - Configuração experimental do aquecimento realizado em micro-ondas | 55 |
| Figura 19 - Espectros médios de emissão (n= 3) da amostra de folha de laranjeira sem aquecimento e com tratamento térmico em micro-ondas no intervalo de comprimento de onda de 355,79 nm a 366,50 nm | 56 |
| Figura 20 - Espectros médios de emissão (n= 3) da amostra de folha de laranjeira sem aquecimento e com tratamento térmico em micro-ondas no intervalo de comprimento de onda de 524,67 nm a 536,06 nm | 57 |
| Figura 21 - Intensidades totais de emissão médias (n= 3) para a amostra de folha de laranjeira sem tratamento térmico (Experimento 0), com aquecimento por micro-ondas (Experimento 1) | 58 |
| Figura 22 - Espectros médios (n=3) para a linha de ferro atômico em 438,46 nm para a amostra de solo com adição de amido, carbonato de sódio e cloreto de sódio | 60 |
| Figura 23 - Intensidades totais de emissão médias (n= 3) para a amostra de solo com adição de amido, carbonato de sódio e cloreto de sódio..... | 60 |
| Figura 24 - Curva analítica de Sr obtida por meio da razão entre as respostas da área da linha de emissão do Sr em 407,8 nm e do CN em 387,1 nm | 62 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Programa de moagem para amostra de folha de laranjeira..... | 27 |
| Tabela 2 - Elementos com valores certificados presentes no aço carbono IPT-14A | 28 |
| Tabela 3 - Composição textural da amostra de solo..... | 28 |
| Tabela 4 - Planejamento fatorial (2^3) para amostra de folha de laranjeira | 31 |
| Tabela 5 - Planejamento fatorial (2^3) para amostra de solo..... | 32 |
| Tabela 6 - Composição dos padrões de calibração para determinação de Sr..... | 35 |
| Tabela 7 - Valores em porcentagem referentes às perdas de massa devidas aos tratamentos térmicos aplicados em cada experimento do planejamento fatorial..... | 44 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANOVA - Do inglês analysis of variance, análise de variância.

CCD - Do inglês charge-coupled device, dispositivo de carga acoplada.

DP-LIBS - Do inglês double pulse - laser-induced breakdown spectroscopy, espectrometria de emissão óptica em plasma induzido por laser com duplo pulso.

FAAS - Do inglês flame atomic absorption spectrometry, espectrometria de absorção atômica por chama.

ICP-MS - Do inglês inductively coupled plasma mass spectrometry, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado.

ICP-OES - Do inglês inductively coupled plasma optical emission spectrometry, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.

LA-ICP-MS - Do inglês laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado por ablação a laser.

LIBS - Do inglês laser-induced breakdown spectroscopy, espectrometria de emissão óptica em plasma induzido por laser.

LIBS-LIF Do inglês laser-induced breakdown spectroscopy – laser induced fluorescence, espectrometria de emissão óptica em plasma induzido por laser - fluorescência induzida por laser.

MA-LIBS - Do inglês microwave assisted laser-induced breakdown spectroscopy, espectrometria de emissão óptica em plasma induzido por laser com aprimoramento micro-ondas.

NELIBS - Do inglês nanoparticle enhanced laser-induced breakdown spectroscopy, espectrometria de emissão óptica em plasma induzido por laser com aprimoramento de nanopartícula.

RE-LIBS - Do inglês resonance enhanced laser-induced breakdown spectroscopy, espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser com aprimoramento ressonante.

Nd:YAG – Do inglês neodymium doped yttrium aluminium garnet, neodímio dopado com ítrio e alumínio.

XRF – Do inglês X-ray fluorescence, fluorescência de raio x.

SUMÁRIO

| | | |
|------------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 14 |
| 3 | OBJETIVO | 24 |
| 4 | PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL | 25 |
| 4.1 | Instrumentação LIBS | 25 |
| 4.2 | Amostras | 26 |
| 4.2.1 | Material vegetal..... | 26 |
| 4.2.2 | Liga de aço carbono | 27 |
| 4.2.3 | Solo | 28 |
| 4.3 | Tratamento térmico em mufla | 29 |
| 4.3.1 | Material vegetal..... | 30 |
| 4.3.2 | Liga metálica..... | 31 |
| 4.3.3 | Solo | 32 |
| 4.4 | Tratamento térmico em micro-ondas | 33 |
| 4.5 | Avaliação da incorporação de fundente | 34 |
| 4.6 | Método Quantitativo para determinação de Sr em material foliar | 35 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 37 |
| 5.1 | Tratamento térmico em mufla | 37 |
| 5.1.1 | Material vegetal..... | 38 |
| 5.1.2 | Liga de aço carbono | 44 |
| 5.1.3 | Solo | 48 |
| 5.2 | Tratamento térmico em micro-ondas | 53 |
| 5.3 | Avaliação da incorporação de fundente | 58 |
| 5.4 | Método Quantitativo para determinação de Sr em material foliar | 61 |
| 6 | CONCLUSÕES | 64 |
| | REFERÊNCIAS | 65 |

1 INTRODUÇÃO

A espectrometria de emissão óptica em plasma induzido por laser, do inglês laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), é uma técnica espectroanalítica, que comparada às técnicas convencionais de determinação elementar, apresenta características atraentes como ser aplicável a diversos tipos de amostras, possuir custo de análise relativamente baixo, requerer mínimas quantidades de amostra, dispensar os morosos pré-tratamentos de decomposição da amostra, etapa da sequência analítica a qual elevadas quantidades de reagentes potencialmente tóxicos e perigosos são requeridos. Assim, LIBS pode ser considerada uma técnica ambientalmente amigável consonante a química verde. Adicionalmente, a técnica LIBS proporciona análises rápidas e diretas, inclusive com a potencialidade de análise *in situ*.

Devido às suas interessantes características analíticas, LIBS vem despertando interesse nas mais diversas áreas: ambiental (REZK et al., 2016), forense (LENNARD et al., 2015), espacial (SALLÉ et al., 2004), dentre outras. Entretanto, apesar da crescente popularidade, a sensibilidade da técnica ainda é bem inferior comparada a outras técnicas espectroanalíticas consolidadas para determinação elementar (MIZIOLECK; PALLESCHI; SCHECHTER, 2006). Os menores limites de detecção encontrados para LIBS estão em torno de 1 a 10 ppm (CARVALHO et al., 2010), enquanto que ICP-MS (do inglês, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry), por exemplo, oferece limites de detecção na faixa de partes por trilhão (THOMAS, 2004). Nesse contexto, alguns trabalhos visando à melhora da sensibilidade em LIBS vêm sendo desenvolvidos tanto relacionados a modificações do arranjo instrumental, a exemplo do DP-LIBS (do inglês, LIBS doble pulse) como em relação ao emprego de pré-tratamento a amostras, como exemplo NELIBS (do inglês, nanoparticle enhanced laser induced breakdown spectroscopy). Apesar da comprovada eficácia das estratégias supracitadas, o DP-LIBS, por exemplo, envolve alto custo instrumental e redução do potencial de portabilidade da técnica, enquanto o NELIBS envolve um preparo de amostra dependente da produção de nanopartículas de metais nobres, como Ag e Au.

Considerando as diferentes estratégias descritas na literatura, aliada à necessidade de melhorar a sensibilidade das detecções em LIBS, o trabalho propõe para melhora da sensibilidade, o desenvolvimento de estratégias mais simples, com

relativo baixo custo e que sejam aplicáveis a qualquer tipo de configuração instrumental.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O desenvolvimento da técnica LIBS tornou-se possível com o advento do laser (do inglês, light amplification by stimulated emission of radiation) que é parte fundamental da configuração experimental de um equipamento LIBS. As teorias de emissão estimulada propostas em 1917 por Albert Einstein permitiram o desenvolvimento de um dispositivo laser de rubi com bombeamento óptico por Theodore Harold Maiman em 1960 (MAIMAN, 1960).

O emprego da emissão de radiação de dispositivos lasers para induzir a formação de um plasma foi relatado pela primeira vez na literatura em 1962 por Fred Brech e Lloyd Cross (RADZIEMSKI, 2002), sendo que em 1963 o desenvolvimento de um laser Q-switched marcou o “nascimento” da técnica LIBS (MIZIOLECK, PALLESCI e SCHECHTER, 2006). Em 1964 a primeira análise espectral direta foi realizada em LIBS por Runge e colaboradores (RUNGE et. al., 1964) e em 1965, Zel'dovich e Raizer propuseram o primeiro modelo teórico descrevendo os processos físicos envolvidos na ruptura de gases induzida por laser (ZEL'DOVICH e RAIZER, 1965).

Até a década de 70, os progressos feitos em LIBS relacionavam-se a sua evolução instrumental (WINEFORDNER et al., 2004) e alguns equipamentos comerciais começaram a ser produzidos por Jarrell-Ash e Carl Zeiss, sendo que esses equipamentos utilizavam-se da energia proveniente do pulso do laser para ablação da amostra e um arco elétrico era utilizado para sua excitação (RADZIEMSKI, 2002).

O desenvolvimento de lasers menores, mais potentes, estáveis e robustos durante a década de 80, além da evolução dos detectores, que se tornaram mais sensíveis, impulsionaram o interesse e o emprego da técnica (PASQUINI et al., 2007), sendo atualmente uma técnica espectroanalítica amplamente difundida. Devido ao aperfeiçoamento instrumental, aos estudos sobre fundamentos teóricos aprofundados e possibilidade de novas aplicações, a técnica LIBS apresenta um crescente número de publicações relacionadas aos seus conceitos e aplicações, como mostra a Figura 1, gerada por dados extraídos de uma busca na base de dados ISI Web of Science com as palavras-chaves “Laser-Induced Breakdown Spectroscopy”.

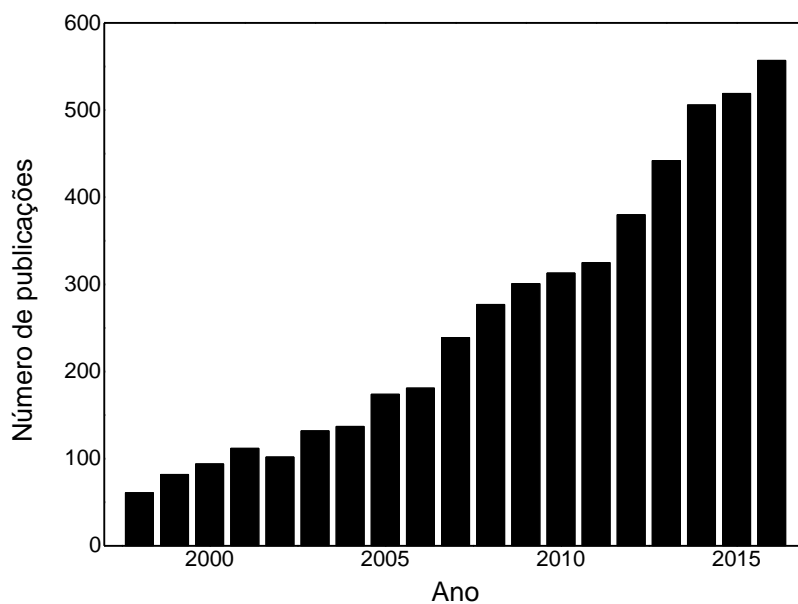


Figura 1 - Número de publicações em periódicos que envolvem os tópicos “Laser induced breakdown spectroscopy” por ano de 1998 a 2016.

Fonte: Autora.

A fundamentação da técnica LIBS é baseada em microamostragem por ablação a laser seguida de excitação das espécies presentes no plasma durante e/ou imediatamente após ablação permitindo a condução de análise direta em diferentes tipos de amostras sólidas, líquidas e gasosas (SANTOS JÚNIOR et al., 2006). Um sistema LIBS básico requerido para análises é constituído por um laser pulsado, um conjunto de lentes, um espectrômetro e um processador de dados, como mostrado na Figura 2.

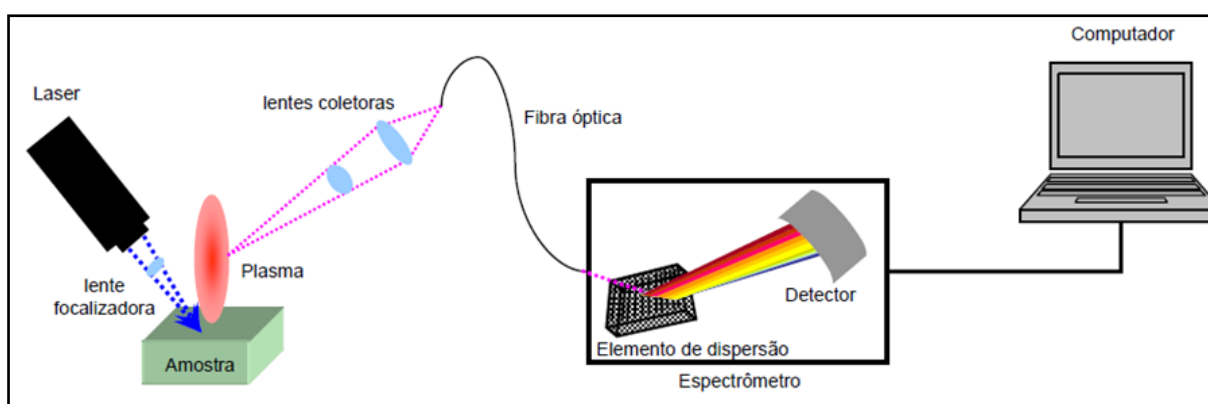


Figura 2 - Representação esquemática de um espectrômetro LIBS.

Fonte: Ferreira, E. C.

O conceito de emissão estimulada que possibilitou o desenvolvimento dos lasers se baseia no princípio de que um fóton, ao incidir sobre o átomo, não só pode ser absorvido como também estimular a emissão de um fóton idêntico a ele se houver um elétron cuja energia de excitação corresponda à energia do fóton incidente. Neste caso, a incidência de um fóton corresponderá à emergência de dois fótons (de frequência, fase, polarização e direção semelhante a do fóton original) e a emissão da luz ocorrerá pelo decaimento para um estado de menor energia do elétron que foi excitado. A amplificação da luz laser, e consequente formação do feixe, acontecem por meio do emprego de espelhos na cavidade óptica, que fazem com que os fótons produzidos retornem ao sistema e possam interagir com mais átomos presentes e uma fração dessa luz produzida pode deixar o sistema por meio de uma abertura em um dos espelhos (BAGNATO, 2001).

A interação da energia radiante proveniente da incidência de um pulso de laser com uma amostra promove sua ablação (remoção muito discreta e superficial da amostra). Antes da formação do plasma, ocorre a ruptura dielétrica das ligações moleculares do material (breakdown), fenômeno este relacionado a propriedades da amostra, como elasticidade e compressibilidade, que determinam os mecanismos de deposição e dissipação de energia (CORREIA et al., 2003). Os elétrons livres absorvem os fótons do laser incidente adquirindo energia suficiente para ionizar átomos adicionais por colisão produzindo novos elétrons que por sua vez absorvem mais fótons durante o pulso promovendo uma avalanche de ionização (MIZIOLECK, PALLESCHI e SCHECHTER, 2006).

A amostra ablada provoca uma compressão da atmosfera circundante levando à formação de uma onda de choque, sendo que no decorrer desse processo há ocorrência de fenômenos como aquecimento rápido local, fusão e intensa evaporação. O plasma é então formado devido à alta temperatura local e pela expansão do material evaporado em forma de pluma acima da superfície da amostra, havendo presença de fragmentos moleculares, átomos, íons e elétrons (FORTES et al., 2013). Vários fatores podem afetar o plasma formado, como características do laser (comprimento de onda, duração do pulso, energia), propriedades físicas e mecânicas da amostra, e também a atmosfera circundante de evolução do plasma (SINGH e THANKUR, 2007).

Quando as espécies excitadas presentes no plasma voltam aos seus estados de menor energia, emitem radiações eletromagnéticas que são conduzidas até o

detector. A radiação detectada é processada e convertida em sinal transiente e o espectro de emissão é gerado (PASQUINI et al., 2007).

O objetivo da técnica LIBS, assim como o objetivo das técnicas de emissão óptica, é a determinação da composição elementar de uma amostra, desde análises apenas para identificação dos seus constituintes atômicos até determinações de concentrações relativas ou massas absolutas, já que cada espécie fornece um espectro de emissão único sendo possível a identificação pelos comprimentos de onda das linhas de emissão, e a intensidade dessas linhas permite a quantificação. A determinação das espécies presentes nas amostras por esse tipo de técnica envolve várias etapas como atomização, excitação, detecção da luz emitida, calibração da relação de intensidade com a concentração ou massa para posterior quantificação (MIZIOLECK, PALLESCI e SCHECHTER, 2006).

LIBS apresenta características interessantes comparadas às técnicas convencionais por apresentar maior simplicidade, rapidez, ser aplicável a qualquer tipo de amostra condutora ou não condutora (sólida, líquida, gasosa), custo de análise relativamente baixo, com mínimo (ou nenhum) preparo de amostra, capacidade de detecção simultânea e multielementar, possibilidade de análises à distância, possibilidade de análises *in-situ* (SANTOS JÚNIOR et al., 2006) (PASQUINI et al., 2007); sendo uma técnica mais limpa e de acordo com os princípios da química verde, já que a produção de resíduos é minimizada e não faz a utilização de reagentes potencialmente tóxicos, como ácidos concentrados e solventes orgânicos. Porém, a técnica LIBS apresenta menor sensibilidade quando comparada a outras técnicas, como ICP-OES (do inglês, inductively coupled plasma optical emission spectrometry), o que estimula cada vez mais o interesse no desenvolvimento de estratégias para melhora da sua sensibilidade, como pode ser visto no gráfico (Figura 3) gerado pelos dados extraídos de uma busca na base de dados ISI Web of Science com as palavras-chaves “Laser-Induced Breakdown Spectroscopy” e “sensitivity”, que se apresenta crescente assim como o estudo da própria técnica.

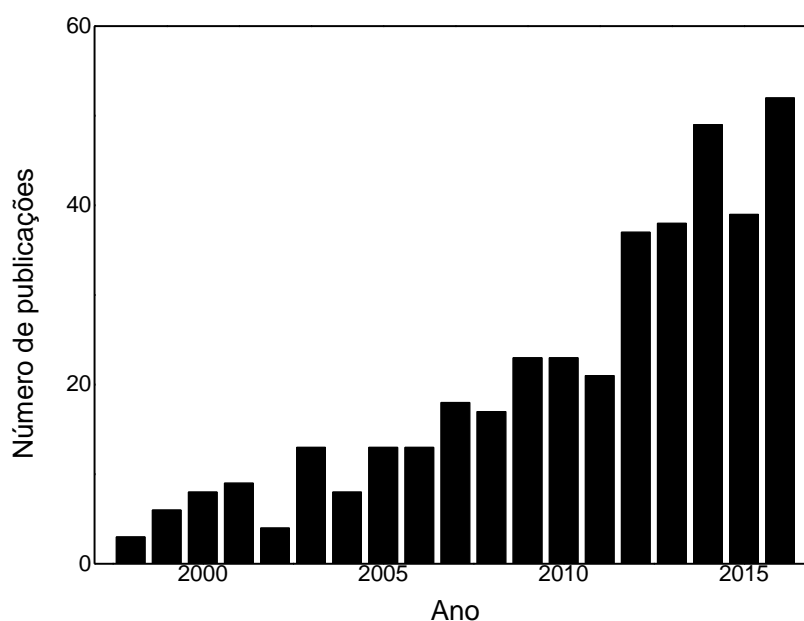


Figura 3 - Número de publicações em periódicos que envolvem os tópicos “Laser induced breakdown spectroscopy” e “sensitivity” por ano de 1998 a 2016.

Fonte: Autora.

De forma geral, o aprimoramento do desempenho de LIBS pode ser conseguido de duas formas sendo devido à melhora do sinal de emissão do plasma ou pela modificação das espécies presentes nas amostras, sendo que a maior parte dos trabalhos envolvendo a temática, como apresentado a seguir, opta pelo aumento da emissão do plasma evitando preparos de amostra. As consequências dessa abordagem envolvem maior custo devido modificação instrumental (como, por exemplo, pela adição de lasers ou detectores de alto desempenho) além de requerer conhecimentos específicos em campos da química e física do plasma e também da tecnologia laser não atendendo aos requisitos da maioria dos cientistas e operadores que desejam usar a técnica (JANTZI et al., 2016).

Um grande número de propostas para melhora da sensibilidade analítica é baseado na utilização de dois pulsos de laser (DP-LIBS, do inglês LIBS double pulse). No DP-LIBS, um pulso é utilizado para ablação e o pulso seguinte para excitação. Essa configuração pode proporcionar sinais de emissão muito superiores aos sinais obtidos em sistemas LIBS de pulso simples. Qi e colaboradores (2013) fizeram uma investigação de sensibilidade por meio da análise de ligas com DP-LIBS. Os autores observaram que as intensidades das linhas de emissão de magnésio foram melhoradas 4,7 vezes comparando-se ao LIBS de pulso único.

Apesar da significativa melhora proporcionada por DP-LIBS, a configuração desse tipo de sistema demanda a utilização de dois lasers e um sistema eletrônico adequado para sincronização dos dois pulsos e aquisição do sinal, o que eleva significativamente o custo do sistema e reduz o seu potencial de portabilidade.

Em sistemas LIBS com aprimoramento ressonante (RE-LIBS, do inglês, *resonance enhanced laser induced breakdown spectroscopy*), a ablação a laser é combinada com fotoionização ressonante para atomizar amostras sólidas e ionizar seletivamente os átomos de analito para análises de massas utilizando-se, então, de dois pulsos de laser, um pulso para ablar e atomizar, e um segundo pulso para fotoionizar quando a pluma se esfriar. Essa técnica demonstrou ser extremamente sensível para análise sólida conforme demonstrado por Chan e Cheung (2000), onde uma diminuição de 5 vezes no limite de detecção do sódio foi observada em comparação a utilização de LIBS comum na determinação de vestígios de sódio em iodato de potássio. Goueguel et al. (2010) investigaram a presença de elementos como magnésio e silício em ligas de alumínio também utilizando RE-LIBS, e obtiveram um aumento de sensibilidade, sendo que o limite de detecção do magnésio teve uma diminuição de 5 vezes e o do silício de 3 vezes comparados à determinação em LIBS convencional. Embora a técnica ofereça grande incremento na sensibilidade em análises em sólidos, o sistema instrumental requerido, as exigências de vácuo e a presunção da identidade do analito podem comprometer a sua aplicabilidade e universalidade.

Sistemas MA-LIBS (do inglês, *microwave assisted laser induced breakdown spectroscopy*) consistem em uma configuração típica de LIBS com adição de uma cavidade de micro-ondas com foco acima da amostra, em que há acoplamento da radiação micro-ondas com regiões de baixa densidade de elétrons do plasma. Esse acoplamento pode transferir energia ao plasma e aumentar potencialmente o tempo de vida de emissão do plasma. Liu e colaboradores (2012) investigaram amostras de solo com MA-LIBS e verificaram um aumento na sensibilidade de 20 vezes e encontraram um limite de detecção na ordem de grandeza de ppm, para Cu e Ag, que não forneciam sinais para análise em LIBS de pulso único. Outro estudo feito por Tampo e colaboradores (2014) utilizou uma antena acoplada ao sistema LIBS para a geração de micro-ondas. Eles averiguaram a presença de gadolínio em amostra de combustível nuclear e verificaram um aumento de 50 vezes na sua intensidade de emissão. Khumaeni e colaboradores (2016) estudaram os efeitos da

aplicação de micro-ondas emitidas por uma antena de circuito fechado por meio de um cabo coaxial flexível ao posicionamento, onde é empregado imediatamente acima do ponto de formação do plasma. A análise de uma amostra de óxido de cálcio resultou em um aumento de 200 vezes na intensidade de emissão do cálcio. Uma das maiores vantagens desse aperfeiçoamento é que, além do grande aumento de sensibilidade proporcionado, o dispositivo de micro-ondas é mais barato que um dispositivo de laser adicional. Entretanto, MA-LIBS ainda requer uma mudança no conjunto de equipamento LIBS, aumentando assim o seu custo de análise.

Alguns estudos verificam a influência na sensibilidade da técnica LIBS utilizando-se de uma chama direcionada no ponto de formação do plasma. Liu et al. (2014) averiguaram um sistema com o plasma sendo formado em ambiente de chama de oxigênio-acetileno e obtiveram reforços nas intensidades de 4 vezes para linhas atômicas e 3 vezes para linhas iônicas; esses mesmos pesquisadores em outro estudo (LIU et al., 2015) com micro chama de butano comercial, demonstraram que as curvas de calibração de intensidades de emissão em função de concentrações elementares melhoraram cerca de 3 vezes a sensibilidade de detecção de manganês atômico em 404,136 nm e vanádio atômico em 437,923 nm, baixando conseqüentemente seus limites de detecção. A utilização de chama é capaz de melhorar a sensibilidade para a detecção de elementos em nível traço, porém o acoplamento de uma chama com temperaturas da ordem de 3000 °C não é trivial para sistemas LIBS com câmara de ablação.

A combinação de LIBS com fluorescência induzida por laser (LIBS-LIF) também é investigada para melhoraria do limite de detecção. A técnica consiste na produção de plasma utilizando-se um primeiro pulso de laser e, em seguida, para preenchimento de um nível quântico específico do elemento de traço de interesse é utilizado um segundo pulso de laser sintonizado em um comprimento de onda específico. O sinal de fluorescência emitido a partir deste nível é usado, então, para determinações analíticas. Laville e colaboradores (2010) utilizaram-se da técnica para determinação de chumbo em matriz de cobre e como resultado, houve uma diminuição de duas ordens de grandeza no valor do limite de detecção comparado aos valores encontrados na literatura para amostras sólidas.

A combinação de LIBS-LIF com excitação espacialmente seletiva no plasma foi estudada como estratégia de aumento de sensibilidade por Li e colaboradores

(2017). Nesse estudo, foi empregado um sistema de ajuste de lente equipado com dois micrômetros nas coordenadas xy e foram obtidos mapas de digitalização que combinam as intensidades de emissão com a localização do plasma formado. Os pesquisadores avaliaram a melhora na sensibilidade para determinação de níquel atômico em 234,56 nm e cromo atômico em 425,43 nm em amostras de aço, em que o limite de detecção para análise de cromo no sistema proposto com a otimização da região de detecção do plasma apresentou uma diminuição de 9 vezes no limite de detecção do cromo quando comparado ao limite de detecção de análise LIBS, e para o Ni foi verificado uma diminuição de 46 vezes no seu limite de detecção. Assim como DP-LIBS, LIBS-LIF necessita de um arranjo instrumental mais elaborado e conseqüentemente com custo relativo mais elevado.

Alguns estudos investigam a melhoria na sensibilidade de LIBS por meio do confinamento do plasma, tanto espacial quanto magnético. Esses estudos utilizam estruturas (geralmente anéis metálicos ou ímãs) para confinar o plasma formado durante ablação dentro dessa estrutura, o que promove um aumento da temperatura e da densidade eletrônica no plasma. Hao e colaboradores (2014) utilizaram um anel de ímã para estudar o seu efeito na sensibilidade da determinação de V e Mn em amostras de aço, sendo que observaram uma diminuição dos limites de detecção de 41 e 56 ppm para 11 e 36 ppm, respectivamente.

No trabalho de Bol'shakov e colaboradores (2017), estudou-se a melhora na obtenção dos sinais dos espectros de emissão devido à aplicação de um pulso elétrico secundário após o pulso de ablação a laser. Os pesquisadores utilizaram um circuito para geração de uma descarga pulsada de reaquecimento à pressão atmosférica e observaram aumento das intensidades de emissão atômica (Ca e Na) em LIBS e molecular (OH, AlO e CaF) em LAMIS (do inglês, Laser ablation molecular isotopic spectrometry). O sistema desenvolvido apesar de ser mais simples do que sistemas RE-LIBS e DP-LIBS, por exemplo, ainda requer modificação instrumental encarecendo a análise.

No estudo de Carvalho e colaboradores (2012), os autores verificaram uma melhoria significativa nas correlações entre as intensidades de sinal de emissão para a maioria dos elementos avaliados em amostra de material vegetal quando se empregava maiores valores de fluência do laser e de tamanho do spot, sendo sugerido que condições apropriadas de fluência do laser poderiam minimizar efeitos

produzidos pela matriz da amostra melhorando assim a sensibilidade e a precisão em análises LIBS.

Considerando o fato de que a melhora de sinal relaciona-se principalmente ao número de emissores mais do que parâmetros do plasma, a manipulação das espécies para torná-las mais apropriadas para ablação com laser permite diminuir os limites de detecção em aplicações LIBS já estabelecidas, além de ampliar a capacidade da técnica para as aplicações antes limitadas devido à heterogeneidade e efeitos da matriz da amostra, além de que a maioria das técnicas analíticas convencionais requer inerentemente manipulação significativa das espécies para a obtenção de bons resultados (JANTZI et al., 2016).

Nesse contexto, o NELIBS é uma forma de preparo de amostra para aumento de sensibilidade em LIBS, onde a eficiência de deposição de energia laser em uma amostra é aumentada com a aplicação de nanopartículas de Ag ou Au em sua superfície, no local de ablação. A eficiência de ablação é aumentada com a deposição das nanopartículas, pois estas agem como defeitos termicamente isolados capazes de diminuir o limiar de ruptura (DE GIACOMO et al., 2014). Esta estratégia provocou um grande aumento na sensibilidade de análises de amostras metálicas, como estudado por De Giacomo et al. (2013) em que o emprego das nanopartículas foi utilizado e observou-se que o realce obtido foi de 1 a 2 ordens de magnitude, apesar de que em estudos com amostras isolantes e semicondutoras não verificaram melhorias. Otha e colaboradores (2009) avaliaram NELIBS na determinação de nutrientes em amostras de plantas e encontraram melhoras significativas nas intensidades de emissão de várias espécies.

Trabalhos envolvendo NELIBS estão sendo cada vez mais explorados, sendo que publicações mais recentes relatam melhoras significativas com o emprego de nanopartículas, como a sua utilização para aprimoramento de banda molecular de AIO em ligas de alumínio (KORAL et al., 2016), em combinação com condições de vácuo (SLÁDKOVÁ et al., 2017), em aplicação a um substrato super-hidrofóbico combinado a confinamento magnético (DONG et al., 2017), em análise química elementar de microgotas de soluções com concentração de analito em nível de subppm (DE GIACOMO et al., 2016), e também em aplicação a um substrato sólido para análise de amostras aquosas (WEN et al., 2016).

Em review publicado por Jantzi e colaboradores (2016) são listados vários outros métodos de preparo de amostra para amostras sólidas, líquidas e biológicas,

como diluição, padronização interna, congelamento, etc, que aplicados à LIBS podem possibilitar maior facilidade de manipulação das amostras até melhora dos resultados obtidos. Segundo os autores, apesar de não ser adequada para aplicações em campo pela impossibilidade de modificação das espécies, a não utilização de preparo de amostra em LIBS pode ser o principal motivo que a impede de se tornar uma técnica analítica consolidada como LA-ICP-MS (do inglês, laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry), ICP-OES ou XRF (do inglês, X-ray fluorescence). Assim, este trabalho propõe novas estratégias para melhora da sensibilidade por meio de preparos de amostras mais simples, com relativo baixo custo e facilidade de acesso.

3 OBJETIVO

Avaliar estratégias simples para aprimorar a sensibilidade das medidas em LIBS. As estratégias avaliadas devem primar pelas características essenciais da técnica de análise: simplicidade, sem utilização de reagentes potencialmente tóxicos e conseqüentemente mínima produção de resíduos químicos.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Nesse tópico serão descritos os parâmetros instrumentais, características das amostras selecionadas para estudo (material vegetal, solo, liga de aço), procedimento realizado para os tratamentos térmicos em forno mufla e em forno de micro-ondas doméstico e a avaliação da adição de fundente como estratégia para aumento de sensibilidade das medidas.

4.1 Instrumentação LIBS

O sistema LIBS utilizado compreende um laser de Nd:YAG que emite em 1064 nm (Quantel, Big Sky Laser, Ultra 50) e opera a uma potência máxima de 50 mJ com duração de pulso de 20 ns, diâmetro do feixe do laser (laser spot) de 0,5 mm aproximadamente, razão de repetição de 500 Hz; tempo de integração de 1 ms; câmara de amostragem com amostrador móvel com deslocamentos nas direções xy comandados pelo analista por meio de um joystick; detector CCD (charge-coupled device) composto por quatro espectrômetros (HR2000+, Ocean Optics, EUA) o primeiro com cobertura da faixa espectral de 200-300 nm, o segundo com faixa de 300-400 nm, o terceiro com faixa de 400-500 nm e o último com faixa de 500-600 nm; resolução óptica de 0,1 nm (FWHM) com tempo de atraso (Q-switch), referente ao intervalo entre o pulso do laser e a aquisição do espectro, de 2 μ s para amostra de liga de aço, 1 μ s para amostra de solo e 2,5 μ s para amostra vegetal. A interação do pulso do laser com a amostra no interior da câmara de amostragem é monitorada em tempo real por uma câmera de vídeo. Todo controle do sistema para o disparo dos pulsos do laser, tempo de atraso e tempo de integração, além da aquisição espectral são feitas por um micro-computador através do software OOLIBS (Ocean Optics). A configuração experimental utilizada é mostrada na Figura 4.

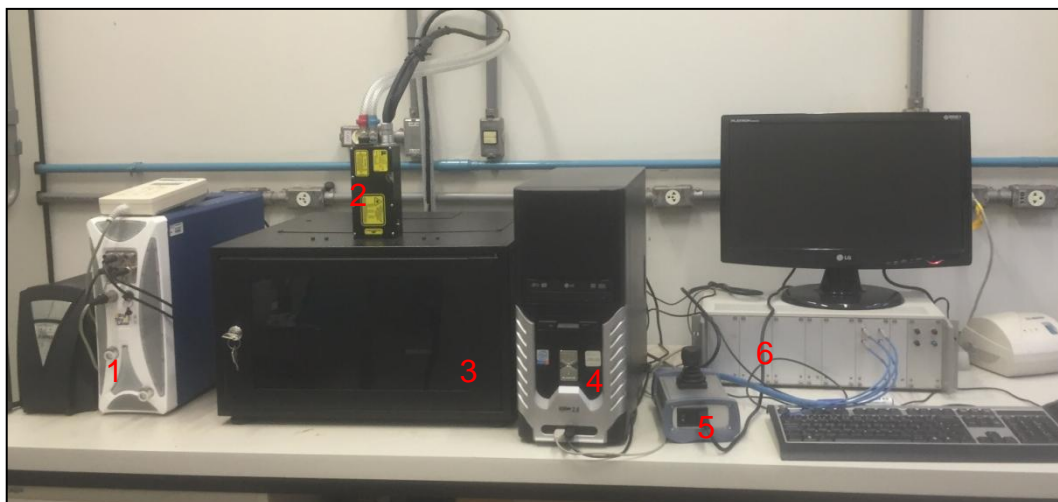


Figura 4 - Configuração experimental do equipamento LIBS utilizado.

Fonte: Autora

Dados: 1) Fonte do laser, 2) laser, 3) câmara de amostragem, 4) sistema de aquisição de dados, 5) joystick, 6) espectrômetro.

4.2 Amostras

As amostras foram escolhidas tendo como critério alta distinção tanto com relação à composição química, quanto à estrutura física e textural. Dessa forma, optou-se por uma liga metálica de aço carbono, um material vegetal e uma amostra de solo.

4.2.1 Material vegetal

Folhas de laranjeira foram coletadas na cidade de Tabatinga-SP. As folhas foram limpas em água corrente e depois em água deionizada. Para o tratamento térmico em mufla o procedimento de secagem das folhas foi liofilização, já que esse processo permite a remoção da água a baixas temperaturas sem afetar significativamente a estrutura do material. A liofilização foi conduzida em liofilizador Liotop, modelo L101, durante 25 horas. O processo de secagem por liofilização foi necessário para que a amostra de folha pudesse ser moída, de forma a se obter um material com menor tamanho de partícula e mais homogêneo para produção das pastilhas, forma mais conveniente para amostragem por LIBS. Além disso, com a liofilização prévia garante-se que antes e após o tratamento térmico, as condições

de umidade sejam similares para as amostras submetidas às diferentes condições de tratamento térmico em mufla.

A cominuição das amostras liofilizadas foi feita primeiramente em moinho de facas, tipo Willey, com peneira de 10 mesh e posteriormente as amostras foram submetidas à moagem em um moinho criogênico SPEX 6800 (Metuchen, USA).

Para o processo de moagem criogênica foi utilizado o programa descrito na Tabela 1.

Tabela 1- Programa de moagem para amostra de folha de laranjeira

| Etapa | Tempo (min) |
|----------------------------|--------------------|
| Pré-congelamento | 2 |
| Moagem* | 3 |
| Congelamento entre moagens | 2 |

*2 ciclos por moagem.

Fonte: Autora

4.2.2 Liga de aço carbono

A liga utilizada foi o aço carbono (IPT-14A) cujos elementos certificados encontram-se descritos na Tabela 2. Esse material é comercializado em pequenas limalhas. Considerando que a dureza desse material pudesse causar abrasão da barra magnética e "end-caps" do moinho criogênico e conseqüentemente contaminar a amostra, nenhuma etapa de homogeneização da amostra foi aplicada.

Tabela 2 - Elementos com valores certificados presentes no aço carbono IPT-14A

| Propriedades | Valores | Incertezas |
|--------------|------------------|----------------|
| | certificados (%) | expandidas (%) |
| Mn | 0,699 | 0,005 |
| C | 0,415 | 0,003 |
| Si | 0,292 | 0,004 |
| Cu | 0,278 | 0,002 |
| Ni | 0,104 | 0,004 |
| Cr | 0,100 | 0,004 |
| S | 0,036 | 0,003 |
| Mo | 0,029 | 0,004 |
| P | 0,029 | 0,002 |

Fonte: Certificado de material de referência nº 1870-103 (IPT- Instituto de Pesquisas Tecnológicas).

4.2.3 Solo

Para os estudos utilizando solo, foi selecionada uma amostra de solo brasileiro, cuja composição textural está indicada na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição textural da amostra de solo

| Argila (g kg ⁻¹) | Silte (g kg ⁻¹) | Areias (g kg ⁻¹) | | |
|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------|------|
| | | total | grossa | fina |
| 270 | 88 | 642 | 398 | 242 |

Fonte: Ensaio de Proficiência para laboratórios de análises de solo para fins agrícolas-programa de Laboratório IAC 2014.

Para redução do tamanho de partícula dessa amostra foi feita uma moagem criogênica. O programa de moagem utilizado foi o mesmo descrito na Tabela 1, sendo que para a amostra de solo, três ciclos foram utilizados.

4.3 Tratamento térmico em mufla

O tratamento térmico baseado em forno mufla foi um dos pré-tratamentos de amostra avaliados. Para todos os experimentos foi utilizado um forno mufla (EDG, modelo EDG3P-S), e cadinhos de porcelana como suporte para as amostras. As amostras pré-processadas, conforme anteriormente descrito (itens 3.2.1-3.2.3), foram aquecidas em diferentes condições de tempo, temperatura e razão de aquecimento. Após resfriamento à temperatura ambiente, as amostras de folha e de solo foram acrescidas de amido de milho, em diferentes proporções de acordo com as respectivas perdas de massas, homogeneizadas com almofariz e pistilo por aproximadamente 10 minutos e depois submetidas à pressão de 10 toneladas, durante 5 segundos, em uma prensa hidráulica (GS15011, Specac, Swedesboro, NJ, United States of America), para obtenção de pastilhas com diâmetro de 13 mm. As amostras foram prensadas, depois de resfriarem até a temperatura ambiente e serem homogeneizadas em almofariz e pistilo, utilizando 10 toneladas durante 5 segundos. Todos os experimentos foram feitos em triplicata e as pastilhas obtidas das três classes de amostras avaliadas, foram submetidas à análise pela técnica LIBS.

As linhas de emissão dos elementos observadas nos espectros LIBS foram atribuídas de acordo com a base de dados NIST (National Institute of Standards and Technology).

Para fins de avaliação do efeito do tratamento térmico sobre o aumento dos sinais de emissão, duas estratégias foram empregadas: i) comparação de áreas de picos selecionados; ii) comparação das intensidades totais de emissão em todo espectro registrado. Para o cálculo das áreas dos picos, a função de Lorentz foi ajustada sob a linha de emissão selecionada e a integração dessa área foi feita utilizando um software para tratamento de dados. Cabe destacar que as áreas eram calculadas individualmente em cada espectro e uma média correspondente a cada pastilha era obtida ($n= 40$). Como os tratamentos foram conduzidos em triplicatas, foi obtida uma média para cada uma das três pastilhas, para posteriormente gerar uma média por tratamento ($n= 3$). Para o cálculo das intensidades totais de emissão foram somados todos os valores de intensidades de cada linha do espectro após a correção da linha base de cada espectro individualmente. Da mesma forma que para área, as intensidades totais de emissão foram calculadas individualmente para cada

espectro e uma média correspondente a cada pastilha foi obtida (n= 40). Como os tratamentos foram conduzidos em triplicatas, foi obtida uma média da intensidade total para cada uma das três pastilhas, para posteriormente gerar uma média por tratamento (n= 3).

4.3.1 Material vegetal

O tratamento térmico da amostra de folha de laranjeira em mufla consistiu em aquecimento de 500 mg de amostra. As variáveis avaliadas no processo de aquecimento: i) temperatura, ii) razão de aquecimento e iii) tempo de residência (tempo de permanência na temperatura selecionada) foram analisadas por meio de um planejamento fatorial. Para a variável temperatura foram empregados como níveis mínimo e máximo 100 °C e 600 °C, respectivamente; a razão de aquecimento foi variada em 10 °C min⁻¹ e 30 °C min⁻¹ e o tempo de residência em 5 e 20 minutos. Após o aquecimento, a amostra era pesada e fazia-se adição de amido de milho para compensar a perda de massa ocorrida durante o aquecimento. A mistura era homogeneizada utilizando almofariz e pistilo por aproximadamente dez minutos e uma porção de 200 mg era separada para confecção da pastilha, a qual era analisada por LIBS.

Para o presente trabalho, as três variáveis anteriormente descritas foram avaliadas em dois níveis, gerando um conjunto de oito experimentos (2³). Na Tabela 4 estão descritas as condições experimentais delineadas pela combinação das variáveis nos seus diferentes níveis avaliados.

Tabela 4 - Planejamento fatorial (2^3) para amostra de folha de laranjeira

| Experimento | Temperatura (°C) | Razão de aquecimento (°C min ⁻¹) | Tempo (min) |
|-------------|------------------|--|-------------|
| 1 | 100 | 10 | 5 |
| 2 | 600 | 10 | 5 |
| 3 | 100 | 30 | 5 |
| 4 | 600 | 30 | 5 |
| 5 | 100 | 10 | 20 |
| 6 | 600 | 10 | 20 |
| 7 | 100 | 30 | 20 |
| 8 | 600 | 30 | 20 |

Fonte: Autora

Os experimentos foram conduzidos em triplicata, aleatoriamente. Após o tratamento térmico eram feitas as incorporações de amido, as amostras eram homogeneizadas, convertidas em pastilha e analisadas por LIBS, sendo 20 pulsos de laser disparados em diferentes locais de uma das faces das pastilhas. Em cada local amostrado dois pulsos consecutivos foram aplicados e um espectro médio dos dois pulsos foi obtido. Assim, foram armazenados 40 espectros por pastilha. A avaliação dos resultados, considerando como resposta as áreas dos picos referentes às linhas de Na atômico em 589,00 nm, de Ca atômico em 612,14 nm, de Cu atômico em 324,70 nm, de Sr iônico em 407,82 nm e de K atômico em 404,72 nm (referente a um duplete mal resolvido), foi conduzida usando o programa Statgraphics Centurion XVI (versão de avaliação 16.2.04 – 32 bits) e as intensidades totais de emissão foram calculadas.

4.3.2 Liga metálica

Três porções de 200 mg da liga de aço certificada foram submetidas ao tratamento térmico em mufla à temperatura de 1000 °C, razão de aquecimento de 30 °C min⁻¹ e tempo de residência de 20 minutos. Após o aquecimento, os cadinhos

foram tirados da mufla e colocados em capela de exaustão para resfriamento até temperatura ambiente, de forma que atingiam a temperatura ambiente em aproximadamente de 15 minutos. A amostra foi então convertida em pastilha. Como não houve perda de massa devido ao tratamento térmico, não houve necessidade de reposição. Três porções de 200 mg da mesma amostra, não submetidas a tratamento térmico, também foram convertidas em pastilhas para fins de comparação. Todas as pastilhas foram analisadas por LIBS, sendo 20 pulsos de laser disparados em diferentes locais de cada face das pastilhas, obtendo-se assim 40 espectros por pastilha. As intensidades totais de emissão e as áreas referentes a linha de Fe atômico em 489,22 nm foram calculadas para avaliação.

4.3.3 Solo

O tratamento térmico para a amostra de solo consistiu em aquecimento de porções de 200 mg da amostra, conduzido de acordo com o delineamento de um planejamento fatorial 2^3 feito em triplicata. Os experimentos gerados por todas as combinações de variáveis e respectivos níveis estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 - Planejamento fatorial (2^3) para amostra de solo

| Experimento | Temperatura (°C) | Razão de aquecimento (°C min⁻¹) | Tempo (min) |
|--------------------|-------------------------|---|--------------------|
| 1 | 600 | 10 | 5 |
| 2 | 1000 | 10 | 5 |
| 3 | 600 | 30 | 5 |
| 4 | 1000 | 30 | 5 |
| 5 | 600 | 10 | 20 |
| 6 | 1000 | 10 | 20 |
| 7 | 600 | 30 | 20 |
| 8 | 1000 | 30 | 20 |

Fonte: Autora

Após aquecimento, as amostras foram pesadas e incorporadas de amido, de acordo com a perda de massa observada, sendo também adicionados 80 mg de celulose em todas as condições de aquecimento para melhor compactação das pastilhas a serem preparadas. A homogeneização foi feita utilizando almofariz e pistilo por um tempo aproximado de dez minutos. As amostras homogeneizadas foram convertidas em pastilhas, as quais foram posteriormente analisadas por LIBS, sendo 20 pulsos de laser disparados em diferentes locais de cada face das pastilhas, obtendo-se assim 40 espectros por pastilha.

Os experimentos foram conduzidos em triplicata aleatoriamente e a avaliação dos resultados, considerando como resposta as áreas dos picos referentes às linhas de Ti atômico em 464,05 nm, de Na atômico em 589,89 nm e de K iônico em 564,23 nm foi conduzida usando o programa Statgraphics Centurion XVI (versão de avaliação 16.2.04 – 32 bits). As intensidades totais de emissão também foram calculadas.

4.4 Tratamento térmico em micro-ondas

O uso de energia micro-ondas também foi avaliado como fonte de energia térmica para o pré-tratamento da amostra. Para esse propósito, folhas de laranja *in natura*, após lavagem com água deionizada e secagem por 24 horas à temperatura ambiente, foram submetidas ao aquecimento sobre placa de petri, envoltas por papel absorvente.

Um forno de micro-ondas doméstico marca Eletrolux de potência igual a 1000 W foi utilizado nos experimentos. Para evitar danos ao magnetron, devido à incidência de radiação micro-ondas não absorvida pelas amostras, dois kitassatos de 500 mL contendo 200 mL de solução de glicerina 20% em água, foram posicionados ao fundo da cavidade para funcionar como solução absorvedora do excesso de micro-ondas. O programa utilizado para o aquecimento consistiu na aplicação de 100% de potência por 20 minutos e o experimento foi conduzido em triplicata.

As folhas que passaram pelo aquecimento e as folhas sem tratamento térmico foram liofilizadas por 25 horas e moídas em moinho criogênico segundo o programa de moagem descrito na Tabela 1. A perda de massa devido ao tratamento térmico foi comparada à perda de massa devido ao processo de secagem e a diferença

entre elas foi suprida pela adição de amido de milho que foi incorporado em massa correspondente. As amostras foram então convertidas em pastilhas e encaminhadas à análise por LIBS, sendo 40 espectros obtidos para cada pastilha. Em cada local amostrado dois pulsos consecutivos foram aplicados e um espectro médio dos dois pulsos foi obtido. As intensidades totais de emissão dos espectros correspondentes à amostra com e sem tratamento, foram comparadas.

4.5 Avaliação da incorporação de fundente

Para amostra de solo avaliou-se a incorporação de um fundente (carbonato de sódio) e para comparações sobre a eficiência do seu uso no aumento de sensibilidade foram avaliadas mais duas condições sendo um branco, onde foi adicionado amido de milho no lugar do fundente, e também pela incorporação de um sal de sódio que não possui propriedade de fundente (cloreto de sódio) para avaliar se o efeito na sensibilidade seria devido à presença do sódio.

O experimento comparativo foi delineado por incorporações de 20 mg de sódio proveniente do carbonato de sódio e de cloreto de sódio. Assim, para a amostra com incorporação de fundente foram adicionados 46 mg de carbonato de sódio e para a amostra comparativa 51 mg de cloreto de sódio, de forma que a massa final (sal + solo) fosse 200 mg. Um branco foi preparado pela mistura de amido de milho em quantidade referente à massa média dos sais empregados nas duas condições anteriormente descritas (48 mg) e a amostra de solo, interagindo massa de 200 mg. Em todos os casos foram adicionados 80 mg de celulose para melhor compactação. A homogeneização foi feita utilizando almofariz e pistilo por um tempo aproximado de dez minutos. As amostras homogeneizadas foram convertidas em pastilhas, as quais foram posteriormente analisadas por LIBS, sendo 20 pulsos de laser disparados em diferentes locais de cada face das pastilhas, obtendo-se assim 40 espectros por pastilha.

Os experimentos foram conduzidos em triplicata e para avaliação dos resultados foram calculadas as intensidades totais de emissão e as áreas correspondentes à linha de Fe atômico em 438,36 nm.

4.6 Método Quantitativo para determinação de Sr em material foliar

Para construção da curva, utilizou-se o material de referência certificado Trace Elements in Spinach Leaves, cuja concentração de Sr é de $55,6 \pm 0,8 \text{ mg Kg}^{-1}$. Foram pesados 600 mg do material e aquecidos em mufla segundo o programa de aquecimento otimizado pelo planejamento fatorial para amostra de folha. A perda de massa foi compensada em celulose de forma que a concentração de Sr permanecesse inalterada após o tratamento térmico e a homogeneização foi feita utilizando almofariz e pistilo por um tempo aproximado de dez minutos. A partir da diluição desse material em celulose, foram obtidos os cinco padrões de calibração mantendo-se uma massa final constante de 200 mg, como indicado na Tabela 6.

Tabela 6 – Composição dos padrões de calibração para determinação de Sr

| Concentração do padrão (mg Kg^{-1}) | Massa de CRM diluído (mg) | Massa de celulose (mg) |
|--|----------------------------------|-------------------------------|
| 0 | - | 200 |
| 9 | 36 | 164 |
| 18 | 72 | 128 |
| 27 | 108 | 92 |
| 45 | 180 | 20 |

Fonte: Autora

Os padrões foram preparados em triplicata sendo homogeneizados em almofariz e pistilo por dez minutos, convertidos em pastilha e analisados por LIBS, sendo 20 pulsos de laser disparados em diferentes locais de uma das faces das pastilhas. Em cada local amostrado dois pulsos consecutivos foram aplicados e um espectro médio dos dois pulsos foi obtido. Assim, foram armazenados 40 espectros por pastilha e a avaliação dos resultados considerou como resposta as áreas dos picos referentes à linha de Sr iônico em 407,82 nm.

Para validação do método utilizou-se outro material de referência certificado de folha (Apple Leaves), cuja concentração certificada para o Sr é de $25 \pm 2 \text{ mg Kg}^{-1}$. Tomados 600 mg do material, aplicou-se o mesmo tratamento térmico em mufla, a

massa perdida foi compensada pela adição de celulose, a homogeneização foi feita em almofariz e as pastilhas foram produzidas. As leituras no LIBS seguiram-se da mesma forma como descrito para os padrões da curva.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros utilizados para comparação de resultados das amostras com e sem tratamento foram: i) a intensidade total de emissão (soma das intensidades correspondentes aos comprimentos de onda de toda região espectral), cujo objetivo foi avaliar, de forma geral, o aumento de todos os sinais de emissão em função do tratamento aplicado e ii) as áreas sob linhas de emissão de elementos selecionados como relevantes para serem determinados em cada amostra estudada.

As linhas espectrais têm suas características relacionadas às propriedades do plasma, sendo que o perfil de alargamento das linhas está diretamente relacionado à temperatura e densidade eletrônica do plasma. Os alargamentos de linhas de emissão podem advir de contribuição instrumental, natural, do efeito Stark e do efeito Doppler. Esses efeitos individuais ou combinados ocasionam perfis de linhas de emissão ajustáveis pelas funções de Gauss, Lorentz ou Voigt, viabilizando o cálculo das áreas sob as linhas de emissão (CREMERS, 2013). Nesse trabalho, as áreas sob as linhas de emissão foram calculadas pelo ajuste da função Lorentz, a qual se mostrou mais adequada aos perfis de emissão obtidos.

A eficiência do tratamento aplicado para o aumento da sensibilidade das medidas foi avaliada utilizando análise de variância (ANOVA) com teste Tukey. Antes da comparação das médias por ANOVA, o teste de Levene foi aplicado para verificar a homocedasticidade dos dados. Para comparação de duas médias, o teste estatístico aplicado foi o teste t a 95% de confiança.

5.1 Tratamento térmico em mufla

Uma das alternativas de preparo de amostras biológicas e orgânicas para análise elementar por técnicas convencionais, como FAAS (do inglês, Flame Atomic Absorption Spectrometry) e ICP-OES é o preparo via-seca, o qual envolve a incineração das amostras em presença de oxigênio. Para esse propósito, podem ser utilizados fornos tipo mufla e as temperaturas mais comumente empregadas variam entre 450 e 550 °C (KRUG, 2010). O objetivo desse tratamento é a destruição da matéria orgânica para gerar cinzas com baixos teores de carbono residual, as quais são solubilizadas utilizando soluções ácidas para posterior análise.

Como ocorre redução dos teores de carbono, entende-se que estruturas naturalmente presentes nas amostras são modificadas pela ação da temperatura. Com base nessa hipótese e na facilidade de condução de tratamentos térmicos em mufla, essa alternativa foi considerada com o intuito de avaliar se a simplificação das estruturas naturalmente presentes nos materiais incrementariam os processos que culminam na excitação dos analitos na análise por LIBS, por demandarem menor energia na etapa dos processos de quebras de estruturas (breakdown). Para avaliar a hipótese formulada, foram selecionadas três amostras com distintas características físico-químicas: material vegetal, liga metálica e solo.

5.1.1 Material vegetal

Um teste inicial para avaliação do tratamento térmico em mufla na amostra de folha de laranjeira foi feito utilizando-se temperatura de 300 °C, razão de aquecimento de 15 °C min⁻¹ e tempo de residência de 10 minutos. É possível observar na Figura 5 uma região ampliada dos espectros obtidos para a amostra vegetal com e sem tratamento térmico, sendo que o aumento na intensidade dos sinais foi observado para toda região espectral.

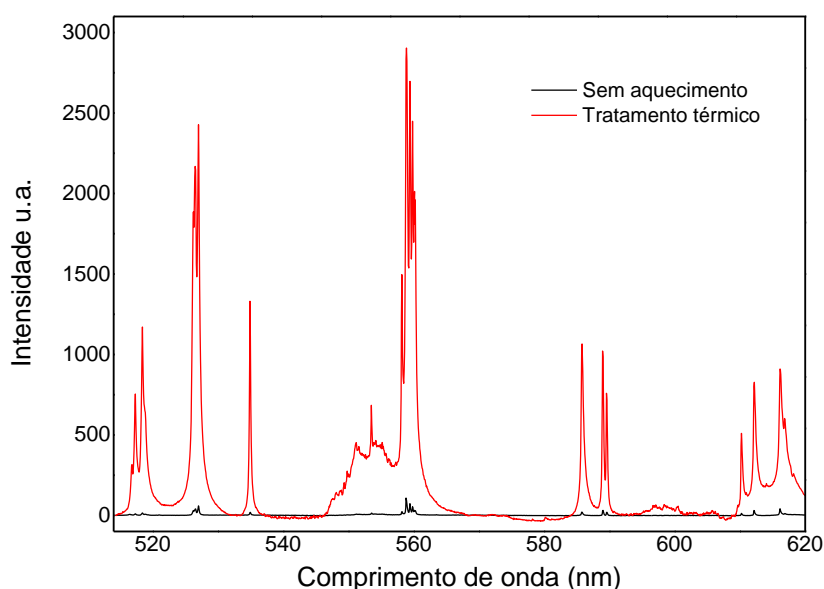


Figura 5 - Espectros médios de emissão ($n=3$) da amostra de folha com e sem tratamento térmico para a região espectral de 514,88 nm a 620,00 nm.

Fonte: Autora

Nas plantas, a determinação de elementos essenciais (macro e micronutrientes) permite avaliar o seu estado nutricional. Quando esses elementos não estão presentes nos níveis de concentração adequados, o rendimento e a qualidade da sua produção podem ser comprometidos (TREVISAN, 2008). Dessa forma, as linhas de emissão selecionadas para avaliar o aumento da sensibilidade devido ao tratamento térmico nas amostras de folhas foram os nutrientes Ca, Cu, K, além de Na e Sr.

Durante os testes iniciais foi observado que o aquecimento da amostra de folha de laranjeira em mufla ocasionava grande perda de massa. Assim, para evitar considerar o efeito de pré-concentração para aumento do sinal, avaliou-se a introdução de amido de milho nas proporções correspondentes às perdas de massa. Espectros LIBS de amido de milho foram previamente avaliados e não foram observados sinais analíticos com intensidades significantes. Foi observado que as áreas de pico obtidas quando se fazia incorporação de amido eram menos pronunciadas do que sem a sua adição, indicando que o efeito de pré-concentração estava sendo somado ao efeito do tratamento térmico.

Tendo definido as condições para avaliação exclusiva do tratamento térmico, excluindo o efeito de pré-concentração, um planejamento fatorial foi delineado para o rastreamento das condições que levavam a melhoria dos sinais de emissão. O planejamento fatorial é uma ferramenta que permite a realização de análise multivariada dos fatores que influenciam o sistema estudado e permite entender de que forma as variáveis atuam sobre a resposta do sistema. Assim, é possível perseguir uma condição experimental para maximização do sinal analítico.

Os valores escolhidos como níveis máximo e mínimo para a variável tempo de residência no planejamento fatorial foram de 20 e 5 minutos, respectivamente. A avaliação desse parâmetro teve por objetivo observar a possibilidade de conduzir o procedimento proposto de preparo de amostra no menor tempo possível. A razão de aquecimento teve seus valores fixados em $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e $30\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, sendo este valor definido como nível máximo já que era o valor máximo de razão de aquecimento permitido pela mufla utilizada. Para temperatura, escolheu-se como nível mínimo $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ referente à temperatura em que há perda de água por evaporação e como nível máximo $600\text{ }^{\circ}\text{C}$, já que esta é próxima à temperatura de decomposição da matéria orgânica do material vegetal (KRUG, 2010).

A análise do planejamento fatorial considerando como respostas as áreas de pico dos elementos individuais gerou gráficos de efeitos principais, os quais são mostrados na Figura 6 (a-e).

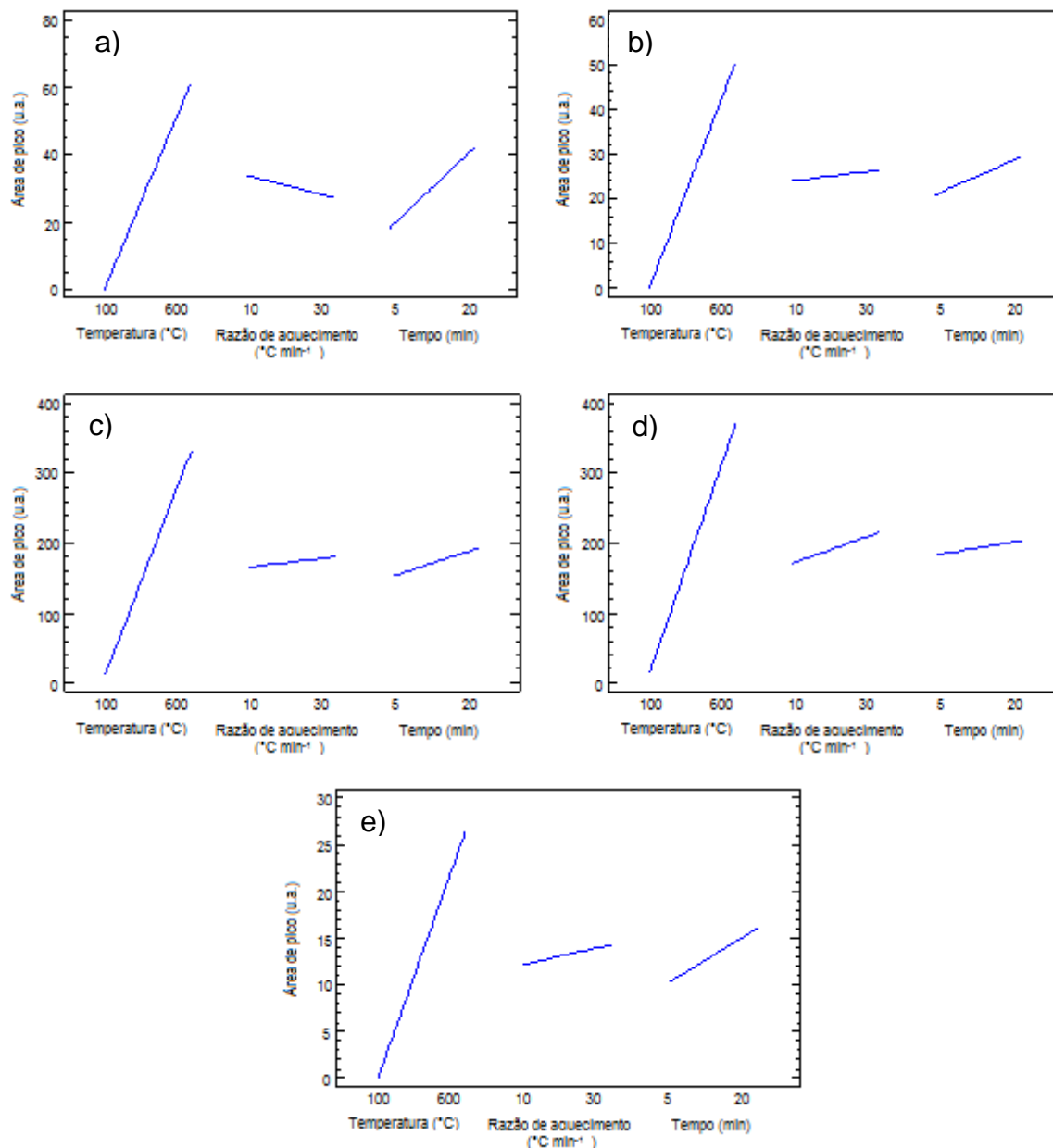


Figura 6 - Gráficos de efeitos principais para a temperatura, razão de aquecimento e tempo de residência considerando como resposta as áreas de a) potássio, b) estrôncio, c) cálcio, d) sódio, e) cobre.

Fonte: Autora

Dentre os parâmetros avaliados, a temperatura provocou efeito positivo e significativo a 95% de confiança para todos os elementos monitorados, de forma que as respostas dos elementos aumentam sempre com o aumento da temperatura. A razão de aquecimento não teve efeito significativo para o aumento da

sensibilidade de nenhum elemento a 95% de confiança e o tempo de permanência somente apresentou efeito significativo a 95% de confiança para os elementos K e Cu, de forma que o aumento do tempo está relacionado ao aumento das respostas dos sinais desses elementos.

O software possibilitou também verificar uma situação de compromisso fornecendo os valores para as variáveis avaliadas de forma a atender uma situação em que todos os elementos fossem analisados simultaneamente. Nesse caso, o experimento 8 (Temperatura= 600 °C, razão de aquecimento= 30 °C min⁻¹ e tempo de residência= 20 minutos) foi indicado como a condição de aquecimento mais adequada para aumentar a sensibilidade de todos os elementos simultaneamente. Esses resultados indicam que maiores temperaturas e tempos de permanência mais elevados promovem maiores aumentos dos sinais.

A Figura 7 mostra a linha de Ca atômico em 612,14 nm para a amostra sem tratamento térmico e com tratamento térmico proporcionado pelas condições do experimento 8. O aumento observado corresponde a 47 vezes em relação às áreas de pico.

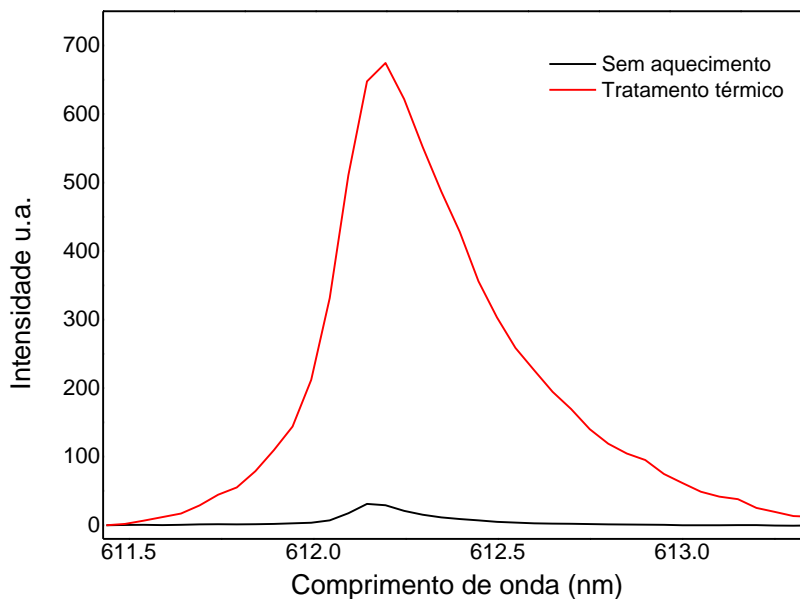


Figura 7 – Espectros médios (n= 3) para a linha de cálcio atômico em 612,14 nm para a amostra de folha de laranjeira sem tratamento térmico e aquecido à temperatura de 600 °C, razão de aquecimento de 30 °C min⁻¹ e tempo de residência de 20 minutos.

Fonte: Autora

Para a linha monitorada do sódio, o valor da área com aplicação do tratamento térmico corresponde a 38x o valor da área do pico sem o aquecimento.

Os outros elementos monitorados, não apresentavam picos definidos antes da aplicação do tratamento térmico, sendo que com a utilização da estratégia, foi possível sua identificação, como exemplo a linha de emissão Sr iônico em 407,82 nm mostrada na Figura 8.

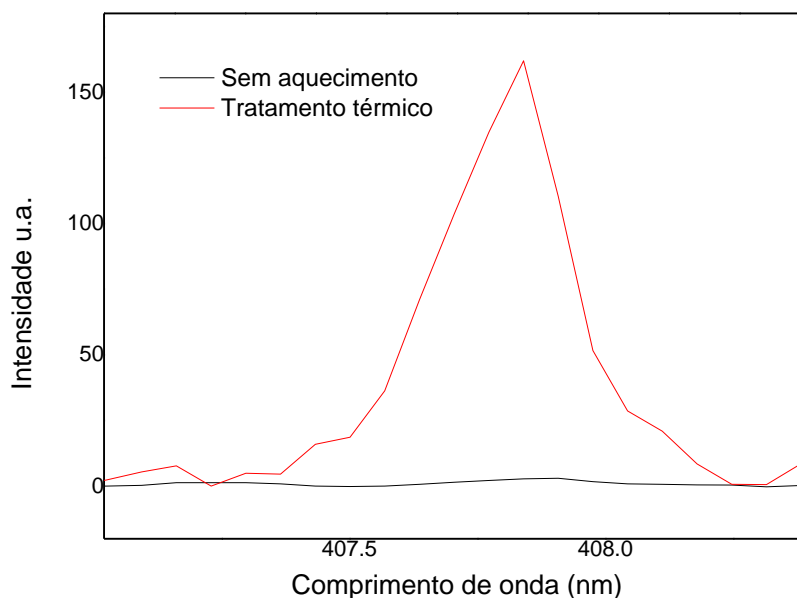


Figura 8 - Espectros médios ($n=3$) para a linha de Sr iônico em 407,82 nm para a amostra de folha de laranjeira sem tratamento térmico e aquecido à temperatura de 600 °C, razão de aquecimento de 30 °C min^{-1} e tempo de residência de 20 minutos.

Fonte: Autora

Como foi verificado o aparecimento de novos picos além do aumento das intensidades, as intensidades totais de emissão foram calculadas para a amostra vegetal de forma a se analisar o efeito do tratamento térmico em toda região espectral. Os resultados das médias das intensidades totais de emissão com seus respectivos desvios em função dos experimentos delineados pelo planejamento experimental são mostrados na Figura 9.

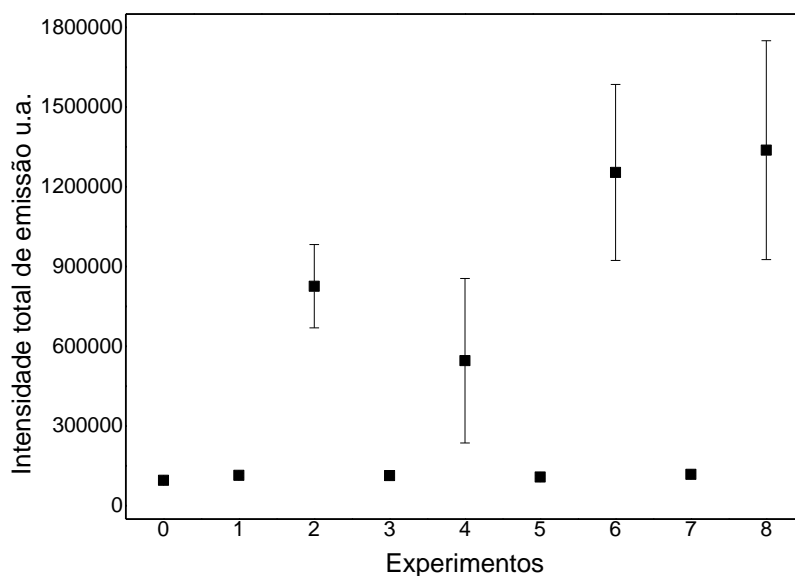


Figura 9 - Intensidades totais de emissão ($n= 3$) para a amostra de folha de laranja sem tratamento térmico (Experimento 0) e correspondentes aos experimentos 1 a 8 do planejamento fatorial.

Fonte: Autora

Os experimentos 2, 4, 6 e 8 apresentaram os maiores valores de área para os picos dos elementos monitorados no planejamento experimental e como pode ser observado na Figura 10, maiores aumentos nas intensidades totais de emissão. Esses experimentos têm em comum a temperatura igual a 600 °C, o que condiz com a informação extraída dos gráficos de efeitos principais onde se observa que a temperatura é a variável que provoca maior efeito para obtenção dos sinais analíticos. Nesses experimentos, observa-se também que as intensidades totais de emissão possuem maiores desvios comparados aos outros experimentos (0, 1, 3, 5 e 7) o que se deve à heterogeneidade das amostras, já que nesses casos houve maiores perdas de massa, como indicado na Tabela 7, sendo estas perdas compensadas com incorporação de amido de milho; como a amostragem no LIBS é muito pequena, em torno de nanogramas, a grande quantidade de amido adicionado gerou amostras mais heterogêneas provocando o aparecimento de desvios maiores.

Tabela 7 – Valores em porcentagem referentes às perdas de massa promovidas pelos tratamentos térmicos aplicados em cada experimento do planejamento fatorial

| Experimento | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|--------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Porcentagem de perda de massa | 3% | 89% | 2% | 84% | 2% | 90% | 3% | 88% |

Fonte: Autora

A análise de variância ANOVA em conjunto com o teste de Tukey mostrou que a 95% de confiança as intensidades totais de emissão dos experimentos 1, 3, 5 e 7 são semelhantes. Dentre esses, apenas o experimento 5 não mostrou diferença significativa da intensidade total de emissão comparado à amostra sem aquecimento. Também foi possível verificar que não houve diferença estatística entre as intensidades totais de emissão dos experimentos 2, 4, 6 e 8 já que os maiores valores possuem também os maiores desvios padrões.

Os resultados desses experimentos indicam que o tratamento térmico em mufla a altas temperaturas para esse tipo de amostra ocasiona a perda da matéria orgânica e uma fragilização estrutural da amostra, permitindo que os elementos não voláteis fiquem mais disponíveis, como um “pré-breakdown”, assim, a energia fornecida pelo laser provavelmente torna-se mais direcionada para os processos de excitação.

Cabe ressaltar que, para a avaliação proposta, as diluições das amostras foram consideradas de acordo com as perdas de massa, com o objetivo de avaliar unicamente o efeito do tratamento térmico sobre o aumento da sensibilidade. Contudo, a utilização do pré-tratamento térmico em mufla para amostras vegetais pode ser usada conjuntamente com os efeitos de pré-concentração para determinações, sem a preocupação de diluir a amostra, desde que o analito não seja perdido por volatilização e se conheça a proporção de perda de massa devido ao aquecimento. A utilização conjunta dos dois efeitos permitirá aumento ainda maior na sensibilidade.

5.1.2 Liga de aço carbono

A determinação elementar em ligas é importante para o controle de qualidade desses materiais, já que a presença de alguns componentes pode influenciar nas propriedades do material, como resistência mecânica, resistência à corrosão, condutividade térmica e elétrica (VRENEGOR, NOLL E STURM, 2005). A análise química dos aços objetiva principalmente a determinação de impurezas e componentes de dopagem (ZAYTSEV, 2014).

A liga de aço carbono utilizada no trabalho é composta principalmente por carbono e ferro, apesar de apresentar outros elementos certificados. O espectro de emissão de amostras contendo ferro é muito rico em linhas de emissão, as quais aparecem por toda região espectral monitorada. Essas linhas interferem nas linhas de emissão de outros elementos e dificultam a atribuição das demais linhas. Considerando a impossibilidade de avaliar outras linhas além das de Fe, uma linha desse elemento, livre de interferência espectral provocada pelos possíveis componentes da amostra, foi escolhida para se determinar o aumento da sensibilidade provocada pelo tratamento térmico em mufla. Além disso, a influência do tratamento térmico também foi avaliada através das intensidades totais de emissão. A Figura 10 mostra o aspecto físico da liga metálica sem aquecimento e depois da aplicação do tratamento térmico.

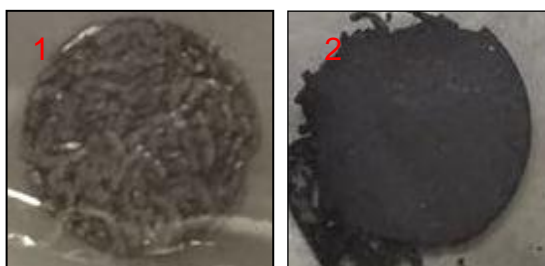


Figura 10 - Liga de aço carbono antes (1) e depois (2) do tratamento térmico.

Fonte: Autora

Para a linha de Fe atômico em 489,22 nm, o valor da área de pico da amostra submetida ao aquecimento à 1000 °C corresponde a 8 vezes o valor da área do pico da amostra sem tratamento térmico (Figura 11).

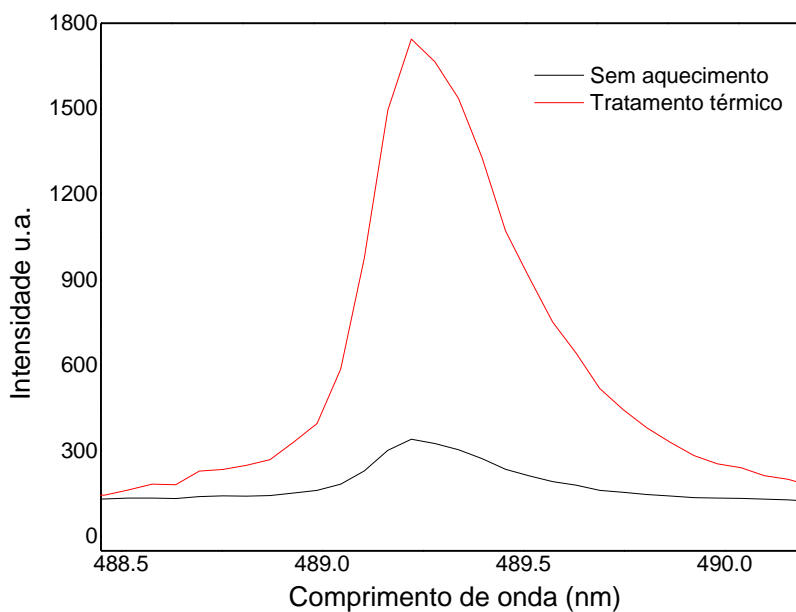


Figura 11 - Espectros médios (n=3) para a linha de Fe atômico em 489,22 nm para a amostra de aço carbono com e sem tratamento térmico.

Fonte: Autora

Os cálculos de intensidades totais de emissão foram feitos a fim de se comparar os espectros como um todo e verificar a contribuição do aumento de cada linha para um valor global.

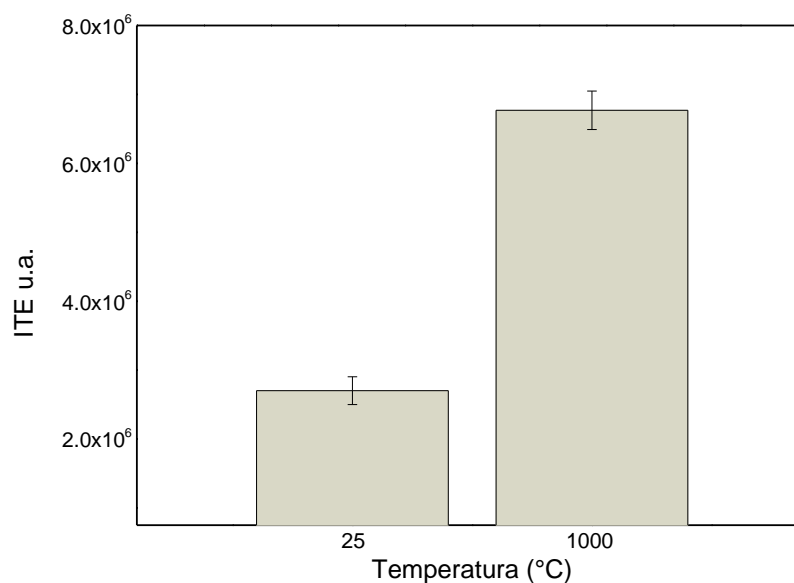


Figura 12 - Intensidades totais de emissão médias (n= 3) para a amostra de aço carbono com e sem tratamento térmico.

Fonte: Autora

Na Figura 12 são mostrados as médias e respectivos desvios padrão das intensidades totais de emissão dos espectros LIBS da amostra de aço sem e com tratamento térmico (Temperatura= 1000 °C). Para verificar se as diferenças observadas eram significativas foi aplicado o teste t a 95% de confiança que indicou diferença significativa entre as intensidades totais de emissão obtidas a partir das amostras sem e com tratamento térmico em mufla.

A Figura 13 é um diagrama de fases do ferro onde se observa que o aumento da temperatura promove modificações de fases.

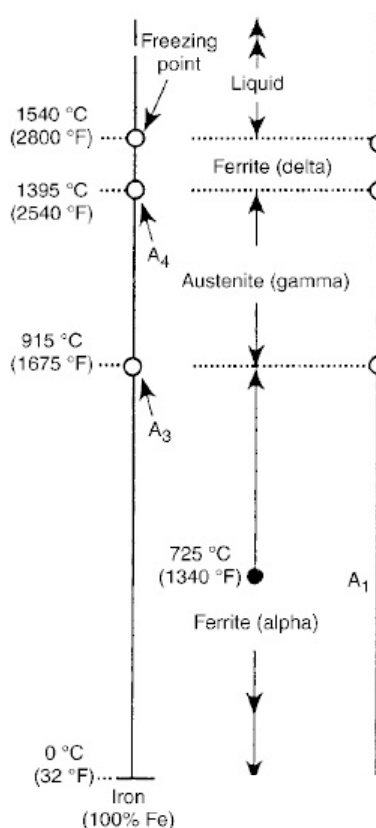


Figura 13 - Diagrama das estruturas cristalinas do ferro puro.

Fonte: Adaptado de DOSSET e BOYER (2016).

Quando a temperatura do ferro se encontra até de 700 °C, a fase predominante é a ferrita, de estrutura cristalina cúbica de corpo centrado. Com o aumento da temperatura, a estrutura cristalina do ferro passa a se tornar cúbica de face centrada (uma fase mais compacta), sendo que a mudança completa de fase ocorre a cerca de 925 °C, onde a fase do ferro é correspondente a fase austenita. Esse processo que envolve modificação estrutural do ferro é chamado de transformação, podendo ocorrer tanto no ferro puro quanto em suas ligas, sendo que

para cada composição de liga há uma temperatura de transformação característica (DOSSETT e BOYER, 2016).

A variação na razão de resfriamento pode influenciar nas propriedades do material obtido em um tratamento térmico. Para um processo de aquecimento onde há transformação de fase até a fase austenita, quando o resfriamento é lento o ferro tenta retornar à sua estrutura de corpo centrado; um resfriamento rápido pode não permitir a mudança molecular completa formando a fase martensite, que possui características como menor ductilidade e maior fragilidade (CONNOR et al., 2008).

Para afirmar que o tratamento térmico aplicado à liga (aquecimento e resfriamento) provocou a mudança de fase e qual fase é predominante, análises de caracterização do material resultante do aquecimento seriam necessárias, porém dentro do âmbito do trabalho, o emprego do tratamento térmico proposto atingiu o seu objetivo já que proporcionou um aumento de sensibilidade para análise de liga metálica que, apesar de não ser tão significativo quanto os aumentos verificados em análises de amostras de ligas por NE-LIBS, por exemplo, apresenta-se como uma alternativa mais simples.

O material obtido após aquecimento apresentou-se mais quebradiço, o que permitiu a produção de pastilhas mais compactas e possivelmente contribuiu para melhor ablação do material. Considerando que não ocorreu perda de massa do aço durante o tratamento térmico, conclui-se que os acréscimos nas intensidades totais de emissão se dão pela temperatura intrínseca ao tratamento aplicado que provavelmente ocasiona alterações estruturais na liga.

5.1.3 Solo

Um teste inicial foi feito para avaliação do tratamento térmico em mufla, utilizando temperatura de 800 °C, razão de aquecimento de 30 °C min⁻¹ e tempo de residência de 20 minutos. O tratamento térmico provocou um aumento discreto nas intensidades de emissão dos elementos que compõem esta amostra, em comparação à amostra vegetal, mas mesmo assim, um acréscimo foi verificado em toda região espectral, conforme pode ser observado na Figura 14 que mostra uma região ampliada do espectro.

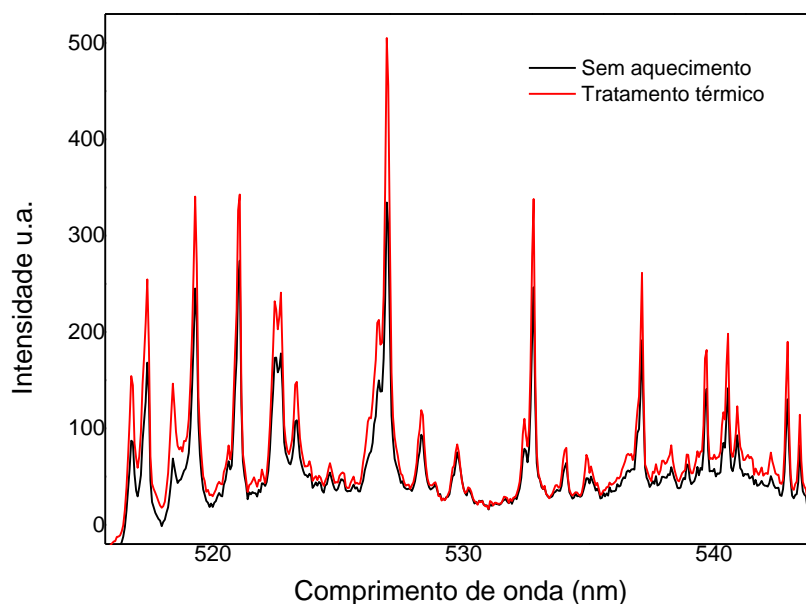


Figura 14 - Espectros médios de emissão ($n=3$) da amostra de solo sem tratamento térmico e com tratamento térmico (Temperatura= $800\text{ }^{\circ}\text{C}$, razão de aquecimento= $30\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e tempo de residência= 20 minutos) no intervalo de comprimento de onda de 515,70 nm a 544,08 nm.

Fonte: Autora

A amostra de solo não apresentou perda de massa considerável, sendo observado no máximo perdas de massa de 8%, entretanto, o amido de milho foi incorporado às amostras com a finalidade de descartar efeitos de pré-concentração.

A análise de solos permite conhecer a capacidade que um determinado solo tem de suprir nutrientes para as plantas antes do plantio, possibilitando verificar a fertilidade das terras, constituindo base imprescindível para a incorporação de corretivos e fertilizantes para aumentar a produtividade das culturas e, conseqüentemente a produção e a lucratividade das lavouras (CARDOSO; FERNANDES e FERNANDES, 2009). Desta forma, a ideia inicial foi avaliar linhas de emissão de elementos nutrientes. Contudo, os solos brasileiros apresentam em sua composição Fe e Ti e esses elementos podem ser excitados a um elevado número de diferentes níveis de energia no plasma LIBS. As diversas possibilidades de transição de elétrons desses elementos geram muitas linhas de emissão no espectro LIBS, as quais causam interferências espectrais na maioria das linhas dos elementos nutrientes. Considerando a dificuldade de isolar linhas de emissão de elementos nutrientes livres de interferência espectral, os elementos escolhidos para monitoramento do aumento na sensibilidade em amostra de solo foram Na, K e Ti.

Tendo observado que a temperatura de 800 °C ocasionava variações mais discretas nas intensidades e que a decomposição térmica de constituintes da fração mineral dos solos, como a maioria dos carbonatos, ocorre acima de 600 °C (PALLASER et al, 2013), para o estudo multivariado decidiu-se considerar essa temperatura como nível mínimo e como nível máximo o valor de 1000 °C. Os valores escolhidos como níveis máximo e mínimo para as variáveis razão de aquecimento e tempo de residência foram semelhantes aos valores definidos no planejamento fatorial da amostra de material vegetal pelos mesmos motivos: nível máximo de tempo de permanência de 20 minutos para um menor tempo possível de preparo de amostra e nível máximo de razão de aquecimento igual a 30 °C min⁻¹ devido à limitação da mufla.

A análise do planejamento experimental, considerando como respostas as áreas de pico individuais dos elementos seleccionados, gerou gráficos de efeitos principais, os quais são mostrados na Figura 15 (a-c).

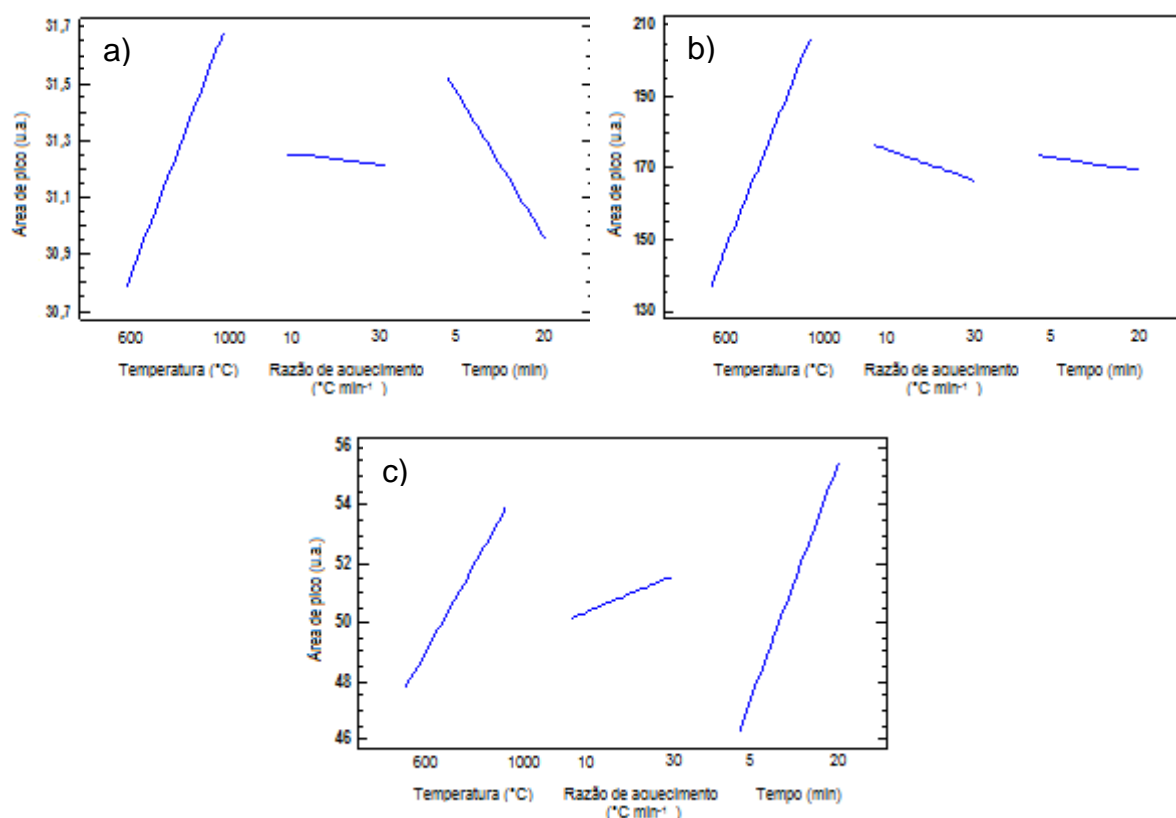


Figura 15 - Gráficos de efeitos principais para a temperatura, razão de aquecimento e tempo de residência considerando como resposta as áreas de a) potássio, b) sódio, c) titânio.

Fonte: Autora

No caso da amostra de solo, a temperatura teve efeito significativo a 95% de confiança apenas para o Na, sendo que para os outros elementos, mesmo a temperatura não tendo efeito significativo, a tendência observada é que os sinais analíticos aumentam com o aumento da temperatura. A razão de aquecimento assim como o tempo de permanência não tiveram efeitos significativos para o aumento da sensibilidade de nenhum elemento a 95% de confiança.

A análise do planejamento fatorial realizado indicou a temperatura como a variável de aquecimento que causou maior influência para aumento da sensibilidade, pois os experimentos 2, 4, 6 e 8 (que têm em comum temperatura igual a 1000 °C) forneceram os maiores valores de área de pico para todos os elementos monitorados. Considerando as condições experimentais do experimento 6, o qual proporcionou os maiores valores de área, a linha referente ao Na atômico em 589,89 nm teve sua área de pico calculada, sendo que o seu valor corresponde a aproximadamente 4 vezes o valor da área do pico da amostra sem tratamento térmico (Figura 16). Esse aumento não foi tão pronunciado quanto o observado para a amostra vegetal, entretanto deve ser considerado.

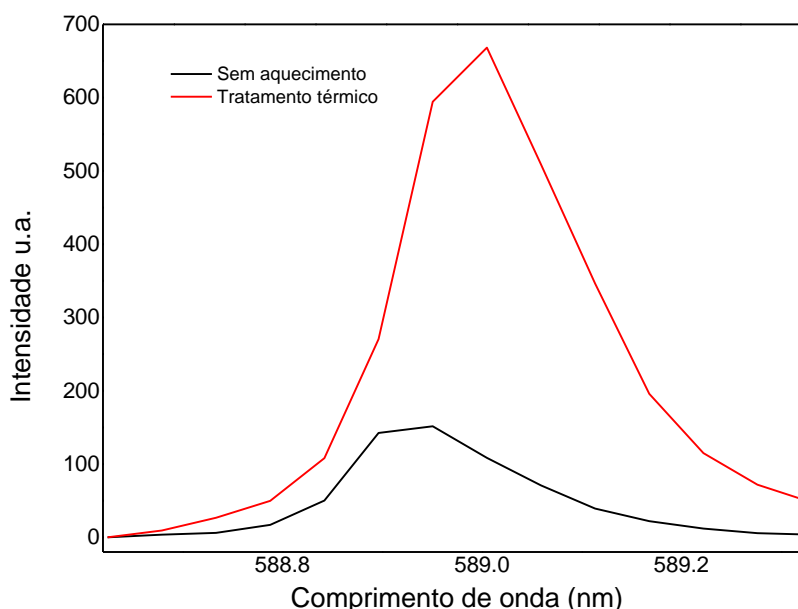


Figura 16 - Espectros médios ($n=3$) para a linha de sódio atômico em 588,89 nm para a amostra de solo sem tratamento térmico e aquecido à temperatura de 1000°C, razão de aquecimento de 10°C min⁻¹ e tempo de residência de 20 minutos.

Fonte: Autora

A área correspondente ao pico de Ti monitorado com aplicação do tratamento térmico apresentou um valor correspondente a 1,8x o valor da área do mesmo sinal obtido no espectro da amostra sem aquecimento e a área da linha de potássio na amostra aquecida corresponde a 4x o valor da área do pico da amostra sem aquecimento.

A situação de compromisso para maximização simultânea das emissões de Ti, Na e K também foi avaliada. Os resultados obtidos indicaram que a condição ideal nesse caso é a utilização da temperatura em seu nível máximo (1000 °C), razão de aquecimento também em nível máximo (30 °C min⁻¹) e tempo de aquecimento de 9 min. Esses resultados sugerem que as amostras que apresentam baixos teores de matéria orgânica, como o solo, tem sua sensibilidade aumentada com a aplicação de tratamentos térmicos, porém demandam maiores temperaturas para a fragilização estrutural da matriz.

As intensidades totais de emissão também foram calculadas para a amostra de solo e os resultados são mostrados na Figura 17.

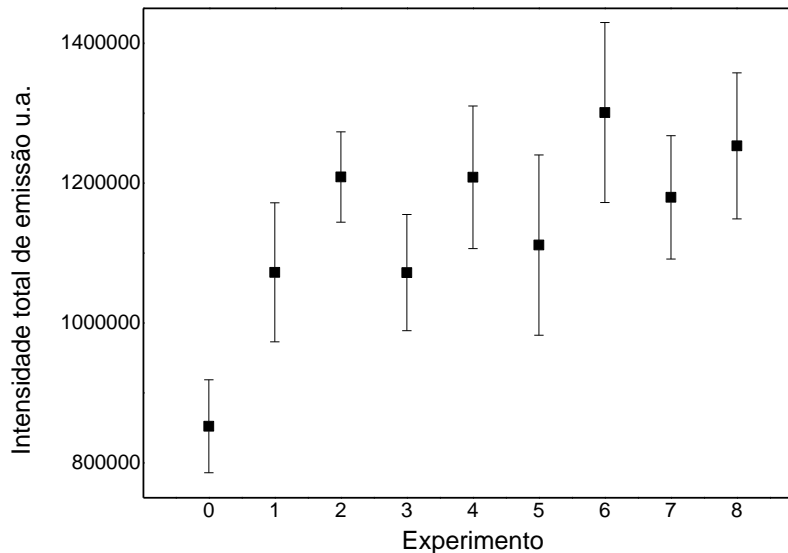


Figura 17 - Intensidades totais de emissão médias (n= 3) para a amostra de solo sem tratamento térmico (Experimento 0) e correspondentes aos experimentos do planejamento fatorial.

Fonte: Autora

Como a perda de massa nesses experimentos foi menor e similar para todos os casos, observa-se que as intensidades totais de emissão possuem desvios

semelhantes, uma vez que a massa de amido adicionada é pequena e a amostra final é mais homogênea.

Para a amostra de solo, a aplicação da estratégia para aumento da sensibilidade provocou variações menos pronunciadas que as observadas para as amostras de folha e de liga metálica. Diferentemente da estratégia de Liu e colaboradores (2012) em que utilizando-se de MA-LIBS para análise de solo foi possível a determinação de elementos que não forneciam sinais para análise em LIBS de pulso único, a aplicação do tratamento térmico nesse tipo de amostra não possibilitou o aparecimento de novas linhas de emissão, porém a estratégia de aquecimento em forno mufla é uma estratégia válida para aumentar a sensibilidade nesse tipo de amostra.

Infere-se que devido à presença de estruturas cristalinas na amostra de solo, o efeito provocado pelo tratamento térmico seja também de mudança de fase, que permite a fragilização do material resultando na melhora dos sinais obtidos em análise por LIBS.

5.2 Tratamento térmico em micro-ondas

As micro-ondas são ondas eletromagnéticas que interagem com íons dissolvidos e com solvente de um material provocando migrações iônicas e rotação de dipolos que resultam em aumento considerável da temperatura. Apesar da radiação micro-ondas não ser suficiente para romper ligações, o aquecimento por radiação micro-ondas envolve a direta absorção de energia pelo material que está sendo aquecido, sendo essa conversão de energia *in situ* dependente das propriedades das moléculas do material (KRUG, 2010).

Em comparação com a estratégia anterior, o tratamento térmico em forno micro-ondas doméstico convencional seria uma alternativa com maior simplicidade e rapidez para aumento de sinais. Tendo em vista o resultado positivo obtido pelo tratamento térmico em forno mufla para aumento de sensibilidade, essa outra estratégia foi avaliada a fim de verificar se os processos provocados pelo aquecimento micro-ondas resultariam em mudanças estruturais de forma que fossem observados aumentos nas intensidades dos sinais.

A amostra empregada no tratamento térmico em mufla foi a de folha de laranjeira, já que esta possui água em sua composição possibilitando o seu aquecimento.

Foram alocados na parte interior do forno micro-ondas dois kitassatos com solução de glicerina para que a condição experimental atendesse à recomendação do manual do equipamento, em que orientava-se a utilização de um volume mínimo de 200 mL ou uma massa mínima de 200 g, para evitar que a radiação emitida não absorvida pela amostra (radiação remanescente) danificasse o magnetron do forno. A utilização da glicerina se baseia no fato de que a adição desse solvente aumenta a temperatura de ebulição da água, permitindo um tempo maior de aquecimento. Em todas as condições de aquecimento avaliadas foi precatado que ao término do tratamento restasse no mínimo 200 mL de solução de glicerina nos frascos.

Foram avaliadas diferentes concentrações para a solução de glicerina tendo em vista o objetivo de maximizar o tempo de aquecimento. A concentração fixada de 20% (v/v) de glicerina permitiu até 20 minutos de aquecimento em potência máxima. Concentrações superiores não foram utilizadas porque a solução de glicerina tinha a sua temperatura muito elevada já na concentração de 20%, o que também poderia danificar o micro-ondas já que este estaria trabalhando em temperaturas internas muito mais elevadas do que as convencionais.

O tempo foi fixado em 20 minutos, na condição máxima possível permitida pela utilização da solução de glicerina, de forma que a amostra pudesse interagir com a radiação emitida e o tempo total da etapa sugerida de pré-tratamento não acarretasse a adição de uma etapa muito morosa e de maior duração comparada as já estabelecidas para o tratamento em mufla.

A potência do equipamento também não foi variada, utilizando-se apenas 100%, de modo que seria aplicada a condição mais extrema de aquecimento com essa configuração experimental.

Durante o tratamento térmico das folhas no forno de micro-ondas, as mesmas foram envoltas por papel absorvente a fim de que a água perdida durante aquecimento fosse drenada e de que a amostra não tivesse contato direto com o vapor advindo da solução de glicerina. Após os aquecimentos as amostras foram novamente pesadas e a porcentagem média de perda de massa foi de 60%. A ilustração do aquecimento em microondas está apresentado na Figura 18.



Figura 18 - Configuração experimental do aquecimento realizado em micro-ondas.

Fonte: Autora

As amostras com e sem tratamento térmico foram liofilizadas e depois novamente pesadas. Para a amostra que passou pelo tratamento térmico não houve perda de massa por liofilização, indicando que uma desidratação completa da amostra foi obtida durante o aquecimento em micro-ondas. Por outro lado, a amostra das folhas *in natura* perdeu cerca de 40% em massa após o processo de liofilização, sendo esse processo de secagem necessário para que se pudesse realizar a moagem criogênica da amostra. Assim, os 20% referentes à diferença de massa perdida no tratamento térmico foram repostos na forma de amido de milho na amostra submetida ao tratamento por micro-ondas. Esse procedimento evitou avaliar conjuntamente o efeito do tratamento térmico e o efeito da pré-concentração. Na Figura 20 são mostrados os espectros das amostras sem e com tratamento térmico em forno de micro-ondas em uma região ampliada do espectro.

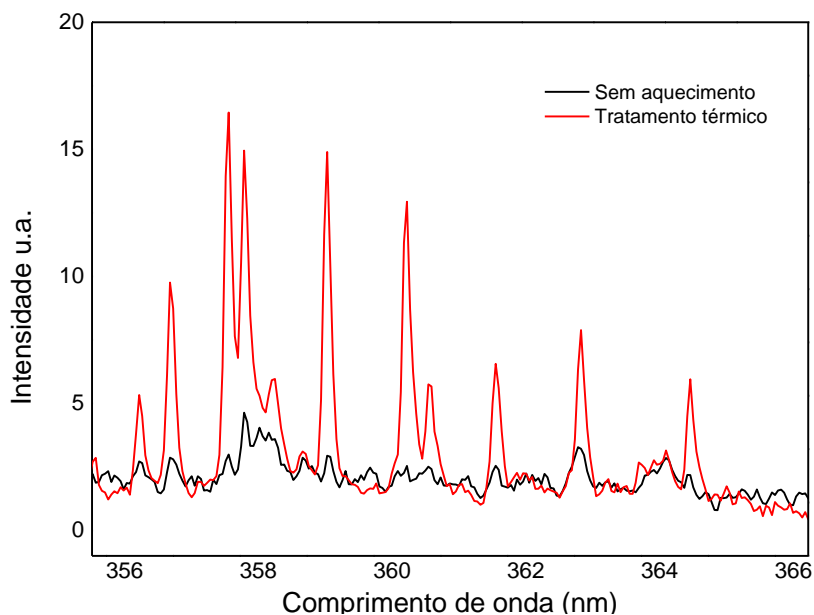


Figura 19 - Espectros médios de emissão ($n=3$) da amostra de folha de laranja sem aquecimento e com tratamento térmico em micro-ondas no intervalo de comprimento de onda de 355,79 nm a 366,50 nm.

Fonte: Autora

Como pode ser verificada na Figura 19, a amostra com tratamento térmico em micro-ondas apresentou maiores valores de intensidade em várias linhas da região selecionada do espectro.

Para esta estratégia de aumento de sensibilidade não foi feito planejamento fatorial para otimização das condições experimentais, pois apesar da melhora obtida ao analisar a soma das intensidades dos sinais de toda a região espectral, foi possível observar que em algumas das linhas de emissão do espectro não houve variação significativa de intensidade, de forma que a melhora na intensidade de emissão não foi verificada em toda região espectral como mostra a Figura 20.

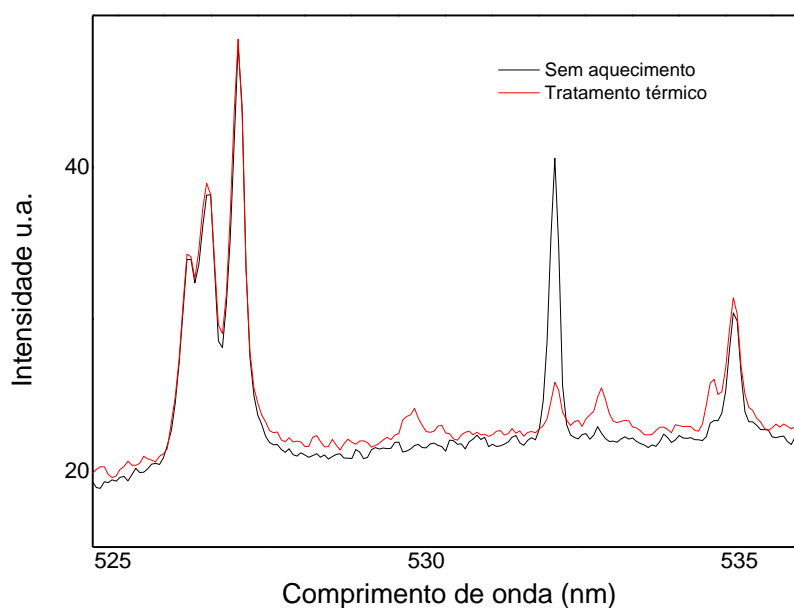


Figura 20 - Espectros de emissão médios ($n=3$) da amostra de folha de laranjeira sem aquecimento e com tratamento térmico em micro-ondas no intervalo de comprimento de onda de 524,67 nm a 536,06 nm.

Fonte: Autora

A proposição de que a variação nas intensidades está relacionada à simplificação de estruturas presentes nas amostras relaciona-se à fragilização das interações intra e intermoleculares pela ação do calor. Assim, como a condição mais extrema de aquecimento não permitiu a melhora na obtenção de todos os sinais, condições de menor fornecimento de calor não foram avaliadas.

A fim de se avaliar o efeito provocado pelo tratamento térmico em micro-ondas de forma geral em toda região espectral, as intensidades totais de emissão foram calculadas como indicadas na Figura 21.

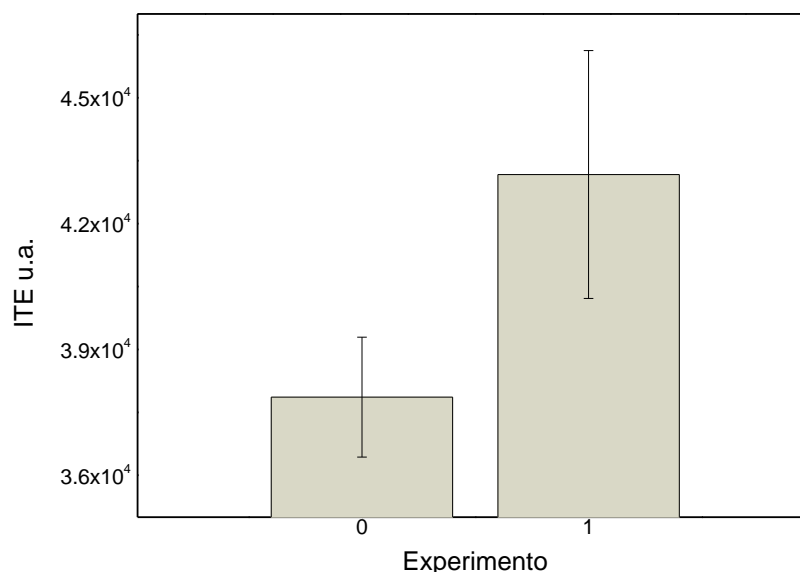


Figura 21 - Intensidades totais de emissão médias ($n= 3$) para a amostra de folha de laranjeira sem tratamento térmico (Experimento 0), com aquecimento por micro-ondas (Experimento 1).

Fonte: Autora

A análise do teste t mostrou que a 95% de confiança os valores das intensidades totais de emissão são significativamente diferentes, o que indica que o efeito produzido pelas radiações micro-ondas para aquecimento da amostra provocou alguma modificação estrutural que facilitou os processos de quebra, resultando em aumento da sensibilidade. Em comparação à estratégia de aquecimento em mufla, o aquecimento micro-ondas é mais simples e de fácil acesso, porém oferece incrementos de intensidade menos pronunciados e pode ser utilizado apenas em amostras que apresentem possibilidade de interação com a radiação emitida para sofrer aquecimento efetivo.

5.3 Avaliação da incorporação de fundente

No trabalho de Santos e colaboradores (2006), foi verificado que a introdução de metaborato de lítio e carbonato de sódio, os quais os autores denominaram modificadores químicos, provocava aumento na sensibilidade de elementos, como Al, Ca, Fe, K, Mg, P, Si e Ti presentes em argilas e materiais refratários em síntese mecanoquímica para análise por ICP-OES (do inglês, Inductively coupled plasma optical emission spectrometry) sendo que o aumento da sensibilidade é relacionado à produção de novos compostos nas amostras quando estas são acrescidas de

Na_2CO_3 ou LiBO_2 na etapa de moagem. Uma característica em comum dos modificadores utilizados no trabalho de Santos e colaboradores, é que eles possuem a propriedade de fundente. Fundentes são substâncias que possuem eletrólitos ácidos ou básicos que são adicionados em proporções definidas à amostras moídas e levadas a aquecimento em cadinho até dissolução total da amostra e o material obtido depois de resfriado a temperatura ambiente deve ser solúvel em água ou ácido diluído (KRUG, 2010).

Em se tratando da técnica LIBS, Morais (2016) verificou a melhora dos sinais de emissão obtidos em amostra de biocarvão com a introdução de sais de KCl, Li_2CO_3 e NaCl, em que o aumento de sensibilidade foi atribuído a presença dos elementos K, Li e Na que devido a sua baixa energia de ionização aumenta a densidade eletrônica do plasma e conseqüentemente a energia térmica disponível para excitação das espécies presentes no plasma.

Considerando os estudos anteriormente descritos, no presente trabalho decidiu-se avaliar a ação de Na_2CO_3 sobre o aumento da sensibilidade das medidas por LIBS de amostra de solo. Para entender se um possível aumento nas intensidades de emissão ocorreria devido à ação modificadora do fundente Na_2CO_3 ou devido à presença do cátion Na^+ , conforme observado por Morais (2016), a avaliação também foi conduzida utilizando o NaCl. O experimento foi planejado de forma a manter a concentração do cátion constante nas amostras, independentemente do sal adicionado, para evitar a consideração apenas do efeito do elemento facilmente ionizável, caso houvesse aumento da sensibilidade. O solo foi escolhido como amostra por apresentar composição rica em silicatos refratários, onde o emprego de Na_2CO_3 seria indicado como fundente. Uma amostra contendo amido de milho em lugar dos sais também foi analisada para fins comparativos.

As respostas analíticas avaliadas para observar o efeito da adição do modificador foram cálculos das áreas Lorentz das linhas de Fe atômico em 438,46 nm e cálculo das intensidades totais de emissão para toda região espectral, como mostrado nas Figuras 22 e 23.

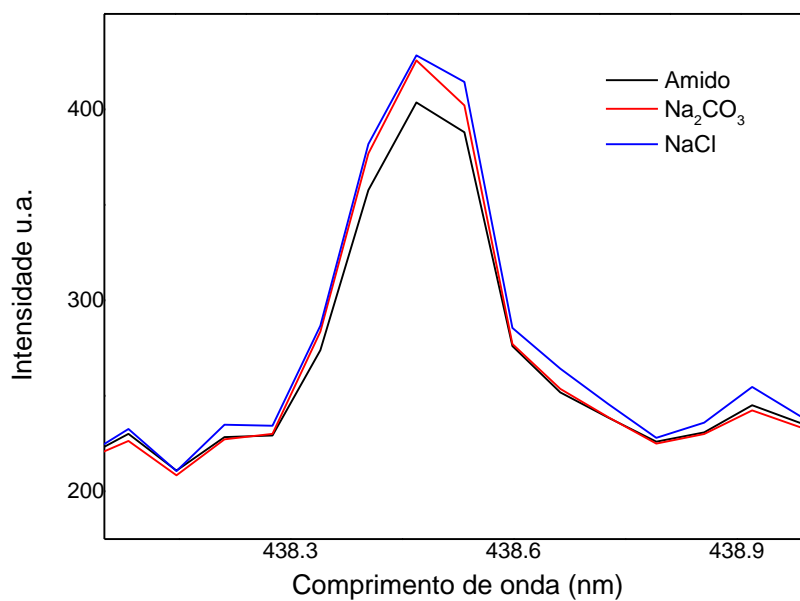


Figura 22 - Espectros médios ($n= 3$) para a linha de ferro atômico em 438,46 nm para a amostra de solo com adição de amido, carbonato de sódio e cloreto de sódio.

Fonte: Autora

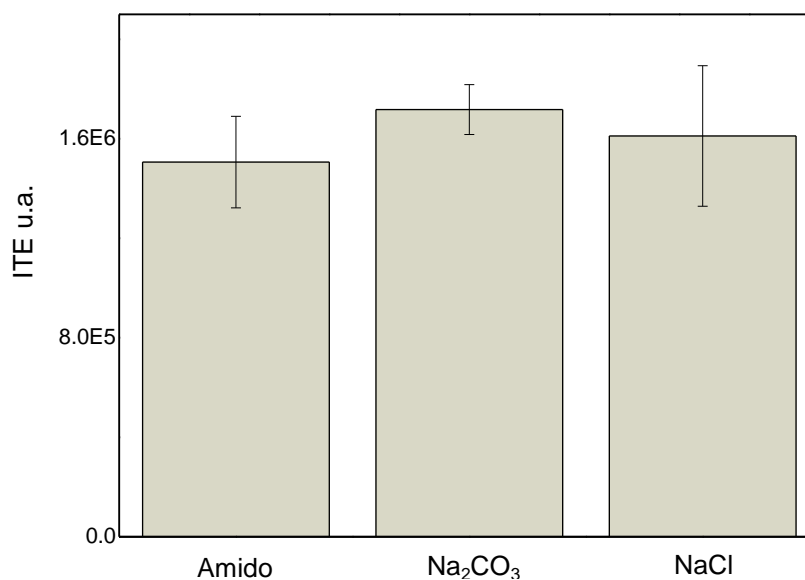


Figura 23 - Intensidades totais de emissão médias ($n= 3$) para a amostra de solo com adição de amido, carbonato de sódio e cloreto de sódio.

Fonte: Autora

Ambas as formas de avaliação indicaram que não há diferença estatística à 95% de confiança entre as amostras com as adições dos sais e a amostra com

adição de amido. Conclui-se nesse caso, que independente do sal adicionado, seja ele fundente ou não, não há melhora na sensibilidade da análise de solo por LIBS, que pode estar relacionado a propriedades desse tipo de amostra.

5.4 Método Quantitativo para determinação de Sr em material foliar

Com o objetivo de exemplificar a potencialidade da estratégia estudada para análises quantitativas, o tratamento térmico em mufla de material vegetal foi selecionado para determinação de Sr. Conforme mostrado nos resultados descritos no item 5.1.1, a linha de Sr iônico em 407,82 nm não apresentava pico definido antes da aplicação do tratamento térmico, sendo que com a utilização da estratégia foi possível sua identificação. Dessa forma, um método quantitativo baseado na determinação de Sr em material foliar foi desenvolvido considerando a referida linha de emissão.

O método escolhido para construção da curva analítica foi a compatibilização de matriz, tendo em vista que a estratégia de aumento de sensibilidade empregada altera significativamente a matriz e também que a tentativa de utilização de outros materiais (como celulose) impregnados de solução padrão, não respondiam aos materiais vegetais aquecidos. Assim, construiu-se a curva de calibração a partir de um material certificado de folha de espinafre que continha Sr em concentração de 55,6 mg kg⁻¹. O material foi submetido ao tratamento térmico em mufla sob as condições previamente otimizadas para folhas de laranjeira.

Uma primeira diluição do material foi realizada logo após o tratamento térmico, utilizando celulose. Essa diluição teve por objetivo repor a massa perdida e assim manter a concentração de Sr correspondente à certificada. Na sequência, novas diluições foram feitas, também empregando celulose, para produção de padrões de calibração, cujas concentrações variaram de 9 a 45 mg kg⁻¹. O branco da curva analítica foi obtido utilizando celulose pura.

Embora a compatibilização de matriz tenha sido utilizada, os modelos de calibração baseados em correlação linear entre área ou intensidade de pico com as concentrações de Sr nos padrões, não foram satisfatórios para a predição da concentração desse elemento no material certificado de folha de maçã. Dessa forma, decidiu-se normalizar o sinal de Sr para obtenção do modelo de calibração. Para essa normalização selecionou-se o sinal de emissão molecular diatômico de

CN (1.1) a 387,1 nm, a partir das seguintes considerações: i) a quantidade de carbono contida nas cinzas após o tratamento térmico dos materiais foliares é aproximadamente a constante; ii) quantidades de carbono provenientes da celulose total adicionada são aproximadamente constantes; iii) a quantidade de nitrogênio na atmosfera analítica é aproximadamente constante; iv) o sinal de emissão de CN selecionado é formado por processos recombinativos entre C da amostra e N da atmosfera analítica.

A curva analítica obtida considerando áreas sob as linhas de emissão de Sr II normalizadas pela linha de CN pode ser observada na Figura 24.

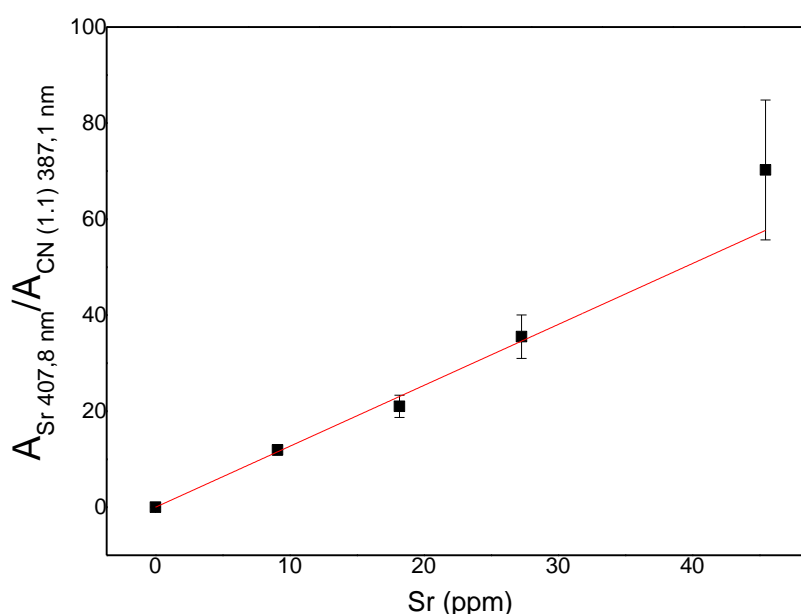


Figura 24 – Curva analítica de Sr obtida por meio da razão entre as respostas da área da linha de emissão do Sr em 407,8 nm e do CN (1.1) em 387,1 nm.

Fonte: Autora

Os resíduos do modelo ajustado para a curva analítica, bem como sua linearidade e inclinação foram avaliadas aplicando-se ANOVA. O coeficiente de correlação da curva obtida foi de 0,997, sensibilidade igual a 1,27 kg mg⁻¹ (coeficiente angular), faixa linear de 9,09 mg kg⁻¹ a 45,45 mg kg⁻¹ e limites de detecção e quantificação de 4,23 mg kg⁻¹ e 14,09 mg kg⁻¹, respectivamente. Para validação do método proposto, utilizou-se o material de referência de folha de maçã. O mesmo tratamento térmico foi aplicado e a perda de massa também foi compensada com celulose. A concentração de Sr encontrada para o material de referência de folha de maçã foi de 25,6 ± 6,1 mg kg⁻¹, enquanto que a concentração

certificada é de $25 \pm 2 \text{ mg kg}^{-1}$. Esses valores são concordantes ao nível de confiança de 95% (teste t pareado).

6 CONCLUSÕES

A hipótese de que a temperatura poderia causar alterações na amostra e conseqüentemente melhorar o desempenho da análise por LIBS foi comprovada para os diferentes tipos de amostra estudados utilizando o aquecimento em mufla, e para amostra vegetal utilizando também aquecimento por energia micro-ondas.

A intensidade dos efeitos observados, bem como a importância dos fatores avaliados variou de acordo com as características de cada amostra estudada. Os experimentos com aquecimento em mufla mostraram que para amostras com maiores teores de matéria orgânica, como as folhas, pode-se obter um considerável aumento da sensibilidade utilizando temperaturas da ordem de 600 °C e tempos de permanência nessas temperaturas da ordem de 20 min, priorizando também a velocidade com que se atingem os 600 °C. Para amostras de solo, temperaturas superiores às utilizadas para material vegetal são necessárias para aumento da sensibilidade dos sinais, enquanto a razão de aquecimento e o tempo de permanência poderiam ser fixados em níveis menores. O tratamento térmico também promoveu alterações estruturais da amostra de aço carbono, as quais favorecem a melhora da sensibilidade na análise por LIBS.

Apesar do efeito de pré-concentração ter sido corrigido pela diluição das amostras durante a avaliação dos tratamentos térmicos, esse efeito pode ser utilizado em conjunto com o efeito de aquecimento para avaliação de espécies não voláteis aumentando ainda mais a sensibilidade das amostras que perdem massa durante o tratamento.

A adição de sais de sódio, NaCl e Na₂CO₃ sendo este um material usado como fundente de amostras com alto teor de silicatos, não influenciou a sensibilidade de análise de solo em LIBS.

Utilizando-se da estratégia que produziu maior incremento nas intensidades de emissão, foi desenvolvido um método quantitativo para determinação de Sr em amostras de tecidos foliares. Os resultados evidenciaram que a estratégia de aquecimento foi essencial para viabilização do método, uma vez que os sinais de Sr não eram observados nos espectros das amostras *in natura* e que a compatibilização de matriz, aliada à procedimentos de normalização do sinal analítico foram necessários para atingir a exatidão.

REFERÊNCIAS

- BAGNATO, V. S. Os fundamentos da luz laser. **Física na Escola**, v. 2, n. 2, p. 4-9, 2001.
- BOL'SHAKOV, A. A.; MAOB, X.; RUSSO, R. E. Spectral emission enhancement by an electric pulse for LIBS and LAMIS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 32, p. 657-670, 2017.
- CARDOSO, E. L.; FERNANDES, A. H. B. M.; FERNANDES, F. A. Análise de solos: finalidade e procedimentos de amostragem. **Comunicado Técnico/Embrapa Pantanal**, n. 79, dez. 2009. Disponível em: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/download.php?arq_pdf=COT79>. Acesso em: 12 jan. 2017.
- CARVALHO, G. G. A. et al. Evaluation of laser induced breakdown spectrometry for the determination of macro and micronutrients in pharmaceutical tablets. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, p. 803-809, 2010.
- CARVALHO, G. G. A. et al. Effects of laser focusing and fluence on the analysis of pellets of plant materials by laser-induced breakdown spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 74/75, p. 162-168, 2012.
- CHAN, S. Y.; CHEUNG, N. H. Analysis of solids by laser ablation and resonance-enhanced laser-induced plasma spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 72, p. 2087-2092, 2010.
- CONNOR, R. J.; URBAN, M. J.; KAUFMANN, E. J. Appendix D: proposed revisions to FHWA manual. In_____. **Development of a recommended practice for use of controlled low-strength material in highway construction**. Washington, DC: Transportation Research Board, 2008. p. 119-128. (National cooperative highway research program, report 604).
- CORREIA, P. R. M. et al. Espectrometria de absorção atômica multielementar: desafios e perspectivas. **Revista Analytica**, v. 5, n. 11, p. 52-59, 2003.
- CREMERS, D. A.; RADZIEMSKI, L. J. **Handbook of laser-induced breakdown spectroscopy**. West Sussex: John Wiley & Sons, 2013.
- DE GIACOMO, A. et al. Nanoparticle-enhanced laser-induced breakdown spectroscopy of metallic samples. **Analytical Chemistry**, v. 85, p.10180-10187, 2013.
- DE GIACOMO, A. et al. Nanoparticle enhanced laser induced breakdown spectroscopy: effect of nanoparticles deposited on sample surface on laser ablation and plasma emission. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 98, p. 19-27, 2014.
- DE GIACOMO, A. et al. Nanoparticle enhanced laser-induced breakdown spectroscopy for microdrop analysis at subppm level. **Analytical Chemistry**, v. 88, p. 5251-5257, 2016.

DONG, D. et al. Ultrasensitive nanoparticle enhanced laser-induced breakdown spectroscopy using a super-hydrophobic substrate coupled with magnetic confinement. **Chemical Communications**, v. 53, p. 4546-4549, 2017.

DOSSETT, J. L.; BOYER, H. E. **Practical heat treating**. 2nd ed. Ohio: ASM International, 2016.

FORTES, F. J. et al. Laser-induced breakdown spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 85, p. 640-669, 2013.

GOUEGUEL, C. et al. Investigation of resonance enhanced laser-induced breakdown spectroscopy for analysis of aluminium alloys. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, p. 635-644, 2010.

HAO, Z. et al. Sensitivity improvement in the detection of V and Mn elements in steel using laser-induced breakdown spectroscopy with ring-magnet confinement. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 29, p. 2309-2314, 2014.

JANTZI, S. C. et al. Sample treatment and preparation for laser-induced breakdown spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 115, p. 52-63, 2016.

KHUMAENI, A. et al. The role of microwaves in the enhancement of laser-induced plasma emission. **Frontiers of Physics**, 2016. doi: 10.1007/s11467-016-0581-6.

KORAL, C. et al. Nanoparticle enhanced laser induced breakdown spectroscopy for improving the detection of molecular bands. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 125, p. 11-17, 2016.

KRUG, F. J. **Método de preparo de amostras**: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. Piracicaba, 2010.

LAVILLE, S. et al. Laser-induced fluorescence detection of lead atoms in a laser-induced plasma: an experimental analytical optimization study. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 25, p. 635-647, 2010.

LENNARD, C.; EL-DFTAR, M. M.; ROBERTSON, J. Forensic application of laser-induced breakdown spectroscopy for the discrimination of questioned documents. **Forensic Science International**, v. 254, p. 68-79, 2015.

LI, J. et al. Spatially selective excitation in laser-induced breakdown spectroscopy combined with laser-induced fluorescence. **Optics Express**, v. 25, n. 5, p. 4945-4951, 2017.

LIU, L. et al. Flame-enhanced laser-induced breakdown spectroscopy. **Optic Express**, v. 22, n. 7, p. 7686-7693, 2014.

LIU, L. et al. Laser-induced breakdown spectroscopy enhanced by a micro torch. **Optic Express**, v. 23, n. 11, p. 15047-15056, 2015.

LIU, Y. et al. Improvement of the sensitivity for the measurement of copper concentrations in soil by microwave-assisted laser-induced breakdown spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 73, p. 89-92, 2012.

MAIMAN, T. H. Stimulated optical radiation in ruby maser. **Nature**, v. 187, p. 493-494, 1960.

MIZIOLEK, A. W.; PALLESCHI, V.; SCHECHTER, I. **Laser induced breakdown spectroscopy (LIBS): fundamentals and applications**. New York: Cambridge University Press, 2006.

MORAIS, C. P. **Desenvolvimento de métodos para a determinação de macronutrientes em fertilizantes de biocarvão por LIBS**. 2016. 88 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2016.

OTHA, T. et al. Emission enhancement of laser-induced breakdown spectroscopy by localized surface plasmon resonance for analyzing plant nutrients. **Applied Spectroscopy**, v. 63, n. 5, p. 555-558, Feb. 2009.

PASQUINI, C. et al. Review laser induced breakdown spectroscopy. **Journal of the Brazil Chemical Society**, v. 18, n. 3, p. 463-512, 2007.

QI, L. et al. Double-pulse remote laser-induced breakdown spectroscopy analysis of magnesium alloys. **Journal of Computer and Communications**, v. 1, p. 36-39, 2013.

RADZIEMSKI, L. J. From laser to LIBS, the path of technology development. **Spectrochimica Acta, Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 57, n. 7, p. 1109-1113, 2002.

REZK, R. A. et al. Quantitative analysis of Cu and Co adsorbed on fish bones via laser-induced breakdown spectroscopy. **Optics & Laser Technology**, v. 83, p. 131-139, 2016.

RUNGE, E. F. et al. Spectrochemical analysis using a pulsed laser source. **Spectrochimica Acta**, v. 20, p. 733-736, 1964.

SALLÉ, B. et al. Laser-induced breakdown spectroscopy for Mars surface analysis: capabilities at stand-off distances and detection of chlorine and sulfur elements. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 59, p. 1413-1422, 2004.

SANTOS, M. C.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Clay and refractory materials slurries in inductively coupled plasma optical emission spectrometry: effects of mechanochemical synthesis on emission intensities of analytes. **Journal of the Brazil Chemical Society**, v. 16, n. 3A, p. 372-380, 2005.

SANTOS JÚNIOR, D. et al. Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) - fundamentos, aplicações e perspectivas. **Revista Analytica**, n. 24, p. 72-81, 2006.

SINGH, J. P.; THANKUR, S. N. **Laser-induced breakdown spectroscopy**. Amsterdam: Elsevier Science, 2007.

SLÁDKOVÁ, L. et al. Improvement of the laser-induced breakdown spectroscopy method sensitivity by the usage of combination of Ag-nanoparticles and vacuum conditions. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 127, p. 48-55, 2017.

TAMPO, M. et al. Enhancement of intensity in microwave-assisted laser-induced breakdown spectroscopy for remote analysis of nuclear fuel recycling. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 29, p. 886-892, 2014.

THOMAS, R. **Practical guide to ICP-MS**. New York: Marcel Dekker, 2004.

TREVISAN, L. C. et al. Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy for the determination of macronutrients in plant materials. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 63, p. 1151-1158, 2008.

VRENEGOR, J.; NOLL, R.; STURM, V. Investigation of matrix effects in laser-induced breakdown spectroscopy plasmas of high-alloy steel for matrix and minor elements. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 60, p. 1083-1091, 2005.

WEN, X. et al. Emission enhancement of laser-induced breakdown spectroscopy for aqueous sample analysis based on Au nanoparticles and solid-phase substrate. **Applied Optics**, v. 55, n. 24, p. 6706-6712, 2016.

WINEFORDNER, J. D. et al. Comparing several atomic spectrometric methods to the super stars: special emphasis on laser induced breakdown spectrometry, LIBS, a future super star. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 19, n. 9, p. 1061-1083, 2004.

ZAYTSEV, S. M. et al. Comparison of single- and multivariate calibration for determination of Si, Mn, Cr and Ni in highalloyed stainless steels by laser-induced breakdown spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 29, p. 1417-1424, 2014.

ZEL'DOVICH, Y. B.; RAIZER, Y. P. **Physics of shock waves and high-temperature hydrodynamic phenomena**. New York: Dover, 1965.