

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

DANIEL MENEZES SILVESTRE

**Avaliação de parâmetros na análise direta de
madeira por LIBS**

Versão corrigida da Tese conforme Resolução CoPGr 5890

O original se encontra disponível na Secretaria de Pós-Graduação do IQ-USP

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

04/05/2017

DANIEL MENEZES SILVESTRE

**Avaliação de parâmetros na análise direta de
madeira por LIBS**

*Tese apresentada ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Doutor em Ciências (Química)*

Orientadora: Profa. Dra. Cassiana Seimi Nomura

São Paulo

2017

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo na Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas – USP

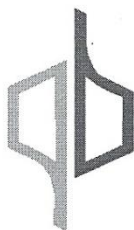
Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP

S587a Silvestre, Daniel Menezes
 Avaliação de parâmetros na análise direta de
 madeira por LIBS / Daniel Menezes Silvestre. - São
 Paulo, 2017.
 122 p.

Tese (doutorado) - Instituto de Química da
Universidade de São Paulo. Departamento de Química
Fundamental.

Orientador: Nomura, Cassiana Seimi

1. ESPECTROMETRIA. 2. LASER. 3. MADEIRA. I. T.
II. Nomura, Cassiana Seimi, orientador.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

"Avaliação de parâmetros na análise direta de madeira por LIBS"

DANIEL MENEZES SILVESTRE

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Ciências - Área: Química.

Aprovado(a) por:

Profª. Dra. Cassiana Seimi Nomura
(Orientadora e Presidente)

Prof. Dr. Claudimir Lucio do Lago
IQ - USP

Prof. Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira
IQ - USP

Profª. Dra. Ivanise Gaubeur
UFABC

Prof. Dr. Dario Santos Junior
UNIFESP - Diadema

SÃO PAULO
07 de junho de 2017

*Aos meus pais Virginia e Gercio, minha
irmã Adriana, ao restante da minha família
e às pessoas mais próximas que sempre me
apoiaram.*

Dedico

*À Profa. Dra. Cassiana Seimi Nomura pela
confiança estabelecida, excelente orientação,
amizade e grande conhecimento
compartilhado.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

O momento de agradecer as pessoas que ajudaram na conclusão de um trabalho para mim é sempre um momento de muita reflexão, pois passa um filme em minha cabeça que envolve não somente o período da pós-graduação, mas de toda trajetória que percorri até chegar aqui. Assim, gostaria de primeiramente agradecer a Deus por sempre iluminar meu caminho, me dar sabedoria para tomar as decisões mais corretas possíveis e força nas adversidades. Nessa jornada que chamamos de vida, muitas vezes acabamos esquecendo de agradecer a Ele, ou agradecer naquilo que acreditamos e naqueles que muitas vezes não aparecem em destaque em nossas conquistas, mas estão lá realizando seu trabalho nos bastidores e são fundamentais. Então, aproveitando essas palavras, gostaria de agradecer a todos os funcionários do IQ-USP (funcionários da limpeza, da secretaria, da manutenção, etc, todos sem exceção), pois cada um com suas tarefas fazem a instituição funcionar e nos dão condições para trabalhar e atingir nossos objetivos. Quero agradecer de maneira geral o IQ-USP por toda sua infraestrutura, local que me acolheu por mais de 11 anos, possibilitando que eu fizesse a graduação, mestrado e, agora, o doutorado. Agradeço especialmente a todos os professores do IQ-USP (e todos os outros professores que tive em minha vida) que transmitiram seu conhecimento e me fizeram crescer pessoalmente e profissionalmente, e aos professores que supervisionaram minhas monitorias nas disciplinas de graduação. Agradeço também a Profa. Helena B. Nader pela primeira oportunidade que tive na área de pesquisa quando realizei a IC na Biologia Molecular da Unifesp, e a Aline e Carol por me ensinarem a dar os primeiros passos em um laboratório de pesquisa. Agradeço também às instituições de fomento pesquisa (CAPES e FAPESP) pelo apoio financeiro nos projetos, e em especial ao CNPq pelas bolsas de mestrado (processo 132644/11-8) e doutorado (processo 141811/2013-7) concedidas a mim. Agradeço ao Prof. Gregório C. T. Ceccantini e a técnica Paula pelas amostras de madeira fornecidas, e ao meu pai Gercio, meu avô Darcio e ao Seu Luiz pela ajuda no preparo dessas e de outras amostras. Agradeço ao Alfredo da Central Analítica do IQ-USP pelas imagens no MEV e ao Laboratório de Caracterização Tecnológica da Escola Politécnica da USP pela análise do tamanho de partícula das amostras utilizadas neste trabalho. Obrigado ao Prof. Thiago Nogueira por me acolher quando realizei os experimentos em Piracicaba. Muito obrigado Prof. Francisco J. Krug por disponibilizar seu laboratório e sempre ajudar nosso grupo, compartilhando seu conhecimento, e a Dra. Lidiane C. Nunes por me ajudar nos experimentos e ser uma pessoa essencial em parte de meus resultados. Prof. Sidnei G. Silva e Andressa, obrigado por me acolherem quando participei da Escola de Quimiometria na UFSCar. Muito obrigado aos Prof. Claudimir L. Lago e Ivanise Gaubeur pela arguição e conselhos no exame de qualificação, aos Prof. Angerson N. Nascimento e Profa. Juliana Naozuka por toda experiência compartilhada e oportunidades da realização de trabalhos paralelos que certamente contribuíram muito para minha formação. Obrigado a todos os membros da comissão avaliadora deste trabalho pela participação. Quero agradecer especialmente ao Prof. Thiago R. L. C. Paixão por toda ajuda ao longo desse período de pós-graduação, mas principalmente quando tive que preparar minha apresentação oral para o EMSLIBS 2015 e no artigo em desenvolvimento, nos quais sua participação foi essencial. Quero também agradecer ao Prof. Pedro V. Oliveira por compartilhar sua experiência não somente comigo, mas com todo grupo, cuidando de todos sempre com muito carinho e respeito, e também por ter me apresentado para Profa. Cassiana. Fico feliz em ter compartilhado experiências profissionais e pessoais com todos os amigos do Grupo de Análise e Pesquisa em Espectrometria (GAPE) e agregados (ex-membros e colaboradores) e gostaria de especialmente agradecer a Aline (Unifesp), Aline (técnica), Bruno, Carla, Diego, Gabriel, Ivo, Leandro, Lelaine, Luciana, Paulo, Pedro, Priscila, Rogério, Samara, Sandra, Thiago, Vinicius, Vivian e todos os ICs (foram muitos). Mas, gostaria de agradecer separadamente ao Alexandre, Gislayne e Luiza por terem ajudado muitas vezes com os equipamentos e discussão de resultados, além de outros auxílios no dia-a-dia e amizade. E claro, agradecer a Alexandrina e Flávio, que assim como eu trabalharam com o LIBS, que além de suas amigas e companheirismo, seus conselhos foram fundamentais para aperfeiçoar este trabalho. Não posso me esquecer de agradecer aos ICs Lucas e Mariana por ter aceitado minha ajuda no desenvolvimento de seus trabalhos, mas principalmente aos ICs que tiveram seus projetos vinculados ao meu: Bruno, Vinicius, Thais e Felipe. Este último, com muita perspicácia, juntamente comigo e Flávio quebramos muito a cabeça quando o LIBS chegou ao laboratório em 2013, e a cada nova descoberta de como o equipamento funcionava, comemorávamos. Não somente aos amigos de laboratório, mas também às pessoas e amigos que fiz

em outros momentos da minha vida quero agradecer pelo carinho, conselhos, momentos divertidos e inesquecíveis que me fizeram passar. Citar nomes é complicado, pois podemos cometer o descuido de sempre esquecer alguém que foi especial em algum momento, mas para não ficar muito impessoal, sinto a necessidade de escrever alguns nomes de pessoas que estiveram próximas a mim nesse período de doutorado, mesmo que às vezes em poucas ocasiões e por pouco tempo: aos meus amigos Leandro, Vinicius, Vitor e Marcelo, pessoas que conheço há mais de 20 anos, com muitos momentos juntos (um deles até me carregou no colo quando pequeno) e os considero parte de minha família. Daniel, Filipe e Leonardo, amigos da época de colégio que me fazem sentir mais jovem quando os encontro. Grace, Nathalia e Thais, três amigas que conheci por causa da IC na Unifesp, e que poderia perder horas e horas de conversa devido a ótima companhia. A Érica, que conheci por causa do LIBS, mas se mostrou uma ótima companhia saindo do âmbito profissional. Aos amigos de graduação e agregados Alvaro, Cris, Dany, Gaby, Helena, Guilherme, Jane, Rogério e Thiago, pessoal que adoro sair para conversar e criar novas histórias e lembrar aquelas vividas desde a época de graduação. Enfim, a todos os meus amigos e pessoas que querem meu bem, agradeço imensamente por todo apoio e momentos vividos que certamente guardarei em meus pensamentos. Realmente sinto muita falta de vários deles, mas a vida corrida que levamos e a distância muitas vezes impede de termos chance de ter mais momentos juntos. De qualquer forma, caso seu nome não tenha aparecido aqui, não se sinta excluído. Há uma frase que li uma vez que diz: *“Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha e não nos deixa só porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso (autor desconhecido)”*. Então, se você fez parte de minha vida em algum momento, mesmo que por poucos segundos, certamente você faz parte de minha formação como pessoa e faz parte deste trabalho. Não posso deixar de agradecer a Patrícia e toda sua família. Minha grande parceira, que esteve próxima a mim desde o começo da pós-graduação, sempre me escutando, aconselhando, ajudando e compartilhando momentos inesquecíveis comigo, e tornou-se uma das pessoas mais importantes em minha vida. Quero também agradecer a toda minha família (e agregados: tios, primos, etc, é muita gente), mas em especial às pessoas mais próximas: meus avós Darcio e Egle, meus tios Geni e Primo, minha irmã Adriana e cunhado Edward. Desde pequeno e até os dias de hoje eles estiveram presentes em minha vida e aprendi diversas coisas com eles, desde tarefas simples como “cozinhar um ovo” até tarefas mais complexas como “redigir e formatar um trabalho escolar utilizando um computador”, e assim, certamente boa parte do que sou hoje e do que conquistei devo a eles. Ter uma boa família, que cuida com carinho de nós, é a base para conseguirmos dar saltos cada vez maiores. Também não posso deixar de agradecer aos meus primos Ana Maria, Carlo e Osmar por toda ajuda que sempre deram ao pessoal aqui de casa, mas principalmente aos meus tios e padrinhos Osmar e Lourdes por terem acreditado em mim e investirem em meus estudos, pois realmente não sei se teria conseguido chegar até aqui sem a ajuda deles no início. Mas os agradecimentos mais especiais são aos meus pais que são as pessoas mais importantes para mim. Minha mãe Virginia sempre me deu muito carinho, amor e sempre me ajudou na medida do possível. Lembro-me da época em que eu ainda pequeno ela me ajudava à tarde nas tarefas de casa e mesmo sem ter completado os estudos, me ajudou a aprender a ler e escrever quando tive dificuldade. E hoje, ela diz que leio e faço coisas que ela não faz a menor ideia do que sejam. E meu pai Gercio, que muitas vezes se sacrificou para me dar o melhor que podia para me fazer feliz. Muitas vezes teve que deixar de comprar algo que gostaria ou teve que fazer algo com muito esforço para me ajudar. Espero que hoje eles tenham orgulho de mim e que eu tenha retribuído todo o esforço de ambos, e que eu consiga continuar os ajudando sempre da melhor maneira possível. Obrigado também ao Dr. William, Dra. Maria Cândida, Dr. Madson, Dr João e toda equipe médica e enfermeiros que cuidaram de mim quando necessitei. E claro, finalmente agradecer a pessoa que esteve ao meu lado o tempo todo neste trabalho: a Profa. Cassiana Seimi Nomura. Foram 6 anos trabalhando juntos, mestrado e doutorado, e ela sempre depositou muita confiança em mim, me ajudou muito, foi compreensiva, paciente, compartilhou muitas experiências profissionais e pessoais e, certamente, me fez crescer profissionalmente e pessoalmente, e por isso hoje não a considero somente como minha orientadora, mas também uma amiga. Espero realmente ter conseguido retribuir toda dedicação que ela teve comigo. Desejo muito sucesso e felicidades não somente a ela, mas a toda sua família. Muito obrigado professora!

*“Na vida, ter sorte ajuda muito, mas
dedicação, disciplina, organização,
perseverança, confiança, respeito,
humildade e amor pelo que se faz são
ingredientes muito importantes para ter
sucesso e atingir sonhos e objetivos.”*

Daniel Menezes Silvestre

RESUMO

SILVESTRE, Daniel Menezes. **Avaliação de parâmetros na análise direta de madeira por LIBS**. 2017. 122p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências (Química). Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) tem se tornado uma técnica muito atrativa e bastante explorada nas análises químicas e tem ganhado destaque devido à disponibilidade de instrumentos portáteis, o qual possibilita a análise *in situ*. Por outro lado, a análise quantitativa tem sido considerada o “*calcanhar de Aquiles*” da técnica, face as suas dificuldades em executá-la, em especial devido à complexa interação laser-matriz. Nesse contexto, o uso de métodos de calibração apropriados é imperativo. Neste trabalho avaliou-se a possibilidade de empregar LIBS na identificação, discriminação e quantificação elementar em amostras de madeira, uma vez que essa matriz tem grande importância econômica e ambiental. O desenvolvimento de método envolveu a otimização dos parâmetros instrumentais (diâmetro de focalização de 50 μm , energia por pulso de 20 mJ, taxa de repetição de 10 Hz, tempo de atraso de 0,25 μs , padrão de análise percurso, 300 pulsos de laser, deslocamento da amostra de 0,15 mm/s e fluxo de argônio de 1,0 L/min), bem como a avaliação da influência da umidade, tamanho de partícula e homogeneidade nos resultados analíticos. Diversos métodos de calibração também foram estudados, entre eles, a calibração empregando diferentes CRMs que geraram resultados com erros relativos superiores a 30%. Calibração construída com madeira *Pinus* adicionada com concentrações crescentes de analito foi a que apresentou os melhores resultados (erros relativos < 20%). Outra abordagem envolveu a confecção de um branco analítico por meio da lavagem da madeira, seguida pela adição elementar o qual apresentou resultados com erros relativos de até 14%, mostrando-se bastante promissora. Apesar disso, aplicações em amostras *in natura* não é trivial devido à sua baixa homogeneidade e especialmente devido ao fato de o analito naturalmente presente na amostra interagir de forma diferente ao analito artificialmente adicionado à matriz. A aplicação do LIBS na avaliação da distribuição elementar nos anéis de crescimento de árvores foi eficiente, assim como na discriminação e identificação de amostras de madeira que atingiu 100% de exatidão no índice de acerto quando aplicado KNN.

Palavras-chave: LIBS, emissão atômica, análise direta, madeira, calibração, classificação.

ABSTRACT

SILVESTRE, Daniel Menezes. **Evaluation of parameters in direct analysis of wood by LIBS**. 2017. 122p. PhD Thesis - Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) has become a very attractive and well-exploited technique in chemical analysis and has gained prominence due to the availability of portable instruments, which enables *in situ* analysis. On the other hand, quantitative analysis has been considered the "Achilles heel" of this technique, especially due to the strong matrix interference caused by complex laser-matrix interaction. In this context, the use of appropriate calibration methods is imperative. In this work the possibility of using LIBS in the identification, discrimination, and elemental quantification in wood samples was evaluated, since this matrix has an economic and an environmental importance. The method development involved the optimization of the instrumental parameters (50 μm of spot size, 20 mJ of energy by pulse, 10 Hz of pulse repetition rate, 0.25 μs of delay time, raster, 300 laser pulses, sample velocity of 0.15 mm/s and argon flow of 1.0 L/min), as well as the influence of moisture, particle size and homogeneity onto the analytical results. Several calibration methods were also studied, among them, the calibration using different CRMs which was not a good purpose since relative errors higher than 30% on the results were found. The calibration made with Pinus wood spiked with increasing concentrations of analytes showed the best results (relative errors <20%) for wood analysis. Another approach involved the preparation of an analytical blank by washing wood samples with 0.1% HNO_3 , followed by spiking of increasing concentration of analytes. In this case, relative errors of up to 14% were found, suggesting it is a promising approach. Despite this, applications of these proposed methods in quantitative analysis of *in natura* wood samples are not trivial due to their low homogeneity and especially due to the differences on interaction between laser and naturally occurring analyte and artificially spiked analyte. The application of LIBS in the evaluation of the elemental distribution in the tree growth rings was efficient, as well as in the discrimination and identification of wood samples since 100% accuracy were reached when KNN was applied.

Keywords: LIBS, atomic emission, direct analysis, wood, calibration, classification.

SUMÁRIO

1.	Introdução.....	13
2.	Revisão bibliográfica	14
2.1.	A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser, LIBS.....	14
2.2.	Análise quantitativa de materiais vegetais por LIBS.....	16
2.3.	Importância da identificação de madeira.....	19
2.4.	LIBS na análise de madeira.....	21
3.	Objetivos.....	23
4.	Experimental.....	24
4.1.	Instrumentação.....	24
4.2.	Materiais e Reagentes.....	26
4.3.	Procedimento	27
4.3.1.	Descontaminação dos materiais.....	27
4.3.2	Preparo das amostras.....	27
4.3.2.1.	Moagem dos materiais	27
4.3.2.2.	Peneiramento.....	28
4.3.2.3.	Preparo das pastilhas para análise por LIBS.....	28
4.3.2.4.	Decomposição ácida assistida por micro-ondas.....	28
4.3.2.5.	Avaliação de aspectos microscópicos dos materiais.....	29
4.3.3.	Análise dos materiais.....	30
4.3.3.1.	Determinação multielementar por ICP OES.....	30
4.3.3.2.	Análises por LIBS.....	30
4.3.3.2.1.	Avaliação do espectro de emissão obtido na análise de madeira por LIBS.....	30
4.3.3.2.2.	Otimização dos parâmetros instrumentais no sistema LIBS J200 tandem.....	32
4.3.3.2.3.	Calibração com diversos CRMs de origem vegetal.....	34
4.3.3.2.4.	Calibração com adição de analito em amostra de madeira e materiais secundários de calibração (celulose).....	35

4.3.3.2.5.	Investigação da resposta analítica obtida por LIBS para Ca, K, Mg e Na em pastilhas de madeira preparadas com adição dos elementos em estudo e com diferentes tamanhos de partícula....	37
4.3.3.2.6.	Calibração com diluição do material e adição de analito.....	38
4.3.3.2.7.	Investigação de uma estratégia de calibração empregando diferentes espécies de madeiras sem adição ou extração de analito e com diferentes tamanhos de partícula.....	39
4.3.3.2.8.	Análise de madeira com diferentes umidades.....	39
4.3.3.2.9.	Avaliação do sistema de correção de focalização do LIBS.....	40
4.3.3.2.10.	Análise em diferentes profundidades da madeira.....	41
4.3.3.2.11.	Avaliação da homogeneidade da madeira Pinus em LIBS.....	42
4.3.3.2.12.	Distribuição elementar em anéis de crescimento.....	44
4.3.3.2.13.	Discriminação e classificação de amostras de madeira.....	45
5.	Resultados e discussões.....	47
5.1.	Análises por LIBS.....	47
5.1.1.	Avaliação do espectro de emissão obtido na análise de madeira por LIBS.....	47
5.1.2.	Otimização dos parâmetros instrumentais no sistema LIBS J200 tandem.....	49
5.1.2.1.	Otimização do diâmetro de focalização.....	49
5.1.2.2.	Otimização da energia do pulso.....	53
5.1.2.3.	Otimização da taxa de repetição.....	54
5.1.2.4.	Otimização do tempo de atraso.....	55
5.1.2.5.	Otimização do padrão de análise e número de pulsos.....	58
5.1.2.6.	Otimização da velocidade de deslocamento da amostra.....	61
5.1.2.7.	Otimização do fluxo de argônio.....	62
5.1.2.8.	Parâmetros otimizados no sistema LIBS.....	63
5.1.3.	Estudo de calibração nos sistemas LIBS.....	64
5.1.3.1.	Calibração com diversos CRMs de origem vegetal.....	65
5.1.3.2.	Calibração com adição de analito em amostra de madeira e materiais secundários de calibração (celulose).....	68
5.1.3.2.1.	Avaliação dos efeitos de matriz entre diferentes materiais utilizados na calibração de LIBS.....	71

5.1.3.2.2.	Avaliação da influência do tamanho de partícula dos materiais calibrantes sobre as curvas analíticas de calibração.....	73
5.1.3.3.	Calibração com adição e extração de analito em amostra de madeira.....	78
5.1.3.4.	Investigação de uma estratégia de calibração empregando diferentes espécies de madeiras sem adição ou extração de analito e com diferentes tamanhos de partícula.....	79
5.1.4.	Análise de fragmentos de madeira por LIBS.....	84
5.1.4.1.	Análise de madeira com diferentes teores de umidades.....	84
5.1.4.2.	Análise em amostra de madeira com superfície inclinada e avaliação do sistema de correção de focalização do laser do LIBS.....	86
5.1.4.3.	Análise em diferentes profundidades da madeira.....	90
5.1.4.4.	Avaliação da homogeneidade da madeira Pinus em LIBS.....	92
5.1.4.5.	Distribuição elementar em anéis de crescimento.....	102
5.1.4.6.	Discriminação e classificação de amostras de madeira.....	106
6.	Conclusões.....	110
7.	Considerações Finais.....	112
8.	Referências.....	113
	Anexo - Súmula Curricular.....	i

1. INTRODUÇÃO

A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (*Laser-induced breakdown spectroscopy*, LIBS) é uma técnica analítica promissora, por realizar medidas multielementares, rápidas e com baixa manutenção se comparada a outras técnicas espectroscópicas. O mais interessante é o fato de possibilitar a análise direta dos materiais minimizando ou até mesmo dispensando a etapa de preparo das amostras. A grande dificuldade, no entanto, é a complexidade da interação laser-matéria que ainda não é totalmente compreendida e gera fortes efeitos de matriz, dificultando a realização de análises quantitativas, que é considerada pela comunidade científica mundial como o “calcanhar de Aquiles” da técnica. Nesse sentido, a adequada otimização instrumental, assim como o uso do método de calibração adequado são imperativos para viabilizar análises quantitativas de amostras complexas, tal como a madeira que é a matriz investigada nesse trabalho.

A madeira é um material de elevado interesse comercial, além de apresentar grande importância ambiental. A exploração ilegal da madeira é uma dura realidade e requer a fiscalização para ser combatida. Nesse contexto, LIBS se torna uma interessante ferramenta para ser utilizada na classificação e discriminação de diferentes espécies de madeiras, o qual foi realizado com sucesso nesse trabalho. Também está proposto nesse trabalho a aplicação de LIBS nas análises dos anéis de crescimento de troncos de árvores, cuja composição depende do meio em que elas vivem. O estudo mais desafiador, no entanto, foi avaliar a aplicabilidade de LIBS nas medições quantitativas de alguns elementos em amostras de madeira. Foram avaliados a influência dos parâmetros instrumentais, parâmetros da amostra como composição química da matriz, tamanho de partícula do material, umidade, condições de ablação, entre outros, na precisão e exatidão dos resultados. Diferentes estratégias de calibração, na tentativa de viabilizar análise quantitativa de madeira por LIBS, foram estudadas e os resultados são apresentados. O objetivo final dessa tese foi apresentar o estado da arte e as tendências de aplicações em LIBS e, especialmente, os desafios que ainda precisam ser vencidos para viabilizá-la como uma técnica de rotina em análise quantitativa.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

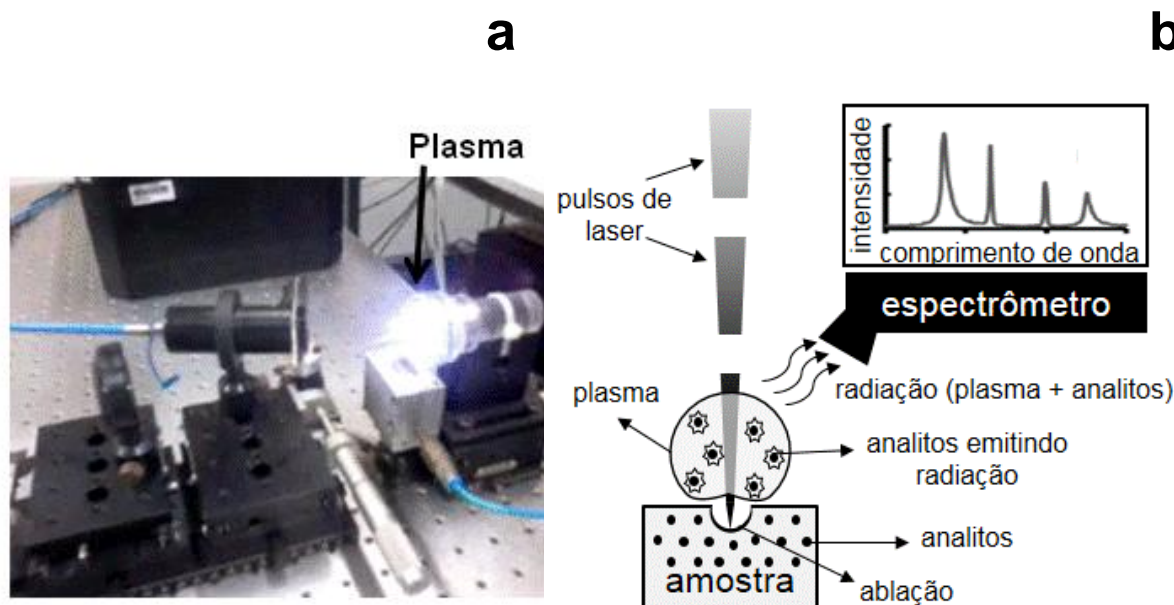
2.1. A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser, LIBS

A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) é uma técnica de análise direta tal como a Análise por Ativação Neutrônica Instrumental (INAA), Fluorescência de Raio-X (XRF), Espectrometria de Emissão Óptica (ou Massas) com Plasma Indutivamente Acoplado e Vaporização Eletrotérmica (ou Ablação a Laser) (ETV-ICP OES/MS e LA-ICP OES/MS), Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite e Análise Direta de Sólidos (SS-GF AAS), entre outras (ZEISLER, 1998). As principais vantagens destas técnicas são o menor risco de contaminação ou perda de analitos, a rápida obtenção de resultados, a pequena quantidade de amostra requerida ($m < 100 \mu\text{g}$) e geração de resíduo, o aumento da detectabilidade pela não diluição da amostra e a disponibilidade de instrumentos portáteis (ainda em desenvolvimento devido a limitações técnicas) que possibilitam análises em campo. (BELARRA et al., 2002; SENESI et al., 2014; GOMES et al., 2014). LIBS surgiu juntamente com o desenvolvimento dos lasers na década de 1950, quando Shawlow e Townes realizaram os primeiros estudos sobre a amplificação de ondas eletromagnéticas. Na década seguinte, com o desenvolvimento do laser de Rubi por Maiman, Brech e Cross, este dispositivo foi utilizado para indução de um plasma sobre a amostra, o qual foi posteriormente aplicado analiticamente por Debras-Guédon e Liodec. É neste cenário que muitos consideram o nascimento da técnica LIBS (RADZIEMSKI, 2002; RADZIEMSKI & CREMERS, 2013).

Nas análises realizadas por LIBS, a incidência de pulsos de laser com elevada energia é capaz de realizar a amostragem de poucos microgramas do material e gerar um plasma com temperatura superior a 10000 K (Figura 1a), responsável pela excitação de átomos, íons e espécies moleculares, que ao retornarem ao estado fundamental emitem um espectro de emissão característico coletados por um sistema óptico responsável pela separação da radiação em diversos comprimentos de onda, os quais chegam a um detector (SNEDDON & LEE, 1998; RUSSO, MAO & MAO; SANTOS JUNIOR et al., 2006; MIZIOLEK,

PALLESCHI & SCHECHTER, 2006; CREMERS & RADZIEMSKI, 2006; SINGH & THAKUR, 2007; NOLL, 2012; RUSSO et al., 2013). A Figura 1b resume estes eventos presentes em alguns tipos de análises por LIBS.

Figura 1: (a) Foto de um plasma gerado pela incidência de pulsos de laser sobre uma amostra de madeira e (b) resumo de eventos presentes em alguns tipos de análise por LIBS.



A interação de um feixe de laser com a matéria é um processo complexo e ainda não é totalmente explicado (MIZIOLEK, PALLESCHI & SCHECHTER, 2006; CREMERS & RADZIEMSKI, 2006; SINGH & THAKUR, 2007; NOLL, 2012; RUSSO et al., 2013; FORTES et al., 2013). Sabe-se que há uma energia mínima que deve ser depositada sobre a amostra (normalmente denominada fluência ou irradiância mínima) para iniciar o processo de ablação e formação do plasma (RUSSO, MAO & MAO, 2002). Este limiar energético depende de propriedades relacionadas ao laser e a amostra, tais como comprimento de onda do feixe de radiação, energia dos fótons, duração e taxa de repetição dos pulsos de laser, absorção e dissipação de energia na amostra, entre outros (MIZIOLEK, PALLESCHI & SCHECHTER, 2006; CREMERS & RADZIEMSKI, 2006; SINGH & THAKUR, 2007; NOLL, 2012; RUSSO et al., 2013; FORTES et al., 2013). A explicação mais recorrente dos princípios básicos da técnica diz que os fótons presente no laser podem ser absorvidos por elétrons presentes na amostra (*bremstrahlung* inverso) e com uma fluência suficiente há a quebra de ligações químicas desencadeando os processos de atomização, ionização, colisões entre espécies e aumento da temperatura,

densidades iônicas e eletrônicas da região, formando-se assim o plasma (RUSSO, MAO & MAO, 2002; MIZIOLEK, PALLESCI & SCHECHTER, 2006; CREMERS & RADZIEMSKI, 2006; SINGH & THAKUR, 2007; NOLL, 2012; RUSSO et al., 2013; FORTES et al., 2013). Dependendo das condições experimentais, este plasma pode ainda interagir com o feixe de radiação, fenômeno conhecido como efeito de blindagem, alterando parâmetros como a temperatura e taxa de ablação do material.

2.2. Análise quantitativa de materiais vegetais por LIBS

Assim como em outras técnicas, a otimização de parâmetros instrumentais de LIBS para cada tipo de matriz analisada é essencial para obtenção de resultados analíticos exatos e precisos (SENESI et al., 2014). Propriedades do laser (comprimento de onda, energia, número e taxa de repetição dos pulsos), propriedades do ambiente (composição da atmosfera), aparato instrumental (distância da lente convergente em relação à amostra ou diâmetro de focalização), estratégias de coleta de dados (tempos de atraso e integração, seleção dos comprimentos de emissão), entre outros, são alguns dos parâmetros que podem ser investigados almejando obtenção dos resultados analíticos isentos de erros (STAVROPOULOS et al., 2004; TOGNONI et al., 2002; CARVALHO et al., 2012). Os resultados analíticos podem também ser afetados por características físicas e químicas da amostra, tais como calor latente de fusão e vaporização, condutividade térmica, tamanho de partícula do material, umidade, presença de espécies facilmente ionizáveis ou em diferentes formas químicas, entre outras, podendo resultar em alterações na quantidade de massa tomada para análise ou nos processos que o analito sofre desde ablação até a emissão de radiação eletromagnética (MIZIOLEK, PALLESCI & SCHECHTER, 2006; TOGNONI et al., 2002). Além disso, o fato de uma pequena massa de amostra ser requerida pode se tornar uma desvantagem desde que pode aumentar a imprecisão dos resultados. Todos esses parâmetros tornam complexo o processo de interação entre o laser e a amostra e, conseqüentemente, medidas quantitativas se torna uma tarefa nada simples, sendo esta considerada o “calcanhar de Aquiles” da técnica. Os efeitos de matriz, a heterogeneidade para pequenas massas de amostra e a pequena disponibilidade de materiais de referência certificados (CRM) de matriz e

concentração adequados para calibração são as principais dificuldades destacadas (SNEDDON & LEE, 1998; HAHN & OMENETTO, 2010; HAHN & OMENETTO, 2012). Assim, o desenvolvimento de métodos quantitativos de análise de amostras complexas por LIBS é um dos grandes desafios.

A realização de medições quantitativas depende da correta calibração do método. Idealmente os materiais utilizados na calibração necessitam ter uma composição matricial similar à amostra para minimizar os indesejáveis efeitos de matriz que podem afetar a precisão e especialmente a exatidão dos resultados. Em geral, faz-se uso de CRMs de composição matricial similar à amostra nas calibrações dos métodos, entretanto, os altos custos agregados a esses materiais associada à pequena disponibilidade de materiais com matriz e concentração de analitos adequadas tornam a calibração algo não trivial (SNEDDON & LEE, 1998; SANTOS JUNIOR et al., 2006). Além disso, a maioria dos CRMs comercialmente disponíveis são homogêneos para massas superiores a 100 mg, massa esta muito superior à aquelas empregadas nas análises por LIBS (na ordem de μg), comprometendo, portanto, a precisão e exatidão dos resultados. Senesi et al. (2014) empregaram com sucesso os CRMs de origem vegetal para calibração dos métodos LIBS e medições quantitativas de diversos elementos químicos em plantas. Trevizan et al. (2008 e 2009) também usaram a mesma estratégia nas medições quantitativas de macro e micronutrientes em amostras de plantas, entretanto, alguns dos resultados foram considerados não concordantes com os valores de referência devido aos efeitos de matriz entre os materiais, decorrentes de diferenças na composição química, distribuição do tamanho de partícula, porosidade da pastilha, presença de concomitantes, entre outros. Pouzar et al. (2009) enfrentaram a mesma dificuldade na análise de vegetais, obtendo-se resultados satisfatórios somente quando utilizados materiais calibrantes com composição similar as amostras. Sun et al. (1999) também observaram diferenças significativas na sensibilidade das curvas de calibração quando utilizadas misturas de celulose e CRMs vegetais para o preparo dos padrões de calibração, assim como Braga et al. (2010), que notaram algumas diferenças no comportamento de calibrações realizadas com materiais vegetais de diferentes matrizes após análise direta por LIBS, as quais foram atribuídas a efeitos de matriz.

Alternativamente ao uso de CRMs para calibração dos métodos de análise em LIBS, há a possibilidade do desenvolvimento de padrões de calibração pela

adição de analito sobre a matriz desejada ou diluição desta com materiais apropriados. Kim et al. (2012) misturaram CRMs de espinafre ou arroz com lactose anidra para preparar os materiais calibrantes e obtiveram bons resultados nas análises dos materiais. Gomes et al. (2013) apresentaram uma estratégia de diluição de amostras de plantas com o mesmo material submetido previamente a uma extração ácida, sendo obtido resultados concordantes com os valores de referência para amostras de folhas de cana-de-açúcar. Silvestre et al. (2016) também obtiveram bons resultados na determinação de Ba, Ca, K e Mn em amostras de tabaco empregando curvas de calibração construídas com a própria matriz submetidas a diluição com celulose e adição de analito. Cho et al. (2001) optaram somente pela adição de soluções padrões dos analitos sobre farinha para o preparo de padrões de calibração com composição similar a amostra, estratégia também adotada por Garcimuño et al. (2013) para medições quantitativas de Cu em algas por LIBS. Zhu et al. (2012) em estratégia semelhante prepararam padrões de calibração para determinação de Pb por LIBS empregando bambu como material adsorvente. Já Nunes et al. (2010), Souza et al. (2013) e Guerra et al. (2015) calibraram o método empregando um grande número de amostra de cana-de-açúcar contendo concentrações variadas dos analitos para analisar esse tipo de amostra. Estratégia semelhante foi adotada por Peruchi et al. (2014) ao analisar amostras de farinha de trigo. Uhl et al. (2001) e Gething et al. (2009) realizaram a identificação de madeiras tratadas com conservantes empregando LIBS, porém tiveram dificuldades na realização de análises quantitativas nos fragmentos de madeira, possivelmente devido a elevada heterogeneidade do material.

Considerando que a calibração é etapa crucial nas análises quantitativas por LIBS, o desenvolvimento de estratégias simples de calibração que permitam contornar os problemas relacionados ao efeito de matriz proveniente dos diferentes tipos de matrizes se faz necessário. A especificidade de cada amostra e a heterogeneidade para pequenas massas indicam a necessidade do desenvolvimento de estratégias de preparo de amostra e tratamento de dados que aumentem a precisão e exatidão dos resultados (SENESI et al.; 2014). Gomes et al. (2011) avaliaram o processo de moagem de folhas e perceberam que diferenças na quantidade de fibra e celulose entre os materiais faz com que as amostras requeiram diferentes tempos de moagem para obtenção de similares distribuições de tamanhos de partícula, parâmetro normalmente crucial para obtenção de bons

resultados analíticos por LIBS, já que afeta a homogeneidade, ablação do material e a eficiência de decomposição da partícula no plasma (CARVALHO et al., 2015). Na determinação de B, Cu, Fe, Mn e Zn em materiais de referência de diversos vegetais, verificaram-se que os tamanhos e geometrias das crateras formadas pelo laser, após a análise, variou de acordo com a matriz, decorrente principalmente da estrutura e distribuição do tamanho de partícula do material, fatores estes que podem afetar os resultados analíticos (TREVIZAN et al., 2009). Gomes et al. (2014) empregando LA-ICP OES também verificaram diferenças na quantidade de massa ablada em pastilhas preparadas com materiais vegetais submetidos a diferentes tempos de moagem, as quais foram minimizadas com o uso de Sc adicionado sobre o material como padrão interno. Muitas vezes a utilização de um elemento majoritário e naturalmente constituinte da amostra como padrão interno é uma boa estratégia na tentativa de aumentar a precisão dos resultados em LIBS. Uhl et al. (2001) e Gething et al. (2009) empregaram tal estratégia, utilizando a razão dos sinais do analito pelo sinal de carbono para calibração dos métodos, na análise de madeiras tratadas com conservantes para melhorar a correlação da curva analítica de calibração. Silvestre et al. (2015) também verificaram que o uso do padrão interno (linhas de emissão de C) para calibração do método LIBS minimizou efeitos de matriz entre madeira e materiais vegetais provavelmente decorrentes de diferenças na ablação.

2.3. Importância da identificação de madeira.

Ao longo dos anos a cobertura vegetal da Terra reduziu drasticamente principalmente devido a ação do homem sobre as florestas (FAO, 2013). A realização de atividades agropecuárias, urbanização, extração de minérios e exploração de madeira são as principais ações humanas que promovem a devastação da vegetação (INPE, 2013), algo preocupante visto que a perda da cobertura vegetal pode implicar em uma série de fatores negativos como a destruição do habitat de milhões de espécies animais e vegetais, alterações no ciclo hidrológico e mudanças climáticas (NATIONAL GEOGRAPHIC, 2013). Segundo a Maplecroft (2013), o Brasil é um dos países com as maiores taxas de desmatamento no mundo, ficando atrás apenas de países como Nigéria, Indonésia, Coreia do

Norte, Bolívia, Papua Nova Guiné, República Democrática do Congo e Nicarágua. O Brasil é afetado pelo desmatamento desde o seu descobrimento no século XVI, inicialmente decorrente da extração de madeira, sendo posteriormente intensificada pela extração de minérios e pecuária no final do século XVII (POLÍCIA MILITAR AMBIENTAL DO BRASIL, 2013). No século XX, a elevada imigração para o país e necessidade de grandes extensões territoriais para o desenvolvimento de atividades agropecuárias aumentaram ainda mais a quantidade de áreas degradadas no país (IBAMA, 2013) e atualmente a soma de toda devastação nos mais e 500 anos de história do país resulta em uma perda estimada de mais de 300 milhões de hectares de matas brasileiras (3 milhões de km²), representando aproximadamente 35% de todo território nacional (IBAMA, 2013). A elevada taxa de desmatamento ainda recorrente é algo preocupante, já que segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), a cobertura vegetal do Brasil representa aproximadamente 15% da cobertura mundial.

Segundo um relatório da Organização das Nações Unidas (ONU) e da Interpol, grande parte do desmatamento em países tropicais da Bacia Amazônica, África Central e Sudeste Asiático são realizados por organizações criminosas. Com a baixa fiscalização das regiões, os criminosos conseguem lucros totais de 30 à 100 bilhões de dólares ao ano, representando cerca de 30% de todo o comércio de madeira mundial (ONU, 2013). A mistura de madeira ilegal com a madeira legalizada durante o transporte ou nas usinas de beneficiamento (“lavagem de madeira”) é comumente realizada pelos criminosos para enganar a fiscalização. Inicialmente ocorre a exploração de espécies mais valiosas como o mogno (*Swietenia macrophylla*), ipê (*Tabebuia sp*) e cedro (*Cedrela odorata*), e posteriormente a extração de outras espécies como jatobá (*Hymenaea courbaril*) e maçaranduba (*Manilkara sp.*), gerando assim uma grande área degradada em um período de aproximadamente 5 à 15 anos (GREENPEACE, 2013). Na Amazônia Oriental, espécies como o pau-amarelo (*Euxylophora paraensis*), mogno (*Swietenia macrophylla*), ipê (*Tabebuia seratifolia*), cedro (*Cedrela Odorata*), jatobá (*Hymenae courbaril*), ucuúca (*Virola surimensis*), andiroba (*Carapa guianensis*), freijó (*Cordia goeldiana*), maçaranduba (*Manikara huberi*), pau-roxo (*Peltogyne paradoxa*) e macacaúba (*Platymiscium trinitatis*) correm risco de extinção devido à grande exploração visto que possuem um alto valor comercial, variando de 300 à 900 dólares o valor do m³ de madeira serrada (IMAZON, 2013). A lista de espécies com

este risco é imensa e pode ser consultada na Instrução Normativa nº6 de 23 de Setembro de 2008 (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2008). Entre os principais passos para reduzir o desmatamento irregular é reduzir os lucros das atividades criminosas, impedir novos investimentos para exploração irregular de madeira e aumentar a probabilidade de apreensão e condenação de criminosos (INTERPOL, 2013). Assim, a identificação de madeira é algo muito importante em termos de fiscalização, certificação de madeiras e aplicação de processos jurídicos. Tal identificação pode ser utilizada para dar confiabilidade a exportadores, importadores e consumidores de madeira (EMBRAPA, 2013).

2.4. LIBS na análise de madeira.

A identificação de madeira pode ser realizada macro ou microscopicamente. Quando feita macroscopicamente, aspectos organolépticos e sensoriais como cor, brilho, odor, gosto, grã, textura, densidade, dureza, camadas de crescimento, poros, raios, entre outros, são utilizados. A identificação microscópica envolve as características do tecido vegetal, como os tipos de pontuações, ornamentações da parede celular, composição celular dos raios, dimensões celulares, entre outras. Tratam-se de tarefas não triviais, pois necessitam de profissionais treinados para tal fim, além da disponibilidade de exemplares de madeira para devidas comparações e identificação (ZENID & CECCANTINI, 2013). A madeira é constituída majoritariamente por estruturas poliméricas baseadas em celulose (aproximadamente 33 - 51% m/m), hemiceluloses (aproximadamente 28 - 35%) e lignina (aproximadamente 22 - 29%) dependendo da madeira. Outras espécies de baixo peso molecular, tais como os extrativos e a fração inorgânica (cinzas) constituem o restante do material (DEMIRBAS & DEMIRBAS, 2009). Os elementos majoritários são C (aproximadamente 50% m/m), H (aproximadamente 5% m/m), O (aproximadamente 44% m/m) e N (aproximadamente 1% m/m). Elementos como Al, As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Na, Ni, P, Pb, Sb, Se, Si, entre outros, estão presentes na madeira em menores concentrações. Trata-se de um material heterogêneo e a quantidade desses elementos normalmente está relacionada ao tipo de planta, local de crescimento, idade, entre outras (DEMIRBAS, 2003). Há uma grande importância no desenvolvimento de métodos analíticos rápidos e baratos

para identificação e determinação elementar em materiais vegetais utilizados em remediação ou monitoramento do ambiente (SENESI et al., 2014), para o controle de qualidade do material processado e comercializado ou para criação de estratégias de cultivo que aumentem a qualidade das plantas (GOMES et al., 2014).

Medidas quantitativas elementares em amostras de madeira normalmente envolvem técnicas que requerem etapas de decomposição da amostra (MISRA, 1993; KÜHN et al.; 1997; DEMIRBAS, 2003; GÓRECKA et al., 2006). Comumente as amostras de madeira são convertidas em cinzas após tratamento térmico a altas temperaturas (>575°C) e realizada sua análise por técnicas espectrofotométricas para determinação da composição elementar (PETTERSEN, 1984). Diferentes concentrações de Ca, K e Mg foram encontradas por Kühn et al. (1997) em diferentes secções de tronco de árvores enquanto Calva-Vázquez et al. (2006) e Cui et al. (2013) verificaram tais diferenças em anéis de crescimento dos troncos dos vegetais. A análise dendroquímica realizada por Cui et al. (2013), empregando a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de absorção atômica (AAS) após decomposição ácida das amostras pode ser destacada. Estudos semelhantes foram conduzidos por Calva-Vázquez et al. (2006) que empregou técnicas de análise direta como a Emissão de Raios-X Induzida por Partículas (PIXE) e Espectroscopia de Retrodispersão de Rutherford (RBS) para quantificação elementar nos diferentes anéis de crescimento de árvores. Entretanto, pensando-se em uma possível análise de campo, poucas técnicas são capazes de atender esta demanda devido a limitações técnicas. Além das vantagens das técnicas de análise direta já anteriormente descritas, LIBS pode ser considerada uma técnica promissora para tal finalidade por ter características de determinação multielementar e simultânea, aliada ao fato de haver a possibilidade de portabilidade, que permite a análise *in situ* (FICHET et al., 2006). Cordeiro et al. (2012) realizaram com sucesso a discriminação de 4 espécies de madeira utilizando os sinais de emissão de Al, B, Ca, Mg, Zn, Cu, Mn, Fe, Na e Si obtidos por LIBS e Análise de Componentes Principais (PCA). Uhl et al. (2001), Solo-Gabriele et al. (2004), Martin et al. (2005), Gething et al. (2009) e Aono et al. (2012) empregaram estratégia semelhante para discriminarem madeiras submetidas a diferentes tratamentos com conservantes. Alterações na composição química de troncos de árvores expostas a incêndios florestais puderam também ser observadas por meio da análise por LIBS e uso de ferramentas quimiométricas (MARTIN et al., 2007).

3. OBJETIVOS

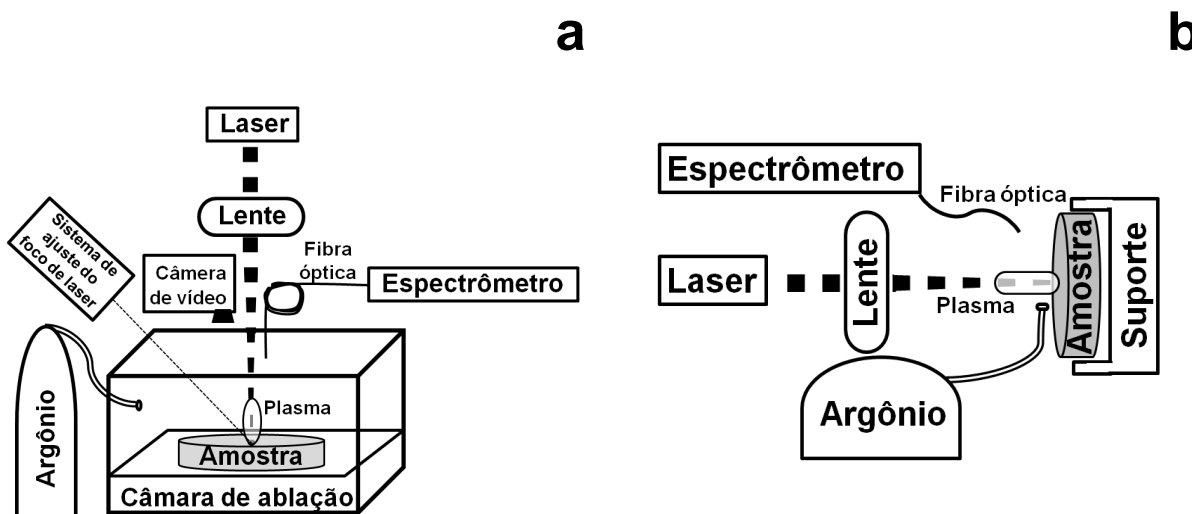
Este trabalho visou ao desenvolvimento de métodos de medição quantitativa de Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em amostras de madeira por LIBS. Foi avaliada a influência dos principais parâmetros instrumentais e da amostra que afetam a precisão e a exatidão dos resultados analíticos. Visando à análise quantitativa, algumas estratégias de calibração foram investigadas, entre eles o uso de CRMs de diversos tecidos vegetais e o uso de materiais secundários submetidos a etapas de adição com os elementos de interesse. A distribuição elementar em anéis de crescimento de troncos de árvore e a identificação de diferentes amostras de madeira utilizando os resultados obtidos e ferramentas quimiométricas também fizeram parte deste trabalho.

4. EXPERIMENTAL

4.1. Instrumentação

Dois sistemas LIBS de bancada foram utilizados para os estudos: o sistema comercial J200 Tandem (Applied Spectra, CA, EUA) e um sistema LIBS não comercial. Na Figura 2a é apresentado um esquema do sistema J200 Tandem composto por laser Q-Switched Nd:YAG (Ultra 100, Quantel, EUA), operando no comprimento de 266 nm, com feixe de laser de 4 mm de diâmetro, com energia máxima de até 25 mJ por pulso e duração de 6 ns (valores adotados de acordo com informações do fabricante), com a capacidade de operar com taxa de repetição de até 20 Hz. As medidas de emissão de radiação foram feitas por um espectrômetro de alta resolução (Czerny-Turner) com 6 canais (6 intervalos espectrais de detecção) CCD (*charge-coupled device*, Aurora, Applied Spectra, EUA) com cobertura espectral de 186,132 – 1044,359 nm e um tempo fixo de integração de 1,05 ms. O LIBS ainda possui um sistema que permite o preenchimento e fluxo de argônio dentro da câmara de ablação. Na Figura 2b é apresentado o sistema LIBS não comercial empregado nas análises, o qual possui laser pulsado de Nd:YAG (Brilliant, Quantel, França) operando no comprimento de onda fundamental (1064 nm) produzindo pulsos de laser com 6 mm de diâmetro, energia máxima de 365 ± 3 mJ e 5 ns de duração, a uma taxa de repetição de 10 Hz. Uma lente convergente plano-convexa de sílica fundida (2,54 cm de diâmetro e distância focal de 20 cm, Newport, EUA) foi utilizada para focar o laser sobre a superfície da amostra. A coleta da emissão de radiação do plasma foi realizada em um sistema óptico composto por lentes plano convexas convergentes, de sílica fundida, com distância focal de 50 e 80 mm (LLA Instruments GmbH, Alemanha), acoplado, com o auxílio de uma fibra óptica, a um espectrômetro com montagem óptica *Echelle* (ESA 3000, LLA Instruments GmbH, Alemanha) e detecção por um ICCD (*intensified charge-coupled device*) que possibilita a aquisição de sinais de emissão na região entre 200 e 780 nm. Sobre a superfície da amostra um dispositivo permite um fluxo de argônio de até 5,0 L/min.

Figura 2: Esquema dos sistemas LIBS utilizados. a: J200 Tandem, b: sistema LIBS não comercial.



Determinações elementares nas amostras submetidas à decomposição ácida foram realizadas com um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES, iCAP Series 6000, Thermo Fisher Scientific, Cambridge, Inglaterra) com vista axial e radial, detector simultâneo CID, intervalo de trabalho de 166,25 a 847,00 nm, policromador *Echelle* com 52,91 linhas/mm e fonte de radiofrequência de 27,12 MHz que permite ajuste de potência aplicada de 750 a 1350 W, equipado com sistema composto por um nebulizador Burgener Mira Mist[®] e uma câmara ciclônica, ambos de quartzo. Estufa (317M-TIMER, Quimis, Diadema, Brasil) e liofilizador (Thermo Fisher Scientific, EUA) foram utilizados para secagem dos materiais. A moagem do material foi realizada em um moinho criogênico (MA 775, Marconi, Piracicaba, Brasil). A separação das amostras em diferentes tamanhos de partícula foi realizada com uma peneira vibratória equipada com peneiras com dois tamanhos de abertura (100 e 50 μm) (Retsch, AS 200, Alemanha). A decomposição ácida dos materiais foi realizada em forno de micro-ondas (Berghof Speedwave[®] four, Alemanha). Centrífuga para tubos (Q222TM, Quimis, Diadema, Brasil) foi empregada na separação de sobrenadante da fase sólida após decomposição ácida assistida por micro-ondas. Para transformação do material moído em pastilhas foi utilizado uma prensa hidráulica automática (X-Press 3635, Spex Sampleprep, Reino Unido). As pesagens dos materiais foram realizadas em balança analítica (Mettler Toledo, São Paulo, Brasil).

4.2. Materiais e Reagentes

Aproximadamente 10,0 - 50,0 g de amostras de madeira de diferentes espécies e com dimensões entre 0,1-10,0 x 0,1-6,0 x 0,1-1,0 cm (comprimento x largura x altura) foram obtidas em serralherias locais. Dentre elas estão: Cedro-rosa, Mogno, Tamarindo, Pau-marfim, Pinus, Eucalipto, Peroba, Cedrinho, Ipê, Jatoba, Cedroarana, Imbuia, Caxeta e Cumaru (*Cedrela sp.*, *Swietenia sp.*, *Dialium sp.*, *Balfourodendron sp.*, *Pinus sp.*, *Eucalyptus sp.*, *Aspidosperma sp.*, *Erismia sp.*, *Tabebuia sp.*, *Hymenaea sp.*, *Cedrelinga sp.*, *Ocotea sp.*, *Simarouba sp.* e *Dipteryx sp.*, respectivamente) (MADEIRAS BRASILEIRAS, 2017; THE WOOD DATABASE, 2017). Uma amostra de *Cedrela fissilis* (secção de um tronco de Cedro) proveniente de São Paulo (Brasil), 14 amostras de *Hymenaea courbaril* (Jatoba) e 8 amostras de *Aspidosperma polyneuron* (Peroba) provenientes de Rondônia e São Paulo (Brasil), respectivamente, foram providenciadas pelo Departamento do Botânica do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB-USP). Celulose pulverizada (3642 Cellulose Binder, Spex SamplePrep PrepAid™, EUA) foi utilizada nos estudos de calibração do método LIBS. Os CRMs de origem vegetal SRM 1573a- *tomato leaves*, SRM 1515- *apple leaves*, SRM 1547- *peach leaves*, SRM 3234- *soy flour* e SRM 1575a- *pine needles*, proveniente do NIST (*National Institute of Standards and Technology*, EUA), foram utilizados nos estudos de calibração do método LIBS e avaliação da exatidão de métodos. Estes materiais foram escolhidos devido a sua disponibilidade no laboratório e maior semelhança possível com a madeira. Todos os materiais foram armazenados em ambiente seco, abrigados da luz e em frascos de polipropileno devidamente limpos e descontaminados.

Para o preparo das soluções, utilizou-se água deionizada de alta pureza (18 MΩ/cm) obtida pelo sistema de ultrapurificação de água Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA). Soluções aquosas de Ca(II), Fe(III), K(I), Mg(II), Mn(II), Na(I) e Zn(II) foram preparadas em meio de HNO₃ (Merck, Darmstadt, Alemanha) por sucessivas diluições das soluções estoques de 1000 mg/L de CaCl₂, FeCl₃, KCl, MgCl₂, MnCl₂, NaCl e ZnCl₂ (Merck, Darmstadt, Alemanha). Solução estoque 15000 mg/L de Ca(II), K(I) e Mg(II) foram preparadas a partir da dissolução de sais de CaCl₂, KNO₃ e Mg(NO₃)₂.6H₂O (Vetec Química Fina Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Para decomposição das amostras foram utilizados ácido nítrico (65%, m/m) e peróxido de

hidrogênio (30%, m/m) (Merck, Darmstadt, Alemanha). Todas as soluções foram armazenadas em frascos de polipropileno previamente limpos e descontaminados (Sarstedt AG & Co, Alemanha).

4.3. Procedimento

4.3.1. Descontaminação dos materiais

Toda a vidraria e frascos de polipropileno utilizados foram lavados com água e detergente, enxaguados com água de torneira e com água destilada, preenchidos com solução de ácido nítrico 10% (v/v) durante 24 horas, novamente enxaguados três vezes com água deionizada e levados para secar em estufa (Quimis, São Paulo, Brasil) a 50°C. Materiais metálicos foram lavados com água e detergente, enxaguados com água de torneira e posteriormente com água deionizada e secos em estufa a 50°C.

4.3.2. Preparo das amostras

4.3.2.1. Moagem dos materiais

A moagem dos materiais foi realizada empregando fragmentos de madeira com dimensões de aproximadamente 0,1-1,0 x 0,1-1,0 x 0,1-1,0 cm (altura x largura x comprimento). Em cada ciclo de moagem, uma alíquota do material de aproximadamente 5,0 g foi introduzida em um tubo cilíndrico de policarbonato juntamente com uma barra magnética de aço inoxidável. O tubo fechado nas extremidades com tampas de aço inoxidável foi inserido no moinho criogênico e o sistema foi imerso em nitrogênio líquido por um período de pré-congelamento de 5 minutos. Um campo magnético alternado de frequência de 20 Hz foi aplicado, fazendo com que a barra magnética atingisse o material em alta velocidade, efetuando-se assim a cominuição da amostra. Foram realizados de 5 a 7 ciclos de moagem consistindo de 2 minutos de moagem intercalados com 1 minuto de pausa para resfriamento. Os materiais moídos foram secos em estufa a 60°C por 48 horas até obtenção de massa constante e armazenados em frascos de polipropileno dentro de um dessecador. A celulose e os CRMs não necessitaram serem moídos visto que estes foram obtidos na forma pulverizada.

4.3.2.2. *Peneiramento*

Para os experimentos que requeriam a separação do material em diferentes tamanhos de partícula, aproximadamente 10,0 - 50,0 g de cada um dos materiais pulverizados foram levados a uma peneira vibratória equipada com peneiras com abertura de 100 e 50 μm , sob agitação constante com amplitude de 2,00 mm/"g" por 30 minutos. Após a separação do material em diferentes tamanhos de partícula, alíquotas destes foram armazenadas em frascos de polipropileno.

4.3.2.3. *Preparo das pastilhas para análise por LIBS*

Para confecção das pastilhas com dimensões próximas de 13,0 mm de diâmetro por 3,0 mm de espessura a serem analisadas por LIBS, aproximadamente 0,5 g dos materiais pulverizados foram submetido a uma pressão de 8 ton/cm² durante 5 minutos. As pastilhas foram armazenadas em sacos plásticos de PVC dentro de um dessecador.

4.3.2.4. *Decomposição ácida assistida por micro-ondas*

Na decomposição ácida assistida por micro-ondas, aproximadamente 0,2 g dos materiais pulverizados foram adicionados a uma solução oxidante diluída composta por 2,0 mL de HNO₃ (65%, m/m), 1,0 mL de H₂O₂ (30%, m/m) e 3,0 mL de H₂O deionizada. A mistura foi submetida ao programa de aquecimento em forno de micro-ondas descrito na Tabela 1. A solução resultante após a decomposição ácida assistida por micro-ondas foi avolumada para 10 ml e analisada por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.

Tabela 1: Programa de decomposição ácida assistida por micro-ondas para amostras de madeira e celulose.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (min)	Patamar (min)	Potência (W)	Pressão máxima permitida (bar)
1	140	5	1	725	50
2	180	4	5	725	50
3	200	4	10	725	50

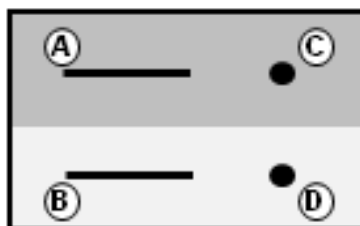
4.3.2.5. Avaliação de aspectos microscópicos dos materiais.

A distribuição do tamanho de partícula dos materiais moídos foi realizada no Laboratório de Caracterização Tecnológica (LCT) localizado na Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. O material pulverizado foi submetido à análise granulométrica por espalhamento de luz laser de baixo ângulo (Malvern 2000, Malvern Instruments Ltd., Reino Unido), realizada com velocidade de bomba de 2500 rpm, água deionizada como dispersante e 1 min de ultrassom.

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Os materiais foram recobertos com uma camada de ouro de aproximadamente 5,0 nm de espessura e levados ao microscópio eletrônico de varredura (FESEM, JSM7401-F, Japan Electron Optics Laboratory-JEOL, Japão), operando com uma tensão de aceleração do feixe de elétrons de 2,0 kV e distância de trabalho de 24,0 mm.

Dentre os materiais, a superfície de um fragmento de madeira Pinus de 1,0 x 1,0 x 0,3 cm (comprimento x largura x altura) com duas regiões visualmente distintas (Figura 3) e pastilhas de Eucalipto, Cedrinho, Peroba, Pinus e celulose foram previamente submetidos à análise por LIBS com os seguintes parâmetros instrumentais: diâmetro de focalização de 50 μm , energia de 20 mJ/pulso; 300 pulsos de laser (espectros acumulados) no padrão de análise percurso (velocidade de deslocamento 0,15 mm/s e tamanho do percurso de 4,5 mm) ou 75 pulsos de laser (espectros acumulados) no padrão de análise ponto-a-ponto, taxa de repetição de 10 Hz, tempo de atraso de 0,25 μs e fluxo de argônio de 1,0 L/min.

Figura 3: Esquema de fragmento de madeira (Pinus) com duas regiões consideradas visualmente distintas analisadas por LIBS. Padrão de análise percurso (A e B) e ponto-a-ponto (C e D).



4.3.3. Análise dos materiais

4.3.3.1. Determinação multielementar por ICP OES

Para obtenção dos valores de referência dos materiais, estes foram submetidos à decomposição ácida assistida por micro-ondas e posteriormente centrifugados a 3400 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi analisado por ICP OES, sob as seguintes condições operacionais: potência de 1250 W, vazão da bomba de 1,2 mL/min (rotação de 30 rpm) e fluxo dos gases auxiliar, do plasma e de nebulização em 1,0; 14,0 e 0,5 L/min, respectivamente. Empregando a orientação axial, as seguintes linhas de emissão foram monitoradas (nm): Ca(II)318,128; Fe(II)259,940; K(I)769,896; Mg(I)285,213; Mn(II)257,610; Na(I)818,326 e Zn(II)206,200. Soluções multielementares para calibração foram preparadas em meio de ácido nítrico 20% (v/v) nas faixas de 0,3-150,0 mg/L para Ca, K e Mg e 0,1-50,0 mg/L para Fe, Mn, Na e Zn. Para a estimativa dos limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), utilizou-se a intensidade média de emissão de 10 medidas consecutivas da solução multielementar (I_{SR}) contendo os 7 analitos na concentração de 10 mg/L (C_{sr}) e 10 medidas consecutivas da solução branco (I_{branco} , 20% HNO₃), o desvio padrão relativo de 10 medidas consecutivas da solução branco (RSD), a razão sinal-ruído ($SNR = (I_{SR}/I_{branco})/I_{branco}$) e a concentração equivalente à radiação de fundo ($BEC = C_{sr}/SNR$). Assim, $LOD = (3 \times BEC \times RSD) / 100$. Para transformação do LOD em unidades de fração de massa ($\mu\text{g/g}$), considerou-se a massa utilizada na decomposição ácida assistida por micro-ondas (aproximadamente 0,2 g) e o volume final de 10,0 mL da solução resultante. O LOQ foi definido como 3,3 vezes o valor do LOD. A exatidão do método foi avaliada pela análise do SRM 1575a (*pine needles*) após decomposição ácida assistida por micro-ondas empregando as mesmas condições experimentais utilizadas para análise da madeira e celulose.

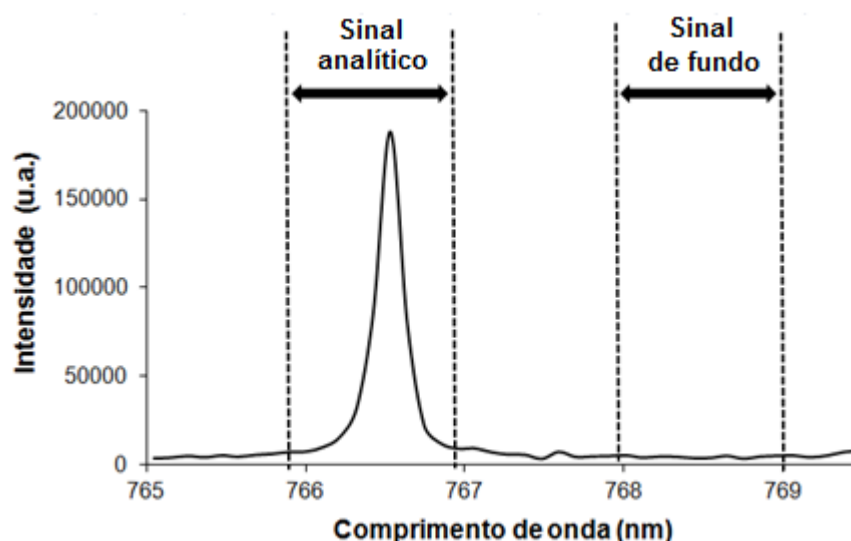
4.3.3.2. Análises por LIBS

4.3.3.2.1. Avaliação do espectro de emissão obtido na análise de madeira por LIBS

Para o conhecimento do comportamento dos materiais nas análises por LIBS, estudos preliminares foram realizados. Empregando o sistema LIBS J200 tandem,

pastilhas de Pinus foram analisadas com os seguintes parâmetros instrumentais: diâmetro de focalização de 50 μm , energia de 20 mJ/pulso; 300 pulsos de laser (espectros acumulados) no padrão de análise percurso (3 replicatas com velocidade de deslocamento 0,15 mm/s, tamanho do percurso de 4,5 mm e distância entre percursos de 1,0 mm), taxa de repetição de 10 Hz, tempo de atraso de 0,25 μs e fluxo de argônio de 1,0 L/min. O espectro foi avaliado de 190 a 1044 nm e as linhas de emissão foram identificadas com auxílio da base de dados do NIST (2013). A análise dos espectros obtidos no sistema LIBS J200 tandem foi realizada pelo programa de computador Aurora (Applied Spectra, EUA) que possibilita a identificação das linhas de emissão, integração dos sinais de emissão e cálculo da razão sinal/sinal de fundo (SBR). De maneira geral, no tratamento de dados em LIBS, para a integração dos sinais de emissão e cálculo da SBR, delimita-se a região espectral de início e fim dos sinais de emissão dos analitos e regiões próximas destes (vizinhas) para correção do sinal de fundo, como exemplificado na Figura 4. As regiões utilizadas para subtração do sinal de fundo foram as mesmas utilizadas para o cálculo da SBR.

Figura 4: Exemplo de regiões espectrais utilizadas para integração dos sinais analíticos, correção do sinal de fundo e cálculo da SBR.



De maneira semelhante, foi realizada a obtenção dos valores de áreas integradas dos analitos nos espectros provenientes da análise dos materiais pelo sistema LIBS não comercial. O programa de computador Microsoft Excel 2010

(Microsoft, EUA) foi empregado para cálculos de médias, desvios padrões, regressão linear e construção de gráficos com os resultados obtidos por LIBS.

4.3.3.2.2. *Otimização dos parâmetros instrumentais no sistema LIBS J200 tandem*

As pastilhas de madeira Pinus foram empregadas para a otimização univariada do sistema LIBS J200 tandem. Os seguintes comprimentos de onda foram monitorados (nm): Ca(II)393,366; Ca(II)396,847; Ca(I)422,673; K(I)766,490; K(I)769,896; Mg(II)279,553; Mg(II)280,270; Mg(I)285,213; Na(I)588,995 e Na(I)589,593. Os parâmetros instrumentais avaliados foram: diâmetro de focalização, energia do pulso de laser, taxa de repetição, tempo de atraso, número de pulsos, padrão de análise, velocidade de deslocamento da amostra e fluxo de argônio. A Tabela 2 indica as condições experimentais utilizadas em cada experimento de otimização (I-IX). Os parâmetros instrumentais do sistema LIBS não comercial utilizado nos demais estudos não foram otimizados, sendo as condições experimentais adaptadas com base em trabalhos da literatura relacionados à análise de materiais vegetais empregando o mesmo sistema LIBS.

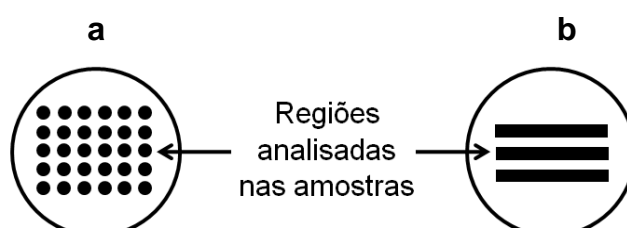
Tabela 2: Condições experimentais empregadas na otimização do sistema LIBS J200 tandem.

Experimento									
Parâmetro	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Diâmetro de focalização (μm)	35 - 140	50	50	50	50	50	50	50	50
Energia por pulso (mJ)	20	5 - 20	20	20	20	20	20	20	20
Taxa de Repetição (Hz)	10	10	5 - 20	10	10	10	10	10	10
Tempo de atraso (μs)	0,15	0,15	0,15	0 - 0,30	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Número de pulsos (ponto a ponto)	100	100	100	100	5 - 200	75	-	-	-
Padrão de análise	Ponto a ponto	Ponto a ponto	Ponto a ponto	Ponto a ponto	Ponto a ponto	Ponto-a-ponto ou Percurso	Percurso	Percurso	Percurso
Número de pulsos (percurso)	-	-	-	-	-	-	100 - 500	300	300
Deslocamento da amostra (mm/s)	-	-	-	-	-	0* 0,15**	0,15	0,15 - 0,30	0,15
Fluxo de argônio (L/min)	0	0	0	0	0	0	0	0	0 - 1

*ponto-a-ponto, **percurso

O sistema LIBS J200 tandem possui dois padrões de análise: ponto-a-ponto e percurso. A Figura 5 ilustra os dois tipos de padrão de análise.

Figura 5: Exemplo dos padrões de análise em LIBS: (a) ponto-a-ponto e (b) percurso.



Para as análises realizadas com o padrão ponto-a-ponto, a distância entre os pontos analisados da amostra foi de 1,0 mm. Os resultados foram calculados baseados em 30 espectros individuais (30 medidas analíticas), os quais foram separados em 3 espectros médios (replicatas). Os resultados finais são apresentados como um valor médio das 3 replicatas \pm 1 desvio padrão. Já as análises realizadas com o padrão percurso, os percursos possuíam comprimento de 4,5 mm e distância entre percursos de 1,0 mm. Foram realizados 3 percursos (replicatas) e os resultados finais são apresentados como um valor médio das 3 replicatas \pm 1 desvio padrão. Os desvios padrões relativos (*relative standard deviation*, RSD) foram calculados pela fórmula: $RSD = (\text{desvio padrão das replicatas} / \text{valor médio das replicatas}) \times 100$.

4.3.3.2.3. Calibração com diversos CRMs de origem vegetal.

Cinco diferentes CRMs de origem vegetal foram empregados neste estudo: SRM 1573a- *tomato leaves*, SRM 1515- *apple leaves*, SRM 1547- *peach leaves*, SRM 3234- *soy flour* e SRM 1575a- *pine needles*. Após transformados em pastilhas, os CRMs foram introduzidos em uma câmara de ablação móvel do LIBS J200 tandem deslocando-se a uma velocidade de 0,15 mm/s. Para cada medida, foram realizados 3 percursos com comprimento de 4,5 mm e com distância entre cada percurso de 1,0 mm. Os parâmetros instrumentais utilizados foram: diâmetro de focalização de 50 μm , 300 pulsos de laser (espectros acumulados) com energia de 20 mJ por pulso, taxa de repetição de 10 Hz, 0,25 μs de tempo de atraso, padrão de análise percurso com velocidade de deslocamento da amostra de 0,15 mm/s e fluxo de argônio de 1,0 L/min. Os seguintes comprimentos de onda foram monitorados (nm): C(I)193,091; Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593. O sistema não comercial foi empregado devido à baixa detectabilidade para Fe, Mn e Zn utilizando o sistema J200 tandem. Para o sistema LIBS não comercial, os parâmetros instrumentais foram: distância lente-amostra de 17,5 cm, diâmetro de focalização de 750 μm , 30 pulsos de laser (espectros acumulados) com energia de 230 mJ por pulso, taxa de repetição de 10 Hz, 2,00 μs de tempo de atraso, tempo de integração de 5,00 μs , padrão de análise ponto-a-ponto (21 medidas analíticas) e fluxo de argônio de 2,0 L/min. Os seguintes comprimentos de onda foram monitorados (nm): Fe(II) 259,940; Mg(I) 277,669; Mn(II) 259,372 e Zn(I) 213,856.

4.3.3.2.4. *Calibração com adição de analito em amostra de madeira e materiais secundários de calibração (celulose).*

Nos estudos de calibração por LIBS, materiais calibrantes foram preparados com Eucalipto, Cedrinho, Peroba, Pinus e celulose. Para cada padrão de calibração (1-5), uma alíquota de 3,5 g do material pulverizado foi transferida a um tubo de polipropileno de 50 ml sobre as quais foram adicionados 20,0 mL de soluções multielementares com as concentrações apresentadas na Tabela 3. A faixa de concentração de cada material calibrante foi definida baseada em valores de concentração dos elementos fornecida por CRMs de origem vegetal (NIES 7, NIES 10a, SRM: 1515, 1547, 1568a, 1568, 1567a, 1570a, 1571, 1572, 1573a, 1575a, 2385 e 3234).

Tabela 3: Concentração (mg/L) das soluções multielementares adicionadas sobre 3,5 g de celulose e madeira.

		Concentração da solução multielementar (mg/L) - Madeira				
Padrão	Elemento	1	2	3	4	5
	Ca	-	70,0	245,0	1645,0	2520,0
	Fe	-	0,5	1,4	4,0	8,4
	K	-	17,5	35,0	52,5	70,0
	Mg	-	822,5	1260,0	1697,5	2135,0
	Mn	-	280,0	805,0	1680,0	2555,0
	Na	-	4,4	17,5	43,8	78,8
	Zn	-	17,5	35,0	52,5	70,0
		Concentração da solução multielementar (mg/L) - Celulose				
	Ca	105,0	175,5	349,5	1750,5	2625,0
	Fe	0,4	0,9	1,8	4,4	8,8
	K	35,0	52,5	70,0	87,5	105,0
	Mg	52,5	875,3	1312,5	1749,8	2187,8
	Mn	70,5	349,5	874,5	1750,5	2625,0
	Na	8,8	13,2	26,3	52,5	87,5
	Zn	17,5	35,0	52,5	70,0	87,5

Após a adição da solução multielementar sobre os materiais pulverizados, a suspensão resultante foi homogeneizada por meio de agitação manual durante 2 minutos. Posteriormente, a solução foi congelada por imersão do tubo fechado em nitrogênio líquido por 2 min e então levada para secagem em liofilizador por 72 horas (temperatura < -42°C e pressão < 1,2 mbar) até obtenção de massa constante. O material seco foi submetido a uma etapa de moagem e homogeneização em moinho criogênico. O programa utilizado consistia em uma etapa inicial com 5 minutos de pré-congelamento seguido de 3 ciclos com períodos

de 2 minutos de moagem à 20 Hz intercalados com 1 minuto de pausa para resfriamento. Após a moagem, parte do material foi transformada em pastilhas e parte foi levada a decomposição ácida assistida por micro-ondas.

As curvas analíticas de calibração foram construídas com pastilhas de madeira ou celulose. No sistema LIBS J200 tandem, foi possível realizar medidas analíticas de Ca, K, Mg e Na, enquanto que no sistema LIBS não comercial a determinação de Fe, Mg, Mn e Zn foi avaliada. No sistema LIBS J200 tandem, realizou-se 3 percursos de análise de comprimento 4,5 mm e com distância de 1,0 mm entre percursos por pastilha. Os parâmetros instrumentais utilizados foram: diâmetro de focalização de 50 μm , 300 pulsos de laser (espectros acumulados) com energia de 20 mJ por pulso, taxa de repetição de 10 Hz, 0,25 μs de tempo de atraso, padrão de análise percurso com velocidade de deslocamento da amostra de 0,15 mm/s e fluxo de argônio de 1,0 L/min. Os seguintes comprimentos de onda foram monitorados (nm): C(I)193,091; Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593. No sistema LIBS não comercial, foram realizadas 3 replicatas por pastilha (7 pontos por replicata, analisados no padrão ponto-a-ponto), sendo o resultado final é referente ao valor de área integrada médio \pm 1 desvio padrão proveniente das 3 replicatas. Os parâmetros instrumentais utilizados foram: distância lente-amostra de 17,5 cm, diâmetro de focalização de 750 μm , 30 pulsos de laser (espectros acumulados) com energia de 230 mJ por pulso, taxa de repetição de 10 Hz, 2,00 μs de tempo de atraso, tempo de integração de 5,00 μs , padrão de análise ponto-a-ponto e fluxo de argônio de 2,0 L/min. Os seguintes comprimentos de onda foram monitorados (nm): Fe(II)259,940; Mg(I)277,669; Mn(II)259,372 e Zn(I) 213,856. Os limites de detecção (LOD) do método LIBS foram estimados empregando a fórmula $\text{LOD} = (3,3 \times \text{SD}) / \alpha$, em que SD é o desvio padrão do sinal de fundo de 10 medidas consecutivas do padrão de calibração com menor concentração e α é o coeficiente angular da curva analítica de calibração (Trevizan, 2009; IUPAC, 1978).

4.3.3.2.5. *Investigação da resposta analítica obtida por LIBS para Ca, K, Mg e Na em pastilhas de madeira preparadas com adição dos elementos em estudo e com diferentes tamanhos de partícula.*

Materiais calibrantes foram preparados com Cedrinho e Pinus com dois diferentes tamanhos de partícula (<50 µm e 50 – 100 µm). Para cada padrão de calibração (1-4), alíquotas de 2,5 g do material pulverizado foram transferidas a tubos de polipropileno de 50 ml sobre as quais foram adicionados 20,0 mL de soluções multielementares com as concentrações apresentadas na Tabela 4. Diferentes concentrações de soluções multielementares foram adicionadas sobre os diferentes materiais baseado em estudos preliminares das concentrações naturalmente existentes e visando uma mesma faixa linear de calibração para posteriores comparações entre as curvas analíticas de calibração.

Tabela 4: Concentração (mg/L) das soluções multielementares adicionadas sobre 2,5 g de Cedrinho/Pinus

		Concentração das soluções (mg/L)			
Elemento	Padrão	1	2	3	4
	Ca	- / -	0,9*/2,5**	2,1*/3,8**	2,8*/4,4**
K	- / -	0,9*/2,3**	1,5*/2,9**	2,2*/3,5**	
Mg	- / -	0,6*/0,3**	1,2*/1,0**	1,8*/1,6**	
Na	- / -	0,1*/0,3**	1,5*/0,4**	2,2*/0,6**	

*Cedrinho, **Pinus

Após a adição das soluções multielementares sobre os materiais pulverizados, a suspensão resultante foi homogeneizada por meio de agitação manual durante 2 minutos. Posteriormente, a solução foi congelada por imersão do tubo fechado em nitrogênio líquido por 2 min e então levada para secagem em liofilizador por 72 horas (temperatura < -42°C e pressão < 1,2 mbar) até obtenção de massa constante. O material seco foi submetido a uma etapa de homogeneização em almofariz e pistilo, previamente descontaminados, por 5 minutos. Após a homogeneização, parte do material foi transformada em pastilhas e parte foi levada

a decomposição ácida assistida por micro-ondas. Os parâmetros instrumentais utilizados no LIBS J200 tandem foram: diâmetro de focalização de 50 μm , 300 pulsos de laser (espectros acumulados) com energia de 20 mJ por pulso, taxa de repetição de 10 Hz, 0,25 μs de tempo de atraso, padrão de análise percurso com velocidade de deslocamento da amostra de 0,15 mm/s e fluxo de argônio de 1,0 L/min. Os seguintes comprimentos de onda foram monitorados (nm): C(I)193,091; Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593.

4.3.3.2.6. *Calibração com diluição do material e adição de analito.*

A confecção do branco foi feita por meio da extração elementar em madeira. Para isso utilizou-se o Pinus com tamanho de partícula inferior a 50 μm . Aproximadamente 5,0 g do material foram inseridos em um frasco de polipropileno de 50,0 mL sob o qual foi adicionado um volume de 30,0 mL de ácido nítrico 2,5% (v/v). O frasco foi levado a mesa agitadora a 250 rpm por 5 minutos e posteriormente centrifugados a 3400 rpm por 5 minutos. Após retirada do sobrenadante, este procedimento foi repetido por mais duas vezes. Uma etapa de lavagem do material foi realizada com a adição de 30,0 mL de água deionizada ao material e agitação de 250 rpm por 10 minutos. Após centrifugação a 3400 rpm por 5 minutos, o sobrenadante foi removido e o material congelado foi liofilizado por 72 horas (temperatura < -42°C e pressão < 1,2 mbar) até obtenção de massa constante. Este material foi empregado em estudos de calibração do método LIBS. Para isso, este material foi misturado com o material não submetido à extração nas proporções 100/0, 50/50 e 25/75% (massa de material submetido à etapa de extração elementar/massa de material não submetido à etapa de extração elementar). Posteriormente o material foi homogeneizado em almofariz e pistilo por 5 minutos. Parte dos materiais foi transformada em pastilha e parte levada a decomposição ácida em micro-ondas e analisada por ICP OES. Os parâmetros instrumentais utilizados no LIBS J200 tandem para análise foram: diâmetro de focalização de 50 μm , 300 pulsos de laser (espectros acumulados) com energia de 20 mJ por pulso, taxa de repetição de 10 Hz, 0,25 μs de tempo de atraso, padrão de análise percurso com velocidade de deslocamento da amostra de 0,15 mm/s e fluxo de argônio de 1,0 L/min. Os seguintes comprimentos de onda foram monitorados (nm): C(I)193,091; Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593.

4.3.3.2.7. *Investigação de uma estratégia de calibração empregando diferentes espécies de madeiras sem adição ou extração de analito e com diferentes tamanhos de partícula*

Em um estudo de calibração empregando diferentes madeiras sem adição de analito e com diferentes tamanhos de partícula, pastilhas de madeiras citadas no item 4.2 foram empregadas. Os 14 tipos de madeira devidamente pulverizados, peneirados (<50 µm e 50 – 100 µm) e prensados foram introduzidos em uma câmara de ablação móvel do LIBS J200 tandem deslocando-se a uma velocidade de 0,15 mm/s. Para cada medida, foram realizados 3 percursos com comprimento de 4,5 mm e com distância entre cada percurso de 1,0 mm. Os parâmetros instrumentais utilizados foram: diâmetro de focalização de 50 µm, 300 pulsos de laser (espectros acumulados) com energia de 20 mJ por pulso, taxa de repetição de 10 Hz, 0,25 µs de tempo de atraso, padrão de análise percurso com velocidade de deslocamento da amostra de 0,15 mm/s e fluxo de argônio de 1,0 L/min. Os seguintes comprimentos de onda foram monitorados (nm): C(I)193,091; Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593. Pinus foi utilizada como amostra para verificar a exatidão do método, portanto, não foi inserida na construção da curva de calibração.

4.3.3.2.8. *Análise de madeira com diferentes teores de umidade*

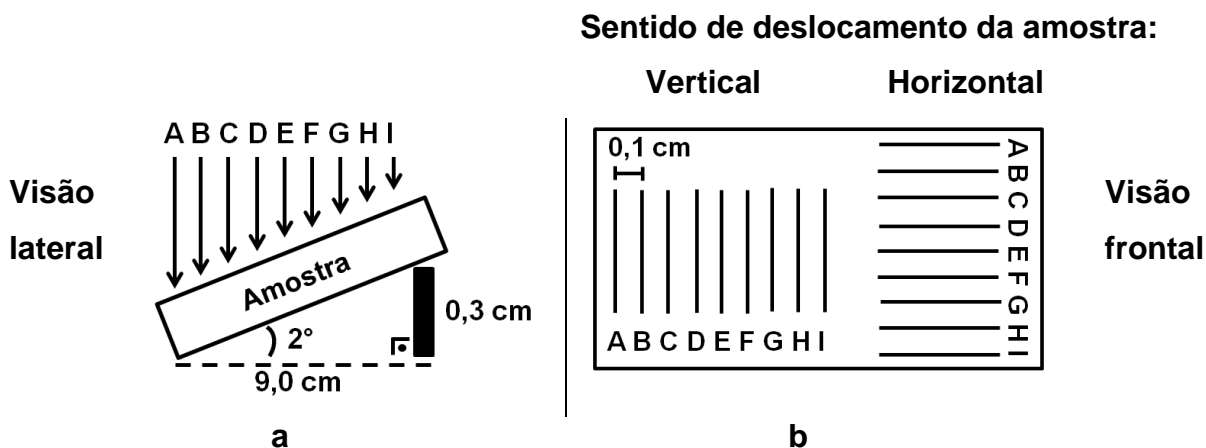
A influência da umidade nos resultados analíticos da análise das amostras de madeira foi avaliada. Para isso, fragmento de madeira pinus considerado visualmente homogêneo com dimensões de aproximadamente 2,0 x 1,0 x 0,3 cm (comprimento x largura x altura) foi utilizado. Nesse estudo, um fragmento de madeira seco (*in natura*) previamente pesado foi analisado por LIBS (J200 tandem). Posteriormente, o mesmo fragmento foi novamente pesado, submerso em água deionizada por 2 minutos, levemente enxugado com papel toalha, pesado novamente e então analisado por LIBS. Em cada uma das duas condições de umidade do material, realizou-se 12 percursos de análise com comprimento de 4,5 mm e distância entre cada percurso definida como 1,0 mm. Os parâmetros instrumentais utilizados foram: diâmetro de focalização de 50 µm, 300 pulsos de laser (espectros acumulados) com energia de 20 mJ por pulso, taxa de repetição de

10 Hz, 0,25 μ s de tempo de atraso, padrão de análise percurso com velocidade de deslocamento da amostra de 0,15 mm/s e fluxo de argônio de 1,0 L/min. Os seguintes comprimentos de onda foram monitorados (nm): C(I)193,091; Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593.

4.3.3.2.9. Avaliação do sistema de correção de focalização do LIBS

Para avaliar o sistema de correção de focalização do laser sobre a amostra (sistema LIBS J200 tandem), monitorou-se a resposta analítica de uma amostra submetida à análise em um plano inclinado. Um fragmento plano de madeira pinus considerado visualmente homogêneo com dimensões de aproximadamente 9,0 x 4,0 x 1,0 cm (comprimento x largura x altura) foi posicionado em um ângulo de aproximadamente 2° em relação à base da câmara de ablação com o auxílio de um pequeno fragmento de madeira (altura de 0,3 mm) como representado na Figura 6a. A Figura 6b mostra o mesmo fragmento do ponto de vista frontal do analista.

Figura 6: Representação do aparato e dos percursos de análise realizados (A-I) na análise da amostra de madeira com superfície inclinada. (a) visão lateral e (b) visão frontal da amostra.



Foram realizados 9 percursos de análise (A-I) em cada sentido: vertical (replicatas paralelas ao eixo de inclinação da amostra) e horizontal (replicatas perpendiculares ao eixo de inclinação da amostra) como representado na Figura 6b. O sentido de análise está relacionado como a câmara de ablação se movimenta dentro do equipamento durante a análise em relação ao analista. Este estudo foi conduzido com o sistema de correção de focalização do laser habilitado e repetido

com o sistema desligado para avaliar a importância deste. Este sistema empregando um laser auxiliar permite que no início da análise de cada percurso (replicata) o foco do laser se ajuste automaticamente de acordo com a inclinação da superfície do material. Este ajuste é realizado pela alteração da distância lente-amostra apenas no início da análise de cada replicata e, dessa forma, minimiza diferenças de área focalizada entre as replicatas e, conseqüentemente, da fluência. Cada percurso possuía comprimento de 4,5 mm e distância entre percursos definida como 1,0 mm. Os parâmetros instrumentais utilizados foram: diâmetro de focalização de 50 μm , 300 pulsos de laser (espectros acumulados) com energia de 20 mJ por pulso, taxa de repetição de 10 Hz, 0,25 μs de tempo de atraso, padrão de análise percurso com velocidade de deslocamento da amostra de 0,15 mm/s e fluxo de argônio de 1,0 L/min. Os seguintes comprimentos de onda foram monitorados (nm): C(I)193,091; Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593.

4.3.3.2.10. *Análise em diferentes profundidades da madeira*

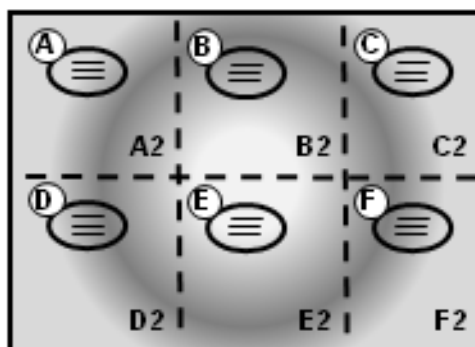
A influência da análise de diferentes profundidades de uma amostra de madeira nos sinais analíticos foi realizada empregando um fragmento de madeira considerado visualmente homogêneo com dimensões de aproximadamente 10,0 x 6,0 x 1,0 cm (comprimento x largura x altura). Neste estudo, não foi possível habilitar o sistema de correção automática de foco do laser por limitações técnicas do equipamento. Para análise da primeira camada, realizou-se 5 percursos de análise com comprimento de 4,5 mm e com distância de 1,0 mm entre percursos. A análise foi repetida consecutivamente por mais 3 vezes exatamente nas mesmas regiões pré-definidas para obtenção de resultados provenientes de camadas mais internas do material. Os parâmetros instrumentais utilizados foram (sistema LIBS J200 tandem): diâmetro de focalização de 50 μm , 300 pulsos de laser (espectros acumulados) com energia de 20 mJ por pulso, taxa de repetição de 10 Hz, 0,25 μs de tempo de atraso, padrão de análise percurso com velocidade de deslocamento da amostra de 0,15 mm/s e fluxo de argônio de 1,0 L/min. Os seguintes comprimentos de onda foram monitorados (nm): C(I)193,091; Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593.

4.3.3.2.11. Avaliação da homogeneidade da madeira Pinus em LIBS

Para os estudos de homogeneidade da madeira, foram utilizados fragmentos de madeira Pinus. Os parâmetros instrumentais utilizados nestes estudos foram (sistema LIBS J200 tandem): diâmetro de focalização de 50 μm , 300 pulsos de laser (espectros acumulados) no padrão percurso (comprimento do percurso de 4,5 mm e distância entre percursos de 1,0 mm) com energia de 20 mJ por pulso, taxa de repetição de 10 Hz, 0,25 μs de tempo de atraso, velocidade de deslocamento da amostra de 0,15 mm/s, e fluxo de argônio de 1,0 L/min. Os seguintes comprimentos de onda foram monitorados (nm): C(I)193,091; Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593.

Um primeiro estudo de homogeneidade da madeira foi realizado com um fragmento de madeira Pinus (esquema apresentado na Figura 7), visualmente heterogêneo, com dimensões de aproximadamente 10,0 x 6,0 x 1,0 cm (comprimento x largura x altura), analisado por LIBS em 6 regiões (A-F). Em cada região selecionada para análise, realizou-se 3 percursos de análise.

Figura 7: Esquema de fragmento de madeira (Pinus) com 6 regiões consideradas visualmente distintas (A-F) analisadas por LIBS e 6 regiões (A2-F2) analisadas por ICP OES após decomposição ácida assistida por micro-ondas.

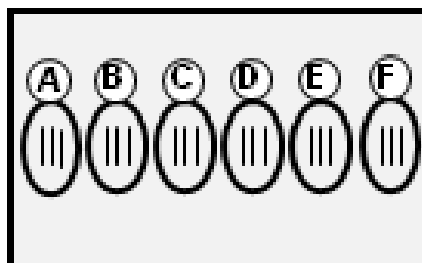


Posteriormente à análise por LIBS, o fragmento de madeira foi dividido com o auxílio de uma serra elétrica em 6 fragmentos (A2-F2) e divididos novamente em pedaços menores de aproximadamente 1,0 x 1,0 x 1,0 cm (comprimento x largura x altura). Estes fragmentos foram moídos criogenicamente separadamente para posterior decomposição ácida assistida por micro-ondas e analisados por ICP OES.

Posteriormente, procedeu-se da mesma forma para a análise de um fragmento de madeira considerado visualmente homogêneo (Figura 8). O material

com dimensões de aproximadamente 5,0 x 1,0 x 0,3 cm (comprimento x largura x altura) foi analisado em 6 regiões (A-F).

Figura 8: Esquema de fragmento de madeira (Pinus) com 6 regiões consideradas visualmente homogêneas (A-F) analisadas por LIBS.



Por último, a investigação da homogeneidade e de uma estratégia de calibração empregando fragmentos de madeira foi conduzida com Pinus aparentemente homogêneo, com dimensões aproximadas de 1,0 x 1,5 x 0,3 cm (largura x comprimento x altura). Cada fragmento (A-D) foi submetido a uma etapa de extração ou adição elementar.

A solução 1 foi empregada para extração elementar, a solução 2 foi considerada como branco (água deionizada), e as soluções 3 e 4, contendo Ca, K, Mg e Na, foram preparadas em meio de HNO₃ 0,5% (v/v) para adição elementar no material. Sob os materiais, foram adicionados 40,0 mL das soluções apresentadas na Tabela 5.

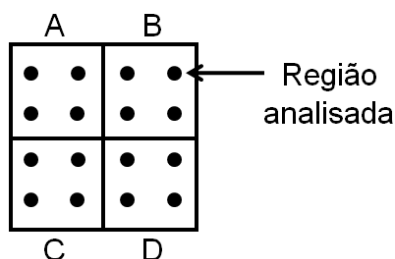
Tabela 5: Concentração (mg/L) das soluções multielementares adicionadas sobre os fragmentos (1-4) de Pinus.

		Concentração da solução aquosa (mg/L)			
Elemento	Padrão	1	2	3	4
		Ca	2,0% HNO ₃ (v/v)	H ₂ O deionizada	18,8
K	2,0% HNO ₃ (v/v)	H ₂ O deionizada	18,8	37,5	
Mg	2,0% HNO ₃ (v/v)	H ₂ O deionizada	18,8	37,5	
Na	2,0% HNO ₃ (v/v)	H ₂ O deionizada	6,3	12,5	

As suspensões foram mantidas sob agitação em uma mesa agitadora operando a 250 rpm durante 8 horas. Após esta etapa, o material foi enxaguado com

40,0 mL de água deionizada, secos em estufa a 50°C por 24 horas. Dessa forma, foram realizadas 16 medidas analíticas por LIBS no modo ponto-a-ponto, sendo que cada ponto tinha uma distância de 3,5 mm do ponto vizinho, formando um padrão de análise de forma quadrada na amostra, como apresentado na Figura 9. Com este tipo de padrão de análise e empregando o programa de computador Aurora, foi possível a construção de um mapa de calor que indicava a distribuição elementar no material.

Figura 9: Representação da amostra analisada para obtenção da homogeneidade e investigação de uma estratégia de calibração empregando fragmentos de madeira.

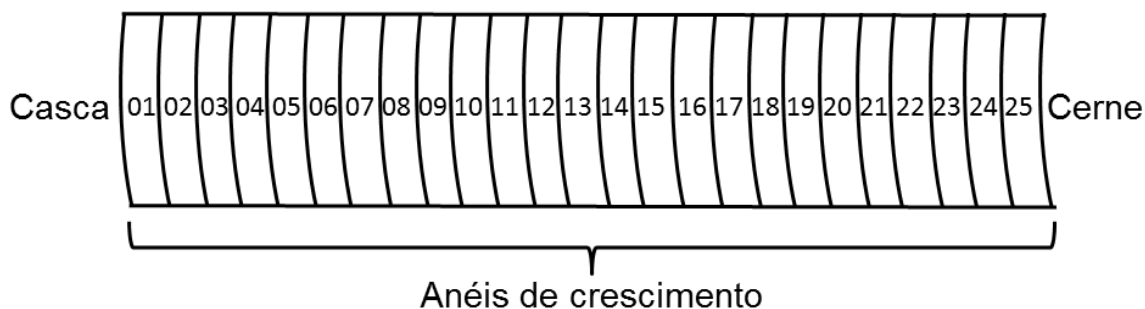


Os parâmetros instrumentais empregados neste último estudo foram: 20 mJ por pulso; padrão de análise ponto-a-ponto com 50 pulsos por ponto (espectros acumulados); fluxo de argônio de 1,0 L/min; taxa de repetição de 10 Hz; diâmetro de focalização de 50 μm ; tempo de atraso de 0,25 μs e tempo de integração de 1,05 μs . As seguintes linhas de emissão foram monitoradas (nm): C(I)193,091; Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593.

4.3.3.2.12. Distribuição elementar em anéis de crescimento

A amostra de *Cedrela fissilis* com dimensões de aproximadamente 15,0 x 5,0 x 2,0 cm (comprimento x largura x altura) foi dividida em 3 fragmentos com 8, 8 e 9 anéis de crescimento cada. A amostra foi lixada e limpa para obtenção de uma superfície plana e cada anel de crescimento foi numerado em ordem crescente a partir da casca até o cerne (Figura 10).

Figura 10: Esquema de numeração dos anéis de crescimento para realização da distribuição elementar no fragmento de tronco de *Cedrela fissilis* por LIBS.



Os parâmetros instrumentais utilizados neste estudo foram (sistema LIBS J200 tandem): diâmetro de focalização de 50 μm , 300 pulsos de laser (espectros acumulados) no padrão percurso (comprimento do percurso de 4,5 mm e distância entre percursos de 1,0 mm) com energia de 20 mJ por pulso, taxa de repetição de 10 Hz, 0,25 μs de tempo de atraso, velocidade de deslocamento da amostra de 0,15 mm/s, e fluxo de argônio de 1,0 L/min. Os seguintes comprimentos de onda foram monitorados (nm): C(I)193,091; Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593. A amostra foi analisada em duas camadas de profundidade.

Após analisados por LIBS, a amostra foi cortada em fragmentos menores de aproximadamente 1,0 x 1,0 x 1,0 cm (comprimento x largura x altura) e moídos criogenicamente por 10 minutos (5 ciclos de 2 minutos de moagem) após 5 minutos de pré-congelamento e com 1 minuto de resfriamento entre cada ciclo de moagem. Foram empregados aproximadamente 5,0 g de amostra em cada etapa de moagem para posterior etapa de decomposição ácida assistida por micro-ondas. A solução resultante foi avolumada para 10 ml e analisada por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.

4.3.3.2.13. Discriminação e classificação de amostras de madeira

As amostras de Jatoba (8 amostras de *Hymenaea courbaril*) e Peroba (14 amostras de *Aspidosperma polyneuron*) foram cortadas em pedaços de aproximadamente 5,0 x 5,0 x 2,0 cm (comprimento x largura x altura) e lixadas para obtenção de uma superfície plana. Os parâmetros instrumentais utilizados neste estudo foram (sistema LIBS J200 tandem): diâmetro de focalização de 50 μm , 300 pulsos de laser (espectros acumulados) no padrão percurso (comprimento do

percurso de 4,5 mm e distância entre percursos de 1,0 mm) com energia de 20 mJ por pulso, taxa de repetição de 10 Hz, 0,25 μ s de tempo de atraso, velocidade de deslocamento da amostra de 0,15 mm/s, e fluxo de argônio de 1,0 L/min. Os seguintes comprimentos de onda foram monitorados (nm): C(I)193,091; Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593. Após analisados por LIBS, um método não supervisionado (Análise por Componentes Principais – PCA) e um método supervisionado de classificação (k-ésimo vizinho mais próximo - KNN) foram empregados para discriminação e classificação das amostras, respectivamente. Foi utilizado o programa Statistica 12.0 (StatSoft Inc., Tulsa, EUA) para o tratamento quimiométrico dos dados. Os valores de área integrada obtidos por LIBS foram utilizados como variáveis na análise quimiométrica. Os dados foram divididos em um conjunto de treinamento (50 medidas analíticas) utilizado para construção dos modelos e um conjunto de predição empregado na validação (16 medidas analíticas).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

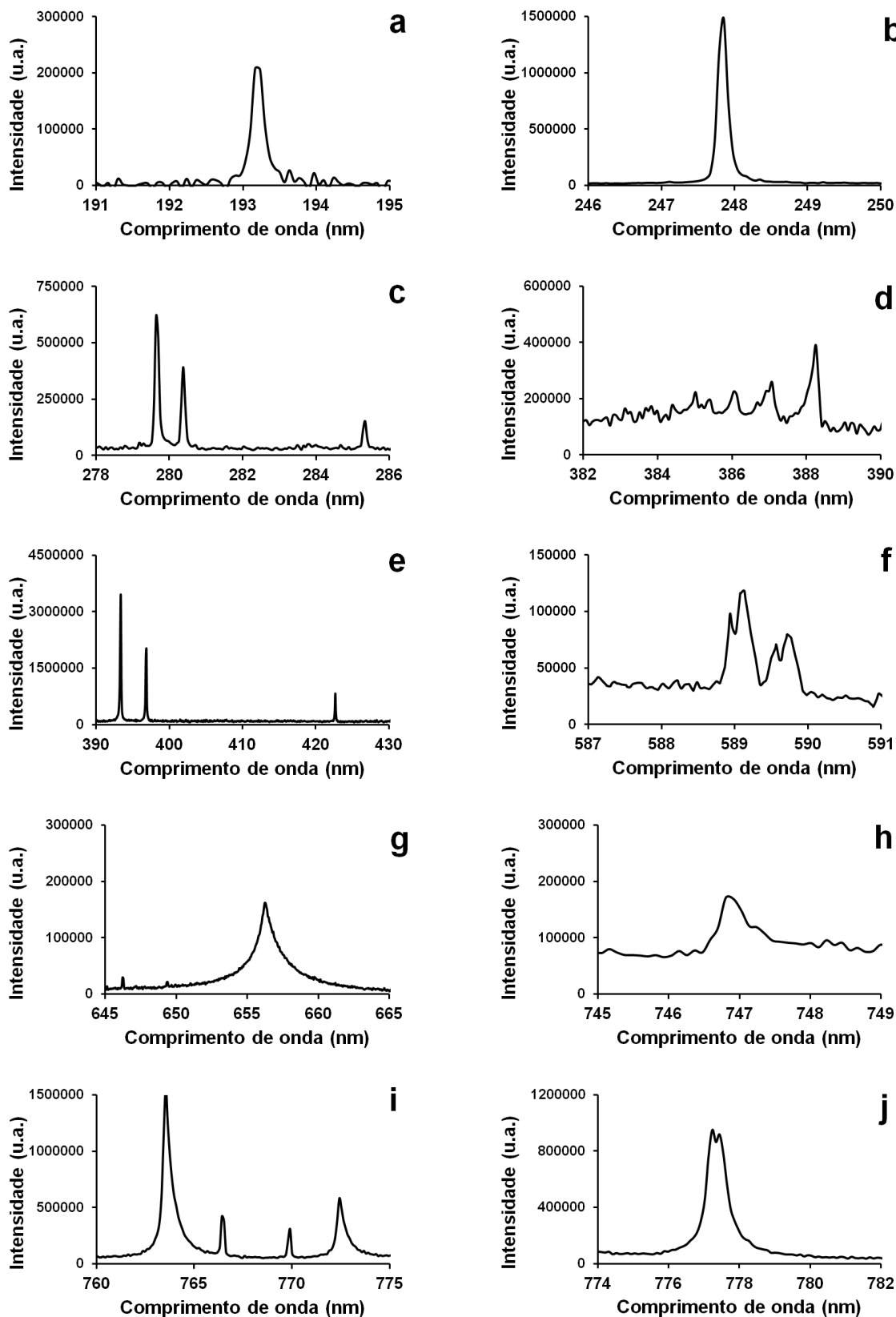
5.1. Análises por LIBS

A avaliação do comportamento de uma amostra a ser analisada por uma técnica analítica é a etapa inicial e muito importante para obtenção de um resultado adequado. Há ainda pouca informação sobre a análise de madeira por LIBS, de modo que a avaliação desse tipo de amostra perante essa técnica analítica ainda se faz necessária para o desenvolvimento de métodos confiáveis para a realização da discriminação, classificação e especialmente para análises quantitativas. LIBS é uma técnica multielementar, podendo ser empregado desde a determinação de elementos potencialmente tóxicos em plantas para um monitoramento até a determinação dos chamados macro e micro elementos, avaliados para o controle de qualidade dos vegetais. Desejava-se trabalhar com o maior número de elementos possível e de forma viável para conclusão deste trabalho. Inicialmente, realizou-se uma avaliação prévia do espectro, visando escolher as linhas de emissão a serem monitoradas nos estudos posteriores (item 5.1.1.). Uma vez definidas as linhas de emissão a serem monitoradas, uma série de estudos para otimização das condições foram conduzidas para se obter a melhor resposta analítica (item 5.1.2.). Posteriormente aos experimentos de otimização de parâmetros instrumentais, diferentes métodos de calibração em LIBS visando à análise quantitativa de amostras de madeira são apresentados no item 5.1.3.. Por fim, a partir do item 5.1.4., diferentes parâmetros da amostra de fragmentos de madeira foram avaliados e duas aplicações de método são apresentadas: distribuição elementar em anéis de crescimento em troncos de árvore e discriminação/classificação de amostras.

5.1.1. Avaliação do espectro de emissão obtido na análise de madeira por LIBS

O espectro obtido por LIBS pode apresentar diversas informações sobre emissões atômicas, iônicas e moleculares. A escolha da linha de emissão a ser monitorada depende de diversos fatores, entre eles a intensidade de sinal, a resolução e possíveis interferências. A Figura 11 apresenta alguns fragmentos do espectro de emissão de uma pastilha de Pinus analisada por LIBS.

Figura 11. Perfil dos sinais de emissão na análise de pastilhas de Pinus por LIBS. (nm): (a) C(I)193,09; (b) C(I) 247,856; (c) Mg(II)279,553, Mg(II)280,270 e Mg(I)285,213, (d) bandas CN (em aproximadamente 388), (e) Ca(II)393,366, Ca(II)396,847 e Ca(I)422,673; (f) Na(I)588,995 e Na(I)589,593; (g) H α 656,270; (h) N(I)746,832; (i) Ar(I)763,511, K(I)766,49, K(I)769,896 e Ar(I)772,421; (j) O(I)-tripleto (777,194; 777,417 e 777,539).



A identificação dos sinais de emissão foi realizada no intervalo espectral de 190 a 1044 nm com auxílio da base de dados de linhas espectrais do NIST (*National Institute of Standards and Technology*) (NIST, 2013). Além dos sinais de emissão apresentados na Figura 11, os sinais de emissão de Ca(I)318,052, Ca(I)430,253, Ca(I)443,496, Ca(I)445,478, Ca(I)527,027 e Ca(I)558,876 (nm) também puderam ser identificados, porém não estão apresentados.

5.1.2. Otimização dos parâmetros instrumentais no sistema LIBS J200 tandem

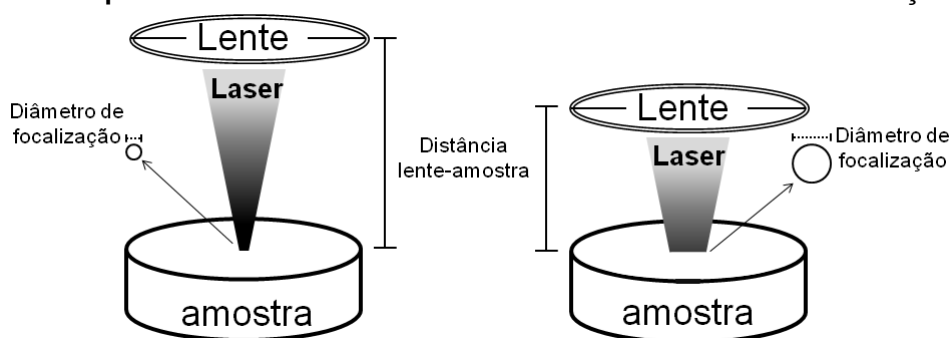
Identificadas as linhas de emissão no espectro obtido na análise de pastilha de Pinus no sistema LIBS J200 tandem, prosseguiu-se à otimização dos parâmetros instrumentais para Ca, K, Mg e Na. Os elementos Fe, Mn e Zn, que também são investigados neste trabalho, não foram identificados com esse instrumento devido à sua baixa sensibilidade. Este fato se deve principalmente as condições experimentais, tais como o espectrômetro. Estão apresentados apenas resultados para uma linha de emissão de cada um dos elementos avaliados, visto que os comportamentos das linhas de emissão para um mesmo elemento foram similares entre si. A otimização dos parâmetros instrumentais se baseou nos valores e área integrada dos analitos, SBR, desvio padrão relativo das medidas (RSD) e compromisso entre os resultados dos quatro elementos, visto que se trata de uma técnica de análise multielementar simultânea. Outras espécies de madeiras poderiam ser aplicadas nos estudos de otimização, podendo inclusive fornecer informações adicionais sobre semelhanças e diferenças entre os materiais, entretanto, para viabilidade da conclusão deste trabalho, apenas Pinus, madeira comumente empregada na indústria, foi empregada nestes estudos.

5.1.2.1. Otimização do diâmetro de focalização

Nas análises por LIBS, os pulsos de radiação emitidos pelo laser são focalizados sobre a superfície da amostra com o auxílio de uma lente convergente. A amostra é posicionada próxima à distância focal do sistema óptico e, alterando-se a distância entre a lente e a amostra (*lens to sample distance*, LTSD), altera-se a área superficial da amostra em que o laser será incidido (*spot size*). No sistema LIBS

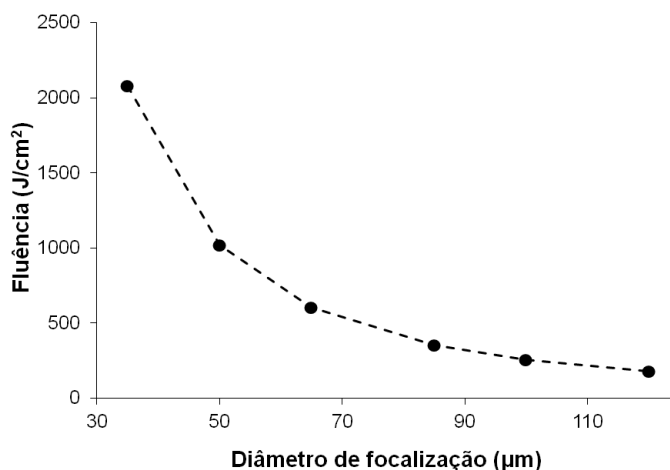
J200 tandem, o parâmetro instrumental que tem essa função é chamado diâmetro de focalização, que influencia diretamente na área da amostra a ser analisada (na ordem de micrometros). A Figura 12 exemplifica a influência do diâmetro de focalização na área amostrada, de modo que quanto maior o diâmetro de focalização, maior será a área amostrada e, portanto, maior deve ser a representatividade na amostragem.

Figura 12: Exemplo de análise de amostras em diferentes diâmetros de focalização.



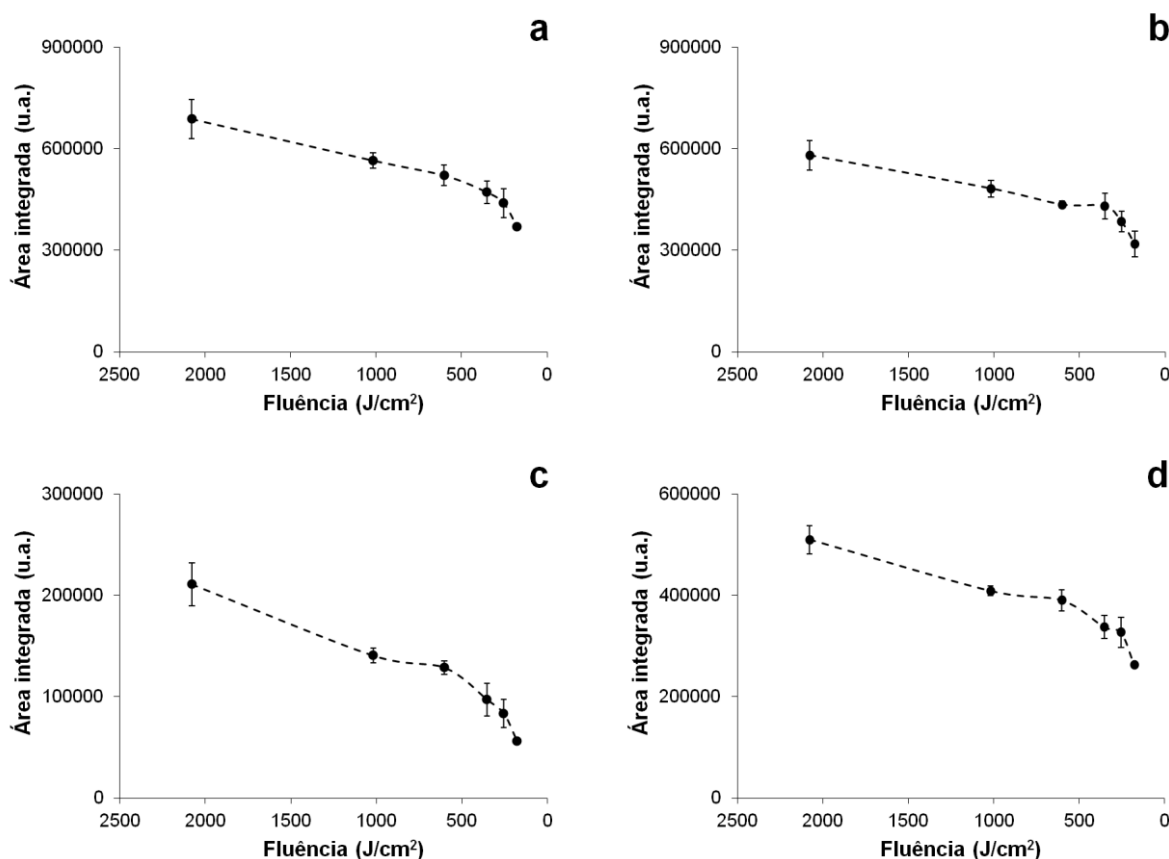
Por outro lado, a alteração do diâmetro de focalização implica diretamente na fluência, visto que este parâmetro é uma razão entre energia do pulso de laser e área focalizada. Aplicando-se pulsos de 20 mJ (valor teórico), a variação da fluência teórica de acordo com a variação do diâmetro de focalização no sistema LIBS J200 tandem pode ser observada na Figura 13. Para o cálculo da fluência teórica, a área (A) foi calculada com a fórmula $A = \pi \times R^2$, em que π possui o valor aproximado de 3,1415926 e R é o raio da área em que o laser foi focalizado.

Figura 13: Fluência teórica calculada para diferentes diâmetros de focalização quando aplicado pulsos de laser de 20 mJ.



Vale ressaltar que os valores de fluência apresentados na Figura 13 são apenas teóricos, baseados em informações do fabricante do equipamento. Idealmente um medidor de energia poderia ser empregado para o cálculo do valor de fluência real e de sua variação. De acordo com a Figura 13, percebe-se que o aumento do diâmetro de focalização implica em uma diminuição da fluência. O efeito da alteração da fluência nos sinais analíticos (área integrada) pode ser observado na Figura 14. É perceptível a diminuição dos valores de área integrada com a diminuição da fluência, visto que há geração de um plasma menos energético e, conseqüentemente, um menor número de espécies excitadas que posteriormente emitem radiação eletromagnética. Em LIBS, normalmente se almeja os maiores valores de área integrada nas análises.

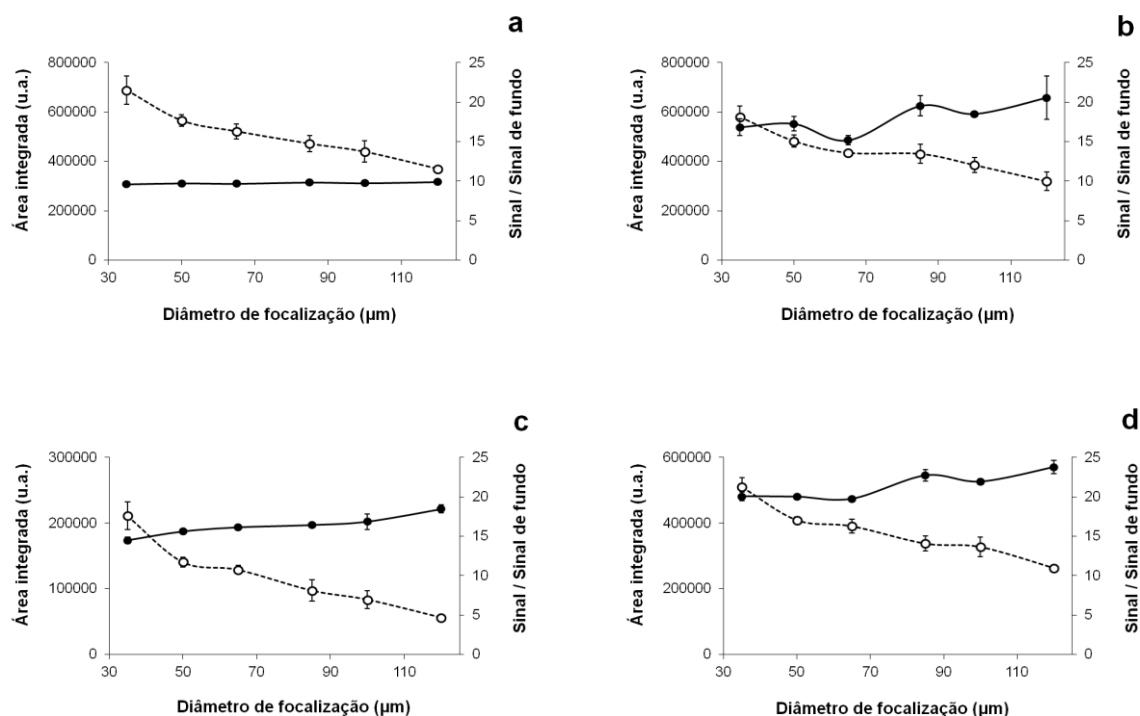
Figura 14: Área integrada do sinal de emissão de (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na (I)589,593 nm em função da fluência.



Além dos valores de área integrada dos analitos, outro parâmetro importante a ser observado nos experimentos de otimização do sistema LIBS é a razão entre o sinal analítico e o sinal de fundo (*signal background ratio*, SBR). O sinal de fundo é

proveniente principalmente da emissão de radiação de outras espécies presentes no material ou que se formam durante a análise, e na maioria dos casos é desejável o maior valor de SBR nas análises por LIBS. De acordo com a Figura 15, observa-se que o valor SBR se altera muito pouco com a variação do diâmetro de focalização e, dessa forma, não foi relevante na escolha desse parâmetro. Por outro lado, os valores de área integrada diminuíram significativamente com o aumento do diâmetro de focalização devido à diminuição da fluência.

Figura 15: (○) Área integrada do sinal de emissão e (●) SBR em função do diâmetro de focalização em pastilhas de madeira (Pinus) analisadas por LIBS: (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na (I)589,593 nm.

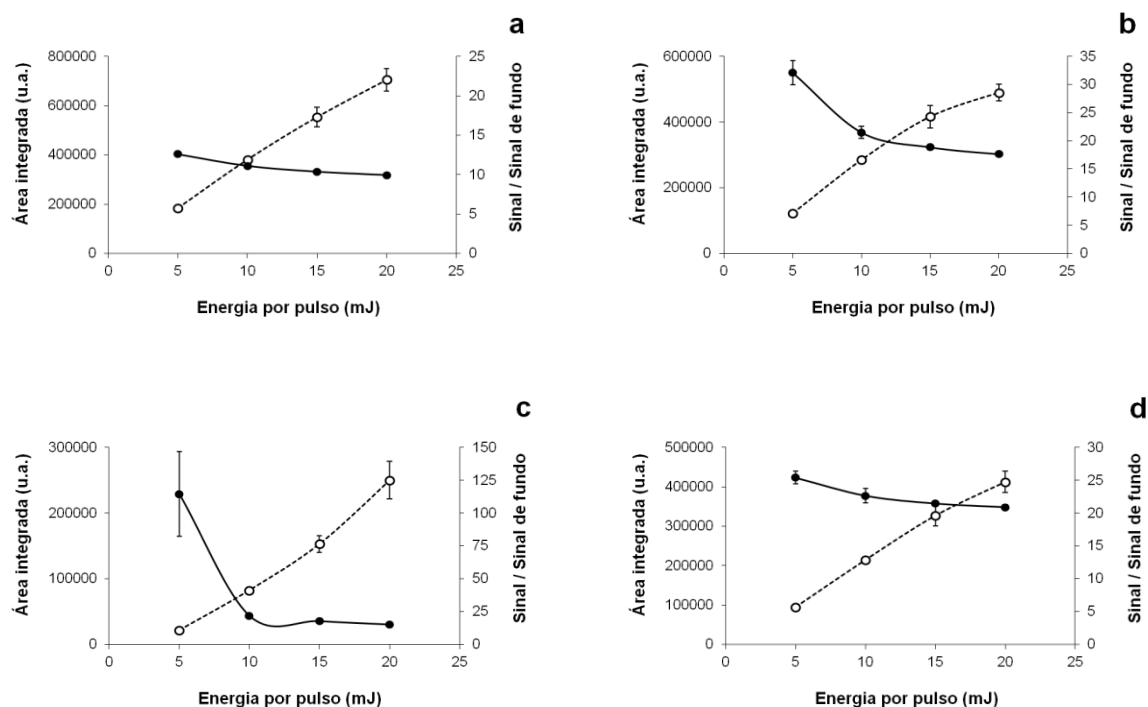


Considerando os maiores valores de área integrada e o menor RSD das medidas da Figura 15, o diâmetro de focalização de 50 μm foi adotado para as análises posteriores, já que não houve uma grande perda nos valores de área integrada quando comparado ao diâmetro de focalização de 35 μm. Além disso, melhores valores de RSD (2-5%) das medidas foram obtidos nessa condição.

5.1.2.2. Otimização da energia do pulso

Assim como o diâmetro de focalização, a energia do pulso (*energy by pulse*) de laser que atinge a amostra influencia diretamente na fluência. Mantendo o diâmetro de focalização, o aumento da energia dos pulsos de laser promove um aumento da fluência, aumentando assim o número de espécies que emitem radiação eletromagnética e, conseqüentemente, o aumento nos valores de área integrada, fato este observado na Figura 16.

Figura 16: (○) Área integrada do sinal de emissão e (●) SBR em função da energia por pulso de laser em pastilhas de Pinus analisadas por LIBS: (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na (I)589,593 nm.

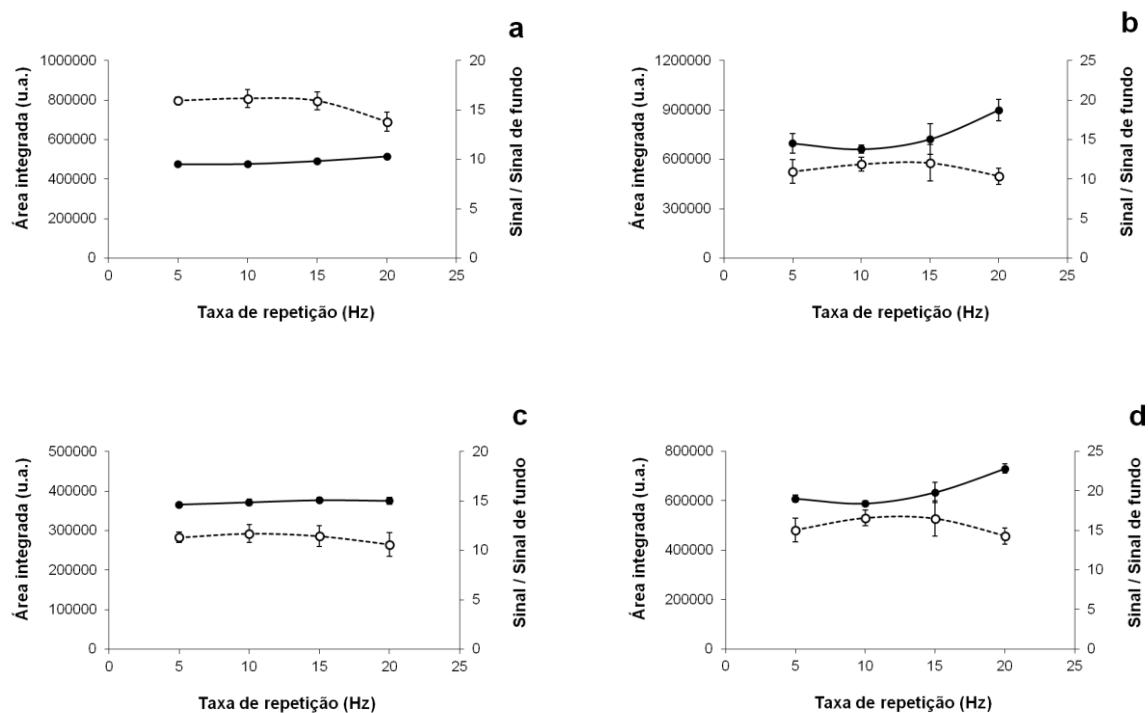


De maneira geral, os valores de RSD e a SBR variou muito pouco para K e Na em diferentes energias dos pulsos de laser. Já para o sinal de Mg, houve uma diferença significativa de 5 para 10 mJ, entretanto o valor de 5 mJ apresentou RSD elevado devido a baixa intensidade do sinal e esta condição de energia por pulso de laser foi descartada. O valor de 20 mJ por pulsos foi adotado para as posteriores análises, uma vez que resultou em maiores valores de área integrada.

5.1.2.3. Otimização da taxa de repetição

A taxa de repetição (*pulse repetition rate*) é definida como a quantidade de pulsos de laser incididos sobre a amostra em um intervalo de tempo. A taxa de repetição pode ter influência sobre efeitos térmicos durante a análise, podendo alterar a regularidade das áreas amostradas e a quantidade de massa tomada para análise (LEME et al., 2012). Entretanto, de acordo com a Figura 17, a variação da taxa de repetição teve pouca influência sobre os valores de área integrada dos analitos, a SBR e RSD na análise de madeira por LIBS. Com uma atualização do programa de comando do sistema LIBS posterior a este estudo, o valor máximo de taxa de repetição permitido foi alterado de 20 para 10 Hz. Como o aumento da taxa de repetição implica em um aumento da frequência analítica, o valor de 10 Hz foi adotado para as demais análises, visto que há uma maior frequência analítica nesta condição.

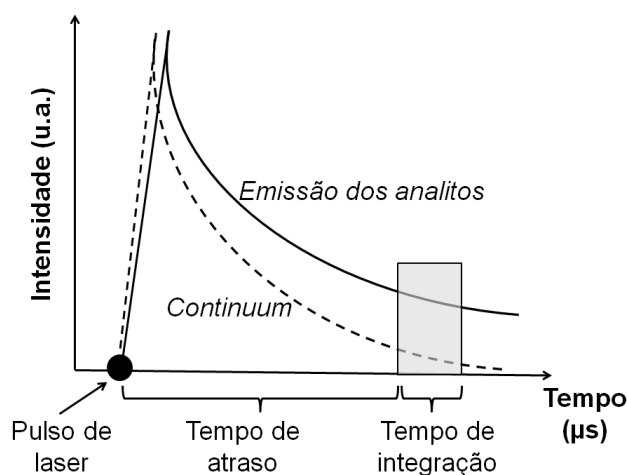
Figura 17: (○) Área integrada do sinal de emissão e (●) razão sinal/sinal de fundo em função da taxa de repetição em pastilhas de Pinus analisadas por LIBS: (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na (I)589,593 nm.



5.1.2.4. Otimização do tempo de atraso

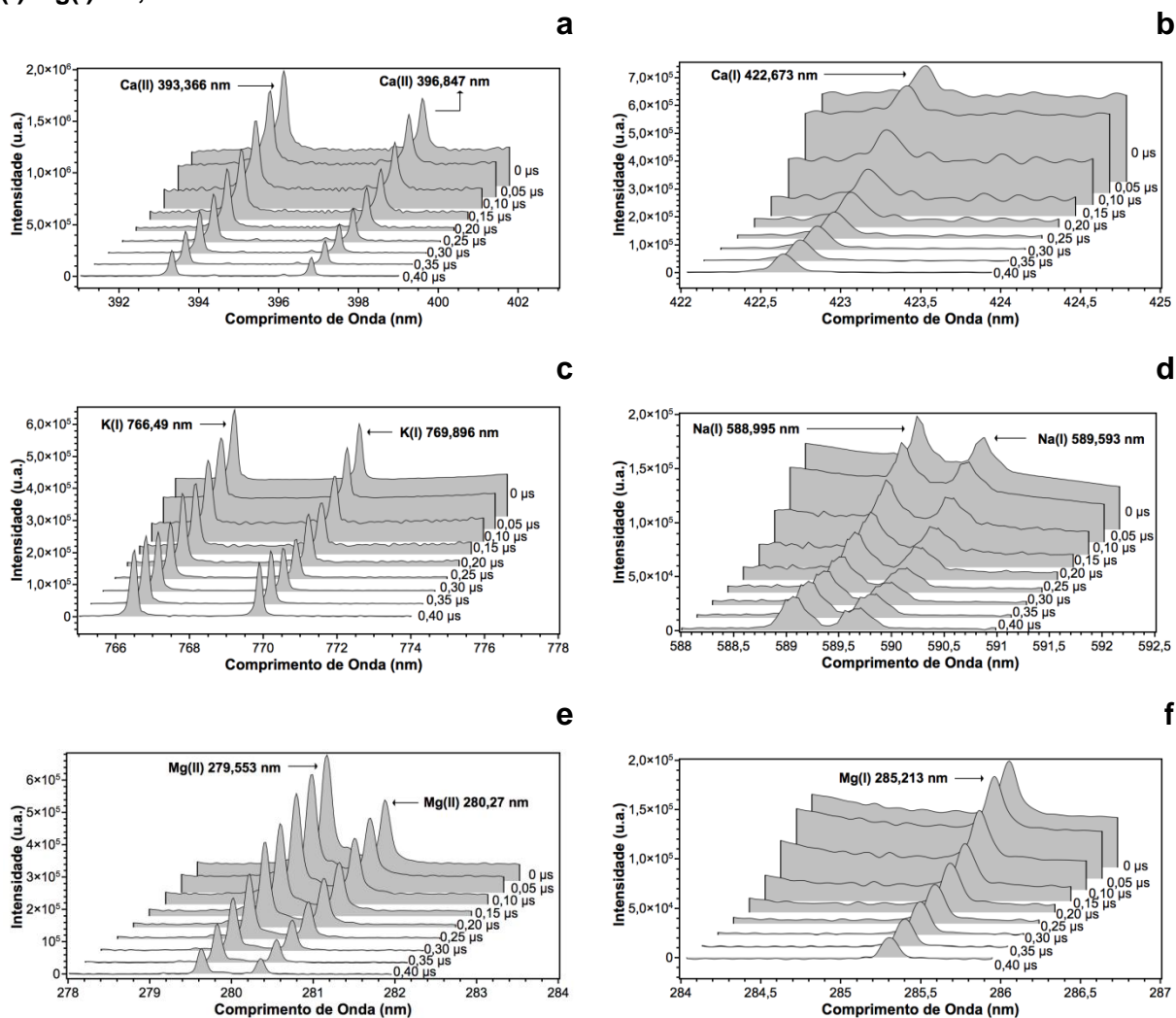
O tempo de atraso (*delay time*) é definido como o tempo decorrido entre a incidência dos pulsos de laser sobre a amostra e a realização da aquisição dos sinais de emissão. Este é um parâmetro crítico nas análises por LIBS, visto que logo após a incidência dos pulsos de laser, há uma elevada emissão de uma radiação eletromagnética denominada *continuum*, decorrente principalmente da movimentação de cargas elétricas no plasma (*bremstrahlung*) ou ligações destas com outras espécies presentes no plasma. Como o *continuum* em geral decai mais rapidamente do que o sinal de emissão dos analitos, normalmente a estratégia mais comumente aplicada é a realização da medida analítica com um determinado tempo de atraso em relação à formação no plasma. Tempos de atraso na ordem de nano ou microsegundos são suficientes para que o *continuum* diminua consideravelmente e aumente assim a SBR (CREMERS & RADZIEMSKI, 2006). A Figura 18 ilustra o tempo de atraso e comportamento das emissões do *continuum* e dos analitos.

Figura 18: Exemplo do tempo de atraso e o comportamento das emissões do *continuum* e dos analitos.



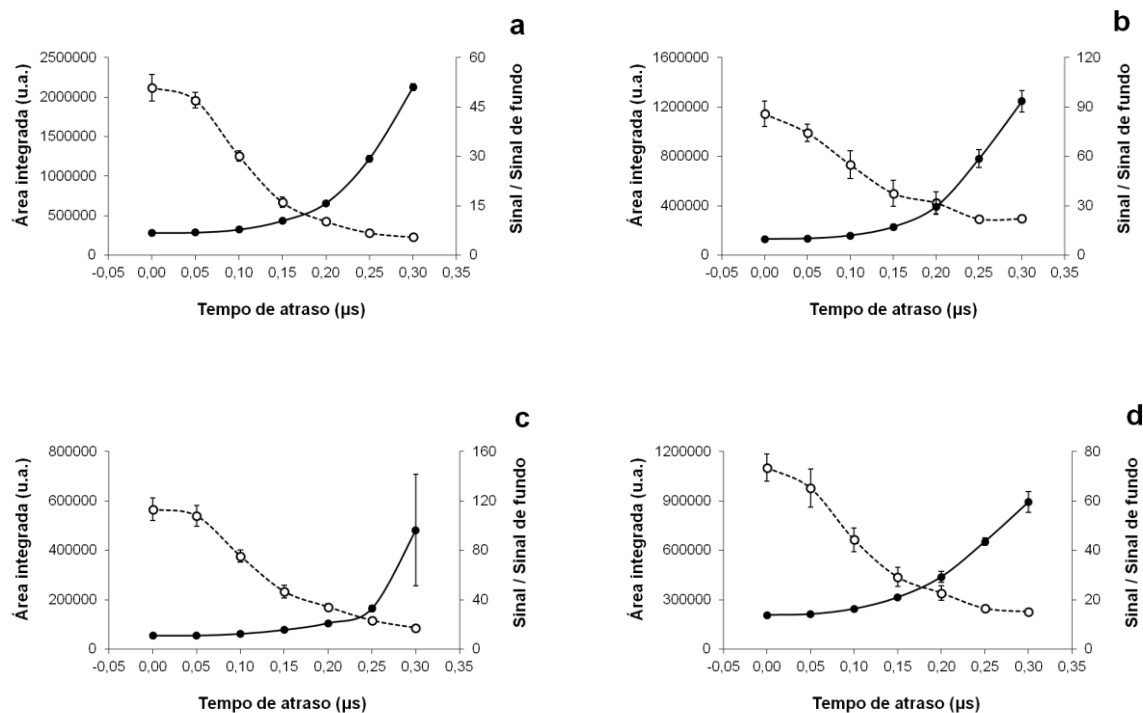
A Figura 19 ilustra a evolução dos sinais analíticos de Ca, K, Mg e Na em diferentes tempos de atraso. É perceptível a diminuição do sinal analítico e do sinal de fundo com o aumento do tempo de atraso. Em alguns casos, também é possível verificar uma melhora na resolução das linhas de emissão (Figura 19a, c, d e e)

Figura 19: Variação dos sinais de emissão dos analitos em diferentes tempos de atraso na análise de pastilhas de pinus por LIBS. (nm): (a) Ca(II)393,366 e Ca(II)396,847 (b) Ca(I)422,673; (c) K(I)766,490 e K(I)769,896; (d) Na(I)588,995 e Na(I)589,593; (e) Mg(II)279,553 e Mg(II)280,270; (f) Mg(I)285,213.



A escolha desse parâmetro depende do compromisso entre o aumento da SBR e a diminuição de intensidade do sinal de emissão do analito. A Figura 20 apresenta as alterações no valor de área integrada dos sinais de emissão dos analitos e na SBR em diferentes tempos de atraso empregados nas análises das pastilhas de madeira.

Figura 20: (○) Área integrada do sinal de emissão e (●) razão sinal/sinal de fundo em função do tempo de atraso em pastilhas de Pinus analisadas por LIBS: (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na(I)589,593 nm.

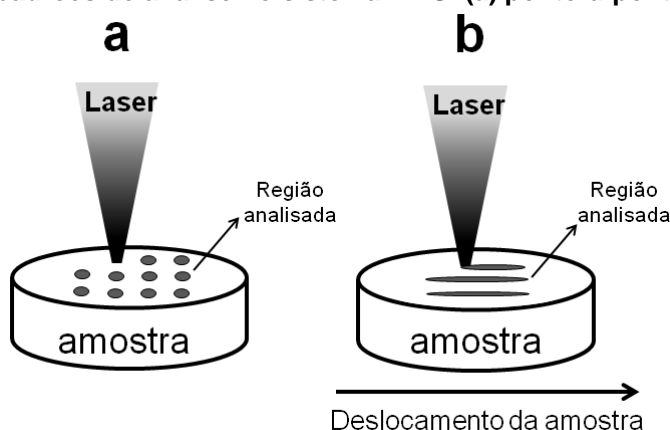


Aumentando-se o tempo de atraso, uma queda nos valores de área integrada dos analitos foi observada. Essa tendência se deve ao fato da diminuição da quantidade de espécies que emitem radiação devido ao decaimento ou recombinação no decorrer da análise. Entretanto, observa-se que com o aumento do tempo de atraso, há uma tendência no aumento da SBR, visto que o sinal de fundo decai mais rapidamente que o sinal analítico. Considerando a condição de compromisso entre os resultados de Ca, K, Mg e Na e o aumento nos valores de RSD em tempo de atraso superior a 0,30 μs (principalmente para Mg) decorrente do pequeno valor de área integrada do sinal analítico nessas situações, definiu-se como 0,25 μs o tempo de atraso adequado para realização das posteriores análises de madeira por LIBS. A linha de emissão Mg(I)285,213 nm havia sido previamente escolhida por apresentar uma melhor resolução, embora não seja a linha de emissão de Mg detectada com maiores valores de área integrada.

5.1.2.5. Otimização do padrão de análise e número de pulsos

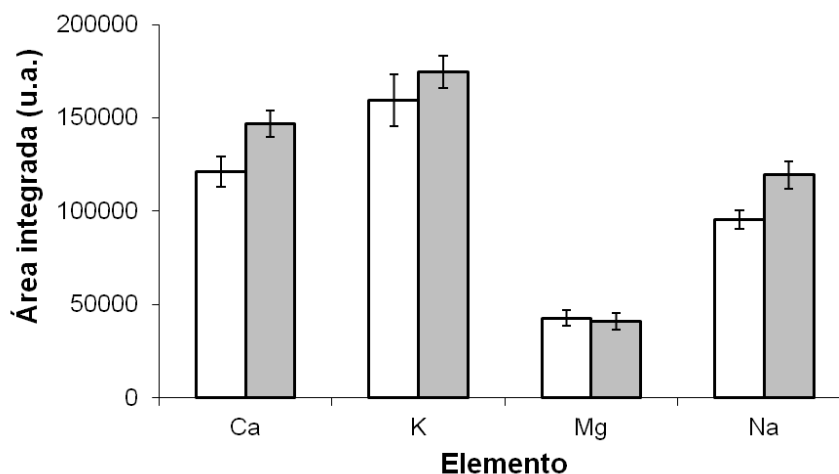
No sistema LIBS J200 tandem, é possível realizar as análises com dois tipos de padrão (*pattern*): ponto-a-ponto (*site-to-site*) e percurso (*raster*) (Figura 21).

Figura 21: Exemplo dos padrões de análise no sistema LIBS: (a) ponto-a-ponto e (b) percurso.



Na análise ponto-a-ponto, a amostra permanece fixa enquanto são aplicados os pulsos de laser em uma mesma região (Figura 21a). Após a aplicação do número estabelecido dos pulsos de laser em um determinado ponto de análise, a amostra desloca-se para a aplicação dos pulsos de laser no próximo ponto de análise pré-estabelecido e assim sucessivamente até o término da análise. A quantidade de pulsos aplicados neste padrão de análise se limita principalmente de acordo com a espessura da amostra. No padrão percurso (Figura 21b), a aplicação dos pulsos de laser sobre a amostra ocorre ao mesmo tempo em que esta se desloca em um percurso com comprimento e velocidade pré-estabelecidos. Neste tipo de padrão de análise, a quantidade de pulsos de laser aplicada se limita principalmente em função da área superficial da amostra disponível para a análise. Tanto no padrão ponto-a-ponto (Figura 21a) quanto no percurso (Figura 21b), cada pulso de laser que atinge a amostra gera um espectro. Os espectros obtidos após a incidência de diversos pulsos de laser sobre a amostra podem ser somados (espectros acumulados), sendo gerado um espectro final após a realização de cada região analisada. A Figura 22 apresenta os resultados obtidos para os dois tipos de padrão de análise empregados, aplicando-se 75 pulsos de laser acumulados com as condições experimentais já anteriormente otimizadas.

Figura 22: Área integrada do sinal de emissão de Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593 nm em função do do padrão de análise na análise de pastilhas de madeira (Pinus): (□) ponto-a-ponto e (■) percurso.



Aplicando-se o mesmo número de pulsos tanto no padrão ponto-a-ponto quanto no padrão percurso, não foram observadas diferenças significativas nos valores de área integrada quando empregado o *test-t student* no nível de confiança de 95%. Dessa forma, o fator decisivo para a escolha do tipo de padrão de análise não foram os valores de área integrada, mas sim a quantidade de pulsos de laser que poderia ser aplicada em cada um dos padrões de análise. Uma das grandes limitações do padrão de análise ponto-a-ponto está relacionado a espessura da amostra. Utilizando pastilhas de Pinus com uma espessura de aproximadamente 3,0 mm, com as condições experimentais utilizadas, foi possível a aplicação de até no máximo 200 pulsos de laser por região analisada. Além disso, com a profundidade da cratera gerada durante a análise, há a geração de um plasma confinado, com menor volume de observação pelo detector, o que pode acarretar em uma queda do sinal analítico. O padrão percurso permite a aplicação de um maior número de pulsos de laser, pois os pulsos de laser sendo aplicados sobre a superfície da amostra faz com que a cratera gerada não tenha uma elevada profundidade, ficando o número de pulsos de laser limitado à área superficial da pastilha, que possui um diâmetro de aproximadamente 13 mm. Conseqüentemente, há um aumento na representatividade da análise com o aumento na maior quantidade de material tomado para análise. Como um maior número de pulsos implica em um maior valor de sinal analítico, o padrão de análise percurso foi definido para as posteriores análises. As Figuras 23 e 24 mostram as intensidades dos sinais analíticos para os dois padrões de análise.

Figura 23: (○) Área integrada do sinal de emissão e (●) SBR em função do número de pulsos em pastilhas Pinus analisadas por LIBS com o padrão ponto-a-ponto: (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na(I)589,593 nm.

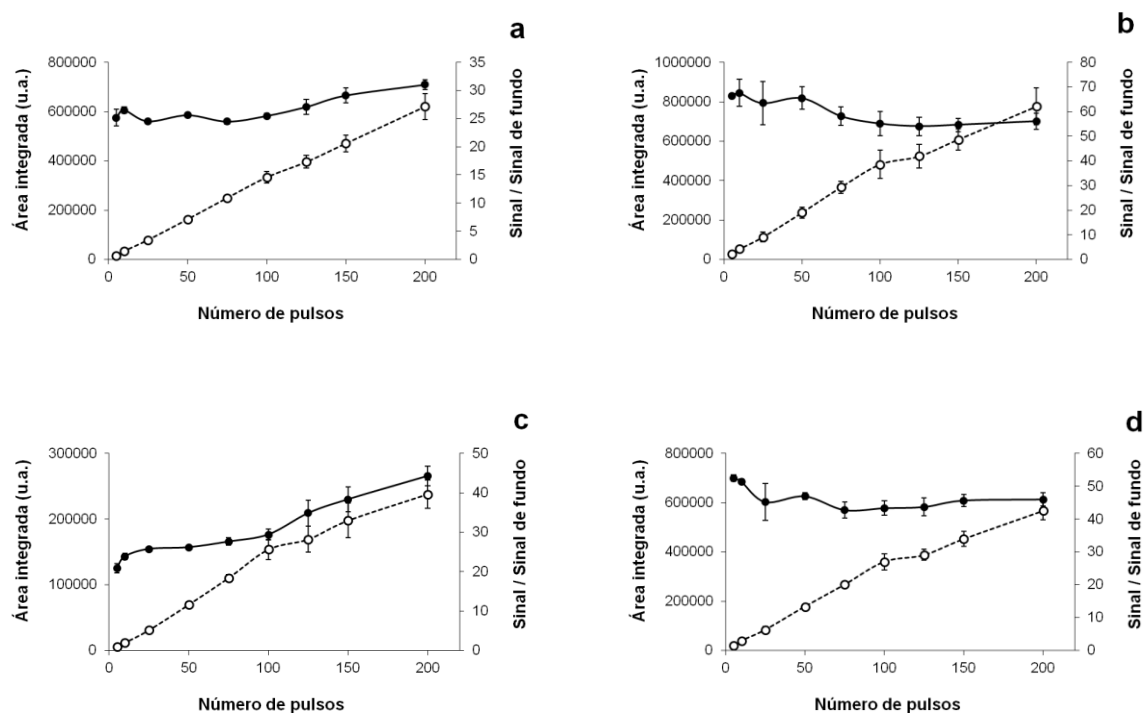
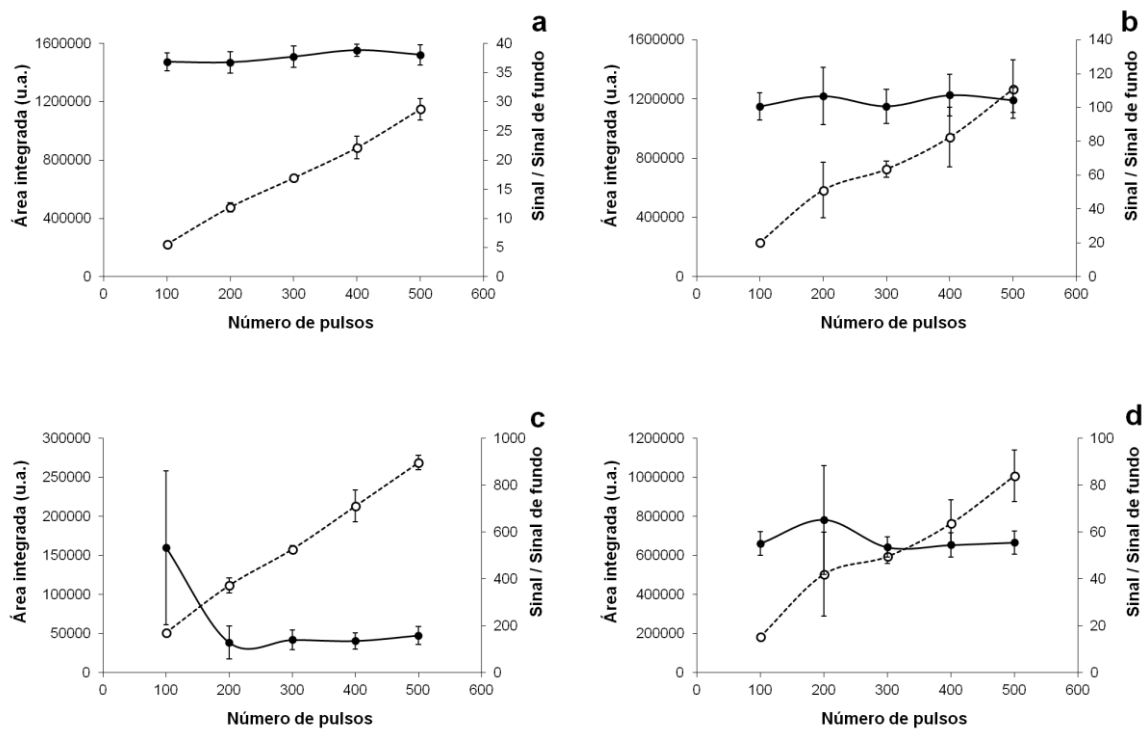


Figura 24: (○) Área integrada do sinal de emissão e (●) SBR em função do número de pulsos em pastilhas de Pinus analisadas por LIBS com padrão percurso: (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na(I)589,593 nm.

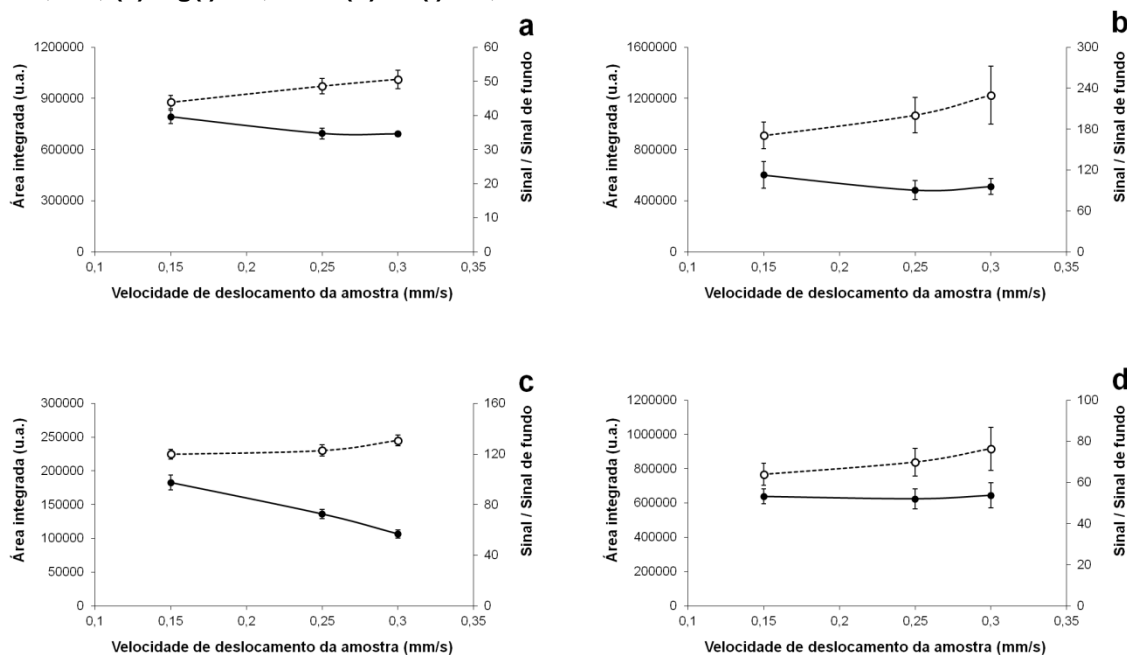


O padrão percurso foi adotado para as posteriores análises, pois permitia um maior número de pulsos aplicados sobre a amostra, resultando em sinais analíticos com maiores intensidades. Com o aumento na representatividade da amostragem, houve uma queda nos valores de RSD até 300 pulsos de laser aplicado. Com um número maior de pulsos de laser, há novamente um aumento nos valores de RSD, possivelmente decorrente da grande quantidade de material particulado gerado após a análise quando se realiza análises desse material com uma elevada quantidade de pulsos de laser. Com este padrão, 300 pulsos de laser foram adotados para as posteriores análises, já que foram obtidos os resultados com menores RSD.

5.1.2.6. *Otimização da velocidade de deslocamento da amostra*

Empregando o padrão percurso nas análises, a aplicação dos pulsos de laser sobre a amostra ocorre ao mesmo tempo em que a amostra se desloca em um percurso com comprimento pré-estabelecido, enquanto a velocidade de deslocamento da amostra durante a análise pode ser alterada no sistema LIBS. Para um número de pulsos de laser pré-estabelecido, uma menor velocidade de deslocamento da amostra implica em uma cratera mais profunda e um percurso com menor comprimento. Ao contrário, em velocidades maiores a análise é realizada em uma camada mais superficial da amostra em um percurso com maior dimensão. Para a aplicação de 300 pulsos de laser, com uma taxa de repetição de 10 Hz e velocidade de deslocamento da amostra ajustada para 0,15 mm/s, o percurso analisado teve um comprimento de aproximadamente 4,5 mm, condição esta adotada para as posteriores análises. Resultados apresentados na Figura 25 mostram que a velocidade de deslocamento da amostra não altera significativamente os sinais analíticos dos elementos investigados. Essa não alteração dos resultados analíticos é um indicativo de elevada homogeneidade do material.

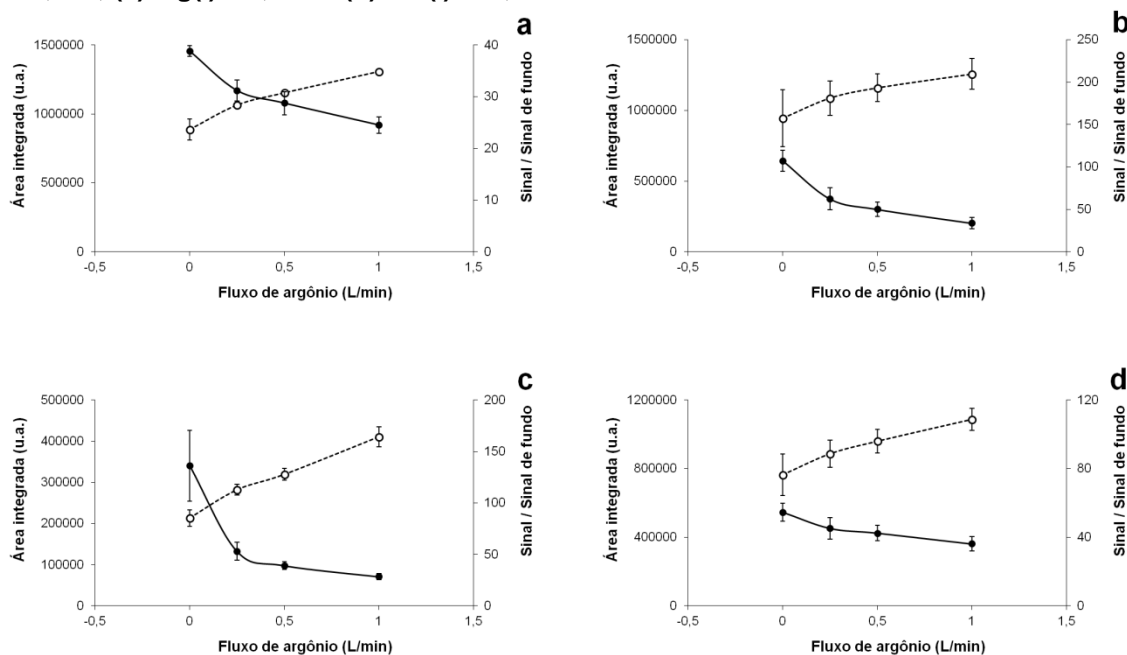
Figura 25: (○) Área integrada do sinal de emissão e (●) SBR em função da velocidade de deslocamento da amostra em pastilhas de Pinus analisadas por LIBS: (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na(I)589,593 nm.



5.1.2.7. Otimização do fluxo de argônio

O fluxo de argônio é normalmente utilizado nas análises por LIBS, pois além de auxiliar na remoção de material particulado gerado durante a análise, pode promover um aumento nos sinais analíticos devido ao aumento das densidades iônicas e eletrônicas do plasma. Assim, a composição da atmosfera pode afetar o grau de ionização e recombinações das espécies durante a análise (WISBRUN et al., 1994). O aumento da densidade eletrônica do plasma em atmosferas de argônio pode promover o aumento na absorção de energia do laser pelo plasma (efeito de blindagem), elevando-se a temperatura e aumentando o número de espécies que emitem radiação (DONG et al., 2012). Entretanto, o sinal de fundo pode ter uma elevação pelo mesmo motivo discutido anteriormente, afetando assim a SBR. Nas análises de madeira, o aumento do fluxo de argônio promoveu o aumento dos valores de área integrada dos analitos, entretanto, uma queda nos valores de SBR (Figura 26). Sem fluxo de argônio, foram observados elevados valores de RSD, condição considerada não adequada para os posteriores estudos. Dessa forma, o fluxo de 1,0 L/min gerou aumentos significativos de 50 a 70% no sinal analítico com baixos RSD (1 a 9%) e dessa forma foi selecionado para as posteriores análises.

Figura 26: (○) Área integrada do sinal de emissão e (●) razão sinal/sinal de fundo em função do fluxo de argônio em pastilhas de Pinus analisadas por LIBS: (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na (I) 589,593 nm.



5.1.2.8. Parâmetros otimizados no sistema LIBS

A Tabela 6 apresenta um resumo dos parâmetros instrumentais otimizados no sistema LIBS J200 tandem. Estes parâmetros foram utilizados nas posteriores análises das amostras de madeira.

Tabela 6: Parâmetros experimentais otimizados no sistema LIBS para análise de madeira.

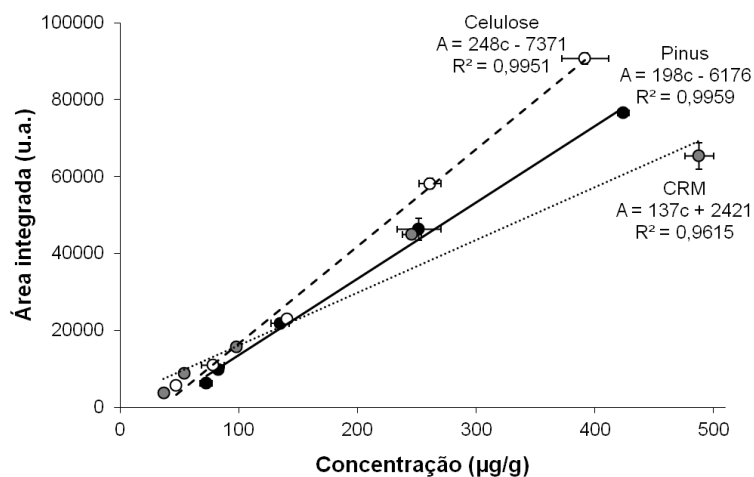
Parâmetro	Condição adotada	Parâmetro	Condição adotada
Diâmetro de focalização (μm)	50	Padrão de análise	Percurso
Energia por pulso (mJ)	20	Número de pulsos	300
Taxa de Repetição (Hz)	10	Deslocamento da amostra (mm/s)	0,15
Tempo de atraso (μs)	0,25	Fluxo de argônio (L/min)	1,0

Com os parâmetros instrumentais apresentados na Tabela 6, os valores de RSD obtidos para análises em triplicata ($n = 3$) foram de aproximadamente 3, 9, 6 e 6% para Ca, K, Mg e Na, respectivamente, e a frequência analítica foi de aproximadamente 12 amostras por hora. A frequência analítica foi estimada utilizando um cronômetro e realizando a análise de diversas pastilhas durante uma hora, considerando o tempo de introdução da amostra no equipamento e análise.

5.1.3. Estudo de calibração nos sistemas LIBS

Um dos grandes desafios em LIBS é, sem dúvida, a possibilidade de realizar análises quantitativas de amostras complexas por essa técnica. A dificuldade é atribuída aos efeitos de matriz que surgem na análise de materiais de diferentes naturezas que apresentam diferenças na composição química ou física, afetando a interação laser-amostra, ablação do material, fenômenos presentes no plasma, entre outros. As investigações de parâmetros associados aos efeitos de matriz bem como a criação de estratégias simples de calibração do método são essenciais para viabilizar medições quantitativas por LIBS. O emprego de CRMs ou de materiais secundários para calibração são as estratégias comumente utilizadas para realização de medições quantitativas pela técnica. Como exemplo, na Figura 27, é apresentado três curvas analíticas de calibração construídas com diferentes materiais para a linha de emissão Mn(II)259,372 nm. A diferença significativa na sensibilidade entre as curvas de calibração é proveniente dos efeitos de matriz que torna a análise quantitativa o principal desafio nas análises por LIBS

Figura 27: Curvas analíticas de calibração (Mn) obtidas por LIBS: (●) Pinus, (○) Celulose e (●) CRMs vegetais.



Neste trabalho, os estudos de calibração do método LIBS se basearam em quatro estratégias: (1) Calibração com diversos CRMs de origem vegetal, (2) Adição e extração de analito em amostra de madeira; (3) Uso de material secundário com adição de analito para calibração (celulose) e (4) Uso de diversos tipos de amostras de madeiras com concentrações de analitos diferentes entre si. Em todas as estratégias, os materiais calibrantes desenvolvidos foram previamente analisados

por ICP OES após decomposição ácida assistida por micro-ondas para obtenção dos valores de referência. A verificação da exatidão do método ICP OES foi realizada empregando o CRM 1575a (*Pine needles*) submetido ao mesmo procedimento de decomposição ácida assistida por micro-ondas empregado para madeira e celulose. Este CRM foi empregado, pois se acredita que a composição deste é próxima à da madeira e celulose, por serem materiais de origem vegetal. A exatidão e os parâmetros analíticos do método ICP OES são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7: Exatidão e parâmetros analíticos do método ICP OES (orientação axial).

Linha de emissão (nm)	Faixa linear (mg/L)	Equação	R ²	LOD (µg/g)	LOQ (µg/g)
Ca(II)318,128	0,3-150,0	A=2282c+1676	0,9992	16,49	54,42
Fe(II)259,940	0,1-50,0	A=14461c+3901	0,9990	0,02	0,07
K(I)769,896	0,3-150,0	A=44854c+44035	0,9969	0,40	1,32
Mg(I)285,213	0,3-150,0	A=47673c+57604	0,9951	0,14	0,46
Mn(II)257,610	0,1-50,0	A=66529c+33833	0,9965	0,03	0,10
Na(I)818,326	0,1-50,0	A=18625c+7199	0,9980	0,13	0,43
Zn(II)206,200	0,1-50,0	A=2433c+1018	0,9979	1,72	5,68

	Valor certificado SRM 1575a - <i>Pine needles</i> (µg/g)	Valor encontrado (µg/g)	Erro relativo (%)
Ca	2500±100	2526±193	+1
Fe	46±2	39±6	-15
K	4170±70	3817±184	-8
Mg	1060±170	1092±66	+3
Mn	488±12	527±34	+8
Na	63±1	52±1	-18
Zn	38±2	38±4	0

I: linha atômica, II: linha iônica, A: área integrada, c: concentração.

Uma vez que os resultados foram concordantes no nível de confiança de 95% quando aplicado o *test-t student* e apresentam erros relativos de -18 a +8% na análise do CRM por ICP OES, foi considerada adequada a exatidão do método podendo, portanto, ser aplicado como método comparativo às análises por LIBS.

5.1.3.1. Calibração com diversos CRMs de origem vegetal

A primeira abordagem para realização de calibração do método LIBS foi empregando diversos CRMs de origem vegetal disponíveis no laboratório (folhas de tomate, folhas de maçã, folhas de pêssigo, agulhas de pinheiro e farinha de soja),

os quais possuem uma composição matricial similar à madeira. Os parâmetros analíticos das curvas analíticas de calibração são apresentados na Tabela 8.

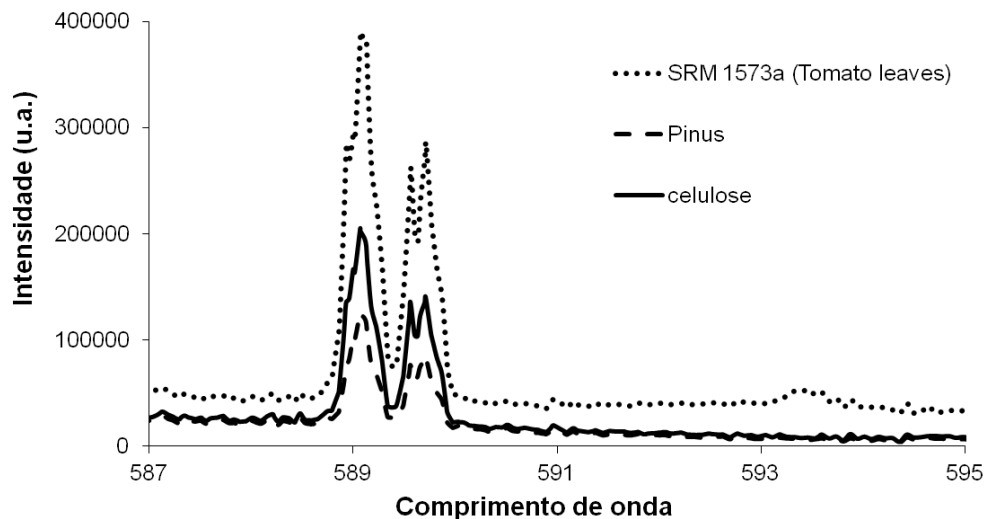
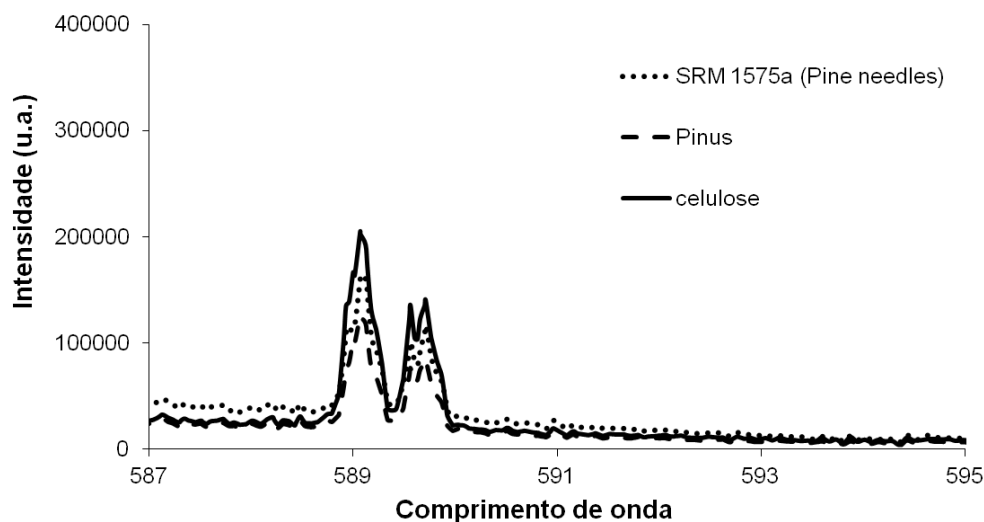
Tabela 8: Parâmetros analíticos obtidos nas curvas analíticas de calibração em LIBS construídas com diversos CRMs de origem vegetal.

Linha de emissão (nm)	Faixa linear (µg/g)	Equação	R ²
Ca(I)422,673*	2500 – 50500	$A = 275c + 2136371$	0,9888
Fe(II)259,940**	46 – 368	$A = 344c - 8245$	0,9720
K(I)769,896**	4170 – 27000	$A = 576c + 1483279$	0,9639
Mg(I)277,669**	1060 – 12000	$A = 16c + 495$	0,9883
Mg(I)285,213*	1060 – 12000	$A = 555c + 722705$	0,9703
Mn(II)259,372**	54 – 488	$A = 137c + 2421$	0,9616
Na(I)589,593*	3 – 136	$A = 14983c + 337933$	0,9175
Zn(I)213,856**	13 - 49	$A = 97c + 1118$	0,7701

A: área integrada, c: concentração, *: LIBS J200 tandem, **: LIBS não comercial

Embora as curvas de calibração apresentem elevados coeficientes de determinação para a técnica (>0,92, exceto Zn, possivelmente pela baixa homogeneidade do material para pequenas massas), indicando uma boa linearidade e homogeneidade dos materiais para construção de curvas analíticas de calibração por LIBS, o empregando dessas na análise de uma amostra de Pinus (899, 639, 261, 86, 264, 73 e 31 µg/g para Ca, K, Mg, Na, Fe, Mn e Zn, respectivamente) gerou elevados erros relativos, estando estes entre 30 e 60% para Fe, Mn, Na e Zn, enquanto Ca, K e Mg tiveram seus resultados abaixo do LOD. Tais elevados erros relativos podem ser atribuídos aos efeitos de matriz provocados por diferenças químicas e físicas nos diferentes materiais da curva analítica de calibração e na madeira. Os efeitos de matriz muitas vezes podem ser observados nos valores de intensidade do sinal de fundo, o que pode afetar os valores de área integrada do sinal analítico caso essas regiões do espectro sejam selecionadas para correção dos sinais de emissão dos analitos. Como exemplo deste tipo de variação do sinal de fundo em diferentes materiais analisados, é apresentado na Figura 28 o perfil da região espectral em que se encontram dois sinais de emissão de Na(I)588,995 e Na(I)589,593 nm após a análise por LIBS de pastilhas de SRM 1573a (*Tomato leaves*), SRM 1575a (*Pine needles*), Pinus e celulose.

Figura 28: Perfil espectral obtido por LIBS para as linhas de emissão Na(I) 588,995 e Na(I) 589,593 nm na análise de pastilhas de (a) SRM 1573a (*Tomato leaves*), Pinus e celulose e (b) SRM 1575a (*Pine needles*), Pinus e celulose.

a**b**

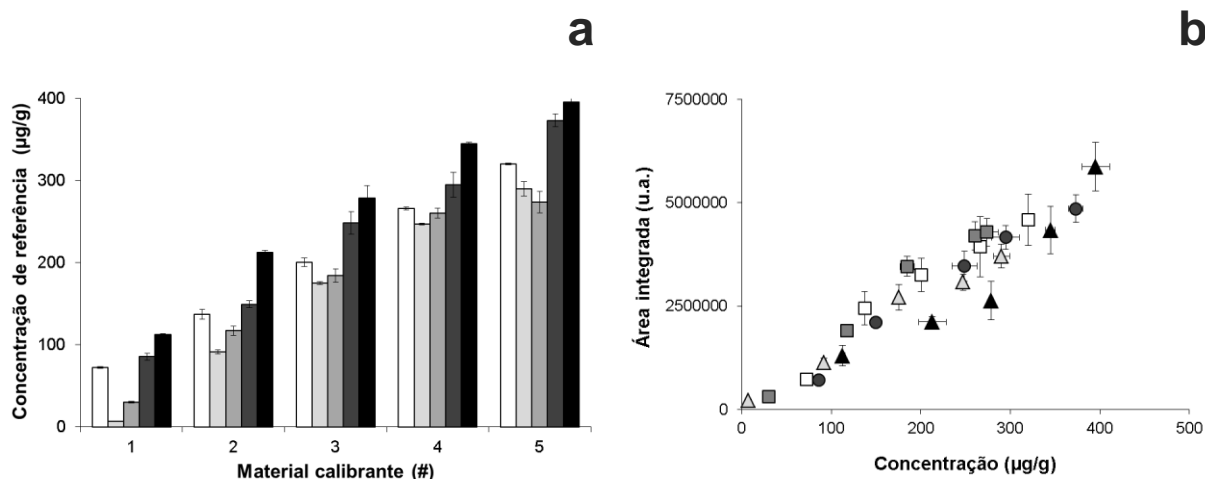
Na Figura 28, observa-se que o sinal de fundo é maior na análise dos CRMs, sobretudo do material SRM 1573a, provavelmente devido à diferença na sua composição matricial. A intensidade dos sinais analíticos, no entanto, pode não acompanhar essa variação de forma proporcional, provocando assim um valor líquido (área integrada) muito diferente ao se fazer a correção do sinal. Com base nas análises das curvas analíticas de calibração, observação dos sinais analíticos e na aparência das áreas analisadas na superfície da amostra, conclui-se que o uso de CRMs de origem vegetal não é adequado para ser empregado na análise

quantitativa de madeira por LIBS, pois possuem comportamentos muito distintos a fim de realizar análise quantitativa por esta abordagem. O uso de linhas de emissão de C como padrão interno não melhorou os resultados obtidos.

5.1.3.2. Calibração com adição de analito em amostra de madeira e materiais secundários de calibração (celulose)

As amostras de madeira (Eucalipto, Cedrinho, Peroba e Pinus) e material secundário de calibração (celulose) adicionados com crescentes concentrações de Ca, K, Fe, Mg, Mn, Na e Zn tiveram o seu valor de referência estabelecido após decomposição ácida em forno de micro-ondas e análise por ICP OES. Empregando esses valores, construíram-se curvas analíticas de calibração por LIBS utilizando os parâmetros instrumentais previamente otimizados. A Figura 29a apresenta os valores de referência para Na obtidos por ICP OES para os materiais calibrantes, e a Figura 29b, as curvas analíticas de calibração para LIBS empregando os valores de referência obtidos.

Figura 29: (a) valores de referência de Na dos materiais calibrantes (1-5) desenvolvidos: ((□) Eucalipto, (■) Cedrinho, (■) Peroba, (■) Pinus e (■) celulose) obtidos por ICP OES e (b) resultado da análise desses mesmos materiais obtidos por LIBS: (□) Eucalipto, (▲) Cedrinho, (■) Peroba, (●) Pinus e (▲) celulose.



Procedimento similar foi adotado para os outros elementos. A Tabela 9 apresenta os parâmetros analíticos, tais como equação da reta, intervalo linear, coeficientes de determinação e limites de detecção (LOD) para cada elemento e material utilizado na calibração.

Tabela 9: Parâmetros analíticos obtidos nas análises dos materiais calibrantes por LIBS.

Linha de emissão (nm)	Material	Faixa linear ($\mu\text{g/g}$)	Equação	R ²	LOD ($\mu\text{g/g}$)
Ca(I)422,673*	Eucalipto	500 – 5216	A = 826c + 724594	0,9670	284,5
	Cedrinho	241 – 5101	A = 771c + 437396	0,9601	682,9
	Peroba	2129 – 6064	A = 951c – 354138	0,8991	360,2
	Pinus	898 – 5058	A = 1026c + 611118	0,9400	479,5
	Celulose	138 – 4402	A = 1100c + 527516	0,9977	170,5
Fe(II)259,940**	Eucalipto	12 – 314	A = 215c – 322	0,9991	1,4
	Cedrinho	47 – 364	A = 218c – 1596	0,9484	0,9
	Peroba	26 – 308	A = 261c – 7790	0,9651	0,8
	Pinus	264 – 545	A = 258c - 25586	0,9358	1,1
	Celulose	193 – 468	A = 365c – 37276	0,9754	0,7
K(I)769,896**	Eucalipto	1256 – 37204	A = 499c + 2269217	0,9663	2823,8
	Cedrinho	80 – 36619	A = 453c + 104521	0,9776	1173,4
	Peroba	82 – 35203	A = 673c + 174806	0,9715	1339,5
	Pinus	639 – 37315	A = 523c + 814663	0,9923	1150,7
	Celulose	1033 – 36261	A = 606c + 1494485	0,9955	379,6
Mg(I)277,669**	Eucalipto	136 – 1526	A = 29c – 2507	0,9996	9,8
	Cedrinho	361 – 1794	A = 28c – 7798	0,9975	10,3
	Peroba	75 – 1409	A = 30c – 3041	0,9894	7,6
	Pinus	261 – 1455	A = 32c – 5911	0,9949	8,5
	Celulose	103 – 1316	A = 33c – 3102	0,9980	6,7
Mg(I)285,213*	Eucalipto	136 – 1526	A = 1110c + 104333	0,9832	117,2
	Cedrinho	361 – 1794	A = 927c + 65352	0,9599	115,0
	Peroba	75 – 1409	A = 1149c + 102060	0,9647	117,3
	Pinus	261 – 1455	A = 1577c – 96830	0,9956	97,6
	Celulose	103 – 1316	A = 1531c – 9087	0,9962	69,3
Mn(II)259,372**	Eucalipto	19 – 387	A = 247c – 2942	0,9997	0,7
	Cedrinho	2 – 399	A = 199c – 2148	0,9983	1,0
	Peroba	8 – 364	A = 203c – 2325	0,9949	1,1
	Pinus	73 – 424	A = 198c – 6176	0,9959	1,1
	Celulose	47 – 392	A = 248c – 7371	0,9951	0,7
Na(I)589,593*	Eucalipto	72 – 320	A = 14811c + 38323	0,9570	13,2
	Cedrinho	7 – 290	A = 12443c + 151576	0,9770	7,4
	Peroba	30 – 274	A = 16546c – 35033	0,9774	7,9
	Pinus	86 – 373	A = 14325c – 238315	0,9787	9,2
	Celulose	112 – 395	A = 14368c – 539227	0,9106	9,8
Zn(I)213,856**	Eucalipto	4 – 130	A = 116c + 379	0,9948	1,1
	Cedrinho	16 – 140	A = 107c – 746	0,9771	2,3
	Peroba	20 – 149	A = 140c – 1042	0,9961	0,9
	Pinus	31 – 131	A = 113c – 66	0,9495	1,1
	Celulose	22 – 119	A = 129c + 938	0,9316	0,7

A: área integrada, c: concentração, *: LIBS J200 tandem, **: LIBS não comercial

Pelos resultados apresentados na Tabela 9, percebe-se que na maioria dos casos os coeficientes de determinação das curvas analíticas de calibração são superiores a 0,95, valores comumente considerados adequados em técnicas analíticas de análise direta de sólidos e microanálise, indicando que a faixa de trabalho adotada é linear e fenômenos de auto-absorção não foram observados. Na tentativa de melhorar alguns dos valores dos coeficientes de determinação das curvas analíticas de calibração e minimizar os efeitos de matriz entre os materiais, aproximando os valores dos coeficientes angulares das curvas (sensibilidade), na tentativa de minimizar as diferentes condições de ablação entre os materiais (compatibilização), avaliou-se o uso do sinal de emissão de C como padrão interno visando corrigir possíveis desvios, tal como a variação na massa ablada pela incidência do laser. Entretanto, não houve melhora significativa com o uso de C como padrão interno, de modo que seu uso foi descartado.

Em relação aos limites de detecção (LOD), os menores valores foram obtidos para as curvas analíticas de calibração construídas com celulose, o qual pode ser atribuído à menor flutuação no sinal de fundo e aos elevados valores dos coeficientes angulares, na maior parte dos casos. Estes dois fatores podem estar atrelados à composição química e física das pastilhas de celulose, fazendo com que o comportamento do material ou dos analitos durante a análise seja diferente quando comparado às madeiras. A comparação entre LODs para os dois sistemas LIBS empregados nas análises (J200 tandem e o não comercial) só foi possível para Mg. O sistema não comercial apresentou limites na ordem de 10 vezes menores que o sistema J200 tandem, fato provavelmente relacionado a diferentes condições experimentais e tipo de instrumentação (espectrofotômetro e detector). Além disso, as diferentes energias (ou fluências) e comprimentos de onda (1064 e 266 nm) empregados influenciam diretamente na interação laser-amostra e os processos que o analito sofre desde a ablação até a emissão de radiação, afetando assim os resultados analíticos.

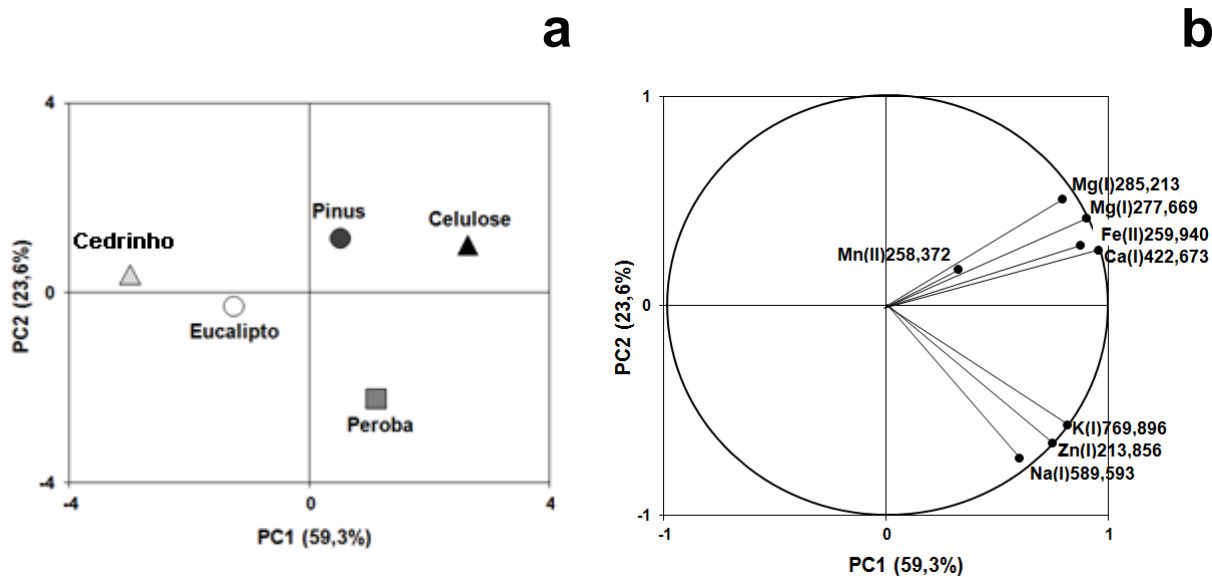
Uma amostra de Pinus submetida à etapa de adição de analito (1079, 24426, 392, 249, 440, 135 e 64 $\mu\text{g/g}$ para Ca, K, Mg, Na, Fe, Mn e Zn, respectivamente) foi analisada empregando as curvas analíticas de calibração apresentadas na tabela 9. Considerando as 40 curvas analíticas de calibração obtidas, aproximadamente 86% dos resultados para Pinus submetidos à etapa de adição apresentaram erros relativos inferiores a 20%. Os casos de erros relativos superiores a 20% são

encontrados nos resultados de Pinus avaliados em curvas analíticas de calibração construídas com Cedrinho (K, Mg e Zn), Eucalipto (Mn) e celulose (Fe). Assim sendo, a construção de curvas analíticas de calibração em LIBS empregando madeiras e celulose dopadas pode ser considerada promissora para análise de madeira também submetidos à adição de analito. Entretanto, empregando a mesma abordagem, a análise de uma amostra de Pinus sem ser submetida à etapa de adição elementar (899, 639, 261, 86, 264, 73 e 31 $\mu\text{g/g}$ para Ca, K, Mg, Na, Fe, Mn e Zn, respectivamente), os erros relativos inferiores a 20% foram obtidos em apenas 21% dos casos, sendo esta abordagem considerada ainda não confiável nesta situação. Os casos de erros relativos inferiores a 20% são encontrados apenas em Pinus avaliados em curvas analíticas de calibração construídas com Eucalipto (Fe), Cedrinho (Fe e Mn), Peroba (Zn) e celulose (Fe e Na). Os motivos para a grande quantidade de elevados erros relativos nesta situação pode estar associado ao fato de haver alguma incompatibilidade da concentração da amostra com a faixa linear de calibração e também ao fato do analito naturalmente associado à matriz se comportar de uma forma diferente de quando este é adicionado sobre o material. Além disso, há a possibilidade de que diferentes materiais, mesmo estes apresentando pequena diferença matricial, gerem elevados efeitos de matriz, fato este que dificulta a análise quantitativa por LIBS.

5.1.3.2.1. Avaliação dos efeitos de matriz entre diferentes materiais utilizados na calibração no LIBS

Acredita-se que a interação entre analito e matriz possa ser diferenciada em diferentes materiais e possivelmente tenha contribuído para as diferenças observadas nas curvas analíticas de calibração obtidas por LIBS, quando empregado materiais submetidos à adição elementar para construção das curvas analíticas de calibração. Para verificar similaridades e diferenças no comportamento dos analitos entre os materiais de uma forma mais generalizada, foi realizada uma Análise por Componentes Principais (PCA) empregando os coeficientes angulares (sensibilidades) das curvas analíticas de calibração como variáveis. Assim, poderia-se ter melhor discernimento de quais materiais geram um menor efeito de matriz entre si. Uma distribuição bi-dimensional das amostras (*scores*) e o gráfico de pesos das variáveis (*loadings*) são apresentados na Figura 30.

Figura 30: (a) distribuição bi-dimensional (scores) dos materiais calibrantes e (b) gráfico de pesos (loadings) após Análise por Componentes Principais empregando os valores dos coeficientes angulares das curvas analíticas de calibração obtidas por LIBS como variáveis.



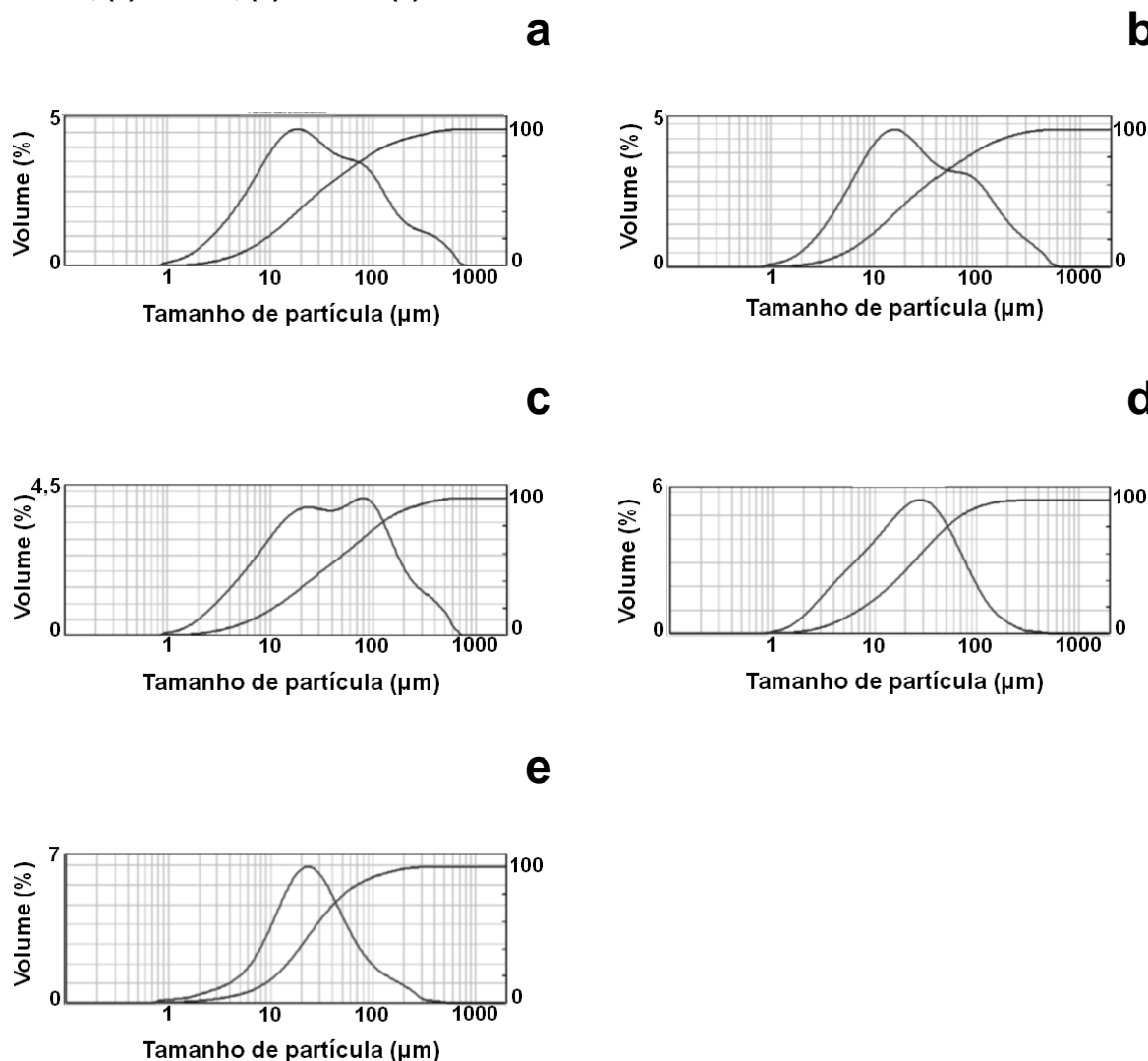
Pela análise dos resultados apresentados na Figura 30a, as menores distâncias euclidianas foram obtidas entre Pinus e celulose, indicando uma maior similaridade no comportamento das curvas analíticas de calibração para estes dois materiais. Por outro lado, Peroba e Cedrinho, apresentaram as maiores distâncias euclidianas em relação à maioria dos outros materiais, sugerindo assim um comportamento muito diferenciado das curvas analíticas de calibração. O gráfico de pesos (Figura 30b) indica que os coeficientes angulares das curvas analíticas de calibração de Ca, Fe, Mg e Mn são os principais responsáveis pelo agrupamento entre celulose e Pinus, enquanto que os coeficientes angulares de K, Na e Zn foram as principais variáveis para separação da Peroba dos demais materiais. Os valores dos coeficientes angulares das curvas analíticas de Mn tiveram o menor peso na diferenciação entre os materiais no gráfico bi-dimensional de escores apresentado na Figura 30a, entretanto também contribuíram para o agrupamento Pinus e celulose. Dessa maneira, acredita-se que a interação química de alguns analitos com componentes da matriz possa ter influenciado no sinal analítico e promovido assim as diferenças observadas na sensibilidade das curvas analíticas de calibração. Vale ressaltar que o PCA nesta abordagem pode indicar uma maior probabilidade de dois materiais se comportarem de maneiras similares e conseqüentemente serem empregados como materiais calibrantes uns para os outros, entretanto, existem particularidades para cada elemento. Cada elemento

pode estar associado ou interagir de uma forma diferenciada com cada tipo de matriz e, assim, ter um comportamento peculiar durante a análise. Assim sendo, uma análise prévia para verificar a exatidão dos resultados obtidos é altamente recomendada.

5.1.3.2.2. Avaliação da influência do tamanho de partícula dos materiais calibrantes sobre as curvas analíticas de calibração.

Na tentativa de entender o efeito de matriz na análise quantitativa de madeira, a influência do tamanho de partícula sobre o processo de atomização/excitação e aquisição de sinal analítico no LIBS foi avaliado. Gomes et al. (2011) e Carvalho et al. (2015) demonstraram que materiais vegetais com diferentes granulometrias afetaram a eficiência de ablação e possivelmente processos que o analito sofre no plasma, afetando assim os sinais de emissão e conseqüentemente as sensibilidades das curvas analíticas de calibração. Hahn (2009) comenta que durante as análises por LIBS, parte dos analitos pode ficar aprisionada dentro de partículas com maiores diâmetros, as quais não são completamente destruídas no plasma, afetando assim a quantidade de espécies que emitem radiação. Dessa forma, o tamanho de partícula se torna um fator importante dentro da análise quantitativa. Considerando a possível influência na sensibilidade das curvas analíticas de calibração proveniente das diferentes granulometrias das madeiras e celulose, foi realizada a análise granulométrica destes materiais. Os perfis de distribuição do tamanho de partícula dos materiais são apresentados na Figura 31.

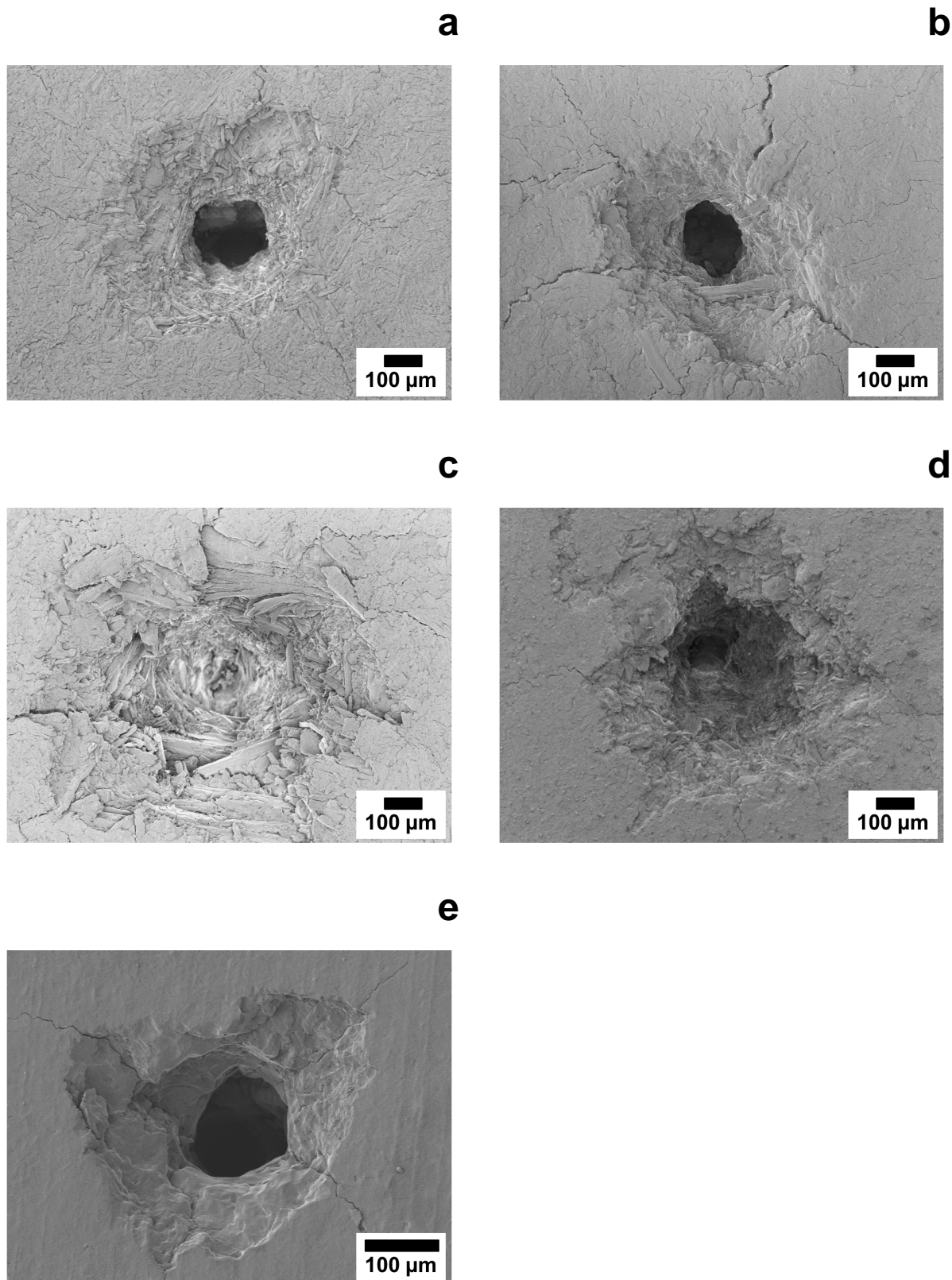
Figura 31: Distribuição do tamanho de partícula dos materiais calibrantes: (a) Eucalipto, (b) Cedrinho, (c) Peroba, (d) Pinus e (e) celulose.



Os perfis granulométricos indicam que a celulose apresenta uma distribuição em que grande parte do material possui um tamanho de partícula abaixo de 100 μm. Dentre as madeiras empregadas na calibração do LIBS, o perfil granulométrico de Pinus é o que mais se assemelha à celulose, sendo este um possível motivo pela semelhança das sensibilidades das curvas analíticas de calibração observadas entre esses materiais na Figura 30 (PCA). A granulometria somada a natureza do material pode alterar a coesão entre as partículas e assim alterar a quantidade de massa ablada durante a análise por LIBS, fator este que também pode alterar o sinal analítico. A investigação desse parâmetro foi conduzida com as pastilhas das madeiras e celulose empregadas na calibração do método LIBS. Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) de regiões analisadas ponto-a-ponto

são apresentadas na Figura 32 para uma comparação do perfil de ablação dos materiais.

Figura 32: Perfis das regiões analisadas dos materiais empregados para calibração do método LIBS: (a) Eucalipto, (b) Cedrinho, (c) Peroba, (d) Pinus e (e) celulose.



Observando-se os perfis das regiões dos materiais analisadas por LIBS, nota-se inicialmente que o tamanho da região analisada é superior ao diâmetro de focalização (50 μm). Um dos motivos para tal fenômeno é devido à pluma do plasma que gera este efeito de borda. Além disso, percebe-se que o tamanho da cratera gerada em celulose possui um diâmetro aproximadamente 50% menor que a das amostras de madeira. Entretanto, o comportamento do analito entre celulose e Pinus durante a análise parece não ter sido afetado por esta diferença, visto que as curvas analíticas de calibração para ambos os materiais possuem certa semelhança de acordo com o PCA apresentado na Figura 30. Em relação ao Pinus, Peroba apresentou o perfil de cratera mais diferenciado, apresentando uma maior quantidade de fibras na região analisada. Este fator pode estar associado ao elevado efeito de matriz existente entre os dois materiais analisados por LIBS e a elevada diferença na Figura 30.

Outro estudo da influência do tamanho de partícula sobre as diferenças obtidas nas curvas analíticas de calibração agora somente empregando dois tipos de madeira, Pinus e Cedrinho, com diferentes tamanhos de partícula foi realizado. Utilizando ICP OES, foram obtidos os valores de referência de Ca, K, Mg e Na para cada material, os quais são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Concentrações de Ca, K, Mg e Na em Pinus e Cedrinho submetidos a etapas de adição de analito obtidos por ICP OES.

Elemento	Concentração dos materiais ($\mu\text{g/g}$)			
	Pinus $p < 50 \mu\text{m}$	Pinus $50 < p < 100 \mu\text{m}$	Cedrinho $p < 50 \mu\text{m}$	Cedrinho $50 < p < 100 \mu\text{m}$
Ca	626 – 2055	687 – 1984	28 – 1497	28 – 1991
K	315 – 1439	413 – 1414	10 – 1262	14 – 1262
Mg	85 – 1174	140 – 1167	215 – 913	256 – 1142
Na	52 – 264	61 – 254	13 – 216	13 – 271

p: tamanho de partícula

Após análise por LIBS, foram construídas curvas analíticas de calibração para cada um dos elementos em estudo. A Tabela 11 apresenta as equações e os coeficientes de determinação (R^2) para cada curva analítica de calibração.

Tabela 11: Parâmetros analíticos das curvas analíticas de calibração dos elementos avaliados por LIBS em pastilhas de Pinus e Cedrinho com diferentes tamanhos de partícula.

Elemento	Pinus $p < 50 \mu\text{m}$		Pinus $50 < p < 100 \mu\text{m}$		Cedrinho $p < 50 \mu\text{m}$		Cedrinho $50 < p < 100 \mu\text{m}$	
	Equação	R^2	Equação	R^2	Equação	R^2	Equação	R^2
Ca	A= 658c + 88856	0,9904	A= 153c + 817930	1,0000	A= 1035c + 164238	0,9930	A= 675c + 220932	1,0000
K	A= 702c + 367544	0,9310	A= 535c + 498879	0,9881	A= 1298c + 90218	1,0000	A= 770c + 143479	0,9227
Mg	A= 607c + 68449	0,9885	A= 427c + 181836	0,9980	A= 1049c + 27598	0,9576	A= 615c + 183283	0,9962
Na	A= 4048 + 191895	0,9294	A= 2737c + 366126	0,9733	A= 8710 - 50624	0,9963	A= 5133c - 43123	0,9723

A: área integrada, c: concentração ($\mu\text{g/g}$), p: tamanho de partícula

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 11, os coeficientes angulares das curvas de calibração, feitas a partir de amostras de madeira com tamanho de partículas menores que $50 \mu\text{m}$, possuem valores superiores aos das curvas analíticas de calibração construídas com material contendo partículas entre 50 e $100 \mu\text{m}$. Estes dados estão de acordo com o que era esperado, visto que os trabalhos de Gomes et al. (2011) e de Carvalho et al. (2014) tiveram resultados similares a estes para materiais vegetais. A explicação para tal fenômeno se deve ao fato de haver uma melhor decomposição do material particulado no plasma com materiais apresentando menores granulometrias, aumentando assim o sinal analítico. Além disso, os resultados apresentados anteriormente indicam uma diminuição no efeito de matriz entre Pinus e Cedrinho com materiais apresentando tamanhos de partículas diferentes. As razões entre coeficientes angulares apresentadas na Tabela 12 demonstram a aproximação do comportamento durante a análise dos materiais Pinus ($p < 50 \mu\text{m}$) e Cedrinho ($50 < p < 100 \mu\text{m}$) por LIBS.

Tabela 12: Razão entre os coeficientes angulares das amostras de Pinus (partícula $< 50 \mu\text{m}$) e Cedrinho (partícula $< 50 \mu\text{m}$) e, Pinus (partícula $< 50 \mu\text{m}$) e Cedrinho ($50 < p < 100 \mu\text{m}$).

		Elementos			
		Ca	K	Mg	Na
Razão	Pinus $p < 50 \mu\text{m}$ / Cedrinho $p < 50 \mu\text{m}$	0,64	0,54	0,58	0,46
	Pinus $p < 50 \mu\text{m}$ / Cedrinho $50 < p < 100 \mu\text{m}$	0,97	0,91	0,99	0,79

p: tamanho de partícula

Razões entre sensibilidades próximas de 1 indicam uma semelhança entre as curvas analíticas de calibração. Considerando Pinus com menor tamanho de partícula e Cedrinho com maior tamanho de partícula, as curvas analíticas de calibração com estes diferentes materiais tiveram as maiores razões (razão 0,79 – 0,99) quando comparado às razões de Pinus e Cedrinho com tamanho de partícula < 50 µm para ambos (razão 0,54 – 0,64), sugerindo uma possível compatibilização de matriz. Assim sendo, recomenda-se uma prévia investigação para construções de curvas analíticas de calibração com um material para quantificação dos elementos em outro tipo de material, mesmo que estes sejam de uma origem muito similar. Ao contrário do que se imaginava a simples etapa de padronizar o tamanho de partícula entre os materiais não fez com que os analitos se comportassem de maneira similar.

5.1.3.3. *Calibração com adição e extração de analito em amostra de madeira*

Além da adição elementar sobre um material para construção de padrões de calibração, a possibilidade de realizar a extração dos analitos para o preparo de materiais calibrantes é outra abordagem para calibração do método, pois possibilita a construção de pontos da curva de calibração com concentrações abaixo da naturalmente presente no material, aumentando assim a faixa linear. Este estudo foi conduzido apenas com a madeira Pinus (tamanho de partícula < 50 µm) e apenas o comportamento do elemento Na pode ser avaliado, pois após as etapas de extração, somente este analito possuía concentrações acima do LOD do ICP OES nos padrões de calibração. Duas curvas analíticas de calibração foram construídas. Na primeira, para construção dos padrões de calibração em LIBS, o material submetido à extração foi misturado e homogeneizado com madeira não submetida à extração. Para segunda curva analítica de calibração, estes mesmos materiais foram empregados, porém, somado a estes, materiais submetidos a etapas de adição elementar foram também utilizados como padrões de calibração. Os parâmetros analíticos das curvas analíticas de calibração são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Parâmetros analíticos obtidos nas análises de Pinus empregados como materiais calibrantes por LIBS.

Elemento	Material	Faixa linear (µg/g)	Equação	R ²
Na	Pinus (submetido à etapa de extração + não submetido à etapa de extração)	4,4 – 44,6	A = 6487c + 40530	0,9882
	Pinus (submetido à etapa de extração + não submetido à etapa de extração + submetido à etapa de adição)	4,4 – 264,0	A = 4433c + 112093	0,9645

A: área integrada, c: concentração, *: LIBS J200 tandem, **: LIBS não comercial

Pelos resultados obtidos, nota-se que esta é uma abordagem promissora, pois ambas as curvas analíticas de calibração possuem coeficientes de determinação elevados para a técnica (>0,96). Uma diferença significativa na sensibilidade é observada entre as duas curvas analíticas de calibração, provavelmente devido à alteração da faixa linear e também devido à forma como o analito está presente na matriz (naturalmente presente e adicionado), podendo alterar assim o seu comportamento durante o processo de atomização/excitação. Uma amostra de Pinus com tamanho de partícula < 50 µm foi analisada em ambas as curvas analíticas de calibração para avaliação do erro relativo. Empregando a curva analítica de calibração construída com padrões submetidos a etapas de extração ou adição de analito, o erro relativo obtido foi de 10%, enquanto um erro relativo de 14% foi obtido adotando a curva analítica de calibração empregando apenas padrões submetidos à etapa de extração. Dessa forma, esta estratégia de calibração se mostra promissora, visto os baixos erros relativos obtidos para amostra.

5.1.3.4. Investigação de uma estratégia de calibração empregando diferentes espécies de madeiras sem adição ou extração de analito e com diferentes tamanhos de partícula.

O uso de diferentes madeiras não submetidas a etapas de adição de analito possuem vantagens e desvantagens sobre a abordagem que envolve etapas de preparo de amostra em que são realizados adição de analito sobre o material. As principais desvantagens estão no fato de ser necessário um grande número de materiais com diferentes concentrações do analito para construção adequada de

curvas analíticas de calibração e a possível ocorrência de efeitos de matriz em diferentes materiais, mesmo estes sendo de uma origem muito semelhante. Entretanto, esta abordagem de calibração é vantajosa visto que simplifica o procedimento de preparo dos materiais calibrantes, não sendo necessário mais as etapas de adição ou extração dos analitos e posterior homogeneização.

Após a decomposição ácida das 14 espécies de madeira, foram obtidos os valores de referência de Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn para cada material por ICP OES, os quais são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14: Concentrações de Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em 14 espécies de madeira obtidos por ICP OES.

Material	Tamanho de partícula (μm)	Concentração no material ($\mu\text{g/g}$)						
		Ca	Fe	K	Mg	Mn	Na	Zn
Cumaru	< 50	3,2	< 0,2	0,7	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Mogno	< 50	2,6	< 0,2	< 0,4	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Pau-marfim	< 50	4,2	< 0,2	1,3	1,8	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Caxeta	< 50	2,6	< 0,2	1,1	0,1	< 0,02	0,4	< 0,03
Jatobá	< 50	1,7	< 0,2	1,1	0,3	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Imbuia	< 50	< 0,7	< 0,2	< 0,4	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Ipê	< 50	2,7	0,2	< 0,4	0,7	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Tamarindo	< 50	< 0,7	< 0,2	< 0,4	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Cedrarana	< 50	< 0,7	< 0,2	0,5	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Cedro-rosa	< 50	2,9	< 0,2	< 0,4	0,2	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Cedrinho	< 50	< 0,7	< 0,2	< 0,4	0,2	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Pinus	< 50	0,8	< 0,2	0,4	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Eucalipto	< 50	< 0,7	< 0,2	0,9	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Peroba	< 50	2,1	< 0,2	< 0,4	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Cumaru	50 - 100	1,7	< 0,2	0,5	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Mogno	50 - 100	1,9	< 0,2	< 0,4	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Pau-marfim	50 - 100	2,3	< 0,2	1,2	1,5	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Caxeta	50 - 100	2,4	< 0,2	1,1	< 0,1	< 0,02	0,4	< 0,03
Jatobá	50 - 100	1,1	< 0,2	0,9	0,3	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Imbuia	50 - 100	< 0,7	< 0,2	< 0,4	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Ipê	50 - 100	1,9	< 0,2	< 0,4	0,6	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Tamarindo	50 - 100	< 0,7	< 0,2	< 0,4	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Cedrarana	50 - 100	< 0,7	< 0,2	< 0,4	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Cedro-rosa	50 - 100	1,8	< 0,2	< 0,4	0,2	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Cedrinho	50 - 100	< 0,7	< 0,2	< 0,4	0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Pinus	50 - 100	< 0,7	< 0,2	< 0,4	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Eucalipto	50 - 100	< 0,7	< 0,2	1,0	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03
Peroba	50 - 100	1,2	< 0,2	< 0,4	< 0,1	< 0,02	< 0,4	< 0,03

Somente os valores acima do LOD em ICP OES foram utilizados nesse estudo. A maior parte das amostras apresentaram valores de concentração abaixo do LOD. Dessa forma, somente foi possível a construção de curvas analíticas de calibração para Ca, K e Mg. O material Pinus foi empregado como amostra e, portanto, não foi inserido nas curvas analíticas de calibração. Os parâmetros analíticos das curvas analíticas de calibração são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15: Parâmetros analíticos das curvas analíticas de calibração do método de LIBS construídas com 13 espécies de madeira.

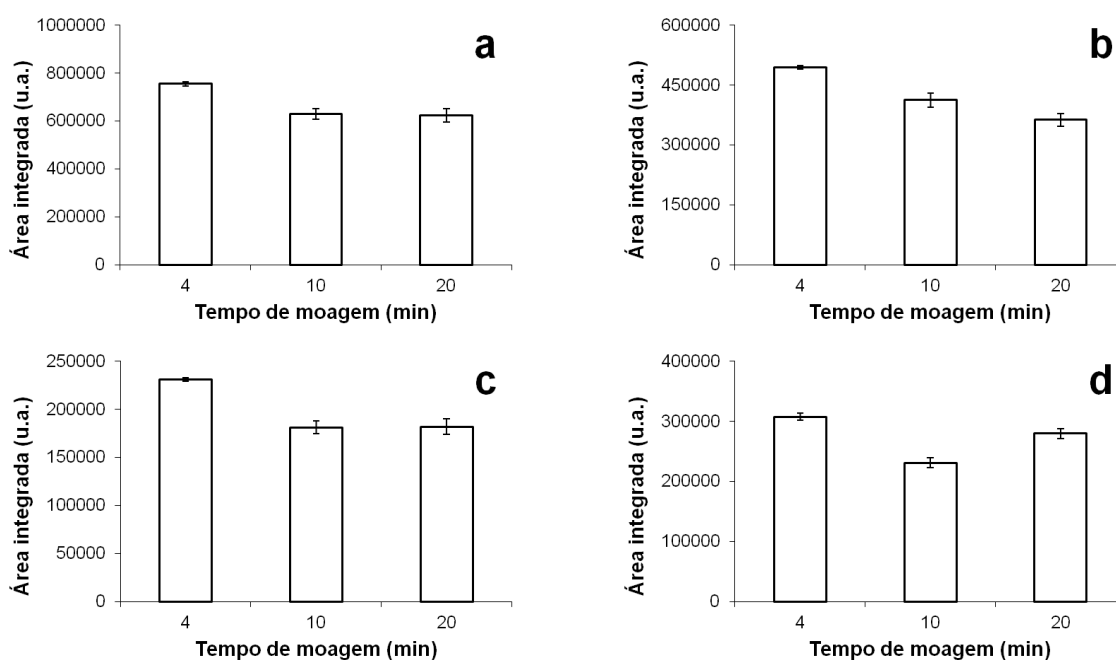
Elementos	Equação $p < 50 \mu\text{m}$	R^2 $p < 50 \mu\text{m}$	Equação $50 < p < 100 \mu\text{m}$	R^2 $50 < p < 100 \mu\text{m}$
Ca	$A = 444290c + 16171$	0,9413	$A = 559311c + 239493$	0,4622
K	$A = 1312988c - 21517$	0,9269	$A = 1423099c + 149723$	0,8134
Mg	$A = 682594c + 316447$	0,9928	$A = 924994c + 283004$	0,9979

A: área integrada, c: concentração, p: tamanho de partícula

Curvas analíticas de calibração construída com materiais de tamanho de partícula menor apresentaram, de uma maneira geral, melhores coeficientes de determinação, indicando maior homogeneidade do material. Por outro lado, maiores sensibilidades das curvas analíticas de calibração foram obtidos para materiais com maiores tamanhos de partícula. Este resultado é oposto aos apresentados por Gomes et al. (2011) e Carvalho et al. (2015) em materiais vegetais. Segundo os autores, quanto menor o tamanho de partícula de materiais vegetais, maior a sensibilidade devido a maior eficiência de decomposição do material no plasma e processos que o analito sofre no plasma interferindo nos sinais de emissão. Uma hipótese para os resultados obtidos na madeira seria um aumento na maior quantidade de material particulado gerado dentro da câmara de ablação quando se trabalha com materiais com tamanho de partículas menores, o que poderia bloquear a radiação proveniente do plasma que atinge o detector e assim gerar menores sinais analíticos. Para testar esta hipótese, um estudo conduzido com pastilhas de

Pinus preparadas com diferentes tempos de moagem e, portanto, diferentes tamanhos de partícula, percebe-se quedas significativas nos sinais analíticos em materiais submetidos a maiores tempos de moagem (10 – 27%), e portanto, menores tamanho e partícula. Os resultados são apresentados na Figura 33.

Figura 33: Área integrada do sinal de emissão em função do tempo de moagem em pastilhas de Pinus analisadas por LIBS: (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na(I)589,593 nm.



Retornando a discussão em relação às curvas analíticas de calibração com diferentes tamanhos de partícula, uma amostra de Pinus com tamanho de partícula menor que 50 μm permitiu a quantificação de Ca e K pelas curvas analíticas de calibração construídas em LIBS. Para Ca, erros relativos de aproximadamente 140% foram obtidos, entretanto, para K os resultados foram de 4 e 17%, empregando a curva analítica de calibração construída com materiais com menor tamanho de partícula e com maior tamanho de partícula, respectivamente. Assim sendo, há certa viabilidade neste tipo de abordagem de calibração, porém, mais estudos ainda se fazem necessário para que esta estratégia de calibração seja empregada com sucesso para os demais analitos.

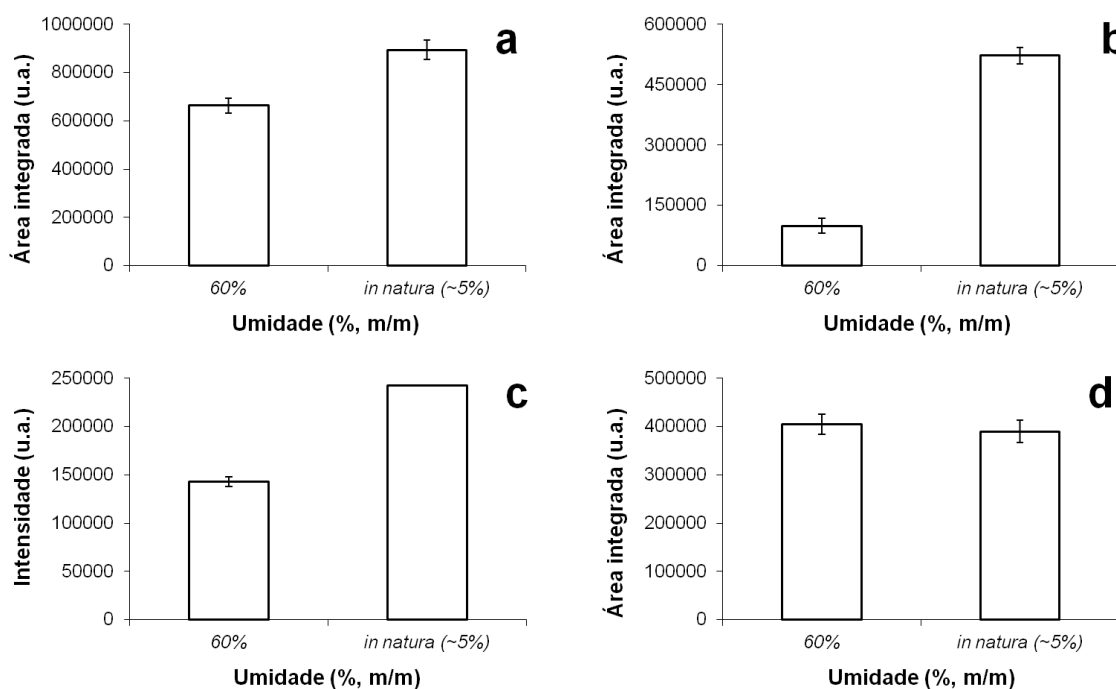
5.1.4. Análise de fragmentos de madeira por LIBS

Considerando a possibilidade de análise *in situ* por LIBS devido a existência de sistemas portáteis, a análise de fragmentos de madeira sem ou com o mínimo preparo é um campo de estudo que merece ser explorado. A umidade do material, irregularidades da superfície que afetam as condições de ablação do material (inclinação), bem como sua homogeneidade são aspectos que podem influenciar os sinais analíticos e a investigação destes aspectos é necessária para o desenvolvimento de métodos confiáveis para uma possível análise de campo.

5.1.4.1. Análise de madeira com diferentes teores de umidades

O teor de umidade na análise de uma amostra por LIBS pode influenciar os resultados, já que parte da energia do plasma é utilizada no processo de vaporização da água presente na amostra, podendo assim, diminuir a temperatura do plasma e conseqüentemente o sinal analítico. A Figura 34 apresenta os resultados para análise de um mesmo fragmento de Pinus em duas condições de umidade: *in natura*, com umidade natural estimada em torno de 5% (m/m); e uma amostra úmida, com teor de aproximadamente 60% (m/m).

Figura 34: Área integrada dos sinais de emissão (nm) de (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na(I)589,593 na análise de um fragmento de Pinus em diferentes teores de umidade.



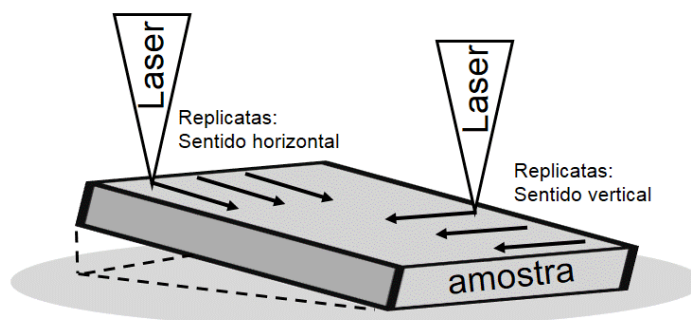
Os resultados apresentam concordância com a teoria, exceto para Na, em que não foi observado diferença significativa entre as duas condições de umidade. Uma hipótese para esta tendência está no fato de Na apresentar uma baixa energia de ionização/excitação, condição esta que um plasma mesmo com temperaturas mais baixas (material úmido) seria capaz de levar boa parte das espécies ao estado excitado. Alguns estudos na literatura apresentam a possibilidade do uso de linhas de emissão de elementos presentes na matriz em concentração constante e homogênea como padrão interno. A razão entre as áreas integradas dos sinais de emissão do analito e do padrão interno podem corrigir desvios dos sinais analíticos provenientes de diferentes condições de ablação, quantidade de massa tomada para análise, interferências físicas na aquisição de sinal, entre outras. O emprego da razão dos sinais de emissão dos analitos pelo sinal de emissão de C como um possível padrão interno embora tenha reduzido as diferenças entre a amostra úmida e a *in natura*, não foi considerado efetivo devido a grande diferença ainda observada entre os valores dos sinais analíticos, exceto para Ca, em que a diferença da amostra teve uma redução de 11 para 4% entre a amostra úmida e a *in natura*. Para os elementos K, Mg e Na, as diferenças entre as amostras permanecem na faixa de

30 a 200%. Assim, recomenda-se um controle rigoroso do teor de umidade das amostras para se evitar desvios nas análises de fragmentos de madeira por LIBS.

5.1.4.2. Análise em amostra de madeira com superfície inclinada e avaliação do sistema de correção de focalização do laser do LIBS

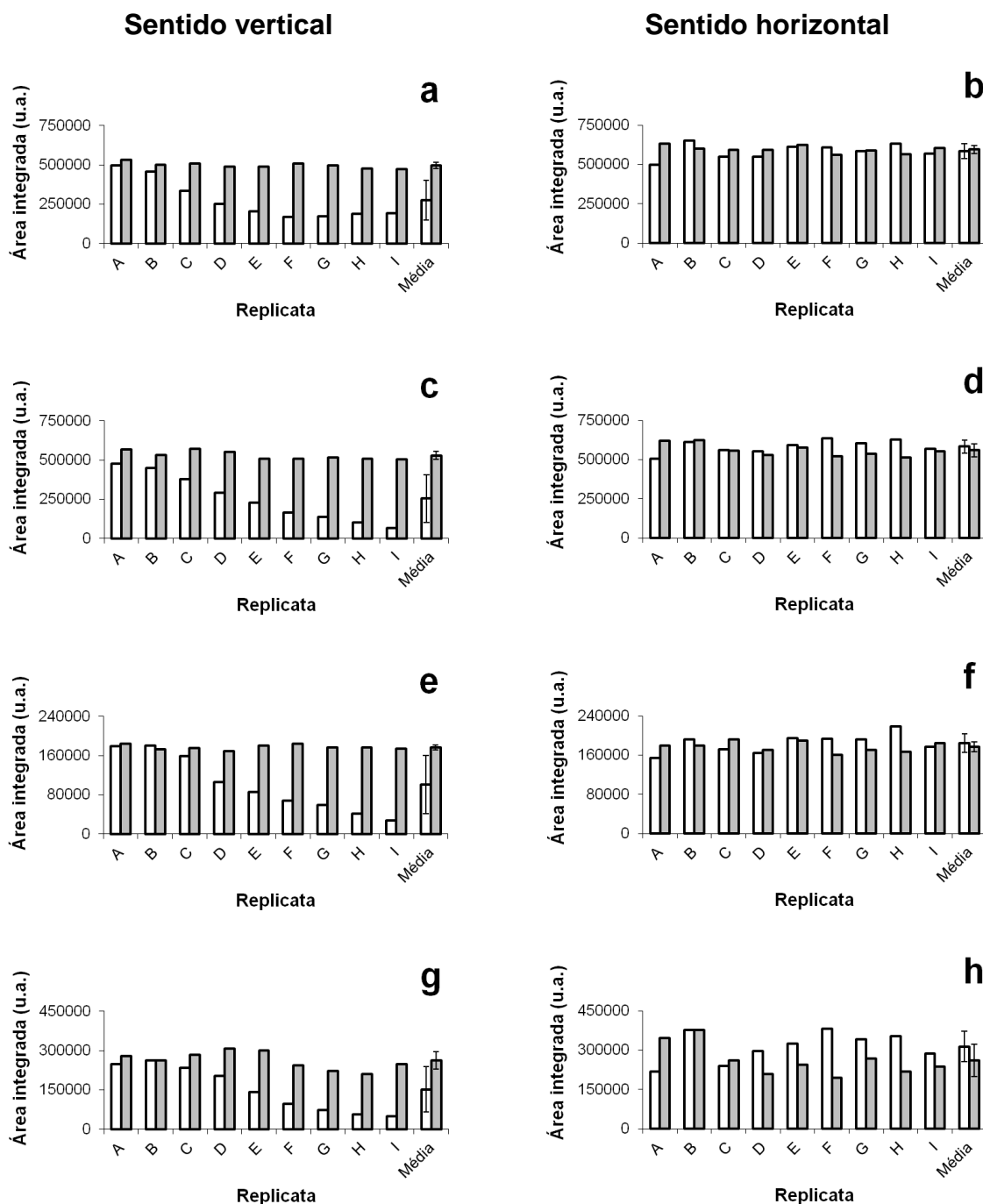
Ashrafkhani et al. (2015) analisaram amostras de alumínio e unhas por LIBS empregando sistemas com e sem ajuste de focalização do laser previamente a análise, e como conclusão, perceberam que o desvio padrão das medidas foi reduzido quando aplicado a correção da focalização dos pulsos de laser sobre a amostra. Fragmentos de madeira não submetidos a etapas de preparo de amostra podem apresentar superfícies irregulares ou inclinadas, o que pode causar imprecisão entre as medidas, já que a distância entre a amostra e a lente convergente se altera com as imperfeições da superfície do material, alterando assim a fluência durante a análise. O sistema LIBS J200 tandem possui um sistema que permite a correção da focalização do laser no início de cada medida analítica. O sistema de correção emprega um laser auxiliar focalizado sobre a superfície da amostra que ajusta a distância lente-amostra previamente a análise, minimizando consequentemente as diferenças da fluência entre as replicatas. Para avaliação da importância desse sistema de correção de focalização do laser, com as condições instrumentais previamente otimizadas, fragmentos de madeira planos e visualmente homogêneos foram posicionados a uma inclinação de aproximadamente 2° em relação a superfície da câmara de ablação. Os percursos de análise foram realizados em dois sentidos em relação ao analista como apresentado na Figura 35: verticalmente (percursos paralelos ao eixo de inclinação da amostra), situação em que cada medida analítica está a uma distância diferente da lente convergente; e horizontalmente (percursos perpendiculares ao eixo de inclinação da amostra), condição experimental em que todas as medidas analíticas estão a uma mesma distância da lente convergente, entretanto, esta distância se altera com o decorrer da análise, visto que a correção da focalização do laser somente ocorre no início da medida analítica.

Figura 35: Esquema indicando a orientação vertical e horizontal na análise de uma amostra de madeira com superfície inclinada.



Os resultados da análise para as duas orientações de percurso, com e sem o emprego do sistema de correção de ajuste de foco do laser, são apresentados na Figura 36

Figura 36: Área integrada dos sinais de emissão (nm) de (a, b) Ca(I)422,673; (c, d) K(I)769,896; (e, f) Mg(I)285,213 e (g, h) Na(I)589,593 em diferentes replicatas da análise (A-I) de um fragmento de madeira posicionado com uma inclinação de 2° em relação a superfície da câmara de ablação. Orientação do percurso de análise: vertical em a, c, e e g; horizontal em b, d, f e h, (□) sem e (■) com o emprego do sistema de ajuste de foco do laser.

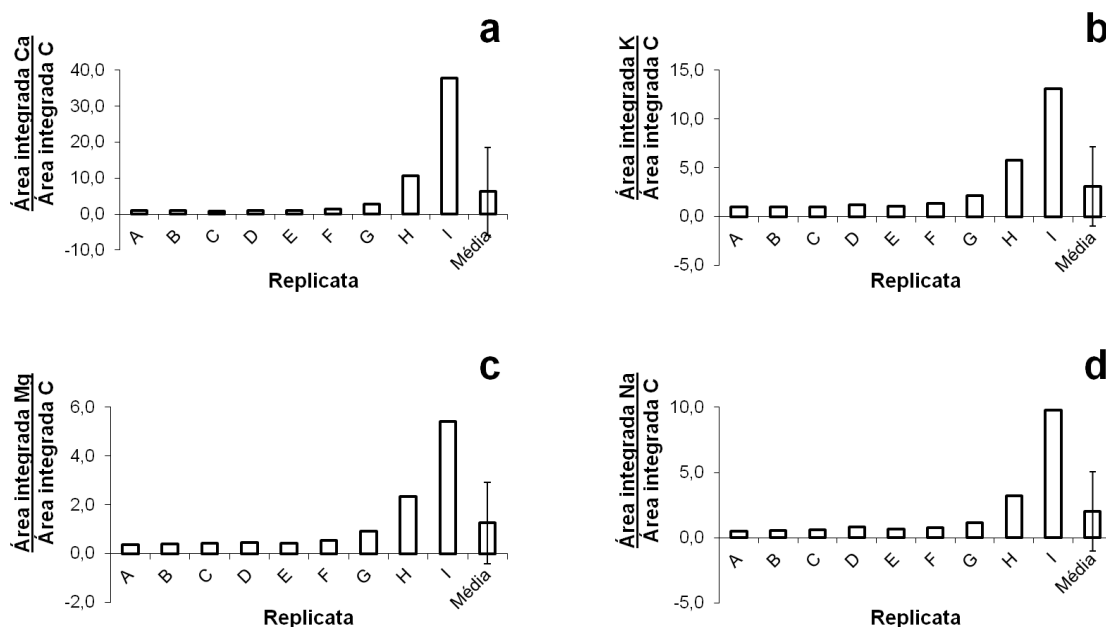


Quando se realiza a análise no sentido vertical, percebe-se que o uso do sistema de correção de ajuste de focalização do laser é essencial para obtenção de valores de área integrada mais próximos entre as replicatas. Essa tendência ocorre

devido ao fato de cada replicata estar na mesma condição de fluência, já que o sistema de correção de focalização do laser ajusta a distância lente-amostra previamente a análise de cada replicata. Já nas análises de fragmentos de madeira inclinado empregando percursos horizontais, os resultados com e sem a utilização do sistema de correção de focalização do laser são praticamente os mesmos. A explicação está no fato de que a correção de foco do laser somente é realizada no início da análise de cada replicata. Como no sentido horizontal de análise o início de cada replicata possui a mesma distância lente-amostra, a correção de focalização do laser entre replicatas é desnecessária. Entretanto, deve-se considerar que a distância lente-amostra é alterada no decorrer da análise de uma replicata decorrente da inclinação da superfície em análises realizadas no sentido horizontal. De qualquer forma, os valores médios de área integrada para todos os analitos não possuem diferenças significativas quando realizada a análise com o uso do sistema de correção de foco do laser. Assim sendo, a avaliação prévia da inclinação da superfície do material pelo analista é de extrema importância para a condução da orientação da análise e obtenção de resultados mais precisos e exatos. Considerando os resultados obtidos, as posteriores análises de amostras de madeira com superfície inclinada foram realizadas no sentido horizontal com o emprego do sistema de ajuste automático de foco do laser.

Para análises no sentido vertical, além do que foi discutido anteriormente, empregou-se a razão dos valores de área integrada dos analitos pelo valor de área integrada de C(I)193,091 nm, na tentativa da utilização deste sinal de emissão como padrão interno, porém bons resultados foram obtidos somente para as 6 primeiras replicatas (A-F). As replicatas G, H e I apresentaram resultados bastante discrepantes decorrentes provavelmente das condições extremas da inclinação da amostra, alterando fortemente a fluência da análise, aumentando a imprecisão dos resultados. Os resultados da análise com o emprego do sinal de emissão de C como padrão interno pode ser observado na Figura 37.

Figura 37: Razão da área integrada dos sinais de emissão (nm) de (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na(I)589,593 pela área integrada de C(I)193,091 empregado como padrão interno em diferentes replicatas da análise de um fragmento de madeira posicionado com uma inclinação de 2° em relação a superfície da câmara de ablação. Orientação vertical do percurso de análise sem o emprego do sistema de ajuste de foco do laser.

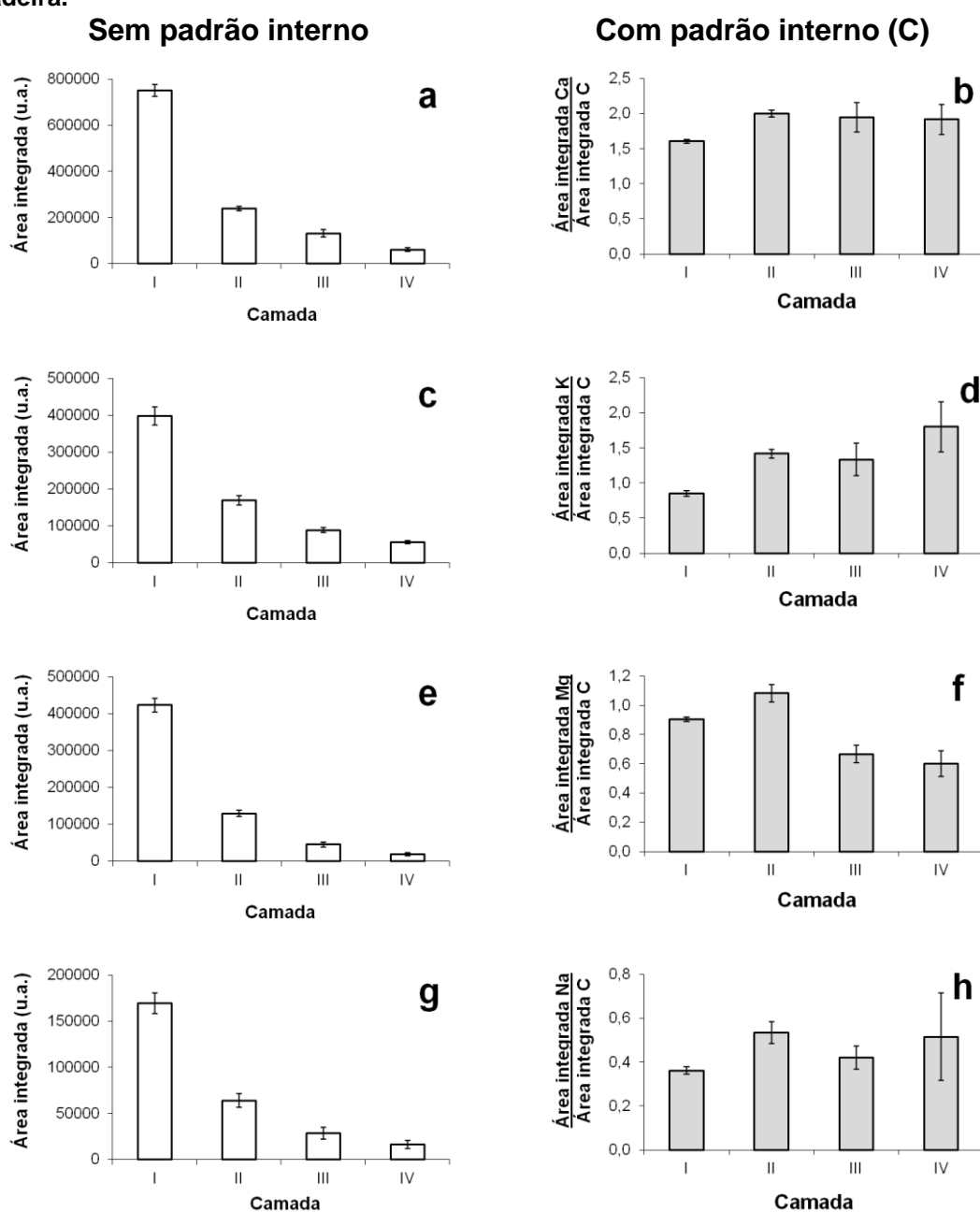


5.1.4.3. Análise em diferentes profundidades da madeira

Na análise direta de uma amostra, algumas vezes não se deseja saber somente a distribuição ou concentração elementar na superfície do material, mas também em camadas mais internas. LIBS é uma técnica que pode realizar este tipo de mapeamento de maneira simples, sendo apenas necessário a incidência de vários pulsos de laser em uma mesma região e coletando a radiação proveniente do plasma. Entretanto, algumas precauções são necessárias para obtenção de bons resultados analíticos. A profundidade da região analisada é um parâmetro que pode alterar o sinal analítico, principalmente pela alteração do volume de observação do plasma pelo espectrômetro, ou seja, a quantidade de radiação proveniente do plasma formado na superfície da amostra e que atinge a entrada do espectrômetro. A quantidade de radiação que atinge a entrada do espectrômetro proveniente de um plasma confinado em uma região mais profunda da amostra pode ser diferente devido a impedimento físico provocado pela cratera da amostra. Além disso, a alteração da profundidade da região analisada pode afetar a fluência, visto que a focalização do laser sobre a superfície da amostra é alterada em diferentes

profundidades. Utilizando um fragmento de madeira, a análise foi conduzida em uma mesma região em quatro diferentes camadas de profundidade (I - IV). É importante salientar que neste tipo de análise, o sistema de correção de focalização do laser presente no sistema LIBS J200 tandem não pode ser utilizado devido a limitações técnicas do equipamento. Os resultados são apresentados na Figura 38.

Figura 38: Área integrada dos sinais de emissão (nm) de (a) Ca(I)422,673; (c) K(I)769,896; (e) Mg(I)285,213 e (g) Na(I)589,593 e razão dos valores de área integrada de (b) Ca(I)422,673; (d) K(I)769,896; (f) Mg(I)285,213 e (h) Na(I)589,593 pela área integrada de C(I)193,091, empregado como padrão interno na análise de 4 camadas com diferentes profundidades de um fragmento de madeira.



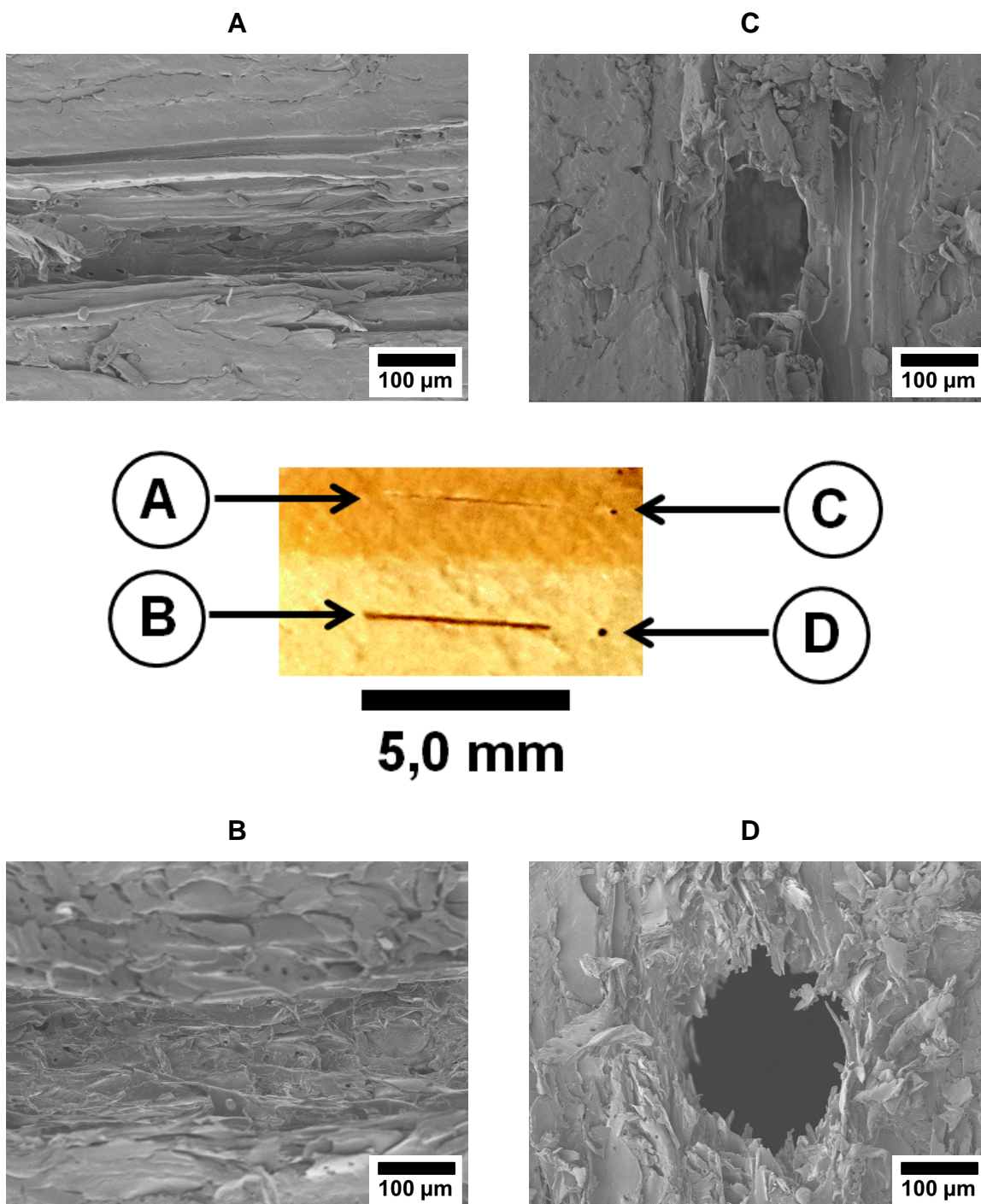
Percebe-se uma nítida queda do sinal para todos os elementos à medida em que a análise foi conduzida em camadas mais profundas. Estas diferenças estão associadas a diferentes condições de ablação a que estão submetidas a análise de diferentes camadas do material. Entretanto, a razão das áreas integradas de Ca, K, Na e Mg pela área integrada de C empregado como padrão interno minimizou as diferenças entre os sinais provenientes da análise em diferentes camadas. Assim sendo, para análises desta natureza o emprego do padrão interno é recomendável.

5.1.4.4. *Avaliação da homogeneidade da madeira Pinus em LIBS*

Muitas vezes é visualmente perceptível a falta de homogeneidade de um fragmento de madeira, fator este que deve ser considerado quando realizada a análise direta do material. Além da distribuição elementar heterogênea, diferentes aspectos físicos e químicos da amostra podem alterar a interação entre laser-amostra e conseqüentemente a precisão e exatidão dos resultados analíticos.

Em um estudo preliminar, a Figura 39 apresenta um fragmento da madeira Pinus com duas regiões distintas analisadas por LIBS empregando os padrões de análise ponto-a-ponto (C e D) e percurso (A e B), além dos aspectos microscópicos das regiões analisadas.

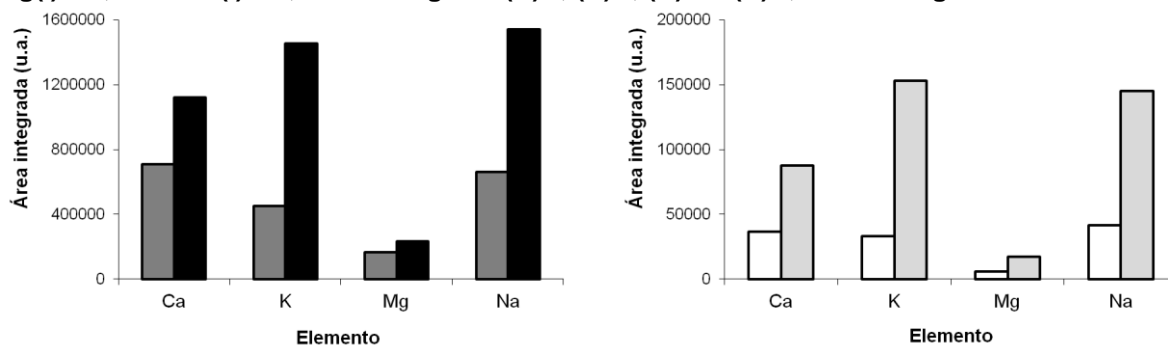
Figura 39: Imagens obtidas por MEV de 4 regiões (A, B, C e D) de um fragmento de madeira (Pinus) analisado por LIBS.



As regiões A e C do fragmento de madeira analisado apresentaram aspectos distintos das regiões B e D. Aparentemente o perfil das regiões A e C são menores e mais bem definidos. Aspectos físicos como a dureza do material podem ter influenciado nesse perfil, alterando assim a ablação do material. Esse fator somado a uma possível diferença de concentração dos elementos nas regiões analisadas

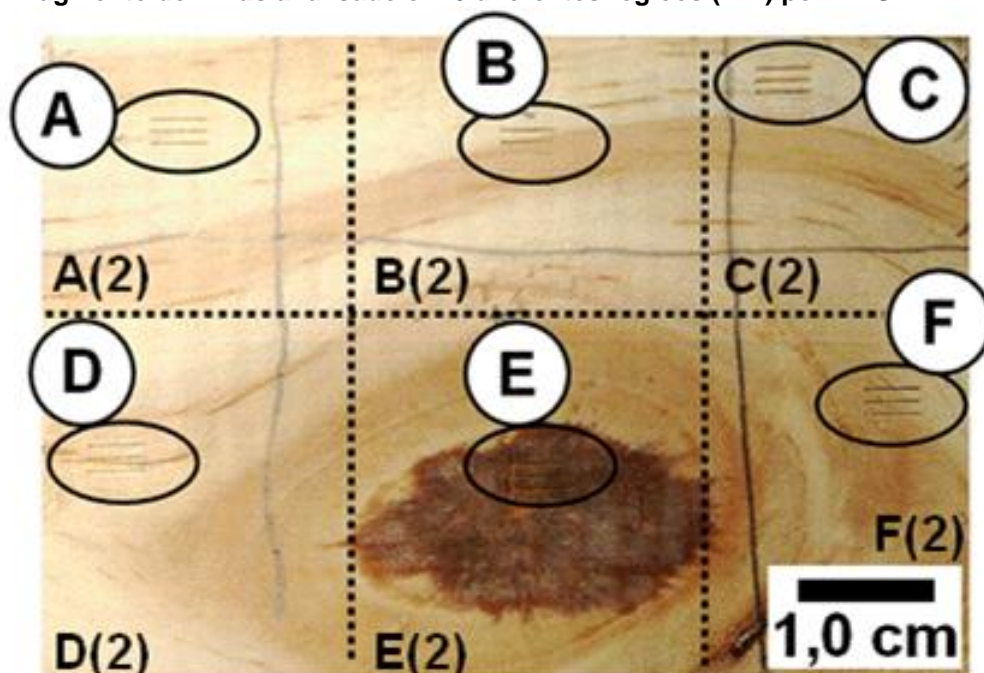
podem ter ocasionado diferenças nos valores de áreas integradas dos elementos apresentados na Figura 40. Nota-se que as regiões analisadas A e C, localizadas na parte mais escura e dura da amostra apresentaram valores de área integrada menores do que as regiões B e D.

Figura 40: Área integrada dos sinais de emissão (nm) de Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593 das regiões (■)A, (■)B, (□)C e (■)D, de um fragmento de Pinus.



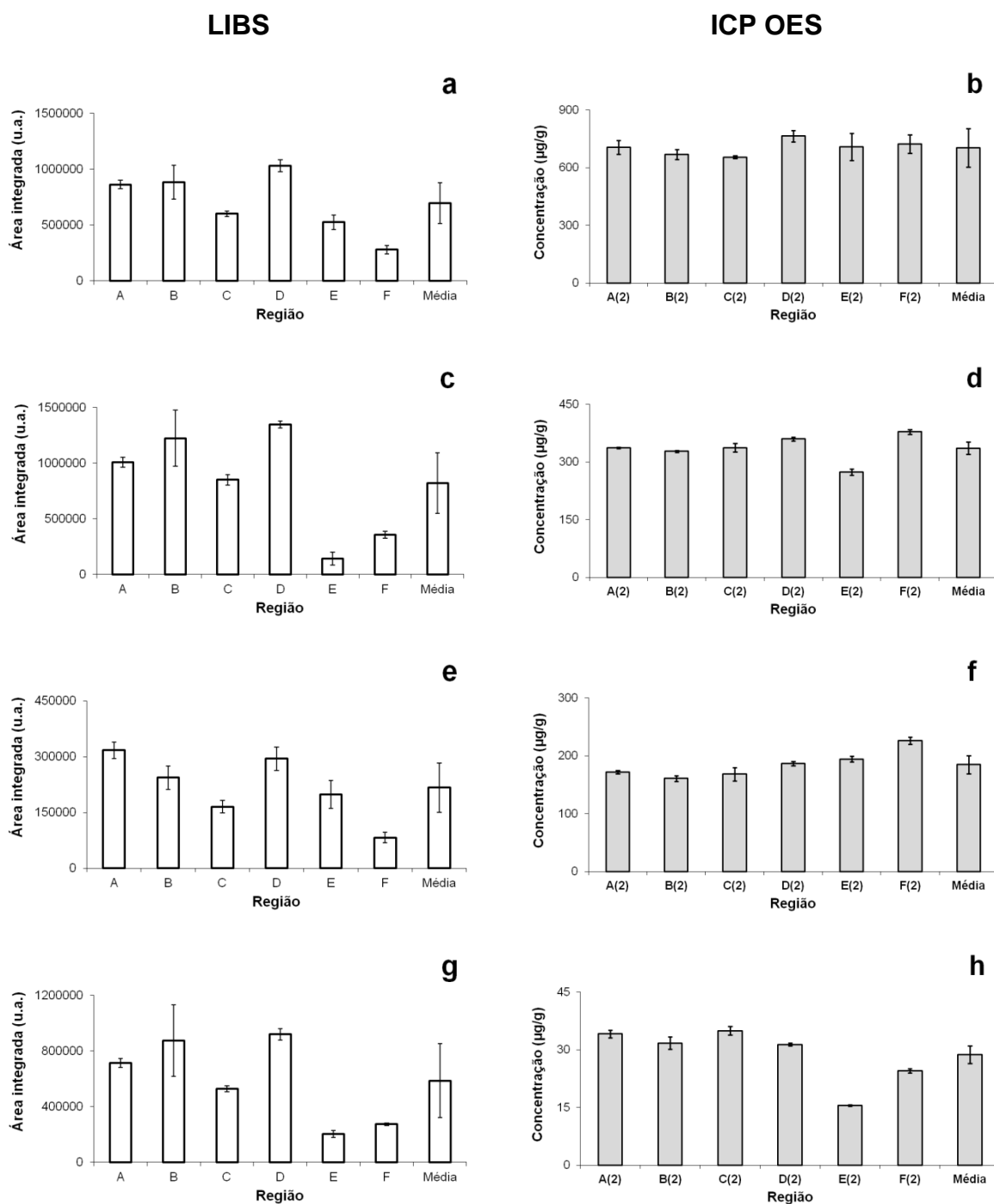
Verificado a influência da região analisada nos sinais analíticos obtidos por LIBS, a ampliação do estudo foi conduzida com um maior fragmento de Pinus, com regiões visualmente mais distintas. A Figura 41 apresenta um fragmento de madeira analisado em 6 regiões distintas por LIBS (A - F).

Figura 41: Fragmento de Pinus analisado em 6 diferentes regiões (A-F) por LIBS.



Após a análise das regiões A - F por LIBS, o fragmento de madeira foi separado em 6 pedaços (A(2) – F(2)) nas regiões delimitadas (linhas pontilhadas) na Figura 41 com o auxílio de uma serra elétrica e moídas criogenicamente. As seis frações do material moído foram submetidos a uma decomposição ácida assistida por micro-ondas e analisadas por ICP OES para obtenção concentração elementar no material para uma posterior correlação com os resultados obtidos por LIBS. Os resultados da análise do fragmento de madeira por LIBS, bem como a concentração elementar das regiões analisadas obtidas por ICP OES são apresentadas na Figura 42.

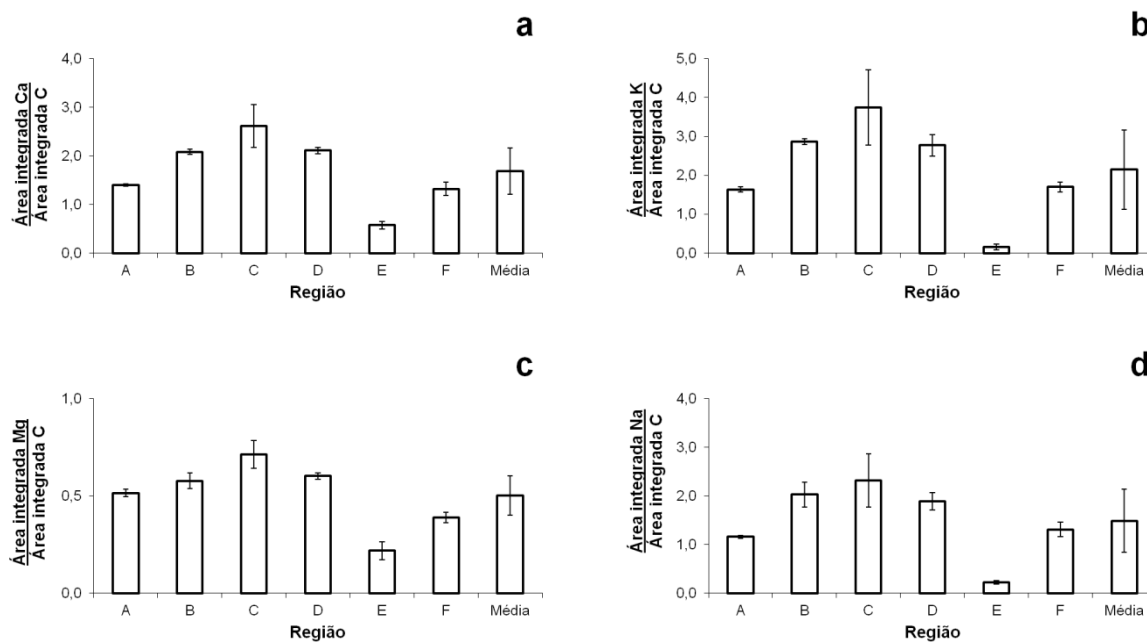
Figura 42: (□) Área integrada dos sinais de emissão (nm) de (a) Ca(I)422,673; (c) K(I)769,896; (e) Mg(I)285,213 e (g) Na(I)589,593 em 6 regiões de um fragmento de madeira analisado por LIBS e (■) concentração de (b) Ca, (d) K, (f) Mg e (h) Na das 6 regiões analisadas obtidas por ICP OES após decomposição ácida assistida por micro-ondas.



Na análise por LIBS (A – F), o fragmento de madeira apresenta variações significativas entre valores de área integrada das 6 regiões, chegando essa diferença em alguns casos à até 90%. Esta variação pode estar relacionada

principalmente a dois fatores: a possível diferença de concentração dos elementos nas regiões analisadas e diferença na ablação do material decorrente de diferentes propriedades físicas do material. Os resultados da análise das regiões A(2) – F(2) do fragmento de madeira por ICP OES não possuem a mesma tendência que os resultados obtidos por LIBS. Nos resultados obtidos por ICP OES, percebe-se na maioria dos casos pequenas variações na concentração dos elementos entre as regiões. Esta tendência pode estar relacionada ao fato de que a quantidade de material que foi moída e amostrada para análise por ICP OES é maior, sendo mais representativa e homogênea do que a massa de amostra tomada para análise por LIBS. A análise por LIBS foi realizada com poucos microgramas do material e em uma camada mais superficial, fornecendo assim os valores de área integrada relacionada à concentração elementar em uma região muito específica, enquanto que a análise por ICP OES, na qual foi empregada uma massa muito maior de material (aproximadamente 0,2 g), promoveu uma maior homogeneidade dos resultados. Os resultados obtidos no fragmento de madeira por LIBS foram também submetidos ao tratamento utilizando a linha de emissão C como padrão interno para possíveis correções nas condições de ablação do material, entretanto, como apresentado na Figura 43, ainda há grandes diferenças nos resultados entre as regiões analisadas. A explicação pode estar no fato de que o padrão interno pode minimizar desvios entre medidas principalmente corrigindo fenômenos físicos relacionados a diferentes condições de ablação, mas caso exista diferenças na concentração elementar entre as regiões analisadas, o padrão interno não é eficaz. Dessa forma, acredita-se que além de diferenças físicas entre as regiões do fragmento de madeira, há possivelmente também diferenças na composição elementar.

Figura 43: Razão entre áreas integradas dos sinais de emissão (nm) de (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na(I)589,593 pela área integrada de C(I)193,091, empregado como padrão interno na análise de 6 regiões de um fragmento de Pinus.



Com os resultados obtidos na análise do fragmento de madeira apresentado na Figura 42, recomenda-se ao analista cautela ao definir a melhor estratégia ao realizar análise direta de amostras de madeira heterogêneas por LIBS. A definição da região em que é realizada a análise e o número de replicatas podem ser fatores cruciais para se atingir uma maior precisão e exatidão dos resultados. Como exemplo, na análise de um novo fragmento da madeira Pinus considerado visualmente homogêneo pelo analista (Figura 44), os resultados apresentados na Figura 45 indicam uma amostra mais homogênea quando comparado à amostra apresentada na Figura 41. Percebe-se nessa situação que os valores de área integrada entre as regiões possuem uma pequena variação quando comparado aos resultados obtidos para amostras visualmente heterogêneas.

Figura 44: Fragmento de Pinus visualmente homogêneo analisado em 6 diferentes regiões por LIBS.

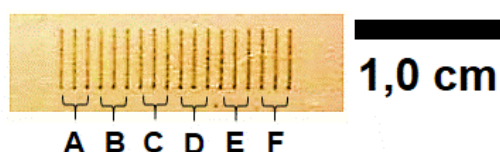
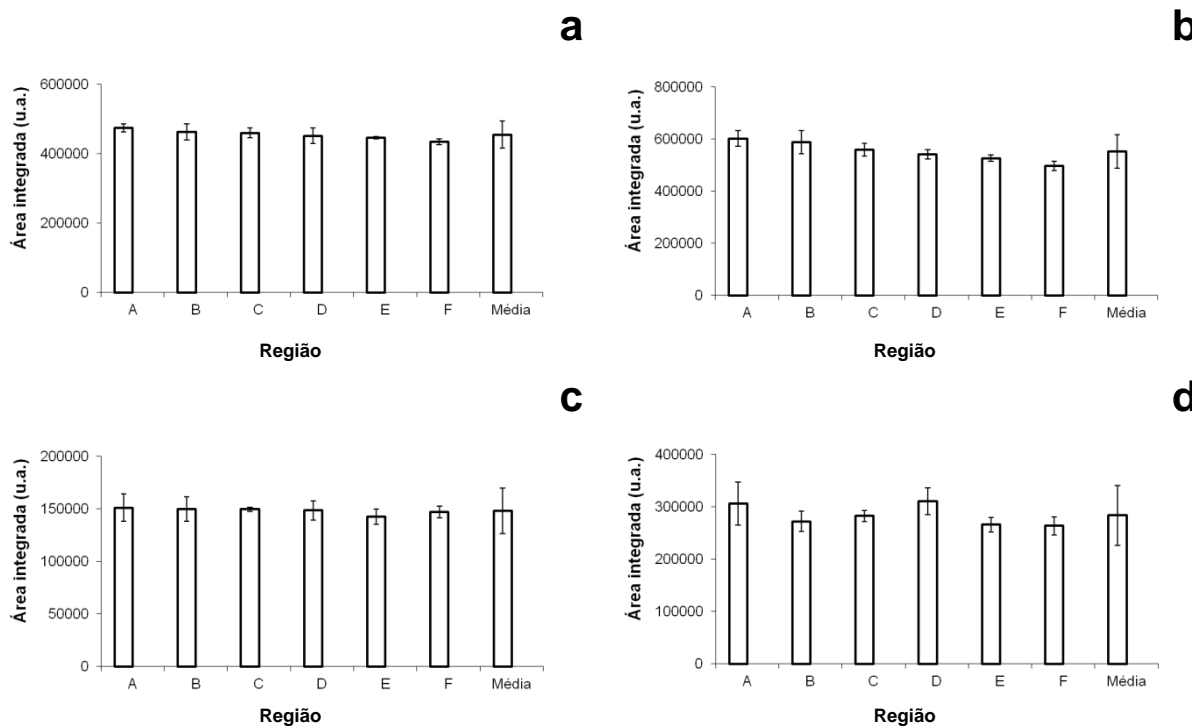
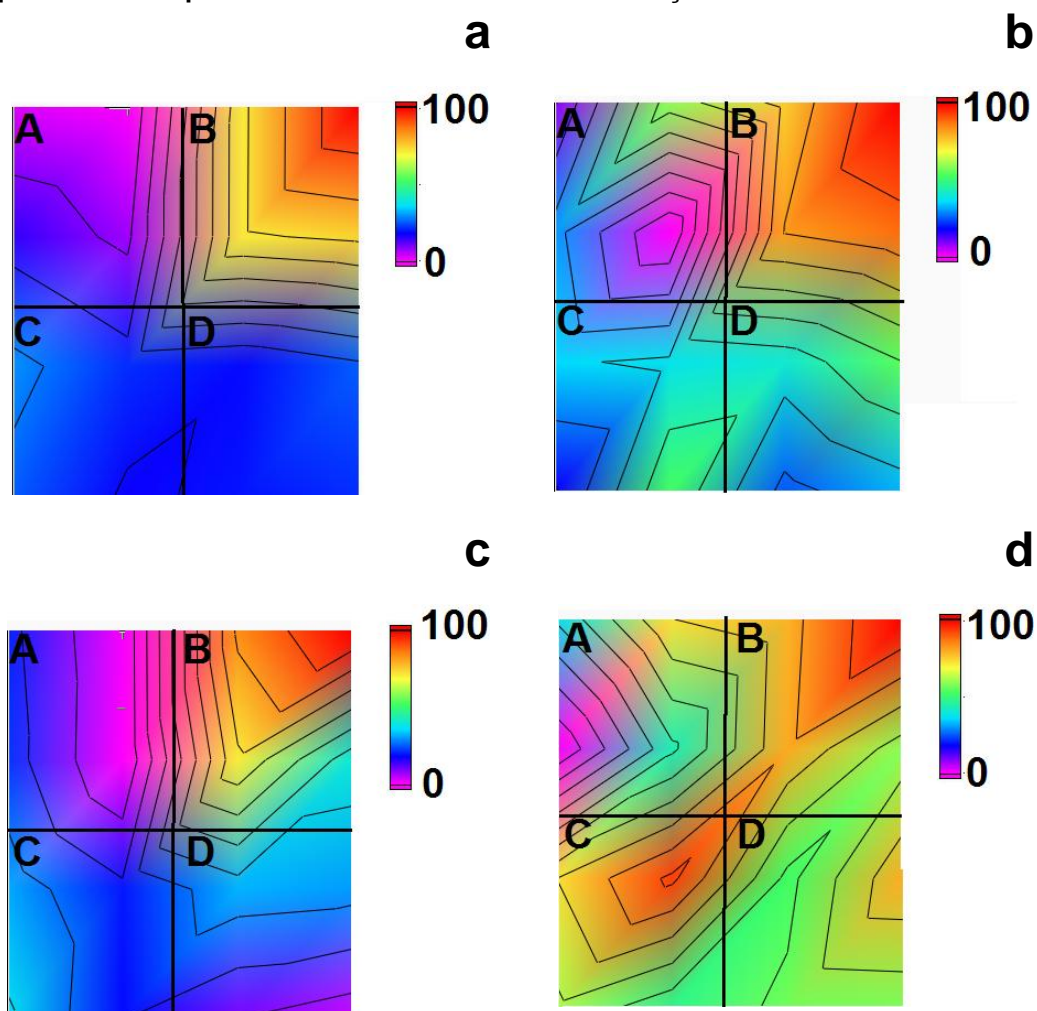


Figura 45: Área integrada dos sinais de emissão (nm) de (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na(I)589,593 em 6 regiões analisadas de um fragmento Pinus considerado visualmente homogêneo.



Em um último estudo, utilizando 4 fragmentos de madeira submetidos a diferentes preparos de amostra, construiu-se um mapa de calor para investigação da homogeneidade de madeira na superfície do material (fragmento B da Figura 46), e investigação de uma estratégia de calibração empregando fragmentos de madeira (A – D da Figura 46) para se verificar a viabilidade deste tipo de abordagem. Os resultados da Figura 46 mostram a homogeneidade dos materiais calibrantes preparados após etapas de extração ou adição elementar.

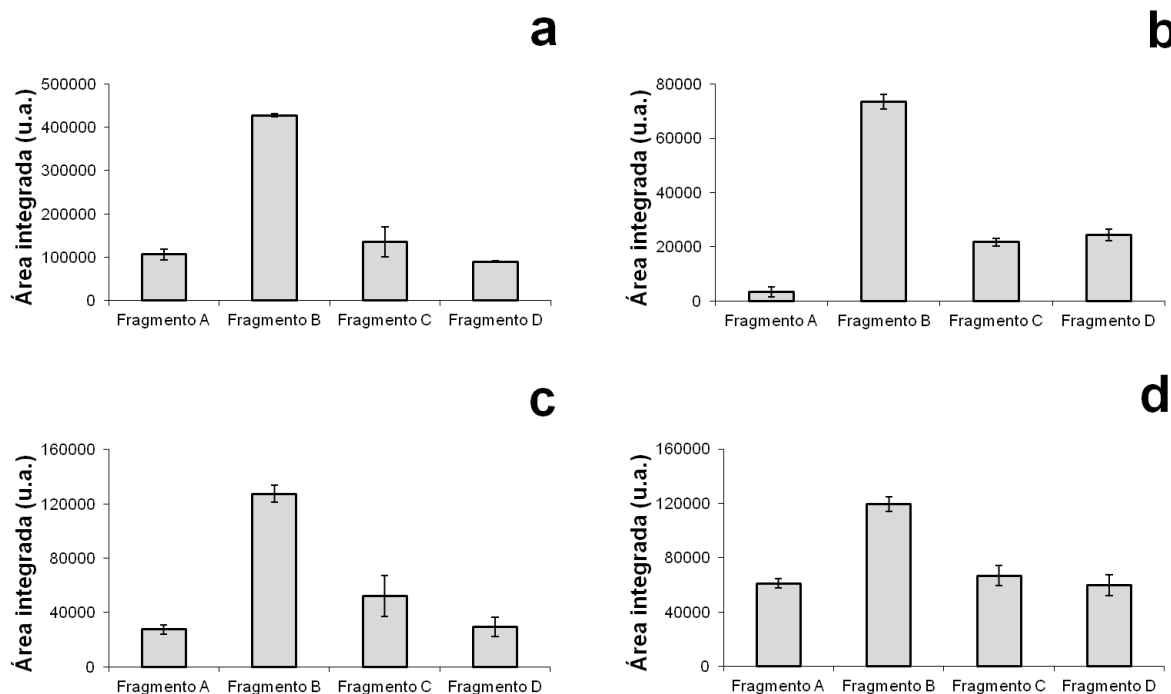
Figura 46: Mapa de calor obtido após análise dos materiais calibrantes por LIBS empregando fragmentos de Pinus (A: fragmento submetido à extração elementar, B: fragmento *in natura*, C e D: fragmentos submetidos a etapas de adição elementar). (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na(I)589,593 (nm). Valores próximos a 100 indicam elevada concentração elementar enquanto valores próximos a 0 indicam baixa concentração elementar.



No mapa de calor apresentado na Figura 46, regiões avermelhadas-alaranjadas (valores próximos de 100) indicam uma maior concentração do elemento, enquanto regiões com tons azulados e arroxeados (valores próximos de 0) indicam menores concentrações elementares. Analisando as imagens, percebe-se que o fragmento A, o qual foi submetido à etapa de extração dos analitos, apresentam colorações que indicam a efetiva extração elementar, sendo assim concordante com o procedimento adotado. Por outro lado, os fragmentos C e D, os quais foram submetidos a etapas de agitação em solução aquosa contendo os elementos em concentrações crescentes, há uma tendência de menor concentração elementar quando comparado ao fragmento B, o qual foi submetido a uma simples

agitação com água deionizada (branco analítico). Esta tendência não era esperada, o que significa que pode ter havido uma extração elementar dos elementos nos fragmentos C e D ao contrário de uma desejável adição elementar para uma possível construção de uma curva analítica de calibração. Uma possível explicação ao fato é de que as soluções aquosas preparadas estavam em meio de ácido nítrico 0,5% (v/v) que possivelmente impediu a absorção/adsorção dos elementos pelo material e ainda possa ter promovido a extração elementar. Soluções aquosas preparadas em menor concentração ácida ou etapas de funcionalização do material poderiam auxiliar na obtenção de resultados satisfatórios nesta tentativa de calibração empregando fragmentos de madeira. A Figura 47 que apresentam os valores de área integrada dos sinais obtidos por LIBS corroboram com as hipóteses anteriormente discutidas, indicando maiores valores de área integrada dos analitos no fragmento B e menores valores nos fragmentos A, C e D.

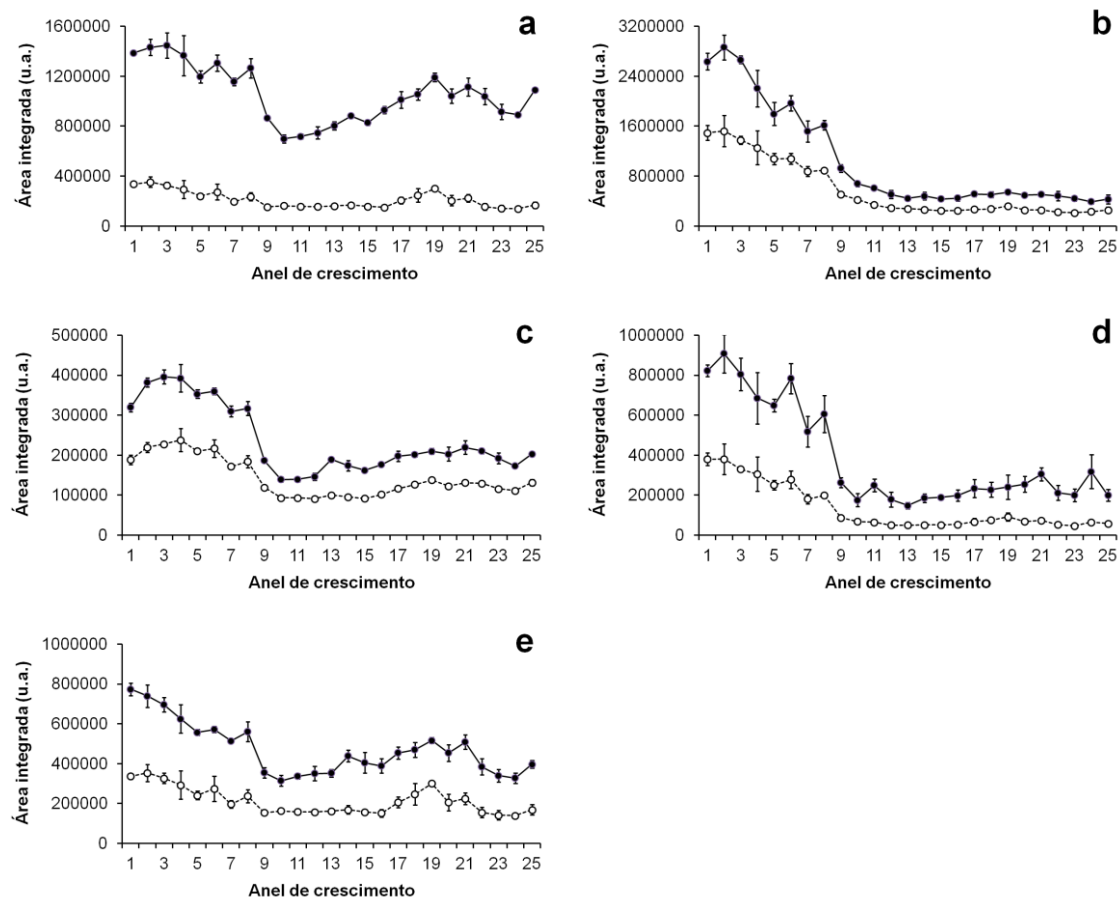
Figura 47: Área integrada obtida após análise dos materiais calibrantes por LIBS empregando fragmentos de Pinus (A-D) após etapas de adição ou extração elementar (nm): (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)769,896; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na(I)589,593. A: fragmento submetido à extração elementar, B: fragmento *in natura*, C e D: fragmentos submetidos a etapas de adição elementar.



5.1.4.5. *Distribuição elementar em anéis de crescimento*

Árvores podem ser utilizadas no monitoramento de mudanças ambientais. A determinação elementar em anéis de crescimento de árvores pode trazer informações importantes sobre tais mudanças visto a capacidade de introdução e incorporação dos elementos nos tecidos vegetais (CUI et al., 2013). Cada anel de crescimento da amostra de *Cedrela fissilis* empregada neste estudo foi analisado duas vezes na mesma região para obtenção de um perfil de distribuição elementar em duas camadas. Em geral, pelos resultados apresentados na Figura 48, anéis de crescimento mais externos, mais próximos da casca, apresentaram os maiores valores de área integrada. Uma possível explicação para esta tendência pode estar no fato da amostra analisada conter uma parte viva mais externa (alburno) responsável pelo transporte dos elementos a partir das raízes para o restante da planta, e uma parte interna considerada como tecido vegetal morto (cerne) que possui como principal função auxiliar na estruturação do vegetal. Dessa forma, poderia haver diferenças nos aspectos físicos do material ou uma diferença na concentração dos elementos no alburno comparado ao cerne, conseqüentemente, promovendo as diferenças nos valores de área integrada obtidos por LIBS nos anéis de crescimento.

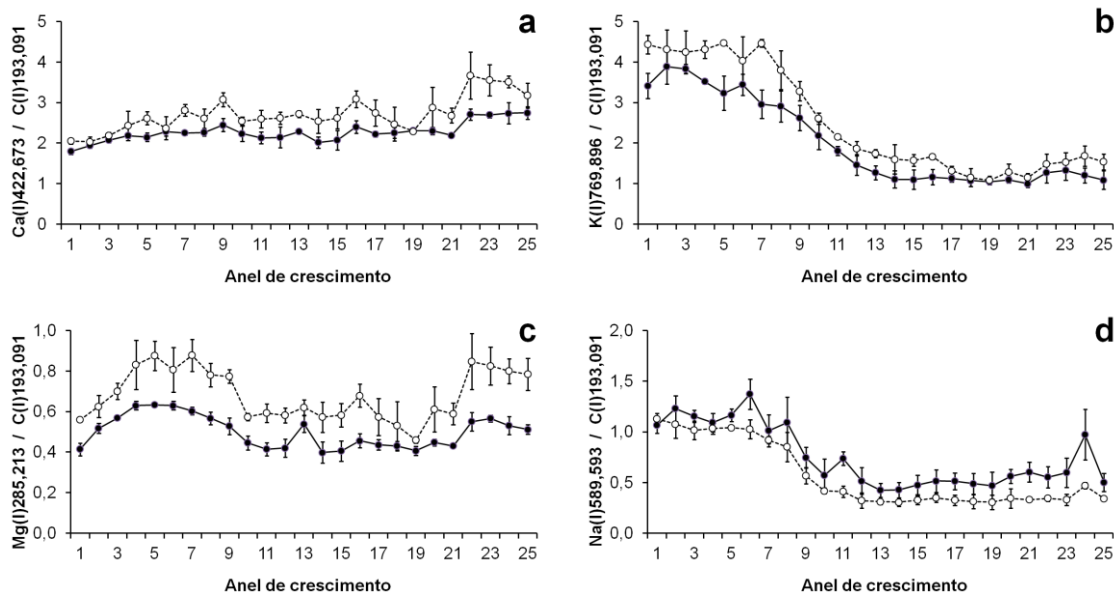
Figura 48: Área integrada de (nm) (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)766,490; (c) Mg(I)285,213; (d) Na(I)589,593 e (e) C(I)193,091 na análise da (●) primeira e (○) segunda camada dos anéis de crescimento da amostra de *Cedrela fissilis* por LIBS .



Na Figura 48 há uma nítida tendência dos valores de área integrada na análise da segunda camada ser menor comparado aos valores obtidos na primeira camada, tendência esta discutida anteriormente no item 5.1.4.3.. Mudanças nas condições de ablação e um menor volume de plasma observado pelo espectrômetro podem ser possíveis explicações para esta tendência. Comumente é empregado o uso de um padrão interno para corrigir as condições de ablação durante a análise.

A razão entre o sinal analítico de um elemento pelo sinal de emissão de carbono frequentemente é empregado na análise materiais orgânicos, visto que o carbono é um elemento majoritário na matriz. A Figura 49 apresenta a distribuição elementar nos anéis de crescimento da amostra para as duas camadas analisadas empregando o uso do sinal de emissão de C(I)193,091 nm como padrão interno.

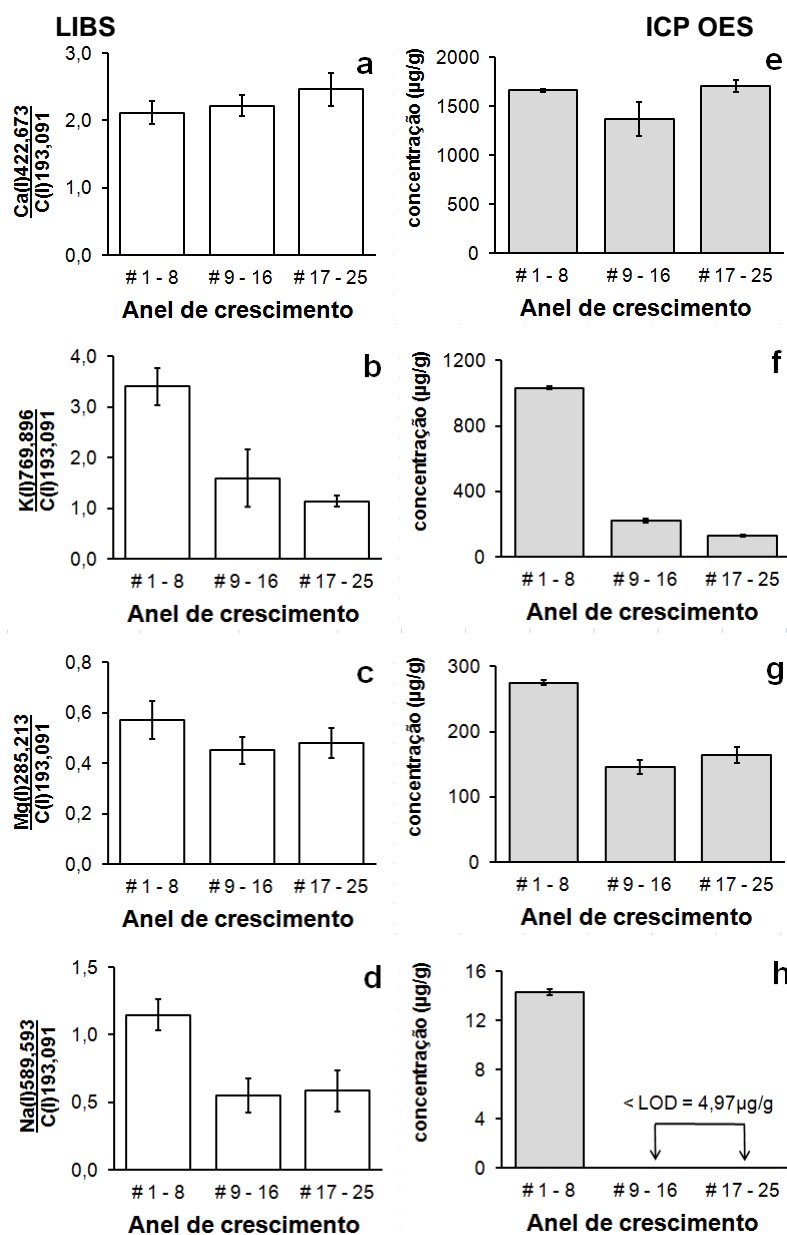
Figura 49: Razão entre áreas integradas de (nm) (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)766,49; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na(I)589,593 pelo padrão interno (C(I)193,091) na análise da (●) primeira e (○) segunda camada dos anéis de crescimento da amostra de *Cedrela fissilis* por LIBS.



Quando o sinal de emissão de carbono foi utilizado como padrão interno, nenhuma diferença significativa foi observada no perfil de distribuição elemental de K e Na, entretanto, Ca e Mg apresentaram um perfil mais homogêneo ao longo da amostra. Possivelmente Na e K são elementos que possuem maior mobilidade ao longo do tronco e por isso o sinal analítico é maior nos anéis de crescimento mais externo. No caso do Ca e Mg, a tendência dos sinais analíticos são similares ao longo dos anéis de crescimento e isso se deve ao fato desses elementos terem características estruturais, ou seja, fazem parte da estrutura da planta. Além disso, o uso do padrão interno minimizou a diferença dos resultados obtidos na análise da primeira e segunda camada para todos os elementos, sugerindo assim que o uso do sinal de emissão de carbono como padrão interno minimizou as diferenças nas diferentes condições de ablação presentes na análise das diferentes camadas da amostra.

Posteriormente, os 25 anéis de crescimento analisados por LIBS foram submetidos à análise por ICP OES após decomposição ácida assistida por micro-ondas. Os resultados das áreas integradas dos anéis de crescimento obtidos por LIBS bem como as concentrações obtidas por ICP OES dos fragmentos de madeira são apresentados na Figura 50.

Figura 50: Razão entre áreas integradas de (nm) (a) Ca(I)422,673; (b) K(I)766,49; (c) Mg(I)285,213 e (d) Na(I)589,593 pelo padrão interno (C(I)193,091) obtidas por LIBS e concentrações de (e) Ca, (f) K, (g) Mg e (h) Na obtidas por ICP OES na análise dos 3 fragmentos da amostra de *Cedrela fissilis*.

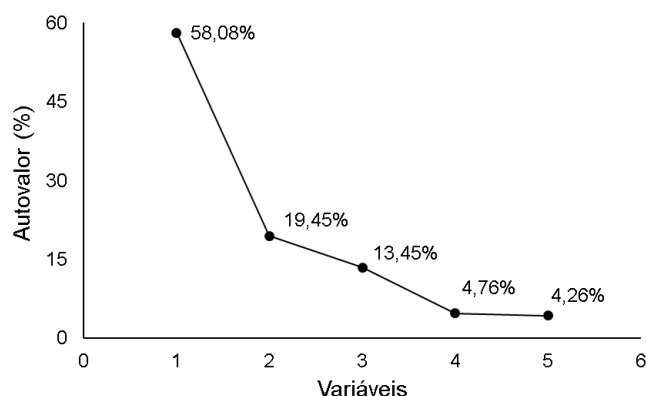


Os resultados obtidos por LIBS e ICP OES apresentam uma razoável concordância para Ca, K, Mg e Na. Assim como na análise por LIBS, em que os maiores valores de área integrada foram encontrados nos fragmentos mais externos da amostra, as maiores concentrações de K, Mg e Na obtido por ICP OES foram encontrados nos fragmentos mais externo da amostra, exceto Ca que apresenta uma distribuição mais uniforme nos 3 fragmentos.

5.1.4.6. *Discriminação e classificação de amostras de madeira*

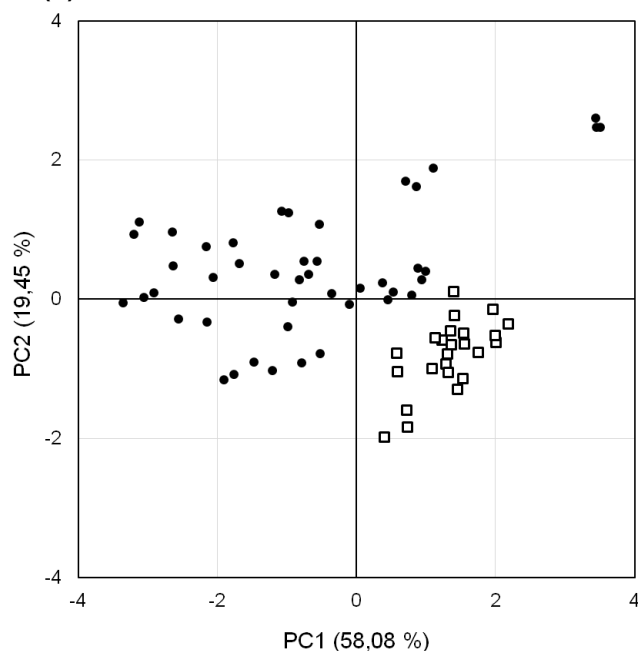
Análise por Componentes Principais (PCA) é um método não supervisionado de reconhecimento de padrões, adequado para visualizar diferenças e similaridades de amostras de acordo com variáveis selecionadas. No caso da construção de um modelo de discriminação de amostras de Jatoba e Peroba, as variáveis selecionadas foram as áreas integradas dos sinais de emissão de C, Ca, K, Mg e Na obtidas na análise por LIBS. Foram realizadas duas abordagens na construção do modelo PCA. Na primeira abordagem, 18 linhas de emissão foram monitoradas (C(I)193,091; C(I)247,856; Ca(I)318,052; Ca(II)393,366; Ca(II)396,847; Ca(I)422,673; Ca(I)430,253; Ca(I)443,496; Ca(I)445,478; Ca(I)527,027; Ca(I)558,876; K(I)766,490; K(I)769,896; Mg(II)279,553; Mg(II)280,270; Mg(I)285,213; Na(I)588,995 e Na(I)589,593 nm), enquanto que na segunda abordagem apenas uma linha de emissão para cada elemento foi empregada como variável no modelo PCA (C(I)193,091; Ca(I)422,673; K(I)769,896; Mg(I)285,213 e Na(I)589,593 nm). Os resultados obtidos para ambas as abordagens foram semelhantes e considerados satisfatórios, nos quais mais do que 77,5% de variância dos dados originais são descritos pelas duas primeiras componentes principais (PC1 e PC2). A similaridade entre os resultados nas duas abordagens provavelmente é decorrente da grande correlação existente entre as variáveis, visto que linhas de emissão de um mesmo elemento tendem a variar de forma homogênea e dessa forma fornece uma informação redundante, não havendo grande contribuição na discriminação das amostras. Dessa forma, adotou-se a segunda abordagem em que apenas uma linha de emissão de cada elemento é empregada na PCA, gerando um modelo com 5 dimensões. A porcentagem de informação original para cada uma das dimensões é apresentada na Figura 51.

Figura 51: Porcentagem de informação original da Análise por Componentes Principais das amostras de Peroba e Jatoba em cada uma das 5 dimensões.



Frequentemente a discriminação de amostras é apresentada na forma de gráficos de escores (*scores*) em que as componentes principais são ortogonais entre si. Na Figura 52 é possível visualizar dispersão das amostras nas duas primeiras componentes principais, em que claramente é observada a formação de dois grupos (*clusters*) distintos referentes ao Jatoba e a Peroba.

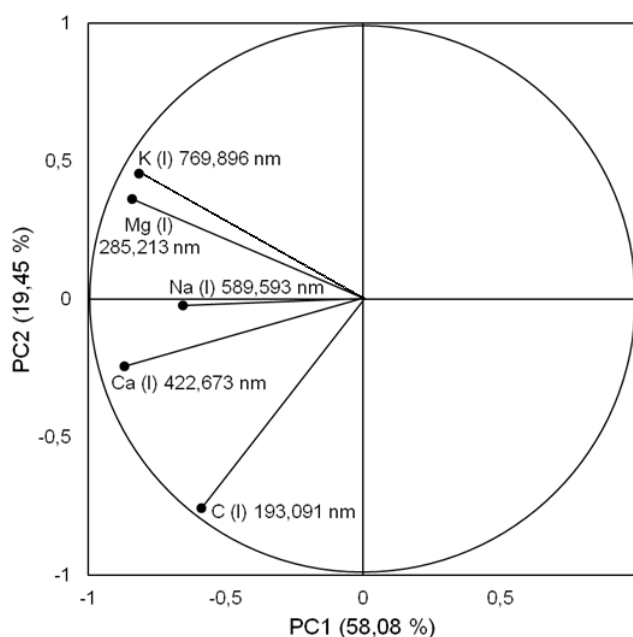
Figura 52: Gráfico bidimensional de escores da Análise por Componentes Principais das amostras de (●) Jatoba e (□) Peroba.



A influência das variáveis escolhidas na separação das amostras pode ser observada no gráfico de pesos (*loadings*). De acordo com a Figura 53, percebe-se

que todas as variáveis estão voltadas para a parte esquerda do gráfico, promovendo assim a discriminação entre as amostras, concluindo-se assim que as variáveis (principalmente K e Mg) possuem um peso superior nas amostras de Jatoba, decorrente dos maiores valores de área integrada encontrados nestas amostras. Além disso, não se pode destacar a hipótese de que um possível efeito de matriz entre os materiais possa ter contribuído para a formação dos agrupamentos no PCA.

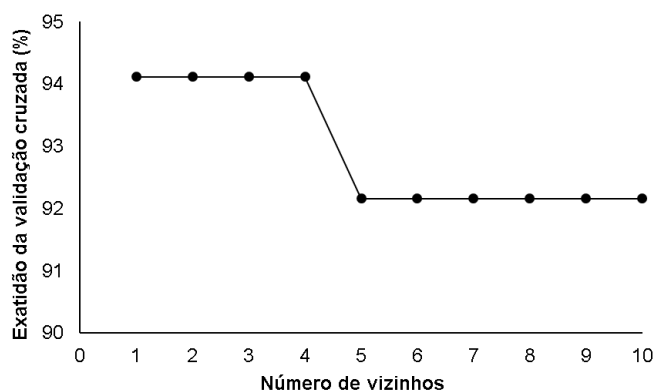
Figura 53: Gráfico bidimensional de pesos das variáveis empregadas na Análise por Componentes Principais das amostras Jatoba e Peroba.



Após avaliação dos resultados pelo PCA, um modelo de classificação foi construído. Os métodos supervisionados de reconhecimento de padrões utilizam informações da classe a qual as amostras pertencem para construir um modelo de classificação. O método do k-ésimo Vizinho Mais Próximo (*k-nearest neighbor*, KNN) é um dos métodos mais empregados para classificação de amostras. Em resumo, KNN classifica amostras desconhecidas calculando a distância em relação a amostras com classes bem definidas as quais constituem o conjunto de treinamento. As amostras do conjunto de treinamento comumente são chamadas de vizinhos e, assim, pode-se fazer o cálculo da distância para um número variado de vizinhos presentes no modelo. A amostra desconhecida é considerada pertencente a uma determinada classe de acordo com a proximidade de seus vizinhos e por maioria de votos. Existem diferentes abordagens no tratamento dos dados e no caso do modelo

construído para a classificação de Jatoba e Peroba, adotou-se a abordagem *leave-one-out*. Nessa abordagem, o programa de computador emprega todas as amostras conhecidas para construção do modelo. Aleatoriamente, 25% dessas amostras são eleitas como amostras teste e na validação cruzada a exatidão de classificação do modelo é avaliada. Os resultados da exatidão de predição do modelo considerando até 10 vizinhos foram apresentados na Figura 54. A maior taxa de acerto do modelo foi em torno de 94% considerando de 1 a 4 vizinhos. Definiu-se como $k=1$ o número de vizinhos adequados a serem considerados para construção do modelo já que este foi o menor valor de k com maior exatidão.

Figura 54: Exatidão da validação cruzada obtida para cada número de vizinho mais próximo empregado no modelo KNN.



Para uma nova avaliação do modelo construído, oito amostras de Jatoba e oito amostras de Peroba que não foram empregados na construção do modelo KNN foram submetidas a uma classificação. De acordo com a matriz de confusão apresentada na Tabela 16, todas as amostras de Peroba e Jatoba foram corretamente classificadas, indicando a viabilidade de classificação desses dois tipos de madeira pelo modelo KNN construído.

Tabela 16: Matriz de confusão da classificação de Jatoba e Peroba empregando KNN.

Conhecido \ Predito	Jatoba	Peroba	Corretamente classificado
	Jatoba	8	0
Peroba	0	8	100%

6. CONCLUSÕES

Em estudos conduzidos com o sistema comercial LIBS J200 tandem, para a análise de pastilhas de madeira da espécie Pinus, 18 linhas de emissão dos elementos (C, Ca, K, Mg e Na) em estudo puderam ser monitoradas. Linhas de emissão de Fe, Mn e Zn não foram detectadas. Posteriormente, empregando as linhas de emissão observadas, estudos de otimização para o sistema foram conduzidos de forma univariada, obtendo-se os seguintes valores experimentais: diâmetro de focalização de 50 μm , energia por pulso de 20 mJ, taxa de repetição de 10 Hz, tempo de atraso de 0,25 μs , padrão de análise percurso, 300 pulsos de laser, deslocamento da amostra de 0,15 mm/s e fluxo de argônio de 1,0 L/min.

Nos estudos envolvendo calibração do método em LIBS, empregando CRMs de origem vegetal, foram obtidos erros relativos superiores a 30% na análise de Pinus. Empregando diferentes espécies de madeiras e celulose (com e sem adição de analito) utilizados como materiais calibrantes na forma de pastilhas, foram obtidas curvas analíticas de calibração com coeficientes de determinação superiores à 0,95 na maioria dos casos. Aproximadamente 86% das amostras de Pinus dopada apresentaram erros relativos inferiores a 20%. Porém, o mesmo material não submetido à etapa de adição elementar apresentou elevados erros relativos na maioria dos casos. Diferenças significativas nas sensibilidades das curvas analíticas de calibração em diferentes materiais foram notadas. Tais diferenças podem ser atribuídas a efeitos de matriz, e um dos fatores que pode estar afetando o comportamento das curvas analíticas de calibração é o tamanho de partícula do material. Pinus e celulose, os quais possuem granulometria similar, possuíram um comportamento bastante semelhante na calibração do método, enquanto que Peroba e Cedrinho forneceram resultados opostos. A minimização nos efeitos de matriz entre Pinus e Cedrinho foi observada em materiais preparados com tamanhos de partículas diferentes entre si. Materiais contendo menor granulometria geraram curvas analíticas de calibração com maiores sensibilidades. Porém, em outro estudo, materiais submetidos a maiores tempos de moagem diminuíu o sinal analítico, provavelmente devido a um aumento de material particulado dentro da câmara de ablação. A calibração empregando padrões submetidos à extração ou adição elementar, ou utilizando diferentes espécies de madeira com concentrações

diferentes também se mostraram promissoras em alguns casos, porém, o tamanho de partícula também parece interferir na obtenção de resultados exatos. Em todas as situações, o uso de C como padrão interno não diminuiu os efeitos de matriz entre os diferentes materiais. Em outro estudo, em uma tentativa de calibração do método LIBS com fragmentos de madeira submetidos a etapas de extração e adição elementar, os resultados não foram satisfatórios nas condições experimentais empregadas, pois a adição elementar parece não ter sido bem sucedida.

Nos estudos visando à análise de fragmentos de madeira, foi observado que a umidade do material pode influenciar os resultados, sendo que materiais com menores teores de umidade apresentaram maiores sinais analíticos. A alteração do diâmetro de focalização sobre os resultados quando analisado um material exposto a uma superfície inclinada se mostrou crítica sendo, portanto, um importante parâmetro a ser considerado durante a análise química. O sistema de correção de focalização do laser minimizou estes efeitos. Diferentes profundidades de análise também podem afetar os sinais analíticos, e o uso do padrão interno se mostrou mais eficaz nesta situação, minimizando diferenças entre os sinais analíticos obtidos para diferentes camadas analisadas. Com relação à análise direta de fragmentos de madeira visualmente heterogêneos, elevadas diferenças na intensidade dos sinais analíticos em diferentes regiões analisadas foram observadas, não sendo essas corrigidas nem mesmo com o emprego de C como padrão interno. Entretanto, a análise de um material visualmente mais homogêneo gerou resultados mais similares entre si, indicando a possibilidade em realizar análises de amostras *in natura* sem a necessidade de preparo prévio, tais como a moagem.

Uma interessante aplicação do método de LIBS relacionada à sua característica microanalítica é o estudo para avaliar a distribuição elementar em anéis de crescimento. Resultados dessa análise mostraram maiores concentrações de Na e K nos anéis mais externos do tronco, os quais podem estar associados ao transporte desses elementos para o crescimento da planta. Ao contrário, o teor de Ca e Mg são mais constantes ao longo dos anéis de crescimento, indicando que esses elementos fazem parte de estruturas da planta. Por fim, estudos envolvendo discriminação e classificação de amostras de madeira foram conduzidos e amostras de Jatoba e Peroba puderam ser discriminadas e classificadas com 100% de exatidão empregando linhas de emissão de C, Ca, K, Mg e Na obtidas por LIBS e o uso de PCA e KNN.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho foi o primeiro iniciado pelo grupo visando a análise por LIBS. A madeira foi escolhida devido à sua importância já discutida anteriormente, entretanto, o estudo de parâmetros que influenciam a precisão e exatidão das medidas analíticas para um posterior desenvolvimento de métodos analíticos para este ou outros tipos de amostra talvez tenha sido o principal foco deste trabalho. A disseminação do conhecimento da técnica ainda se faz necessário, visto que tal é promissora no campo analítico devido a suas vantagens e o número de trabalhos científicos envolvendo LIBS é crescente. Certamente há a necessidade de uma melhor investigação de diversos parâmetros abordados neste trabalho, algo que poderá ser realizado em futuros projetos e com o auxílio de outras técnicas analíticas comparativas, tais como o Raio-X, LA-ICP OES/MS, entre outras. As principais sugestões envolvem abordagens de discriminação e classificação de amostras de madeira e desenvolvimento de métodos quantitativos de análise. Trabalhos de discriminação e classificação com um maior número de madeiras é desejável, visto que há uma necessidade de identificação de mais espécies de madeira ameaçadas. Após julgamento deste trabalho, sugestões na etapa de preparo da amostra como a pirografia do material ou transformação em cinzas visando à minimização dos efeitos de matriz podem ser avaliados. Para um maior entendimento da técnica e para possíveis futuras demandas de métodos confiáveis de quantificação elementar em madeira, há também sugestões de trabalhos voltados para o preparo de materiais calibrantes empregando fragmentos de madeira submetidos a etapas de adição ou extração elementar em condições experimentais diferentes das apresentadas nesse trabalho, preparo de materiais calibrantes secundários utilizando celulose, lignina ou outros materiais dopados para medidas quantitativas em madeira, estudo da temperatura do plasma em diferentes espécies de madeira para identificação de possíveis efeitos de matriz, estudo mais aprofundado sobre tamanho de partícula para traçar novas estratégias de calibração e minimizar os indesejáveis efeitos de matriz em diferentes espécies de madeira (compatibilização), entre outros.

8. REFERÊNCIAS

AONO, Y.; ANDO, K.; HATTORI, N. Rapid identification of CCA-treated wood using laser-induced breakdown spectroscopy. **Journal of Wood Science**, v. 58, p. 363–368, 2012.

ASHRAFKHANI, B.; BAHREINI, M.; TAVASSOLI, S. H. Repeatability Improvement of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy Using an Auto-Focus System. **Optics and Spectroscopy**, v. 118, n.5, p. 841–846, 2015.

BELARRA, M. A.; RESANO, M.; VANHAECKE, F.; MOENS, L. Direct solid sampling with electrothermal vaporization/atomization: what for and how? **Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 12, 2002.

BRAGA, J. W. B.; TREVIZAN, L. C.; NUNES, L. C.; RUFINI, I. A.; SANTOS JÚNIOR, D.; KRUG, F. J. Comparison of univariate and multivariate calibration for the determination of micronutrients in pellets of plant materials by laser induced breakdown spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 65, p. 66–74, 2010.

CALVA-VÁZQUEZ, G.; RAZO-ANGEL, G.; RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, L.; RUVALCABA-SIL, J. L. Study of Z > 18 elements concentration in tree rings from surroundings forests of the Mexico Valley using external beam PIXE. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B**, v. 249, p. 588–591, 2006.

CARVALHO, G. G. A.; SANTOS JÚNIOR, D.; NUNES, L. C.; GOMES, M. S.; LEME, F. O.; KRUG, F. J. 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.

CARVALHO, G. G. A.; SANTOS JÚNIOR, D.; GOMES, M. S.; NUNES, L. C.; GUERRA, M. B. B.; KRUG, F. J. Influence of particle size distribution on the analysis of pellets of plant materials by laser-induced breakdown spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 105, p. 130–135, 2015.

CHO, H.; KIM, Y.; JO, Y.; KITAGAWA, K.; ARAI, N.; LEE, Y. Application of laser-induced breakdown spectrometry for direct determination of trace elements in starch-based flours. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 16, p. 622–627, 2001.

CORDEIRO, J. R.; MARTINEZ, M. I. V.; LI, R. W. C.; CARDOSO, A. P.; NUNES, L. C.; KRUG, F. J.; PAIXÃO, T. R. L. C.; NOMURA, C. S.; GRUBER, J. Identification of Four Wood Species by an Electronic Nose and by LIBS. **International Journal of Electrochemistry**, v. 2012, p. 1-5, 2012.

CREMERS, D. A.; RADZIEMSKI, L. J. Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. John Wiley & Sons, Ltd., 2006.

CUI, M; HE, X.; DAVI, N.; CHEN, Z.; ZHANG, X.; PENG, J.; CHEN, W. Evidence of century-scale environmental changes: Trace element in tree-ring from Fuling Mausoleum Shenyang, China. **Dendrochronologia**, v. 31, p. 1–8, 2013.

DEMIRBAS, A. Trace metal concentrations in ashes from various types of biomass species. **Energy Sources**, v. 25, p. 743–751, 2003.

DEMIRBAS, T.; DEMIRBAS, C. Fuel Properties of Wood Species. **Energy Sources, Part A**, v. 31, p. 1464–1472, 2009.

DONG, M.; MAO, X.; GONZALEZ, J. J.; LU, J.; RUSSO, R. E. Time-resolved LIBS of atomic and molecular carbon from coal in air, argon and helium. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 27, p. 2066-2075, 2012.

EMBRAPA. Identificação da madeira. Disponível em: <http://www.catalogosnt.cnptia.embrapa.br/catalogo20/catalogo_de_produtos_e_servicos/arvore/CONT000f0mkwnd002wx5af00ec2r8mr5qtjg.html>. Acesso em: 15 junho 2013.

FAO. State of the World's Forests. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/016/i3010e/i3010e00.htm>>. Acesso em: 20 abril 2013.

FICHET, P.; TABARANT, M.; SALLE, B.; GAUTIER, C. Comparisons between LIBS and ICP/OES. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 385, p. 338–344, 2006.

FORTES, F. J.; MOROS, J.; LUCENA, P.; CABALÍN, L. M.; LASERNA, J. J. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 85, p. 640–669, 2013.

GARCIMUÑO, M.; PACE, D. M. D.; BERTUCCELLI, G. Laser-induced breakdown spectroscopy for quantitative analysis of copper in algae. **Optics & Laser Technology**, v. 47, p. 26–30, 2013.

GETHING, B. A.; JANOWIAK, J. J.; FALK, R. H. Assessment of laser induced breakdown spectroscopy (LIBS) for classification of preservative in CCA-treated lumber. **Forest Products Journal**, v. 59, n. 3, p. 67-74, 2009.

GOMES, M. S.; SANTOS JÚNIOR, D.; NUNES, L. C.; CARVALHO, G. G. A.; LEME, F. O.; KRUG, F. J. Evaluation of grinding methods for pellets preparation aiming at the analysis of plant materials by laser induced breakdown spectrometry. **Talanta**, v. 85, p. 1744–1750, 2011.

GOMES, M. S.; CARVALHO, G. G. A.; SANTOS JÚNIOR, D.; KRUG, F. J. A novel strategy for preparing calibration standards for the analysis of plant materials by laser-induced breakdown spectroscopy: A case study with pellets of sugar cane leaves. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 86, p.137–141, 2013.

GOMES, M. S.; SCHENK, E. R.; SANTOS JÚNIOR, D.; KRUG, F. J.; ALMIRALL, J. R. Laser ablation inductively coupled plasma optical emission spectrometry for analysis of pellets of plant materials. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 94–95, p. 27–33, 2014.

GÓRECKA, H.; CHOJNACKA, K.; GÓRECKI, H. The application of ICP-MS and ICP-OES in determination of micronutrients in wood ashes used as soil conditioners. **Talanta**, v. 70, p. 950–956, 2006.

GREENPEACE. A exploração de madeira na Amazônia: a ilegalidade e a destruição ainda predominam- relatório técnico. Disponível em: <http://www.greenpeace.org.br/amazonia/pdf/techrep_planos_manejo.pdf>. Acesso em: 12 julho de 2013.

GUERRA, M. B. B.; ADAME, A.; ALMEIDA, E.; CARVALHO, G. G. A.; BRASIL, M. A. S.; SANTOS JÚNIOR, D.; KRUG, F. J. Direct analysis of plant leaves by EDXRF and LIBS: microsampling strategies and cross-validation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 30, p. 1646–1654, 2015.

HAHN, D. W. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for Analysis of Aerosol Particles: The Path Toward Quantitative Analysis. **Spectroscopy**, v. 24, n. 9, 2009.

HAHN, D. W.; OMENETTO, N.; Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), part I: review of basic diagnostics and plasma–particle interactions: still-challenging issues within the analytical plasma community, **Applied Spectroscopy**, v. 64, p. 335A-366A, 2010.

HAHN; D. W.; OMENETTO, N. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), part II: review of instrumental and methodological approaches to material analysis and applications to different fields. **Applied Spectroscopy**, v. 66, n. 4, p. 347-419, 2012.

IBAMA. Desmatamento. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/areas-tematicas/desmatamento>>. Acesso: 02 maio 2013.

IMAZON. Espécies de árvores potencialmente ameaçadas pela atividade madeireira na Amazônia. Disponível em: <<http://www.imazon.org.br/publicacoes/serie-amazonia/especies-de-arvores-potencialmente-ameacadas-pela-atividade-madeireira-na-amazonia>>. Acesso em 24 abril 2013

INPE. Por que cortam as árvores na Amazônia. Disponível em: <<http://www.inpe.br/acessoainformacao/node/460>>. Acesso em: 14 abril 2013.

INTERPOL. Green Carbon, Black Trade: Illegal Logging, Tax Fraud and Laundering in the Worlds Tropical Forests. Disponível em: <<http://www.grida.no/publications/rr/green-carbon-black-trade/>>. Acesso em: 14 maio 2013.

IUPAC. Analytical Chemistry Division, Commission on Spectrochemical and Optical Procedures for Analysis, Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemicalanalysis-II. Data interpretation, **Spectrochimica Acta Part B**, v. 33, p. 242–245, 1978.

KIM, G.; KWAK, J.; CHOI, J.; PARK, K. Detection of Nutrient Elements and Contamination by Pesticides in Spinach and Rice Samples Using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 718–724, 2012.

KÜHN, A. J.; SCHRÖDER, W. H.; BAUCH, J. On the Distribution and Transport of Mineral Elements in Xylem, Cambium and Phloem of Spruce (*Picea abies* [L.] Karst.). **Holzforschung**, v. 51, n.6, 1997.

LEME, F. O.; GODOI, Q.; KIYATAKA, P. H. M.; SANTOS JÚNIOR, D.; AGNELLI, J. A. M.; KRUG, F. J. Effect of pulse repetition rate and number of pulses in the analysis of polypropylene and high density polyethylene by nanosecond infrared laser induced breakdown spectroscopy. **Applied Surface Science**, v. 258, n. 8, p. 3598-3603, 2012

MADEIRAS BRASILEIRAS: Disponível em: <<http://sistemas.florestal.gov.br/madeirasdobrasil/introducao.htm>>. Acesso em: 16 janeiro 2017.

MAPECROFT. Highest rates of deforestation happening in emerging economies of Nigeria, Indonesia and Brazil, while China and the USA are lowest – Maplecroft index. Disponível em: <<http://maplecroft.com/about/news/deforestation.html>>. Acesso em: 03 maio 2013.

MARTIN, M. Z.; LABBÉ, N.; RIALS, T. G.; WULLSCHLEGER, S. D. Analysis of preservative-treated wood by multivariate analysis of laser-induced breakdown spectroscopy spectra. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 60, p. 1179 – 1185, 2005.

MARTIN, M. Z.; LABBÉ, N.; ANDRÉ, N.; HARRIS, R.; EBINGER, M.; WULLSCHLEGER, S. D.; VASS, A. A. High resolution applications of laser-induced breakdown spectroscopy for environmental and forensic applications. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 62, p. 1426–1432, 2007.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Instrução Normativa nº 06 de 23 de Setembro de 2008. 2008.

MISRA, M. K.; RAGLAND, K. W.; BAKER, A. J. Wood ash composition as a function of furnace temperature. **Biomass and Bioenergy**, v. 4, n. 2, p. 103-116, 1993.

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

NATIONAL GEOGRAPHIC. DEFORESTATION. Disponível em: <<http://environment.nationalgeographic.com/environment/global-warming/deforestation-overview/>>. Acesso em: 22 abril 2013.

NIST. Atomic Spectra Database Lines Form. Disponível em: <http://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines_form.html>. Acesso em: 4 março 2013.

NOLL, R. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy- Fundamentals and Applications. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2012.

NUNES, L. C.; BRAGA, J. W. B.; TREVIZAN, L. C.; SOUZA, P. F.; CARVALHO, G. G. A.; SANTOS JUNIOR, D.; POPPI, R. J.; KRUG, F. J. Optimization and validation of a LIBS method for the determination of macro and micronutrients in sugar cane leaves. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, p. 1453–1460, 2010.

ONU. Comércio criminoso é responsável por até 90% do desmatamento nos países tropicais, afirma PNUMA. Disponível em: <<http://www.onu.org.br/comercio-criminoso-e-responsavel-por-ate-90-do-desmatamento-nos-paises-tropicais-afirma-pnuma/>>.

Acesso em: 27 maio 2013.

PERUCHI, L. C.; NUNES, L. C.; CARVALHO, G. G. A.; GUERRA, M. B. B.; ALMEIDA, E.; RUFINI, I. A.; SANTOS JÚNIOR, D.; KRUG, F. J. Determination of inorganic nutrients in wheat flour by laser-induced breakdown spectroscopy and energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 100, p. 129–136, 2014.

PETTERSEN, R. C. The chemical composition of wood. **The chemistry of solid wood**, v. 207, p. 57-126, 1984.

POLÍCIA MILITAR AMBIENTAL DO BRASIL. Flora brasileira. Disponível em: <<http://www.pmambientalbrasil.org.br/flora.htm>>. Acesso em: 12 abril 2013.

POUZAR, M.; CERNOHORSKÝ, T.; PRUSOVÁ, M.; PROKOPCÁKOVÁ, P.; KREJCOVÁ, A. LIBS analysis of crop plants. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 24, p. 953–957, 2009.

RADZIEMSKI, L. J. From LASER to LIBS, the path of technology development. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 57, p. 1109–1113, 2002.

RADZIEMSKI, L. J.; CREMERS, D. A brief history of laser-induced breakdown spectroscopy: From the concept of atoms to LIBS 2012. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 87, p. 3–10, 2013.

RUSSO, R. E.; MAO, X.; MAO, S. S. The Physics of Laser Ablation in Microchemical. **Analytical chemistry**, v. 74, n. 3, p.70A-77A, 2002.

RUSSO, R. E.; MAO, X.; GONZALEZ, J. J.; ZORBA, V.; YOO, J. Laser ablation in analytical chemistry. **Analytical chemistry**, v. 85, p. 6162-6177, 2013.

SANTOS JÚNIOR, D.; TARELHO, L. V. G.; KRUG, F. J.; MILOR, D. M. B. P.; MARTIN NETO, L.; VIEIRA JUNIOR, N. D. Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) – fundamentos, aplicações e perspectivas. **Revista Analytica**, v. 24, 2006.

SENESI, G. S.; DELL'AGLIO, M.; GIACOMO, A.; PASCALE, O.; CHAMI, Z. A.; MIANO, T. M.; ZACCONE, C. Elemental Composition Analysis of Plants and Composts Used for Soil Remediation by Laser- Induced Breakdown Spectroscopy. **Clean – Soil, Air, Water**, v. 42, n. 6, p. 791–798, 2014.

SILVESTRE, D. M.; BARBOSA, F. M.; AGUIAR, B. T.; LEME, F. O.; NOMURA, C. S. Feasibility study of calibration strategy for direct quantitative measurement of K and Mg in plant material by laser-induced breakdown spectrometry. **Analytical Chemistry Research**, v. 5, p. 28–33, 2015.

SILVESTRE, D. M.; LEME, F. O.; NOMURA, C. S.; NASCIMENTO, A. N. Direct analysis of barium, calcium, potassium, and manganese concentrations in tobacco by laser-induced breakdown spectroscopy. **Microchemical Journal**, v. 126, p. 545–550, 2016.

SINGH, J. P.; THAKUR, S. N. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy, Elsevier, Amsterdam, 2007.

SNEDDON, J.; LEE, Y. Laser-Induced Breakdown Spectrometry. **The Chemical Educator**, v. 3, n. 6, p. 1-7, 1998.

SOLO-GABRIELE H. M.; TOWNSEND, T. G.; HAHN, D. W.; MOSKAL, T. M.; HOSEIN, N.; JAMBECK, J.; JACOBI, G. Evaluation of XRF and LIBS technologies for on-line sorting of CCA-treated wood waste. **Waste Management**, v. 24, p. 413–424, 2004.

SOUZA, P. F.; SANTOS JÚNIOR, D.; CARVALHO, G. G. A.; NUNES, L. C.; GOMES, M. S.; GUERRA, M. B. B.; KRUG, F. J. Determination of silicon in plant materials by laser-induced breakdown spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 83–84, p. 61–65, 2013.

STAVROPOULOS, P.; PALAGAS, C.; ANGELOPOULOS, G. N.; PAPAMANTELLOS, D. N.; COURIS, S. Calibration measurements in laser-induced breakdown spectroscopy using nanosecond and picosecond lasers. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 59, p. 1885–1892, 2004.

SUN, Q.; TRAN, M.; SMITH, B. W.; WINEFORDNER, J. D. Direct determination of P, Al, Ca, Cu, Mn, Zn, Mg and Fe in plant materials by Laser-Induced Plasma Spectroscopy, **Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy**, v. 44, p. 164-170, 1999.

THE WOOD DATABASE. Disponível em: <<http://www.wood-database.com/>>. Acesso em: 16 Janeiro 2017.

TOGNONI, E.; PALLESCHI, V.; CORSI, M.; CRISTOFORETTI, G. Quantitative micro-analysis by laser-induced breakdown spectroscopy: a review of the experimental approaches. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 57, p. 1115–1130, 2002.

TREVIZAN, L. C.; SANTOS JUNIOR, D.; SAMAD, R. E.; VIEIRA JUNIOR, N. D.; NOMURA, C. S.; NUNES, L. C.; RUFINI, I. A.; KRUG, F. J. Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy for the determination of macronutrients in plant materials. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 63, p. 1151–1158, 2008.

TREVIZAN, L. C.; SANTOS JÚNIOR, D.; SAMAD, R. E.; VIEIRA JUNIOR, N. D.; NUNES, L. C.; RUFINI, I. A.; KRUG, F. J. Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy for the determination of micronutrients in plant materials. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 64, p. 369–377, 2009.

UHL, A.; LOEBE, K.; KREUCHWIG, L. Fast analysis of wood preservers using laser induced breakdown spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 56, p. 795-806, 2001.

WISBRUN, R.; SCHECHTER, I.; NIESSNER, R.; SCHRÖDER, H.; KOMPA, K. L. Detector for Trace Elemental Analysis of Environmental Samples by Laser Plasma Solid Spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 18, 1994.

ZEISLER, R.; Reference materials for small-sample analysis. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 360, p. 376-379, 1998.

ZENID, G. J.; CECCANTINI, G. C. T. IPT - Identificação Macroscópica de Madeiras. Disponível em: <<http://www.celso-foelkel.com.br/artigos/outros/Apostila-Identifica%E7%E3o%20de%20madeiras.pdf>>. Acesso em: 23 abril 2013.

ZHU, D.; CHEN, J.; LU, J.; NI, X. Laser-induced breakdown spectroscopy for determination of trace metals in aqueous solution using bamboo charcoal as a solid-phase extraction adsorbent. **Analytical Methods**, v. 4, p. 819–823, 2012.

ANEXO - SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Nome: Daniel Menezes Silvestre

Local e data de nascimento: Brasil, SP, São Paulo, 22 de Agosto de 1985.

EDUCAÇÃO

- Escola Estadual Professora Maria Ribeiro Guimarães Bueno, São Paulo, 1991-2000.

- Escola Estadual Rui Bloem, São Paulo, 2001-2002.

- Centro Federal Tecnológico de São Paulo - CEFET-SP, São Paulo, 2005, Física – Licenciatura (interrompido).

- Universidade de São Paulo, Instituto de Química, São Paulo, 2006-2010, Química - Licenciatura.

- Universidade de São Paulo, Instituto de Química, São Paulo, 2001-2013, Mestrado em Ciências (Química). Título: Determinação direta de elementos potencialmente tóxicos em arroz por GF AAS: desenvolvimento de métodos e aplicações. Orientadora: Profa. Dra. Cassiana Seimi Nomura. Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo: 132644/11-8.

- Universidade de São Paulo, Instituto de Química, São Paulo, 2013-2017, Doutorado em Ciências (Química) – (tese defendida em 07/06/2017). Título: Avaliação de parâmetros na análise direta de madeira por LIBS. Orientadora: Profa. Dra. Cassiana Seimi Nomura. Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo: 141811/2013-7.

ESTÁGIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

- Iniciação Científica na Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), acompanhando e executando atividades junto ao Departamento de Bioquímica, no período de 01/08/2008 a 21/06/2010. Foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) com o projeto intitulado “Expressão e Purificação de Heparitinase I Recombinante de *Flavobacterium heparinum*”, sob a orientação da Profa. Dra. Helena Bonciani Nader.

- Iniciação Científica no Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQUSP), acompanhando e executando atividades junto ao Departamento de Química Fundamental, no Grupo de Estudos em Química Atmosférica, no período de 01/08/2010 à 15/12/2010, sob a orientação da Profa. Dra. Pérola de Castro Vasconcelos.

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

- Micro-ondas para o preparo de amostras, carga horária de 8 horas, Universidade de São Paulo, Instituto de Química (IQUSP), São Paulo, Brasil, 2011. (Minicurso).
- Seminário Internacional de Espectroscopia a Laser – LIBS, carga horária de 4 horas, São Paulo, Brasil, 2012. (Seminário).
- Materiais de Referência Certificados, carga horária de 8 horas, 17º Encontro Nacional de Química Analítica (ENQA), Belo Horizonte, Brasil, 2013 (Workshop).
- Análise de componentes principais-PCA, carga horária de 4 horas, 17º Encontro Nacional de Química Analítica (ENQA), Belo Horizonte, Brasil, 2013 (Minicurso).
- Measurement errors in multivariate analysis, carga horária de 12 horas, I Escola de inverno de Quimiometria, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, Brasil, 2013. (Minicurso).
- Applied Chemometrics, carga horária de 12 horas, I Escola de inverno de Quimiometria, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, Brasil, 2013. (Minicurso).
- LIBS: Fundamentals and applications, carga horária de 4 horas, The Great Scientific Exchange (Scix), EUA, 2014. (Minicurso).
- I workshop sobre laser em química analítica, carga horária de 8 horas, Universidade de São Paulo, Instituto de Química (IQUSP), São Paulo, Brasil, 2014. (Workshop)
- II workshop sobre laser em química analítica, carga horária de 40 horas, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, Brasil, 2015. (Workshop)
- Workshop de Escrita Científica AJE, carga horária de 7 horas, Universidade de São Paulo, Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade (FEA), São Paulo, Brasil, 2016. (Workshop)

OCUPAÇÃO

- Bolsista de Doutorado, CNPq, processo: 141811/2013-7, vigência: de 05/2013 a 04/2017.

PUBLICAÇÕES

SILVESTRE, D. M.; NOMURA, C. S. Direct Determination of Potentially Toxic Elements in Rice by SS-GF AAS: Development of Methods and Applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61, p. 6299-6303, 2013.

SILVESTRE, D. M.; NAOZUKA, J.; CORREIA, P. R. M.; NOMURA, C. S. EXPERIMENT USING GRAINS TO EXPLORE CALIBRATION IN CHEMICAL ANALYSES. *Química Nova*, v. 37, p. 1545-1549, 2014.

ALTA, E. C. P.; GOSWAMI, D. ; MACHINI, M. T.; SILVESTRE, D. M.; NOMURA, C. S.; ESPÓSITO, B. P.. Desferrioxamine-caffeine (DFCAF) as a cell permeant moderator of the oxidative stress caused by iron overload. *BioMetals*, v. 27, p. 1351-1360, 2014.

GOSWAMI, D.; MACHINI, M. T. ; SILVESTRE, D. M. ; NOMURA, C. S.; ESPOSITO, B. P. Cell Penetrating Peptide (CPP)-Conjugated Desferrioxamine for Enhanced Neuroprotection: Synthesis and in Vitro Evaluation. *Bioconjugate Chemistry*, v. 25, p. 2067-2080, 2014.

GARCIA, M. A. S.; SILVESTRE, D. M.; NOMURA, C. S.; ROSSI, L. M. Determination of Metal Loading in Heterogeneous Catalyst by Slurry Sampling Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical*, v. 26, p. 359-364, 2014.

SILVESTRE, D. M.; NASCIMENTO, A. N. ; LEME, F. O. ; NOMURA, C. S. ; NAOZUKA, J. . Elemental Analysis of Goji berries using axially and radially viewed inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. *Spectroscopy*, v. 30, p. 36-41, 2015.

GOSWAMI, D.; VITORINO, H. A.; ALTA, R. Y. P. ; SILVESTRE, D. M.; NOMURA, C. S.; MACHINI, M. T.; ESPÓSITO, B. P. Deferasirox-TAT(47-57) peptide conjugate as a water soluble, bifunctional iron chelator with potential use in neuromedicine. *BioMetals*, v. 28, p. 869-877, 2015.

SILVESTRE, D. M.; BARBOSA, F. M.; AGUIAR, B. T.; LEME, F. O.; NOMURA, C. S.. Feasibility study of calibration strategy for direct quantitative measurement of K and Mg in plant material by laser-induced breakdown spectrometry. *Analytical Chemistry Research*, v. 5, p. 28-33, 2015.

SILVESTRE, D. M.; LEME, F. O.; NOMURA, C. S.; NASCIMENTO, A. N. Direct analysis of barium, calcium, potassium, and manganese concentrations in tobacco by laser-induced breakdown spectroscopy. *Microchemical Journal*, v. 126, p. 545-550, 2016.

CARVALHO, A. A. C.; ALVES, V. C.; SILVESTRE, D. M.; LEME, F. O.; OLIVEIRA, P. V.; NOMURA, C. S. Comparison of Fused Glass Beads and Pressed Powder Pellets for the Quantitative Measurement of Al, Fe, Si and Ti in Bauxite by Laser Induced Breakdown Spectrometry (LIBS). *Geostandards and Geoanalytical Research*, 2017. (artigo aceito)

LEME, F. O.; SILVESTRE, D. M.; NASCIMENTO, A. N.; NOMURA, C. S. Quantitative measurement of calcium, magnesium, potassium and sodium in meat by laser induced breakdown spectroscopy. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2017. (artigo submetido)

SILVESTRE, D. M.; MONTES, V. R.; LEME, F. O.; PAIXÃO, T. R. L. C.; CECCANTINI, G. C. T.; NOMURA, C. S. Evaluation of laser-induced breakdown spectroscopy and principal component analysis for the discrimination of wood samples. 2017. (artigo em fase de preparo)

SILVESTRE, D. M.; MONTES, V. R.; NUNES, L. C.; LEME, F. O.; KRUG, F. J.; NOMURA, C. S. Calibration approaches for quantitative measurements of Fe, K, Mg, Mn, Na and Zn in wood samples by laser induced breakdown spectrometry. 2017. (artigo em fase de preparo)

SILVESTRE, D. M.; MONTES, V. R.; LEME, F. O.; CECCANTINI, G. C. T.; NOMURA, C. S. Evaluation of laser-induced breakdown spectroscopy for measurements of Ca, K, Mg and Na in tree-ring. 2017. (artigo em fase de preparo)

PARTICIPAÇÕES/APRESENTAÇÕES EM EVENTOS

III Congresso de iniciação em desenvolvimento tecnológico e inovação - PIBITI. Expressão e purificação de heparitinase I recombinantes de *Flavobacterium heparinum*. 2010. (Congresso, apresentação oral e pôster).

16° Encontro Nacional de Química Analítica (ENQA). Determinação de cádmio em arroz por SS-GF AAS: desenvolvimento de método e aplicação. 2011. (Congresso, apresentação de pôster).

12th Rio Symposium on Atomic Spectrometry. Evaluation of parameters in the direct determination of Cd, Pb and As in rice by solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. 2012. (Congresso, apresentação de pôster).

12th Rio Symposium on Atomic Spectrometry. Method development for a direct determination of Yb in urine by graphite furnace atomic absorption spectrometry. 2012. (Congresso, co-autor em pôster).

35 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Desenvolvimento de métodos para determinações diretas de Cd, Pb e As em arroz por SS-GF AAS. 2012. (Congresso, apresentação de pôster).

II Congresso Institucional - Química e Bioquímica. 2012. (Congresso, apresentação de pôster).

17º Encontro nacional de química analítica - ENQA. Emprego do mesocarpo de babaçu impregnado com Cu como material calibrante visando a análise direta de plantas por LIBS. 2013. (Congresso, apresentação de pôster).

The Great Scientific Exchange. Scix 2014. Feasibility study for direct quantitative measurement of K and Mg in wood samples by LIBS. 2014. (Congresso, apresentação de pôster).

The Great Scientific Exchange. Scix 2014. Ceramics spiked with Pb reference solution as calibrating material for soil and sediment analysis by laser induced breakdown spectrometry (LIBS). 2014. (Congresso, apresentação de pôster).

The Great Scientific Exchange. Scix 2014. Determination of Ba, Ca, K, Mn and Na in cigarettes by laser induced breakdown spectroscopy (LIBS). 2014. (Congresso, co-autor em pôster).

The Great Scientific Exchange. Scix 2014. Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy and chemometrics for discrimination of geographical origin of beef samples. 2014. (Congresso, co-autor em pôster).

8TH EURO-MEDITERRANEAN SYMPOSIUM ON LASER-INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY. EMSLIBS 2015. Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy and principal component analysis for discrimination of wood samples. 2015. (Congresso, apresentação oral).

18º Encontro Nacional de Química Analítica. EVALUATION OF LASER-INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY FOR MEASUREMENTS OF Ca, K, Mg AND Na IN TREE-RINGS. 2016. (Congresso, apresentação de pôster)

18º Encontro Nacional de Química Analítica. Medição quantitativa de Al, Fe, Si e Ti em bauxita por LIBS empregando fusão como método de preparo de amostras. 2016. (Congresso, co-autor em pôster)

Pittcon 2017. Calibration strategies for quantitative measurements of Fe, K, Mg, Mn, Na and Zn in wood samples by laser induced breakdown spectrometry. 2017. (Congresso)

ATIVIDADES ACADÊMICAS

Monitor de disciplina de graduação, Carga horária: 6hs/semana, 4 meses. Química Analítica Instrumental - Disciplina da graduação em química do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. 2012.

Monitor de disciplina de graduação, Carga horária: 6hs/semana, 4 meses. Química Analítica II - Disciplina da graduação em química do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. 2012.

Monitor de disciplina de graduação, Carga horária: 6hs/semana, 4 meses. Química Analítica II - Disciplina da graduação em química do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. 2013.

Monitor de disciplina de graduação, Carga horária: 6hs/semana, 4 meses. Química Analítica Instrumental - Disciplina da graduação em química do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. 2014.

Coordenador de aula prática em workshop (I Workshop Sobre Laser em Química Analítica), Carga horária: 8hs. Instituto de Química da Universidade de São Paulo. 2014.

Monitor de disciplina de graduação, Carga horária: 6hs/semana, 2 meses. Química Analítica III - Disciplina da graduação em química do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. 2016.