

JULIANA CORTEZ

PRÉ-CONCENTRAÇÃO BASEADA NA TÉCNICA DE *RING OVEN* PARA MICROANÁLISE: DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE SÓDIO, FERRO E COBRE EM ETANOL HIDRATADO COMBUSTÍVEL POR ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO ÓPTICA EM PLASMA INDUZIDO POR LASER (LIBS)

> CAMPINAS 2012



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS INSTITUTO DE QUÍMICA

JULIANA CORTEZ

PRÉ-CONCENTRAÇÃO BASEADA NA TÉCNICA DE *RING OVEN* PARA MICROANÁLISE: DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE SÓDIO, FERRO E COBRE EM ETANOL HIDRATADO COMBUSTÍVEL POR ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO ÓPTICA EM PLASMA INDUZIDO POR LASER (LIBS)

ORIENTADOR: PROF. DR. CELIO PASQUINI

TESE DE DOUTORADO APRESENTADA AO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTORA EM CIÊNCIAS.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA POR JULIANA CORTEZ E ORIENTADA PELO PROF.DR. CELIO PASQUINI.

Assinatura do Orientador

CAMPINAS 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR SIMONE LUCAS - CRB8/8144 -BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP

C818p	Cortez, Juliana (1984-). Pré-concentração baseada na técnica de <i>ring oven</i> para microanálise: determinação simultânea de sódio, ferro e cobre em etanol hidratado combustível por espectroscopia de emissão óptica em plasma induzido por laser (LIBS) / Juliana Cortez. – Campinas, SP: [s.n.], 2012.
	Orientador: Celio Pasquini.
	Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.
	 Técnica do <i>ring oven</i>. 2. Preconcentração. LIBS. 4. Metal em etanol hidratado combustível. Química verde. I. Pasquini, Celio. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Preconcentration based on ring oven technique for micro-analysis: simultaneous determination of sodium, iron and copper in fuel ethanol by laser induced breakdown spectroscopy (LIBS)

Palavras-chave em inglês:

Ring oven technique Preconcentration LIBS Metal in fuel ethanol Green chemistry

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Doutora em Ciências

Banca examinadora:

Celio Pasquini [Orientador] Alexandre Fonseca Edenir Rodrigues Pereira Filho Solange Cadore Dosil Pereira de Jesus

Data de defesa: 31/10/2012 Programa de pós-graduação: Química

DEDICATÓRIA

Ao Senhor da minha vida e aos meus pais (Maria e Atilio) que me apoiaram mesmo sem entender e/ou sem aprovar minhas escolhas. À minha sobrinha Emily que nasceu durante o desenvolvimento da tese e tem sido uma nova alegria para a minha vida.

UMA FRASE, UM POEMA E UMA TRILHA SONORA

"Let us try as much as we can, we shall still unavoidably fail in many things."

Thomas a Kempis The Imitation of Christ

"Nunca conheci quem tivesse levado porrada. Todos os meus conhecidos têm sido campeões em tudo.(...) Toda a gente que eu conheço e que fala comigo Nunca teve um ato ridículo, nunca sofreu enxovalho, Nunca foi senão príncipe - todos eles príncipes - na vida... (...) Quem me dera ouvir de alguém a voz humana (...) Não, são todos o Ideal, se os oiço e me falam.(...) Então sou só eu que é vil e errôneo nesta terra? (...)"

Poema em Linha Reta Fernando Pessoa (Álvaro de Campos)

"Seria mais fácil fazer como todo mundo faz. O caminho mais curto, produto que rende mais. Seria mais fácil fazer como todo mundo faz um tiro certeiro, modelo que vende mais. Mas nós vibramos em outra frequência, sabemos que não é bem assim.(...) Se fosse fácil achar o caminho das pedras, tantas pedras no caminho não seria ruim."

Humberto Gessinger

AGRADECIMENTOS PROFISSIONAIS E PESSOAIS

✓ Ao Instituto de Química da Unicamp que forneceu todo o espaço para o desenvolvimento desse trabalho;

✓ À CAPES e a Funcamp pelas bolsas concedidas;

Aos funcionários do Instituto de Química;

Aos funcionários da CPG-IQ;

Aos membros da banca de tese pela disposição na participação da defesa;

 ✓ Ao Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (INCTAA) Proc. FAPESP 2008/57808-1 e CNPq 573894/2008-6;

✓ Ao Prof. Dr. Celio Pasquini por fazer muito mais do que lhe cabia as suas obrigações, tanto no âmbito profissional como no pessoal;

 À Prof. Dra. Solange Cadore pela ajuda com dúvidas inerentes ao trabalho e pelas conversas e o apoio que muito me ajudaram ao lidar com as dificuldades pessoais encontradas ao longo do doutorado;

 ✓ Ao Prof. Dr. Jarbas José Rodrigues Rohwedder e Prof. Dr. Ivo Milton Raimundo Júnior pela ajuda e carinho;

À Prof. Dra. Carol H. Collins pelas correções dos artigos;

✓ Ao técnico do GIA/LQA Diego C. Andrade pela ajuda. Parabéns por sua competência;

 ✓ Ao Prof. Dr. Francisco José Krug (CENA-USP) pelo empréstimo do medidor de energia do laser;

✓ Ao técnico Daniel pelas medidas de MEV-EDS;

 Aos técnicos do laboratório de ensino (LQ-08) pela ajuda com as medidas de fotometria de chama e o auxílio nos estágios de docência;

 Ao pós-graduando Marcelo Alexandre de Farias pela obtenção nas imagens de microscópio óptico mostradas nesse trabalho;

À Dra. Paula Fortes pela tradução dos artigos do Weisz do alemão para o português;

✓ À pós-graduanda Rafaella Regina Alves Peixoto pelas medidas de FAAS;.

xi

 ✓ Aos professores do departamento de Química Analítica da Unicamp que tive o prazer de conhecer em bancas, em disciplinas ou sendo auxiliar didático (PED);

✓ Ao Prof. Dr. Claudio Celestino de Oliveira que foi meu orientador de iniciação científica e me abriu caminho para a escolha da carreira acadêmica;

✓ Ao funcionário Mário Shissun Toma do setor de mecânica fina pelo trabalho sempre bem feito, pela paciência, disponibilidade e pelo sorriso sempre presente no rosto;

 À Comissão da Biblioteca do IQ, especialmente a bibliotecária Ledenice e à Prof. Dra. Ljubica Tasic, pelo aprendizado;

✓ À Márcia e a Helena por me proporcionarem o acesso às aulas semanais de pintura em tela do programa PIQ-IQ e a um espaço muito saudável de convivência;

✓ Aos integrantes e aos ex-integrantes do GIA (Grupo de Instrumentação e Automação em Química Analítica) que estiveram presentes durante a minha jornada na pós-graduação. Aos momentos de companheirismo, conversas na sala de café, aprendizado e aos amigos que foram feitos;

 Aos colegas de trabalho do LQA. Um abraço especial para Márcia, Matheus e Glauciene;

 ✓ Aos irmãos Dias Ribeiro, Pedro e Lívia, pelas intermináveis caronas na noite/madrugada e pelo carinho;

✓ À minha amiga Klécia Morais dos Santos por dividir comigo as alegrias e angústias de uma tese, a tragicomédia da vida em república de estudantes e por me ajudar em momentos difíceis;

✓ À Laiane Moura pela amizade e palavras de incentivo;

✓ Aos companheiros de república de todos esses anos, especialmente aos que se tornaram meus grandes amigos. Um abraço especial para os antigos moradores da *La Maison*;

✓ Aos integrantes da IPBG em especial o pessoal do grupo de sexta pela ajuda pessoal e espiritual e também pelo acolhimento. Muito obrigado;

 Aos professores da Universidade Estadual de Maringá que ajudaram na minha formação;

Xİİ

✓ Ao funcionário do IQ Anderson Pedrosa pela amizade;

✓ À incrível turma de 2001 da Universidade Estadual de Maringá-Química Licenciatura, e os agregados, que me rendeu muitos amigos e colegas queridos e que até hoje fazem parte da minha vida. Um abraço especial para Silvia L. Fávaro, Alexandra M. Gonçalves e Francielle M. Shimizu;

✓ Aos outros amigos que fiz na Universidade Estadual de Maringá, os meus queridos "irmãos" de laboratório, outros amigos da química, matemática e de outros cursos;

 Aos queridos professores da Escola Estadual Monteiro Lobato (Colorado-PR) pela sua dedicação excepcional, carinho e contribuições em minha formação;

✓ Ao Benedito Filho pela amizade e conversas divertidas;

✓ Às pessoas maravilhosas que conheci no IQ e na Unicamp nos últimos anos, lista que encerra muitos nomes e pessoas dos mais diferentes regiões do mundo e do país. Um abraço especial para os nordestinos (em sua maioria piauienses), paquistaneses, mineiros e latino americanos;

✓ Aos médicos e profissionais da área de saúde Aldo José S. de Araújo,
 Maria Lídia Zillete, Tânia Maron Vichi Freire de Mello e Mayara Brunheroto pelo cuidado e dedicação nos tratamentos.

CURRICULUM VITAE

Formação Acadêmica

2007-2012- Doutorado em Ciências

Pré-concentração baseada na técnica de *ring oven* para microanálise: determinação simultânea de sódio, ferro e cobre em etanol hidratado combustível.

Universidade Estadual de Campinas-Unicamp

2005-2007- Mestrado em Química Analítica

Título: Construção e avaliação de um instrumento para espectroscopia de emissão em plasma induzido por laser (LIBS): Aplicação em ligas metálicas. Universidade Estadual de Campinas-Unicamp

2001-2004- Bacharelado e Licenciatura em Química

Universidade Estadual de Maringá-UEM

Artigos publicados

Borba, F. S. L.; Cortez, J.; Asfora, V. K.; Pasquini, C.; Pimentel, M. F.; Pessise, A.; Khouryc, H. J.; **Multivariate Treatment of LIBS Data of Prehistoric Paintings;** *J. Braz. Chem. Soc.* **2012**, *23*, 958.

Silva, M. J.; Cortez, J.; Pasquini, C.; Honorato, R.; Paim, A. P.; Pimental, M. F.; Gunshot Residues: Screening Analysis by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy; *J. Braz. Chem. Soc.* 2009, *20*, 1887.

Pontes, M. J. C.; Cortez, J. ; Galvão, R. K. H.; Pasquini, C.; Araújo, M. C. U.; Coelho, R. M.; Chiba, M. K.; Abreu, M. F.; Madari, B. E.; **Classification of Brazilian soils by using LIBS and variable selection in the wavelet domain;** *Anal. Chim. Acta* **2009**, *642*, 12.

Pasquini, C.; Cortez, J.; Silva, L. M. C. E.; Gonzaga, F.B.; Laser Induced Breakdown Spectroscopy; *J. Braz. Chem. Soc.* 2007, *18*, 463.

RESUMO

PRÉ-CONCENTRAÇÃO BASEADA NA TÉCNICA DE *RING OVEN* PARA MICROANÁLISE: DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE SÓDIO, FERRO E COBRE EM ETANOL HIDRATADO COMBUSTÍVEL POR ESPECTROCOPIA DE EMISSÃO ÓPTICA EM PLASMA INDUZIDO POR LASER (LIBS)

A técnica de *ring oven*, originalmente desenvolvida por Weisz em 1954 é revisitada com o objetivo de ser utilizada em um procedimento simples e altamente eficiente de préconcentração de analitos antes da determinação por técnicas analíticas de microanálise. A técnica de pré-concentração proposta é baseada na utilização de um pequeno volume de amostra que é transferida gota-a-gota, com o auxílio de um sistema de análise por injeção em fluxo, para um substrato de papel de filtro. O papel de filtro é mantido em um pequeno forno circular aquecido (ring oven). As gotas da solução da amostra difundem por capilaridade do centro do papel de filtro para a frente do solvente. Depois do término do processo, um anel com um contorno circular bem definido (0.35 mm de largura e cerca de 2,0 cm de diâmetro) é formado no papel de filtro e este contém, pré-concentrados, os elementos presentes no volume processado de amostra. Coeficientes de préconcentração do analito podem alcançar 250 vezes (m/m) para um volume de amostra de 600 µL. O sistema proposto foi avaliado para pré-concentrar Na, Fe e Cu presentes em amostras de etanol hidratado combustível, em nível de µg mL⁻¹. O procedimento de préconcentração não utiliza nenhum solvente adicional, aos já existentes na amostra, nem reagentes adicionais, podendo ser considerado um método limpo, de acordo com os preceitos da química analítica verde. A determinação direta e simultânea dessas espécies, no contorno do anel, foi realizada empregando a técnica microanalítica de espectroscopia de emissão óptica em plasma induzida por laser (LIBS). Os limites de detecção encontrados atendem as exigências da Agência Nacional de Petróleo (ANP) para controle do etanol combustível. Os limites de detecção são de 0,9; 0,5 e 0,4 mg kg⁻¹ para sódio, ferro e cobre, respectivamente. O potencial da associação da técnica de ring oven e LIBS, uma representante das técnicas analíticas de microanálise, foi demonstrado, ajudando os limites de detecção das medidas LIBS e abrindo um novo caminho para o uso do ring oven em novas propostas analíticas e na associação com outras técnicas de microanálise.

ABSTRACT

PRECONCENTRATION BASED ON RING OVEN TECHNIQUE FOR MICRO-ANALYSIS: SIMULTANEOUS DETERMINATION OF SODIUM, IRON AND COPPER IN FUEL ETHANOL BY LASER INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY.

The ring oven technique, originally developed by Weisz in 1954, is revisited to be used in a simple though highly efficient procedure for analyte preconcentration prior its determination by the micro-analytical techniques presently available. The proposed preconcentration technique is based on the dropwise delivery of a small volume of sample to a filter paper substrate, assisted by a flow-injection system. The filter paper is maintained in a small circular heated oven (the ring oven). Drops of the sample solution diffuse by capillarity from the center of filter paper to the solvent front. After the total sample volume has been delivered, a ring with a sharp (c.a. 0.35 mm) circular contour, of about 2.0 cm diameter is formed on the paper to contain most of the analytes originally present in the sample volume. Preconcentration coefficients of the analyte can reach 250 fold (on a m/m basis) for a sample volume small as 600 µL. The proposed system and procedure have been evaluated to concentrate Na, Fe and Cu in levels of µg mL⁻¹ in fuel ethanol. The preconcentation procedure uses no solvent or reactant, besides the already existing in the sample, in agreement with the principles of green analytical chemistry. The simultaneous determination of these species in the ring contour, was made by employing the micro-analytical technique of laser induced breakdown spectroscopy (LIBS). The detection limits are sufficient to attend to the requirements of the National Agency of Petroleum (ANP) aiming at the quality control of fuel ethanol. The detection limits are 0.9, 0.5 and 0.4 mg kg⁻¹ for sodium, iron and copper, respectively. The potential of association between the ring oven technique and LIBS, representative of the microanalytical techniques, was demonstrated, helping to achieved a better detectivity in LIBS measurements and opening the path for new analytical proposals and for the association with others microanalytical techniques.

Índice

Lista de Tabelasxxiii
Lista de Figurasxxv
I. INTRODUÇÃO1
I.1. A técnica de pré-concentração por <i>ring oven</i> 3
I.2. Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma Induzido por Laser (LIBS)10
I.3. Amostras líquidas em LIBS: emprego de suporte sólido e associação com métodos de pré-concentração15
I.4. Etanol hidratado combustível21
II. OBJETIVOS23
III. PARTE EXPERIMENTAL24
III.1. Desenvolvimento do sistema de pré-concentração por ring oven24
III.2. O instrumento LIBS34
III.3. Soluções padrão de etanol hidratado, reagentes e amostras
III.4. Procedimento de pré-concentração por <i>ring oven</i> para amostras de etanol hidratado
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO45
IV.1. Estudos preliminares acerca da formação do anel e do processo de pré- concentração45
IV.2. Imagens por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e mapeamento por Espectrometria de Energia Dispersiva de Raio-X (EDS/EDX) 51
IV.3. Avaliação do perfil do anel e medida da sua largura empregando microscópio óptico
IV.4. Coeficiente de pré-concentração do processo ring oven60
IV.4.1. Cálculo do coeficiente de pré-concentração teórico (K)60

IV.4.2. Coeficiente de pré-concentração experimental		
IV.5. Efeito do volume da amostra no sinal analítico66		
IV.6. Efeito do teor de água presente no etanol67		
IV.7. Otimização dos parâmetros experimentais do sistema LIBS70		
IV.7.1. Energia do pulso de laser71		
IV.7.2. Ganho da placa do microcanal (MCP)77		
IV.7.3.Tempo de atraso e tempo de integração78		
IV.7.4. Número de pulsos84		
IV.7.5. Condições otimizadas85		
IV.8. Figuras de mérito86		
IV.8.1. Curvas analíticas86		
IV.8.2. Limites de detecção90		
IV.8.3. Repetibilidade e Precisão Intermediária91		
IV.8.4. Exatidão93		
IV.9. Utilização do papel de filtro e de outros substratos para pré-concentração		
por ring oven96		
V. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS98		
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS101		
VII. APÊNDICE A: ESPECTROS LIBS TÍPICO116		

Lista de Tabelas

Tabela 1. Limites de detecção (LOD) em μg mL ⁻¹ obtidos com o uso de substratos sólidos e na análise direta de soluções aquosas por LIBS 19
Tabela 2. Relações sinal-ruído obtidas para os tempos de atraso selecionados .81
Tabela 3. Relação sinal-ruído dos tempos de integração selecionados. Tempo deatraso = 500 ns83
Tabela 4. Relação sinal-ruído de acordo com o número de pulsos acumulados por ponto 84
Tabela 5. Repetibilidade e precisão intermediária para cobre, ferro e sódio em trêsníveis de concentração diferentes.92
Tabela 6. Concentrações de ferro, cobre e sódio presentes nas amostras originaisde etanol hidratado (mg kg ⁻¹) obtidas pelos métodos oficiais da ABNT
Tabela 7. Recuperação (%) para as amostras de etanol hidratado comercial apartir da associação da técnica de pré-concentração por <i>ring oven</i> com LIBS95

Lista de Figuras

Figura 1. Ring oven
Figura 2. Instrumento LIBS e seus componentes13
Figura 3. Anéis formados durante a realização dos experimentos iniciais deste trabalho, utilizando o bombeamento direto de uma solução de etanol contendo Fe (III), Cu (II) e Na e secagem com fluxo de ar quente 26
Figura 4. Dois dispositivos empregados no sistema inicial de pré-concentração por formação de anéis com o uso de fluxo de ar quente e bombeamento direto da amostra
Figura 5. Última configuração do sistema de pré-concentração por anéis empregando fluxo de ar quente produzido por um secador
Figura 6. Anel formado com o uso de fluxo de ar quente e suporte retangular de alumínio, conforme mostrado na Figura 528
Figura 7. Sistema de pré-concentração empregando chapa de aquecimento29
Figura 8. Sistema de pré-concentração com fita de aquecimento29
Figura 9. Sistema de pré-concentração em seu estágio final e forno em visão frontal e superior
Figura 10. Fotografia do instrumento LIBS35
Figura 11. Sistema auxiliar para posicionamento correto da amostra (anel) no feixe de laser do sistema LIBS
Figura 12. Anéis formados com a adição de 10 e 20 mg L ⁻¹ de níquel (lado esquerdo) e cobalto (lado direito) na amostra concentrada por ring oven
Figura 13. Anéis formados com a adição de corantes na amostra antes do processo de pré-concentração e as respectivas soluções de etanol contendo os metais e algumas gotas de corante
Figura 14. Etapas e dispositivo para transferência da solução de corante para o centro do papel de filtro

Figura 15. Papel de filtro antes e depois do processo de pré-concentração por ring Figura 16. Fotografia do forno obtida durante processo de pré-concentração.43 Figura 17. Anéis formados em meio alcalino (A) e em meio ácido (B) com o uso do sistema que emprega ar quente para evaporação da solução.46 Figura 18. Intensidade das linhas de emissão características dos elementos de acordo com a posição em relação ao anel......48 Figura 19. Anéis formados a partir da pré-concentração de 600 µL de uma Figura 20. Anéis formados a partir da pré-concentração de 600 µL de uma Figura 21. Anéis formados a partir da pré-concentração de 600 µL de uma solução contendo 5 mg L⁻¹ de ferro.....**50** Figura 22. Anel contendo íons ferro (III) revelado com solução de tiocianato adicionado no sistema de pré-concentração por ring oven.51 Figura 23. Imagens obtidas por MEV do anel resultante do processo de préconcentração por *ring oven*.....**52** Figura 24. Mapeamento da região do anel e redondezas feito por EDS (feixe de Figura 25. Imagens obtidas por microscópio óptico das fibras do papel de filtro utilizado no processo ring oven......55 **Figura 26.** Imagens do anel formado a partir da solução de 5 mg L⁻¹.**56 Figura 27.** Imagens do anel formado a partir da solução de 15 mg L⁻¹**57 Figura 28.** Imagens obtidas do anel gerado a partir da solução de 15 mg L⁻¹ com a adição de solução de tiocianato......58 Figura 29. Medidas das larguras do anel formado a partir da solução de 15 mg L⁻¹ com adição de tiocianato......59

Figura 30. Regiões do anel (em preto) amostradas pelos pulsos de laser do sistema LIBS.......60

Figura 31. Representação esquemática do anel em um papel de filtro.....61

Figura 32. Espectros de emissão obtidos pela média de 20 espectros (60 pulsos de laser) para papel de filtro Whatman 40, anel resultante da pré-concentração de 600 μ L de uma solução de 5 mg L⁻¹ contendo sódio, ferro e cobre e mancha feita em papel de filtro a partir de 20 μ L da mesma solução......**64**

Figura 34. Anéis formados com diferentes teores de água.69

Figura 35. Diâmetro do anel em função do teor de água na amostra de etanol...69

Figura 36. Relação sinal-ruído obtidas para as manchas medidas em diferentes energias do pulso de laser (60 locações e 300 pulsos de laser/ 1 µs de tempo de atraso e 2 µs de tempo de integração)......**72**

Figura 38. Intensidades obtidas para cada ponto individualmente (acumulação de 5 pulsos por ponto) de acordo com a ordem temporal de medida, para ferro, cobre e sódio, nos dois dias, na energia de 111,4 mJ pulso⁻¹.....**75**

Figura 39. Intensidades obtidas para cada ponto individualmente (acumulação de 5 pulsos por ponto) de acordo com a ordem temporal de medida, para o ferro (primeiro dia) e cobre (segundo dia) nas energias de 80,7 e 60,1 mJ pulso⁻¹.....**76**

Figura 40. Variação da relação sinal-ruído com o aumento do ganho.78

Figura 41. Variação da relação sinal-ruído com o tempo de atraso para um tempo de integração fixo a 500 ns.80

I. INTRODUÇÃO

O processo de quantificação de um analito por uma determinada técnica analítica envolve várias etapas. A técnica disponível ou a mais indicada, considerando-se sua seletividade, para o analito em questão, pode não apresentar sensibilidade adequada para os níveis de concentração presentes na amostra original. Desta forma, torna-se necessária uma etapa de pré-concentração para aumentar a quantidade de analito presente em um determinado volume ou massa a ser finalmente submetido à etapa de medida [1].

As técnicas de pré-concentração podem envolver desde a simples evaporação do solvente, reduzindo o volume onde se concentra o analito, até o uso de processos complexos e clássicos como extração líquido-líquido (*liquid-liquid extraction*-LLE) e extração em fase sólida (*solid-phase extraction*-SPE), ou ainda mais modernos, como extração com fluido supercrítico (*supercritical fluid extraction*-SFE) e extração com membranas sólidas (diálise e ultrafiltração) ou líquidas.

Na LLE, assim como na SPE clássica, é empregado um volume relativamente grande de solventes, muitas vezes orgânicos e/ou tóxicos, no processo de extração. Em LLE, os analitos ou espécies deles derivadas que apresentam alta afinidade pela água são apenas parcialmente extraídos pelo solvente orgânico, resultando em diminuição da sua recuperação. Além disso, a adsorção dos analitos na vidraria utilizada pode ocorrer, bem como a decomposição de espécies instáveis termicamente, quando o uso de temperaturas elevadas for necessário [2].

Na extração com fluido supercrítico não há uso de solventes orgânicos, mas o analito deve ser solúvel no fluido e a extração tem que ser operada em pressões altas (em alguns casos superiores a 1000 atm). Além disso, devido a baixa polaridade do CO₂, mais utilizado em SFE, a recuperação de constituintes polares é baixa [3]. No caso da extração com o uso de membranas, o principal

inconveniente é a variação da interação que a membrana pode ter com os diversos constituintes da amostra [2].

Em geral, estes processos requerem um volume grande de amostra e envolvem várias etapas e reagentes, fatos que os tornam dispendiosos e que aumentam os riscos de erros e perdas do analito. Além disso, eles envolvem, muitas vezes, mecanismos complexos de permeação e partição, que tornam o processo de pré-concentração mais sujeito a influência de fatores externos como a temperatura e pressão. Eles, de modo geral, também são dependentes da afinidade dos analitos com a matriz e com o meio de extração, sendo difícil encontrar um método que concentre analitos com propriedades químicas muito distintas.

Na microextração em fase sólida (*solid phase microextraction*-SPME), empregada em cromatografia gasosa, por exemplo, são utilizados volumes menores de amostra (da ordem de alguns mililitros). O procedimento é mais rápido do que os citados anteriormente, obtendo-se, geralmente, extratos mais limpos, sem a utilização de solventes para a eluição. Porém, é necessário que o analito seja volátil e termicamente estável [4].

Além da SPME também existe a versão moderna da LLE, a microextração líquido-líquido. Porém, ambos os métodos descritos, se tornam praticamente inviáveis quando um volume pequeno de amostra (da ordem de microlitros) encontra-se disponível. Volumes pequenos de amostra exigem volumes também pequenos de solventes, mais difíceis de serem manipulados. A manipulação dos aparatos e dispositivos necessários à pré-concentração do analito pode se tornar mais difícil quando volumes pequenos da amostra devem ser processados [5].

Porém, a maior dificuldade em pré-concentrar amostras em micro escala reside na necessidade de manipular as pequenas quantidades de material geradas ao final do processo. Normalmente, nesta etapa, transfere-se o material contendo o analito concentrado ou eluí-se o analito para um meio que possibilita o uso de uma determinada técnica analítica. O uso de um volume relativamente grande de solvente nesta etapa causa uma redução no fator de pré-concentração do analito.

Por outro lado, atualmente, existem técnicas microanalíticas capazes de trabalhar com quantidades muito pequenas de amostras, ou seja, diretamente com pequenas quantidades da amostra pré-concentrada, gerando medidas reprodutíveis e sem causar perda no fator de pré-concentração, uma vez que a etapa de transferência do analito torna-se desnecessária.

A combinação de métodos de pré-concentração de analitos em volumes reduzidos de material concentrado e sua associação com técnicas microanalíticas tem sido pouco explorada, embora ela se enquadre no cenário da química analítica moderna, que busca menor consumo de amostra e de reagentes, com geração mínima de resíduos, de acordo com os preceitos da química verde [6].

I.1. A técnica de pré-concentração por ring oven

A técnica de *ring oven* (do inglês *ring*-anel e *oven*-forno) foi descrita no ano de 1954 pelo químico alemão Herbert Weisz, sendo por esse motivo, também conhecida como *ring oven* de Weisz [7]. Como não foi encontrada nenhuma tentativa na literatura de denominar a técnica em língua portuguesa, ao longo do texto será empregada sua denominação em inglês, destacando aqui que o termo *ring oven* é empregado tanto para indicar a técnica como o dispositivo (forno) empregado por ela.

A técnica de *ring oven* é basicamente um tipo especial de análise de toque (*spot test*), desenvolvida por Fritz Feigl [8,9], feita em papel de filtro [10]. Neste contexto, ela constitui um tipo de análise de toque mais sensível, em que o analito é concentrado em uma região em forma de um anel circular bem definido, formado sobre um substrato sólido, comumente constituído por um papel de filtro.

A aparelhagem utilizada na técnica de *ring oven* é relativamente simples e emprega uma espécie de forno (que leva o mesmo nome da técnica) normalmente feito de alumínio. O forno consiste, tipicamente, de um bloco cilíndrico de 35 mm de altura e 55 mm de diâmetro com um orifício central de 22 mm de diâmetro. Essas medidas são as recomendadas por Weisz (inventor da técnica), mas não

são determinantes para o funcionamento do processo de pré-concentração, ou seja, as dimensões do forno podem ser flexíveis. Desta forma, os demais dispositivos associados ao forno, descritos abaixo, também podem ser adaptados caso a caso [11,12].

O forno (bloco de aquecimento) é suportado por uma base, com um orifício com um diâmetro interno um pouco maior do que o do forno, e é aquecido empregando-se um fio metálico resistivo ao qual é aplicada uma corrente elétrica constante. Ambos, a base e o bloco de aquecimento, são sustentados por um suporte vertical. A temperatura do forno é estabelecida por meio do controle da corrente que passa pelo fio resistivo que, por sua vez, controla a potência dissipada pelo resistor. A temperatura usual de operação do forno, quando amostras aquosas são processadas, é de 105 °C a 110°C.

Um pequeno tubo de vidro com cerca de aproximadamente 60 mm de comprimento, com posição vertical e horizontal ajustáveis, serve para ajudar a direcionar corretamente a micropipeta que contém a amostra. A micropipeta tem como função dispensar uma pequena quantidade da amostra. Normalmente, uma ou duas gotas da amostra, nos procedimentos desenvolvidos por Weisz, são suficientes.

Na sua concepção mais simples, a técnica emprega um pequeno volume de amostra que é dispensado, por meio da micropipeta, no centro de um papel de filtro colocado entre as duas partes cilíndricas do forno. A parte não volátil da amostra, depositada no centro do papel de filtro e que não foi volatilizada pela alta temperatura do forno, é transportada até a parede do forno aquecido, de formato cilíndrico, por meio da adição, feita com a mesma micropipeta, de uma solução ácida (normalmente constituída por ácido clorídrico diluído) ou outro reagente. Ao atingir a parede do forno, o solvente, utilizado para arraste da amostra, é evaporado e um anel estreito (espessura menor que 1 mm) é formado próximo à parede do forno, no qual se concentram os analitos. O processo requer usualmente algumas gotas de amostra (cerca de uma a três gotas) e cerca de dez gotas de solução ácida para lavar o local de aplicação (*spot*) da amostra [13].

A Figura 1 mostra a ilustração do *ring oven* desenvolvido por Weisz e de um *ring oven* comercializado quando a técnica encontrava-se no seu auge (nas décadas de 60 a 70). As imagens foram reproduzidas e adaptadas do livro *Microanalysis by the Ring Oven Technique* [10], com permissão da editora.



Figura 1. *Ring oven*. A: Esquema do *ring oven* descrito por Weisz e B: Ring oven comercial da época. Imagens gentilmente cedidas pela Elsevier.

Uma pequena lâmpada posicionada abaixo do sistema auxilia na visualização do anel e no acompanhamento do processo. O papel de filtro empregado deve ser de qualidade requerida em análises quantitativas, para minimizar possíveis contaminações.

A técnica de *ring oven* não é considerada uma cromatografia em papel, apesar de ser também realizada no mesmo substrato e ter sido referenciada na literatura como "um tipo especial de cromatografia em papel". Em cromatografia em papel, as separações são baseadas em migração diferencial das espécies presentes na amostra a partir de um ponto de partida, frente a um solvente ou uma mistura de solventes. Já no *ring oven* não ocorre migração diferencial das substâncias, todas as substâncias não volatéis presentes migram para o anel [10]. O mecanismo apontado nas publicações de referência [7,10], publicações relativas à técnica e assinadas pelo criador da mesma (Weisz), como o responsável pela formação do anel é a capilaridade, porém não são dados detalhes a respeito do processo.

A técnica de *ring oven* foi mais empregada para fins qualitativos, verificando-se a presença do analito no anel borrifando-se um reagente seletivo adequado que gerava um produto colorido. Um processo que pode ser chamado de "revelação" do anel.

O *ring oven* também era utilizado para etapas de separações que envolviam a formação de dois ou mais anéis, processos de precipitação e extração com solvente [14]. Esquemas de separação para um número relativamente grande de elementos de interesse foram arquitetados [10,15]. Dessa forma, era possível identificar duas ou mais espécies na amostra. Um pequeno laboratório de química analítica era montado com o aparato do *ring oven*. Um exemplo adaptado do livro de Weisz [10] ajuda a ilustrar de uma maneira simples essa capacidade do *ring oven*:

Uma gota de amostra contendo chumbo, ferro e zinco em meio ácido é aplicada no centro do papel de filtro inserido no forno aquecido. O ponto de aplicação da amostra é primeiro tratado com sulfeto de hidrogênio para precipitar o chumbo. O ferro e o zinco são então lavados para o ring oven (parede do forno aquecido) com ácido clorídrico para uma zona interna (12 mm de diâmetro), para tal é empregado um adaptador para reduzir o diâmetro do forno. Depois o adaptador é removido e o zinco é lavado em outra zona de anel (22 mm de diâmetro) com solução de amônia e o ferro fica precipitado como hidróxido no anel interno. Como resultado final, o papel de filtro contém chumbo no ponto de aplicação inicial da amostra que é circundado por um anel interno contendo ferro e por outro anel mais externo contendo zinco.

Entretanto, um pequeno número de aplicações quantitativas é descrito na literatura, sendo, na maior parte das vezes, restritas à associação da técnica com colorimetria ou redissolução do analito presente no anel para posterior medida por uma técnica analítica adequada. A redissolução, certamente, afeta desfavoravelmente o coeficiente de pré-concentração do analito alcançado pelo processo.

Na associação com colorimetria, a determinação quantitativa é realizada pela comparação da escala de cores de anéis produzidos com soluções padrão contendo diferentes concentrações conhecidas do analito, com a coloração dos anéis formados a partir da amostra [16]. Da mesma forma que na determinação

qualitativa, reagentes são utilizados para revelar o anel. Porém, neste caso a intensidade da coloração fornece a informação quantitativa.

As aplicações da técnica são abrangentes e vão desde a simples determinação de metais, cátions e ânions inorgânicos [17-21] até a determinação de moléculas orgânicas (e.g. nicotina, proteínas) [22-25]. As matrizes também são as mais variadas: sangue [26], solo [27], petróleo [28], inseticida [29], drogas [30], substâncias radioativas [31], entre outras.

A principal vantagem da técnica está na sua simplicidade. O forno pode ser facilmente produzido e adaptado às diferentes necessidades. Outro ponto favorável é que os anéis podem ser preservados durante dias e até meses, quando o produto gerado, responsável pela coloração do anel, for estável.

A necessidade de eliminação de interferentes da "reação de revelação" do anel é um ponto crítico e que dificultou o emprego da técnica com fins quantitativos e, adicionalmente, contribui para aumentar o tempo de análise.

A importância da técnica na época pode ser atestada pela recomendação do seu uso em livros de análise de toque (*spot test*) [32,33] e, também pelo destaque dado por Fritz Feigl (pioneiro da análise de toque) à técnica de *ring oven*, sendo que o mesmo escreveu o prefácio da segunda edição do livro de Weisz publicado em 1970 (a primeira edição data de 1961), no qual tece elogios ao potencial da técnica e menciona o destaque alcançado [10].

Apesar disto, o *ring oven* caiu em desuso, juntamente com outras técnicas de análise de toque, e, na década de oitenta, o número de publicações era bem reduzido [34]. Em 1988 são encontradas somente oito publicações [35-42], seguidas de três [43-45], cinco [46-50], duas [51,52], uma [53], três [54-56] e duas [57-58] nos anos de 1989, 1990, 1991, 1992, 1993 e 1994, respectivamente. Depois do ano de 1994 aparecem somente três publicações isoladas nos anos de 1997 [59], 1998 [60] e 2003 [61].

O trabalho de 1997 [59] consiste de um artigo de revisão bibliográfica sobre cromatografia em camada delgada que abrange o período de 1960 a 1995 e que cita a combinação desse tipo de cromatografia com a técnica de *ring oven*. O artigo de 1998 [60] descreve a aplicação do *ring oven* para determinação de

chumbo, mas não é possível saber se um novo método foi desenvolvido ou se apenas houve a repetição de um método existente, uma vez que o texto completo do artigo está escrito em chinês. A publicação mais recente [61], ano de 2003, apenas repete um método já desenvolvido em 1987 para determinação de cromo por *ring oven*.

O surgimento das técnicas modernas de absorção e emissão atômica contribuiu para que a técnica caísse em desuso. Na ocasião em que o *ring oven* foi proposto e desenvolvido, as técnicas analíticas existentes não eram capazes de explorar diretamente a pré-concentração do analito por ela proporcionada com enfoque quantitativo.

Atualmente, as técnicas de microanálise de caráter multielementar abrem novas perspectivas para o *ring oven*. Com o uso dessas técnicas é possível prever a quantificação direta dos analitos presentes na região do anel, sem a necessidade de retomar, por meio de redissolução, o conteúdo do anel e, dependendo da técnica analítica empregada na determinação, sem a necessidade de eliminação de interferentes. Muitas técnicas microanalíticas permitem que a determinação seja realizada sem o uso de um reagente seletivo (como necessário na associação com colorimetria e espectrofotometria), podendo ser substituído por qualquer substância colorida, reativa ou não, que possa ser empregada somente com a finalidade de definir e localizar o contorno do anel. A análise direta também proporciona o aproveitamento máximo da pré-concentração do analito gerado pelo *ring oven*.

Técnicas especialmente desenvolvidas para a microanálise como espectroscopia de energia dispersiva (*Energy-dispersive X-ray spectroscopy*-EDS) [62] e técnicas, que no decorrer de seu desenvolvimento, resultaram em modalidades voltadas para a microanálise como Raman [63], espectroscopia do infravermelho próximo (Near infrared-NIR) [64] e fluorescência de raios-X (X-ray fluorescence-XRF) [65], apresentam potencial para serem empregadas em determinações quantitativas em conjunto com o *ring oven*. Destaca-se aqui, também, as técnicas baseadas em ablação a laser [66,67], nas quais o laser consegue amostrar uma região pequena e bem definida da amostra (no caso, o

anel). Técnicas que possibilitam a amostragem direta de sólidos também poderiam ser empregadas, como é o caso da absorção atômica baseada em forno de grafite (*Graphite furnace atomic absorption spectrometry*-GFAAS) [68].

A espectrofotometria empregando fibras ópticas também poderia ser empregada da mesma forma como a qual Weisz a associou ao *ring oven* com colorimetria. As vantagens decorrentes desta associação estariam na medida instrumental da intensidade da cor formada no anel, tornando a técnica quantitativa menos subjetiva.

A partir de uma amostra, de composição desconhecida, é possível realizar o processo de pré-concentração por *ring oven*, e com o auxílio de uma técnica microanalítica, efetuar uma análise de *screening* da amostra.

A associação das técnicas microanalíticas com a técnica de *ring oven* conserva as principais vantagens desta técnica, como a simplicidade do processo e da instrumentação, uso de pequena quantidade de amostra e confecção de padrões estáveis. A eliminação de interferentes e o processo de escolha de um reagente colorimétrico seletivo, suas principais dificuldades apontadas no passado, tornam-se etapas desnecessárias. O maior ganho do uso da técnica de *ring oven* hifenada às técnicas de microanálise estaria na melhoria do desempenho analítico da técnica empregada, diminuindo os limites de detecção devido ao aproveitamento completo da pré-concentração do analito proporcionada pelo *ring oven*.

Outros trabalhos têm sido descritos com enfoque em procedimentos de préconcentração para técnicas de microanálise. Link e colaboradores [69] descrevem um método de pré-concentração pontual onde a amostra líquida é concentrada em um filme de polipropileno por um processo de secagem baseado em microondas. O processo de pré-concentração é desenvolvido para uso em µ-XRF. Em outro trabalho [70], uma placa de vidro tratada hidrofobicamente é usada como suporte para a formação de um anel de fluoresceína e que é quantificada microscopicamente por fluorescência empregando uma câmera CCD.

O uso de papel como substrato e o uso de pequenas quantidades de amostra também são os princípios que norteiam outras propostas descritas na
literatura, como dispositivos analíticos microfluídicos baseados em papel *(microfluidic-paper based analytical devices-µPADs)* [71,72] e sensores dos mais variados tipos [73,74], sendo que, algumas vezes são usados em determinações simultâneas [75]. A necessidade de pouco ou nenhum tratamento da amostra, a simplicidade e o baixo custo também são apontados como vantagens desses dispositivos.

Neste trabalho, é feita uma releitura da técnica de pré-concentração por *ring oven* aliado a uma técnica microanalítica, no caso específico a Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma induzido por Laser (LIBS). A escolha da técnica LIBS se justifica pelo fato de que ela se encontra ainda em fase de desenvolvimento e consolidação e por apresentar como um dos seus principais nichos, a microanálise. Além disso, esta técnica apresenta dificuldades para efetuar medidas diretas em amostras líquidas e os limites de detecção são altos quando comparados aos de outras técnicas analíticas. Desta forma, provavelmente, uma técnica de pré-concentração em um substrato sólido, nesse caso o *ring oven*, ajudaria a melhorar o desempenho quantitativo da técnica.

I.2. Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma Induzido por Laser (LIBS)

A técnica analítica LIBS (do inglês: *Laser Induced Breakdown Spectroscopy*, em português: *Espectroscopia de Emissão Óptica Induzida por Laser*), baseia-se em uma fonte de laser pulsada empregada para ablar, atomizar e induzir a formação de um plasma no qual as espécies atômicas e iônicas são excitadas e decaem aos seus níveis fundamentais emitindo radiação eletromagnética característica. A radiação emitida é coletada, analisada e as linhas de emissão constituem a base dos métodos analíticos qualitativos e quantitativos [76].

A técnica LIBS tem despertado a atenção de pesquisadores pela facilidade com a qual se realiza as medidas, pois, em geral, não requer nenhum tratamento prévio da amostra ou este é muito simples e rapidamente realizado. Estas características qualificam a técnica LIBS para uso *in situ* [77] e *on line* [78], fornecendo resultados em curto intervalo de tempo. A terminologia brasileira "Espectroscopia de Emissão Óptica em Plasma Induzido por Laser" não foi oficializada, sendo por esse motivo a abreviatura em inglês usada no decorrer deste texto.

LIBS não concorre com as técnicas analíticas consolidadas como, por exemplo, a espectrometria óptica de emissão em plasma indutivamente acoplado (ICP OES) ou a espectroscopia de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) no que se refere à detecção de espécies de interesse em concentrações muito baixas, uma vez que os seus limites de detecção típicos estão na faixa de partes por milhão (ppm, mg L⁻¹ ou mg kg⁻¹) do analito na amostra, sendo que em alguns casos pode atingir partes por bilhão (ppb, μ g L⁻¹ ou μ g kg⁻¹) [76,79].

A técnica LIBS mostra-se como uma alternativa em análises de amostras, para as quais outras técnicas apresentam dificuldades, atuando em alguns nichos específicos da análise química pouco explorada por outras técnicas analíticas. Dentre estes nichos destaca-se o seu uso diretamente em amostras sólidas de qualquer natureza (condutora ou não), análise à distância (*stand-off analysis*) e a microanálise [79]. Ela também tem sido usada como técnica complementar ou adicional, tendo como principal exemplo a sua associação com a espectroscopia Raman [80,81].

LIBS é útil quando uma pequena quantidade de amostra está disponível ou quando a amostra não pode ser severamente danificada, como no caso de amostras de interesse histórico e cultural. O caráter praticamente não-destrutivo se deve ao fato de que somente cerca de poucos nanogramas a microgramas da amostra são vaporizados de uma amostra no processo analítico, provocando danos mínimos, e, em alguns casos, praticamente imperceptíveis a olho nu.

A característica multielementar da técnica LIBS constitui uma característica importante em análises qualitativas. Na análise quantitativa, por sua vez, as

11

vantagens advindas desta característica dependem da conciliação de condições experimentais que permitam a quantificação simultânea dos constituintes de interesse, assim como acontece com outras técnicas analíticas de caráter multielementar.

A resolução espacial permitida pelo processo de amostragem possibilita o seu uso em microanálise e análise de superfície, podendo realizar medidas e mapeamentos em áreas bem pequenas (da ordem de μ m²) [82]. O laser pode ser focado em uma área bem pequena da amostra, e com o uso de lasers de *microchips* a resolução espacial pode ser ainda melhor [83]. Por outro lado, esta característica, inerente ao processo de amostragem da técnica, dificulta a análise quantitativa [84]. É necessário definir uma quantidade de pontos a serem analisados, para que se tenha representatividade da amostra, se os resultados deverão ser comparados com aqueles obtidos por técnicas que fornecem informações referentes à composição média (*bulk*) da amostra. Além disso, a análise sofre uma maior influência da falta de homogeneidade da amostra, problema que tem sido minimizado com o aumento da quantidade de pontos

A técnica LIBS sofre com a falta de reprodutibilidade que se deve, em grande parte, ao fato de os fenômenos de ablação por laser e formação do plasma serem complexos e, por isso, difíceis de serem reproduzidos. Além disso, a reprodutibilidade é afetada pelas flutuações de energia apresentadas pelo laser [86]. A interferência de matriz e a dificuldade de encontrar padrões adequados são problemas enfrentados por LIBS, mas não são exclusivos desta técnica, ocorrendo também com outras técnicas analíticas já consolidadas (e.g. fluorescência de raios-X).

Os componentes básicos de um instrumento LIBS são: um laser pulsado de alta energia, uma lente para focar o laser na superfície da amostra, um monocromador, um detector e uma lente para coleta da emissão proveniente do plasma, o que demonstra a sua simplicidade instrumental. Um diagrama esquemático de um instrumento LIBS é apresentado na Figura 2.

12



Figura 2. Instrumento LIBS e seus componentes. a: fonte de alimentação e refrigeração do laser, b: cabeça do laser; c: sinal de acionamento do detector gerado pelo laser; d:espelho dicróico refletindo a 45°; e: fibra óptica; f: lentes para foco e coleta da radiação; g: amostra; h: monocromador/ policromador; i: detector; j: computador para aquisição dos dados. *Adaptado de Pasquini, C.; Cortez, J.; Silva, L. M. C. , Gonzaga, F. B.; J. Braz. Chem. Soc. 2007,18, 463.*

Em um sistema LIBS em operação, um laser pulsado é focalizado na superfície da amostra, sendo que, desta forma, a irradiância (potência por unidade de área) assume valores muito elevados, tipicamente 10⁹ a 10¹¹ W cm⁻², provocando a vaporização e ablação dos constituintes da amostra e a posterior formação de um plasma de alta temperatura. As espécies presentes na amostra, agora presentes no plasma, começam a emitir, essa emissão é coletada, de forma usual, por uma fibra óptica ou outros componentes ópticos (e.g. espelhos e lentes) ou ainda a associação de ambos. Normalmente é dado um tempo de atraso para a coleta do sinal (frequentemente na faixa de centenas de nanosegundos a microsegundos) para evitar a elevada radiação de fundo presente nos primeiros instantes de vida do plasma. Posteriormente, o sinal proveniente da emissão óptica é integrado em uma janela de tempo normalmente da mesma ordem de grandeza do tempo de atraso e ao tempo em que o sinal é integrado denomina-se tempo de integração. O tempo de atraso e o tempo de integração são parâmetros importantes na aquisição do sinal LIBS [87].

O ciclo de vida do plasma envolve alguns processos complexos. Primeiramente, o pulso de laser atinge a superfície da amostra provocando aquecimento e a ruptura (*breakdown*). O material da amostra sofre ablação e se expande a uma velocidade muito alta (velocidade ultra-sônica) provocando uma alta pressão e conseqüentemente uma onda de choque que é caracterizada por um "estalo" audível. O plasma é formado e atinge uma temperatura elevada. Depois o plasma resfria-se até se extinguir, dando origem a uma cratera que demarca a região sobre a qual foi formado, ou seja, a área que foi amostrada pelo laser.

Em LIBS, o laser é a fonte de vaporização, atomização e excitação das espécies presentes na amostra. Os lasers mais empregados são aqueles pulsados do tipo Nd:YAG. O laser Nd:YAG é um laser de estado sólido que tem como meio ativo um cristal hospedeiro contendo ítrio e alumínio dopado com íons neodímio.

A emissão do plasma é coletada e enviada para a entrada de um monocromador/policromador que podem ser convencionais como Czerny-Turner [88] ou sistemas de alta resolução, como um echelle [89].

Posteriormente, as intensidades são acessadas por um sistema de detecção, que pode ser convencional como uma fotomultiplicadora ou detectores bidimensionais, como arranjos de fotodiodos e detectores de transferência de carga (de carga acoplada ou de injeção de carga). Entre os detectores utilizados têm-se destacado, recentemente, o uso de detectores de carga acoplada intensificados (ICCD) cujas características como sensibilidade, velocidade de resposta e capacidade de amostrar sinais em janelas temporais da ordem de nano a microsegundos, são adequadas às propriedades do plasma gerado por LIBS e da radiação emitida [90].

O campo de aplicação da técnica é bastante amplo e abrange amostras de interesse artístico e cultural, biológico, industrial, além de muitas outras, sendo que o número de novas aplicações descritas tem crescido nos últimos anos [91].

O fato de a amostra ser medida diretamente sem a necessidade de uma etapa de tratamento faz com que a técnica seja especialmente atraente para amostras sólidas, porém ela não apresenta nenhuma restrição ao tipo de amostra, apesar de ter dificuldades para a análise de líquidos, como será discutido a seguir.

14

I.3. Amostras líquidas em LIBS: Emprego de suporte sólido e associação com métodos de pré-concentração.

Embora a técnica LIBS não possua nenhum tipo de limitação com relação ao tipo de amostra analisada (como já foi relatado anteriormente), ela apresenta dificuldades para análise direta de amostras líquidas. Quando submetida a um pulso de alta energia, a onda de choque gerada faz com que a amostra líquida seja projetada e atinja as partes ópticas usadas para focalizar o pulso de laser e para coletar a radiação emitida, além de outras partes expostas do instrumento, impondo a necessidade de limpeza frequente destes componentes. Porém, esse não é o único problema enfrentado quando se analisa uma amostra líquida por LIBS.

As ondas de choque (resultantes da compressão dos gases da atmosfera circundante da amostra provocada pela expansão do plasma) também induzem a formação de ondas na superfície do líquido que contribuem para diminuir a precisão das medidas de pulsos sucessivos, pois aumentam as variações de sinal a cada nova medida. Em consequência da criação de aerossóis (acima da superfície da amostra), também gerados pela onda de choque, produz-se uma espécie de cortina sobre a amostra que absorve parte da energia do pulso de laser subsequente, impedindo, parcialmente, que este alcance a superfície da amostra e, adicionalmente, que a radiação emitida também seja coletada na sua totalidade.

Os pulsos de laser podem gerar bolhas no interior do líquido que são transparentes ao comprimento de onda do laser. Estas podem atingir a superfície do líquido e mudar as características do plasma contribuindo para piorar a reprodutibilidade das medidas.

Tanto as bolhas, quando chegam à superfície, ou as ondas de choque (quando não são dissipadas) podem mudar o ângulo de incidência entre o feixe de laser e a superfície da solução. Essa mudança pode acarretar alteração na fluência do laser e por consequência na intensidade da emissão gerada [92].

O *breakdown threshold* (valor mínimo de irradiância necessária para gerar um plasma visível) em solução aquosa é substancialmente maior em relação a gases e sólidos porque uma grande quantidade de energia do pulso de laser é gasta em efeitos mecânicos, como a vaporização do solvente.

O uso de jatos de amostra líquida, produzidos pelo bombeamento da amostra, pode contribuir para minimizar esses problemas [92-95]. E esta estratégia tem contribuído para a melhoria dos limites de detecção na análise de líquidos. Contudo um volume grande de amostra é empregado, a qual precisa ser bombeada continuamente.

Alterações no instrumento LIBS, com o objetivo de aumentar a sensibilidade para este tipo de amostras, têm sido propostas. Destacam-se o emprego de pulso duplo (dois pulsos de laser empregados na formação ou aquecimento do plasma) [96-102] e o uso de fluorescência induzida por laser (LIF) acoplada com LIBS (LIBS-LIF) [103-104]. Ambas as implementações aumentam a sensibilidade das medidas, mas necessitam de sistemas mais complexos, o que repercute em aumento de custo do instrumento.

Mesmo quando se considera essas alterações instrumentais, têm-se um número reduzido de trabalhos que têm como foco a determinação quantitativa em amostras líquidas diretamente [93-115]. Os limites de detecção variam muito de elemento para elemento, para pulso único podemos encontrar valores que vão desde 0,01 até 1200 mg L⁻¹.

Alguns dos melhores limites de detecção são obtidos quando um número muito grande pulsos de laser é empregado para a análise como, por exemplo, 2000 pulsos [110]. Limites de detecção na faixa de µg L⁻¹, para pulso único, têm sido obtidos pela adição de um componente na amostra que é absorvido fortemente pelo pulso de laser empregado [95].

De uma maneira geral é possível afirmar que os limites de detecção, com o uso de pulso único, estão na faixa de mg L⁻¹, enquanto que os limites para trabalhos que empregam pulso duplo ou LIBS associado a LIF (fluorescência induzida por laser) algumas vezes chegam a atingir a faixa de μ g L⁻¹. A literatura registra diversos procedimentos visando à análise de amostras líquidas por LIBS após sua transferência para um suporte sólido, eliminando, desta forma, os problemas inerentes ao uso desta técnica com este tipo de amostra. A principal vantagem em relação às outras soluções propostas deve-se ao fato de que o uso do suporte sólido não requer modificações instrumentais, o que aumenta o custo do equipamento e sua complexidade, necessárias ao uso direto da técnica em líquidos.

O uso de suportes sólidos se iniciou com os trabalhos de Cremers et al. [116], no início do ressurgimento da técnica LIBS em meados da década de 1980. Estes autores empregaram um filtro de papel para recolher o material particulado presente em amostras de ar ambiente, visando a determinação de berílio. Posteriormente, a superfície do papel de filtro foi varrida com um sistema LIBS e os sinais permitiram a determinação de nanogramas de berílio. Trabalhos similares com o mesmo enfoque sobre materiais particulados foram publicados recentemente [117,118]. Embora essa aplicação tenha sido desenvolvida no início da era moderna do LIBS (na década de oitenta), o uso de substrato sólido como uma alternativa para contornar as dificuldades inerentes às medidas de LIBS em amostras líquidas é mais atual [119-141].

Os substratos sólidos empregados para amostras líquidas são os mais variados: grafite amorfo [119, 120, 136], pedaços de madeira [121,122,138], papel de filtro [126, 127, 128, 129, 130], membrana de troca iônica [123,124], membrana com resina quelante [125], papel absorvente comercial [131,139,141], placas de alumínio [132,133] e de cobre [134,137], carvão de bambu [140] e placas de aço [135].

A transferência do analito para um substrato pode coincidir também com a concentração do mesmo no substrato escolhido, seja pela característica inerente do próprio suporte em garantir a pré-concentração (como no caso da membrana de troca iônica e com resina quelante) ou porque o processo de pré-concentração escolhido necessita de um suporte (as placas de cobre e de alumínio são usadas como suportes para um processo de concentração eletroquímica [132, 133]).

17

Apesar de aumentar o tempo de análise, o processo de transferência é simples, tem custo baixo e não requer modificações instrumentais no sistema LIBS. Após ser aplicada, a amostra é convertida para o estado sólido e todos os problemas que decorrem do fato do analito encontrar-se em um meio líquido são eliminados. Ao realizar esta transferência, espera-se também a obtenção de maior sensibilidade uma vez que a fluência mínima necessária para causar a ruptura do material em um sólido (*breakdown threshold*) é muito menor que em um líquido, o que implica em mais energia disponível para as etapas de ablação e excitação, possibilitando limites de detecção menores, quando comparado às amostras líquidas.

Yaroshchyk et al. [126] comparou os limites de detecção (LOD) obtidos com o emprego de papel de filtro como suporte sólido com os limites obtidos na análise direta (na superfície e com o uso de jatos da amostra líquida) de óleos lubrificantes. A comparação foi feita com quinze elementos, empregando a medida de intensidade da mesma linha de emissão para cada elemento e condições experimentais similares, o que torna a comparação mais efetiva. Os limites de detecção são tipicamente menores quando se empregou o papel como suporte em comparação com os valores tanto para as medidas feitas na superfície líquida da amostra como para as medidas feitas com jatos da mesma. Os valores de LOD tornaram-se cerca de cinco vezes menores quando se utiliza o substrato. Os limites de detecção, empregando o papel de filtro, estão na faixa de 2 a 29 mg L⁻¹ para os quinze elementos analisados.

A Tabela 1 compara os limites de detecção, encontrados na literatura para alguns elementos, extraídos de trabalhos que empregam substratos sólidos com os que analisam diretamente amostras líquidas por LIBS. Para a conversão das unidades a densidade da água foi considerada igual a 1 g mL⁻¹, já que todos os trabalhos listados na tabela tratam de amostras aquosas. Essa tabela mostra limites de detecção extraídos em diferentes trabalhos da literatura, nos quais as mais variadas condições experimentais e instrumentais são empregadas, sendo que algumas delas são significativamente diferentes.

Tabela 1. Limites de detecção (LOD) em *µg mL⁻¹ obtidos com o uso de substratos sólidos e na análise direta de soluções aquosas por LIBS.

ELEMENTO	LOD SUBSTRATO	LOD ANÁLISE DIRETA
AI	0,01 ^{Wal et al. [119]}	10 Fichet et al. [114]
		20 Cremers, Radziemski e Loree [106]
В	0,01 ^{Sarkar et al.} [120]	1200 ^{Cremers, Radziemski e Loree} [106]
		80 (PD)** ^{Cremers, Radziemski e Loree [106]}
		0,8 (PD)** Lee et al. [101]
Са	1,9 ^{Zhu et al. [131]}	0,3 Fichet et al. [114]
	0,01 ^{Wal et al. [119]}	0,8 Cremers, Radziemski e Loree [106]
Cr	0,1 ^{Wal et al. [119]}	0,100 ^{Arca et al. [105]}
	0,034 ^{Chen et al. [121]}	0,4 ^{Yueh et al. [94]}
	0,005 Dockery, Pender e Goode [124]	40 Koch et al. [108]
	0,13 Schmidt e Goode [123]	0,4 ^{Fichet et al. [114]}
	0,572 ^{Chen et al.} [133]	1 (PD)** ^{Pearman, Scaffidi e Angel [99]}
Cu	0,0042 Schmidt e Goode [123]	7 ^{Fichet} et al. [114]
	0,029 ^{Chen et al.} [121]	
	0,01 ^{Wal et al.} [119]	
	0,016 ^{Lu et al.} [132]	
	0,083 ^{Chen et al.} [133]	
Fe	0,01 ^{Wal et al. [119]}	0,6 ^{Ito, Ueki,} Nakamura [111]
		30 ^{Fichet et al.} [114]
		0,016 (PD)** ^{Nakamura, Ito, Sone [110]}
		8 (PD)** ^{Rifai et al. [102]}
Mg	0,01 ^{Wal et al. [119]}	0,1 ^{Yueh et al. [94]}
	3,2 ^{Zhu et al.} [131]	0,230 Rai, Yueh, Singh [100]
		1 ^{Fichet et al.} [114]
		100 Cremers, Radziemski e Loree [106]
		0,06 (PD)** Kumar, Yuen e Singn [109]
		0,034 (PD)** Lazic et al. [107]
Mn	0,000374 ^{Chen et al. [133]}	0,7 ^{Yuen et al. [94]}
Ni	0,31 ^{Schmidt e Goode [123]}	20 ^{Fichet et al.} [114]
	0,01 ^{Wal et al. [119]}	18,0 Berman e Wolf [115]
Pb	1,1 Schmidt e Goode [123]	100 ^{Fichet et al. [114]}
	0,074 Chen et al. [121]	0,035 (PD+LIF)** Lui et al. [103]
	0,033 Chen et al. [122]	0,039 (PD+LIF)** Loudy et al. [104]
	2 ^{wai et al.} [119]	6 (PD)** ^{Rifal} et al. [102]
	3,87 Alu et al. [139]	74 ^{Rinal et al.} [102]
	0,518 Cherretal. [135]	Figher et al. [114]
Si	0,01 ^{vvai et al.} [119]	25 Fichet et al. [114]
Zn	1 ^{Wal et al. [119]}	120 ^{Fichet et al. [114]}
	0,85 Schmidt e Goode [123]	17 (PD)** Pearman, Scaffidi e Angel [99]

* Todos os limites de detecção apresentados são de soluções aquosas e quando necessário foi feita a conversão para a unidade de μg mL⁻¹, considerando a densidade da água 1 g mL⁻¹/ ** PD-pulso duplo e LIF- fluorescência induzida por laser.

Na Tabela 1 podemos observar que os LOD são menores quando se emprega suportes sólidos em relação à análise direta das amostras, com exceção dos valores apresentados por Zhu et al. [131] para uso de substrato. E em alguns casos esses chegam a ser até melhores do que os valores obtidos com pulso duplo (e.g. B e Fe).

Quando se comparam os LOD da tabela 1 de uma mesma coluna, ou seja, os LOD na análise direta ou com o uso de substrato, é possível encontrar contradições com relação aos valores de limites de detecção. Já foi citado, anteriormente, que para elementos em amostras líquidas os limites de detecção apresentam também uma ampla diversidade de valores.

Hahn e Omenetto [142] discutem os limites de detecção descritos para a técnica de LIBS existentes na literatura. Eles apontam controvérsias existentes entre os critérios para os cálculos dos limites de detecção e também para a falta de clareza nos critérios adotados. A falta de amostras "reais" e da medida do branco, também são problemas apontados no trabalho. Provavelmente essas são as principais causas da grande variedade de valores de LOD presentes na literatura.

Contudo, a maior limitação do uso do substrato sólido está na dependência na adsorção do analito no substrato e a competição pelos sítios de adsorção entre os analitos e os constituintes majoritários da amostra. Já os métodos de préconcentração eletroquímica ficam limitados aos analitos que podem ser reduzidos eletroliticamente.

A técnica de pré-concentração por *ring oven* descrita anteriormente deve contribuir para a melhoria nas determinações de amostras líquidas por LIBS. Os analitos podem ser transferidos para o substrato sólido, neste caso o papel de filtro, alcançando altos coeficientes de pré-concentração e contribuindo para diminuir os limites de detecção da técnica. O mecanismo de pré-concentração não é controlado por qualquer tipo de interação entre os analitos e o substrato, pelo contrário, no procedimento é necessário evitar a interação. O processo é controlado pelo volume de amostra utilizado, o transporte do analito e a evaporação do solvente, podendo ser estendido para diversos tipos de amostras líquidas.

Depois de encerrado o processo, as matrizes das amostras e padrões são praticamente os mesmos, nesse caso a celulose do papel de filtro e o resíduo não volátil. Isto pode contribuir para ajudar a sanar algumas dificuldades nas propostas quantitativas com o uso de LIBS (e também de outras técnicas analíticas) advindas do efeito de matriz, já que a semelhança entre as amostras e os padrões é grande [142].

I.4. Etanol hidratado combustível

O etanol hidratado combustível é normalmente obtido pela fermentação do caldo de cana. O produto da fermentação é submetido à destilação e o azeótropo água-etanol é obtido. A composição típica do destilado é 92,8 % (m/m) de etanol e 7,2 % (m/m) de água. Impurezas podem ser constituídas de substâncias orgânicas voláteis ou que são arrastadas pelo vapor na etapa de destilação. Alguns metais podem também ser encontrados em níveis de mg kg⁻¹ no produto comercial.

O lançamento no mercado dos carros com motores bicombustíveis (*flex fuel*), em 2003, veio dar um novo fôlego ao consumo interno de álcool. Esses motores podem ser movidos à gasolina, etanol hidratado ou uma mistura dos dois combustíveis. Os preços mais baixos do etanol fazem com que ele seja muitas vezes o preferido pelo consumidor.

Diante desse cenário favorável somado aos elevados preços do barril de petróleo e a pressão internacional para a redução de emissão dos poluentes na atmosfera e substituição de combustíveis fósseis, a expectativa é que a produção aumente ainda mais [143].

Com o novo impulso no mercado interno e o interesse que o "etanol brasileiro" tem despertado internacionalmente existe uma preocupação muito grande dos órgãos de regulamentação em criar novas normas e aperfeiçoar as

normas já existentes de controle de qualidade, tanto para o mercado interno como para um processo de exportação futura.

A presença de espécies metálicas no etanol combustível, e em combustíveis de modo geral, não é desejável porque podem se acumular em partes do motor e induzir processos de corrosão. Ademais, podem levar a um baixo desempenho do combustível, devido às reações de decomposição oxidativa.

Os metais presentes no combustível podem se originar de diversas fontes relacionadas às inúmeras etapas pelas quais o etanol passa até chegar ao consumidor final. Primeiramente, os metais podem ser incorporados durante o crescimento da cana de açúcar, depois pela corrosão do equipamento usado durante o seu processamento e, por último, no seu transporte [144].

Várias técnicas analíticas, e diversos métodos, têm sido propostos para quantificar metais em etanol combustível como, por exemplo, espectrofotometria [145], voltametria [146,147], eletroforese capilar [148], XRF [149], ICP OES [150] e absorção atômica [144,151].

Os metais contemplados na atual resolução da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) são ferro, sódio e cobre [152]. Ferro e sódio têm os teores máximos regulados em 5 e 2 mg kg⁻¹, respectivamente, tanto para o etanol anidro combustível como para o etanol hidratado combustível. O valor para o cobre não é regulamentado para etanol hidratado combustível pela ANP, contudo é controlado em bebidas destiladas provenientes da fermentação da cana.

II. OBJETIVOS

O principal objetivo desse trabalho é revisitar e modificar a técnica de *ring oven* para explorar suas características de pré-concentração dentro do contexto da análise instrumental moderna, a qual envolve as técnicas microanalíticas cujos desempenhos podem ser melhorados em termos de detecção. Para ilustar os aspectos sinérgicos entre a pré-concentração e as técnicas microanalíticas, o *ring oven* é aplicado para pré-concentrar Na, Fe e Cu em etanol combustível, seguido pela quantificação simultânea desses analitos pela técnica de LIBS. Adicionalmente, o *ring oven* é proposto como uma alternativa para a análise de amostras líquidas por LIBS.

III. PARTE EXPERIMENTAL

III.1. Desenvolvimento do sistema de pré-concentração por *ring* oven

A principal proposta deste trabalho se atém à reavaliação da técnica de préconcentração por *ring oven*. Porém, na verdade, a existência desta técnica não era do conhecimento do grupo de pesquisa durante uma grande parte do período durante o qual esta tese foi produzida. O *ring oven* foi reformulado durante este trabalho e, somente a partir do seu estágio intermediário para o final, tomou-se conhecimento da existência da técnica de pré-concentração baseada nos mesmos fundamentos e que foi desenvolvida nas décadas de 60 a 70. A partir de então, o trabalho passou a ter, de fato, um enfoque voltado à reavaliação da técnica *ring oven*, por ser baseado nos mesmos princípios. Porém, a técnica proposta neste trabalho apresenta algumas características diferentes da técnica original e a resgata à luz das técnicas microanalíticas modernas. Ao longo desse tópico, será feito um breve relato sobre como se redescobriu o *ring oven* e sobre o desenvolvimento do sistema de pré-concentração aqui proposto.

Tendo em vista as dificuldades já relatadas da técnica LIBS de analisar amostras líquidas diretamente, foram realizados experimentos com o intuito de utilizar papel de filtro como suporte sólido para a amostra e também para a préconcentração da mesma. A ideia era adicionar várias gotas em um espaço confinado e restrito do papel de filtro a fim de conseguir concentrar os analitos. Para alcançar esse objetivo era necessário que antes da adição de uma nova gota a anterior já estivesse seca, para evitar o espalhamento gradual das gotas no papel e assim permitir que as mesmas fossem depositadas em uma área restrita.

A primeira tentativa foi feita manualmente com o uso de uma micropipeta. Porém, o processo mostrou-se muito trabalhoso, pois requeria a manipulação por diversas vezes seguidas da pipeta, tentando reproduzir o mesmo local de aplicação para cada novo volume dispensado. Além disso, a secagem por evaporação do solvente da amostra, antes da adição da próxima alíquota, era demorada, pois era feita à temperatura ambiente.

Com o intuito de contornar esses problemas, o controle da adição da amostra passou a ser realizado por gotejamento de forma automática, por meio de uma bomba peristáltica (Ismatec, IPC) e o processo de secagem foi acelerado soprando-se, sobre o papel de filtro, ar quente proveniente de um secador de cabelos convencional. A associação da bomba peristáltica com o secador permitiu controlar a vazão de tal forma que a nova gota somente fosse transferida para o papel quando a gota anterior já estivesse, ao menos parcialmente, seca, garantindo que as gotas se espalhassem por capilaridade na forma de um disco sempre com o mesmo diâmetro.

Como amostra líquida de interesse, escolheu-se etanol combustível hidratado, devido a sua importância econômica, volatilidade e porque os teores máximos permitidos de metais não são muito baixos (da ordem de mg kg⁻¹). A amostra de etanol era bombeada empregando-se um tubo de Viton[®] na bomba peristáltica e era gotejada sobre o papel de filtro (preso em um aro para funil). O secador de cabelos era posicionado do lado oposto, abaixo do papel de filtro, e ambos, aro e secador, eram sustentados por um suporte universal.

Com a finalidade de verificar se a deposição de várias gotas de solução proporcionaria um efeito de concentração que poderia ser aproveitado pelo LIBS, uma solução de etanol foi preparada pela fortificação de etanol grau analítico com 5 mg L⁻¹ de ferro (III), cobre (II) e sódio (metais contemplados na regulamentação do combustível) e ácido clorídrico a fim de evitar a hidrólise dos íons.

Depois de algum tempo de execução do experimento utilizando o etanol fortificado com os metais, observou-se a formação de um anel de coloração amarelada na fronteira final da gota. As causas da formação do anel foram investigadas (os experimentos são descritos posteriormente) e pôde-se chegar a algumas conclusões. Os metais tinham se concentrado na região de fronteira da gota formando um anel, a coloração amarelada do anel era devido ao ferro (III) pré-concentrado na região. O meio ácido da solução e o aquecimento (gerado

25

pelo ar quente vindo do secador) foram decisivos nesse processo de préconcentração na região do anel. Os anéis formados são mostrados na Figura 3 e é possível observar que são bem definidos, mas irregulares em diâmetro.

Figura 3. Anéis formados durante a realização dos experimentos iniciais deste trabalho, utilizando o bombeamento direto de uma solução de etanol contendo Fe (III), Cu (II) e Na e secagem com fluxo de ar quente.

Com a formação do anel, tornou-se evidente que os analitos passam a se concentrar em uma área bem menor que a área original formada pela gota dispersa sobre o papel, ou seja, o fator de pré-concentração do processo é muito maior. Ao mesmo tempo, a etapa de medida de um possível método analítico, baseado no sistema de pré-concentração, requereria a amostragem dos analitos na área restrita definida pelo anel. Este tipo de medida não constitui em uma dificuldade para uma técnica microanalítica como LIBS, que possui resolução espacial conferida pelo processo de amostragem com laser, conseguindo analisar regiões pontuais do anel.

A técnica de pré-concentração também seria útil quando empregada junto a outras técnicas microanalíticas, apresentando vantagens ao conseguir concentrar volumes pequenos de amostras, algo difícil de obter de forma reprodutível por meio de técnicas convencionais de pré-concentração. Para obter essas vantagens, o sistema deveria ser otimizado a fim de tornar os anéis mais uniformes em seu formato e reprodutíveis nas suas dimensões (diâmetro e espessura).

Diversas modificações foram realizadas no sistema de pré-concentração até se chegar ao sistema final. Estas modificações serão descritas sucintamente no decorrer do texto e uma descrição mais detalhada será dada ao sistema em sua configuração final. Ensaios e testes foram realizados para definir a melhor posição do secador, acima ou abaixo de onde a solução era gotejada. O aro de funil utilizado para sustentar o papel foi substituído por suportes de alumínio para evitar a movimentação do papel e manter o papel estendido. O tubo de Viton[®] foi conectado a uma ponta de micropipeta e a uma peça de latão para servir de contrapeso e evitar a movimentação devido ao fluxo de ar proveniente do secador. Dois dispositivos, dentre outros confeccionados, são mostrados na Figura 4, tendo sido escolhidos porque eram os mais diferentes entre si.



Figura 4. Dois dispositivos empregados no sistema inicial de pré-concentração por formação de anéis com o uso de fluxo de ar quente e bombeamento direto da amostra. A: suporte metálico para papel de filtro, B: tubo de Viton[®] que carrega a amostra, C: peça de latão para sustentação do tubo de Viton[®] e D: papel de filtro.

A última configuração do sistema empregando fluxo de ar quente é mostrada na Figura 5. O secador era posicionado acima do suporte do papel de filtro onde a amostra era gotejada, utilizando o dispositivo mostrado no lado esquerdo da Figura 4. O volume de amostra, adicionado e concentrado, era controlado pelo temporizador da bomba peristáltica.





Os dispositivos descritos não foram eficazes e não produziram anéis uniformes. O anel resultante era, na verdade, ovalado e algumas vezes duplo, com um anel mais fraco na parte interna, como mostrado na Figura 6. Este fato provavelmente era causado por um aquecimento desigual dos lados do suporte, provocado pelo ar quente do secador.



Figura 6. Anel formado com o uso de fluxo de ar quente e suporte retangular de alumínio, conforme mostrado na figura 5.

Além disso, considerou-se que o ar quente do secador (incidido sobre a superfície do papel) poderia se tornar uma fonte de contaminação, principalmente quando a análise de baixas concentrações fosse realizada. Desta forma, optou-se por utilizar uma chapa de aquecimento para aumentar a temperatura do papel. Um cilindro de alumínio oco constituído de duas partes entre as quais o papel era inserido foi avaliado com o intuito de evitar o aquecimento desigual do papel e

favorecer a formação de um anel mais uniforme e menos ovalado. O sistema pode ser visualizado em maior detalhe na Figura 7.



Figura 7. Sistema de pré-concentração empregando chapa de aquecimento.

A chapa também não proporcionou um aquecimento uniforme e foi substituída por uma fita de aquecimento (1,3x 60 cm, 230 V, Fisatom) controlada por um resistor variável de potência (*varivolt*). Neste momento, um injetor proporcional [153] foi inserido no sistema para melhorar o controle de volume da amostra submetido à concentração, que passou a ser definido pela alça de amostragem do injetor. O sistema é mostrado na figura 8.



Figura 8. Sistema de pré-concentração com fita de aquecimento. A: bomba peristáltica, B: injetor, C: amostra, D: concentrador envolvido por uma fita de aquecimento, E: *varivolt*, F: descarte e G: segmento de tubo de Teflon[®] (alça) de amostragem.

O controle da temperatura do cilindro de alumínio por meio do *varivolt* apresentou-se muito instável ao longo dos dias. As voltagens precisavam ser reguladas frequentemente, pois a cada dia a mesma voltagem resultava em uma temperatura diferente, o que por vezes ocasionava a oxidação do papel.

Na tentativa de contornar esse problema, o *varivolt* foi substituído por um controlador de temperatura (Contemp, modelo TCM 45). A temperatura de controle ajustada foi de 110°C em um primeiro momento e posteriormente em 120°C.

Outras pequenas alterações foram feitas até se chegar ao sistema de concentração final mostrado na Figura 9, que será descrito detalhadamente a seguir.

O sistema compreende basicamente um forno cilíndrico de alumínio, que sustenta o papel de filtro e onde ocorre o processo de pré-concentração. O aquecimento do forno é mantido por meio de uma fita resistiva enrolada ao seu redor. A temperatura do sistema é mantida constante, próxima ao valor desejado, por um controlador que regula a corrente que passa pela fita em um processo de realimentação, assegurado pela medida contínua da temperatura do forno, realizada por meio de um termopar do tipo J acoplado ao bloco de alumínio.

O forno é constituído por três peças de alumínio, sendo que duas delas têm o mesmo diâmetro externo e interno, 20,7 e 20 mm, respectivamente. A maior das peças tem cerca de 50,5 mm de altura e, à sua volta é enrolada a fita de aquecimento. O termopar é inserido nesta peça por um orifício na parte superior. A peça menor tem forma anelar, com cerca de 5 mm de altura. Esta peça é posicionada sobre o cilindro maior e entre elas é inserido o disco de papel de filtro sobre o qual se realiza a concentração. A terceira peça possui um diâmetro um pouco maior e tem a função de manter juntas as outras duas peças, evitando a sua movimentação. Finalmente, o sistema é colocado sobre uma placa de granito medindo 14,5 x 15,5 cm, inserida em uma base metálica de alumínio.

Uma barra vertical, sustentada pela mesma parte metálica, comporta um braço com ajuste x-y para posicionar o sistema de gotejamento da amostra, assegurando que a gota caia atingindo sempre o centro do disco de papel de filtro.



Figura 9. Sistema de pré-concentração em seu estágio final e forno em visão frontal e superior. A: bomba peristáltica, B: injetor com alça de amostragem de 600 μ L, C: descarte, D: forno de alumínio, E: fita de aquecimento enrolada no forno de alumínio; F: termopar, G: placa de granito inserida em estrutura metálica, H: amostra, I: controlador de temperatura (vista lateral e frontal), J: guia com ajuste x-y, L: tubo de PTFE proveniente do injetor e que conduz a amostra ao forno, M: peça de teflon que sustenta o tubo de PTFE no guia.

Um tubo de PTFE de 0,8 mm de diâmetro interno constitui a alça de amostragem (119 cm corresponde a 600 μ L) e conduz a amostra do injetor até o papel de filtro. A parte final do tubo é presa a uma peça de teflon para possibilitar a fixação no braço de ajuste da posição no plano x-y. A distância entre a extremidade do tubo de onde cai a gota até o papel de filtro é de 20 mm e ela é posicionada de forma que a gota atinja o centro do papel de filtro.

No processo *ring oven* original, proposto por Weisz, tipicamente uma ou duas gotas de amostra são transferidas, por meio de uma micropipeta, para o centro do papel de filtro inserido no forno e, posteriormente, arrastadas por algumas gotas adicionais de um solvente (normalmente uma solução aquosa diluída de ácido) até atingir a parede do forno aquecida que funciona como uma barreira térmica para a solução. O diâmetro do anel, usualmente de 2,2 cm, é definido pelo diâmetro da parte superior circular do forno [10].

No sistema *ring oven* modificado, proposto nesse trabalho, o anel é formado antes de alcançar a parede do forno aquecido. A amostra é frequentemente mantida em meio ácido e empregada, no procedimento proposto, em um volume maior que aquele descrito por Weisz [10]. Sendo assim, ela atacaria severa e rapidamente as peças metálicas do forno feito de alumínio, caso atingisse sua superfície. Além disso, este ataque resultaria em uma contaminação da região do anel com o material do forno.

A amostra não é previamente transferida para o centro do papel de filtro e então arrastada, mas sim gotejada continuamente e o próprio solvente contido na amostra arrasta os analitos para a fronteira da área circular em que a gota se espalha sobre o papel de filtro. A reprodutibilidade do processo é assegurada pelo rigoroso controle da temperatura do forno e do tempo decorrido entre as transferências sucessivas das gotas da amostra.

O processo de inserção da amostra e do solvente no processo *ring oven* tradicional é totalmente manual. Com as modificações propostas o processo passa a ter um grau de automação, sendo que somente é necessário que o operador insira o papel de filtro e injete a amostra no sistema e, depois de o processo terminado, retire do sistema o papel de filtro, contendo os analitos concentrados.

O processo de pré-concentração, de uma forma geral, envolve as seguintes etapas:

1- O sistema de aquecimento é ligado e aguarda-se até que o controlador indique que sua temperatura atingiu o valor programado pelo operador;

2- Um disco de papel de filtro (Whatman 40) de 20,7 mm de diâmetro (recortado no mesmo diâmetro externo do forno) é colocado no forno e espera-se novamente o sistema entrar em equilíbrio térmico. Caso o anel que será formado não seja visível a olho nu, é necessária a adição de alguma substância para gerar um anel colorido. A adição dessa substância pode ser feita, antes ou depois da realização do processo de pré-concentração dos analitos, ainda com o papel no forno;

3- A amostra é aspirada pela bomba peristáltica e preenche a alça de amostragem do injetor proporcional, que define o volume de amostra;

4- A amostra é injetada e carregada por um fluxo de ar até o forno, caindo gota a gota no papel de filtro;

5- Depois da transferência da última gota de amostra, aguarda-se a secagem do papel de filtro e este é removido do forno contendo o anel formado, encerrando, assim, a etapa de pré-concentração;

6- Caso seja necessário, o papel de filtro com o anel é levado ao dessecador ou à estufa, antes da operação de medida por uma técnica analítica adequada e/ou disponível.

O processo de pré-concentração requer que seja estabelecido um regime estacionário, no qual o tempo decorrido para a realização de um ciclo é definido pela queda de uma gota, seu espalhamento por capilaridade, evaporação e queda de uma nova gota seja reprodutível, assegurando que a frente do solvente alcance sempre o mesmo ponto sobre o papel, ou seja, que o solvente avance sempre até a mesma fronteira, garantindo a formação reprodutível do anel resultante da préconcentração dos analitos. Para isso é necessária a adequação da vazão da amostra, estabelecida pela velocidade da bomba peristáltica, que define a velocidade de gotejamento, e da temperatura do forno. O processo também depende da velocidade de evaporação do solvente.

O mecanismo de pré-concentração por *ring oven* é baseado nas premissas de que os analitos são altamente solúveis no solvente da amostra e que eles não são irreversivelmente adsorvidos pelo material constituinte do papel de filtro (celulose) nas condições nas quais se realiza o processo. Considerando verdadeiras estas premissas, uma gota da amostra transferida para o centro do disco de papel de filtro lavaria os analitos deixados no próprio papel pela gota anterior, arrastando-os até o limite da frente do solvente, que é atingida em decorrência dos processos de espalhamento da solução por capilaridade e evaporação. Os analitos são depositados e acumulados, gota após gota, na fronteira final da área circular definida pelo seu espalhamento, formando um anel. Teoricamente, o ganho do processo de pré-concentração é limitado somente pelo volume de amostra empregado no processo.

III.2. O instrumento LIBS

A Figura 10 mostra o instrumento de montagem *lab-made* empregado para as medidas dos anéis resultantes do processo de pré-concentração por *ring oven*. O feixe de laser é refletido por um espelho dicróico (*Ealing Eletro-optics*) à 45° e é focado na amostra por uma lente de BK7 com 10 cm de distância focal. A amostra é presa por um suporte de alumínio que fica a uma distância de 9,7 cm da lente para minimizar a interferência do *breakdown* do ar (formação do plasma na atmosfera acima da amostra). O laser (Brio, Quantel) utilizado é um Nd:YAG pulsado a 20 Hz com 120 mJ pulso⁻¹ e com tempo de duração de 5 ns, emitindo em seu comprimento de onda fundamental (1064 nm). O esquema do instrumento utilizado é similar ao representado na Figura 2.



Figura 10. Fotografia do instrumento LIBS. A: laser, B: espelho dicróico, C: lente utilizada para focalizar o laser na amostra, D: fibra óptica, E: lente empregada para coletar a emissão das espécies no plasma, F: suporte para amostra, G: amostra.

A radiação emitida proveniente do plasma formado é coletada por uma lente de curta distância focal e focalizada na entrada de uma fibra óptica (*Ceram Optec*, 50 µm de diâmetro) acoplada na entrada de um policromador echelle (200-975 nm, 52,13 linhas/ mm, Mechelle 5000, Andor Technology). O echelle, por sua vez, envia a radiação, separadas em suas respectivas ordens, para um detector ICCD (1024x1024 elementos, iStar DH 734, Andor Technology) que acessa as intensidades e posteriormente as envia para a placa de comunicação com o computador (PCI, CCI-001, 62 kHz). No computador, os espectros são mostrados na tela e armazenados para análise posterior.

Um laser contínuo de diodo emitindo em 650 nm (vermelho, 50mW, Laser Line) com corrente ajustável, o que proporciona um ajuste de intensidade, foi utilizado para auxiliar o posicionamento do pulso de laser no perfil do anel durante as medidas por LIBS. Uma peça de alumínio com um orifício central de 0,5 mm foi conectada na saída do feixe para diminuir o seu tamanho e possibilitar que ele ficasse aproximadamente com a mesma espessura do anel. O laser vermelho foi

posicionado acima do suporte da amostra em um ângulo inclinado e sua posição foi ajustada para que coincidisse com a posição previamente determinada onde o pulso do laser incide sobre a amostra quando colocada em seu suporte. Desta forma, a cada medida era necessário somente posicionar um novo ponto do anel sobre o ponto do laser vermelho. Uma foto detalhando este sistema é mostrada na Figura 11.



Figura 11. Sistema auxiliar para posicionamento correto da amostra (anel) no feixe de laser do sistema LIBS. A: visão geral do sistema próximo ao suporte da amostra, B: amostra no suporte com o laser demarcando a região do anel, C: amostra acima do suporte com o laser demarcando a região do anel para melhorar a visualização de como o ponto de amostragem é localizado.

No protocolo de medida por LIBS, vinte locações, situadas em distâncias aproximadamente iguais umas das outras, foram amostradas ao longo do contorno de cada anel. Em cada ponto, três pulsos de laser foram disparados, perfazendo um total de 60 amostragens do anel. A cada ponto, ou seja, a cada três pulsos de laser consecutivos, em um mesmo ponto do anel, era gerado um único espectro resultado da acumulação das intensidades geradas pelos mesmos. Dessa forma, de cada anel eram obtidos 20 espectros. Depois de gerado o espectro na tela, alguns pulsos de laser adicionais eram dados no local até que este fosse perfurado pelo laser. A posição do orifício com relação ao anel era utilizada como um critério final de inspeção visual para verificar se o pulso de laser atingiu corretamente o anel. Deve-se ressaltar que o protocolo de medida variou durante as diversas etapas do desenvolvimento do trabalho sendo que, quando necessário, ele será descrito novamente no momento adequado.

III.3. Soluções padrão de etanol hidratado, reagentes e amostras

As soluções padrão de etanol foram preparadas a partir de etanol absoluto (Merck, 99,9%), água deionizada e de quantidades de íons sódio, ferro e cobre adicionadas por meio de soluções padrão estoque aquosas. A concentração de ácido clorídrico nas soluções era de 3,0 mol L⁻¹, em um estágio inicial do trabalho, e posteriormente passou a ser 0,05 mol L⁻¹. O ácido clorídrico é fundamental na manutenção da formação do anel. O teor final de água nos padrões e amostras foi estabelecido em 10% (v/v) no primeiro estágio dos experimentos e posteriormente passou a ser 20% (v/v), para que a variação deste teor nas amostras não afetasse significativamente o diâmetro dos anéis obtidos. Os volumes empregados nas adições das soluções padrão aquosas dos metais eram descontados do volume total de água, de forma a manter sempre, idealmente, a mesma quantidade de água em todos os padrões. Cada padrão continha quantidades distintas de cada elemento.

As soluções padrão de ferro e cobre no início dos trabalhos foram preparadas pela dissolução dos sais de Fe(NO₃)₃.9 H₂O (Vetec) e CuSO₄.5H₂O (Synth) deixando o meio levemente ácido para evitar hidrólise. E em um estágio

posterior do trabalho foram empregadas soluções padrões comerciais (TraceCERT, Fluka Analytical, Sigma-Aldrich) de concentração igual a 1001 \pm 4 mg L⁻¹ e 998 \pm 4 mg L⁻¹ para ferro e cobre, respectivamente. A solução padrão de sódio de 1000 mg L⁻¹ foi preparada a partir de cloreto de sódio (Synth), seco em estufa a 100°C.

Toda a vidraria e utensílios empregados para o preparo das soluções foram descontaminados com solução de extran (Merck) 10% e ácido nítrico (Synth) 10%. Todas as soluções foram preparadas com água desionizada e reagentes de grau analítico. As soluções padrão de etanol hidratado foram preparadas em balões de 25 mL utilizando uma pipeta automática de volume variável (500-5000 µL, Eppendorf) para as diluições. A solução do branco foi preparada com a mesma concentração de ácido clorídrico dos padrões e a mesma quantidade de água. As soluções padrões de etanol hidratado, contendo os metais, eram utilizadas por no máximo três dias, após o seu preparo.

As amostras de etanol hidratado combustível foram adquiridas em postos de gasolina e as amostras de etanol comercial em supermercados e originalmente podem conter no máximo 4,9% (v/v) de água (de acordo com a legislação). A essas amostras foram adicionados ácido clorídrico e água de forma a atingir a mesma concentração e teor dos padrões. Para tal, foi considerado que todas as amostras continham o valor máximo de água permitido pela legislação [4,9% (v/v)] e então adicionou-se quantidade suficiente de água para completar o teor de 20% (v/v) de água, empregado nos padrões. Para a realização dos testes de recuperação, as amostras foram enriquecidas com quantidades conhecidas dos analitos (Na, Fe e Cu) a partir da adição de volumes das soluções padrão aquosas.

Diversos corantes (azul de timol, verde de bromocresol, azul de metileno, vermelho de cresol e azul de bromofenol) foram avaliados para auxiliar na visualização dos anéis formados pelo procedimento de pré-concentração. A escolha desses corantes foi pautada na disponibilidade dos mesmos em laboratório. Inicialmente, as soluções estoque dos corantes foram preparadas em concentração de 1 % (m/v). Cerca de três a quatro gotas destas soluções eram

38

adicionadas inicialmente diretamente nas soluções processadas no sistema *ring oven*. Posteriormente, quando se passou a adicionar o corante no centro do papel de filtro, antes da etapa de pré-concentração da amostra, a concentração foi reduzida para 0,01% (m/v). Todas as soluções de corante foram preparadas a partir da sua dissolução em etanol absoluto.

III.4. Procedimento de pré-concentração por *ring oven* para amostras de etanol hidratado

Os anéis formados com as soluções padrões de etanol hidratado contendo Fe, Cu e Na são amarelados devido a presença de ferro (III), mas quando este está em concentrações baixas, a visualização do anel torna-se difícil. Um agente complexante de cobre ou ferro que formasse um produto com uma coloração intensa poderia ser empregado para a localização do contorno do anel, mas a eficácia do procedimento ficaria restrita a presença de um desses metais na solução.

Com o intuito de avaliar um procedimento que fosse independente da composição da solução, resolveu-se adicionar uma substância que apresentasse uma coloração intensa independentemente da presença específica de um ou vários analitos na amostra.

Inicialmente, pensou-se em adicionar um metal que tivesse coloração característica mais intensa do que a apresentada pelo ferro. Cobalto e níquel foram testados com esse fim, porém as concentrações desses metais que forneceram anéis com colorações nítidas foram mais altas do que se esperava. Somente com 10 mg L⁻¹ dos metais conseguiu-se uma coloração nítida dos anéis, níveis de concentração mais altos do que os analitos de interesse. Estes anéis podem ser visualizados na Figura 12. O cério também foi testado com a mesma finalidade, mas a concentração mínima que fornecia uma coloração nítida do anel foi ainda maior.



Figura 12. Anéis formados com a adição de 10 e 20 mg L⁻¹ de níquel (lado esquerdo) e cobalto (lado direito) na amostra pré-concentrada por *ring oven*.

Devido à alta concentração desses metais que deveriam ser adicionadas às soluções das amostras optou-se pelo uso de corantes que são capazes de produzir uma coloração intensa em baixas concentrações. Cerca de 4 a 5 gotas de cada corante (solução 0,1 % (m/v)) foram adicionadas na amostra antes do processo de concentração. Alguns corantes foram avaliados e todos produziram anéis nítidos coincidentes com a região de pré-concentração dos analitos. A fotografia da Figura 13 mostra os anéis formados com a adição de corantes.



Figura 13. Anéis formados com a adição de corantes na amostra antes do processo de pré-concentração e as respectivas soluções de etanol contendo os metais e algumas gotas de corante. Da esquerda para a direita, anéis formados com os seguintes corantes: azul de timol, azul de metileno, vermelho de cresol e azul de bromofenol. OBS: O anel formado a partir do verde de bromocresol não está representado na figura, mas tem a mesma coloração do anel formado pelo azul de bromofenol.

Contudo, os corantes causaram um aumento do sinal do branco, particularmente em relação ao sódio. O vermelho de cresol (um indicador ácidobase comum) foi finalmente selecionado e empregado na etapa final do trabalho, por ter produzido o branco menor dentre os corantes testados e por ter permitido a visualização inequívoca do contorno do anel contendo o material concentrado até mesmo quando a luz do *flashlamp* (meio de bombeamento óptico do laser utilizado) do laser incidia sobre o anel.

Para a adição do corante finalmente adotado utilizou-se um dispositivo de alumínio, mostrado na Figura 14, constituído por duas partes, para auxiliar na etapa de transferência reprodutível de um pequeno volume do corante (0,01 % m/v, preparado em etanol) para o centro do disco de papel de filtro. O papel recortado, com o mesmo diâmetro externo do forno, é colocado sobre a parte inferior que atua como suporte. A parte superior do dispositivo é encaixada sobre o suporte. A transferência da solução contendo o corante é realizada com o auxílio de um orifício guia presente na parte superior, que direciona a ponteira de uma micropipeta para o centro do papel de filtro, tocando sua superfície levemente. Uma vez que a micropipeta tenha sido ajustada no orifício guia, 10 µL da solução do indicador (0,01% (m/v)) são transferidos para o papel. O procedimento produz uma mancha de cerca de 1 cm de diâmetro centralizada sobre o papel de filtro.



Figura 14. Etapas e dispositivo para transferência da solução de corante para o centro do papel de filtro. A: partes do dispositivo desmontado mostradas externa e internamente com o papel de filtro, B: papel colocado na parte inferior do dispositivo, C: as duas partes são encaixadas, D: 10 µL da solução do corante são liberados depois que a ponteira é encaixada no orifício guia da parte superior, E: mancha formada pelo corante. OBS: A concentração do corante, mostrada na figura, utilizado foi propositalmente aumentada para facilitar a visualização.

A Figura 15 mostra, à esquerda, o papel de filtro após a adição de 10 μ L de vermelho de cresol na concentração utilizada na etapa final do trabalho (0,01% (m/v)). A presença do corante no papel, antes da etapa de concentração que forma o anel, é percebida como uma mancha rosa quase imperceptível. Ao seu lado é mostrado o anel formado com o uso dessa quantidade de corante, depois do processo de pré-concentração. Na Figura pode-se observar um anel bem diferente do obtido no início dos trabalhos (Figuras 3 e 6), pois ele é uniforme e apresenta-se bem delineado em seu contorno, com uma largura constante.



Figura 15. Papel de filtro antes e depois do processo de pré-concentração por *ring oven.* No lado esquerdo o papel com 10 µL de vermelho de cresol e do lado direito o anel resultante do processo de concentração, evidenciando o acúmulo de corante.

No processo de pré-concentração, um papel contendo a mancha de corante é inicialmente inserido no forno. As primeiras gotas de solução carregam o corante para a região do anel, colorindo-o e melhorando consideravelmente a sua visualização. A Figura 16 mostra uma fotografia obtida durante o processo de préconcentração realizado com o uso do corante. Nessa figura é possível visualizar, por meio da coloração rósea do corante, o anel demarcado.



Figura 16. Fotografia do forno obtida durante processo de pré-concentração.

As etapas do processo de pré-concentração são as mesmas descritas no final do item III-1. O volume típico de amostra empregado na maioria dos experimentos foi de 600 μ L. O regime estacionário necessário ao processo de pré-concentração foi obtido à temperatura do forno de 120°C, para as soluções contendo 20% (v/v) de água e na taxa de uma gota transferida para o papel a cada 25 s. A vazão da amostra que proporcionou esse regime foi de aproximadamente 50 μ L min⁻¹. O volume de 600 μ L da amostra é completamente transferido após 28 gotas.

Antes de a amostra atingir o papel de filtro, a temperatura medida com um termopar, no centro do disco de papel, é cerca de 100°C com o controlador de temperatura regulado para 120°C. Mais próximo à parede do forno a temperatura é de cerca de 105°C e na parede a temperatura é de 119°C.

Quando a primeira gota de amostra atinge o papel a temperatura cai bruscamente para 41°C e na iminência da queda da próxima gota a temperatura encontra-se em 61°C. Depois da terceira gota o regime estacionário é alcançado, com a temperatura no centro do papel oscilando entre 41 e 61 °C entre as gotas sucessivas. Essas temperaturas foram medidas com um termopar externo ao sistema.

Cada gota leva cerca de 7s para se espalhar por capilaridade e atingir a sua área circular máxima no papel de filtro. Esse tempo é menor do que quando o processo é efetuado em temperatura ambiente (8 s). Vinte e cinco segundos, somados ao tempo de espalhamento da gota por capilaridade, são gastos para evaporar o solvente da amostra. Assim, este tempo deve decorrer antes que a próxima gota seja depositada sobre o papel.

O tempo total de pré-concentração para um volume de amostra igual a 600 μ L é de cerca de 12 minutos. Depois que o procedimento de pré-concentração é finalizado, um anel bem definido de cerca de 2,0 cm de diâmetro é produzido. Este diâmetro é 2 mm menor do que o diâmetro do forno, assegurando, dessa forma, que a amostra em meio ácido não alcance as partes metálicas. A espessura do anel foi medida com o auxílio de um microscópio óptico e é de cerca de 0,4 mm. Mais aspectos relacionados às dimensões do anel serão abordados na próxima seção.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1. Estudos preliminares acerca da formação do anel e do processo de pré-concentração

Como já mencionado anteriormente, durante boa parte do trabalho não se tinha conhecimento da existência da técnica de pré-concentração por *ring oven*, e devido a isso, foram feitos diversos estudos iniciais a respeito da formação do anel e da ocorrência de pré-concentração dos metais na região do anel. Algumas dessas investigações são relatadas aqui de forma resumida focalizando nas conclusões e nas observações mais relevantes.

Com relação à característica do meio em que se encontra a amostra é possível afirmar, através de observações feitas experimentalmente, que, para garantir a formação do anel, é necessário que ela se encontre em meio ácido. Ácido clorídrico ou nítrico, adicionados à amostra, garantem a migração dos íons metálicos presentes na amostra e a formação do anel.

Dois anéis formados no processo de pré-concentração, um em meio alcalino e outro em meio ácido, a partir de soluções padrão de etanol contendo ferro, cobre e sódio nas mesmas concentrações, podem ser visualizados na Figura 17.

O anel produzido a partir do processo de pré-concentração da solução em meio alcalino (pH ~9) tem uma coloração mais fraca (do que o anel formado em solução ácida com as mesmas concentrações de analitos) e uma mancha amarelada intensa na região central, próximo de onde as gotas de solução caíram. A mancha no centro do papel de filtro indica, provavelmente, a retenção dos íons ferro neste local, já que a coloração amarelada se deve a presença de ferro III, e, possivelmente, também dos outros analitos.




Um comportamento semelhante ao que ocorre na Figura 17, tanto em relação à adsorção do analito em meio alcalino como a formação do anel em meio ácido, é descrito por Janardhan e Paul [154] em um trabalho sobre as condições para a realização bem sucedida de cromatografia em papel. Fotografias como as da Figura 17 são mostradas e discutidas com foco em cromatografia em papel. O padrão mostrado na fotografia da Figura 17B, anel formado em meio ácido, é também obtido quando se realiza uma cromatografia utilizando-se uma solução de ácido clorídrico 4 mol L⁻¹. Neste caso, o fator de retenção (R_f) é igual a um, ou seja, os analitos migram a mesma distância que o solvente.

O anel formado não é uniforme, não tem a espessura como obtida pela técnica de *ring oven* e a concentração de ácido é muito superior à recomendada por Weisz e empregada nesse trabalho (0,05 mol L⁻¹). Porém, naquele caso, o objetivo era realizar uma cromatografia em papel, sem o uso de aquecimento. Provavelmente, o aquecimento tenha um papel decisivo na formação de um anel uniforme e de espessura menor.

Weisz não dá detalhes a respeito dos mecanismos envolvidos no processo de pré-concentração por *ring oven* e se atém somente a citar que o fator decisivo no processo é a capilaridade. Porém, é possível utilizar a mesma explicação dada por Janardhan e Paul [154], para os cromatogramas, similares às fotografias da Figura 17, para elucidar o processo que ocorre no *ring oven*.

Os grupos hidroxila da celulose exibem comportamento anfótero e uma grande afinidade por prótons. Em pH mais alto esses grupos estão desprotonados e atraem os aqua complexos formados pelos metais em soluções aquosas. Os aqua complexos comportam-se basicamente como um ácido doador de prótons se ligando aos grupos hidroxilas da celulose, ocorrendo a adsorção dos metais no papel.

Em um papel previamente lavado com ácido, o que é o caso dos papéis de filtro de uso quantitativo (inclusive o utilizado nesse trabalho), os grupos hidroxila encontram-se protonados uniformemente, mas o processo é facilmente reversível na presença de água e por isso ocorre um misto de adsorção e migração dos metais como mostrado na Figura 17 A.

Já em pH mais baixo há sempre prótons disponíveis para os grupos da celulose, e então, os grupos hidroxila deixam de exercer atração sobre os aqua complexos que migram sem interação com os sítios da celulose. Esse é o processo que ocorre no *ring oven*, em meio ácido.

De uma maneira simplificada, pode-se dizer que a utilização do meio ácido dificulta a interação e retenção dos analitos nos sítios da celulose do papel de filtro. Dessa forma, os analitos migram por capilaridade até a região de fronteira de espalhamento da gota, concentrando-se na forma de anel.

Como o processo de pré-concentração proporcionado pelo *ring oven* não era conhecido, durante o início desse trabalho, foram feitos alguns experimentos com o intuito de verificar a ocorrência do processo de pré-concentração na região do anel.

Um anel confeccionado a partir de uma solução contendo 5 mg L⁻¹ de cada metal (Na, Fe e Cu) foi medido no LIBS em diferentes pontos para se verificar a ocorrência dos metais no anel e nos seus arredores, ao longo de uma linha tracejada indo de uma extremidade até a outra extremidade do anel. O resultado dessa medida é mostrado na Figura 18. Pulsos de laser consecutivos foram dados com a finalidade de demarcar a região amostrada pelo laser. É possível notar que as intensidades de emissão associadas aos metais de interesse aumentam

47



significativamente no anel, indicando a ocorrência do processo de préconcentração.

Figura 18. Intensidade das linhas de emissão características dos elementos de acordo com a posição em relação ao anel. Fe (II) 275,57 nm, Na (I): 588,98 nm e Cu (I): 324,74 nm.

Reagentes foram utilizados com a finalidade de "revelar" o anel por meio de uma reação química que gerasse um produto colorido, da mesma forma como feito por Weisz, para confirmar a presença do metal concentrado na região do anel. Amônia e solução de tiocianato 0,1 mol L⁻¹ em meio ácido foram utilizados com essa finalidade. Anéis, contendo somente cobre ou somente ferro na

concentração de 5 mg L⁻¹, ambos em soluções de etanol hidratado em meio ácido, foram confeccionados e utilizados no processo.

As Figuras 19 e 20 mostram o resultado da exposição dos anéis ao vapor de amônia. O anel do lado esquerdo de cada figura é o anel controle (parte A), ou seja, o anel não exposto ao reagente. Nos dois casos ocorre a alteração na coloração indicando a presença de uma maior concentração do ferro e do cobre na região do anel.



Figura 19. Anéis formados a partir da pré-concentração de 600 μ L de uma solução de etanol hidratado contendo 5 mg L⁻¹ de cobre. A, anel formado e não exposto ao vapor de amônia e B, anel formado e depois exposto ao vapor de amônia.



Figura 20. Anéis formados partir da pré-concentração de 600 μ L de uma solução de etanol hidratado contendo 5 mg L⁻¹ de ferro. A, anel formado e não exposto ao vapor de amônia e B, anel formado e depois exposto ao vapor de amônia.

Na Figura 19, o anel formado a partir da solução contendo íons cobre, depois da exposição ao vapor de amônia, passa a ter coloração azulada, derivada da formação do complexo cobre-amônia. E na Figura 20, o anel formado a partir da solução contendo íons ferro, depois da exposição ao vapor de amônia, passa a ter uma coloração mais acentuada tendendo para uma tonalidade alaranjada indicando a reação do ferro com a amônia (formação de óxido). Ambos os comportamentos indicam a presença de metal em uma concentração elevada na região do anel.

Anéis formados a partir da solução de etanol contendo 5 mg L⁻¹ ferro também foram borrifados com uma solução de tiocianato de potássio 0,1 mol L⁻¹ em meio ácido. Da mesma forma que os anéis expostos ao vapor de amônia, observou-se a mudança de coloração do anel devido à reação química. O complexo de ferro formado a partir da reação com o tiocianato é vermelho e a mesma coloração é apresentada pelo anel que foi borrifado com a solução e pode ser visualizado na Figura 21. O anel mostra-se menos definido porque o *spray* empregado não formava uma névoa muito fina e, em consequência disso, o anel ficava muito úmido possibilitando a migração dos íons.



Figura 21. Anéis formados a partir da concentração de 600 μ L de uma solução contendo 5 mg L⁻¹ de ferro. A, anel de controle; B, anel formado e depois borrifado com solução de tiocianato.

A solução de tiocianato também foi adicionada ao final do processo de préconcentração por *ring oven*, do mesmo modo que a amostra, logo após o término da transferência da amostra tendo sido dispensadas algumas gotas da solução da mesma forma que a amostra. A solução de tiocianato foi preparada em etanol/ água e em meio ácido, da mesma forma que a amostra, e algumas gotas foram transferidas para o papel de filtro. Da mesma forma, como mostrado na Figura 21, o anel apresentado tem a coloração do complexo ferro-tiocianato e pode ser visualizado na Figura 22. A diferença com relação ao anel anterior (Figura 21) é que ele não altera seu formato original, mantendo sua espessura bem definida.





A possibilidade de inserir um reagente que forneça uma coloração ao anel no próprio sistema de pré-concentração gera possibilidades de aplicações colorimétricas. Sendo a coloração do produto formado proporcional à concentração do analito de interesse é possível utilizar técnicas como colorimetria ou espectrofotometria para quantificação, ou até dispositivos mais simples e de baixo custo, como câmeras fotográficas e scanners [155,156].

IV.2. Imagens por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e mapeamento por Espectrometria de Energia Dispersiva de Raio-X (EDS/EDX)

Anéis foram preparados a partir da pré-concentração de 600 μ L de uma solução contendo 80 mg L⁻¹ dos metais de interesse (Na, Cu e Fe) para serem submetidos à análise por MEV e EDS. A concentração utilizada é relativamente alta devido a um teste anterior que mostrou que o mapeamento por EDS em uma concentração menor (10 mg L⁻¹) seria inviável por conta do longo tempo de análise

que seria necessário para obter uma resolução adequada para as imagens de mapeamento.

A Figura 23 mostra imagens obtidas por MEV do anel. As imagens 23-A e 23-B mostram duas regiões diferentes do anel e as imagens 23-C e 23-D mostram o interior do anel, detalhando as fibras do papel recobertas. Na imagem 23-D a parte mais clara no canto superior direito é referente a uma região do papel de filtro que não compreende o anel.



Figura 23. Imagens obtidas por MEV do anel resultante do processo de pré-concentração por *ring oven*. A e B: Visões gerais de duas regiões diferentes do anel e C e D: Fibras do papel recobertas pelos analitos na região do anel.

O mapeamento dos elementos químicos na região do anel e ao seu redor, parte externa e interna ao anel, foi realizado por EDS (feixe de 50 kV) e pode ser visualizado na Figura 24. As imagens combinam as micrografias do MEV com a imagem fornecida pelo mapeamento de EDS e é possível identificar claramente a maior concentração dos metais na região do anel.



Figura 24. Mapeamento da região do anel e redondezas feito por EDS (feixe de 50 kV).

Como pode ser visto no mapeamento, os metais também podem ser observados fora da região do anel, em algumas fibras mais externas, mas isso pode ser consequência, em boa parte, do ruído das medidas devido ao tempo elevado de exposição. O feixe utilizado para efetuar o mapeamento no EDS tem baixo poder de penetração e acaba amostrando somente a parte mais superficial das amostras. Isso pode ter sido a causa da falta de uma definição mais exata do anel já que os elementos penetram nas fibras do papel, de maneira que a formação do anel é possível de ser vista do lado oposto do papel utilizado para receber a solução no sistema *ring oven*.

IV.3. Avaliação do perfil do anel e medida da sua largura empregando microscópio óptico

Foram preparados vários anéis a partir de soluções alcoólicas contendo sódio, cobre e ferro nas concentrações de 5 e 15 mg L⁻¹ para ambos os metais. Também foram preparados anéis com concentração dos metais de 15 mg L⁻¹ nos quais foram adicionadas algumas gotas de solução de tiocianato de potássio 0,01 mol L⁻¹ após o término do processo de pré-concentração por *ring oven* (da mesma forma como foi feito para a confecção do anel mostrado na Figura 22). A adição do tiocianato ajuda a melhorar a visualização do anel que passa a ter a coloração avermelhada, ao invés de amarelada, devido à reação do ferro com o tiocianato.

Pequenos pedaços desses anéis foram recortados e obtidas imagens no microscópio óptico (Nikon Eclipse 80i) com a intenção de observar o anel, avaliar a sua homogeneidade e realizar uma estimativa da sua largura.

Na Figura 25, pode se observar as fibras do papel de filtro usado, neste trabalho, como suporte para a confecção dos anéis. Nesta figura, A e B referem-se à ampliação da imagem em dez vezes, sendo que em A o foco está posicionado nas fibras mais interiores do papel e em B nas fibras mais superficiais do papel. Em C, a ampliação é menor (quatro vezes) e permite uma visão melhor da distribuição e do emaranhado aleatório das fibras. As fibras são mostradas separadamente do anel com o intuito de ajudar na visualização do anel que em alguns momentos pode ser confundido em meio às fibras.

Os anéis obtidos da forma convencional, sem a adição do tiocianato, são de difícil visualização por causa do pouco contraste que a coloração amarelada fornece com relação às fibras do papel quando vistas ao microscópio. Nas

imagens as fibras do papel mostram-se como um emaranhado em diversos planos o que também dificulta a visualização do anel e também a definição da sua fronteira.



Figura 25. Imagens obtidas por microscópio óptico das fibras do papel de filtro utilizado no processo do *ring oven*. A: fibras mais internas (ampliação de 10x) e B: fibras mais superficias (ampliação de 10x) e C: ampliação de 4x.

A visualização é ainda mais difícil quando se trata dos anéis obtidos pela pré-concentração de soluções contendo somente 5 mg L⁻¹ dos íons, como pode ser observado na Figura 26. Por esse motivo, não houve tentativas de medir o anel formado a partir da solução com essa concentração. Setas foram colocadas na imagem para indicar a região dos anéis. As imagens A, B e C foram obtidas com amplificação de quatro vezes e a imagem D foi obtida com amplificação de dez vezes.

Os pontos pretos observados na imagem 26-D são provavelmente impurezas presentes no papel de filtro e foram também observadas no papel de filtro não utilizado para a confecção dos anéis. O anel aparece bem fracamente nas imagens e se torna menos definido com o aumento da ampliação de quatro para dez vezes. A análise da imagem 26C permite fazer uma observação interessante. A mancha preta e não uniforme que aparece logo abaixo do anel é uma parte de um traço de grafite que foi feito para demarcar a amostra. Comparando-se o traço de grafite com o anel, observamos que o anel é muito mais homogêneo que o traço de grafite, cobrindo tanto as fibras mais externas quanto as mais internas do papel, enquanto o traço de grafite só cobre as fibras mais externas do papel. De uma maneira simples, em nível microscópico o anel formado se distribui mais homogeneamente no papel do que um traço de grafite que aparentemente a olho nu é bem homogêneo.



Figura 26. Imagens do anel formado a partir da solução de 5 mg L^{-1} . A, B e C: amplificação de 4x e D: amplificação de 10x. Em C, a mancha no canto inferior da imagem é um traço de grafite.

O anel obtido a partir da solução de 15 mg L⁻¹ dos metais é bem mais nítido do que o observado para o anel gerado a partir da solução de 5 mg L⁻¹, mas ainda assim não é muito bem definido, como pode ser observado na Figura 27.



Figura 27. Imagens do anel formado a partir da solução de 15 mg L^{-1} . A, B e C: amplificação de 4x e D: amplificação de 10x.

A adição do tiocianato ao anel, modificando a coloração de amarelo para vermelho, favoreceu significativamente a sua visualização, como pode ser observado na Figura 28. As partes A e B mostram o anel com amplificação de quatro vezes e a parte C da figura uma amplificação de dez vezes. Comparando-se as imagens A e B, observa-se uma coloração mais acentuada na imagem 28A provavelmente porque se trata de anéis diferentes e não foi feito um controle rígido do volume da solução de tiocianato empregada. Com o anel em uma

coloração que possibilita um contraste maior com o plano de fundo fornecido pelas fibras do papel, torna-se nítido que a largura do anel varia em alguns pontos.



Figura 28. Imagens obtidas do anel gerado a partir da solução de 15 mg L⁻¹ com a adição de solução de tiocianato. A e B: amplificação de 4x e C: amplificação de 10x.

A largura do anel obtido com uso de tiocianato foi estimada para doze medidas (4 por fragmento). Uma das partes empregadas para essa medição é mostrada na Figura 29. Nessa imagem, também obtida com a amplificação de 4x, é possível observar as diferenças de largura apresentada pelo anel.

A largura do anel obtido para a concentração de 15 mg L⁻¹ foi estimada em 356 \pm 33 µm, com 12 medidas, que mostraram um desvio padrão relativo menor que 10%. A concentração da solução empregada não muda a largura do anel, mas torna mais fácil a sua visualização (com ou sem a adição do tiocianato).

Apesar de as imagens com o microscópio óptico mostrarem o anel em sua extensão e possibilitarem efetuar as medidas da sua largura, elas não mostram o efeito sobre o papel dos pulsos de laser empregados pela técnica de LIBS.



Figura 29. Medidas das larguras do anel formado a partir da solução de 15 mg L⁻¹ com adição de tiocianato.

Uma região de um anel submetido ao processo de leitura do anel feita por LIBS, conforme descrito na parte experimental, foi visualizada por microscópio digital portátil para se observar os pontos amostrados pelo laser e compará-los com a largura do anel. A Figura 30 mostra a imagem de uma região do anel obtida com esse microscópio. Observando a imagem obtida, pode-se verificar que o ponto amostrado pelo laser é um pouco maior que a largura do anel, o que permite afirmar que a região do anel está sendo amostrada de maneira efetiva. O anel mostrado na Figura 30 não sofreu adição do corante vermelho de cresol, utilizado normalmente para identificar o anel, sendo que a coloração amarelada é devido à presença do ferro.



Figura 30. Regiões do anel (em preto) amostradas pelos pulsos do laser do sistema LIBS.

IV.4. Coeficiente de pré-concentração do processo ring oven

IV.4.1. Cálculo do coeficiente de pré-concentração teórico (K)

O coeficiente de pré-concentração (K) proporcionado por *ring oven* pode ser expresso de várias formas. Neste trabalho, especificamente, esse ganho será expresso em termos da concentração em massa por massa ou em volume por volume [1,157].

Em termos de volume, o coeficiente de pré-concentração $(K_{(v/v)})$ pode ser considerado como uma relação entre o volume da amostra $(V_{amostra})$ e o novo volume definido pelo anel (V_{anel}) , como mostrado na equação 1.

$$K_{(v/v)} = \frac{V_{amostra}}{V_{anel}}$$
(1)

Uma relação semelhante pode ser aplicada para o coeficiente de préconcentração em termos de massa $(K_{(m/m)})$,que pode também ser expresso em função do volume de amostra e do anel e suas respectivas densidades, conforme indicado na equação 2 [1].

$$K_{(m/m)} = \frac{V_{amostra} d_{amostra}}{V_{anel} d_{papel}} = \frac{m_{amostra}}{m_{anel}}$$
(2)

Onde $d_{amostra}$ e d_{papel} são as densidades da amostra e do papel, respectivamente e $m_{amostra}$ e m_{anel} , são as suas massas. Na Figura 31 o anel é representado esquematicamente pela coloração cinza sendo que as partes brancas correspondem ao papel de filtro. Observando a figura e levando em conta que o papel possui uma espessura definida, podemos considerar que o volume do anel pode ser calculado pela subtração do volume de dois cilindros concêntricos. Lembrando que o volume de um cilindro ($V_{cilindro}$) é dado pela equação 3, onde r é o raio do cilindro e h a sua altura.



Figura 31. Representação esquemática do anel em um papel de filtro.

$$V_{cilindro} = \pi r^2 h \tag{3}$$

O volume do anel é fornecido pela equação 4, a qual resulta da subtração do volume de dois cilindros concêntricos, um com um raio mais externo ao anel (r_{ext}) e outro com um raio interno ao anel (r_{int}) .

$$V_{anel} = \pi e_p [r_{ext}^2 - (r_{ext} - l_{anel})^2] / r_{int} = r_{ext} - l_{anel}$$
(4)

Onde e_p e l_{anel} representam a espessura do papel de filtro e a largura do anel que nesse trabalho são de 0,21 mm (valor fornecido pelo fabricante do papel de filtro) e 0,35 mm (valor obtido nas medidas de microscopia óptica), respectivamente. O diâmetro do anel foi medido experimentalmente a partir dos anéis formados no sistema de pré-concentração e foi de 20,0 mm, logo, o raio externo (r_{ext}) é 10,0 mm. Considerando esses valores típicos, temos que o volume do anel é igual a 4,5 µL.

Supondo que os analitos presentes na solução sejam quantitativamente transferidos para o anel, o coeficiente de pré-concentração por volume ($K_{(\nu/\nu)}$), para um volume típico pré-concentrado de 600 µL é igual a 133.

Para calcular o coeficiente de pré-concentração em massa $(K_{(m/m)})$ é necessário ter o volume do anel (já calculado anteriormente) e as densidades da amostra e do papel que são iguais a 839 kg m⁻³ (para uma solução 80% (v/v) em etanol) e 438 kg m⁻³ (fornecida pelo fabricante do papel de filtro), respectivamente. Com esses dados, temos que o coeficiente $(K_{(m/m)})$ é igual a 254. Dentro dos limites de tolerância dos valores empregados nestes cálculos, podemos dizer que a pré-concentração de 600 µL de uma solução 80 % (v/v) de etanol contendo 1 mg kg⁻¹ de um dado analito poderá, idealmente, fornecer no anel uma concentração de 254 mg kg⁻¹.

Considerando que o volume do anel é definido pelo regime estacionário entre o gotejamento da amostra, sua difusão por capilaridade e evaporação, a uma dada temperatura, o coeficiente de pré-concentração poderia ser facilmente aumentado pelo aumento de volume da amostra. É evidente que o custo deste aumento estaria no tempo necessário para se realizar a operação.

Podemos comparar o processo de pré-concentração por *ring oven* com um processo simples de pré-concentração baseado na redução do volume da amostra. Com a finalidade de tornar a comparação mais efetiva, retornaremos a amostra ao mesmo substrato utilizado no *ring oven*, o papel de filtro, ou seja, depois do processo de redução do volume a amostra será transferida para o papel de filtro.

Considerando um volume inicial de 100 mL de uma solução 80 % (v/v) de etanol contendo 1 mg kg⁻¹ de um dado analito. Com uma redução de 100 vezes do volume, chegamos a um volume de 1 mL. Uma gota de uma solução de etanol transferida para o papel de filtro se estende em uma área circular de cerca de 2,0 cm de diâmetro, sabemos que volumes maiores que uma gota provocam a "diluição" do analito no substrato e inviabilizam uma distribuição homogênea do mesmo. Mesmo considerando-se que seria viável transferir de forma reprodutível um volume grande de amostra para o papel de filtro, nesse caso o total restante de 1 mL, temos coeficientes de pré-concentração muito inferiores aos obtidos pela técnica de *ring oven*. Os coeficientes de pré-concentração calculados pelas equações 1 e 2 (nesse caso o volume do anel é substituído pelo volume definido pelo espalhamento da gota) são de 15 e 29 vezes em volume e em massa, respectivamente.

IV.4.2. Coeficiente de pré-concentração experimental

A Figura 32 mostra o efeito da pré-concentração por *ring oven* no sinal analítico obtido para uma solução de etanol 80 % (v/v) contendo 5 mg L⁻¹ de sódio, ferro e cobre. Os sinais de emissão foram registrados para um anel preparado a partir da pré-concentração de 600 μ L da solução, para 20 μ L da mesma solução depositados no papel de filtro (chamado aqui de "mancha") e para o branco (somente papel de filtro). A transferência de um volume de uma amostra líquida para um suporte sólido, nesse caso o papel de filtro, é um procedimento já utilizado em LIBS [126-130].



Figura 32. Espectros de emissão obtidos pela média de 20 espectros (60 pulsos de laser) para papel de filtro Whatman 40, anel resultante da pré-concentração de 600 μ L de uma solução de 5 mg L⁻¹ de cada um dos três analitos e mancha feita em papel de filtro a partir de 20 μ L da mesma solução. Na sequência da figura as linhas de emissão para sódio, ferro e cobre, são, respectivamente: *Na I (dubleto)- 588,98 e 589,59 nm, Fe II- 275,57 nm e* Cu I- *324,75 nm.* Tempo de atraso = 500 ns e tempo de integração = 2 μ s.

O mesmo protocolo foi adotado para a medida das três amostras pelo sistema LIBS: três pulsos de laser foram aplicados em cada ponto e o espectro médio foi obtido. Vinte pontos foram amostrados, tomando a média global para representar a amostra. Ou seja, foram aplicados no total 60 pulsos de laser por amostra. Antes do processo de medida, as amostras foram colocadas em estufa à 50°C durante 2 h. Na Figura 32 é mostrado o espectro médio para linhas de emissão dos três elementos. A amostra líquida não foi medida diretamente devido a limitações do arranjo experimental e pela possibilidade de a amostra inflamar.

Observando as linhas de emissão, características para cada elemento, não é possível diferenciar o papel de filtro (branco) da mancha contendo os analitos. Como já foi relatado o processo que envolve a medida de uma solução diretamente por LIBS envolve várias dificuldades que fazem com que a sensibilidade seja reduzida, então, é possível afirmar que, não sendo possível diferenciar o papel de filtro (branco) da mancha, também não seria possível obter essa diferenciação medindo a solução diretamente.

O coeficiente de pré-concentração, determinado experimentalmente, depende da técnica analítica utilizada para sua determinação. O aumento do coeficiente de pré-concentração pode não refletir na medida instrumental devido, por exemplo, à saturação do sinal analítico. O modo com que o anel e o material que ele contém é acessado pela técnica também interfere no processo. Embora o coeficiente de pré-concentração teórico seja um valor independente da técnica analítica empregada e dependente somente do processo de pré-concentração.

O coeficiente de pré-concentração teórico, em massa $(K_{(m/m)})$ e volume $(K_{(v/v)})$, para a concentração de 600 µL de uma solução 80 % (v/v) de etanol, calculado pelas equações 1 e 2 foram de 133 e 254, respectivamente. Com a finalidade de avaliar se o fator calculado representa a real capacidade de pré-concentração do processo *ring oven*, considerando a associação com a técnica de LIBS, três manchas foram preparadas pela adição a um papel de filtro com 20 µL de uma solução contendo 438 mg L⁻¹ de cada um dos três analitos. A concentração de 438 mg L⁻¹ foi selecionada para proporcionar à mancha (que tem

cerca de 2 cm de diâmetro) a mesma concentração resultante no anel obtido no processo de pré-concentração por *ring oven* de 600 μ L uma solução 1 mg L⁻¹, supondo a distribuição uniforme dos analitos na mancha (a área da mancha é considerada no cálculo) e o fator de pré-concentração teórico.

Os sinais analíticos obtidos para as manchas produzidas a partir da solução de 438 mg L⁻¹ foram comparados com os sinais obtidos para três anéis preparados a partir da pré-concentração da solução contendo 1 mg L⁻¹ dos três analitos. A comparação foi feita pela razão dos sinais analíticos da mancha e anel.

Os valores de coeficiente de pré-concentração em volume $(K_{(v/v)})$ obtidos experimentalmente foram de 102 ± 23, 119 ± 8 e 122 ± 6 para ferro, cobre e sódio, respectivamente que estão bem próximos do valor teórico previstos pela equação 1.

IV.5. Efeito do volume da amostra no sinal analítico

Anéis formados a partir da pré-concentração de 300, 600, 1000 e 2000 μ L de uma solução 80% (v/v) de etanol contendo 5 mg L⁻¹ de sódio, ferro e cobre e 0,05 mol L⁻¹ de ácido clorídrico foram medidos no instrumento LIBS e as intensidades associadas às linhas de emissão características dos elementos acessadas.

A Figura 33 mostra as intensidades obtidas para os respectivos volumes para os três analitos. Como previsto, os sinais analíticos aumentam com o aumento do volume, contudo, o aumento não é linear e é menor para volumes maiores para todos os três analitos. É provável que o comportamento observado seja devido à saturação do sinal do LIBS, por exemplo, processos de autoabsorção do plasma [158], do que devido a uma redução do coeficiente de préconcentração esperado. Nos volumes estudados não foram observados indícios de saturação física do substrato ou de alteração, no diâmetro ou na largura, do anel.



Figura 33. Intensidades do sinal analítico em função do aumento de volume de amostra empregado no processo de pré-concentração. Cu (I): 324,74 nm, Na(I): 588,98 nm e Fe (II) 257,57 nm. Concentração dos íons = 5 mg L⁻¹. Tempo de atraso = 0,50 µs e tempo de integração = 2 µs.

IV.6. Efeito do teor de água presente no etanol

A água contida no etanol combustível pode afetar o resultado do procedimento de pré-concentração por *ring oven* pela mudança do diâmetro e largura do anel obtido. Isso pode ocorrer porque a água é menos volátil que o etanol (ponto de ebulição do azeótropo etanol-água é 78°C a 1 atm) e a frente do solvente poderia migrar para uma distância maior ou menor em relação ao ponto de gotejamento, antes da sua evaporação, afetando a largura, o diâmetro do anel formado e, consequentemente, o coeficiente de pré-concentração (como mostrado na equação 4).

As alterações do diâmetro e largura foram avaliadas para anéis formados a partir de soluções do branco com diferentes quantidades de água. Cinco gotas do

indicador verde de bromocresol na concentração de 1% (m/v) foram adicionadas a cada solução para melhorar a visualização dos anéis formados e facilitar a demarcação da sua fronteira. Cinco níveis de teores de água foram avaliados: sem adição de água (somente água proveniente do etanol grau analítico que é \leq 0,1%), 5% (v/v), 10% (v/v), 20% (v/v) e 30% (v/v), considerando que 600 µL de cada solução foram pré-concentrados. O teor máximo de água empregado foi 30% (v/v) porque o teor de 40% (v/v) já permitia que a solução gotejada alcançasse a parede do forno.

A Figura 34 mostra os anéis obtidos para amostras contendo diferentes teores de água. Os anéis mostram-se levemente ovalados e considerou-se o maior diâmetro externo de cada anel para avaliação. Posteriormente, com alterações do sistema que permitiram a obtenção de um anel mais circular e uniforme verificou-se que o novo diâmetro correspondia ao maior diâmetro externo, fato que valida a escolha feita.

O gráfico da Figura 35 mostra a variação do diâmetro do anel em função da quantidade de água. A barra de erro corresponde ao desvio das medidas do diâmetro para três anéis, confeccionados para cada nível. Uma mudança de cerca de $\pm 5\%$ na quantidade de água não causa variação significativa no diâmetro do anel, como mostrado pelas linhas pontilhadas do gráfico. Para a alteração de $\pm 5\%$ na quantidade de água o diâmetro do anel fica na faixa de 1,95-2,05 cm, aproximadamente, o que equivale a uma alteração de cerca de $\pm 2,5\%$ no diâmetro do anel. Considerando esses diâmetros, temos que a alteração no volume do anel é pequena e por consequência a alteração no coeficiente de préconcentração também é pequena (conforme as equações 1 e 2). O coeficiente de pré-concentração teórico em volume passa de 133, para 20% de água e diâmetro do anel de 2,00 cm, para 136 com a diminuição de 5% no teor de água e para 130 com o aumento de 5% no teor de água.

68



Figura 34. Anéis formados com diferentes teores de água.



Figura 35. Diâmetro do anel em função do teor de água na amostra de etanol.

As larguras dos anéis foram medidas e o valor obtido foi de 346 \pm 28 µm, muito similar a média e desvio padrão obtido para as medidas de largura dos anéis produzidos com 20% (v/v) de água, 355 \pm 33 µm. Aparentemente, o diâmetro do anel é determinado principalmente pela velocidade de difusão da amostra líquida no papel de filtro, produzida por capilaridade, sendo pouco dependente da evaporação, que é um processo mais lento. A largura do anel é

uma função do transporte do analito por capilaridade e aparentemente não é afetada significativamente pela variação do teor de água.

Com a finalidade de melhorar a robustez do procedimento de concentração e minimizar o efeito da variabilidade do teor de água contida originalmente na amostra de etanol combustível, o protocolo analítico prescreve a adição de água suficiente para completar 20% (v/v), considerando o conteúdo de água original da amostra como o máximo permitido por normatização (4,9%(v/v)).

IV.7. Otimização dos parâmetros experimentais do LIBS

Nesta sessão é descrita a otimização dos parâmetros experimentais referentes ao sistema LIBS visando à quantificação simultânea de sódio, ferro e cobre em etanol hidratado combustível em associação com o método de pré-concentração por *ring oven*.

Com a finalidade de tornar o processo de otimização do sistema LIBS mais simples e rápido e independente da formação de anéis, foram utilizadas manchas em todo o procedimento de otimização. As manchas foram produzidas de acordo com o seguinte procedimento: um volume fixo de 20 µL de uma solução padrão mista aquosa contendo 2000 mg L⁻¹ de cada metal (sódio, ferro e cobre) foi depositado sobre papel de filtro quantitativo (o mesmo empregado na confecção dos anéis). A dispersão do volume aplicado no papel de filtro define uma mancha de composição idealmente homogênea sobre uma área circular de cerca de 2,0 cm de diâmetro. Os parâmetros foram otimizados de forma univariada e, portanto, depois de encontrar o valor mais adequado para um parâmetro, esse era utilizado na etapa seguinte de otimização.

O parâmetro a ser otimizado em cada estudo foi a relação sinal-ruído (SNR), calculada pela média das intensidades dos sinais (dos quais foi descontada a intensidade da linha de base), obtidos em uma determinada condição experimental, dividida pela estimativa do seu desvio padrão. As relações

sinal-ruído foram avaliadas para as linhas de emissão de 588,98 nm, 324,75 nm e 275,57 nm que correspondem, respectivamente, às linhas de emissão do sódio, cobre e ferro.

IV.7.1. Energia do pulso do laser

A energia do laser foi alterada pela modificação do tempo de atraso do *Qswitch* (QSD), um parâmetro que pode ser modificado eletronicamente. Um aumento no valor do tempo de atraso do *Q*-*switch* contribui para uma diminuição da energia do pulso do laser. O QSD corresponde ao intervalo de tempo decorrente entre o acionamento da *flashlamp* (meio de bombeamento do laser) e o acionamento do *Q*-*switch* (modo de operação do laser que permite que uma grande quantidade de energia seja armazenada no meio ativo do laser possibilitando a produção de um pulso de laser de alta energia).

Como não existe uma relação conhecida, *a priori*, entre tempo de atraso do *Q-switch* e a energia do pulso de laser, empregou-se um medidor de energia para lasers pulsados (Coherent, LabMax) para se obter o valor de energia do pulso de laser correspondente a um dado valor de tempo de atraso do *Q-switch* (QSD).

Em uma avaliação inicial verificou-se que para ocorrer uma alteração significativa da intensidade do sinal no espectro de emissão, a energia do pulso de laser deveria variar cerca de 20 mJ. Devido a esse fato, quatro valores de energia foram selecionados. As energias dos pulsos para cada QSD e seus respectivos desvios padrão foram obtidos por meio de cinco medidas sucessivas, resultando nos seguintes valores: 111.4 ± 0.5 mJ/ QSD = $150 \ \mu$ s; 80.7 ± 0.6 mJ/ QSD = $200 \ \mu$ s; 60.1 ± 0.9 mJ/ QSD = $230 \ \mu$ s e 40.4 ± 0.9 mJ/QSD = $250 \ \mu$ s. O valor de $111.4 \ \mu$ mJ corresponde ao valor de energia máxima do pulso de laser, ou seja, o menor valor de QSD que pode ser utilizado.

Uma mancha da solução padrão foi confeccionada para cada avaliação do efeito da energia do pulso e foram medidos sessenta pontos diferentes sobre sua

superfície, sendo que em cada local foram acumulados cinco pulsos. Empregaram-se cinco pulsos do laser por ponto de amostragem da mancha porque foi verificado visualmente que o papel de filtro é perfurado por este número de pulsos. Os espectros foram obtidos com tempo de atraso e tempo de integração de 1 e 2 μ s, respectivamente e o ganho do detector foi igual a 100 (valor máximo 255).

O mesmo experimento foi repetido mais uma vez, após uma semana, e os seus resultados foram comparados. A ordem de medida das energias foi diferente e aleatória nos dois dias sendo que no primeiro dia a ordem foi 111,4; 80,7; 60,1e 40,4 mJ pulso⁻¹ e no segundo dia 40,4; 111,4; 80,7e 60,1 mJ pulso⁻¹. As outras condições foram mantidas constantes.

Observando o gráfico da Figura 36, nota-se que os maiores valores de SNR, nos dois dias, foram obtidos com a energia de 111,4 mJ e os menores valores da série normalmente ocorrem na energia mais baixa empregada. O sódio parece ser o metal menos afetado pela mudança de energia e o cobre e o ferro parecem ser afetados de maneira similar.



Figura 36. Relação sinal-ruído obtidas para as manchas medidas com diferentes energias do pulso de laser (60 locações e 300 pulsos de laser; 1 µs de tempo de atraso e 2 µs de tempo de integração). O asterisco (*) na figura indica as medidas realizadas no segundo dia.

A figura 37 mostra os valores de SNR obtidos a partir da média a cada dez pontos, ou seja, advindos da média acumulada com o incremento sequencial de dez pontos (na ordem de medida), para a energia de 111,4 mJ pulso⁻¹ nos dois dias de medida. O valor de SNR obtido para vinte pontos, por exemplo, é resultado da média dos vinte primeiros pontos medidos, e assim por diante.



Figura 37. Relação sinal-ruído a cada soma sequencial de dez pulsos.

Ao observar o comportamento da relação sinal-ruído com o aumento do número de pontos de medida nota-se uma diminuição do seu valor com o aumento do número de locais analisados para ambos os dias. O comportamento indica que um aumento no número de pontos analisados deteriora a relação sinal-ruído, o que não era esperado, já que um aumento no número de medidas utilizado no cálculo da média deveria contribuir para um aumento nos valores de SNR. O valor máximo de relação sinal-ruído, em cada série, normalmente está localizado em 10 ou 20 pulsos.

A Figura 38 mostra a intensidade obtida para cada ponto individualmente (resultado da acumulação de cinco pulsos) da mancha na ordem temporal em que os pontos foram analisados, para ambos os dias e elementos, com pulsos de 111,4 mJ (energia escolhida no processo de otimização por apresentar a melhor relação sinal-ruído). Os pontos vermelhos e as respectivas linhas horizontais representam a média acumulada a cada dez pontos, ou seja, a média que gerou as relações sinal-ruído representadas na Figura 37.

Nos gráficos da Figura 38 observa-se uma tendência de crescimento da intensidade ao longo dos pontos analisados. Como os pontos estão ordenados na série temporal, ou seja, na ordem em que foram medidos, pode-se constatar também que as intensidades aumentam com o decorrer do tempo. O crescimento das intensidades medidas nos pontos, no decorrer do tempo, é responsável pelo crescimento das médias, como observado nos dois gráficos da Figura 38.

No primeiro dia de medida, esse efeito de crescimento do sinal analítico (intensidade) com o decorrer do tempo, foi mais pronunciado do que no segundo dia. Comportamento similar também foi observado para outras energias do pulso do laser, como pode ser visualizado no gráfico da Figura 39 que mostra o comportamento dos sinais de dois metais, em dias diferentes, para energias diferentes.



Figura 38. Intensidades obtidas para cada ponto individualmente (acumulação de 5 pulsos por ponto) de acordo com a ordem temporal de medida, para ferro, cobre e sódio, nos dois dias, na energia de 111,4 mJ pulso⁻¹. Os pontos vermelhos e as respectivas linhas horizontais vermelhas representam a média acumulada com o incremento sequencial de dez pulsos.

O comportamento sistemático observado de aumento da intensidade do sinal analítico (Figura 38 e 39) e queda da relação sinal-ruído conforme se aumenta o número de pontos representantes da média (Figura 37) é difícil de ser explicado. A amostra (mancha) é homogênea, as locações foram escolhidas aleatoriamente e dispostas tentando mantê-las o mais próximo do centro da mancha e/ou nos arredores do seu centro. Então, pode-se supor que essa variação não se deve a uma distribuição não homogênea dos elementos da amostra na mancha e sim a algum fator que varia ao longo do tempo.



Figura 39. Intensidades obtidas para cada ponto individualmente (acumulação de 5 pulsos por ponto) de acordo com a ordem temporal de medida, para o ferro (primeiro dia) e cobre (segundo dia) nas energias de 80,7 e 60,1 mJ pulso⁻¹. Os pontos vermelhos e as respectivas linhas horizontais vermelhas representam a média acumulada com o incremento sequencial de dez pulsos. Alguns pontos foram selecionados do lado esquerdo da figura para ajudar na visualização da tendência de crescimento das intensidades.

Uma hipótese levantada para explicar esse comportamento anômalo do sinal ao longo do tempo de medida estaria associada à influência da umidade ambiente e sua incorporação no papel de filtro. No primeiro dia ocorreu uma variação grande da umidade ambiente (dia quente com pancadas de chuva). Já no segundo dia, a umidade variou menos e permaneceu mais baixa (dia bem seco), o que talvez possa explicar o fato da dispersão dos sinais observada no primeiro dia ter sido mais evidente.

Essa hipótese não foi investigada mais profundamente até mesmo porque o anel, resultante da pré-concentração dos metais em etanol, que será medido no instrumento LIBS, não possibilita, devido ao seu tamanho limitado, o acesso a um número tão grande de locais de amostragem, quando medido manualmente. Optou-se, portanto, por levar a amostra na estufa por um período longo de tempo (50°C por 2 h), retirando-as da estufa somente no momento de medida. O número de pontos de leitura sobre o anel foi restringido a 20, um número viável para a amostragem feita por posicionamento manual do anel. Desta forma, um possível efeito da umidade ambiente seria minimizado.

Para as próximas etapas de otimização a energia do pulso de laser foi de 111,4 mJ pulso⁻¹ (energia máxima permitida pelo laser) e empregou-se a amostragem de 20 pontos, com acumulação de 5 pontos por pulso.

IV.7.2. Ganho da placa do microcanal (MCP)

O ganho da placa do microcanal (componente do intensificador do detector ICCD) está relacionado com a voltagem aplicada ao dispositivo com a finalidade de produzir a intensificação do sinal por aceleração e multiplicação dos fotoelétrons. A relação entre o aumento do sinal e o ganho é exponencial, ou seja, um aumento de ganho provoca um aumento exponencial no sinal analítico. O ganho pode variar de 0 a 255 (unidades arbitrárias).

Infelizmente, com o aumento do ganho pode-se aumentar, além do sinal analítico, o ruído e com isso prejudicar a relação sinal-ruído. Além do ganho de 100 (que vinha sendo usado) foram testados os ganhos de 150, 200 e 255 (valor máximo). Empregou-se a energia de 111,4 mJ pulso⁻¹, tempo de integração de 2 μ s, tempo de atraso de 1 μ s e 20 locações com 5 pulsos acumulados em cada uma delas.

A Figura 40 mostra o comportamento da relação sinal-ruído com o aumento do ganho para os três analitos de interesse. O comportamento é muito similar para os três metais. Observa-se um aumento sutil na relação sinal-ruído quando se passa do ganho 100 para o ganho 150, mas logo depois a relação sinal-ruído cai e, portanto, esse valor de ganho foi selecionado.



Figura 40. Variação da relação sinal-ruído com o aumento do ganho.

IV.7.3. Tempo de atraso e tempo de integração

Inicialmente tentou-se fazer uma otimização simultânea do tempo de integração e do tempo de atraso como proposto por Fink et al. [159]. Nesse trabalho, o tempo de integração é mantido fixo e o tempo de atraso varia numa janela muito estreita. O perfil do gráfico deveria gerar uma gaussiana, na qual os melhores tempos de atraso e de integração seriam identificados no ponto igual a 0,37 vezes da altura máxima do perfil gaussiano [159]. Porém, o gráfico não gerou um perfil gaussiano, o que impediu a utilização desse método para o processo de otimização.

Outro trabalho descrito na literatura [160] relata que tempos de integração maiores que um determinado valor, o que variam caso a caso, não contribuem para o aumento na relação sinal-ruído, ou seja, atingia-se um valor ótimo e depois desse a relação sinal-ruído permanecia constante e não decrescia. Baseando-se nesse trabalho, o tempo de atraso foi otimizado, mantendo-se o tempo de integração fixo, e depois, o tempo de integração foi aumentado para verificar se ocorria alguma alteração na relação sinal-ruído. Foram realizados dois estudos, um mantendo o tempo de integração fixo em 50 ns e outro mantendo o tempo de

integração fixo em 500 ns. Avaliando-se os resultados obtidos nestes dois estudos, foram selecionados quatro valores de tempo de atraso para os quais foram realizadas novas medidas em triplicata para a escolha final do valor de tempo de atraso adequado para os três elementos.

Mantendo-se constante o tempo de atraso otimizado, o tempo de integração foi aumentado a fim de verificar se ocorreria uma melhoria na relação sinal-ruído. Desta forma, os melhores valores para o tempo de atraso e de integração foram determinados.

Nas medidas LIBS foram empregadas vinte locações da mancha sendo que, conforme mencionado anteriormente, foram acumulados 5 pulsos em cada ponto, o ganho foi 150 e a energia por pulso do laser foi de 111,4 mJ. Para cada estudo de valor de tempo de atraso foi empregada uma nova mancha para permitir que os pulsos de laser fossem sempre dirigidos para o seu centro, onde se espera uma maior homogeneidade da concentração dos analitos.

O tempo de integração e o tempo de atraso definem a janela de amostragem do sinal analítico, nesse caso, o sinal de emissão, sendo que o tempo de atraso define o instante de início dessa janela (intervalo de tempo depois do acionamento do laser, a partir do qual o sinal começa a ser integrado) e o tempo de integração define a duração dessa janela.

As Figuras 41 e 42 mostram a variação da relação sinal-ruído para os tempos de integração de 500 ns e 50 ns, respectivamente. Na Figura 41 observase que os maiores valores de relação sinal-ruído são obtidos nos menores valores de tempo de atraso e que depois de 1000 ns a relação sinal-ruído apresenta uma queda drástica. Os maiores valores de SNR obtidos para o sódio, cobre e ferro foram de 12,1; 10,9 e 6,7 nos tempos de atraso de 100, 50 e 100 ns, respectivamente. O que corresponde a dizer que os melhores valores de relação sinal-ruído estão nas janelas de 100 a 600ns; 50 a 550 ns; e 100 a 600 ns para sódio, cobre e ferro, respectivamente.

79



Figura 41. Variação da relação sinal-ruído com o tempo de atraso para um tempo de integração fixo a 500 ns. A: todos os intervalos estudados e B: faixa de 50-500 ns onde se encontram os maiores valores de SNR



Figura 42. Variação da relação sinal-ruído com o tempo de atraso para um tempo de integração fixo de 50 ns.

Quando se analisa a Figura 42, observa-se um comportamento semelhante ao gráfico anterior para o ferro e o cobre (quanto menor o valor de tempo de atraso maior é o valor da relação sinal-ruído). E para o sódio observa-se um comportamento parecido com uma curva que tem um ponto que se destaca em 550 ns. Os maiores valores de relação sinal-ruído para o sódio, ferro e cobre foram de 5,8; 4,9 e 6,0 nos tempos de atraso de 550, 100 e 150 ns, respectivamente, que equivalem a janelas de 550 a 600 ns; 100 a 150 ns e 150 a 200 ns para sódio, cobre e ferro, respectivamente.

As relações sinal-ruído obtidas quando o tempo de integração foi fixado em 500 ns foram maiores que os valores obtidos quando esse valor foi fixado em 50 ns. Para o sódio e o cobre esses valores chegam a ser praticamente o dobro. Considerando esse aspecto, foram escolhidos quatro valores de tempo de atraso que foram medidos novamente em triplicata (três manchas para cada valor de tempo de atraso) com o tempo de integração fixo em 500 ns, para uma avaliação final. Não foram selecionados tempos de atraso menores do que 100 ns porque o ruído de linha de base era muito alto, o que poderia encobrir os sinais de emissão em concentrações mais baixas. Também, não foram selecionados valores maiores que 1000 ns porque a SNR apresenta uma tendência de queda. Os tempos de atraso selecionados foram de 100, 300, 500 e 1000 ns.

A Tabela 2 apresenta os valores de relação sinal-ruído para medidas em triplicata dos tempos de atraso de 100, 300, 500 e 1000 ns em um tempo de integração fixo de 500 ns. A estimativa do desvio padrão, no caso do uso de triplicatas, passa a ser o desvio padrão entre as intensidades médias individuais das manchas, sendo esse o principal motivo do aumento dos valores de SNR observados na Tabela 2 em relação aos valores observados para uma única amostra, apresentados anteriormente.

Elemento	Tempo de atraso (ns)			
	100	300	500	1000
Na	169,9	45,5	43,6	41,7
Fe	13,8	10,5	23,4	4,2
Cu	141,0	29,6	153,7	12,6

 Tabela 2. Relações sinal-ruído obtidas para os tempos de atraso selecionados.
Os melhores valores de SNR para o sódio, ferro e cobre foram de 169,9 (100 ns); 23,4 (500 ns) e 153,7 (500 ns), respectivamente. Como o ferro apresentou os menores valores de SNR, optou-se por escolher o tempo de atraso de 500 ns, condição na qual a sua SNR atinge o valor máximo.

Com o valor do tempo de atraso otimizado de 500 ns, iniciou-se o processo de otimização do tempo de integração. O valor de tempo de integração fixado em 500 ns (no processo de otimização do tempo de atraso) foi aumentado para verificar se um aumento nesse parâmetro implicaria em um aumento na SNR, como descrito por Sirven et al. [160]. Os valores de 1000, 2000 e 4000 ns foram testados. Também se avaliou o tempo de integração de 250 ns para verificar se a SNR já estava estabilizada antes do valor de 500 ns. Os resultados são apresentados na Tabela 3. Os valores foram obtidos para medidas feitas em triplicatas, ou seja, a partir da medida das três manchas, da mesma forma como no experimento final para otimização do tempo de atraso.

A primeira observação em relação à Tabela 3 é que seus valores estão em desacordo com alguns dos dados mostrados na Tabela 2. O ponto referente a 500 ns de tempo de integração representa a mesma situação na Tabela 2, ou seja, 500 ns tanto para tempo de integração como para tempo de atraso, porém os valores de SNR apresentados são muito diferentes. Os valores de SNR caíram para a metade do valor apresentado anteriormente (Tabela 2). Esta constatação determinou que as leituras fossem realizadas sempre durante o mesmo dia, procurando, assim, evitar a variação dos sinais observada.

Da mesma forma como no experimento anterior, os menores valores de SNR foram obtidos para o ferro. No caso do ferro, aparentemente depois de 500 ns o valor de SNR fica praticamente constante com exceção da pequena queda sofrida na passagem de 500 para 1000 ns de tempo de integração. Esta observação está de acordo com Sirven et al. [160], que relatam que a relação sinal-ruído alcança um valor máximo em um determinado tempo de integração a partir do qual permanece constante. A mesma observação, porém, não parece ser válida para o cobre e o sódio.

	Tempo de integração (ns)				
Elemento	250	500	1000	2000	4000
Na	30,4	28,6	35,6	44,8	23,7
Fe	6,1	11,6	8,5	11,2	10,7
Cu	18,9	82,4	19,3	29,7	14,1

Tabela 3. Relação sinal-ruído dos tempos de integração selecionados. Tempo de atraso = 500 ns.

O sódio apresenta flutuações que não seguem uma tendência clara. Em 250 e 500 ns os valores de SNR praticamente são iguais, depois, em 1000 e 2000 ns, os valores aumentam, reduzindo-se à metade em 4000 ns, retornando a um valor próximo do obtido em 500 ns. Já para o cobre tem-se um valor de SNR máximo em 500 ns que é cerca de 4 vezes maior que todos os outros valores obtidos. Este ponto pode representar um comportamento anômalo (*outlier*), porém não foram feitas mais medidas para confirmação. Desta forma, optou-se pelo tempo de integração de 2000 ns que atende ao maior valor de SNR para sódio e ferro e o segundo maior valor para o cobre.

Do que foi exposto, percebe-se que uma combinação única de valores de tempo de atraso e de integração que atenda uma proposta de análise simultânea multielementar é uma tarefa difícil. Contudo, optou-se por uma condição de compromisso e adotou-se o valor de 500 ns para o tempo de atraso e 2000 ns para o tempo de integração.

IV.7.4. Número de pulsos

Em todos os experimentos foram empregados cinco pulsos dirigidos a um mesmo local da mancha porque esse é o número de pulsos que consegue perfurar a amostra, assegurando que todo o material depositado sobre o papel é amostrado. Provavelmente, essa não é a melhor condição de medida até mesmo porque o pulso de laser já deve ter sido capaz de amostrar em profundidade a matriz antes mesmo antes de se atingir a perfuração (ser possível observar este fato visualmente), sendo que o melhor número de pulsos a ser empregado, provavelmente, deve ser menor que cinco.

Em vista disso, foi avaliada a integração dos sinais obtidos no mesmo local proveniente de um, dois, três, quatro e cinco pulsos de laser para a aquisição de 20 espectros em 20 locações diferentes da amostra nas condições otimizadas nas etapas anteriores.

A Tabela 4 mostra os resultados obtidos para a acumulação de sinais obtidos para diferentes números de pulsos, lembrando que foram utilizados pontos diferentes de incidência dos pulsos e amostras diferentes para cada acumulação.

Tabela 4. Relação sinal-ruído de acordo com o número de pulsos acumulados por ponto.

Pulsos acumulados	Na	Fe	Cu
01	15,1	10,9	17,0
02	32,2	6,7	9,4
03	65,8	20,4	11,9
04	18,5	3,9	8,7
05	15,4	4,9	10,3

Com o uso de três pulsos também foram obtidos os valores mais altos de SNR, sendo que somente para o cobre esse valor não é o mais alto da série de pulsos. Por isso fixou-se em três, o número de pulsos acumulados por ponto de amostragem.

IV.7.5. Condições otimizadas

As condições otimizadas, que em média levaram aos melhores valores de SNR, decorrentes dos estudos realizados e que foram utilizadas nas demais etapas deste trabalho são: energia do laser = 111,4 mJ pulso⁻¹; ganho do MCP = 150; tempo de atraso = 500 ns; tempo de integração = 2000 ns com 3 pulsos acumulados por ponto de amostragem do anel em um total de 20 pontos por amostra (60 pulsos de laser).

IV.8. Figuras de mérito

IV.8.1. Curvas analíticas

As curvas analíticas foram construídas somente a partir das intensidades de emissão relacionadas aos elementos de interesse. O apêndice A mostra alguns espectros completos obtidos dos experimentos realizados para a obtenção das figuras de mérito. A literatura apresenta melhoras significativas das curvas analíticas, no que se refere principalmente a linearidade, para LIBS quando emprega-se padronização interna [142]. Neste trabalho a padronização interna foi avaliada utilizando lantânio, para determinação de cobre e ferro, e lítio para a determinação de sódio. O lantânio e o lítio foram adicionados à solução de etanol empregando-se padrões aquosos preparados a partir de reagentes de grau analítico, ou seja, da mesma forma que os metais de interesse. Apesar do cuidado em escolher as linhas de emissão do lantânio e lítio com energias similares às linhas de emissão dos elementos de interesse, não foi observada melhora significativa no perfil das curvas analíticas com a utilização de padronização interna. Dessa forma, de maneira a simplificar as etapas analíticas optou-se por não se utilizar padronização interna.

A Figura 43 mostra algumas curvas analíticas, em diferentes faixas de concentração, obtidas nas condições otimizadas para as medidas por LIBS, descritas no item IV.7.5 e em diferentes dias. Foram pré-concentrados 600 μ L de soluções padrão de etanol contendo 20% (v/v) de água e 0,05 mol L⁻¹ de HCI.



Figura 43. Curvas analíticas obtidas para ferro, cobre e sódio em diferentes faixas de concentração.

As curvas mostram comportamento linear, atestado pelos valores de coeficientes de correlação que podem ser visualizados no canto esquerdo de cada gráfico, juntamente com a equação relativa à regressão linear. Resultados anômalos foram retirados somente das duas últimas curvas representadas na figura e o critério empregado para isso foi a inspeção visual em conjunto com os gráficos de resíduos. A intensidade relativa ao ponto "zero" dos gráficos corresponde ao anel obtido pelo processo de pré-concentração por *ring oven* de uma solução do branco, ou seja, uma solução que contém todos os componentes das amostras com exceção dos elementos de interesse.

As três primeiras curvas mostradas na Figura 43 representam a faixa de concentração estudada nesse trabalho que foi de 0,5 a 5,0 mg L⁻¹ para sódio e cobre e 1,0 a 6,0 mg L⁻¹ para ferro. Estas curvas também foram utilizadas para avaliar as figuras de mérito do método de pré-concentração por *ring oven* associado à técnica de LIBS. Elas são o resultado de um ensaio de reprodutibilidade realizado, no qual foram construídas três curvas em três semanas diferentes para cada elemento e foram obtidas empregando-se as intensidades médias e os desvios padrão médio resultantes para cada anel. As outras curvas foram feitas somente para verificar a possibilidade da utilização do método em outras faixas de concentração, e somente um anel, para cada nível de concentração, foi utilizado para a construção das curvas e por isso nos gráficos não são representadas barras de erro.

Nas curvas analíticas é possível observar um sinal alto do branco que pode afetar a quantificação de teores mais baixos, afetando também, significamente, os limites de detecção da técnica. Os limites de detecção apresentados, em seção posterior, poderiam ser bem menores caso o sinal do branco fosse menor.

O papel de filtro deveria ser livre de contaminação, mas o próprio fabricante aponta a existência de alguns elementos em concentrações relativamente altas, em nível de μ g g⁻¹, inclusive de sódio, que é um dos analitos de interesse desse trabalho. As concentrações fornecidas pelo fabricante são 33, 6 e 0,2 μ g g⁻¹ para sódio, ferro e cobre, respectivamente (a composição do papel de filtro Whatman 40 é a mesma do papel de filtro número 42) [161]. A literatura, porém, aponta que

88

nem todo o sódio presente no papel está disponível para a migração cromatográfica e, provavelmente, também não estará disponível para migrar para o anel produzido pelo *ring oven*. Porém, também é apontado que a lavagem com ácido pode reduzir a capacidade de troca iônica do papel, ou seja, de certa forma a quantidade de metais disponíveis para migração [162].

Ensaios realizados, durante este trabalho, apontam que o sinal do branco tem contribuição tanto da contaminação do próprio papel de filtro como também dos reagentes empregados. O uso do corante, utilizado para demarcar a região do anel, melhorando a sua visualização contribui com parte significativa do sinal do branco, principalmente no que se refere ao sódio. Porém, o uso do corante poderia ser facilmente dispensável com o uso de um sistema automatizado de medida no LIBS, já que na fase final do trabalho os anéis se apresentaram com um formato circular muito regular.

A norma ABNT para determinação de sódio em etanol hidratado combustível (Álcool etílico_ Determinação da concentração de sódio_ Método da fotometria de chama) aponta a necessidade de destilação simples do etanol, empregado no preparo dos padrões, para reduzir a sua concentração original de sódio. O etanol, de grau analítico, foi destilado antes de ser empregado no processo de pré-concentração. Porém, não se observou nenhum efeito sobre o sinal obtido para o branco tanto para o sódio como para os outros metais.

Weisz [10] aponta os reagentes como uma fonte de contaminação do processo do *ring oven* e relata que esse é um dos motivos principais para o uso de ácidos diluídos no processo. Talvez o uso de ácidos destilados ajude a diminuir o branco, mas isso não foi testado nesse trabalho.

A fonte mais preocupante de contaminação é, sem dúvida, o papel de filtro. A composição dos metais no papel de filtro, em um mesmo lote ou até mesmo uma mesma folha, na região onde o anel é desenvolvido não é necessariamente constante e isso provavelmente pode afetar o sinal e o desvio padrão do branco.

Com o intuito de tentar diminuir o sinal do branco do anel, o papel de filtro foi submetido a um processo de lavagem com ácido como descrito na literatura [163]. Nesse processo, o papel foi submetido a uma lavagem ácida em ultrassom por cerca de 20 minutos e depois era lavado com água desionizada e posteriormente seco em estufa. Nenhuma alteração no valor do branco ou nas curvas analíticas foi observado utilizando esse processo de lavagem prévia do papel de filtro.

Um trabalho de Burns [164], realizado na época de desenvolvimento inicial do *ring oven* aponta uma estratégia interessante para eliminar a contaminação do papel. A metodologia denominada de *washing in* propõe uma lavagem ácida no próprio forno do *ring oven*. O processo ocorreria da mesma forma como ocorre a formação do anel só que em uma área maior da que a abrangida pela formação do anel da amostra, dessa forma, garante-se que as impurezas do papel de filtro sejam arrastadas para uma região posterior a formação do anel da amostra. Essa estratégia não foi utilizada e nem testada nesse trabalho por causa das dimensões do forno empregadas que não são, infelizmente, suficientemente grandes para permitir a realização do processo.

IV.8.2. Limites de detecção

Os limites de detecção (LOD) foram estimados de acordo com a equação 5, onde sb é o desvio padrão do branco e m é a sensibilidade da calibração. As curvas analíticas utilizadas para o cálculo dos limites de detecção foram as três primeiras curvas da Figura 44.

$$LOD = 3\frac{sb}{m} \tag{5}$$

Os limites de detecção calculados pela equação foram 0,7; 0,4 e 0,3 mg L⁻¹ o que corresponde a 0,9; 0,5 e 0,4 mg kg⁻¹, para sódio, ferro e cobre, respectivamente. Estes valores se encontram bem abaixo dos limites permitidos pela norma da ANP, que regula como concentração máxima permitida 5 e 2 mg kg⁻¹ para ferro e sódio [152], respectivamente.

Considerando um arranjo instrumental similar ao utilizado nesse trabalho para análise de amostras líquidas, ou seja, um instrumento LIBS de pulso único, encontramos na literatura uma ampla faixa de limites de detecção, incluindo valores menores e maiores do que os obtidos nesse trabalho. Como discutido anteriormente, os valores da literatura são bem controversos. As faixas de limites de detecção variam de 0,014 a 2,2 mg L⁻¹ para sódio [106, 165], 0,6 a 30 mg L⁻¹ para ferro [114, 111] e 7 a 50 mg L⁻¹ para cobre [114, 166].

Contudo, em um estudo muito bem conduzido sobre o ponto de vista analítico quantitativo, o limite de detecção para determinação direta de ferro em amostras líquidas, empregando LIBS de pulso duplo, foi de 8 mg L⁻¹ [102].

IV.8.3. Repetibilidade e Precisão Intermediária

A repetibilidade e a precisão intermediária foram obtidas a partir de triplicatas de anéis de mesma concentração medidos pelo mesmo instrumento, mesma técnica e mesmo analista. A repetibilidade foi avaliada no mesmo dia e a precisão intermediária foi avaliada em dias diferentes. Ambos os parâmetros foram avaliados utilizando o desvio padrão relativo (DPR). Ambas as figuras de mérito foram avaliadas em três níveis de concentração diferentes, para cada um dos elementos de interesse.

As intensidades de emissão para os anéis, para cada concentração e elemento de interesse, tinham as suas concentrações previstas nas curvas analíticas utilizando a equação da regressão linear. Para as medidas de repetibilidade, os anéis tinham a sua concentração prevista na curva analítica construída no mesmo dia em que foi medido e para as medidas de precisão intermediária a previsão foi feita empregando-se curvas analíticas construídas a partir de três dias diferentes de medida (três primeiras curvas analíticas da Figura 43).

Os resultados são mostrados na Tabela 5 e mostram três valores para cada nível de concentração, derivados de estimativas feitas em três dias, e observa-se que a variação, quando se considera o mesmo parâmetro e a mesma concentração, pode ser grande. Os valores de repetibilidade variam de 3,8 a 21,3%, 10,7 a 31,7% e 6,8 a 19,7% e de precisão intermediária variam de 11,8 a 31,8%, 17,4 a 30,9% e 4,3 a 24,9% para sódio, ferro e cobre, respectivamente.

Tabela 5. Repetibilidade e precisão intermediária* para cobre, ferro e sódio em três níveis de concentração diferentes.

Elemento	Concentração mg L ⁻¹	Repetibilidade RSD (%) (n=3)	Precisão Intermediária RSD (%) (n=3)
Na	0,5	14,9/ 15,7/ 21,3	18,3/ 30,0/ 28,9
	2,0	7,9/ 15,4/ 21,2	31,8/ 16,5/ 23,1
	4,0	15,6/ 3,8 /8,2	15,7/ 14,3/ 11,8
Fe	2,0	31,9/ 14,3/ 26,6	20,2/ 21,7/ 27,3
	4,0	10,7/ 15,2/ 10,7	26,1/ 30,4/ 30,9
	6,0	19,1/ 24,3/ 20,3	17,4/ 24,6/ 32,3
Cu	1,0	10,2/ 19,7/ 11,8	13,8/ 18,3/ 17,4
	2,0	13,9/ 9,5/ 12,9	19,2/ 24,9/ 10,7
	5,0	10,4/ 12,4/ 6,8	4,3/7,7/11,9

* Os valores apresentados na tabela são de desvio padrão relativo.

Os resultados médios de repetibilidade, expressos em desvio padrão relativo, foram de 13,8; 19,2 e 11,9 % para Na, Fe e Cu, respectivamente. E os resultados médios para a precisão intermediária, também expressos em desvio padrão relativo, foram 15,3; 25,8 e 14,2 %, para Na, Fe e Cu, respectivamente. Os

valores apresentados na Tabela 5 estão dentro do esperado para LIBS que sofre com problemas de repetibilidade dos sinais analíticos, mas eles poderiam ser melhorados como será discutido posteriormente.

IV.8.4. Exatidão

Para a avaliação da exatidão do método LIBS com pré-concentração por *ring oven,* foram utilizadas duas amostras de etanol hidratado comercial e três amostras de etanol hidratado combustível. As amostras de etanol hidratado comercial eram de diferentes marcas e foram adquiridas no comércio local e as amostras de combustível foram obtidas em três postos de abastecimento diferentes e de diferentes bandeiras.

Antes de submeter as amostras ao processo de pré-concentração por *ring oven* as concentrações de cobre, ferro e sódio foram determinadas empregandose os métodos padrão. O método empregado para quantificar sódio foi o ABNT NBR 10422 (Álcool etílico_ Determinação da concentração de sódio_ Método da fotometria de chama) e para cobre e ferro foi utilizado o método ABNT NBR 11331 (Álcool etílico_ Determinação da concentração de ferro e cobre_ Método da espectrometria de absorção atômica). Os resultados obtidos para as amostras encontram-se na Tabela 6. A1 e A2 referem-se a amostras comerciais de etanol hidratado e A3, A4 e A5 se referem às amostras coletadas nos postos de combustível.

Como pode ser observado na Tabela 6 as concentrações dos metais presentes nas amostras são muito baixas e algumas vezes nem foram detectadas, por isso as amostras foram fortificadas com os analitos de interesse. As unidades utilizadas foram mg L⁻¹ para facilitar o processo de diluição, feita a partir de padrões aquosos dos metais. Posteriormente, os resultados foram convertidos para mg kg⁻¹, conforme recomendado pela ANP. O mesmo protocolo realizado para os padrões foi seguido para as amostras, ou seja, adicionou-se quantidade

de água suficiente para atingir 20% (v/v) e ácido clorídrico suficiente para atingir a concentração de 0,05 mol L⁻¹. A quantidade de água adicionada considerou o teor inicial de todas as amostras igual ao teor máximo estabelecido por legislação [4,9% (v/v)].

Tabela 6. Concentrações de ferro, cobre e sódio presentes nas amostras originais de etanol hidratado (mg kg⁻¹) obtidas pelos métodos oficiais da ABNT.

Amostra	Concentração de Cu (mg kg ⁻¹)	Concentração de Na (mg kg ⁻¹)	Concentração de Fe (mg kg ⁻¹)
A1*	< 0,01**	0,1	< 0,02**
A2*	< 0,01	< 0,1	0,03
A3	< 0,01	< 0,1**	0,02
A4	< 0,01	< 0,1	0,03
A5	< 0,01	0,1	0,03

* amostras A1 e A2 são amostras de etanol hidratado comercial e as demais amostras são amostras de etanol hidratado combustível. ** LOQ : Fe = 0,02, Cu = 0,01 e Na = 0,1

A Tabela 7 mostra as concentrações adicionadas às amostras e as encontradas pelo método de pré-concentração por *ring oven* associado à técnica LIBS, bem como o percentual de recuperação para cada amostra. A faixa de recuperação obtida foi de 75-120%, com recuperação média de 100 \pm 15 %. Somente duas amostras, entre quinze, apresentaram recuperações abaixo de 80%. As recuperações médias para cada elemento individual seus desvios padrão e as respectivas faixas foram: Na – (109 \pm 13) % / (95 – 120 %); Fe – (92 \pm 18) % / (75 – 114 %); Cu – (98 \pm 12) / (80 – 115 %). Os valores apresentados podem ser melhorados, como será mais bem discutido posteriormente, mas são bons considerando o desempenho de LIBS na análise quantitativa que é "fraco" quando comparado a outras técnicas analíticas consolidadas.

Cada amostra foi medida em um dia diferente e sua concentração encontrada com o uso de uma curva analítica construída no mesmo dia. As condições de medida do instrumento LIBS eram 500 ns de tempo de atraso, 2 µs de tempo de integração e 150 de ganho do MCP (parâmetros otimizados anteriormente).

Tabela 7. Recuperação (%) para as amostras de etanol hidratado comercial a partir da associação da técnica de pré-concentração por *ring oven* com LIBS.

Elemento	Amostra	Concentração adicionada (mg L ⁻¹)	Concentração encontrada (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)
	A1*	0,5	0,6	117
No	A2*	1,0	1,2	120
Na	A3	2,0	1,9	95
	A4	1,0	1,2	120
	A5	2,0	1,9	95
	A1	1,0	1,1	110
Fo	A2	2,0	1,5	75
re	A3	3,0	3,4	113
	A4	2,0	1,7	85
	A5	3,0	2,3	77
	A1	1,0	0,8	80
Cu	A2	2,0	2,3	115
Cu	A3	3,0	2,9	97
	A4	2,0	2,0	100
	A5	3,0	3,0	100

IV.8. Utilização do papel de filtro e de outros substratos para préconcentração por *ring oven*

O processo de pré-concentração por *ring oven* é governado por capilaridade. A estrutura do papel dá origem a um sistema de capilares interconectados de tamanho e forma variável. Quando o papel é colocado em contato com um solvente, este é atraído para dentro dos poros pela ação de forças de superfície, justamente como a água é puxada para o interior de um tubo capilar de vidro. A analogia pode ser levada mais longe; como líquidos penetram em um tubo de calibre grande, similarmente, um papel com uma estrutura grosseiramente aberta será embebido de solvente mais rapidamente do que um papel com estrutura de poro menor. A velocidade de penetração é governada pelas propriedades físicas e geométricas dos canais capilares bem como pelas propriedades do líquido penetrante [167].

Weisz [10] relata que a sensibilidade de uma análise de toque, em termos de detecção, pode variar cerca de duas ordens de magnitude em função do papel de filtro selecionado. A relação entre os limites de identificação, da análise de toque, e dos parâmetros associados ao papel de filtro já foi relatada na literatura [168]. Porém, não se sabe ao certo qual é a influência que esses parâmetros podem ter na associação do *ring oven* com o LIBS, proposta nesse trabalho, ou ainda, na associação com outras técnicas de microanálise.

Outros papéis de filtro, além daquele empregado ao longo desse trabalho (Whatman 40), foram testados para o processo de pré-concentração por *ring oven.* Destaque é dado ao papel cromatográfico (Whatman 1) e papel quantitativo (Whatman 42). O papel quantitativo (Whatman 42) possui um tamanho médio de poro de 2,5 µm, menor do que o apresentado pelo Whatman 40 que é de 8 µm. O uso desses papéis para a formação do anel não alterou significamente o processo, somente o tempo total de formação do anel. Também não foram observadas diferenças nos sinais analíticos obtidos por LIBS para anéis formados a partir dos diferentes tipos de papel.

Alguns trabalhos na literatura apontam a influência do tamanho da partícula e da sua distribuição nas medidas LIBS [169,170]. Esses trabalhos mencionam que um tamanho de partícula menor que 75 µm garantiriam uma melhor repetibilidade das medidas feitas por LIBS em materiais vegetais moídos. Diante disso, é possível cogitar que, provavelmente, o uso de um papel de filtro com um tamanho de fibra menor pode ajudar a melhorar a repetibilidade das medidas LIBS. Dentro desse contexto, estudos mais aprofundados devem ser conduzidos, no futuro, correlacionando a sensibilidade e a repetibilidade dos sinais LIBS e a formação do anel pela técnica de *ring oven* com o tipo de papel de filtro e o seu tamanho de fibras.

Para o processo de pré-concentração por *ring oven*, além do papel de filtro, também foram testadas como substratos membranas de nylon (0,20 μ m), filtro de acetato de celulose (45 μ m, Sartorious Biolab Products) e filtro de microfibra de vidro (Millipore).

A membrana de nylon, na temperatura empregada no forno, não apresentou resistência química ao etanol e foi danificada antes mesmo do término do bombeamento da solução. De modo diferente ao que acontece no papel de filtro, no filtro de acetato de celulose a solução fica retida no centro deformando o filtro sem que ocorra a formação do anel. No filtro analítico de microfibra de vidro, o anel somente se forma quando a solução atinge a barreira do forno, mesmo em temperaturas superiores a 120°C (comumente utilizada nesse trabalho). A formação do anel devido ao contato com a barreira do forno, da mesma forma que descrita por Weisz [7], foi evitada nesse trabalho devido a possíveis problemas de contaminação que podem advir do contato da solução ácida com o material do forno.

Outros substratos também são apontados por Weisz [10] e podem ser utilizados em estudos futuros, como por exemplo, placas de vidro com camada de sílica (usualmente utilizadas em cromatografia de camada delgada) e camadas de celulose pulverizada.

97

V. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A técnica de *ring oven* foi revisitada e modificada para explorar suas características de pré-concentração associadas às técnicas microanalíticas modernas. A sinergia entre o *ring oven* e as técnicas de microanálise foi demonstrada com sucesso, utilizando LIBS para quantificar simultaneamente sódio, ferro e cobre em etanol hidratado combustível. Altos coeficientes de pré-concentração [250 (m/m) e 133 (v/v)] são possíveis de serem obtidos, conforme demonstrado teórica e experimentalmente, sem o uso de nenhum solvente adicional aos já existentes na amostra e sem o uso de reagentes, podendo ser considerado um método limpo de acordo com os preceitos da química analítica verde.

O procedimento de pré-concentração por *ring oven* é vantajoso porque não depende de processos de adsorção em sítios do substrato e tampouco que os analitos apresentem determinadas características, conseguindo pré-concentrar simultaneamente (como foi certificado nesse trabalho) analitos com características muito distintas, como é o caso do sódio e do ferro.

O processo de pré-concentração por *ring oven* modificado desenvolvido neste trabalho apresenta um grau de automação, não necessitando de acompanhamento em tempo integral. As tarefas do analista são a de colocar o papel de filtro no forno, coletar e injetar a amostra, etapas que podem também ser automatizadas (utilizando uma estação robotizada), e, depois de encerrado o processo, retirar a amostra do sistema. Como o dispositivo é de baixo custo, para diminuir o tempo de preparo dos anéis, podem-se utilizar diversos fornos, que permitiriam a realização em paralelo de várias operações de pré-concentração com o uso de uma única bomba peristáltica, como a utilizada neste trabalho. Também é possível automatizar completamente o processo, por meio de uma estação robotizada.

A simplicidade do *ring oven* permite a sua montagem e uso em laboratórios de análise sem muitos recursos e até mesmo em análises em campo, onde a amostra pode ser pré-concentrada e depois levada ao laboratório. A estabilidade

dos anéis pode ser aproveitada para a confecção de padrões estáveis de amostras voláteis ou para técnicas de microanálise, ou ainda para técnicas que sofrem efeitos severos da interferência de matriz como LIBS. Padrões na forma de anéis podem ser produzidos e armazenados por um longo período sem perdas dos analitos, desde que os analitos sejam estavéis. A produção e preservação de material de referência para etanol combustível, por exemplo, não é uma tarefa fácil, principalmente devido a sua volatilidade. Dessa forma, o *ring oven* poderia ser utilizado para produzir padrões de etanol e também de outras amostras líquidas com dificuldade de estabilização.

A técnica de LIBS, em particular, apresenta um notável ganho na detecção para os três analitos através da exploração da pré-concentração por *ring oven* e a consequente transferência dos analitos para a fase sólida.

As figuras de mérito proporcionadas pela associação do *ring oven* com LIBS são suficientes para atender a necessidade estabelecida pela regulamentação da ANP para determinação de sódio e ferro em etanol hidratado combustível. A análise por LIBS poderia ser feita diretamente em solução, mas dificilmente atingiria os limites de detecção obtidos com o uso do *ring oven* nesse trabalho.

Apesar das vantagens da associação do LIBS e *ring oven*, os limites de detecção apresentados nesse trabalho são relativamente altos. Porém, eles não se mostram tão altos se comparados a ampla variação de limites de detecção apresentados para a técnica na literatura. O desempenho quantitativo é um dos pontos fracos da técnica LIBS já bem conhecido e discutido na literatura, quando comparado a outras técnicas analíticas [142]. Contudo, é possível antecipar que os limites de detecção poderiam ser melhores que os obtidos até o momento. Neste trabalho, as medidas dos anéis foram feitas manualmente, restringindo o número de locais do anel para vinte (60 pulsos de laser, sendo 3 pulsos em cada local). Provavelmente com o aumento do número de locações, assim como também do número de pulsos, a repetibilidade seria melhor e consequentemente seria possível obter menores limites de detecção que os apresentados. O uso de um papel de filtro com um tamanho menor de fibra e de procedimentos para

99

reduzir o branco do anel também seria de grande valia para a redução desses valores. Além disso, se tolerado um aumento de tempo de pré-concentração, os limites de detecção poderiam ser melhorados aumentando-se o volume de amostra processado.

O processo de medida por LIBS poderia ser automatizado, permitindo o aumento do número de locais amostrados e diminuindo o tempo de medida. A simetria circular praticamente perfeita alcançada pelos anéis e a reprodutibilidade das suas dimensões permitem prever o uso de uma plataforma rotatória onde o papel de filtro pode ser fixado e amostrado automaticamente por um número de pulsos selecionados pelo usuário. Este número pode alcançar facilmente 1000 pulsos e os sinais podem ser integrados no *chip* da câmera ICCD. O uso de um sistema automatizado dispensa o uso do indicador, utilizado aqui somente para localizar com facilidade o contorno do anel no processo de medida manual. Isto pode contribuir para reduzir o sinal do branco, principalmente para sódio, em parte proveniente do uso do corante. A eliminação do uso do corante e um processo rigoroso de limpeza do papel de filtro empregado podem ajudar a diminuir o valor do branco e com isso diminuir também os limites de detecção.

Trabalhos futuros podem ser desenvolvidos para estender a associação do *ring oven* com outras técnicas microanalíticas (e.g. micro-Raman e micro-fluorescencia de raios-X). Adicionalmente a técnica pode ser explorada através do uso de imagens, seja utilizando uma simples câmera fotográfica ou um scanner ou ainda usando as técnicas analíticas de imagens hiperespectrais.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zolotov, Y. A.; Zuz'min, N. M.; **Preconcentration of trace elements**, vol. XXV-Comprehensive Analytical Chemistry (Wilson & Wilson), Elsevier, Amsterdã, **1990**.

2. Queiroz, S. C. N.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica; *Quim. Nova* 2001, *24*, 68.

3. Lanças, F. M.; Extração com fluido supercrítico: Quo Vadis?; *Revista Analytica* **2002**, *2*, 30

4. Valente, A. L. P.; Augusto, F.; **Microextração por fase sólida**; *Quim. Nova* **1999**, *23*, 523.

5. Han, D.; Row, K. H.; Trends in liquid-phase microextraction, and its application to environmental and biological samples, *Microchim. Acta* 2012, *176*, 1.

6. Tobiszewsky, M.; Mechlinska, A.; Namiesnik, J., **Green analytical** chemistry – theory and practice; *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 2869.

7. Weisz, H.; Ausführung von trennungen in einem tropfen; *Microchim. Acta* **1954**, *1*, 141.

8. Feigl, F., **Qualitative Analysis by Spot Tests**, 3rd ed., Elsevier: Amsterdam, **1946**.

9. Feigl, F., **Spot Test in Organic Analysis**, Elsevier Publishing Co., New York, **1960**.

10. Weisz, H.; **Microanalysis by the ring oven technique**, 2° edição, Pergamon Press, Nova Iorque, **1970**.

11. Riyazuddin, P.; **A Simple Ring Oven for Microanalysis**; *J. Chem. Educ.* **1994**, *71*, 606.

12. Herrera, N. M.; Laux, C. D.; A simple and inexpensive ring oven; *J. Chem. Educ.* **1973**, *50*, 756.

13. Weisz, H.; Recent advances in the ring oven technique. A review; *Analyst* **1976**, *101*, 152.

14. West, P. W.; Mukherji, A. K.; Separation and Microidentification of Metallic lons by Solvent Extraction and Ring Oven Techniques; *Anal. Chem.* **1959**, *31*, 947.

15. Belcher, R.; Weisz, H.; Studies in qualitative inorganic analysis. II A semi-systematic scheme for the detection of anions; *Microchim. Acta* 1956, *44*, 1847.

16. Weisz, H.; Anwendung des ringofens in der tüpfelkolorimetrie; *Microchim. Acta* **1954**, *6*, 785.

17. Blackman, L. C. F., **Separation and identification of molybdenum and tungsten**; *Microchim. Acta* **1956**, *44*, 1366.

18. Antikainen, P. J.; Separation, qualitative and semi-quantitative determination of micro-amounts of nickel and cobalt by the Weisz Ring Oven method; *Microchim. Acta* **1959**, *47*, 558.

19. Singh, E. J.; Dey, A. K., **Separation and micro-identification of metallic ions by ring oven technique**; *Microchim. Acta* **1961**, *49*, 366.

20. Munshi, K. N.; Dey, A. K.; Separation and identification of some anions using Weisz' Ring Oven technique; *Microchim. Acta* **1962**, *50*, 874.

21. Huygen, C., The determination of sulphate by the ring oven technique and its application to air pollution measurement; *Microchim. Acta* **1963**, *51*, 6.

22. Chen, Y.; Systematic approach to microidentification of organic compounds; *Microchim. Acta* 1981, *1*, 343.

23. Ćelap, M. B.; Janjić, T. J.; Jevtić, V. D.; **Semiquantitative determination of sugars using the Weisz ring oven;** *Microchim. Acta* **1963**, *51*, 1037.

24. Saxe, M. H.; **Detection of mercaptans by the Weisz ring oven method**; *Anal. Chem.* **1967**, *39*, 1676.

25. Farr, A. F.; Chaney, A. L.; Estimation of microgram amounts of protein using a modified ring oven; *Anal. Chem.* **1961**, *33*, 1790.

26. Weisz, H.; Tellgmann, C.; **Trace detection and determination of toxicologically important metal ions by the ring oven method**; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1966**, *220*, 161.

27. Coha, F.; **Determination of some bipyridylium herbicides by ring-oven techniques**; *Anal. Letters* **1969**, *2*, 623.

28. Peurifoy, P. V.; Nager, M.; **Sensitive spot test for nitrogen compounds in petroleum fractions**; *Anal. Chem.* **1960**, *32*, 1135.

29. Pejković-Tadić, I. ;Vitorović, S. L.; Ćelap, M. B.; Janjić, T. J.; Semiquantitative determination of organophosphorus insecticides by the ringoven technique with preliminary thin-layer chromatography; *Analyst* 1966, *91*, 595.

30. Pawlaczyk, J.; Nowacka, D.; **Use of the ring furnace method for determining heavy metal cation contamination in drugs**; *Farmacja Polska* (Polish Pharmacy) **1978**, *34*, 175.

31. Weisz, H.; Scott, F.; The application of the ring oven technique to radioactive substances; *Microchim. Acta* **1956**, *44*, 1856.

32. Jungreis, E.; **Spot Test Analysis**, vol. 75, John Wiley & Sons, Nova Iorque, **1984**, p. 10-12.

33. Feigl, F.; Vinzenz, A.; Oesper, R.E.; **Spot Tests in Inorganic Analysis**, 6° edição, Elsevier, Netherlands, **1972**, p. 60-63.

34. Base de dados **Scifinder** acessado em junho de 2011 (https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf).

35. Sarwar, M.; Jamshaid, F.; Mahmood, T.; Azam, M.; **Determination of gold by ring-oven technique**; *Pak. J. Sci. Ind. Res.* **1988**, *31*, 518.

36. Zhang, W.; Gu, Y.; **Determination of microamount of iron by using 5-Br-PADAP in the ring oven method**; *J. Beijing Univ. Iron Steel Technol.* **1988**, *10*, 507.

37. Hanif, M.; Hussin, S.; Ahmad, M.; Ali, S.; **Microdetermination of thallium(II) with Weisz ring-oven technique**; *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1988**, *1*, 129.

38. Sarwar, M.; Jamshaid, F.; Shafqat, A.; Maqsood, A.; **Determination of zinc by ring oven technique;** *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1988**, *1*, 34.

39. Kir, S.; Temizer, A.; Identification and determination of anions in kidney stones using the ring oven technique; *Gazi Univ. Eczacilik Fak. Derg.* **1988**, *5*, 131.

40. Hanif, M.; Hussain, S.; Ahmad, M.; Naushahi, M. K.; **Microdetermination of hydrazine with Weisz ring-oven technique;** *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1988**, *1*, 40.

41. Bhatt, I. P.; Satakopan, S.; Mehta, R. C.; **Application of the Ring Oven technique in the analysis of Ayurvedic mineral formulations**; *Indian Drugs* **1988**, *25*, 446.

42. Lahiri, S.; Sathwara, N. G.; Shah, G. M.; Patel, V. G.; Parikh, D. J.; **Ring-oven as an analytical tool for environmental monitoring of copper**; *Res. Ind.* **1988**, 33, 45.

43. Hanif, M.; Aftab, T.; Ali, H.; Shaheen, N.; Hussain, S.; **Microdetermination** of chromium in steel by the ring-oven technique; *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1989**, *1*, 301.

44. Hanif, M.; Hussain, S.; Aftab, T.; Shaheen, N.; **Microdetermination of** saccharin with Weisz ring-oven technique; *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1989**, *1*, 299.

45. Hanif, M.; Hussain, S.; Aftab, T.; Shaheen, N.; Naushahi, M. K.; **Microdetermination of aspirin from local medicines with Weisz ring-oven technique**; *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1989**, 1, 180.

46. Gandhi, M. H.; Pathak, K. C.; Parikh, D. J.; **Thiazolylazo dyes as reagents** for the detection and ring colorimetric determination of cadmium, lead and zinc; *Acta Cienc. Indica, Chem.* **1990**, *16C*, 371.

47. Hanif, M.; Ijaz, I.; Imtiaz, A.; Qureshi, S. H.; Microdetermination of lead with dimercaptothiodiazol by ring-oven technique; *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1990**, *2*, 227.

48. Hanif, M.; Ahmad, M.; Hussain, S.; Ijaz, I.; **Microdetermination of elemental sulfur in hydrocarbons using Weisz ring-oven;** *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1990**, *2*, 131.

49. Hussain, Z.; Ahmad, M.; Hussain, S.; Izhar-ul-Haq, M. M.; Hanif, M.; Determination of selenium at trace levels with Weisz Ring-Oven technique; *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1990**, *2*, 129.

50. Hanif, M.; Hussain, S.; Aftab, T.; Imtiaz, N.; **Microdetermination of cyanide by Weisz Ring-Oven technique;** *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1990**, *2*, 127.

51. Sinde, D. B.; Gandhi, M. N.; Khopkar, S. M.; **Development of water pollution monitoring kit;** *Indian J. Environ. Prot.* **1991**, *11*, 801.

52. Khan, H.; Ali, H.; Ahmad, M.; Hanif, M.; **A new method for the determination of paracetamol in pharmaceutical preparations using Weisz ring-oven technique**; *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1991**, *3*, 135.

53. Hanif, M.; Ijaz, I.; **Determination of cobalt(II) at trace levels using Weisz ring-oven technique;** *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1992**, *4*, 263.

54. Hanif, M.; Hussain, S.; Naz; T.; **Determination of chloramphenicol in its various preparations by ring oven technique;** *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1993**, *5*, 49.

55. Hanif, M.; Ijaz, I.; Hussain, S.; Bhatti, M. S.; **Microdetermination of ruthenium by using the Weisz Ring-Oven technique;** *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1993**, *5*, 41.

56. Zhang, X.; Lu, J.; Feng, M.; Zhang, Z.; **Microanalysis for silver on the solid surface by ring oven-chemiluminescence technique**; *Fenxi Huaxue* **1993**, *21*, 575.

57. Hussain, Z.; Kamran, M.; Anjum, T.; Izhar-u-haq., M. M.; Microdetermination of 4-tert-butylpyrocatechol inhibitor in styrene monomer with Weisz ring-oven technique; *Sci. Int. (Lahore, Pak.)* **1994**, *6*, 83.

58. Riyazuddin, P.; A simple ring oven for microanalysis; *J. Chem. Educ.* **1994**, *71*, 606.

59. Mohammad, A.; Thin-layer chromatographic methods for the identification, estimation, and separation of toxic metals in environmental samples; *J. Planar Chromatogr.-Mod. TLC* **1997**, *10*, 48.

60. Xiaoling, G.; Determination of lead in airborne particles by FT-IR microspectroscopy and ring oven technique; *Xiandai Huagong* **1998**, *18*, 32.

61. Aftab, T.; Imtiaz, N.; Hussain, A.; **Microdetermination of chromium in industrial wastes by ring oven technique;** *Pak. J. Anal. Chem.* **2003**, 4, 15.

62. Allen, L. J.; D'Alfonso, A. J.; Freitag, B.; Klenov, D.O.; **Chemical mapping at atomic resolution using energy-dispersive x-ray spectroscopy**; *MRS Bull.* **2012**, *37*, 47.

63. Singh, P.; Gokhale, S.; **Raman spectroscopy in research and industrial applications;** *Chem. Ind. Dig.* **2010**, *23*, 77.

64. Wang, D.; Ma, Z.; Han, P.; Zhao, L.; Pan, L.; Li, X.; Wang, J.; **Research on** detection of lime in wheat flour by NIR micro-imaging; *Sens. Lett.* **2012**, *10*, 252.

65. Smolek, S.; Pemmer, B.; Foelser, M.; Streli, C.; Wobrauschek, P.; **Confocal micro-x-ray fluorescence spectrometer for light element analysis;** *Rev. Sci. Instrum.* **2012**, *83*, 083703-1 (doi: 10.1063/1.4744934).

66. Niemax, K.; Laser ablation - reflections on a very complex technique for solid sampling; *Fresenius' J. Anal. Chem* **2001**, *370*, 332.

67. Kantor, T.; Electrothermal vaporization and laser ablation sample introduction for flame and plasma spectrometric analysis of solid and solution samples; *Spectrochim. Acta Part B* **2001**, *56B*, 1523.

68. Nomura, C.S.; Soares, C. S.; Oliveira, P. V.; **Direct analysis of solids by graphite furnace atomic absorption spectrometry: a review;** *Quim. Nova* **2008**, *31*, 104.

69. Link, D. D.; Kingston, H. M. S.; Havrilla, G. J.; Colletti, L. P.; **Development** of Microwave-Assisted Drying Methods for Sample Preparation for Dried Spot Micro-X-ray Fluorescence Analysis; *Anal. Chem.* **2002**, 74, 1165.

70. Liu, Y.; Li, Y. F.; Huang, C. Z.; Fluorimetric determination of fluorescein at the femtomole level with a self-ordered ring of a sessile droplet on glass slide support; *J. Anal. Chem.* **2006**, 61, 647.

71. Martinez, A. W.; Phillips, S. T.; Whitesides, G. M.; **Diagnostics for the developing world: Microfluid paper-based analytical devices;** *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 3.

72. Delaney, J. L.; Hogan, C. F.; Tian, J.; Shen, W.; **Electrogenerated chemiluminescence detection in paper-based microfluidic sensors**; *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 1300.

73. Ghu, Z.; Zhao, M.; Sheng, Y.; Bentolila, L.A.; Tang, Y.; Detection of mercury ion by infrared fluorescent protein and Its hidrogel-based paper assay; *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 2324.

74. Xu, M.; Bunes, B. R.; Zang, L.; **Paper-based vapor detection of hydrogen peroxide: colorimetric sensing with tunable surface;** *Appl. Mater. Interfaces* **2011**, 3, 642.

75. Hossain, M. S. Z.; Brennan, J. D.; β-Galactosidase-based colorimetric paper sensor for determination of heavy metals; *Anal. Chem.* **2011**, 83, 8772.

76. Pasquini, C.; Cortez, J.; Laser Induced Breakdown Spectroscopy; Silva, L. M. C., Gonzaga, F. B.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2007**,*18*, 463.

77. Cunat, J.; Fortes, F.J.; Laserna, J.J.; **Real time and in situ determination** of lead in road sediments using a man-portable laser-induced breakdown spectroscopy analyzer; *Anal. Chim. Acta* 2009, 633, 38.

78. Noll, R.; Sturm, V.; Aydin, U.; Eilers, D.; Gehlen, C.; Hohne, M.; Lamott, A.; Makowe, J.; Vrenegor, J.; Laser-induced breakdown spectroscopy-From research to industry, new frontiers for process control; *Spectrochim. Acta: Part B* **2008**, *63B*, 1159.

79. Misiolek, A.W. Palleschi, V., and Schechter, I. eds, *Laser Induced Breakdown Spectroscopy*, Cambridge University Press, Cambridge, **2006**.

80. Hoehse, M.; Mory, D.; Florek, S.; Weritz, F.; Gornushkin, I.; Panne, U.; A combined laser-induced breakdown and Raman spectroscopy Echelle system for elemental and molecular microanalysis; *Spectrochim. Acta: Part B* 2009, *64B*, 1219.

81. Moros, J.; Lorenzo, J.A.; Lucena, P.; Tobaria, L.M.; Laserna, J.J.; Simultaneous raman spectroscopy-laser-induced breakdown spectroscopy for instant standoff analysis of explosives using a mobile integrated sensor platform; *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 1389.

82. Yakunin, S.; Stehrer, T.; Pedarnig, J. D.; Heitz, J.; **Combination of laser-based micro-processing and micro-analysis by means of a lensed optical fiber**; *J. Optoelectron. Adv. Mater.* **2010**, *12*, 758.

83. Godwal, Y.; Taschuk, M.T.; Lui, S.L.; Tsui, Y.Y.; Fedosejevs, R.; **Development of laser-induced breakdown spectroscopy for microanalysis applications;** *Laser and Part. Beams* **2008,** *26*, 95.

84. Vadillo, J. M.; Laserna, J. J.; Laser-induced plasma spectrometry: truly a surface analytical tool; *Spectrochim. Acta Part B* **2004**, *59*, 147.

85. Jedlinszki, N.; Galbacs, G.; An evaluation of the analytical performance of collinear multi-pulse laser induced breakdown spectroscopy; *Microchem. J.* **2011**, *97*, 255.

86. Russo, R. E.; Mao, X. L.; Liu, C.; Gonzalez, J.; Laser assisted plasma spectrochemistry: laser ablation; *J . Anal. At. Spectrom* **2004**, *19*, 1084.

87. Cremers, D. A.; Radziemski, L. J., *Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*, Wiley & Sons, New York, **2006**.

88. Gonzaga, F. B.; Pasquini, C.; A compact and low cost laser induced breakdown spectroscopic system: Application for simultaneous determination of chromium and nickel in steel using multivariate calibration; *Spectrochim. Acta, Part B* **2012**, *69*, 20.

89. Kim, Y.; Yoon, D. J.; Lee, S. S.; Lee, Y. H.; Kim, K. B.; **Application of laser-induced breakdown spectroscopy for detecting leakage of boric acid**; *NDT & E International* **2011**, *44*, 311.

90. Sabsabi, M.; Heon, R.; St-Onge, L., **Critical evaluation of gated CCD detectors for laser-induced breakdown spectroscopy analysis;** *Spectrochim. Acta, Part B* **2005**, *60*, 1211.

91. Michel, A. P. M.; **Review: Applications of single-shot laser-induced breakdown spectroscopy;** *Spectrochim. Acta, Part B* **2010**, 65B, 185.

92. Singh, J. P., Thakur, S. N.; *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*, Elsevier, Oxford UK, **2007**.

93. Cheung, N.; Yeung, E. S.; **Distribution of Sodium and Potassium Within Individual Human Erythrocytes by Pulsed-Laser Vaporization in a Sheath Flow;** *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 929.

94. Yueh, F.; Sharma, R. C.; Singh, J. P.; Zhang, H.; Spencer, W. A.; Evaluation of the Potential of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for Detection of Trace Element in Liquid; *J. Air & Waste Manage. Assoc.* 2002, *52*, 1307.

95. Lo, K. M.; Cheung, N. H.; **ArF laser-induced plasma spectroscopy for part-per-billion analysis of metal ions in aqueous solutions;** *Appl. Spectrosc.***2002**, *56*, 682.

96. Lawrence-Snyder, M.; Scaffidi, J.; Angel, M.; Michel, A. P. M.; Chave, A.D.; Sequential-pulse laser-induced breakdown spectroscopy of high-pressure bulk aqueous solutions; *Appl. Spectrosc.* **2007**, *61*,171.

97. Michel, A. P. M.; Chave, A. D.; **Double pulse laser-induced breakdown** spectroscopy of bulk aqueous solutions at oceanic pressures: interrelationship of gate delay, pulse energies, interpulse delay, and pressure; *Appl. Optics* 2008, *31*, G131.

98. Kuwako, A.; Uchida, Y.; Maeda, K.; **Supersensitive detection of sodium in water with use of dual-pulse laser-induced breakdown spectroscopy;** *Appl. Optics* **2003**, *30*, 6052.

99. Pearman, W.; Scaffidi, J.; Angel, M.; **Dual-pulse laser-induced breakdown spectroscopy in bulk aqueous solution with an orthogonal beam geometry;** *Appl. Optics* **2003**, *30*, 6085.

100. Rai, V.N.; Yueh, F.Y.; Singh, J.P.; **Study of laser-induced breakdown emission from liquid under double-pulse excitation;** *Appl. Optics* **2003**, *42*, 2094.

101. Lee, D.; Han, S.; Kim, T.; Yun, J.; **Highly sensitivite analysis of boron in aqueous solution using dual-pulse laser-induced breakdown spectroscopy**; *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 9456.

102. Rifai, K.; Laville, S.; Vidal, F.; Sabsabi, M.; Chaker, M.; Quantitative analysis of metallic traces in water-based liquids by UV-IR double-pulsed laser-induced breakdown spectroscopy; *J. Anal. At. Spectrom.* **2012**, *27*, 276.

103. Lui, S.L.; Godwal, Y.; Taschuk, M.T.; Tsui, Y.Y.; Fedosejevs, R.; **Detection** of lead in water using laser-induced breakdown spectroscopy and laser-induced fluorescence; *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 1995.

104. Loudyi, H.; Rifaï, K.; Laville, S.; Vidal, F.; Chaker, M.; Improving laserinduced breakdown spectroscopy (LIBS) performance for iron and lead determination in aqueous solutions with laser-induced fluorescence (LIF); *J. Anal. At. Spectrom.* **2009**, *24*, 1421.

105. Arca, G.; Ciucci, A.; Palleschi, V.; Rastelli, S.; Tognoni, E.; **Trace Element Analysis in Water by the Laser-Induced Breakdown Spectroscopy Technique;** *Appl. Spectrosc.*, **1997**, *51*,1102.

106. Cremers, D. A.; Radziemski, L. J.; Loree, T. R.; **Spectrochemical analysis** of liquids using the laser spark; *Appl. Spectrosc.*, **1984**, *38*,721.

107. Lazic, V.; Jovicevic, S.; Fantoni, R.; Colao, F.; Efficient plasma and bubble generation underwater by an optimized laser excitation and its application for liquid analyses by laser-induced breakdown spectroscopy; *Spectrochim. Acta Part B* **2007**, *62B*,1433.

108. Koch, S.; Garen, W.; Müller, M.; Neu,W.; **Detection of chromium in liquids by laser induced breakdown spectroscopy (LIBS);** *Appl. Phys. A* **2004**, *79*, 1071.

109. Kumar, A.; Yueh, F. Y.; Singh, J. P.; **Double-pulse laser-induced breakdown spectroscopy with liquid jets of different thicknesses;** *Appl.Optics* **2003**, *42*, 6047.

110. Nakamura, S.; Ito, Y.; Sone,K.; **Determination of an iron suspension in water by laser-induced breakdown spectroscopy with two sequential laser pulses;** *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 2981.

111. Ito, Y.; Ueki, O.; Nakamura, S.; **Determination of colloidal iron in water by laser-induced breakdown spectroscopy;** *Anal. Chim. Acta* **1995**, 299, 401.

112. Lawrence-Snyder, M.; Scaffidi, J.; Angel, M.; Michel, A. P. M.; Chave, A. D.; Laser-induced breakdown spectroscopy of high-pressure bulk Aqueous solutions; *Appl. Spectrosc.*, **2006**, *60*,786.

113. De Giacomo, A.; Dell'Aglio, M.; De Pascale, O.; **Single pulse-laser induced breakdown spectroscopy in aqueous solution;** *Appl. Phys. A* **2004**, 79, 1035.

114. Fichet, P.; Mauchien, P.; Wagner, J.; Moulin, C.; **Quantitative elemental determination in water and oil by laser induced breakdown spectroscopy**; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *429*, 269.

115. Berman, L. M.; Wolf, P. J.; Laser-induced breakdown spectroscopy of liquids: Aqueous solutions of nickel and chlorinated hydrocarbons; *Appl. Spectrosc.* **1998**, *52*,438.

116. Cremers, D. A.; Radziemski, L. J.; **Direct Detection of Beryllium on Filters Using the Laser Spark;** *Appl. Spectrosc.* **1985**, *39*, 57.

117. Dewalle, P.; Sirven, J. B.; Roynette, A.; Gensdarmes, F.; Golanski, L.; Motellier, S.; Airborne nanoparticle detection by sampling on filters and laserinduced breakdown spectroscopy analysis; *J. Phys.: Conference Series* **2011**,*304*,1.

118. Chinni, R.; Cremers, D. A.; Multari, R.; **Analysis of material collected on swipes using laser-induced breakdown spectroscopy;** *Appl. Optics* **2010**, *49*, C143.

119. Wal, R.L.V.; Ticich, T.M.; West, J.R.; Householder, P.A., Trace metal detection by laser-induced breakdown spectroscopy; *Appl. Spectrosc.*, 1999, 53, 1226.

120. Sarkar, A.; Aggarwal, S.K.; Sasibhusan, K.; Alamelu, D.; **Determination of sub-ppm levels of boron in ground water samples by laser induced breakdown spectroscopy**; *Microchim. Acta* **2010**, *168*, 65.

121. Chen, Z.; Li, H.; Liu, M.; Li, R., Fast and sensitive trace metal analysis in aqueous solutions by laser-induced breakdown spectroscopy using wood slice substrates; *Spectrochim. Acta, Part B* 2008, *63*, 64.

122. Chen, Z.; Godwal, Y.; Tsui, Y. Y.; Fedosejevs, R., Sensitive detection of metals in water using laser-induced breakdown spectroscopy on wood sample substrates; *Appl. Spectrosc.* **2010**, *49*, C87.

123. Schmidt, N. E.; Goode, S. R.; Analysis of aqueous solutions by laserinduced breakdown spectroscopy of ion exchange membranes; *Appl. Spectrosc.* **2002**, *56*, 370.

124. Dockery, C. R.; Pender, J. E.; Goode, S. R.; **Speciation of chromium via laser-induced breakdown spectroscopy of ion exchange polymer membranes;** *Appl. Spectrosc.* **2005**, *59*, 252.

125. Kim, T.; Ricchia, M. L.; Chhiu-Tsu, L.; Analysis of copper in an aqueous solution by ion-exchange concentrator and laser-induced breakdown spectroscopy; *J. Chin. Chem. Soc.* **2010**, *57*, 829.

126. Yaroshchyk, P.; Morrison, R. J. S.; Body, D.; Chadwick, B. L., **Quantitative** determination of wear metals in engine oils using LIBS: The use of paper substrates and a comparison between single- and double-pulse LIBS; *Spectrochim. Acta Part B* **2005**,*60*,1482.

127. Alamelu, D.; Sarkar, A.; Aggarwal; S. K.; Laser-induced breakdown spectroscopy for simultaneous determination of Sm, Eu and Gd in aqueous solution; *Talanta* **2008**, *77*, 256.

128. Sarkar, A.; Alamelu, D.; Aggarwal, S. K.; **Determination of thorium and uranium in solution by laser-induced breakdown spectrometry**; *Appl. Opt.* **2008**, *47*, G58.

129. Sarkar, A.; Alamelu, D.; Vittal, Y. R. R.; Mukerjee, S. K.; Aggarwal, S. K.; **Gallium quantification in solution by LIBS in the presence of bulk uranium**; *Optics & Laser Technology* **2011**, *43*, 736.

130. Sarkar, A.; Alamelu, D.; V., T. V.; Bamankar, Y. R.; Mukerjee, S. K.; Aggarwal, S. K.; The use of laser induced breakdown spectroscopy for the determination of Li in organic wash solutions during the preparation of lithium based oxide ceramics by sol-gel; *Optics & Laser Technology* **2010**, 43, 736.

131. Zhu, D.; Wu, L.; Wang, B.; Chen, J.; Lu, J.; Ni, X.; **Determination of Ca and Mg in aqueous solution by laser-induced breakdown spectroscopy using absorbent paper substrates;** *Appl. Optics* **2011**, *50*, 5695.

132. Lu,Y.; Li,Y.; Wu, J.; Zhong, S.; Zheng, R., **Guided conversion to enhance cation detection in water using laser-induced breakdown spectroscopy;** *Appl. Opt.* **2010**, *49*, C75.

133. Chen, Z.; Li, H.; Zhao, F.; Li, R.; Ultra-sensitive trace metal analysis of water by laser-induced breakdown spectroscopy after electrical-deposition of the analytes on an aluminium surface; *J. Anal. At. Spectrom.* **2008**, *23*, 871.

134. Chen, Y.; Zhang, Q.; Li, G.; Li, R.; Zhou, J.; Laser ignition assisted sparkinduced breakdown spectroscopy for the ultra-sensitive detection of trace mercury ions in aqueous solutions; *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25*, 1969.

135. Jijón, D.; Costa, C.; Pencil lead scratches on steel surfaces as a substrate for LIBS analysis of dissolved salts in liquids; *J. Phys.:Conference Series* **2011**, 274, 1.

136. Sarkar, A.; Alamelu, D.; Aggarwal, S. K.; **Gallium quantification in solution by LIBS in the presence of bulk uranium;** *Optics & Laser Technology* **2012**, *44*, 30.

137. Fang, X.; Ahmad, S. R.; **Detection of mercury in water by laser-induced breakdown spectroscopy with sample pre-concentration**; *Appl. Phys B* **2012**, *106*, 453.

138. Jiang, J.; Li, G.; Li, R.; Chen, Y.; **High-sensitivity and rapid determination** of cadmium concentration in water with laser-induced breakdown spectroscopy; *Qiangjiguang Yu Lizishu* 2011, 23, 2528.

139. Xiu, J.; Hou, H.; Zhong, S.; Wang, Z.; Lu, Y.; Zhengh, R.; Quantitative determination of heavy metal element Pb in aqueous solutions by laser-induced breakdown spectroscopy using paper slice substrates; *Zhongguo Jiguang* **2011**, *38*, 0815003/1.

140. 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 adsorvent; *Anal. Methods* **2012**, *4*, 819.

141. Bukhari, M.; Awan, M. A.; Ishtiaq, A. Q.; Baig, M. A.; Development of a method for the determination of chromium and cadmium in tannery wastewater using laser-induced breakdown spectroscopy; *J. Anal. Methods in Chem.* 2012, 1.

142. 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; *Appl. Spectrosc.* 2012, 66, 347.

143. <u>http://www.biodieselbr.com/proalcool/pro-alcool/programa-etanol.htm</u>

144. Saint'Pierre, T.; Aucélio, R. Q.; Curtius, A. J.; **Trace Elemental** determination in alcohol automotive fuel by electrothermal atomic absorption spectrometry; *Microchem. J.* **2003**, *75*, 56.

145. Teixeira, L. S. G.; Brasileiro, J. F.; Borges Jr.; M. M.; Cordeiro, P. W. L.; Rocha, S.A.N.; Costa, A. C. S.; Determinação espectrofotométrica simultânea de cobre e ferro em álcool etílico combustível com reagentes derivados da ferroína; *Quim. Nova* 2006, *2*9, 741.

146. Munoz, R. A. A.; Agnes, L.; **Simultaneous determination of copper and lead in ethanol fule by anodic stripping voltammetry**; *Microchem. J.* **2004**, *77*, 157.

147. Cesarino, I.; Marino, G.; Cavalheiro, E. T. G.; A novel graphitepolyrethane composite electrode modified with thiol-organofunctionalized sílica for the determination of copper ions in ethanol fuel; *Fuel* 2010, *89*, 1883.

148. Munoz, R. A. A.; Richter, E. M.; Jesus, D. P.; Lago, C. L.; Agnes, L.; **Determination of inorganic ions in ethanol fuel by capillary electrophoresis;** *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, *15*, 523.

149. Teixeira, L. S. G.; Santos, E. S.; Nunes, L. S.; **Determination of copper, iron, nickel and zinc in ethanol fuel by energy dispersive X-ray fluorescence after pre-concentration on chromatography paper;** *Anal. Chim. Acta* **2012**, *722*, 29.

150. Rocha, M. S.; Mesko, M. F.; Silva, F. F.; Sena, R. C.; Quaresma, M. C. B.; Araújo, T. O.; Reis, L. A.; Determination of Cu and Fe in fuel ethanol by ICP OES using direct sample introduction by a nebulizer and membrane desolvator; *J. Anal. Atom. Spectrom.* **2011**, *26*, 456.

151. Oliveira, M.F.; Balbo, V.R.; Andrade, J. F.; Saczk, A.A.; Okumura, L. L.; Stradiotto, N.R.; Quantitative assay of copper, iron, nickel and zinc in fuel ethanol samples by flame atomic absorption spectrometry; *Chem. Technol. Fuels Oils* **2008**, *44*, 430.

152. **Resolução ANP nº 7**, de 09/02/2011- DOU 10/02/2011.

153. Bergamin, H.; Zagatto, E. A. G.; Krug, F. J.; Reis, B. F.; **Merging zones in flow injection analysis. 1. Double proportional injector and reagent consumption;** *Anal. Chim. Acta* **1978**, 101,17.

154. Janardhan, P. B.; Paul, A.; **Mechanism of paper chromatography:** distribution of mobile phase on paper; *Indian J. Chem.* **1967**, *5*, 297.

155. Santos, P. M.; Wentzell, P. D.; Pereira-Filho, E. R.; Scanner digital images combined with color parameters: a case study to detect adulterations in liquid cows milk, *Food Anal. Method* **2012**, *5*, 89.

156. Soldat, D. J.; Barak, P.; Lepore, B. J.; Microscale colorimetric analysis using a desktop scanner and automated digital image analysis; *J. Chem. Educ.* **2009**, *86*, 617.

157. http://goldbook.iupac.org/P04804.html

158. Fang, X.; Ahmad, R. S.; Saturation effect at high laser pulse energies in laser-induced breakdown spectroscopy for elemental analysis in water; *Laser Part. Beams* **2007**, *25*, 613.

159. Fink, H.; Panne, U.; Niesser, R.; **Analysis of recycled thermoplasts from consumer electronics by laser-induced plasma spectroscopy**; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *440*, 17.

160. Sirven, J.; Mauchien, P.; Sallé, B.; Analytical optimization of some parameters of a Laser-Induced Breakdown Spectroscopy experiment; *Spectrochim. Acta: Part B* **2008**, 63,1077.

161. <u>http://www.whatman.com/CelluloseFilters.aspx</u>

162. Frew, R. G.; Pickering, W. F.; **The sorption of metal salts by filter paper**; *J. Chromatog.* **1970**, *47*, 86.

163. Hoehne, L.; Bartz; F. R.; Bizzi; C. A.; Paniz; J. N. G.; Dressler; V. L.; Flores, E. M. M.; Determination of Cd in blood by microwave-induced combustion coupled to flame furnace atomic absorption spectrometry; *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, *21*, 978.

164. Burns, D. T.; Washing-in technique in microanalysis by the ring oven technique; *Microchim. Acta* **1963**, *51*,1152.

165. Archontaki, H. A.; Crouch, S.R., **Evaluation of an isolated droplet sample introduction system for laser-induced breakdown spectroscopy**; *Appl. Spectrosc.* **1988**, *42*, 741.

166. Rusak, D. A.; Castle, B.C.; Smith, B.W.; Winefordner, J.D., Fundamentals and applications of laser-induced breakdown spectroscopy; *Crit. Rev. Anal. Chem.* **1997**, 27, 257-291.

167. Weaver, V. C.; **Review of current and future trends in paper chromatography;** *Advances in Chromatography* **1968**, *7*, 87.

168. West, P. W.; Hamilton, W. C.; **The effect of media upon spot-test reactions;** *Mikrochem. ver. Mikrochim. Acta* **1951**,*38*, 100.

169. Gomes, M. S.; Junior, D. S.; 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* **2011**, *85*, 1744.

170. Trevisan, L. C.; Santos Jr., D.; Samad, R. E.; Jr. Vieira, N. D.; Nunes, L. C.; Rufini, I. A.; Krug, F. J.; **Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy for the determination of micronutrientes in plant materials;** *Spectrochim. Acta, Part B* **2009**, *64*, 369.

VII. APÊNDICE A: ESPECTRO LIBS TÍPICO

A Figura A1 mostra um espectro típico obtido dos anéis das amostras formados a partir da pré-concentração por *ring oven*. Os espectros obtidos para as amostras e padrões são muito similares. As linhas de emissão mais intensas depois de 600 nm referem-se, em grande parte, à constituintes da atmosfera (e.g. O, N) e também são observadas quando outros tipos de amostras são analisadas. As outras linhas intensas referem-se a componentes da matriz. Na Figura A1 aparecem marcados as linhas de emissão de sódio, ferro e cobre utilizadas nesse trabalho.



Figura A1. Espectro médio típico de um anel formado pela pré-concentração por *ring oven* de 600 µL de uma amostra de etanol hidratado combustível. *Os asteriscos indicam as raias de emissão utilizadas no trabalho.*