

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)
Instituto de Química

LUCAS LARA COELHO

AVALIAÇÃO DE MÉTODO DE CALIBRAÇÃO POR COMPATIBILIZAÇÃO DE
MATRIZ PARA DETERMINAÇÃO DE Ba EM CASTANHA-DO-BRASIL
EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA EM PLASMA INDUZIDO
POR LASER (LIBS)

ARARAQUARA

2019

LUCAS LARACOELHO

AVALIAÇÃO DE MÉTODO DE CALIBRAÇÃO POR COMPATIBILIZAÇÃO DE
MATRIZ PARA DETERMINAÇÃO DE Ba EM CASTANHA-DO-BRASIL
EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA EM PLASMA INDUZIDO
POR LASER (LIBS)

Monografia apresentada ao Instituto de
Química, da Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos
requisitos para obtenção do grau de Bacharel
em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Edilene Cristina Ferreira

Supervisora: Me. Maísa Cristina Lázaro

ARARAQUARA

2019

LUCAS LARA COELHO

AVALIAÇÃO DE MÉTODO DE CALIBRAÇÃO POR COMPATIBILIZAÇÃO DE
MATRIZ PARA DETERMINAÇÃO DE Ba EM CASTANHA-DO-BRASIL
EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA EM PLASMA INDUZIDO
POR LASER (LIBS)

Monografia apresentada ao Instituto de
Química, da Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos
requisitos para obtenção do grau de Bacharel
em Química.

Araraquara, 10 de dezembro de 2019.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof^a. Dr^a. Mirian Cristina dos Santos
Instituto de Química / UNESP / Araraquara – SP

Prof^a. Dr^a Marisa Spirandeli Crespi
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Data de nascimento: 27 de abril de 1995

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: São Paulo – SP

Filiação: Cláudia Estevam Lara Coelho

Mário Alves Coelho

Nome em Citações Bibliográficas: Coelho, L. L.

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, Mário Alves Coelho, e à minha mãe, Cláudia Estevam Lara Coelho, por todo o apoio, incentivo e liberdade recebido nesses anos, pelos seus esforços para que eu tivesse as oportunidades que tive. Sem eles, nada disso seria possível.

À minha avó, Amara Estevam, por desde cedo cultivar o cientista dentro de mim, e ainda que longe, estar sempre na torcida.

Ao meu avô, Mário Clementino Coelho, por ser nada menos que um exemplo a se seguir na vida.

À minha querida avó Maria Alves Coelho (in memoriam). “Se nunca mais voltares, pra ter fim os meus pesares. Guardarei teu vulto, então. Sempre no meu coração”

AGRADECIMENTOS

À família araraquarense que aqui me acolheram: Isabel Pecoraro Sanches, Luís Sanches e Sônia Regina Pecoraro; por receberem de braços abertos e oferecerem suas casas à um garoto da terra da garoa que, de um dia pro outro, veio parar nessa morada do sol.

À professora Edilene, que ainda como docente em espectroanalítica na graduação, teve uma excelente didática desde a primeira aula, facilitando o aprendizado. Por sua excelente e atenciosa orientação durante esse trabalho. Pelo carinho, paciência, ajuda e direção não somente para com o trabalho, mas também quando nesse ano devido às circunstâncias, as coisas ficaram de cabeça para baixo. Muito obrigado.

À doutoranda, e minha 'mãe de I.C.', Maísa, pelo acolhimento e por toda sua ajuda, paciência, simpatia e apoio no dia-a-dia, durante cada etapa do desenvolvimento deste trabalho (principalmente quando tudo parecia dar errado) e me ajudar a ver "o lado positivo das coisas". Não poderia ter pedido por alguém melhor.

Aos meus amigos pelo convívio e amizade durante esses longos anos, nas festas e no caos pré-provas, tornando essa experiência na graduação, sem sombra de dúvidas, algo melhor.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À Universidade Estadual Paulista (Unesp).

Ao Instituto de Química da Unesp, Campus de Araraquara, simbolizando aqui todos os professores, técnicos e funcionários.

Ao Laboratório e grupo de Espectroanalítica e Automação (GEA, IQ-Unesp/Araraquara).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

Sou muito grato pela sua colaboração direta ou indireta, para o desenvolvimento do presente trabalho.

“Viver a divina comédia humana, onde nada é eterno” Belchior

RESUMO

A castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) é um alimento de alto valor nutritivo, rico em proteínas, vitaminas, minerais e fibras. Entretanto, a presença de Ba em altas concentrações tem sido relatada para as castanhas-do-Brasil. Considerando o potencial de toxicidade desse elemento para o ser humano, ressalta-se a necessidade de métodos quantitativos para determinação do teor de Ba em amostras de castanhas-do-Brasil. Procedimentos de decomposição ácida para o preparo da amostra de castanha podem ser bastante complicados, considerando que a castanha-do-Brasil contém tipicamente 50-70% de lipídeos. Nesse trabalho a espectrometria de emissão óptica em plasma induzido por laser (LIBS) foi avaliada para a determinação de Ba em castanha-do-Brasil por ser uma técnica analítica que demanda mínimo preparo de amostra. Considerando os desafios para o estabelecimento de padrões de calibração para a análise por LIBS, a compatibilização de matriz foi objeto desse estudo. Estudos para otimização das condições analíticas foram conduzidos e três tipos de oleaginosas foram avaliados para compatibilização de matriz, sendo escolhida amêndoa para construção da curva analítica compatibilizada. Os resultados indicaram que o severo efeito de matriz não foi superado pela utilização do sinal de intensidade de Ba II em 455,49 nm e tampouco pela utilização do sinal normalizado do analito (I_{Ba}/I_{CN}), impedindo o desenvolvimento de método para a determinação proposta. A correlação entre os sinais Ba (com e sem normalização) e as concentrações de Ba, determinadas nas amostras pela técnica de referência, sugerem que uma curva analítica produzida a partir da própria castanha-do Brasil poderia ser uma das formas de superar o drástico efeito de matriz observado.

Palavras-chave: Castanha-do-Brasil, Ba; LIBS; calibração; compatibilização de matriz;

ABSTRACT

Brazil nuts (*Bertholletia excelsa*) is a high nutritional value food, rich in protein, vitamins, minerals and fiber. However, the presence of Ba at high concentrations has been reported for Brazil nuts. Considering the potential toxicity of this element to humans, it is emphasized the need for quantitative methods for Ba determination in Brazil nut samples. Acid decomposition procedures for the nuts sample preparation can be quite complicated considering that Brazil nuts typically contain 50-70% lipids. The Laser-induced plasma optical emission spectrometry (LIBS) was evaluated in this work, for the determination of Ba in Brazil nuts, because it is an analytical technique that requires minimal sample preparation. Considering the challenges for establishing calibration standards for LIBS analysis, matrix compatibility was the object of this study. Studies to optimize the analytical conditions were conducted and three types of oilseeds were evaluated for matrix compatibilization, and almond was chosen to build the compatibilized analytical curve. The results indicated that the severe matrix effect was not overcome by using the Ba II intensity signal at 455.49 nm or by using the standard analyte signal (IBa / ICN), preventing the development of a method for the proposed determination. The correlation between Ba signals (with and without normalization) and Ba concentrations, determined in the samples by the reference technique, suggests that an analytical curve produced from Brazil nuts could be one way to overcome the drastic effect of observed matrix.

Keywords: LIBS; calibration; matrix matching; Ba; Brazil nuts

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -Esquema típico e simplificado de um sistema LIBS	16
Figura 2 - (a) Triturador doméstico utilizado para pré-homogeneização e (b) almofariz e pistilo de ágata.....	20
Figura 3 - Configuração experimental do equipamento LIBS utilizado: 1) Fonte do laser; 2) laser; 3) câmara de amostragem; 4) sistema de aquisição de dados; 5) espectrômetros	22
Figura 4 - frascos utilizados para acondicionamento de padrões e amostras para análise por LIBS	24
Figura 5 - Comparação dos espectros LIBS da amostra de castanha e de uma pastilha contendo $BaCl_2 \cdot 2H_2O$	26
Figura 6 - Comparação da sensibilidade da emissão obtida por LIBS e SD-LIBS para a linha de Ba 455,49 nm.....	27
Figura 7 -Intensidade do sinal de emissão de Ba II em 455,49 nm em função da variação do Q-Switch delay (μs).....	28
Figura 8 -Sinais espectrais de Ba II em 455,49 nm determinados em castanha de caju, amêndoa e amendoim.	29
Figura 9 - Espectros LIBS e SD-LIBS para a castanha-do-Brasil moída.....	30
Figura 10 -Curva analítica obtida pela correlação das intensidades da linha de Ba II em 455,49 nm e as concentrações de Ba nos padrões compatibilizados.....	31
Figura 11 - Correlação das intensidades da linha de Ba II 455,49 nm medida por LIBS nas amostras de castanha-do-Brasil e as concentrações de referência.....	32
Figura 12 -Curva analítica obtida pela correlação das razões entre as intensidades da linha de Ba II (455,49 nm) pela intensidade da linha molecular de CN (387 nm) e as concentrações de Ba nos padrões compatibilizados.	34
Figura 13 -Correlação das intensidades da linha de Ba II 455,49 nm normalizadas para as amostras de castanha-do-Brasil e as concentrações de referência.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -Teores de gordura em diferentes castanhas.....	23
Tabela 2 -Descrição do preparo dos padrões de calibração.....	24
Tabela 3 - Concentrações de Ba (mg kg ⁻¹) nas amostras de castanhas-do-Brasil determinadas por HR CS FAAS (n=3).	25

LISTA DE ABREVIATURAS

CCD– Do inglês, Charge-Coupled Device, dispositivo de carga acoplada.

CF-LIBS – Do inglês Calibration Free Laser Induced Breakdown Spectroscopy, Espectrometria de emissão óptica em plasma induzido por laser sem calibração.

GF AAS – Do inglês, Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy, Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.

HR-CS FAAS - Do inglês, High Resolution Continuum Source Flame Atomic Absorption Spectrometry, espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua por chama.

ICP-OES - Do inglês, Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.

INAA – Do inglês, Instrumental Neutron Activation Analysis, análise instrumental de ativação de nêutrons.

LIBS - Do inglês, Laser-Induced Breakdown Spectroscopy, espectrometria de emissão óptica em plasma induzido por laser.

Nd:YAG – Do inglês, Neodymium Doped Yttrium Aluminium Garnet, neodímio dopado com ítrio e alumínio.

OES – Do inglês, Optical Emission Spectroscopy, espectrometria de emissão óptica.

SD-LIBS– Do Inglês, Spark-Discharge Laser-Induced Breakdown Spectroscopy, espectrometria de emissão óptica em plasma induzido por laser com descarga por faísca.

.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVO	19
3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	20
3.1	Amostras	20
3.2	Obtenção de concentrações de referência	21
3.3	Avaliação de parâmetros LIBS	21
3.3.1	Instrumentação.....	21
3.3.2	Seleção dos parâmetros instrumentais.....	22
3.3.3	Avaliação de compatibilização de matriz para desenvolvimento de método quantitativo.....	23
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1	Obtenção das concentrações de referência	25
4.2	Avaliação dos parâmetros instrumentais (LIBS)	25
4.3	Análise e compatibilização de matriz	28
4.4	Análise quantitativa no LIBS	31
5	CONCLUSÃO	35
6	REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

As oleaginosas constituem uma classe de alimentos que possuem interessantes características nutricionais como micronutrientes, ácidos graxos insaturados, proteínas e fibras. Dentre os principais tipos de oleaginosas, podem ser citadas as nozes, avelã, amendoim, amêndoa, castanha-de-caju e castanha-do-Brasil.

A castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*), também conhecida como castanha-do-Pará, é uma semente oleaginosa bastante consumida atualmente e destaca-se pela sua elevada concentração de selênio, importante para as enzimas antioxidantes que atuam na prevenção de doenças relacionadas à idade, como câncer e doenças cardiovasculares (SOUZA; VIEIRA; OLIVEIRA, 2009). A castanha-do-Brasil também é rica em cálcio, fósforo, magnésio e potássio, e possui cerca de 14% de proteína, 12% de carboidratos e 67% de gordura, sendo, aproximadamente, 16% de gorduras saturadas, 24% de monoinsaturadas e 24% de poliinsaturadas (USDA, 2019^a). Além de serem consumidas *in natura*, nos últimos anos surgiram ofertas e demandas de produtos feitos à base de castanha, como cosméticos e alimentos como óleo, farinha, biscoitos, pães e doces (WADT; KAINER, 2009). Apesar dos seus inúmeros benefícios para saúde, a castanha-do-Brasil pode apresentar em sua composição quantidades consideráveis de bário, que é um elemento potencialmente tóxico para animais e seres humanos (CHOUDHURY; CARY, 2001).

De acordo com Chang e colaboradores (1995) a presença de bário na castanha-do-Brasil pode ser justificada pelas características minerais do solo. No estado do Pará, por exemplo, o mineral Hollandita ($Ba_2Mn_8O_{16}$) está ricamente presente no solo da Bacia do Amazonas. O bário encontrado na natureza ocorre na forma de íons Ba^{2+} , sendo os possíveis compostos solúveis desse elemento referentes a cloretos, sulfetos, nitratos e hidróxidos. Nos animais, cerca de 2% do bário ingerido na dieta é absorvido pelo organismo e tende a se acumular nos ossos (CHANG et al., 1995). Em humanos, a ingestão de altos níveis de compostos solúveis de bário podem causar gastroenterite (vômito, diarreia, dor abdominal), hipocalcemia, hipertensão, arritmias cardíacas e paralisia do músculo esquelético.

Devido aos problemas relacionados à ingestão de bário, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos a fim de quantificar, especificar e identificar esses elementos em castanhas-do-Brasil. No estudo de Naozuka e colaboradores (2011), os autores realizaram uma análise multielementar de macro e micronutrientes em castanhas e sementes utilizando espectrometria de emissão óptica em plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Os autores relataram concentração de bário em castanhas-do-Brasil da ordem de 470 mg kg^{-1} (NAOZUKA

et al., 2011). Parekh e colaboradores (2008) determinaram a concentração de bário na castanha-do-Brasil proveniente de diferentes países da América do sul, utilizando a técnica de análise instrumental de ativação de nêutrons(INAA), e encontraram concentrações que variavam entre 96 e 1990 mg kg⁻¹(PAREKH et al., 2008). Já no trabalho desenvolvido por Gonçalves e colaboradores (2009), o objetivo do estudo foi a determinação e fracionamento químico de bário na castanha-do-Brasil utilizando as técnicas de ICP OES e espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GF AAS). As concentrações de bário determinadas, variaram entre 860 e 2084 mg kg⁻¹ nas amostras analisadas. Além disso, os resultados do fracionamento e especiação do bário, indicaram que o elemento se encontra na forma de sulfato, sugerindo assim, a indisponibilidade do íon em meio biológico, uma vez que esse sal possui baixa solubilidade, sendo inclusive utilizado em grandes doses como material de contraste em exames radiológicos(GONÇALVES et al., 2009, CHOUDHURY; CARY, 2001).

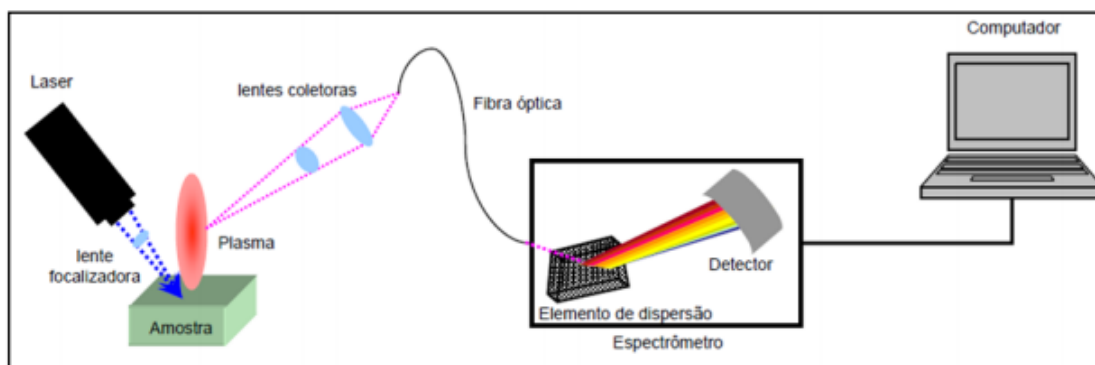
Apesar da constatação de Gonçalves et al. (2009), alguns anos antes, Lisk e colaboradores (1988) relataram que pelo menos 91% de uma dose de 179 mg de Ba, consumida a partir de 92 g de castanha-do-Brasil, foi absorvida pelo organismo humano (LISK et al., 1988). Dessa forma, ainda que a especiação seja importante para saber em que forma química o elemento se encontra na castanha, o potencial de toxicidade do Ba para os seres vivos a partir da ingestão de castanha-do-Brasil ainda pode ser correlacionado à quantidade total de Ba presente no alimento.

Para a determinação de Ba em castanhas-do-Brasil, o emprego de técnicas analíticas bem estabelecidas, como as utilizadas nos artigos anteriormente mencionados, apresentam como inconveniente o requerimento do preparo da amostra. Por se tratar de uma amostra com elevados teores de gordura, os procedimentos de decomposição não são triviais. Welna e Szymczycha-Madeja (2014) visando melhorar a etapa de preparação das amostras para a determinação multielementar em castanha-do-Brasil por ICP OES, mostraram a necessidade de uma etapa de digestão ácida, com auxílio de fortes oxidantes, altas pressões e temperaturas(WELNA; SZYMCZYCHA-MADEJA, 2014). Essas condições são contrárias aos princípios da química verde, que propõem a utilização de técnicas que tenham maior consciência com relação aos impactos de seus procedimentos para a saúde do analista e para o meio ambiente, buscando, portanto, a minimização, e idealmente a exclusão, do consumo de reagentes potencialmente tóxicos e geração de resíduos(ANASTAS; WARNER, 1998).

Assim, a espectrometria de emissão óptica em plasma induzido por laser (LIBS) se apresenta como uma interessante e promissora alternativa.

Em uma análise por LIBS, a etapa de preparação de amostra é mínima, quando não totalmente dispensada, permitindo a análise direta da amostra, importante para análises *in situ* (SANTOS et al., 2006). Durante o processo, pulsos do laser são disparados sobre a amostra promovendo um processo micro/nano amostragem (ablação). A amostra é então, vaporizada e os processos de quebra das estruturas químicas (*breakdown*) e ionização culminam na geração de um plasma. No plasma, as espécies presentes, majoritariamente atômicas e iônicas, são excitadas e ao retornarem a um estado de menor energia emitem radiação eletromagnética característica da espécie emissora. Todo o processo anteriormente descrito ocorre em tempos da ordem de microssegundos (MIZIOLEK; PALLESCHI; SCHECHTER, 2006; NOLL, 2012). Na Figura 1 é mostrado um esquema de um típico sistema LIBS composto por um laser pulsado de alta energia (da ordem de milijoules), lente para focalização do pulso na superfície da amostra, lentes coletoras acopladas à cabos de fibras ópticas para coleta e condução dos sinais de emissão provenientes do plasma, e espectrômetros para recepcionar os sinais de emissão, separá-los em função de suas frequências e detectá-los. O sistema é normalmente controlado por um programa de computador apropriado, o qual também responsável pela conversão dos sinais detectados em um espectro de emissão.

Figura 1 -Esquema típico e simplificado de um sistema LIBS



Fonte: Ferreira, E. C.

Um espectro LIBS consiste em um registro das intensidades dos sinais de emissão dos componentes da amostra em função do comprimento de onda e pode ser considerado como a “impressão digital” de uma amostra e uma poderosa fonte de informação para determinações

de seus constituintes. As análises qualitativas envolvem apenas a identificação das linhas de emissão presentes no espectro. Da medição dos comprimentos de onda dessas linhas, podem-se deduzir os níveis de energia (ou estados estacionários) do átomo e conhecendo as linhas características emitidas por um átomo, o seu aparecimento no espectro estabelece a presença desse elemento na amostra. Já as análises quantitativas são baseadas nas intensidades registradas para as linhas de interesse e em um método de calibração adequado (SINGH; THAKUR, 2007).

A possibilidade de realizar análises diretas, multielementares, rápidas, micro-destrutivas e sem geração de resíduos são os principais atrativos da técnica LIBS, contudo, em grande parte, se limitam às análises qualitativas (MARKIEWICZ-KESZYCKA et al., 2017). Um dos grandes desafios para essa técnica é a análise quantitativa, uma vez que as análises são fortemente influenciadas pelos efeitos de matriz, ou seja, a variação no sinal do analito em decorrência das propriedades físico-químicas e da composição da matriz (EPPLER et al., 1996). Esse problema é mais evidente quando se trabalha com matrizes complexas, como solos, rochas e amostras de alimentos, que possuem uma composição química bastante diversificada. Dessa forma, a análise quantitativa demanda estudos mais aprofundados direcionados à otimização das condições analíticas e ao desenvolvimento de métodos de calibração, o que ainda é considerado um grande desafio para diversos tipos de amostras, dada a dificuldade de obtenção de padrões que sejam quimicamente similares às amostras.

Na literatura podem ser encontradas diversas propostas de calibração em LIBS que visam minimizar os efeitos de matriz. Essas propostas vão desde estratégias simples como a calibração com padrões externos, empregando materiais de referência certificados (TREVIZAN et al., 2009), passando por calibrações multivariadas (lineares e não lineares) (FERREIRA et al., 2008; LUO et al., 2020) até propostas de métodos isentos de calibração, como “*Calibration Free*” (HERRERA et al., 2009).

Um método de calibração clássico para minimização dos efeitos de matriz em análises elementares é o método de adição de padrão. Esse método consiste em, adicionar analito em concentrações crescentes à quantidades fixas da amostra e medir o sinal do analito adicionado mais o sinal referente ao analito naturalmente presente na amostra. Em seguida uma curva de sinal *versus* concentração de analito adicionado é construída e a concentração do analito na amostra é obtida pela intersecção da curva com o eixo das abcissas. Apesar da eficiência da adição de padrão para muitas situações analíticas, esse método exige que seja construída uma

curva de calibração para cada amostra analisada. Esse fato reduz significativamente a velocidade analítica e gera maior quantidade de resíduos pós-análise.

Uma estratégia mais simples, para minimizar os efeitos de matriz, e que possui uma certa similaridade ao método de adição de padrão é o método de calibração por compatibilização de matriz. Esse método consiste em produzir padrões de calibração contendo matriz similar à amostra. Esse método apresenta as vantagens do método de calibração com padrões externos, pois uma só curva é construída e podem ser obtidos padrões compatíveis com as amostras, similarmente ao método de adição de padrão. Moraes e colaboradores (2017) utilizaram a estratégia de compatibilização de matriz para a análise de Ca em amostras de fertilizantes a base de biocarvão, uma matriz complexa e recalcitrante. O método foi bem sucedido, após a normalização do sinal do analito pelo sinal de sódio naturalmente presente no biocarvão (MORAIS et al., 2017). Considerando o exposto, o potencial da técnica LIBS foi avaliado para a determinação quantitativa de bário em castanha-do-Brasil mediante a padronização por compatibilização de matriz.

2 OBJETIVO

Estudar o potencial da espectrometria de emissão óptica em plasma induzido por laser (LIBS) para a determinação de Ba em amostras de castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*), empregando o método de compatibilização de matriz para calibração.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Nesse tópico serão descritas as amostras selecionadas para o desenvolvimento do projeto, a obtenção de concentrações de referência, a avaliação de parâmetros analíticos referentes à técnica LIBS e os estudos desenvolvidos para avaliar o método de calibração por compatibilização de matriz.

Todo material utilizado para manipulação e armazenamento das castanhas foi previamente descontaminado em banho de ácido nítrico 10% (v/v) durante 24 h e em seguida lavado com água deionizada.

3.1 Amostras

As amostras utilizadas foram castanhas-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) não torradas adquiridas no comércio da cidade de São Carlos -SP. As castanhas foram adquiridas em períodos diferentes totalizando quatro porções de aproximadamente 200g cada. De cada porção, foram aleatoriamente amostradas 25 castanhas, que após serem partidas ao meio, foram novamente amostradas, retirando-se aleatoriamente 25 metades de cada grupo. Finalmente cada porção foi submetida a um procedimento de pré-homogeneização utilizando um triturador de plástico, comercializado para utilidade doméstica (Figura 2a). Em seguida, um procedimento de homogeneização mais refinado foi conduzido utilizando um almofariz e pistilo de ágata (Figura 2b). Através desse procedimento foram obtidas misturas pastosas. Após homogeneização, as amostras foram armazenadas em frascos de polietileno em um dessecador.

Figura 2 -(a) Triturador doméstico utilizado para pré-homogeneização e (b) almofariz e pistilo de ágata.



Fonte: Autor

3.2 Obtenção de concentrações de referência

As amostras previamente homogeneizadas foram submetidas à determinação da concentração de Ba utilizando espectrometria de absorção atômica em chama de alta resolução com fonte contínua (HR-CS FAAS). Para esse propósito, as amostras foram digeridas em um forno micro-ondas de alta pressão (Multiwave Anton Paar - Graz, Áustria) com 6 posições para os tubos com as soluções. Aproximadamente 200 mg das amostras foram transferidas para os tubos de decomposição e foram adicionados 3,00 mL de ácido nítrico, 2,00 mL de água e 1 mL de peróxido de hidrogênio. As decomposições foram feitas em triplicatas e o programa de aquecimento consistiu em uma rampa de potência de 0 a 1000 W, executada em 15 minutos, 10 minutos de permanência a 1000 W seguidos de 20 minutos sem aplicação de potência para resfriamento. Após resfriamento, os digeridos resultantes foram transferidos para frascos de polipropileno e o volume foi completado em 25 mL com água deionizada. As soluções resultantes foram armazenadas em uma geladeira.

Os padrões de calibração foram preparados a partir de uma solução estoque contendo 100 mg L⁻¹ de Ba a qual foi previamente preparada pela diluição de padrão espectroscópico de Ba (Normex) de concentração igual a 1000 mg L⁻¹. Padrões de calibração contendo 0, 1, 3, 6, 10 e 14 mg L⁻¹ de Ba em meio 1,841 mol L⁻¹ de ácido nítrico foram preparados. Aproximadamente 35mg de CeCl foram adicionadas aos padrões e amostras para evitar as interferências de ionização.

Para as medidas dos sinais de absorção atômica foi empregado um espectrômetro de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução (Analytikjena, ContrAA 300). O atomizador utilizado foi uma chama produzida pela mistura de ar e acetileno.

3.3 Avaliação de parâmetros LIBS

3.3.1 Instrumentação.

O sistema LIBS utilizado (Figura 3), compreende um laser de Nd:YAG(Quantel, Big Sky Laser, Ultra 50) que produz pulsos de 50 mJ em 1064 nm com duração de 20 ns, diâmetro do feixe na superfície da amostra (laser spot) de aproximadamente 0,5 mm taxa de repetição de 500 Hz. O laser está posicionado na parte superior da câmara de amostragem sendo focalizado sobre a superfície da amostra através de uma lente com distância focal de 10 cm. No interior da câmara há um amostrador móvel para deslocamentos da amostra nas direções xy, comandado pelo analista, uma webcam para o acompanhamento das análises e uma lente

telescópica para a coleta da radiação eletromagnética proveniente do plasma. A lente de coleta é acoplada a um cabo composto por quatro fibras ópticas, as quais são conectadas à quatro espectrômetros (HR2000+, OceanOptics, EUA). Os espectrômetros são compostos por redes de difração, para separação das frequências da radiação provenientes do plasma e detectores do tipo CCD (charge-coupleddevice). Os quatro espectrômetros cobrem uma faixa espectral de 200 a 625 nm com resolução óptica de 0,1 nm (Fullwidthathalfmaximum). O tempo de integração do sinal analítico pelos espectrômetros é fixo e igual a 1 ms. Todo sistema é controlado pelo software OOLIBS (OceanOptics).

Figura 3 - Configuração experimental do equipamento LIBS utilizado: 1) Fonte do laser; 2) laser; 3) câmara de amostragem; 4) sistema de aquisição de dados; 5) espectrômetros



Fonte: Autor

3.3.2 Seleção dos parâmetros instrumentais.

Além dos parâmetros anteriormente citados, foram estudadas três condições para aquisição do melhor sinal analítico. Inicialmente, foram avaliadas linhas de emissão do analito apropriadas para o desenvolvimento dos estudos propostos. Para isso, espectros foram adquiridos diretamente em uma fatia da amostra de castanha-do-Brasil e a análise das linhas espectrais foi conduzida utilizando a base de dados NIST (“National Institute of Standards and Technology”). Após identificar duas linhas de bário livres de interferência espectral, um estudo foi conduzido para certificar se as linhas identificadas correspondiam ao analito. Para isso, foram preparadas pastilhas contendo celulose e $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e os espectros das pastilhas

foram analisados para verificação da ocorrência das linhas, anteriormente atribuídas no espectro da amostra.

Após a seleção das linhas de emissão do analito, um estudo foi conduzido para avaliar a necessidade do acoplamento do sistema LIBS à um sistema gerador de descarga elétrica (SD, *sparkdischarge*). Os estudos de avaliação consistiram na comparação dos espectros de castanha-do-Brasil diretamente capturados nos sistemas SD-LIBS e LIBS. O sistema de descarga elétrica foi desenvolvido por Vieira e colaboradores (2018) e consiste em dois eletrodos de tungstênio (100 x 2,6 mm) com 4 mm separação entre as pontas, posicionado à 2mm acima da superfície da amostra; circuito eletrônico cujo transformador possui frequência 60Hz e 171V e um voltímetro para monitoramento das descargas(VIEIRA et al., 2018).

O estudo final para estabelecimento dos parâmetros analíticos teve por objetivo otimizar o tempo de atraso entre o pulso do laser e o início da aquisição dos sinais pelos espectrômetros (Q-switchdelay) para análise utilizando SD-LIBS. Foram avaliados os parâmetros previamente selecionados com relação à variação do Q-switchdelay em 1,5;2,0 e 2,5 μ s.

3.3.3 Avaliação de compatibilização de matriz para desenvolvimento de método quantitativo.

O primeiro passo para as tentativas de compatibilização de matriz foi a avaliação de três tipos de oleaginosas que pudessem ser utilizadas para a construção da curva de calibração. Dessa forma, foram avaliados amendoim, castanha-de-caju e de amêndoa. Essas oleaginosas foram escolhidas por possuírem altos teores de gordura, como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1 -Teores de gordura em diferentes castanhas.

Nome	Nome Científico	Teor Gordura %
Castanha-do-Brasil	<i>Bertholletia excelsa</i>	67
Amendoa	<i>Prunusdulcis</i>	50
Amendoim	<i>Arachis hypogaea l</i>	49
Castanha-de-Caju	<i>Anacardiumoccidentale l</i>	44

Fonte: (USDA, 2019^b)

Para esse estudo, espectros LIBS das oleaginosas citadas foram obtidos e comparados ao espectro obtido para a castanha-do-Brasil.

Após selecionar a matriz mais adequada para a compatibilização, foram iniciados os estudos de calibração. Um padrão estoque contendo 5620 mg kg^{-1} de bário foi preparado pela mistura de 1,980g da matriz de amêndoa com 20mg de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Em seguida a curva analítica foi produzida a partir da diluição do padrão estoque conforme descrito na tabela 2.

Tabela 2 - Descrição do preparo dos padrões de calibração

Massa de amêndoa (g)	Massa do padrão estoque (g)	massa total (g)	Ba (mg kg^{-1})
1,000	0,000	1,000	0
1,000	0,040	1,040	216
1,000	0,080	1,080	416
1,000	0,120	1,120	602
1,000	0,160	1,160	775

Fonte: Autor

As misturas foram homogeneizadas utilizando almofariz e pistilo de ágata, e padrões de aspecto pastoso foram obtidos. Amostras e padrões foram transferidos para pequenos frascos de polietileno (Figura 3) compatíveis com o sistema amostrador do LIBS.

Figura 4 - Frascos utilizados para acondicionamento de padrões e amostras para análise por LIBS



Fonte: Autor

Os dados espectrais da linha mais intensa de bário foram avaliados de duas formas para a construção de curva analítica: i) intensidade da linha de Ba *versus* concentração de Ba nos padrões e ii) intensidade da linha de Ba/ intensidade de uma linha de emissão de C-N *versus* concentração de Ba nos padrões.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse tópico serão apresentados e discutidos os resultados obtidos na determinação da concentração de bário pelo método de referência HR CS FAAS, a confirmação da atribuição das linhas de Ba encontradas nas amostras, as otimizações instrumentais para melhora de sensibilidade na detecção das linhas de emissão pelo LIBS, e a estratégia de compatibilização de matriz para análise quantitativa no LIBS.

Os espectros mostrados nesse trabalho tiveram a linha de base corrigida por meio de uma planilha desenvolvida por Vieira e colaboradores (2019) de fácil utilização, para tratamento de dados espectroscópicos e cromatográficos (VIEIRA et al., 2019).

4.1 Obtenção das concentrações de referência

As determinações das concentrações de bário nas amostras de castanha-do-Brasil foram conduzidas utilizando um método de referência para obtenção de valores a serem utilizados como parâmetros na validação do método LIBS. As concentrações de bário determinadas nas quatro amostras de castanha adquiridas comercialmente são mostradas na tabela 3.

Tabela 3 - Concentrações de Ba (mg kg^{-1}) nas amostras de castanhas-do-Brasil determinadas por HR CS FAAS (n=3).

Amostra	Concentração média \pm desvio padrão (mg kg^{-1})
1	297,8 \pm 46,1
2	288,5 \pm 57,0
3	590,6 \pm 41,8
4	368,2 \pm 21,9

Fonte: Autor

As concentrações encontradas nas amostras selecionadas possuem valores aproximados aos relatados na literatura. Naozuka e colaboradores (2011) relataram concentração de Ba igual a $470 \mu\text{g g}^{-1}$ e Parekh e colaboradores (2008) encontraram concentrações que variavam entre 96 e $1990 \mu\text{g g}^{-1}$.

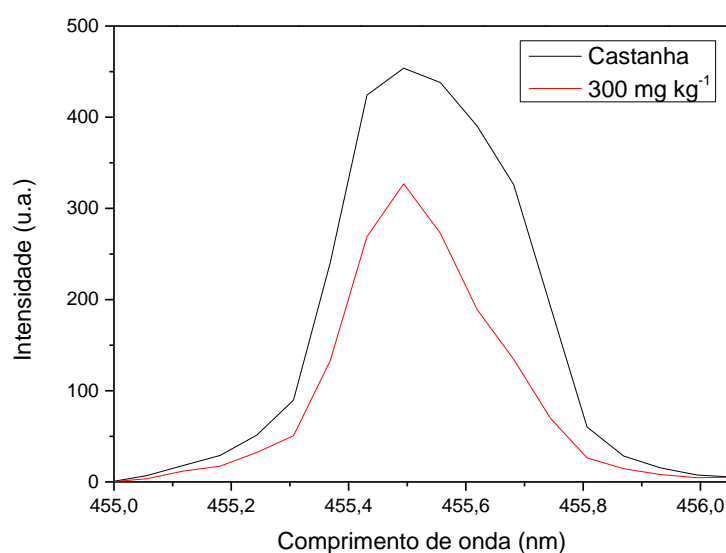
4.2 Avaliação dos parâmetros instrumentais (LIBS)

Um estudo preliminar para determinar pelo menos uma linha de emissão do bário com boa intensidade e livre de interferência espectral foi realizado analisando o espectro LIBS capturado diretamente de uma amostra de castanha-do-Brasil. No espectro, duas linhas com boas

intensidades (455,49 nm e 493,47 nm) foram preliminarmente atribuídas ao analito. Essa atribuição foi feita com base na biblioteca do NIST (“National Institute of Standards and Technology”), onde 455,40 nm corresponde à uma linha de emissão de bário no primeiro estado de ionização (Ba II) com alta probabilidade de transição ($A = 1,11 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$) e alta intensidade relativa (9300). Ainda de acordo com a base dados do NIST, a linha 493,41 nm corresponde à uma outra linha de emissão de Ba II, com uma probabilidade de transição e intensidade relativa um pouco menor que a 455,40 nm ($9,53 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$ e 6900, respectivamente). Por ser a mais intensa e livre de interferências espectrais, considerando a composição elementar da castanha, a linha 455,49 nm, foi previamente selecionada.

Com o objetivo de confirmar a atribuição preliminar da linha em 455,49 nm, o espectro de LIBS medido para uma pastilha contendo 300 mg kg^{-1} de Ba, preparada a partir da mistura de celulose com $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, foi comparado com o espectro obtido diretamente na amostra. Os espectros da pastilha e da amostra, pré-processados para a correção de linha de base, são mostrados na Figura 5. Conforme pode ser observado, os perfis de emissão são similares e os máximos são coincidentes. Dessa forma, conclui-se que o deslocamento espectral observado em centésimos do comprimento de onda é característico do espectrômetro utilizado para as medidas e que o sinal corresponde de fato ao analito, conforme a atribuição preliminar.

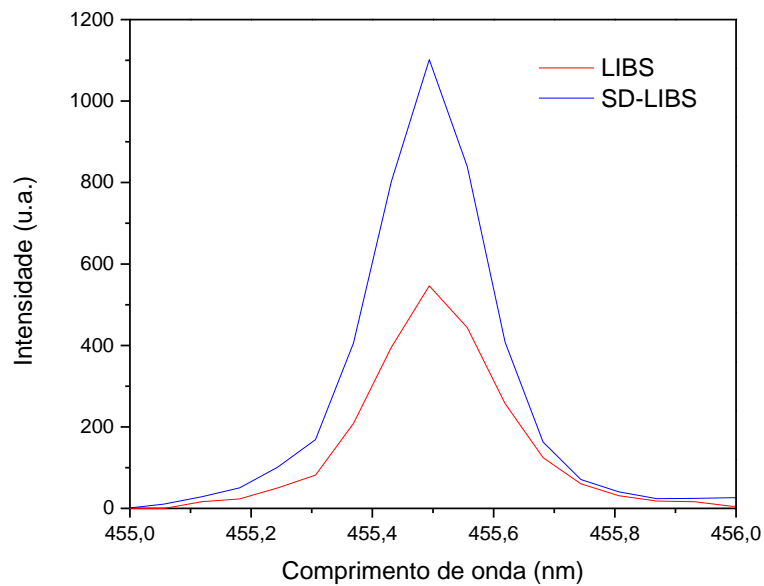
Figura 5 - Comparação dos espectros LIBS da amostra de castanha e de uma pastilha contendo $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$



Fonte: Autor

Com o objetivo de aumentar a sensibilidade da análise, o sistema SD-LIBS foi avaliado, por ser um método simples e de baixo custo que reaquece o plasma, aumentando assim as intensidades de emissão. No sistema SD-LIBS, quanto maior a voltagem selecionada, maior a magnitude dos sinais de emissão. Assim, as avaliações foram conduzidas empregando a maior voltagem disponível para o sistema 4,45kV. O resultado do ganho de sensibilidade do SD-LIBS em comparação ao LIBS para a linha de emissão do Ba em 455,59nm pode ser observado na Figura 6.

Figura 6 - Comparação da sensibilidade da emissão obtida por LIBS e SD-LIBS para a linha de Ba 455,49 nm

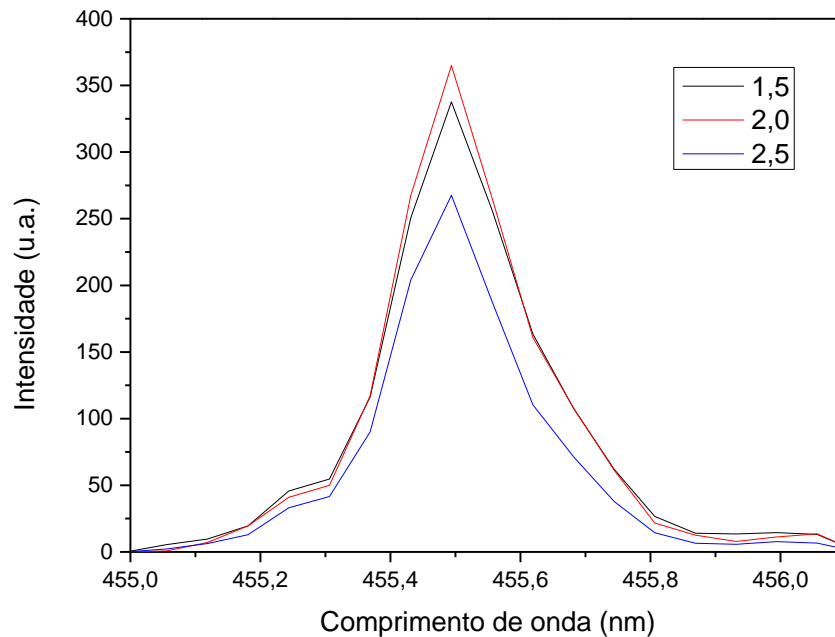


Fonte: Autor

Considerando o ganho em sensibilidade promovido pelo uso da centelha elétrica, essa condição foi fixada para as análises e otimizações subsequentes.

Outro parâmetro instrumental estudado foi o Q-Switch delay, que corresponde ao tempo para o início da aquisição dos dados a partir do disparo do pulso do laser. O Q-Switch delay também pode influenciar na sensibilidade dos sinais de forma diferente em diferentes amostras. Os resultados das intensidades de sinal de Ba II em 455,49 nm em função da variação do Q-Switch delay podem ser observados na Figura 7.

Figura 7 -Intensidade do sinal de emissão de Ba II em 455,49 nm em função da variação do Q-Switch delay (μs).



Fonte: Autor

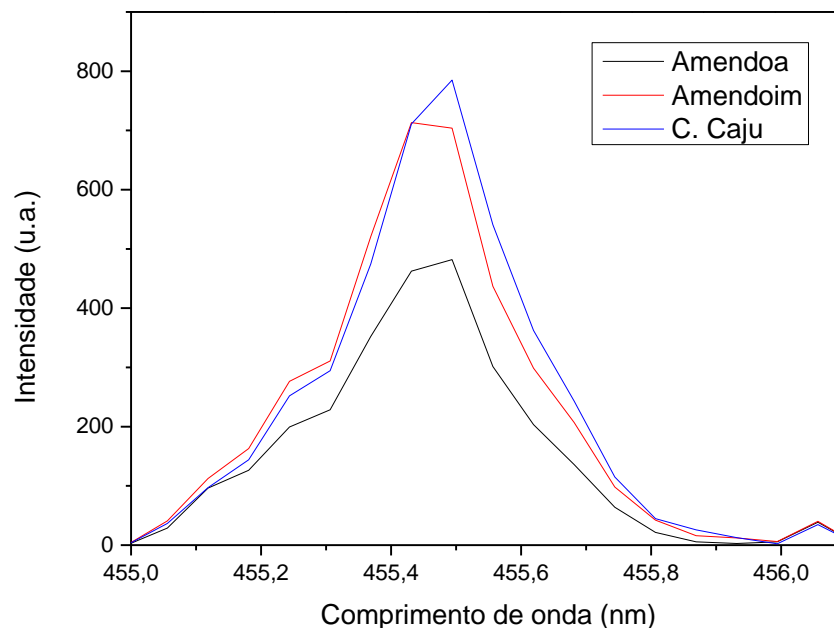
Os resultados mostram que os tempos de 2,0 e 1,5 μs resultam em maiores sinais comparados ao tempo de 2,5 μs . Apesar de pequenas as diferenças de intensidades proporcionadas pelos tempos 2,0 e 1,5 μs , o tempo de 2,0 μs foi um pouco superior e por isso esse tempo foi fixado para as medidas.

4.3 Análise e compatibilização de matriz

As características peculiares da composição da castanha, especialmente seu elevado teor de gordura, dificultam bastante a tentativa de simulação dos padrões de calibração para a análise de castanha-do-Brasil por LIBS. Padrões contendo matrizes genéricas, como os preparados pela diluição de um sal de bário em celulose ou em ácido bórico, diluentes comumente utilizados, dificilmente se adequariam a essa proposta por se tratarem de matrizes com características completamente distintas. Essa conclusão é pautada na inexatidão das análises quantitativas por LIBS atribuídas aos severos efeitos de matriz bem conhecidos na literatura (Miziolek, 2006). Dessa forma, a compatibilização de matriz foi a estratégia proposta para esse estudo. Para produção de padrões contendo matrizes compatíveis à castanha-do-

Brasil, propôs-se a incorporação de um sal de bário em matriz proveniente de oleaginosa, diferente da castanha-do-Brasil e que contivesse baixa ou não detectável concentração de Ba. Dessa forma, espectros LIBS foram adquiridos para castanha de caju, amendoim e amêndoas comerciais. Na Figura 8, são mostrados os sinais da linha de Ba II em 455,49 nm para essas amostras.

Figura 8 -Sinais espectrais de Ba II em 455,49 nmdeterminados em castanha de caju, amêndoa e amendoim.



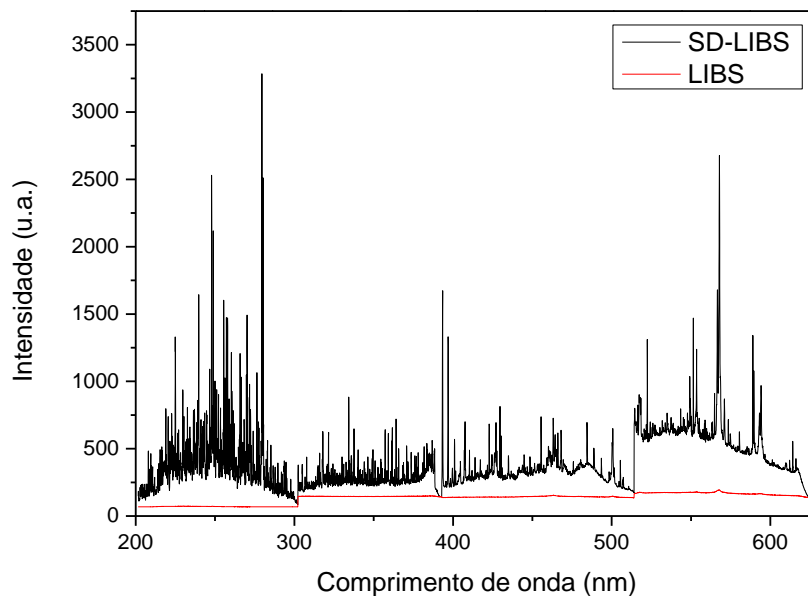
Fonte: Autor

Os resultados mostram que a oleaginosa com menor concentração de Ba é a amêndoa, que apresentou sinal de intensidade da ordem de 400 contagens. Coincidentemente, entre as três matrizes avaliadas a amêndoa é a oleaginosa que apresenta o teor de gordura mais próximo do teor da castanha-do-Brasil (Tabela 1). Dessa forma, a amêndoa foi a matriz selecionada para o preparo dos padrões. Assim, bário foi incorporado à amêndoa por fricção/homogeneização utilizando almofariz e pistilo. Esse processo resultou em padrões pastosos, e como o procedimento de homogeneização também foi aplicado às amostras, visando maior grau de compatibilidade. Amostras e padrões na forma de pasta foram colocados em pequenos frascos para análise, pois seria impossível a confecção de pastilhas. Sabe-se que amostras líquidas e/ou pastosas podem prejudicar a formação do

plasma LIBS, já que uma grande quantidade de energia é demandada nos processos de vaporização da amostra. Por isso, amostras líquidas podem ocasionar baixa sensibilidade dos sinais analíticos. Contudo, Nespeca e colaboradores (2019) analisando amostras de mel, mostraram que os inconvenientes na análise de amostras líquidas é superado pelo uso de SD-LIBS (NESPECA; VIEIRA; JÚNIOR, 2019).

Como as avaliações anteriores comparando LIBS e SD-LIBS foram conduzidas para as amostras de castanha *in natura*, uma nova comparação instrumental foi efetuada com uma amostra pastosa da castanha-do-Brasil, homogeneizada em almofariz e pistilo. Na Figura 9 são mostrados os espectros capturados nas duas condições instrumentais mencionadas. Como pode ser observado, a análise por LIBS não propiciou o aparecimento das linhas de emissão no espectro da amostra, pois não houve a geração de plasma durante a análise. Uma possível explicação para esse fato é que a amostra foi colocada no frasco, aplica-se uma certa pressão para tornar a superfície plana, de forma a reduzir o desvio padrão nas amostragens. Essa pressão pode ter concentrado o óleo da castanha na superfície da amostra dificultando a formação do plasma. Contudo, a análise por SD-LIBS mostrou-se apropriada.

Figura 9 - Espectros LIBS e SD-LIBS para a castanha-do-Brasil moída.

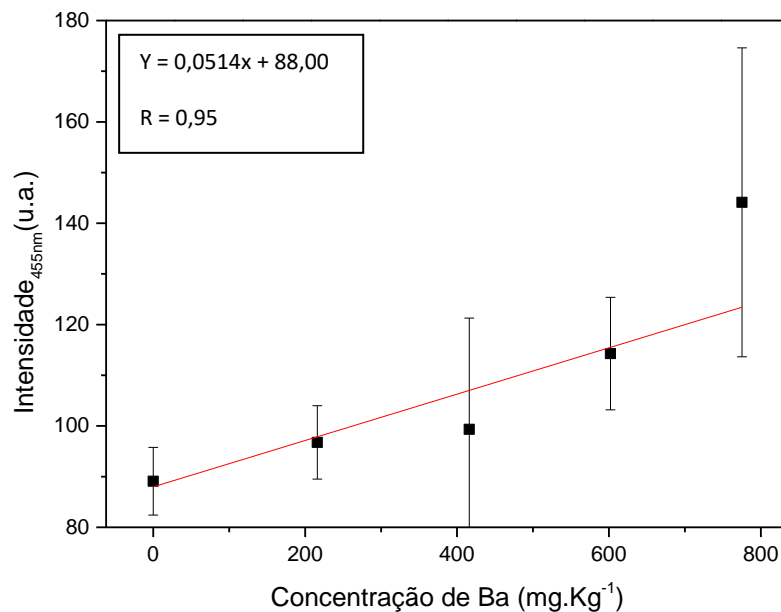


Fonte: Autor

4.4 Análise quantitativa no LIBS.

Após a fixação dos parâmetros analíticos e obtenção dos padrões por compatibilização de matriz, foram iniciadas as avaliações quantitativas começando pela obtenção da curva analítica. Na Figura 10 é mostrada a curva obtida pela correlação entre as intensidades de emissão da linha de Ba II em 455,49 nm e as concentrações de bário nos padrões. Uma curva analítica, com coeficiente de correlação (R) igual a 0,93 e sensibilidade igual $0,0514 \text{ kg mg}^{-1}$ foi obtida.

Figura 10 - Curva analítica obtida pela correlação das intensidades da linha de Ba II em 455,49 nm e as concentrações de Ba nos padrões compatibilizados.



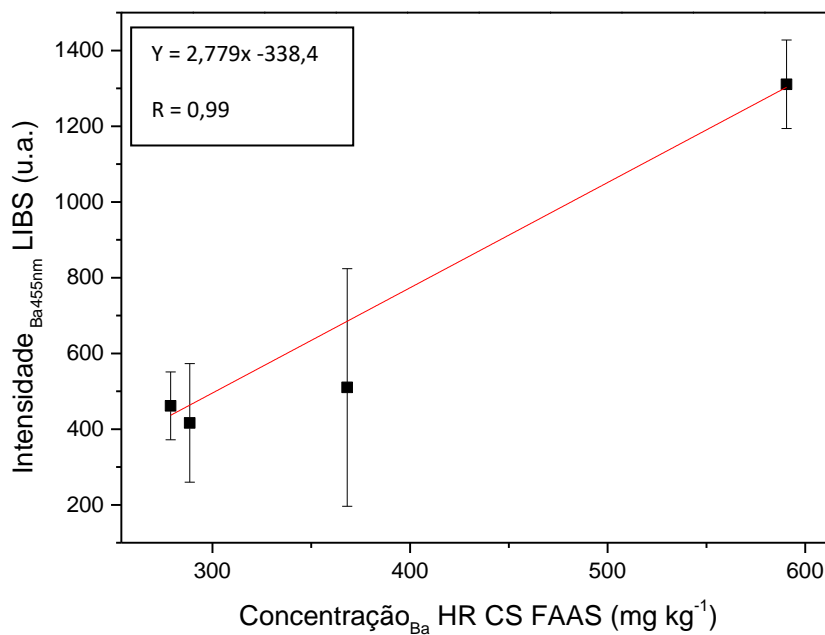
Fonte: Autor

Apesar dos altos desvios e a maior distância da reta de regressão observada para os pontos de concentração iguais a 416 e 775 mg kg^{-1} , a curva analítica foi considerada e procedeu-se a análise LIBS para as quatro amostras de castanhas-do-Brasil. Após a aquisição dos espectros das amostras observou-se que as intensidades da linha do analito nas amostras eram superiores às intensidades do último ponto da curva analítica (775 mg kg^{-1}). Como a curva analítica foi construída com base nos valores de referência determinados por HR-CS FAAS (Tabela 3), cujo valor máximo da concentração de bário foi $590,6 \pm 41,8$; concluiu-se que os valores das intensidades obtidas para as amostras por SD-LIBS são incompatíveis com

os valores obtidos para os padrões indicando que o método proposto por compatibilização de matriz foi ineficiente.

Corroboram para ineficiência quantitativa da estratégia avaliada a observação de que os valores de intensidades determinados para as amostras por LIBS apresentam uma certa correlação linear com as concentrações de referência, conforme pode ser observado na Figura 11, reforçando que a curva proposta não é equivalente às amostras. Esse resultado também sugere que a construção da curva analítica a partir de amostras de castanha-do-Brasil contendo diferentes concentrações de Ba, poderia ser uma estratégia para a calibração mais eficiente que a estratégia avaliada.

Figura 11 - Correlação das intensidades da linha de Ba II 455,49 nm medida por LIBS nas amostras de castanha-do-Brasil e as concentrações de referência.



Fonte: Autor

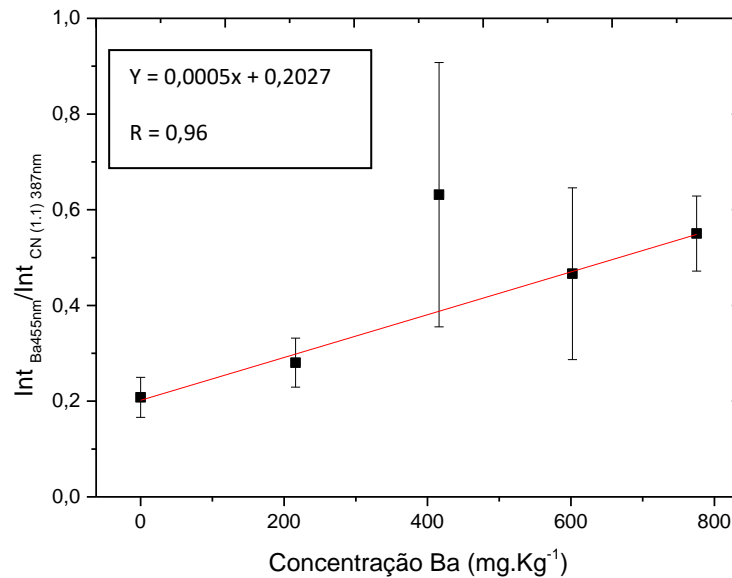
Em alguns casos somente a compatibilização de matriz não é suficiente para alcançar a exatidão do método analítico. No método proposto por Moraes e colaboradores (2017), por exemplo, além da compatibilização de matriz, a normalização adicional dos espectros foi necessária para atingir a exatidão. A normalização espectral consiste na divisão do sinal de interesse pelo sinal de um elemento, presente nas amostras e padrões à concentração aproximadamente constante. No caso do trabalho de Moraes et al. (2017) o sinal do analito foi

dividido pelo sinal de sódio, pois o sódio era um elemento que apresentava concentração constante tanto na matriz usada para compatibilização, quanto nas amostras.

Contudo, não é trivial, que as matrizes das amostras e/ou do compatibilizante contenham concentrações similares de um elemento para que o mesmo possa ser selecionado para normalização. Por esse motivo, no trabalho desenvolvido por Lázaro (2017) (LÁZARO, 2017), o sinal da molécula diatômica de CN em 387 nm foi utilizado para normalizar o sinal de Sr, elemento de interesse em matrizes foliares. Segundo Lázaro, o sinal de CN é decorrente de processos de recombinação de C atômico, proveniente da amostra, com nitrogênio proveniente da atmosfera analítica (ar). Dessa forma, a autora considera a hipótese de que as concentrações de carbono devem ser aproximadamente constantes, uma vez que as matrizes são similares (material foliar), e que são limitantes para a formação da molécula de interesse. Portanto, sob essas condições as concentrações de CN são constantes para amostras e padrões. A partir dessa hipótese o trabalho foi conduzido e a exatidão foi alcançada.

Considerando a dificuldade de encontrar um elemento em concentração constante na amêndoa e nas amostras de castanha-do-Brasil, a hipótese de Lázaro (2017) foi avaliada para a normalização espectral. Após a normalização a curva analítica foi obtida, conforme pode ser observado na Figura 12. A curva apresentou coeficiente de correlação linear (R) de 0,96 e sensibilidade igual a $0,0005 \text{ kg mg}^{-1}$.

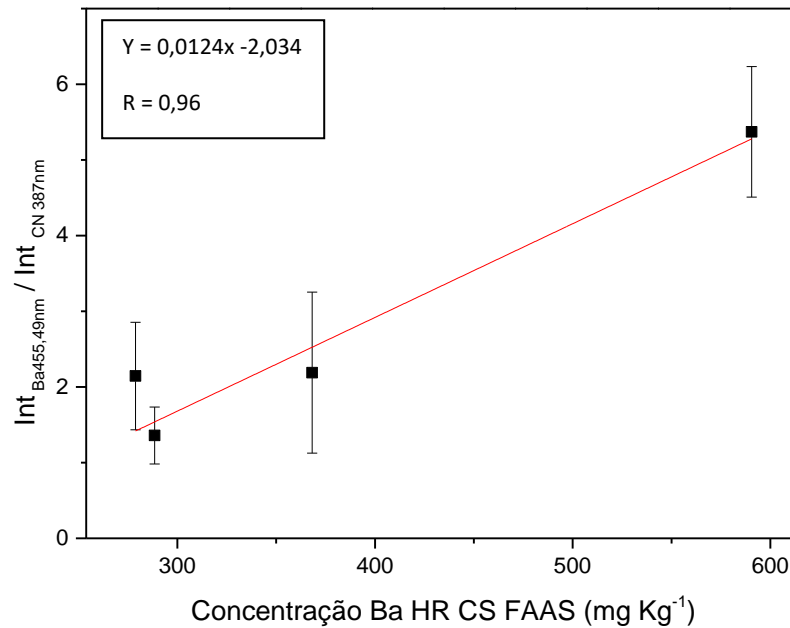
Figura 12- Curva analítica obtida pela correlação das razões entre as intensidades da linha de Ba II (455,49 nm) pela intensidade da linha molecular de CN (387 nm) e as concentrações de Ba nos padrões compatibilizados.



Fonte: Autor

Apesar da ligeira melhora observada na curva de calibração, quando comparada à curva sem normalização, a interpolação dos sinais normalizados das amostras também resultaram em valores inexatos de concentração. Assim como no método anterior, também corroboram para a ineficiência de predição da curva a observação de que os valores de intensidades determinados para as amostras por LIBS apresentam correlação próxima a linear com as concentrações de referência, conforme pode ser observado na Figura 13, reforçando que a curva proposta não é equivalente às amostras. Conforme anteriormente evidenciado, esse resultado também sugere que a construção da curva analítica a partir de amostras de castanha-do-Brasil, contendo diferentes concentrações de Ba, poderia ser uma estratégia para a calibração mais eficiente que a estratégia avaliada.

Figura 13- Correlação das intensidades da linha de Ba II 455,49 nm normalizadas para as amostras de castanha-do-Brasil e as concentrações de referência.



Fonte: Autor

Embora os métodos de compatibilização de matriz avaliados não tenham atingido a exatidão para as determinações pretendidas, esses estudos devem servir de base para a continuidade da investigação. Outros tipos de pré-processamento espectrais como a derivação dos espectros podem ser avaliados em associação ou não com a normalização proposta buscando eliminar completamente o drástico efeito de matriz observado.

5 CONCLUSÃO

Para a determinação de Ba em amostras de castanha-do-Brasil foram estudadas as condições analíticas mais adequadas para a condução de método por compatibilização de matriz. Dois métodos de calibração foram avaliados, mas os resultados mostraram que a complexidade da matriz acentua a problemática de obtenção de sinais proporcionais em amostras e padrões. Dessa forma, a exatidão não pôde ser alcançada em nenhum dos métodos avaliados, apesar de estratégias similares terem sido aplicadas com sucesso por outros autores em outras matrizes. Embora, os métodos avaliados não tenham sido bem sucedidos eles

poderão ser tomados como base para continuidade na busca da superação do efeito de matriz e viabilização de métodos quantitativos para matrizes complexas como as oleaginosas. Nesse contexto, a construção da curva analítica utilizando a própria castanha-do Brasil como padrão poderá apresentar maior potencial para a proposta de calibração.

6 REFERÊNCIAS

- ANASTAS, P. T.; WARNER, J. C. **Green Chemistry - Theory and Practice**. New York: Oxford University Press, 1998.
- CHANG, J. C. et al. Selenium content of Brazil nuts from two geographic locations in Brazil. **Chemosphere**, v. 30, n. 4, p. 801–802, 1995.
- CHOUDHURY, H.; CARY, R. Concise International Chemical Assessment Document 33: Barium and barium compounds. **IPCS Concise International Chemical Assessment Documents**, n. 33, 2001.
- EPPLER, A. S. et al. Matrix effects in the detection of Pb and Ba in soils using laser-induced breakdown spectroscopy. **Applied Spectroscopy**, v. 50, n. 9, p. 1175–1181, 1996.
- FERREIRA, E. C. et al. Artificial neural network for Cu quantitative determination in soil using a portable Laser Induced Breakdown Spectroscopy system. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 63, n. 10, p. 1216–1220, 2008.
- GONÇALVES, A. M. et al. Determination and fractionation of barium in Brazil nuts. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 4, p. 760–769, 2009.
- HERRERA, K. K. et al. Semi-quantitative analysis of metal alloys, brass and soil samples by calibration-free laser-induced breakdown spectroscopy: Recent results and considerations. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 24, n. 4, p. 413–425, 2009.
- LÁZARO, M. C. 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. 2017.
- LISK, D. et al. Absorption and excretion of selenium and barium in humans from consumption of Brazil nuts. **Nutrition Reports International**, n. 38, p. 183–192, 1988.
- LUO, Z. et al. Effect of Cu stress on minerals in rice by analyzing husk based on laser - induced breakdown spectroscopy. **Applied Physics B**, p. 1–9, 2020.
- MARKIEWICZ-KESZYCKA, M. et al. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) for food analysis: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 65, p. 80–93, 2017.
- MIZIOLEK, A. W.; PALLESCHI, V.; SCHECHTER, I. **Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). Fundamentals and Applications**. [s.l.: s.n.].
- MORAIS, C. P. DE et al. Calcium determination in biochar-based fertilizers by laser-induced breakdown spectroscopy using sodium as internal standard. **Microchemical Journal**, v. 134,

p. 370–373, 2017.

NAOZUKA, J. et al. Elemental analysis of nuts and seeds by axially viewed ICP OES. **Food Chemistry**, v. 124, n. 4, p. 1667–1672, 2011.

National Institute of Standards and Technology. Disponível em:

<<https://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/LIBS/lib-form.html>>.

NESPECA, M. G.; VIEIRA, A. L.; JÚNIOR, D. S. Detection and quantification of adulterants in honey by LIBS. **Food Chemistry**, p. 125886, 2019.

NOLL, R. **Spectroscopy, Laser-induced Breakdown: Fundamentals and Applications**. [s.l.] Springer, 2012.

PAREKH, P. P. et al. Concentrations of selenium, barium, and radium in Brazil nuts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 4, p. 332–335, 2008.

SANTOS JR. D; TARELHO, L.V.G.; KRUG, F.J.; MILOR, D.M.B.P.; MARTIN NETO, L. . V. J. N. D. **LIBS Fundamentos Aplicações e Perspectivas.pdfAnalytica**, 2006.

SINGH, J. P.; THAKUR, S. N. **Laser-Induced Breakdown Spectroscopy**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Science, 2007.

SOUZA, M. G.; VIEIRA, E. C.; OLIVEIRA, P. V. Determinação de As, Cd e Pb em amêndoas e mesocarpo de babaçu, sapucaia, xixá e castanha-do-pará por espectrometria de absorção atômica Determination of As, Cd and Pb in babassu nut and mesocarp, sapucaia, xixa and brazilian nut by atomic absorption spect. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1442–1446, 2009.

TREVIZAN, L. C. et al. Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy for the determination of micronutrients in plant materials. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 64, n. 5, p. 369–377, 2009.

USDA. **Nuts, brazilnuts, dried, unblanched**. Disponível em: <<https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/170569/nutrients>>.

USDA. **Nuts**. Disponível em: <<https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/query=nuts>>.

VIEIRA, A. L. et al. Determinations of phosphorus in fertilizers by spark discharge-assisted laser-induced breakdown spectroscopy. **Microchemical Journal**, v. 139, p. 322–326, 2018.

VIEIRA, A. L. et al. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems A user-friendly excel spreadsheet for dealing with spectroscopic and chromatographic data. v. 194, n. September, 2019.

WADT, L. H. DE O.; KAINER, K. A. Domesticação e melhoramento de castanheira. **In: BORÉM, A.; LOPES, M.T.G; CLEMENT, C. R. (Ed). Domesticação e melhoramento.**

Espécies Amazônicas., p. 297–317, 2009.

WELNA, M.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A. Improvement of a sample preparation procedure for multi-elemental determination in Brazil nuts by ICP-OES. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, v. 31, n. 4, p. 658–665, 2014.